



ΠΜΣ Λοιμωξιολογία

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

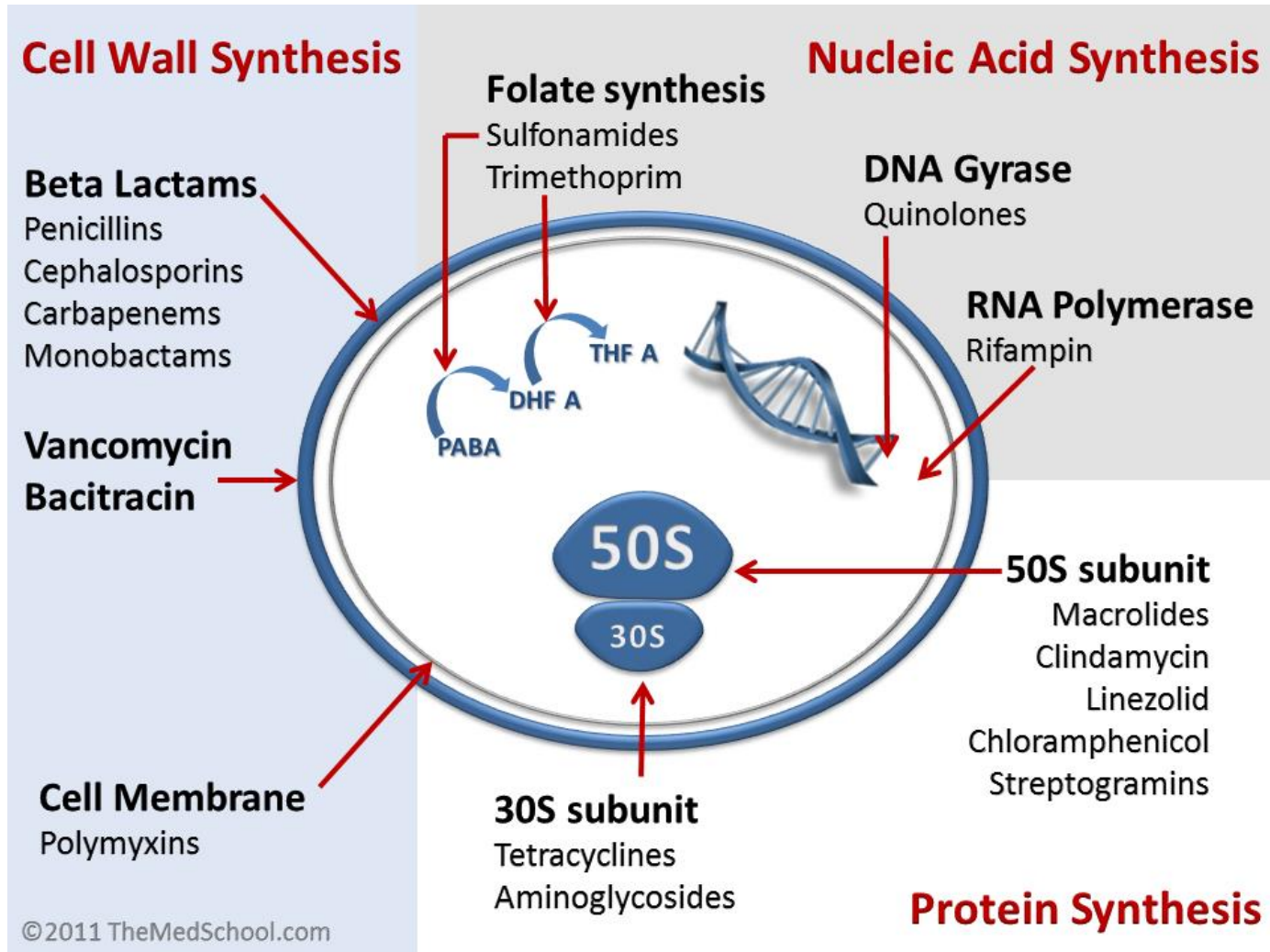
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

Βασικοί και ειδικοί μηχανισμοί αντοχής

Ειρήνη Γαλάνη, Ερευνήτρια Βιολόγος PhD, Ε.ΔΙ.Π, ΕΚΠΑ

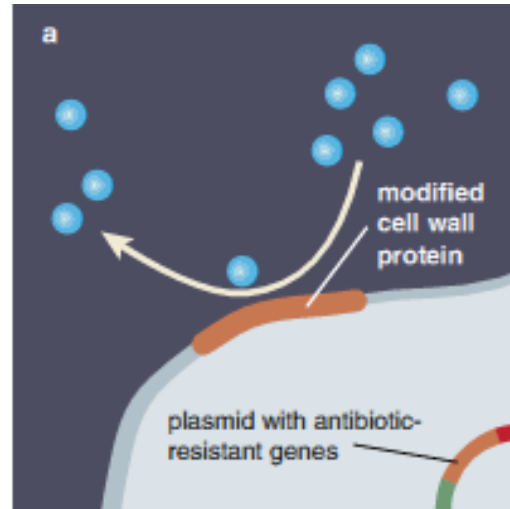
1 Νοεμβρίου 2021

Στόχοι δράσης αντιβιοτικών

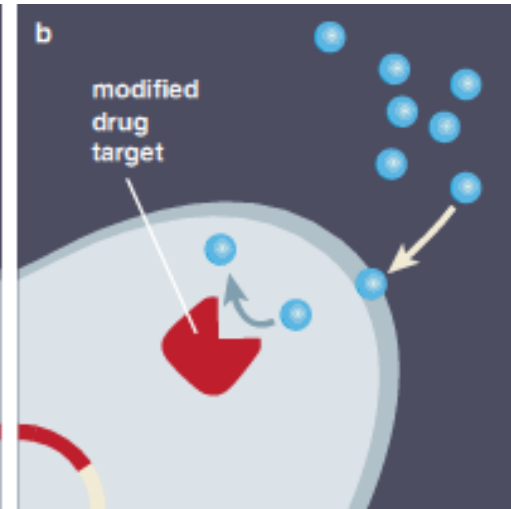


Μηχανισμοί αντοχής

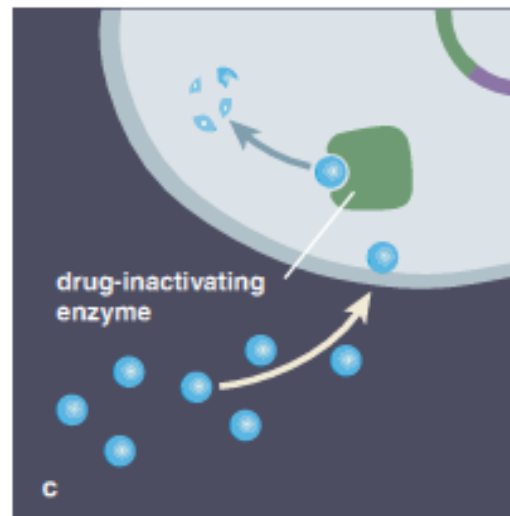
Ελαττωμένη κυτταρική διαπερατότητα



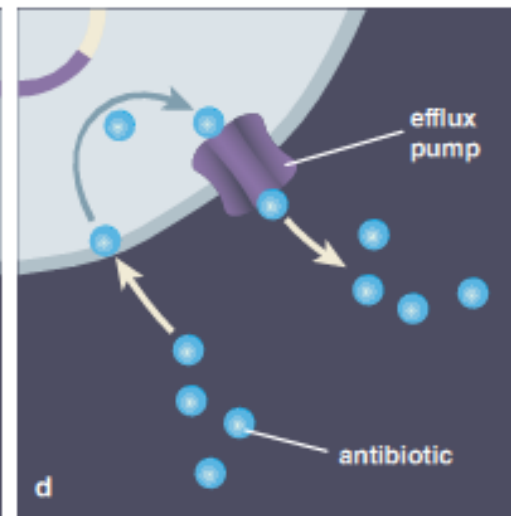
Τροποποίηση του στόχου δράσης



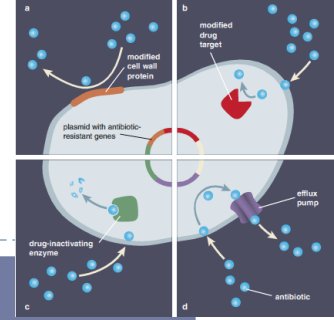
Παραγωγή ενζύμων που εξουδετερώνουν τα αντιβιοτικά



Ταχεία εκροή του αντιβιοτικού (μέσω αντλιών efflux)

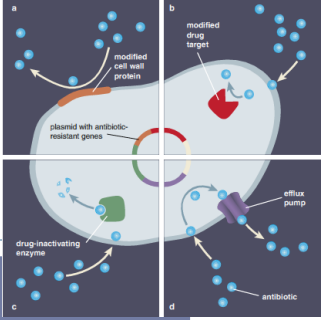


Κύριες ομάδες αντιβιοτικών



Αντιβιοτικό	Μηχανισμός δράσης	Κύριοι μηχανισμοί αντοχής		
		Ενζυμική αδρανοποίηση	Τροποποίηση στόχου	Άλλο
β-Λακτάμες	Αδρανοποιούν τις PBPs (σύνθεση πεπτιδογλυκάνης)	β-λακταμάσες	Τροποποίηση PBPs Παράκαμψη στόχου (<i>mecA S.aureus</i>)	Αντλίες ενεργητικής εκροής Μειωμένη πρόσληψη (πορίνες)
Αμινογλυκοσίδες	Αναστολή πρωτεϊνοσύνθεσης (πρόσδεση στην 30S υπομονάδα)	Τροποποιητικά ένζυμα αμινογλυκοσιδών	Μεθυλίωση rRNA	Αντλίες ενεργητικής εκροής Μειωμένη πρόσληψη
(Φλουορο) Κινολόνες	Αναστολή τοποϊσομεράσης (σύνθεση DNA)	Τροποποιητικά ένζυμα (AAC(6′)-Ib-cr)	Τροποποίηση στόχου <i>gyrA, parC</i>	Αντλίες ενεργητικής εκροής Μειωμένη πρόσληψη (πορίνες)
Γλυκοπεπτίδια	Αναστολή της χιαστής σύνδεσης των αλύσεων της πεπτιδογλυκάνης		Τροποποίηση προδρόμου (<i>vanA, vanB, vanD, vanC, vanE, vanG</i>)	
Μακρολίδες	Αναστολή πρωτεϊνοσύνθεσης (πρόσδεση στην 50S υπομονάδα)		Μεθυλίωση rRNA (<i>erm</i>)	Αντλίες ενεργητικής εκροής (<i>mefA</i>)

Κύριες ομάδες αντιβιοτικών



Αντιβιοτικό	Μηχανισμός δράσης	Κύριοι μηχανισμοί αντοχής		
		Ενζυμική αδρανοποίηση	Τροποποίηση στόχου	Άλλο
Λινεζολίδη	Αναστολή πρωτεϊνοσύνθεσης (23S rRNA) Τροποποίηση θέσης σύνδεσης του tRNA – Αναστολή σχηματισμού αρχικού συμπλέγματος 70S		Σημειακές μεταλλάξεις στο γονίδιο του 23S (συχνότερη η G2576T)	Αντλίες ενεργητικής εκροής Gram (-), εγγενής αντοχή
Κολιστίνη	Αποδιοργάνωση της κυτταρικής μεμβράνης Αναστολή αναπνευστικών ενζύμων NDH2		Τροποποίηση LPS	Τροποποίηση κάψας Αντλία ενεργητικής εκροής KpnEF
Τετρακυκλίνες	Αναστολή πρωτεϊνοσύνθεσης		Προστασία ριβοσώματος (<i>tetM</i>)	Αντλίες ενεργητικής εκροής (<i>tetA</i>) Μειωμένη πρόσληψη
ΡΙφαμπικίνη	Ενώνεται με την RNA-πολυμεράση και αναστέλλει το σχηματισμό του mRNA		Μεταλλαγές στο <i>groB</i> (RNA πολυμεράση)	Τροποποίηση ριφαμπικίνης (Arr)



Γενετική βάση της αντιμικροβιακής αντοχής

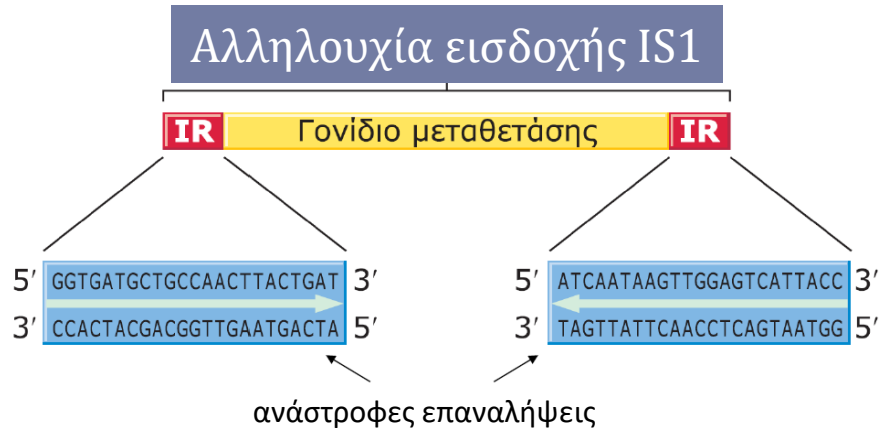
Τα βακτήρια αποκτούν αντοχή σε έναν αντιμικροβιακό παράγοντα με:

- ▶ **Αυτόματες μεταλλάξεις**
 - ▶ Σε δομικά γονίδια
 - ▶ διευρυμένο φάσμα ενζυμικής δραστηριότητας, τροποποίηση στόχου, ελλειμματική μεταφορά
 - ▶ Σε ρυθμιστικά γονίδια
 - ▶ Αυξημένη ή μειωμένη έκφραση
- ▶ **Απόκτηση εξωγενών γονιδίων**
 - ▶ Μεταγωγή
 - ▶ Σύζευξη
 - ▶ Μετασχηματισμός
 - ▶ Φορείς γονιδίων αντοχής
 - Πλασμίδια
 - Μεταθετά στοιχεία
 - Αλληλουχίες εισδοχής
 - Transposons
 - Integrons



Μεταθετά στοιχεία

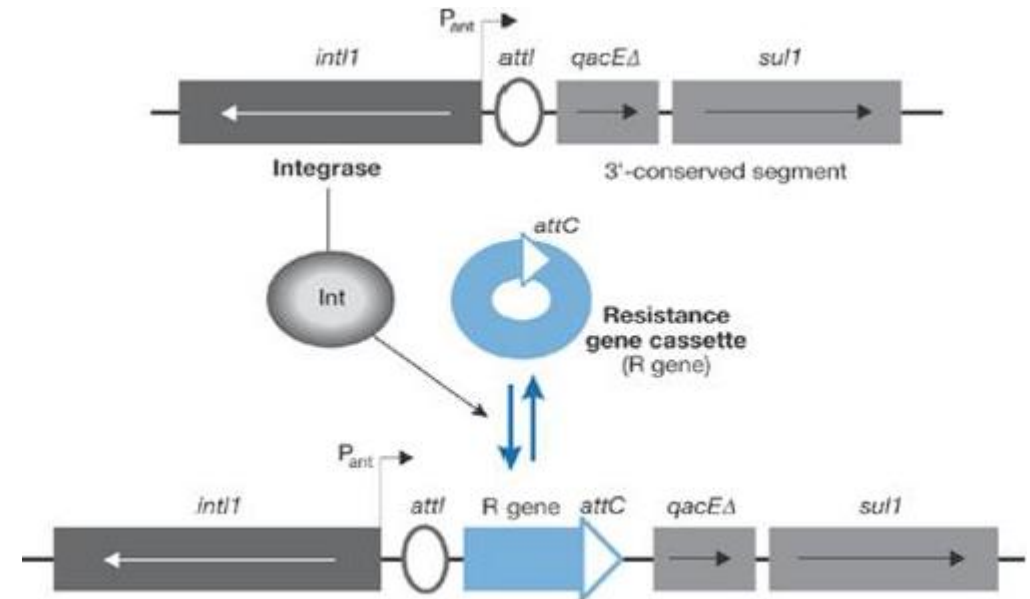
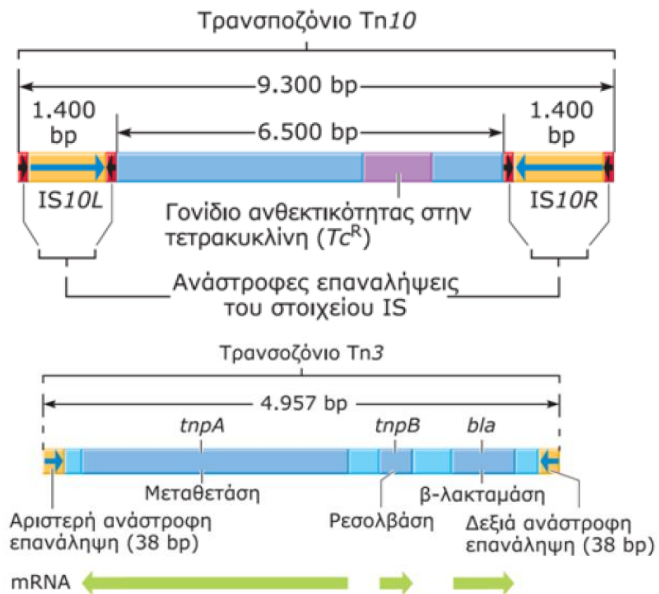
Integrans



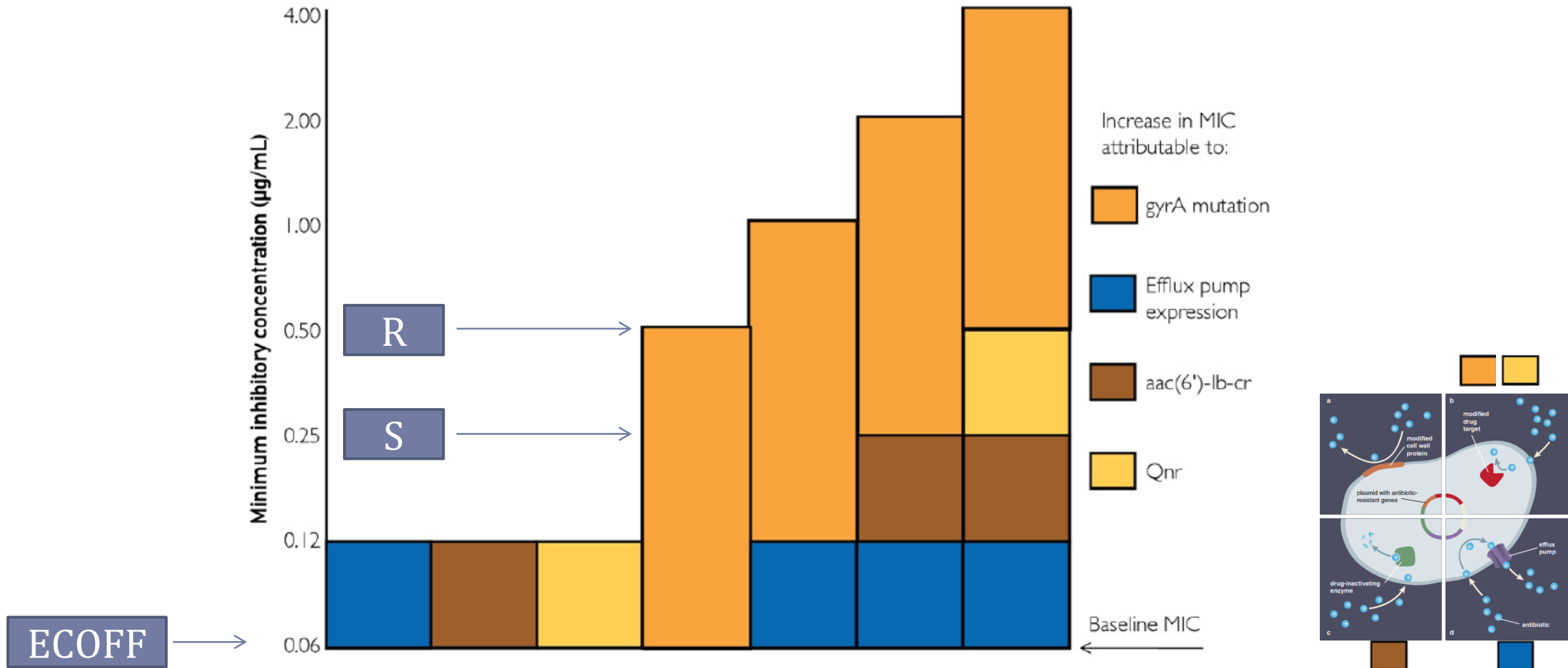
Απλό

Trasposons

Σύνθετο

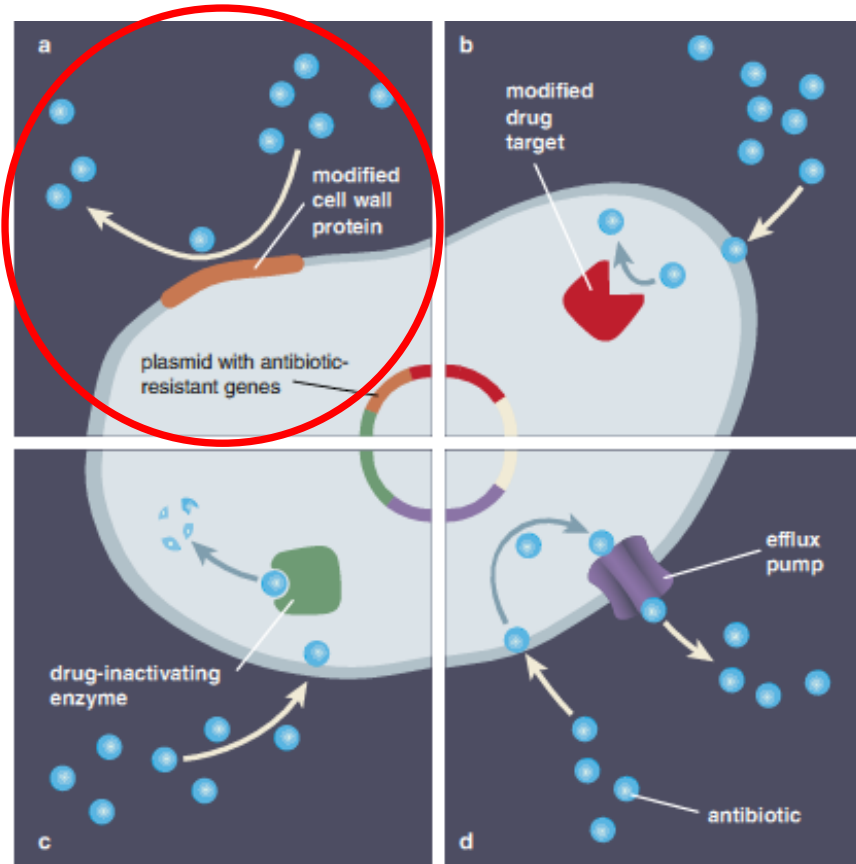


Αντιπροσωπευτικό γράφημα της συνεισφοράς διάφορων μεμονωμένων και συνδυασμένων μηχανισμών αντοχής στις φθοριοκινολόνες



Μεταβολή διαπερατότητας

Μειωμένη είσοδος



▶ Ενδογενής

- ▶ Εντεροβακτηριακά & Γλυκοπεπτίδια

▶ Επίκτητη

- ▶ Απώλεια πορινών μπορεί να συμβεί *in vivo*

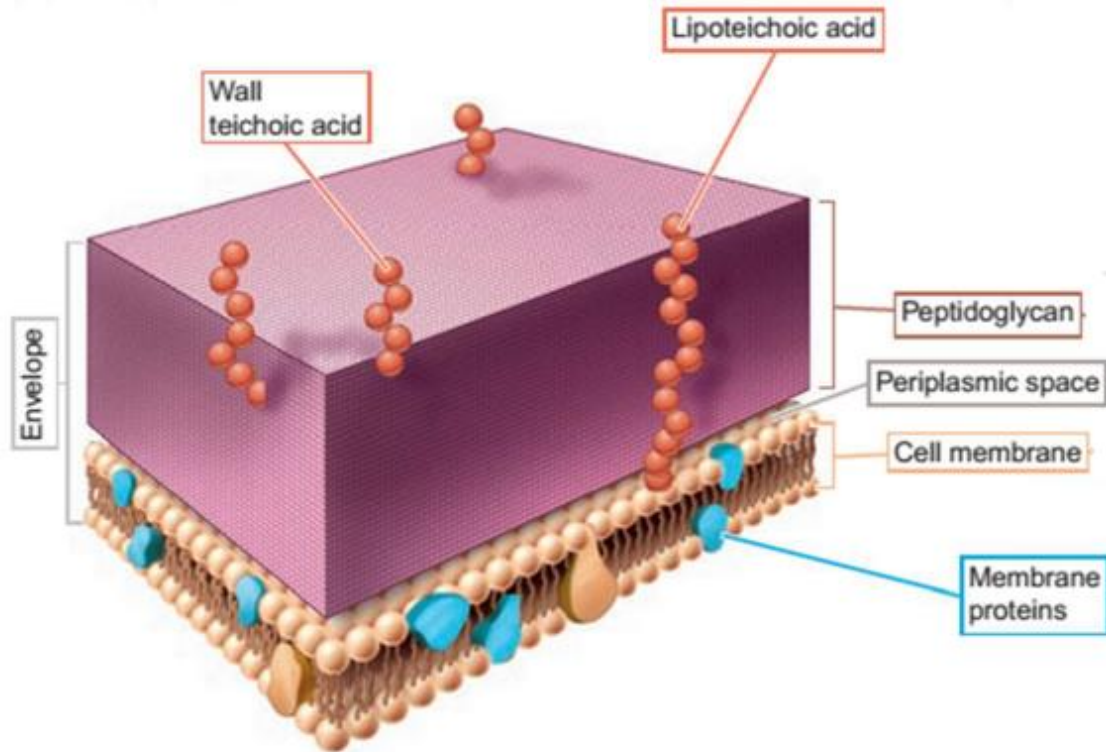
- ▶ IS elements
- ▶ Πρόωρα κωδικόνια λήξης
- ▶ Μετατόπιση πλαισίου

▶ *Παραδείγματα:*

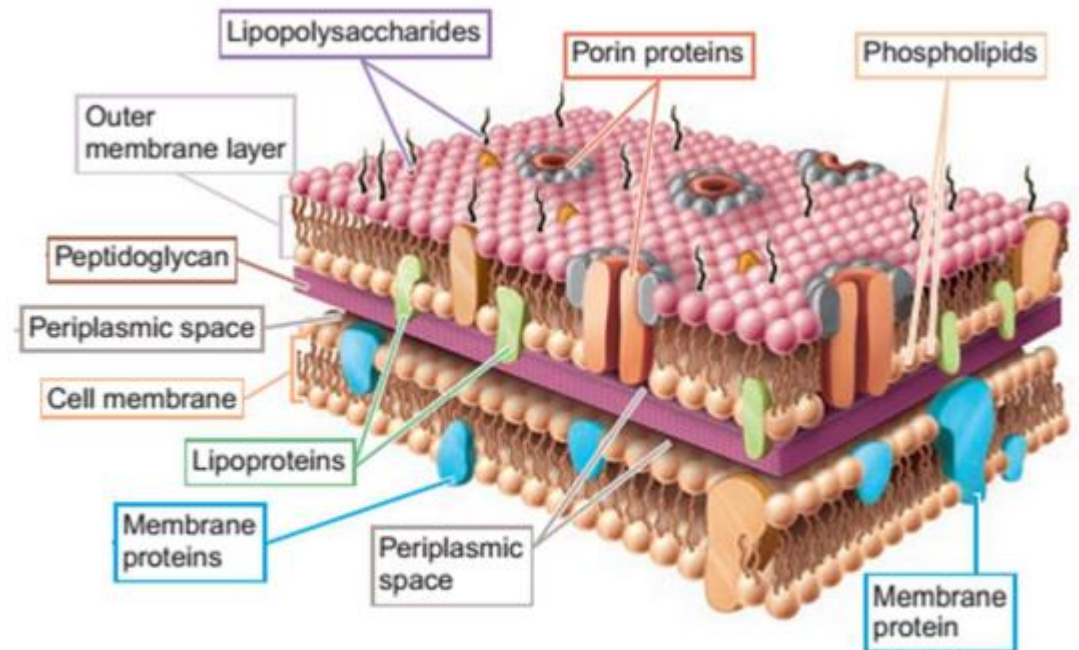
- ▶ *P. aeruginosa* – ιμιπενέμη (OprD)
- ▶ *Klebsiella* spp. – ιμιπενέμη (OmpK35, OmpK36)
- ▶ VISA (*S. aureus*)
- ▶ Gram (-) - κινολόνες (πορίνες)
- ▶ Gram (-) - αμινογλυκοσίδες (LPS)

Κυτταρικό τοίχωμα

Gram-Θετικά

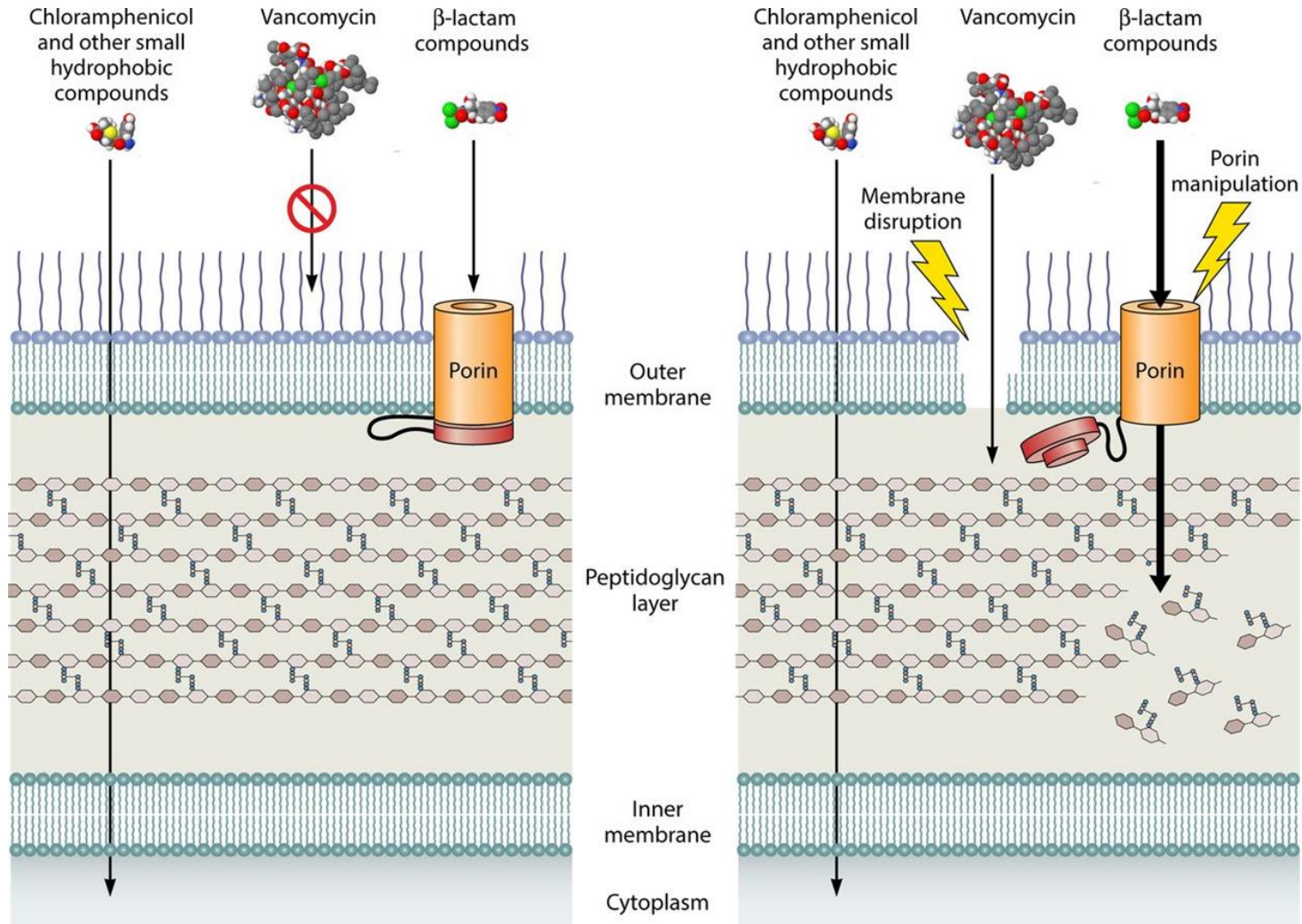


Gram-Αρνητικά



Οι διαφορές στη δομή του κυτταρικού τοιχώματος σχετίζονται τόσο με την Gram-χρώση, όσο και την φυσική αντοχή των μικροβίων έναντι κάποιων αντιβιοτικών που δεν μπορούν λόγω μεγέθους να διέλθουν από τις πορίνες των Gram-αρνητικών βακτηρίων

Η διάχυση μέσω της ΟΜ επιτρέπει σε υδρόφοβες ενώσεις να φθάσουν τους ενδοκυττάρους στόχους τους

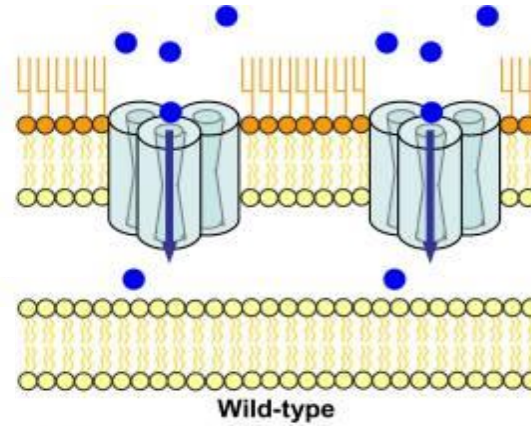


Ελαττωμένη κυτταρική διαπερατότητα – τροποποίηση πορινών

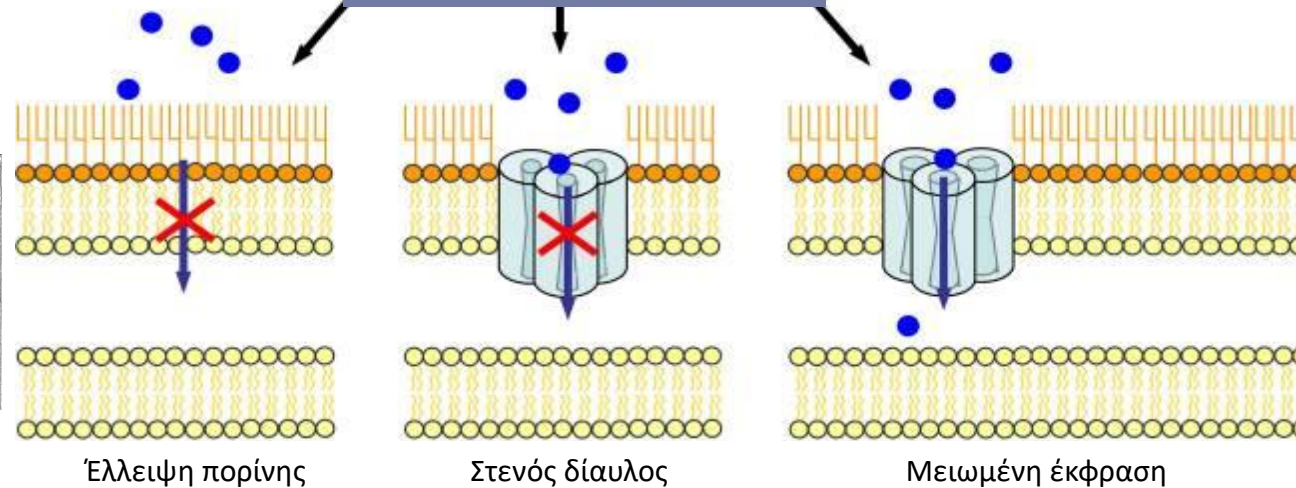
εξωτάτη μεμβράνη

περιπλαστικός χώρος

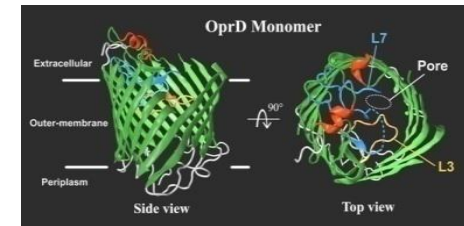
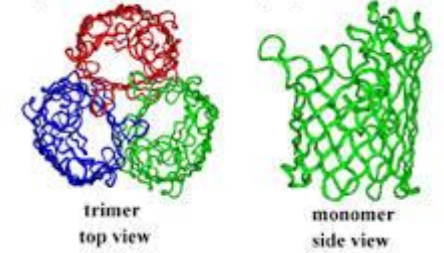
κυτταροπλασματική μεμβράνη



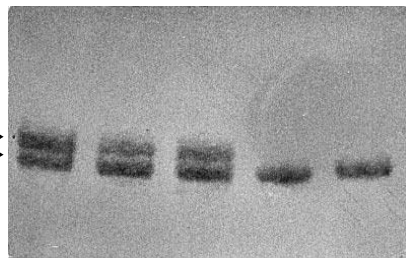
απόκτηση μεταλλάξεων αντοχής



Crystal structure of OmpF porin in *E. coli*

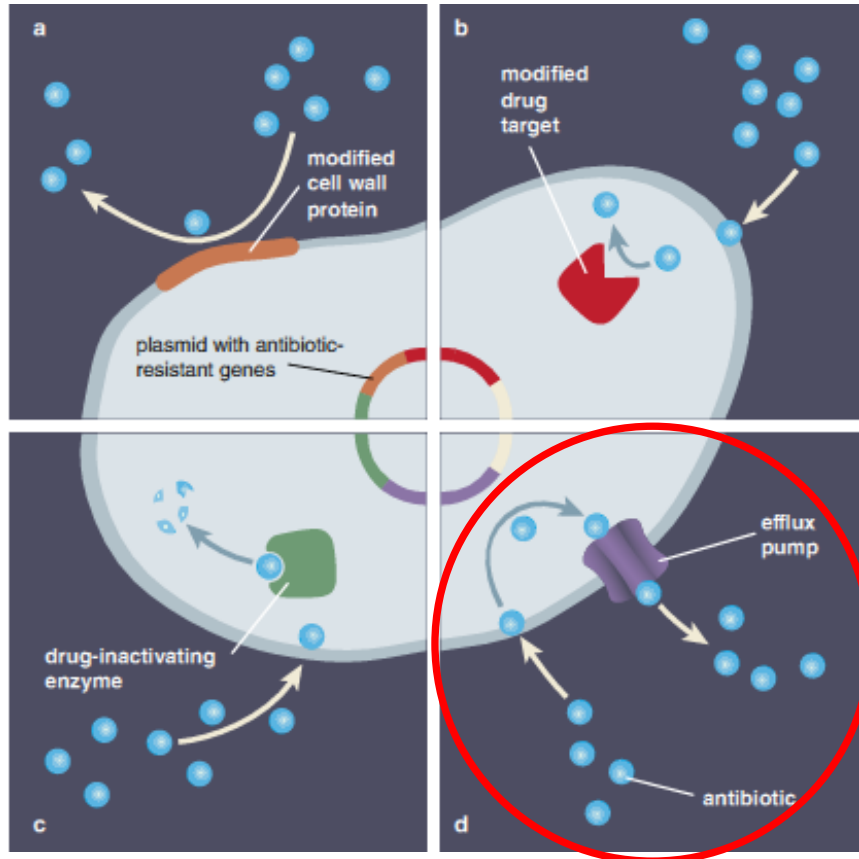


OmpK36
OmpK35



Μεταβολή διαπερατότητας

Αυξημένη απέκκριση

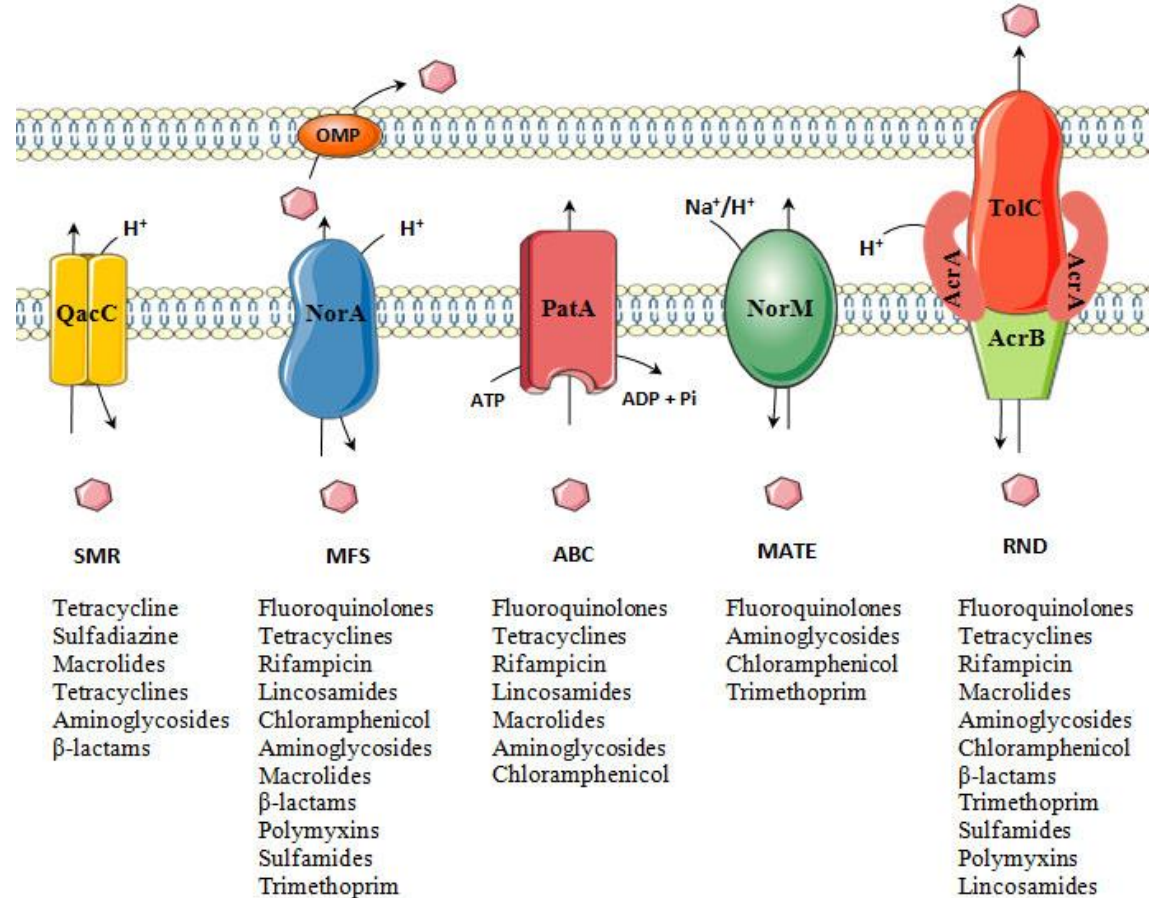


Παραδείγματα

- ▶ Enterobacterales – τετρακυκλίνες
 - ▶ Ο κύριος μηχανισμός αντοχής στην τιγκεκυκλίνη
 - ▶ Η αντοχή δημιουργείται
 - Κατά τη διάρκεια της θεραπείας με τιγκεκυκλίνη
 - Χωρίς προηγούμενη χρήση της τιγκεκυκλίνης
- ▶ Enterobacterales – χλωραμφαινικόλη
- ▶ *Staphylococci* – μακρολίδες
- ▶ *S. aureus*, *S. pneumoniae*, Gram (-) - κινολόνες

Αντλίες ενεργητικής εκροής (efflux pumps)

- ▶ Πρωτεΐνες που εντοπίζονται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη όλων των οργανισμών για την αποβολή τοξικών ουσιών
 - ▶ Κωδικοποιούνται από σύστημα γονιδίων οργανωμένων σε ένα οπερόνιο
 - ▶ Η έκφραση τους είναι ιδιοσυστασιακή, επαγωγίμη ή σιωπηλή
 - ▶ Αφορούν πολλές ομάδες αντιβιοτικών
 - ▶ Η συνύπαρξη διάφορων τύπων αντλιών προκαλεί υψηλού επιπέδου αντοχή
 - ▶ Απαιτούν μια πηγή ενέργειας για να λειτουργήσουν
 - ▶ Ταξινομούνται με βάση την αμινοξική αλληλουχία και την πηγή ενέργειας που χρησιμοποιούν (ATP ή διαφορά δυναμικού)
- **SMR:** the **S**mall **M**ultidrug **R**esistance family
 - **MFS:** the **M**ajor **F**acilitator **S**uperfamily
 - **ABC:** **A**T**P**-**B**inding **C**assette superfamily
 - **MATE:** the **M**ultidrug **A**nd **T**oxic compound **E**xtrusion family
 - **RND:** the **r**esistance-**N**odulation-**D**ivision family



RND Efflux pumps και αντοχή στην τιγκεκυκλίνη

- ▶ Η αντοχή οφείλεται σε μεταλλάξεις στα γονίδια που κωδικοποιούν τους ρυθμιστές των αντλιών
- ▶ Η μετάλλαξη του ρυθμιστή οδηγεί σε υπερέκφραση των αντλιών

▶ *Klebsiella pneumoniae*

- ▶ RamA ενεργοποιεί την αντλία AcrAB
 - ▶ Από το AcrAB εκρέουν οι τετρακυκλίνες, οι β-λακτάμες, η χλωραμφενικόλη και οι κινολόνες



▶ *Acinetobacter baumannii*

- ▶ AdeRS ρυθμίζει την AdeABC
- ▶ AdeN ρυθμίζει την AdeIJK
 - ▶ Από τα AdeABC & AdeIJK εκρέουν οι τετρακυκλίνες, οι αμινογλυκοσίδες, η χλωραμφενικόλη, οι κινολόνες και η τριμεθοπρίμη

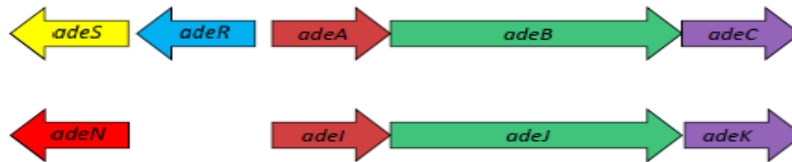


Συμμετοχή των IS elements στη ρύθμιση των efflux pumps του *Acinetobacter*

Table 4. Overview of ISs and other differences in the efflux pump regulators *adeS* and *adeN* in tigecycline-resistant (MIC >2 mg/L) *A. baumannii* isolates

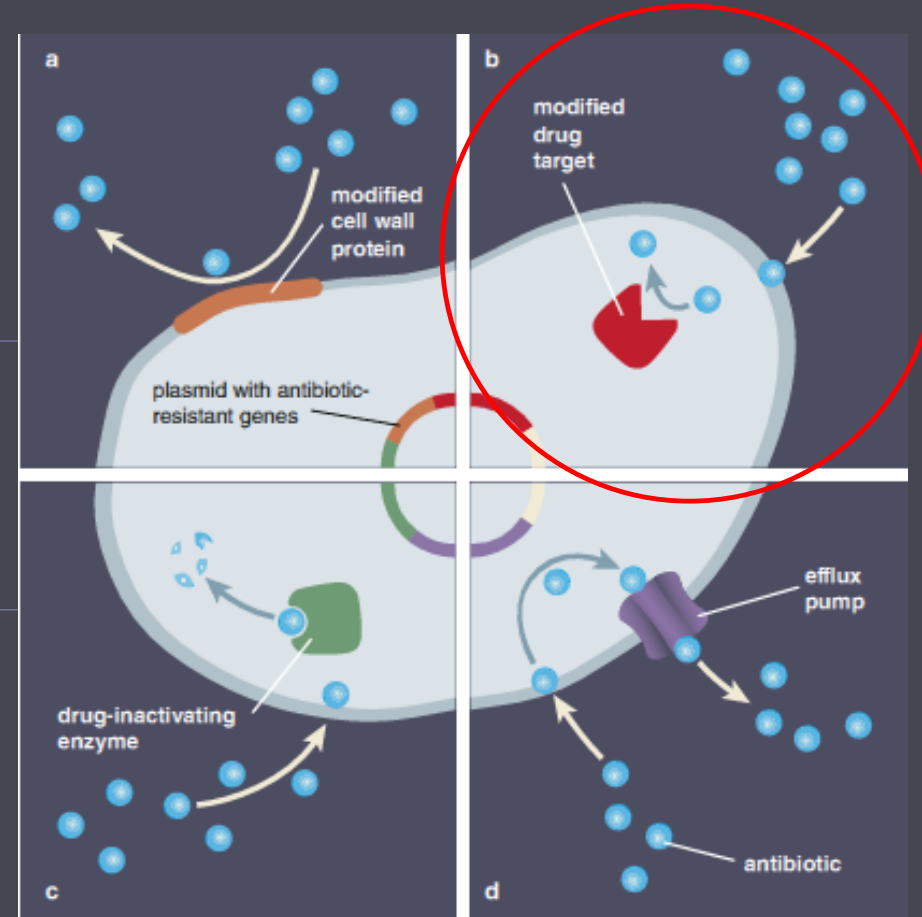
Genetic modification	Number of isolates	
	<i>adeS</i>	<i>adeN</i>
IS <i>Aba1</i>	3	18
IS <i>Aba27</i>	0	1
IS <i>Aba125</i>	0	1
IS <i>Aba1</i> insertion in intergenic region of <i>adeRS</i>	1	0
<i>adeRSABC</i> missing or truncated	2	0
1-nucleotide deletion	0	6
6-nucleotide insertion	0	2
Premature stop codon	0	3

Η εισδοχή ενός IS στο γονίδιο του ρυθμιστή έχει σαν αποτέλεσμα το “σπάσιμο” του, που οδηγεί σε ελεύθερη έκφραση της αντλίας

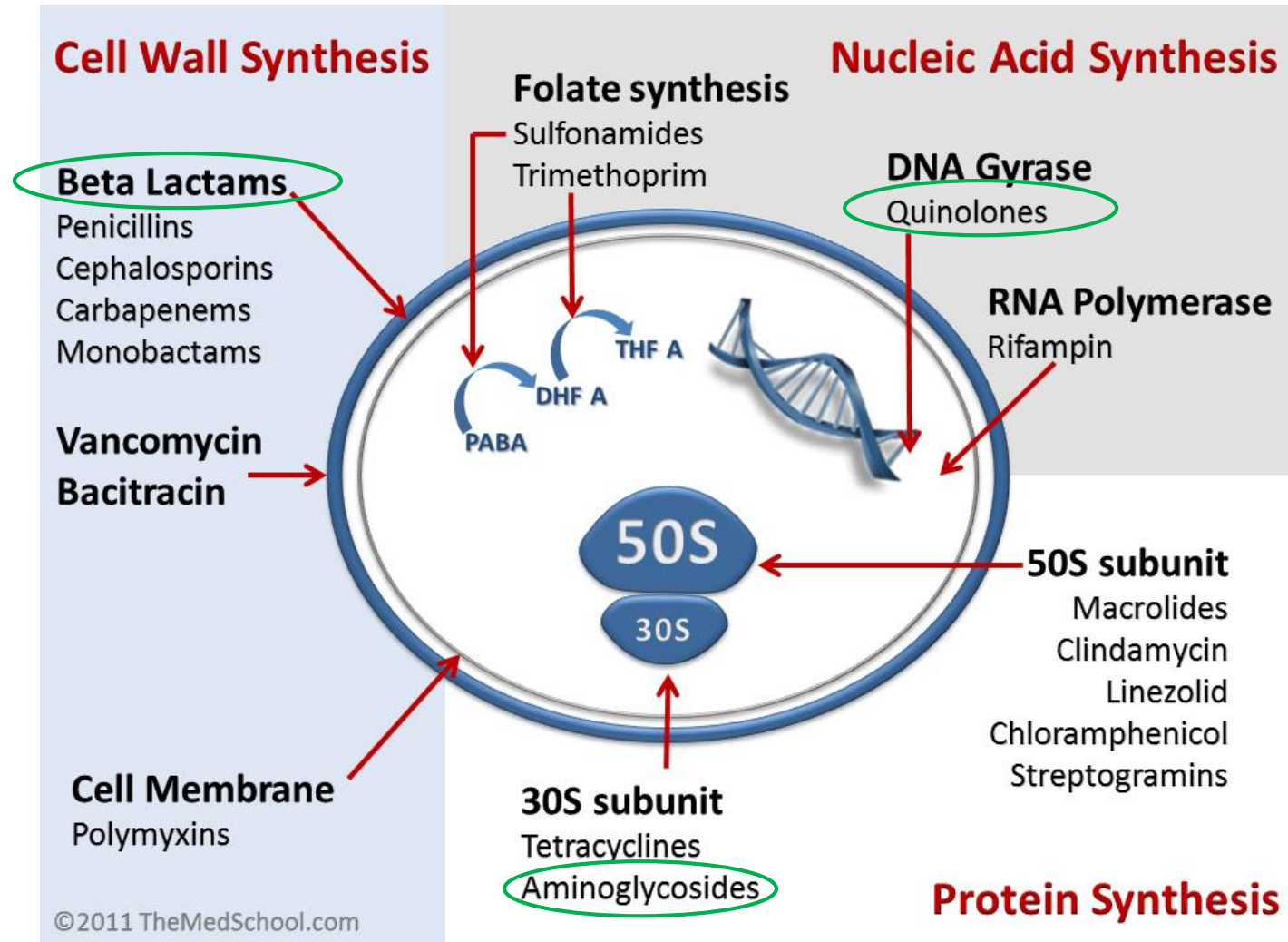


Τροποποίηση στόχου

Κινολόνες: μεταλλάξεις στα *gyrA*, *parC*
Αμινογλυκοσίδες: μεθυλίωση 16S rRNA
β-λακτάμες: *mecA* (MRSA)

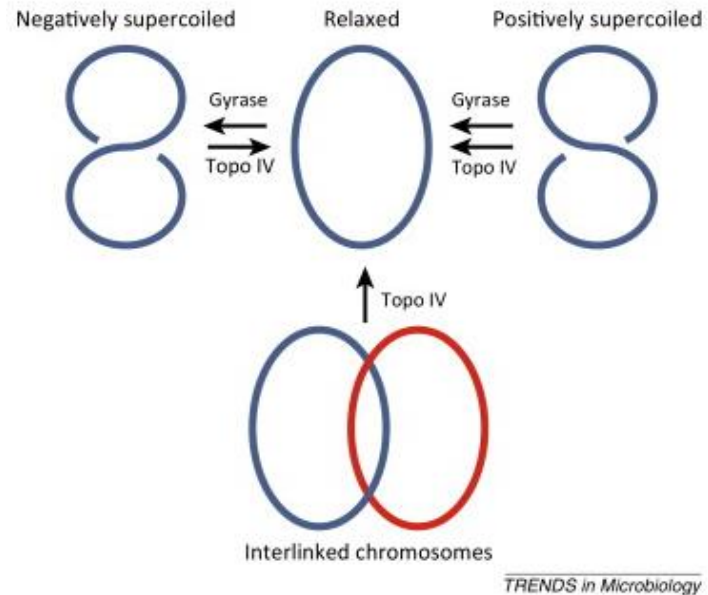


Στόχοι δράσης αντιβιοτικών



Κινολόνες: δράση και μηχανισμοί αντοχής

Δράση των τοποϊσομεράσεων τύπου II

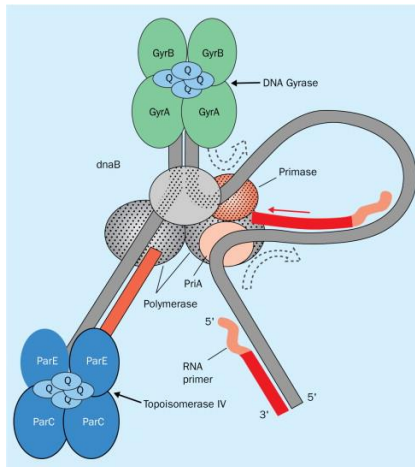


- DNA γυράση → αρνητική υπερελίκωση
- Τοποϊσομεράση IV → θετική υπερελίκωση
→ διαχωρισμό θυγατρικών χρωμοσωμάτων

- ▶ Οι κινολόνες αναστέλλουν την δράση της DNA γυράσης και της τοποϊσομεράσης IV, οι οποίες ελέγχουν την υπερελίκωση του χρωμοσώματος
- ▶ Δημιουργείται ένα σύμπλεγμα κινολόνης-ενζύμου-DNA που οδηγεί σε μειωμένη αντιγραφή του DNA και κυτταρικό θάνατο
- ▶ Ο πρωτεύον στόχος (DNA γυράση ή τοποϊσομεράση IV) ποικίλλει ανάλογα με το βακτηριακό είδος και την φθοροκινολόνη
- ▶ Γενικά, ο βασικός στόχος στα Gram (-) είναι η DNA γυράση, ενώ στα Gram (+) η τοποϊσομεράση IV

Μηχανισμοί αντοχής στις κινολόνες

- ▶ Η DNA γυράση και η τοποϊσομεράση IV είναι τετραμερή ένζυμα που αποτελούνται από δύο GyrA και δύο GyrB υπομονάδες η πρώτη και δύο ParC και δύο ParE η δεύτερη
- ▶ Αντοχή προκύπτει από μεταλλαγές στις υπομονάδες
 - ▶ Κυρίως στα *gyrA* και *parC*
 - ▶ Σταδιακή αύξηση του επιπέδου της αντοχής (MIC) προκύπτει από διαδοχικές μεταλλαγές στους πρωταρχικούς και δευτερεύοντες στόχους



<i>gyrA</i>		<i>parC</i>		MICs (mg/L)	
Ser-83	Asp-87	Ser-80	Glu-84	Nal	Cip
Leu	-	-	-	128	0.25
Leu	-	-	-	64	0.25
Leu	-	-	-	128	0.25
Leu	-	-	-	512	0.25
Leu	-	-	-	512	0.5
Leu	-	-	-	64	0.125
Ile	-	-	-	512	0.5
-	Gly	-	-	128	0.125
-	Tyr	-	-	64	0.125
Leu	Gly	-	-	512	1
Leu	Asn	Ile	-	512	64
Leu	Asn	Ile	-	512	8
Leu	Asn	Ile	-	512	64
Leu	Asn	Ile	-	512	16
Leu	Asn	Ile	-	512	16
Leu	Asn	Ile	-	512	8
Leu	Asn	Ile	-	512	64
Leu	Asn	Ile	-	512	16
Leu	Asn	Ile	-	512	64
Leu	Asn	Ile	-	512	64
Leu	Asn	Ile	-	512	64
Leu	Asn	Ile	Lys	512	8
Leu	Asn	Ile	Val	512	64
Leu	Asn	Ile	Gly	512	64
Leu	Asn	Ile	Lys	512	64
Ser	Asp	Ser	Glu	4	0.032

Μεταλλαγές που έχουν ανιχνευθεί στα *gyrA*, *gyrB*, *parC* & *parE*

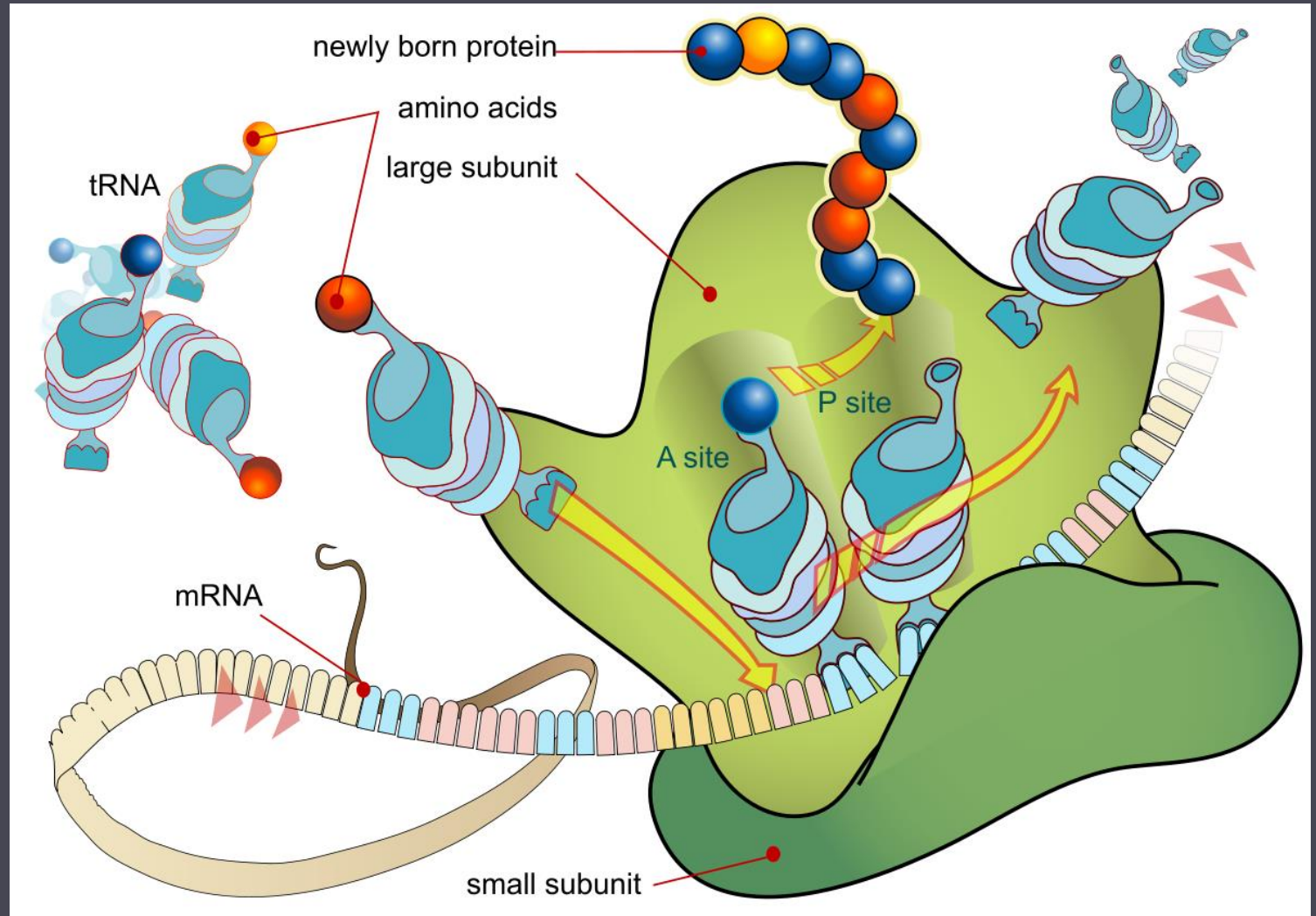
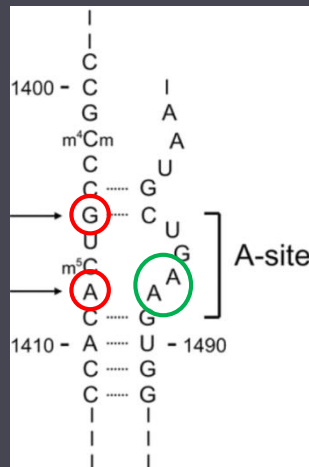
Species	<i>gyrA</i>	<i>gyrB</i>	<i>parC</i>	<i>parE</i>
<i>E. coli</i> *	Tyr50Phe Ala51Val Ala67Ser Gly78Cys Ser80Arg/Ile Gly81Asp/Cys Asp82Gly Ser83Ala/Ile/Leu/Trp/Tyr/Val Ala84Pro/Val Asp87Asn/Glu/Gly/His/Tyr/Val Gln106Arg/His Ala119Glu Ala196Glu Arg237His	Asp426Asn Lys447Glu Ser492Asn	Ala56Thr Ser57Thr Asp69Glu Gly78Asp Ser80Arg/Ile Ser83Leu Glu84Ala/Gly/Lys/Val Cys107Trp Ala108Thr/Val	Leu416Phe Ile444Phe Leu445His/Ile Ser458Ala/Pro/Thr/Trp Glu460Asp/Lys Ile464Phe Ile529Leu
<i>Salmonella</i> spp.†	Ala67Pro Asp72Gly Val73Ile Gly81Asp/Cys/His/Ser Asp82Asn/Gly Ser83Ala/Leu/Phe/Thr/Tyr Asp87Asn/Gly/Lys/Tyr Leu98Val Ala119Glu/Ser/Val Ala131Gly Glu133Gly Glu139Ala	Tyr420Cys Gly434Leu Gly435Ala/Glu/Val Arg437Leu Gly447Cys Ser464Phe/Tyr Glu466Asp Ala468Glu Leu470Met	Glu511Lys Thr57Ser Thr66Ile Gly72Cys Gly78Asp Ser80Arg/Ile Glu84Gly/Lys Phe115Ser Ala141Ser	Glu453Gly Ser458Pro Glu459Thr His461Tyr Gly468Cys Ser493Phe Ala498Thr Arg507Ile Val512Gly Lys514Asn

Species	<i>gyrA</i>	<i>gyrB</i>	<i>parC</i>	<i>parE</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ‡	Asp87Ala/Asn/Gln/Glu/Gly/His/Tyr Ser80Ile Ser83Ile/Leu/Phe/Tyr Ser88Ile/Phe/Tyr	-	Ser80Arg/Ile/Met Glu84Gly/Val	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> §,	His70Arg Ala74Ser/Glu/Gly/Leu/Val Thr80Ala Asp84Gly Gly88Ala/Cys Asp89Asn/Gly Ser91Ala/Pro Ile92Met Asp94Ala/Asn/Gly/His/Phe/Tyr/Val Pro102His Ala126Arg Asp500His Asp533Ala Asn538Asp	Arg485Cys Ser486Phe Asp(472=495=500)Ala/Asn/His Gly509Ala Asp505Ala Asn(510=533=538)Asp/Lys/Thr/Ile Thr(500=511=539)Asn/Pro Glu(501=540)Asp/Val Ala(504=515=543)Thr/Val Gln549His Pro592Ser		
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ¶	Ala177Thr Gly54Val Val71Ile Asp80Ala Glu85Gly/Lys Ser81Phe/Tyr Trp93Ser	Val432Asp Asp435Asn/Glu/Ile Glu474Lys	Ser52Gly Gly77Glu Asp78Asn Ser79Phe/Tyr Asp83Asn/Gly/Tyr Asn91Asp Gly128Asp Glu135Asp Lys137Asn/Asp Ala142Ser	Asp435Asn Pro454Ser Ile460Val Glu474Lys

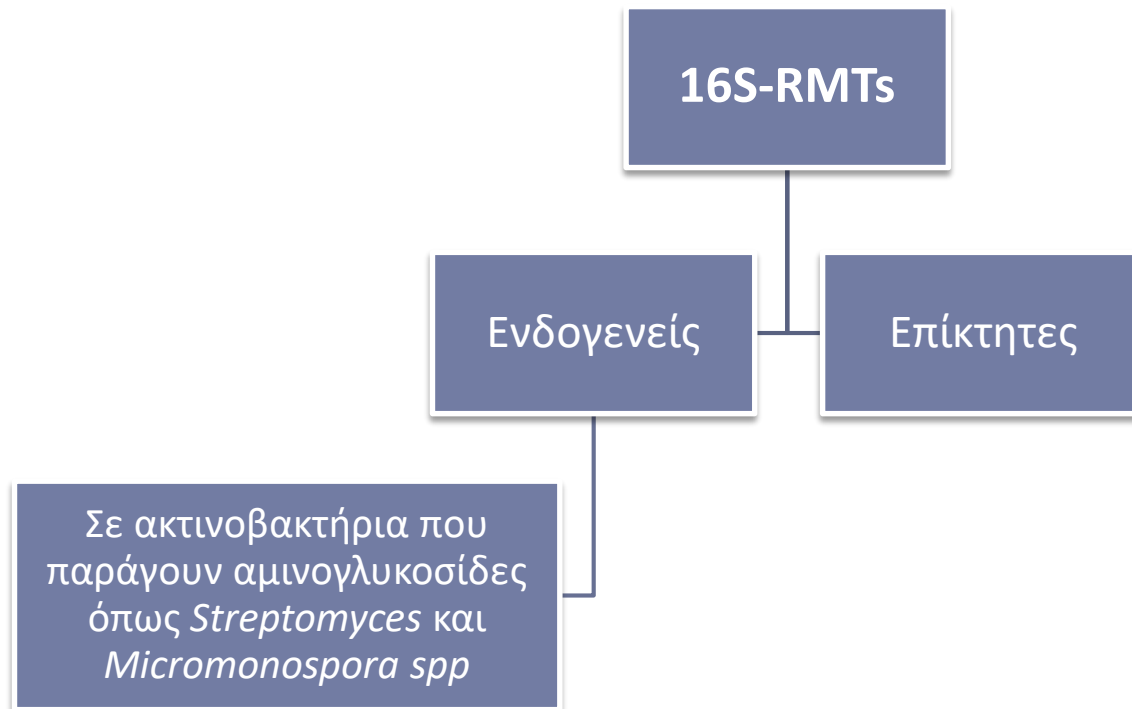
Μεθυλίωση του 16S rRNA

Οι αμινογλυκοσίδες προσδένονται στην 30S υπομονάδα του βακτηριακού ριβοσώματος και εμποδίζουν τη μεταφορά του tRNA από την θέση A στη θέση P, αποτρέποντας την επιμήκυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας

Οι 16S rRNA μεθυλάσες μεθυλιώνουν συγκεκριμένα νουκλεοτίδια στην A θέση του 16S rRNA με αποτέλεσμα να μην μπορούν να προσδεθούν οι αμινογλυκοσίδες



16S rRNA μεθυλάσεις



Ταξινόμηση των ενδογενών 16S rRNA Μεθυλασών

- **N7-G1405*** (Kgm)16S-RMTases
 - ❑ **KgmB** (kanamycin-gentamicin methyltransferase)(*Streptoalloteichus tenebrarius*)
 - ❑ **GrmA** (gentamicin-resistance methyltransferase) (*Micromonospora echinospora*)
 - ❑ **Sgm** (sisomicin-gentamicin methyltransferase) (*Micromonospora zionensis*)
 - ❑ **Krm** (kanamycin-resistance methyltransferase) (*Frankia* sp)
- **N1-A1408*** (Kam)16S-RMTases
 - ❑ **KamA** (kanamycin-apramycin methyltransferase) (*Streptomyces tenjimariensis*)
 - ❑ **KamB** (*Streptoalloteichus tenebrarius*)
 - ❑ **KamC** (*Saccharopolyspora hirsuta*)

* nucleotide position to be modified at the A-site of 16S rRNA

Πρώτη περιγραφή πλασμιδιακής εξωγενούς 16S rRNA μεθυλάσης (RmtA)

Acquisition of 16S rRNA methylase gene in *Pseudomonas aeruginosa*

Keiko Yokoyama, Yohei Doi, Kunikazu Yamane, Hiroshi Kurokawa, Naohiro Shibata, Keigo Shibayama, Tetsuya Yagi, Haru Kato, Yoshichika Arakawa

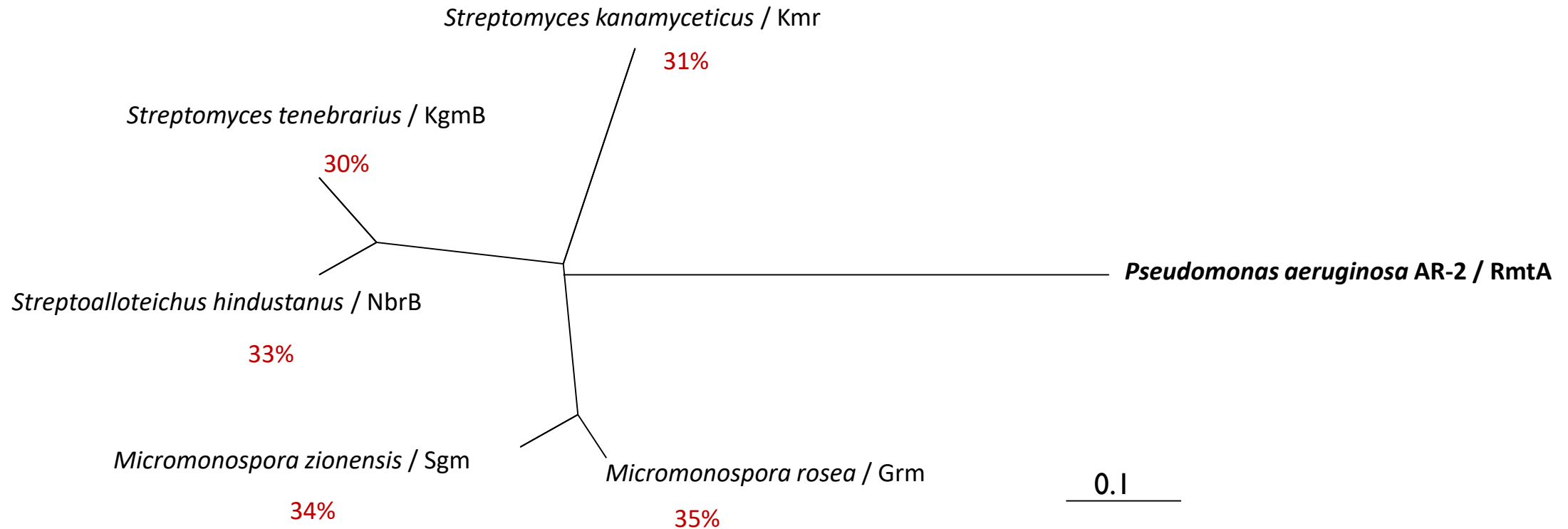
THE LANCET • Vol 362 • December 6, 2003 • www.thelancet.com

- ▶ Το στέλεχος *P. aeruginosa* AR-2 απομονώθηκε από ένα κλινικό δείγμα (πτύελα) το 1997
- ▶ Το στέλεχος *P. aeruginosa* έδειχνε πολύ υψηλού επιπέδου αντοχή σε όλες τις κλινικά χρησιμοποιούμενες αμινογλυκοσίδες

	<i>P aeruginosa</i>	<i>E coli</i> XL1-blue			<i>P aeruginosa</i> PA01		<i>P aeruginosa</i>	
	AR-2	pBCH9	pBCH9-13	pBC-SK+	pTORmtA	pT0001	Transconjugant	105*
4,6-substituted deoxystreptamine antimicrobials								
Kanamycin groups								
Arbekacin	>1024	>1024	>1024	0.5	>1024	1	>1024	4
Amikacin	>1024	>1024	>1024	1	>1024	8	>1024	4
Kanamycin	>1024	>1024	>1024	2	>1024	128	>1024	>1024
Tobramycin	>1024	>1024	512	1	>1024	1	>1024	256
Gentamicin groups								
Gentamicin	>1024	>1024	1024	0.5	>1024	256	>1024	>1024
Sisomicin	>1024	512	>1024	0.5	>1024	256	>1024	>1024
Isepamicin	>1024	>1024	>1024	0.5	>1024	4	>1024	8
4,5-substituted deoxystreptamine antimicrobials								
Neomycin								
Neomycin	>1024	4	>1024	4	512	16	>1024	>1024
Other aminoglycosides								
Streptomycin	128	4	2	4	32	32	>1024	>1024
Hygromycin B	1024	64	2	32	512	512	1024	512
Others								
Ceftazidime	2	0.5	0.25	0.25	ND	ND	128	32
Imipenem	1	0.25	0.25	0.125	ND	ND	16	16
Ciprofloxacin	0.25	0.125	0.125	0.125	ND	ND	64	64

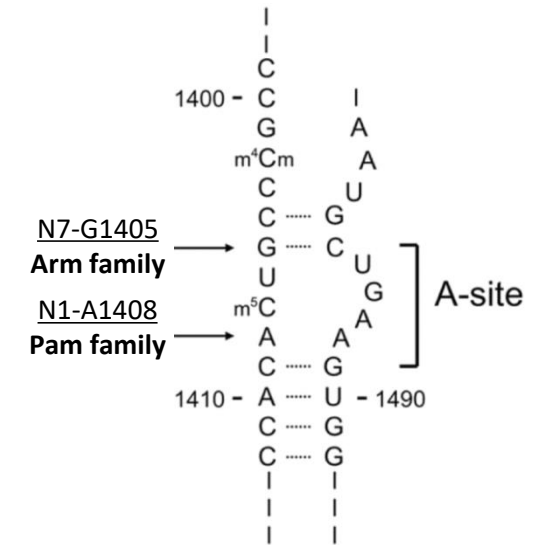
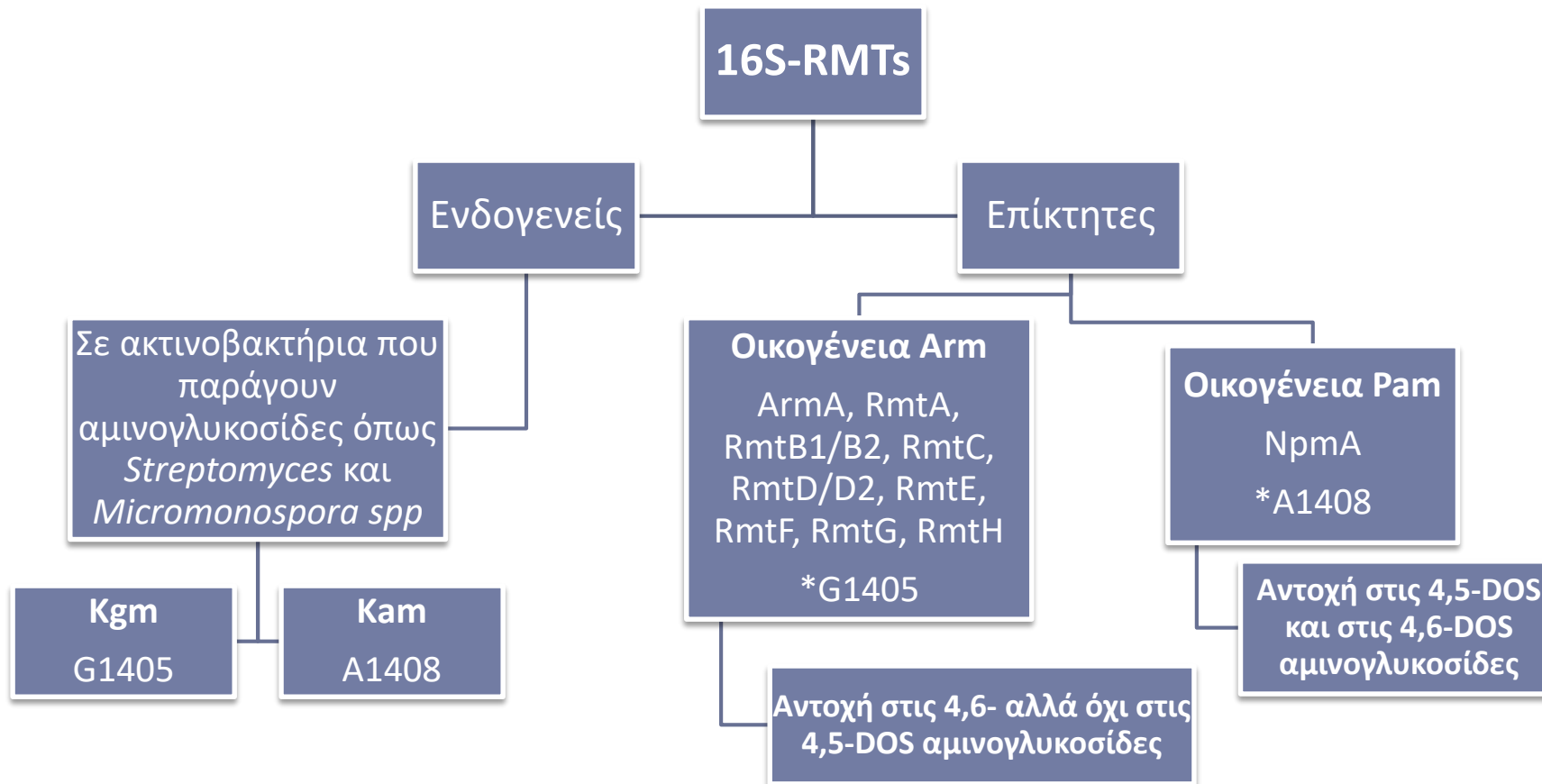
Οι συγγραφείς ανέφεραν έναν εντελώς νέο μηχανισμό για την αντοχή στις αμινογλυκοσίδες - την ενζυμική μεθυλίωση του 16S rRNA σε Gram-αρνητικά βακτήρια

Πρώτη περιγραφή πλασμιδιακής εξωγενούς 16S rRNA μεθυλάσης (RmtA)



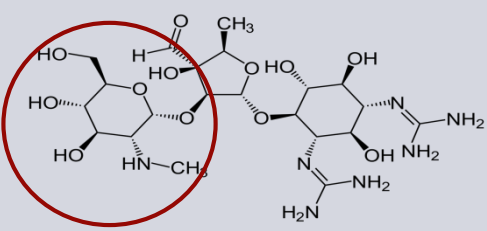
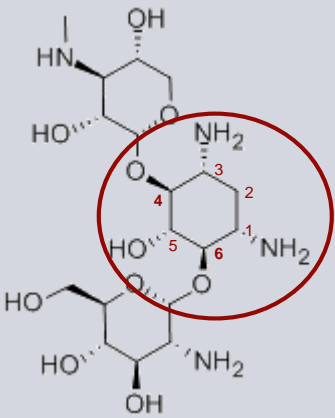
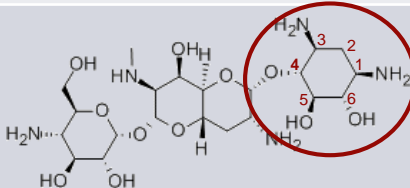
- ▶ Το προϊόν του γονιδίου *rmtA*, η RmtA, έδειξε σημαντική ομοιότητα με τις 16S rRNA μεθυλάσες που προστατεύουν το 16S rRNA στους ακτινομύκητες που παράγουν αμινογλυκοσίδες όπως τα *Streptomyces spp* και *Micromonospora spp*.

16S rRNA μεθυλάσεις



4,6 DOS	4,5 DOS
<u>Kanamycin</u> Tobramycin Amikacin <u>Gentamicin</u> Sisomicin Netilmicin Plazomicin	<u>Neomycin</u>

Δομική Ταξινόμηση Αμινογλυκοσιδών

Aminoglycoside-aminocyclitols		
Streptidine	2-deoxystreptamine (DOS)	
	4,5 disubstituted	4,6 disubstituted
Streptomycin	<p><u>Neomycin</u> Paromomycin Butirosin (A,B) Ribostamycin Lividomycin</p> 	<p><u>Kanamycin</u> Tobramycin Amikacin Dibekacin Arbekacin <u>Gentamicin</u> Sisomicin Netilmicin Isepamicin Plazomicin</p> 
	Monosubstituted	
	Apramycin	
		



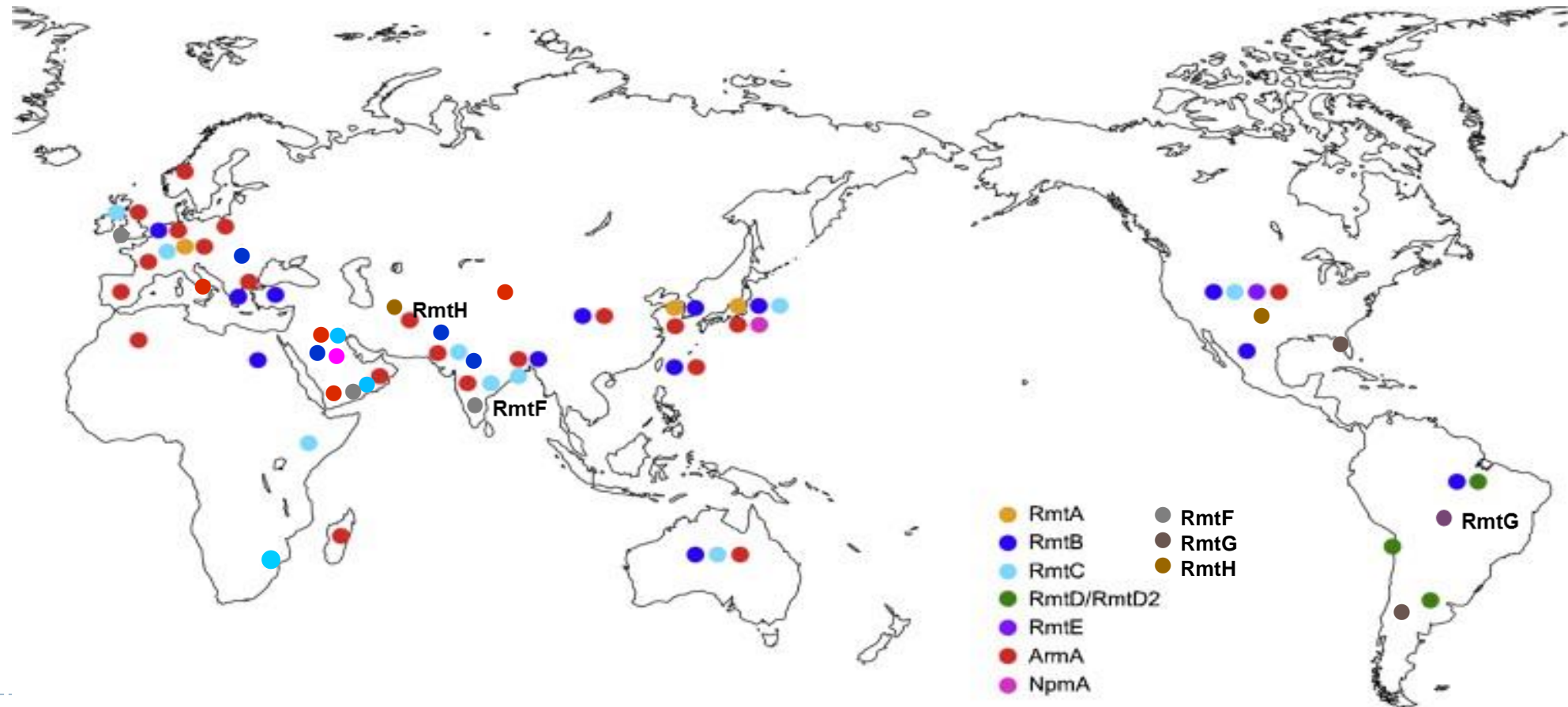
Πρώτη απομόνωση Gram-αρνητικών βακτηρίων που παρήγαγαν επίκτητη 16S-rRNA μεθυλάση

Date	16S-RMT	Bacterial species	Country	Specimen	Mobile element	Coexisting resistance genes	Reference
1996	<i>armA</i>	<i>C.freundii</i>	Poland	Clinical isolate	ISCR1	<i>bla</i> _{CTX-M-3} , <i>bla</i> _{TEM-1} , <i>aacC2</i> , <i>aadA2</i> , <i>dfrA12</i> , <i>sul1</i>	Golebiewski et al, 2007
1997	<i>rmtA</i>	<i>P.aeruginosa</i>	Japan	Sputum	ky		Yokoyama et al, 2003
2002	<i>rmtB</i>	<i>S.marcescens</i>	Japan	Sputum	Tn3	<i>bla</i> _{TEM-1} , <i>aadA2</i>	Doi et al, 2004
2003	<i>rmtC</i>	<i>P.mirabilis</i>	Japan	Throat swab	ISEcp1	<i>aphA1</i>	Wachino et al, 2006
2003	<i>npmA</i>	<i>E.coli</i>	Japan	Urine	IS26		Wachino et al, 2007
2005	<i>rmtD</i>	<i>P.aeruginosa</i>	Brazil	Urine		<i>bla</i> _{SPM-1}	Doi et al, 2007
2007	<i>rmtD2</i>	<i>E.aerogenes</i>	Argentina	Not reported	ISCR14	<i>cat</i> , <i>dfrA12</i> , <i>aadA2</i> , <i>sul1</i>	Tijet et al, 2011
2010	<i>rmtE</i>	<i>E.coli</i>	USA	Cattle		<i>aph(3')-Ia</i> , <i>aphA7</i> , <i>strA</i> , <i>strB</i>	Davis et al, 2010
2011	<i>rmtF</i>	<i>K. pneumoniae</i>	Réunion Island	Clinical isolate	ISCR5	<i>bla</i> _{NDM-1} , <i>bla</i> _{OXA-1} , <i>aac(6')-Ib</i>	Galimand et al, 2012
2011	<i>rmtG</i>	<i>K. pneumoniae</i>	Brazil	Clinical isolates		<i>bla</i> _{KPC-2} , <i>bla</i> _{CTX-M-15}	Bueno et al, 2013
2009	<i>rmtH</i>	<i>K. pneumoniae</i>	Iraq	Trauma	ISCR2	<i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{SHV-1} , <i>bla</i> _{OXA-1}	O'Hara et al, 2013

Τροποποιούν τον στόχο των αμινογλυκοσιδών (16S rRNA)

Παγκόσμια εξάπλωση των 16S-rRNA μεθυλασών

Συνήθως <1%, στην Ανατολική Ασία 5-10%



Επικράτηση των 16SrRNA μεθυλασών στα Gram (-) στελέχη

Νοέμβριος 2007 – Οκτώβριος 2009
(2 χρόνια) / ένα νοσοκομείο

- ▶ *Klebsiella pneumoniae* (n = 1534)
 - ▶ 3 στελέχη με *rmtB* (0.2%)
 - ▶ 2 KPC-2
 - ▶ 1 DHA-1
- ▶ *E. coli* (n = 1398)
- ▶ *Proteus mirabilis* (n = 734)
 - ▶ 3 στελέχη με *rmtB* (0.4%)
 - ▶ 1 VIM-1
- ▶ *Enterobacter spp.* (n = 414)

Σε 5 νοσοκομεία του λεκανοπεδίου /
πρώτο εξάμηνο του 2016

- ▶ Στελέχη *A.baumannii*
 - ▶ *armA*: 64.8%
- ▶ Στελέχη *P.stuartii*
 - ▶ *rmtB*: 55.1 %
- ▶ Στελέχη *K.pneumoniae*
 - ▶ *rmtB* ή *armA*: 3.9%
- ▶ Στελέχη *E.coli*
 - ▶ *rmtB*: 0.2% (ένα στέλεχος)
- ▶ Όλα τα θετικά στελέχη παρήγαγαν καρβαπενεμάση



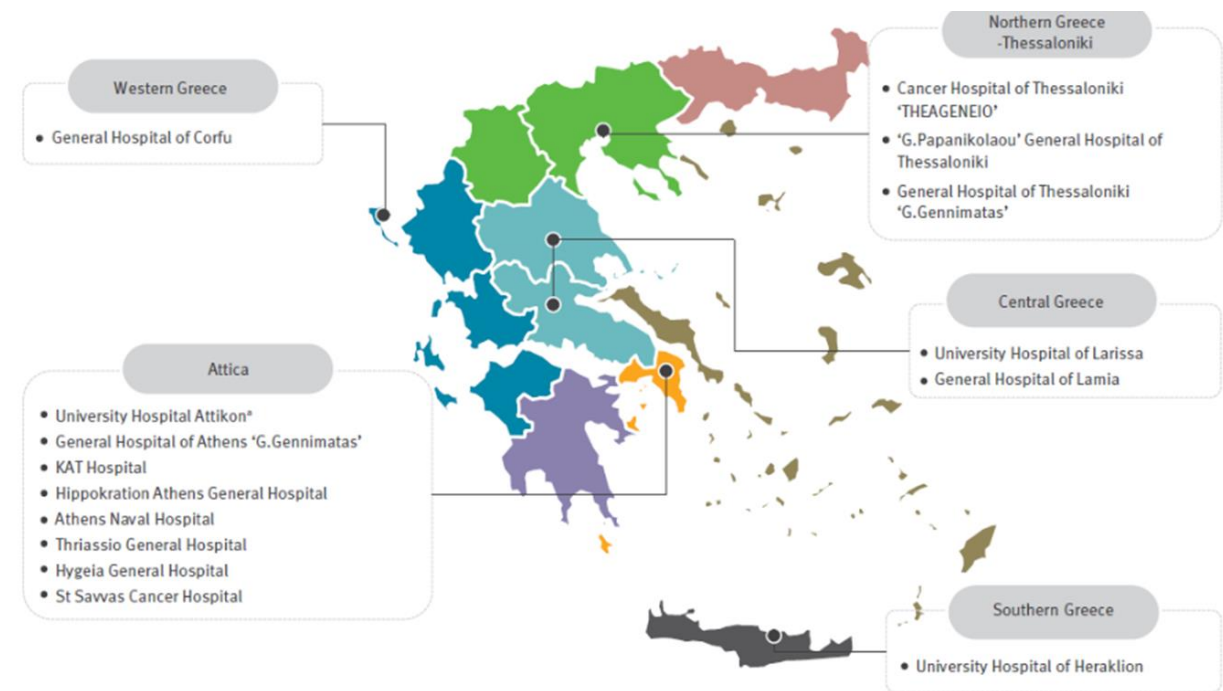
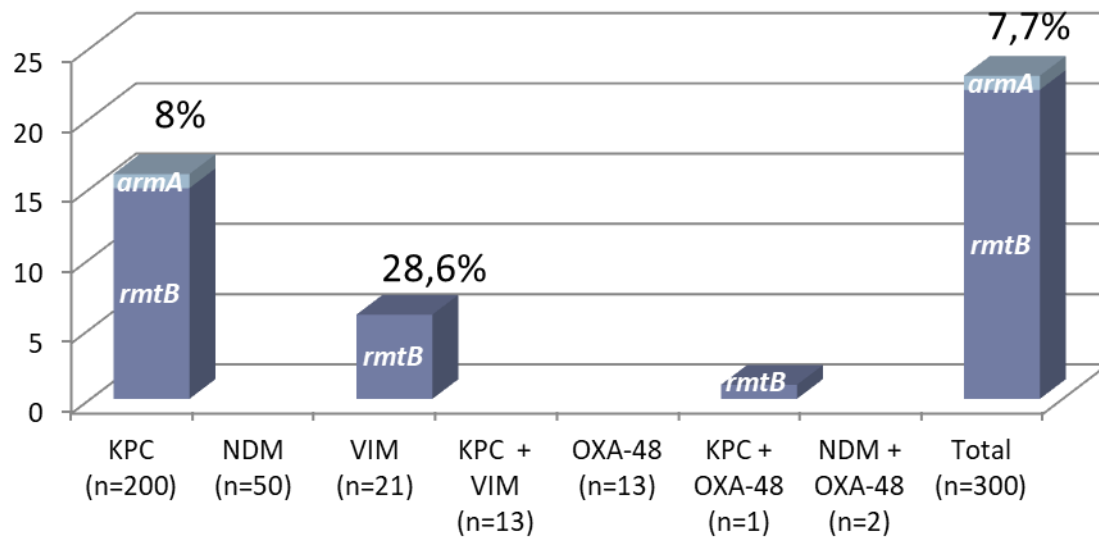
Letter to the Editor

Nosocomial dissemination of *Providencia stuartii* isolates producing extended-spectrum β -lactamases VEB-1 and SHV-5, metallo- β -lactamase VIM-1, and RNA methylase RmtB

Lamprini Galani ^a, Irene Galani ^a, Maria Souli ^a, Ilias Karaiskos ^a, Emanouella Katsouda ^b, Eleni Patrozou ^c, Fotini Baziaka ^a, Charalampos Paskalis ^b, Helen Giamarellou ^{a,*}

- ▶ Giakkoupi P, Tryfinopoulou K, Polemis M, Pappa O, Miriagou V, Vatopoulos A. Circulation of a multiresistant, conjugative, IncA/C plasmid within the nosocomial *Providencia stuartii* population in the Athens area. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015; 82: 62-4
- ▶ Douka E, Perivolioti E, Kraniotaki E, Fountoulis K, Economidou F, Tsakris A, Skoutelis A, Routsis C. Emergence of a pandrug-resistant VIM-1-producing *Providencia stuartii* clonal strain causing an outbreak in a Greek intensive care unit. *Int J Antimicrob Agents*. 2015; 45: 533-6
- ▶ Oikonomou O, Liakopoulos A, Phee LM, Betts J, Mevius D, Wareham DW. *Providencia stuartii* Isolates from Greece: Co-Carriage of Cephalosporin (bla_{SHV-5} , bla_{VEB-1}), Carbapenem (bla_{VIM-1}), and Aminoglycoside ($rmtB$) Resistance Determinants by a Multidrug-Resistant Outbreak Clone. *Microb Drug Resist*. 2016; 22: 379-86

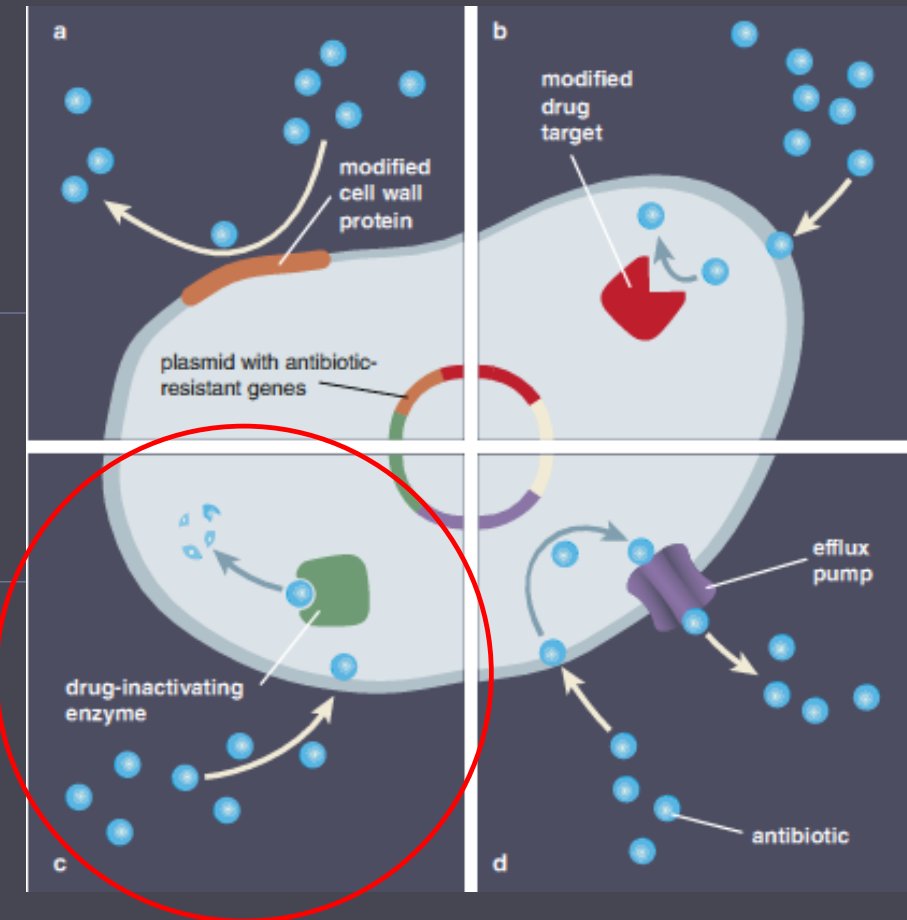
Επικράτηση των 16SrRNA μεθυλασών στις CP- *K.pneumoniae* πανελλαδικά



Ενζυμική αδρανοποίηση

β-λακτάμες: β-λακταμάσες

Αμινογλυκοσίδες: τροποποιητικά ένζυμα



Αντοχή στα β-λακταμικά αντιβιοτικά

▶ β-Λακταμάσες

Κυρίαρχος στα
Gram-αρνητικά

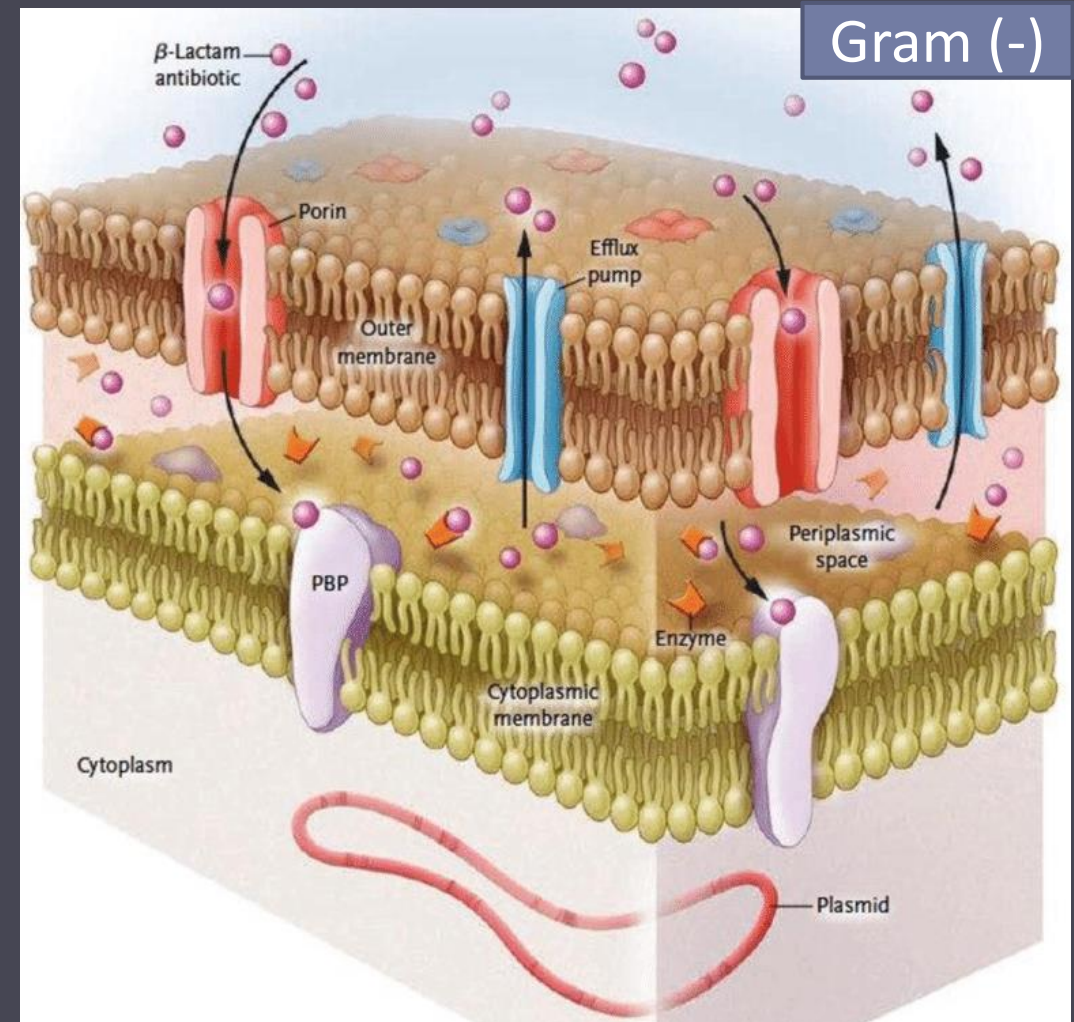
▶ Μειωμένη διαπερατότητα

- ▶ Αντλίες ενεργητικής εκροής
- ▶ Μειωμένη πρόσληψη (πορίνες)

▶ Τροποποίηση PBP's

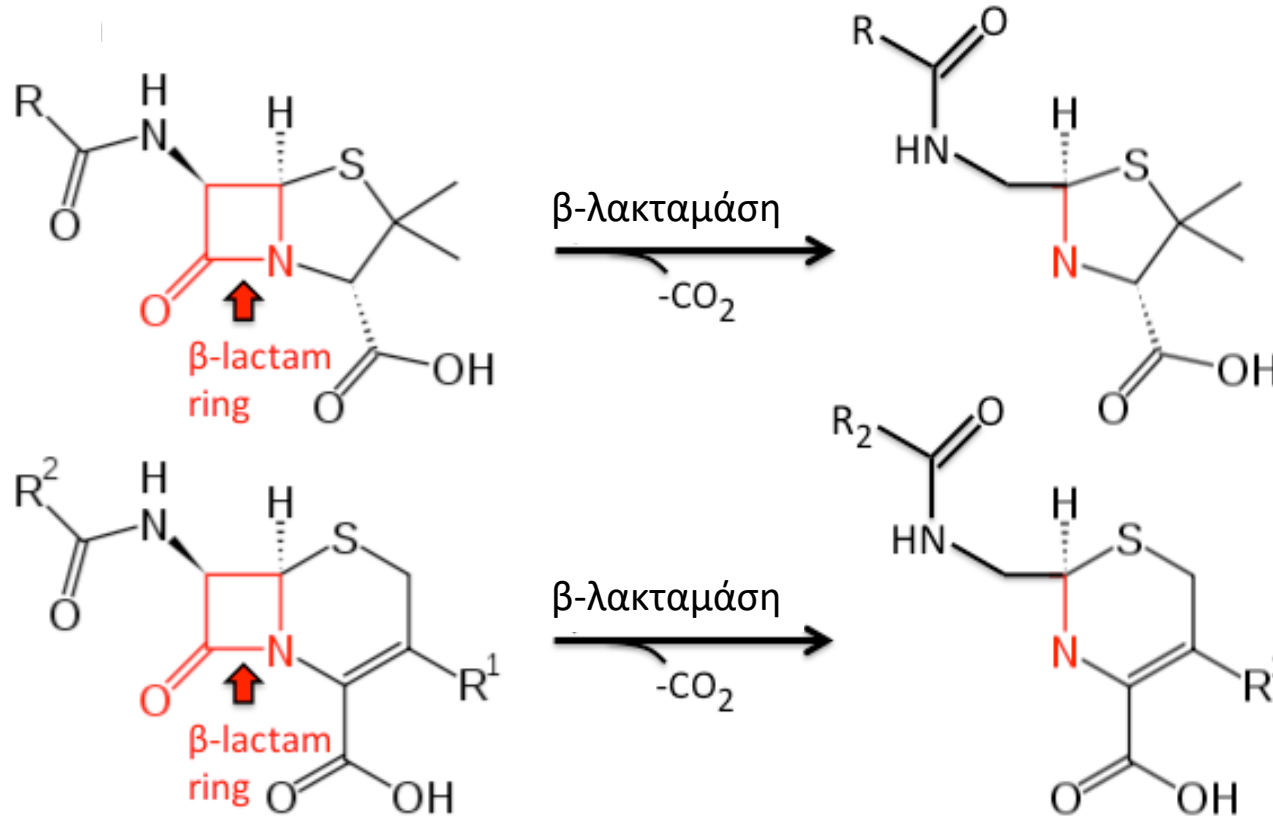
Κυρίαρχος στα
Gram-θετικά

- ▶ Παράκαμψη στόχου (*mecA S.aureus*)



Δομή πυρήνα β-λακταμών & υδρόλυση από β-λακταμάση

Πενικιλίνη



Κεφαλοσπορίνη

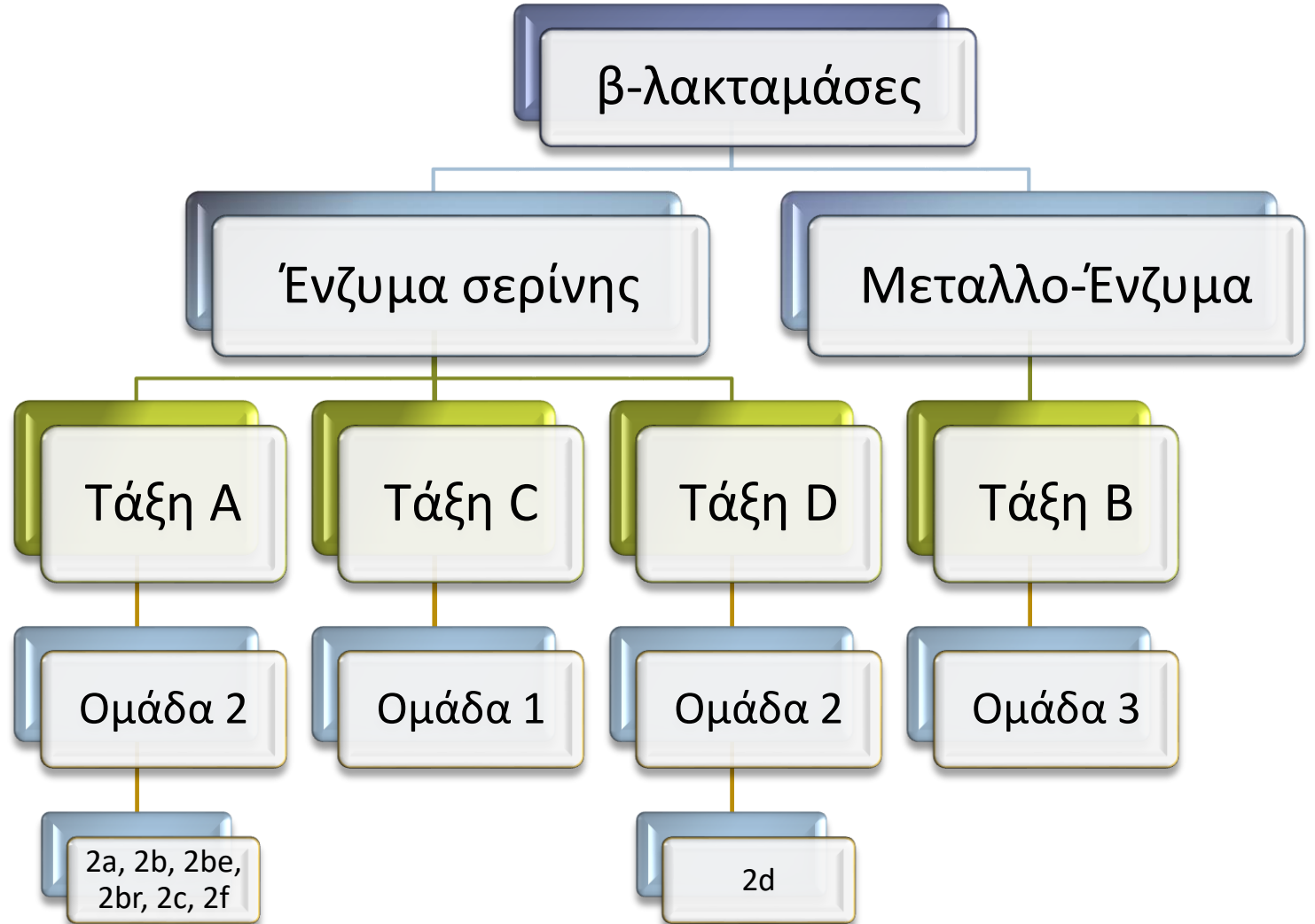
Οι β-λακταμάσες είναι ένζυμα που αδρανοποιούν τις β-λακτάμες, υδρολύοντας τον αμιδικό δεσμό O=C-N του β-λακταμικού δακτυλίου

Ταξινόμηση β-λακταμασών

Ενεργό κέντρο

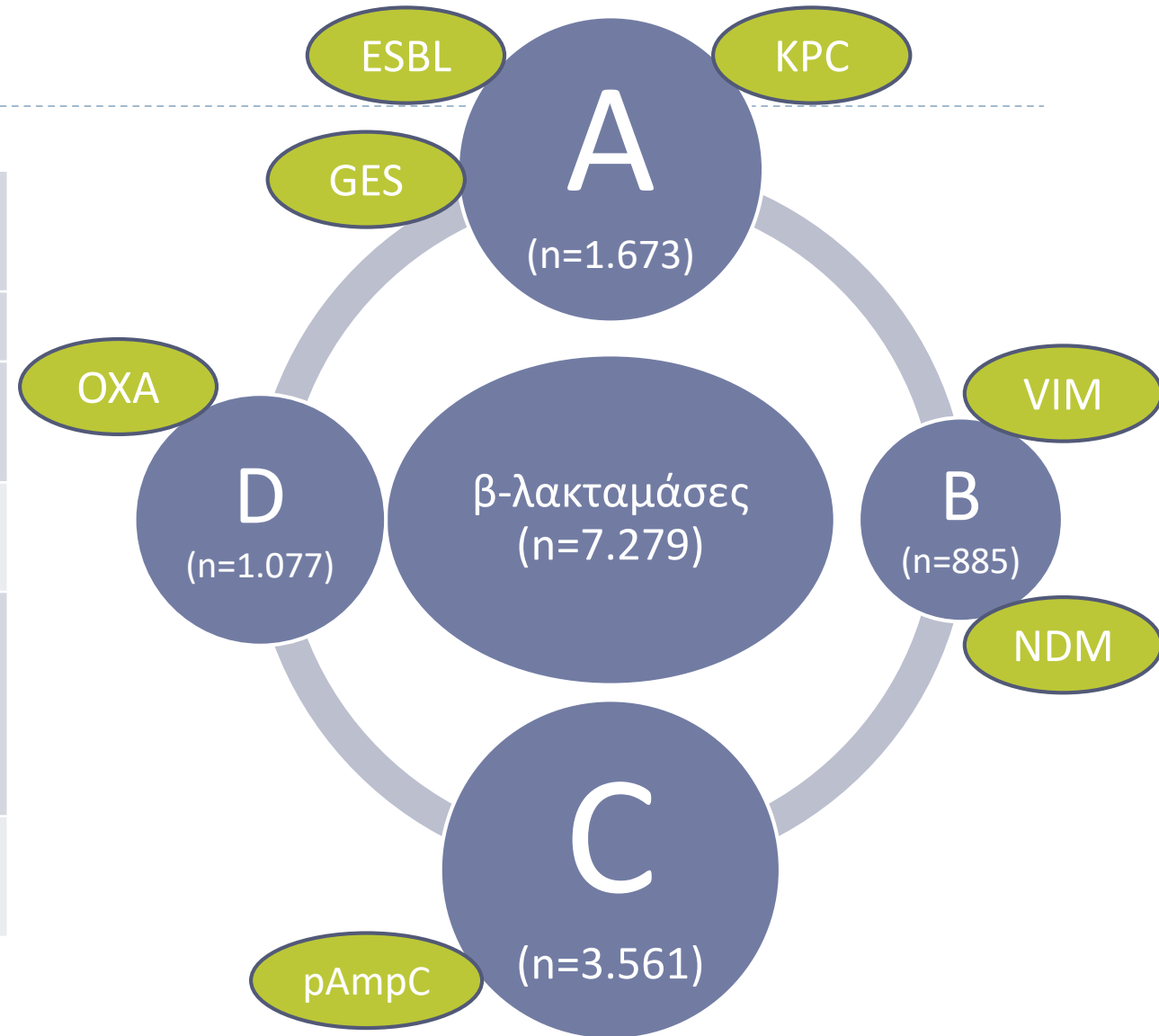
Αμινοξική αλληλουχία
κατά *Ambler*

Λειτουργικές ομάδες
κατά *Bush et al*

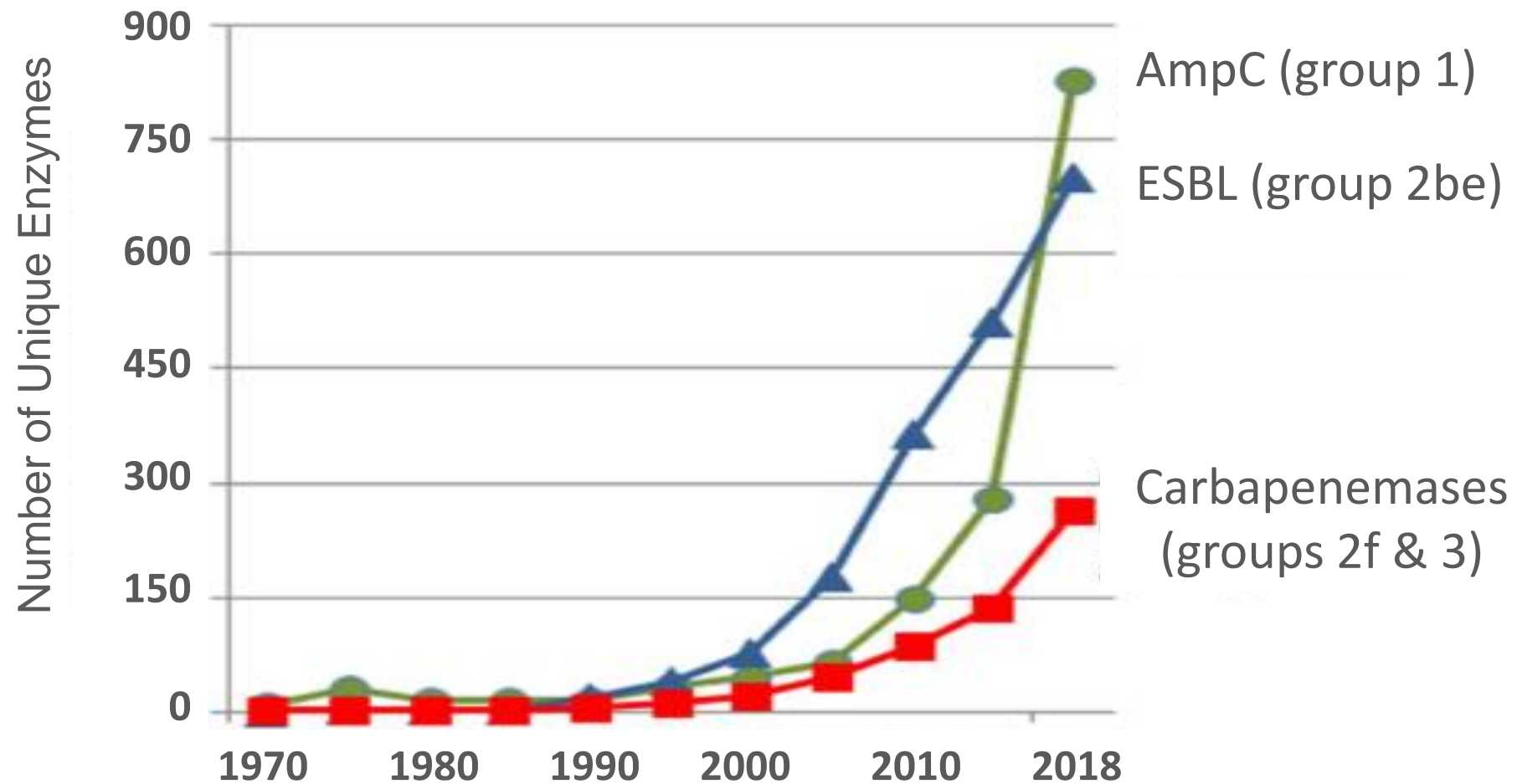


Μοριακή ταξινόμηση των β-λακταμασών κατά Ambler

A	TEM, SHV, CTX-M πλασμιδιακές β-λακταμάσες
	Σταφυλοκοκκικές πενικιλινάσες
	Χρωμοσωμιακές των <i>Klebsiella</i> , <i>P.vulgaris</i> , <i>B.fragilis</i>
B	Μεταλλο-β-λακταμάσες
C	Χρωμοσωμιακές κεφαλοσπορινάσες των Gram-αρνητικών
D	OXA-τύπου πλασμιδιακές β-λακταμάσες

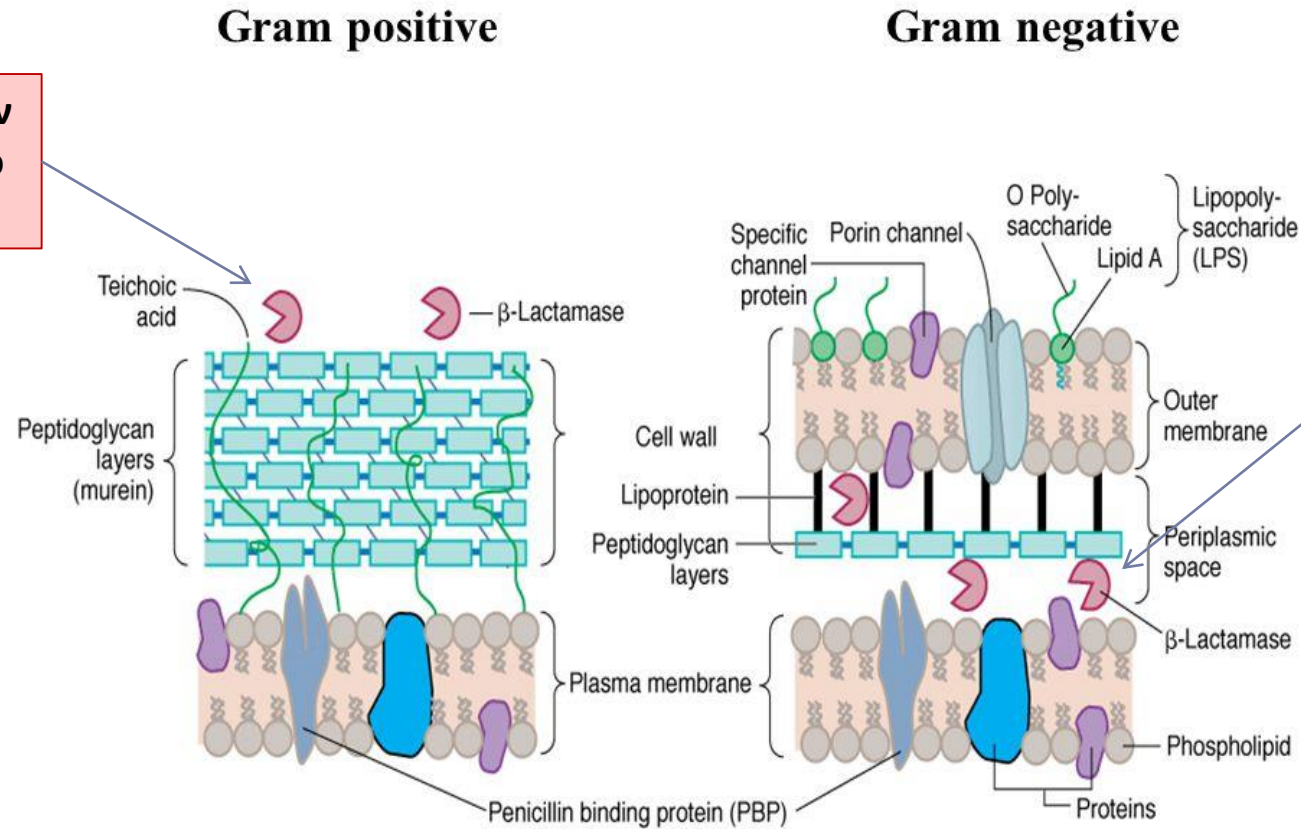


Αύξηση του αριθμού των β-λακταμασών (ESBL, carbapenemases, AmpC) από το 1970 έως σήμερα



Η θέση δράσης των β-λακταμασών

β-λακταμάσες στον
εξωκυττάριο χώρο
(εξωένζυμα)

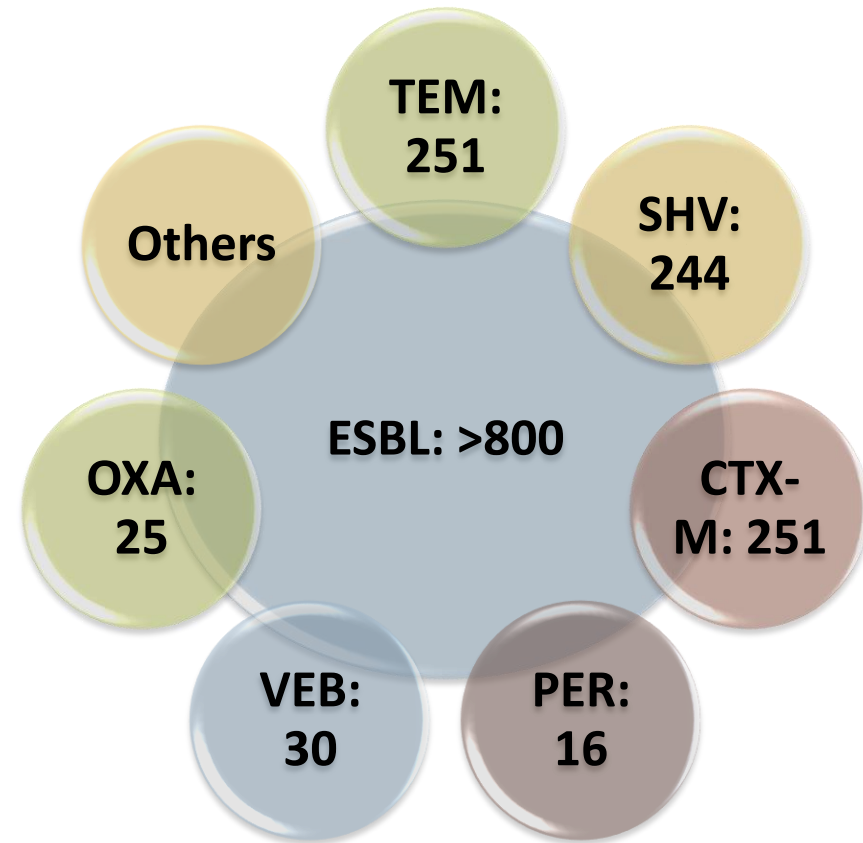


β-λακταμάσες στον
περιπλασμικό χώρο

Αντοχή στις β-λακτάμες

Ευρέως φάσματος β-λακταμάσες (ESBL)

- ▶ Προσδίδουν αντοχή στις πενικιλίνες, κεφαλοσπορίνες 1^η- 4^η γενιάς, και στις μονοβακτάμες, όχι όμως στις καρβαπενέμες και τις κεφαμυσίνες
- ▶ Αναστέλλονται από το κλαβουλανικό οξύ
- ▶ Προέρχονται από τις β-λακταμάσες ομάδας A: TEM-1 και SHV-1. Άλλες κύριες ομάδες: CTX-M, VEB, PER,... αλλά και OXA
- ▶ Διαφέρουν από τους προγόνους τους με 1-5 αμινοξέα



Η Ιστορία του πρώτου *E. coli* ανθεκτικού στην αμπικιλίνη

- ▶ Ιούνιος 1964: Πρώτη κυκλοφορία της αμπικιλίνης στην Ευρώπη
- ▶ Δεκέμβριος 1964: Ανίχνευση του πρώτου στελέχους *E. coli* ανθεκτικού στην αμπικιλίνη
- ▶ Κα Temoneira (Αθήνα, Ελλάδα):
 - ▶ *E. coli* από ουρολοίμωξη
 - ▶ Παρήγαγε β-λακταμάση (TEM-1)
 - ▶ Το γονίδιο της β-λακταμάσης βρισκόταν σε πλασμίδιο

PENICILLINASE SYNTHESIS CONTROLLED BY INFECTIOUS R FACTORS IN ENTEROBACTERIACEAE

By DR. NAOMI DATTA

Department of Bacteriology, Postgraduate Medical School, London

AND

DR. POLYXENI KONTOMICHALOU

Department of Bacteriology, Clinic of Therapeutics, University of Athens

RESISTANCE to antibacterial drugs may be transferred from one bacterium to another among the Enterobacteriaceae by direct cell-to-cell contact (conjugation). This transferable resistance was discovered in Japan¹⁻³ and later reported in Britain⁴ and in Germany⁵. The infectious agents which mediate the transfer are known as resistance factors (*R* factors) and have been shown to be extra-chromosomal genetic elements, or plasmids, consisting of deoxyribonucleic acid^{6,7}. *R* factors are transferred by conjugation between cells of many genera—all the Enterobacteriaceae⁷ as well as other Gram-negative bacilli such as *Vibrio*⁸, *Serratia*⁹ and *Pasteurella*¹⁰. The resistance conferred by the *R* factors first described was against the four drugs streptomycin, tetracycline, chloramphenicol and sulphonamides, usually to all four together, but sometimes against three, two or one of them. Lebek⁵ described an *R* factor which conferred resistance to neomycin and kanamycin, as well as to the original four drugs.

That genetic information for resistance to penicillins, including ampicillin, could be carried on *R* factors was found independently in Britain¹¹, in Greece (Kontomichalou, unpublished data) and in Switzerland (Lebek, personal communication). Preliminary experiments¹¹ suggested that infectious resistance to penicillins was dependent on the production of a penicillin-destroying enzyme. We now report that this enzyme is penicillinase (*EC* 3.5.2.6), since on incubation with benzylpenicillin it liberates penicilloic acid. We therefore present evidence that the genetic information for the biosynthesis of penicillinase is carried on the *R* factor.

R factors and host bacteria. The *R* factors we have studied are listed in Table I. The host bacteria in which penicillin resistance was studied were *Escherichia coli* K12, *E. coli* strain TEM the *R* factor of which had been eliminated by acriflavine treatment¹², and *Salmonella typhi* strain 152, a drug-sensitive strain isolated in Greece in 1962.

Εξέλιξη των ESBL



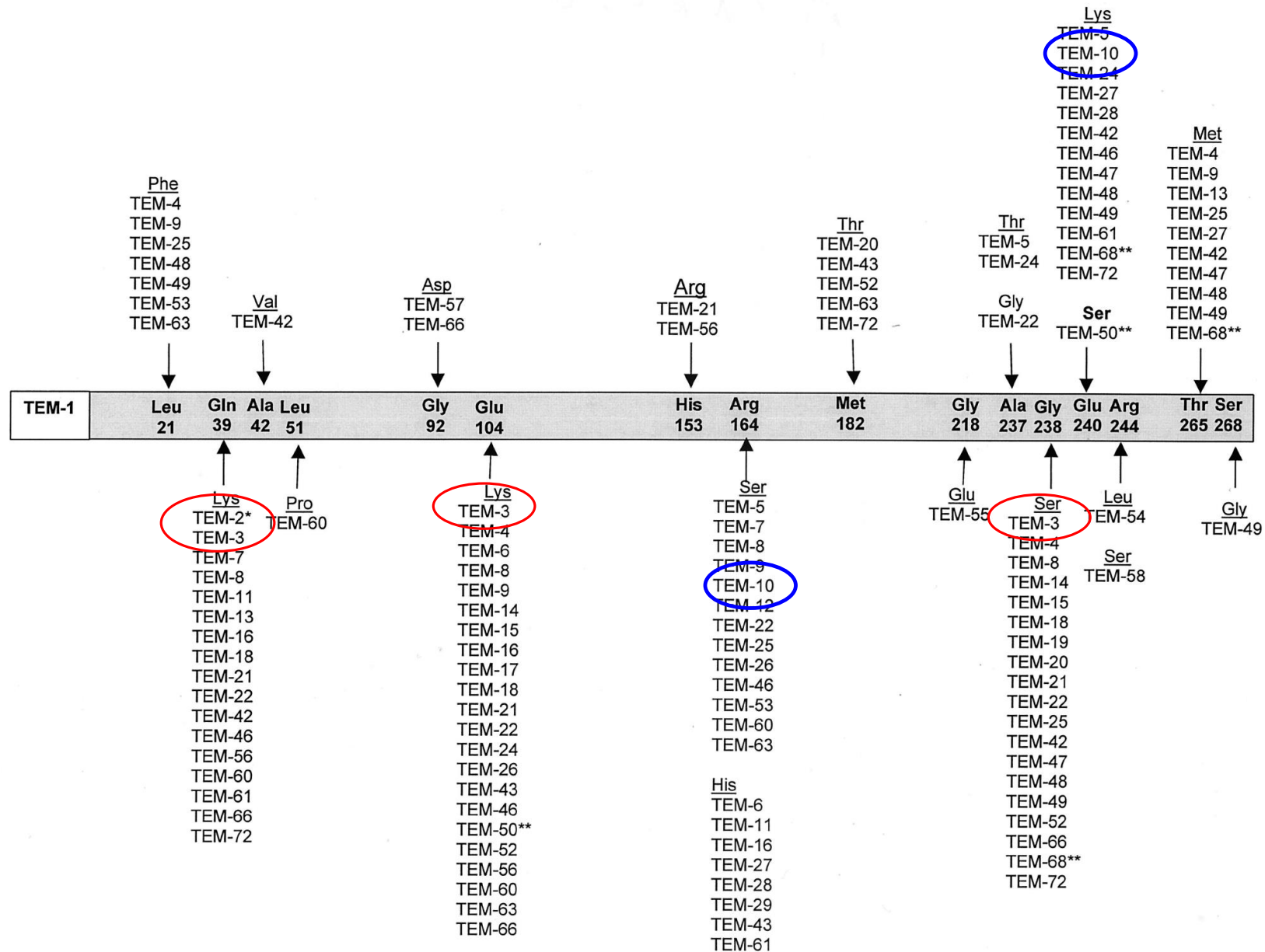
Novel Plasmid-Mediated β -Lactamase (TEM-10) Conferring
Selective Resistance to Ceftazidime and Aztreonam in Clinical
Isolates of *Klebsiella pneumoniae*

JOHN P. QUINN,^{1*} DEBORAH MIYASHIRO,¹ DANIEL SAHM,¹ ROBERT FLAMM,² AND KAREN BUSH²

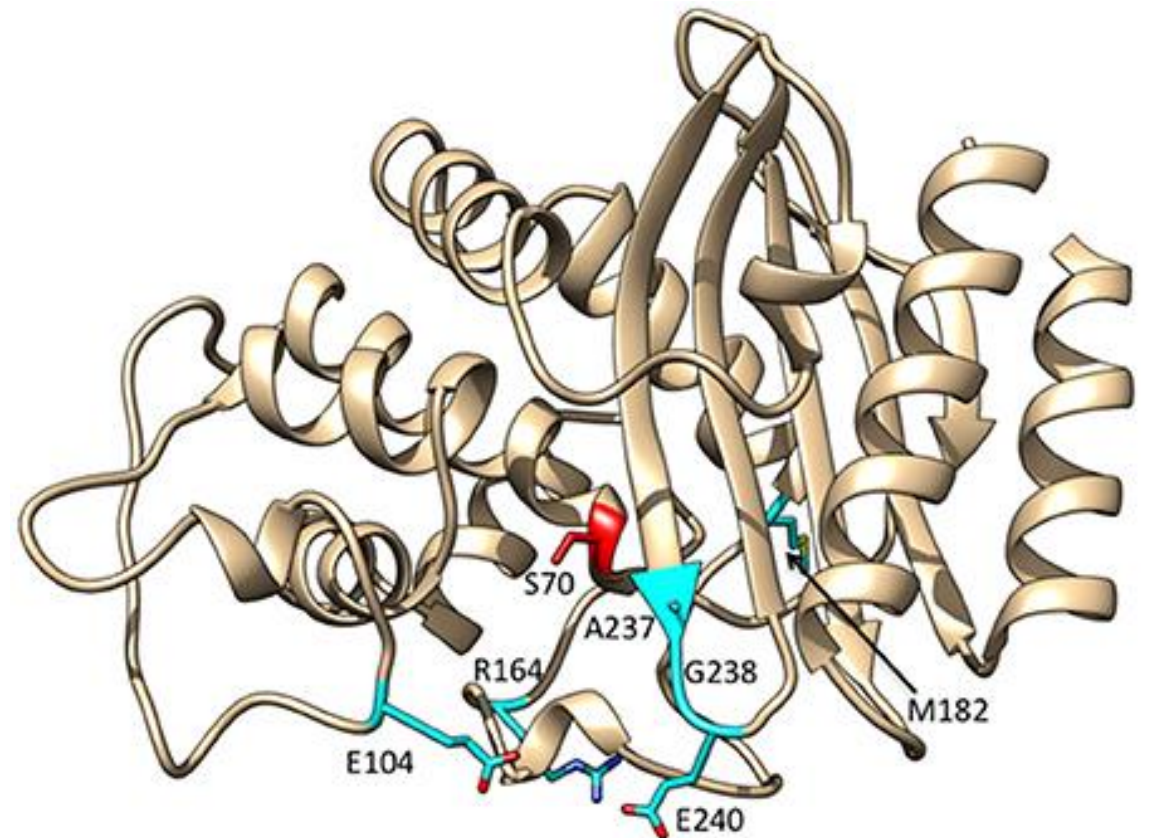
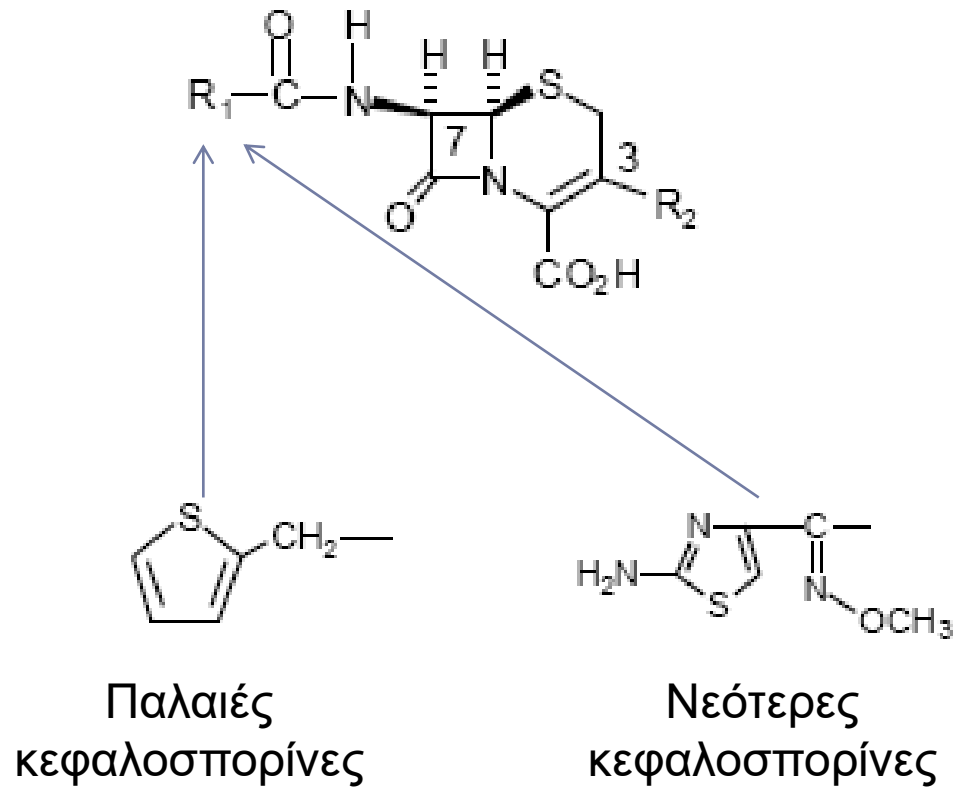
MICs (mg/L) των ESBL- θετικών *E. coli*

	R-	TEM-1+	TEM-3+	TEM-10+
Amoxicilin	2	1024	>2048	1024
Piperacillin	1	128	256	>128
Piperacillin/ Tazobactam 4mg/L	0.5	1	2	2
Cefotaxime	0.03	0.03	8	0.25
Ceftazidime	0.25	0.5	16	128
Aztreonam	0.06	0.12	8	64
Cefoxitin	4	4	8	4
Imipenem	0.12	0.12	0.12	0.12
Meropenem	0.03	0.03	0.03	0.03



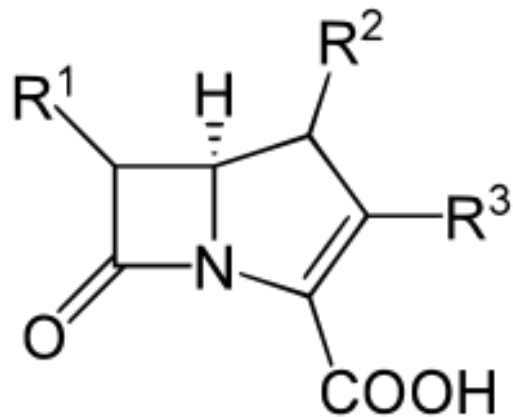


Οι αμινοξικές αλλαγές στις ESBL διευρύνουν το ενεργό κέντρο ώστε να “χωράει” την οξιμινο-ομάδα των νεότερων κεφαλοσπορινών



Καρβαπενεμάσες

- ▶ Ένζυμα που υδρολύουν τις καρβαπενέμες
 - ▶ Και τις περισσότερες β-λακτάμες
- ▶ Κωδικοποιούνται από χρωσωμικά αλλά πιο συχνά από πλασμιδιακά γονίδια



Είδη καρβαπενεμασών

Μοριακή Ομάδα*	Καρβαπενεμάση
A	KPC
	BIC, GES, IMI, NMC, SME
B (MBL)	IMP, VIM , NDM
	AIM, DIM, GIM, SIM, SPM, TMB
C	-
D	OXA-48-like
	OXA-23, -40, -58, -143, -235

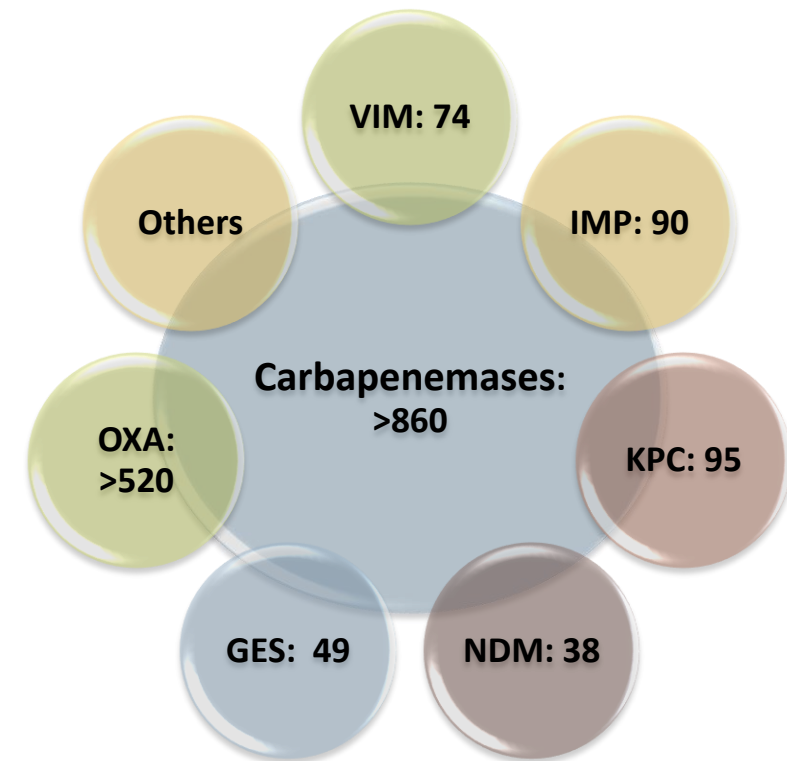
* Βασίζεται στην ομολογία της αμινοξικής αλληλουχίας

Enzyme family	Ambler Class	Pathogens	β -lactamases group
Serine- β -lactamases	A	Enterobacterales	KPC-enzymes
		<i>P. aeruginosa</i>	GES-enzymes
			SME
			IMI
		Enterobacterales	NMC-A
			SHV-38
			SFC-1
Serine- β -lactamases	D		OXA 23 group
		<i>Acinetobacter</i>	OXA 24 group
			OXA 58 group
			OXA 51/66 group
		Enterobacterales	OXA 48 group
		<i>B. fragilis</i>	Ccr A
Metallo- β -lactamases	B	<i>Pseudomonas</i>	IMP-enzymes
		<i>Acinetobacter</i>	VIM-enzymes
		Enterobacterales	NDM-enzymes
			SPM-1
		<i>Pseudomonas</i>	GIM-1
		<i>Pseudomonas</i>	SIM-1
		<i>Acinetobacter</i>	

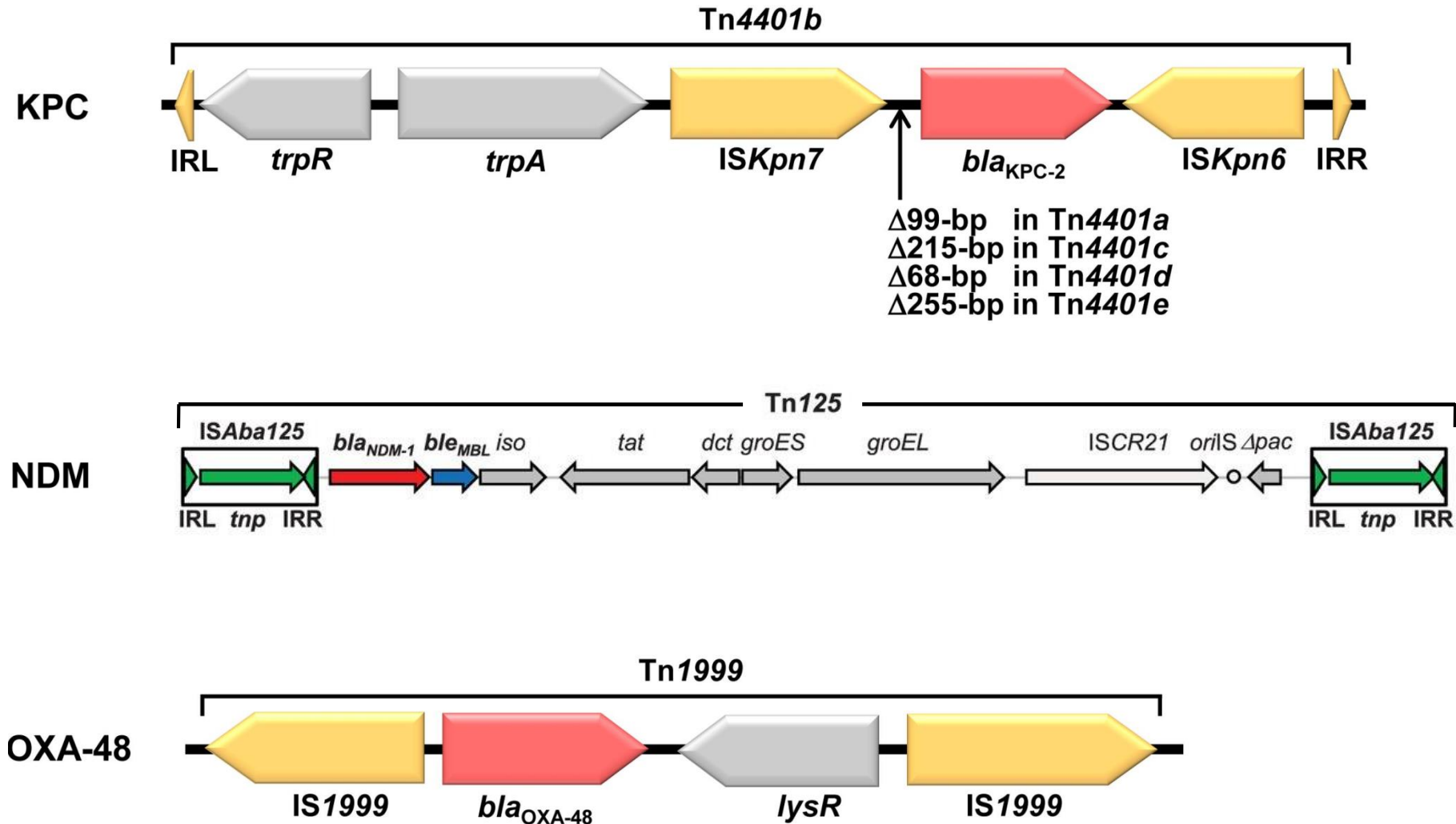
Επίκτητες καρβαπενεμάσες

27 Αυγούστου 2021

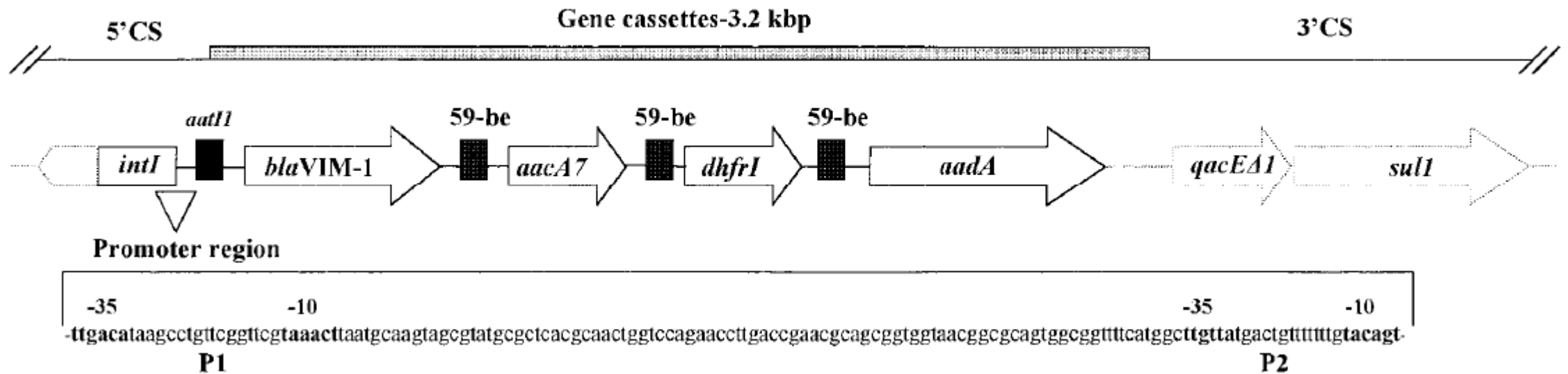
BLDB <http://bldb.eu>



Το γενετικό περιβάλλον των bla_{KPC-2} , bla_{NDM-1} και bla_{OXA-48}

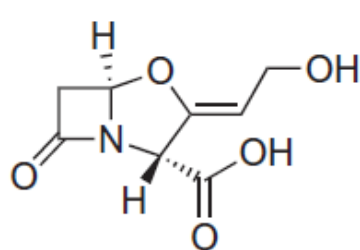


Σχηματική αναπαράσταση του integron ομάδας 1 που περιέχει το *bla*_{VIM-1} και περιέχεται στο πλασμίδιο p541

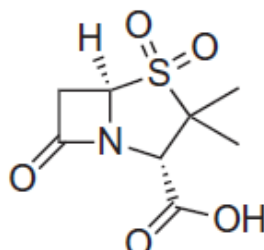


Αναστολείς β-λακταμασών

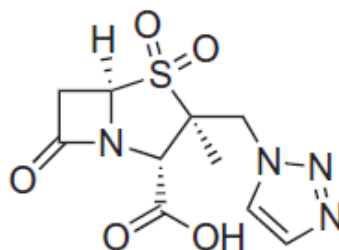
Αναστολείς με β-λακταμικό δακτύλιο



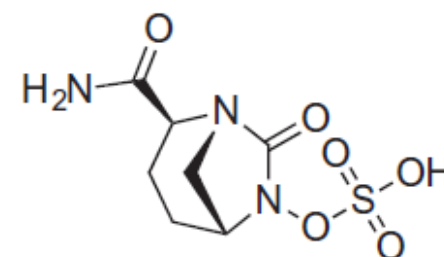
Clavulanic acid (1)



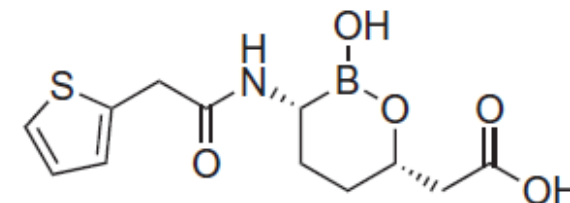
Sulbactam (2)



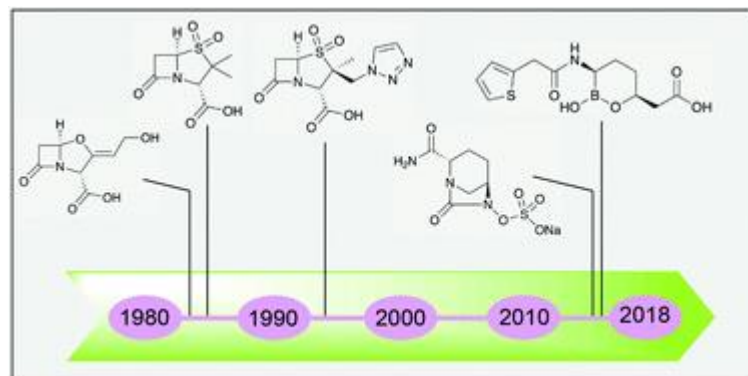
Tazobactam (3)



Avibactam (4)



Vaborbactam (5)



- ❖ Χωρίς β-λακταμικό δακτύλιο
- ❖ Το φάσμα αναστολής επεκτείνεται και στις KPC
- ❖ Αρκετές από τις οξακιλινάσες (class D) και όλες οι MBL (class B) δεν αναστέλλονται

Ταξινόμηση β-λακταμασών

Ambler class ⁸ : catalytic site (spectrum)	Bush–Jacoby–Medeiros group ⁹ : catalytic site (spectrum)	Substrates	Inhibited by	Examples
A: serine (variable)	2a: serine (penicillinases)	Penicillins	Clavulanate, avibactam and other newer inhibitors ^a	Penicillinases from Gram-positive bacteria
	2b: serine (penicillinases)	Penicillins and narrow-spectrum cephalosporins	Clavulanate, avibactam and other newer inhibitors	TEM-1, TEM-2 and SHV-1
	2be: serine (ESBLs)	Penicillins and cephalosporins, including extended-spectrum	Clavulanate, avibactam and other newer inhibitors	SHV-2, TEM-10, CTX-M and GES-1
	2br: serine (inhibitor-resistant)	Penicillins	Avibactam and other newer inhibitors	TEM-30 and SHV-72
	2c: serine (penicillinases)	Penicillins and carbenicillin	Clavulanate, avibactam and other newer inhibitors	PSE (CARB)
	2f: serine (carbapenemases)	Penicillins, cephalosporins and carbapenems	Avibactam and other newer inhibitors	KPC, SME, NMC-A and GES-2
B: metallo (carbapenemase)	3: metallo (carbapenemases)	Most β-lactams, including carbapenems, but not monobactams	Chelating agents (EDTA) and ANT431	IMP, VIM and NDM
C ^b : serine (cephalosporinases)	1: serine (cephalosporinases)	Penicillins and cephalosporins	Cloxacillin, avibactam and other newer inhibitors	Chromosomal AmpC, CMY, ACT-1 and DHA
D ^c : serine (oxacillinases)	2d: serine (oxacillinases)	Penicillins and cloxacillin; some include cephalosporins and/or carbapenems	Sodium chloride; some by clavulanate, avibactam and other newer inhibitors	OXA-1/30, OXA-10, OXA-23 and OXA-48

“Νέοι” αναστολείς

Anibactam

- ▶ Συνδυάζεται με κεφταζιδίμη (Zavicefta)
- ▶ Δραστικό έναντι ESBLs (A), KPC (A), OXA-48, AmpC (C)
- ▶ Δεν είναι δραστικό έναντι των MBLs (B)
- ▶ Σημαντική δραστικότητα έναντι *P. aeruginosa*
- ▶ Ανάπτυξη αντοχής υπό αγωγή



24 Ιουνίου
2016

Vaborbactam

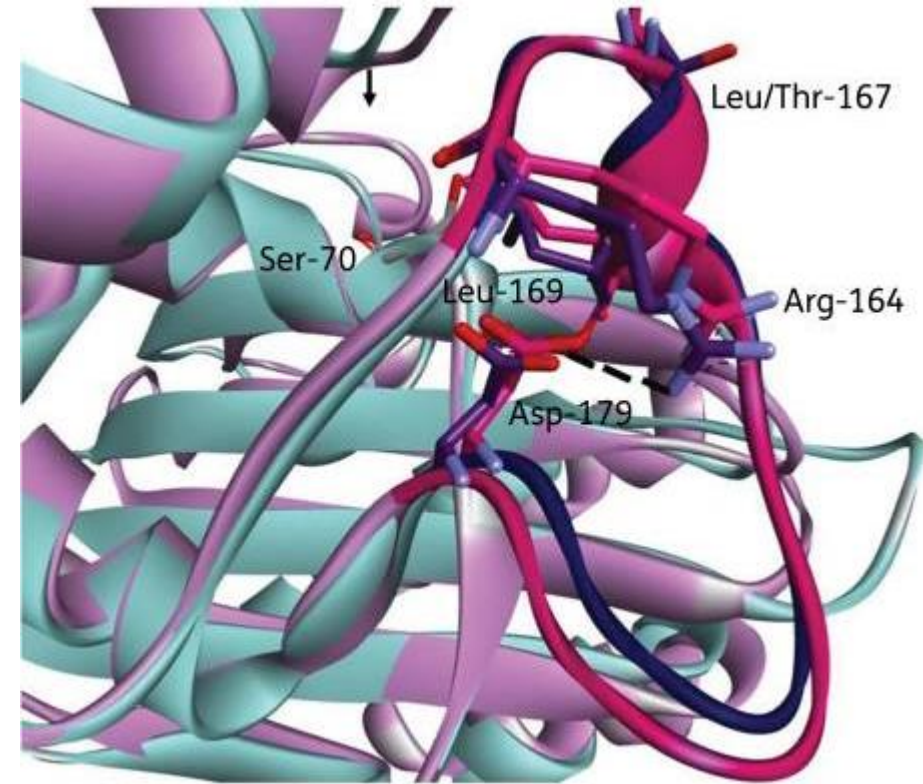
- ▶ Συνδυάζεται με μεροπενέμη (Vabomere)
- ▶ Δραστικό έναντι ESBLs (A), KPC (A), AmpC (C)
- ▶ Δεν είναι δραστικό έναντι των MBLs (B)
- ▶ Αντοχή έχει αναφερθεί σε στελέχη με μεταλλαγές στις πορίνες



2018

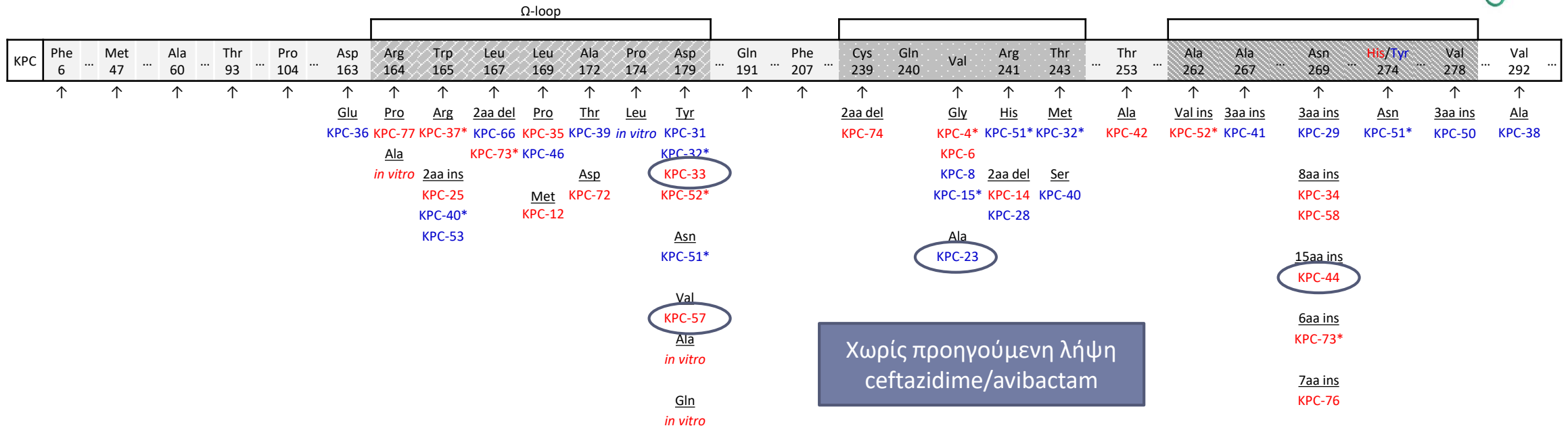
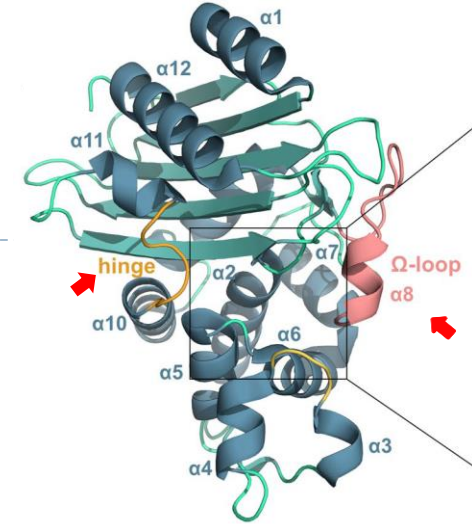
Ο βρόγχος Ω (Ω-loop) των β-λακταμασών τάξης A

	R164		L169						D179								
SHV-1	D	R	W	E	T	E	L	N	E	A	L	P	G	D	A	R	D
KPC-2	D	R	W	E	L	E	L	N	S	A	I	P	G	D	A	R	D
CTXM-15	D	R	T	E	P	T	L	N	T	A	I	P	G	D	P	R	D
TEM-1	D	R	W	E	P	E	L	N	E	A	I	P	N	D	E	R	D



- ▶ "Hotspot" περιοχή στην οποία αμινοξικές αλλαγές επεκτείνουν το φάσμα υδρόλυσης πολλών ενζύμων
- ▶ Η περιοχή 164-179 σχηματίζει το "πάτωμα" του ενεργού κέντρου
- ▶ Αμινοξικές αλλαγές στις θέσεις 164, 169 και 179 της SHV-1 και της KPC-2 αύξησαν την MIC της κεφταζιδίμης

Αμινοξικές αλλαγές στην KPC που σχετίζονται με αντοχή στην κεφταζιδίμη/ αβιμπακτάμη



Επικρατεί η D179Y (KPC-31, KPC-33).
Επαναφορά της δραστηριότητας της μεροπενέμης

Χωρίς προηγούμενη λήψη
ceftazidime/avibactam

Επαναφορά της δραστηριότητας
των καρβαπενεμών

▶ Αμινοξική αλληλουχία σύμφωνα με Ambler et al, 1991
* KPCs με παραπάνω από μια αμινοξικές αλλαγές

Με κόκκινο οι παραλλαγές της KPC-2
Με μπλε οι παραλλαγές της KPC-3

Μηχανισμοί αντοχής στην κεφταζιδίμη/αβιμπακτάμη

Μεταλλάξεις στις β-λακταμάσες

- ▶ στην KPC
 - ▶ στην CTX-M
 - ▶ CTX-M-14 (P170S *in vivo*)
 - ▶ CTX-M-15 (L169Q +S130G, D182Y *in vitro*)
 - ▶ στην OXA-48 (*in vitro*)
 - ▶ στην VEB (*in vivo*)
 - ▶ στην OXA-2
 - ▶ OXA-539 (διπλασιασμός του D149 *in vivo*)
 - ▶ στην AmpD (*in vitro*)
 - ▶ ή ελλείψεις στην AmpC (*in vitro*)
- K. pneumoniae*
E. coli
- P. aeruginosa*
- P. aeruginosa*
E. cloacae
C. freundii

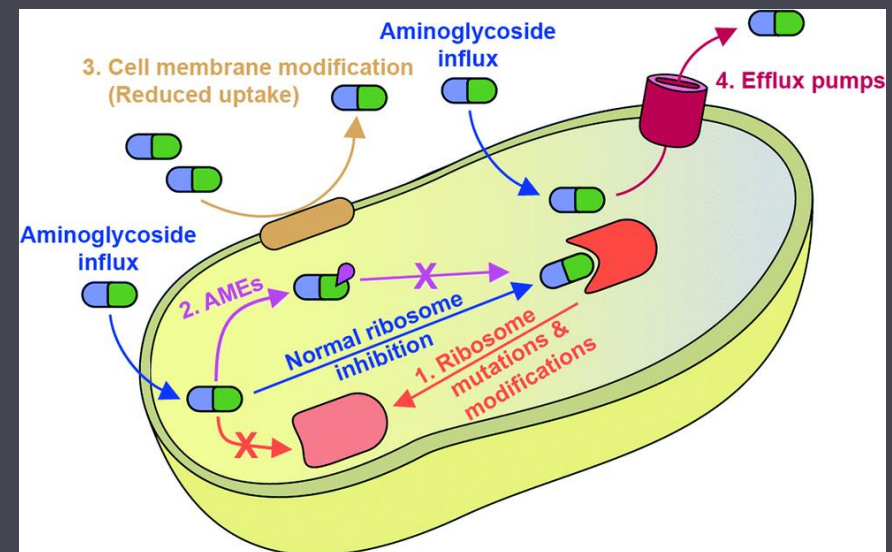
Άλλοι Μηχανισμοί

- ▶ Υπερέκφραση β-λακταμασών
 - ▶ KPC-3 (*K. pneumoniae in vivo*)
 - ▶ AmpC (*P. aeruginosa*)
- ▶ Ενισχυμένη εκροή (efflux)
 - ▶ RamR (*K. pneumoniae in vivo*)
 - ▶ MexAB-OprM (*P. aeruginosa*)
- ▶ Μειωμένη πρόσληψη
 - ▶ OprK35
 - ▶ OprK36
 - ▶ OprK37

Έλλειψη, μειωμένη έκφραση
(μεταλλάξεις, εισδοχές, ελλείψεις)
K. pneumoniae in vivo
- ▶ OprD – έλλειψη (*P. aeruginosa*)



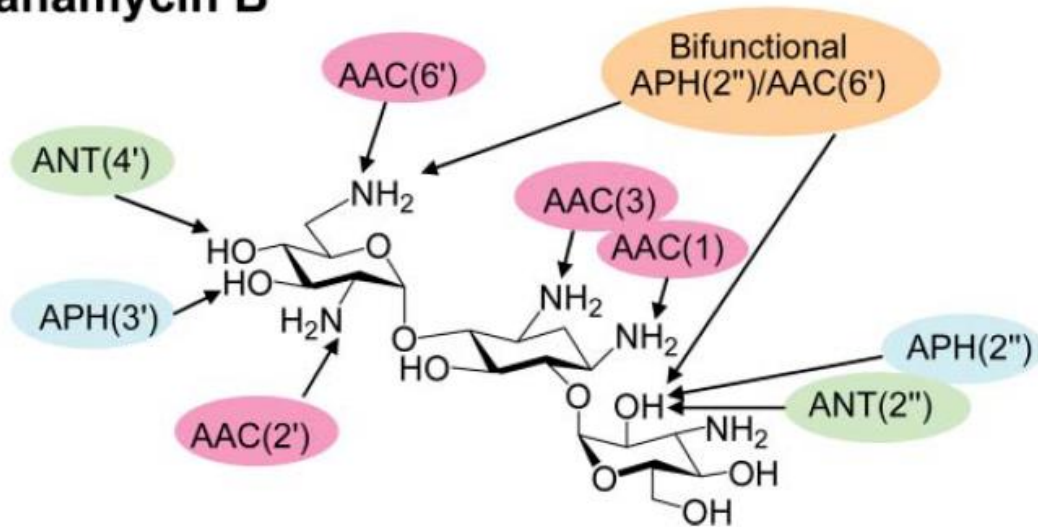
Τροποποιητικά Ένζυμα των Αμινογλυκοσιδών



Αδρανοποίηση των αντιβιοτικών

Τροποποιητικά ένζυμα των αμινογλυκοσιδών

Καναμυκίνη Β

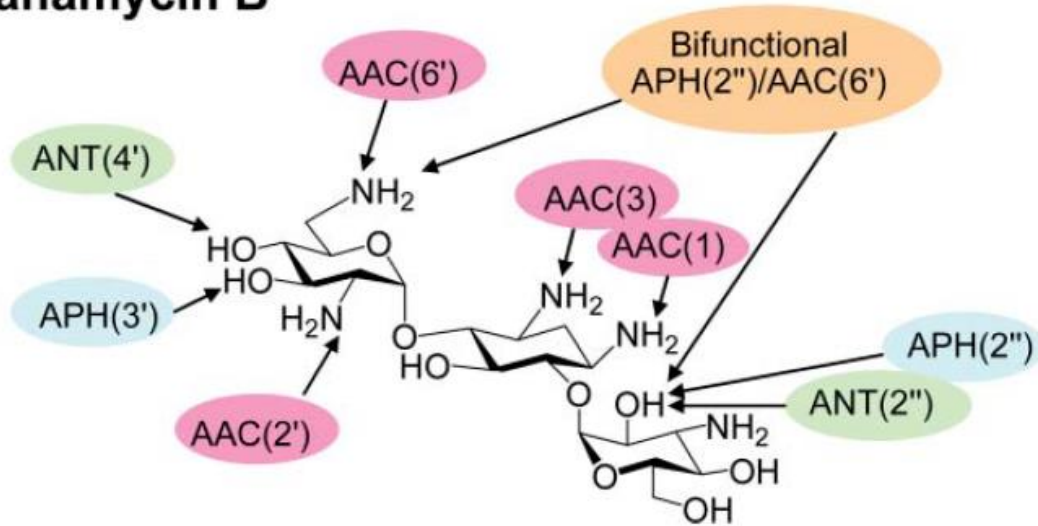


Με βάση τον μοριακό μηχανισμό τους, διαίρονται σε 3 ομάδες

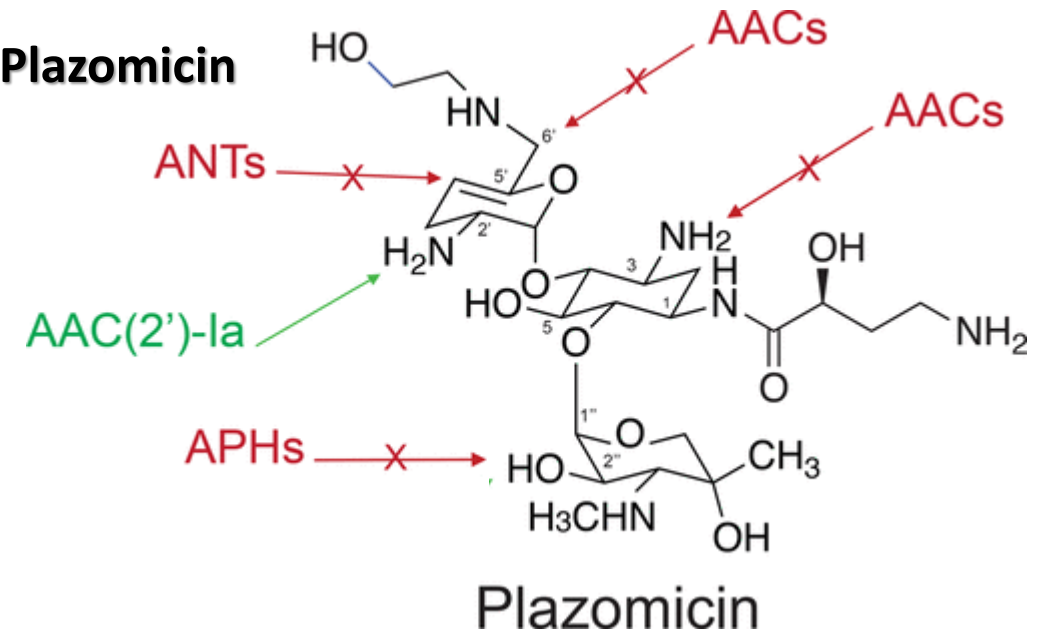


Νέες αμινογλυκοσίδες

Kanamycin B

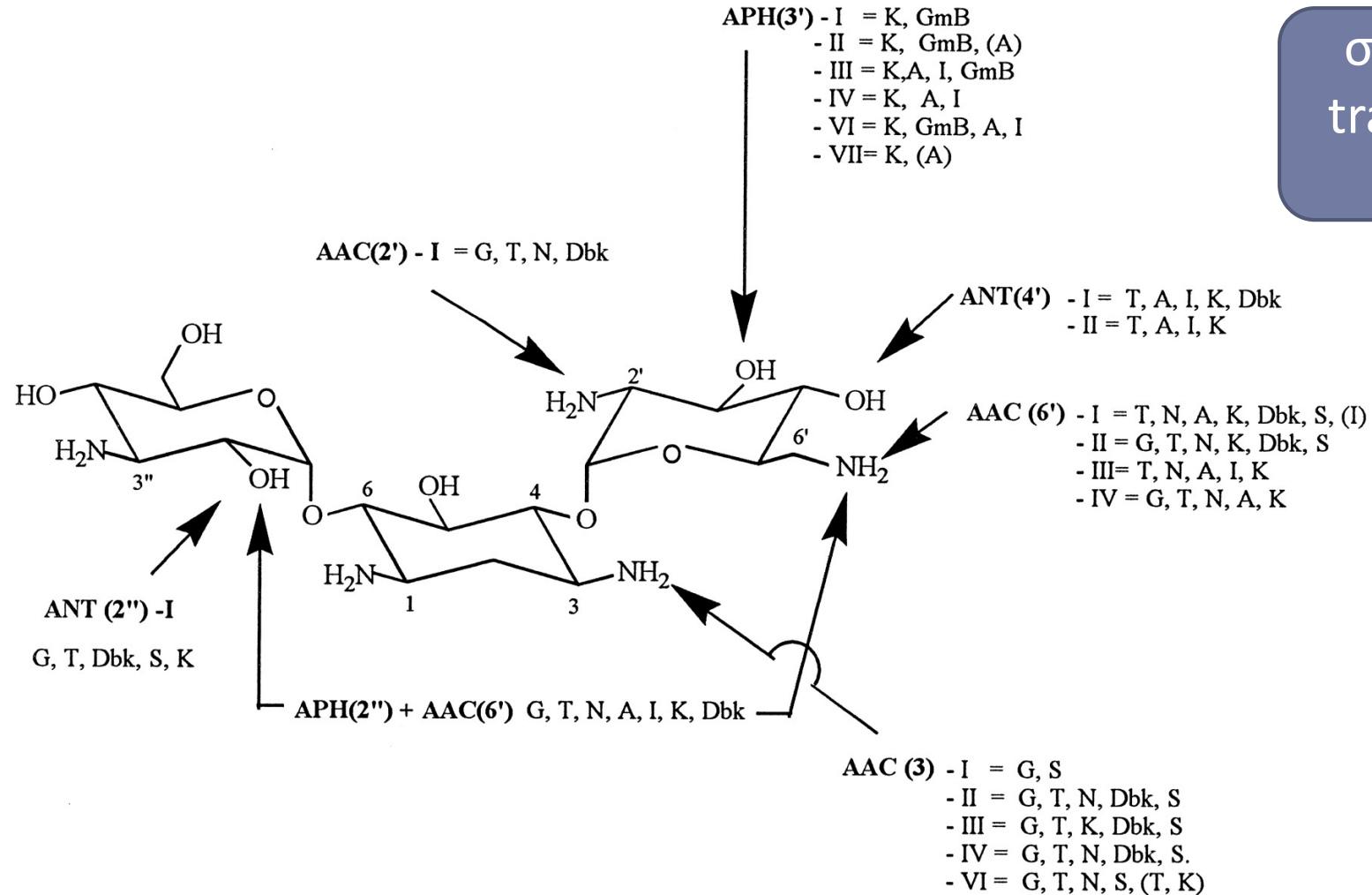


Plazomicin



Τροποποιητικά ένζυμα των αμινογλυκοσιδών

σε integrons,
transposons &
πλασμίδια



Φαινότυπος που προσδίδεται από τα ένζυμα που τροποποιούν τις αμινογλυκοσίδες

	APR	FOR	GEN	TOB	AMK	ISE	NET	KAN	NEO
Perm/Efflux	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AAC(2')-I			+	+			+		+
AAC(3)-I		+	+						
→ AAC(3)-II			+	+			+	±	
AAC(3)-III			+	+				+	
AAC(3)-IV	+		+	+			+		
AAC(3)-VI			+	±			±	±	
→ AAC(6')-I			±	+	+	±	+	+	
AAC(6')-II			+	+			+	+	
ANT(2'')-I			+	+				+	
ANT(4')-II				+	+	+		+	
APH(3')-VI					+	+		+	+

+ : σημαντική αύξηση της MIC σε σχέση με το wild-type; ± : Αύξηση της MIC παρατηρείται όταν το ένζυμο υπερεκφράζεται.

RESEARCH ARTICLE

Open Access



Nationwide epidemiology of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from Greek hospitals, with regards to plazomicin and aminoglycoside resistance

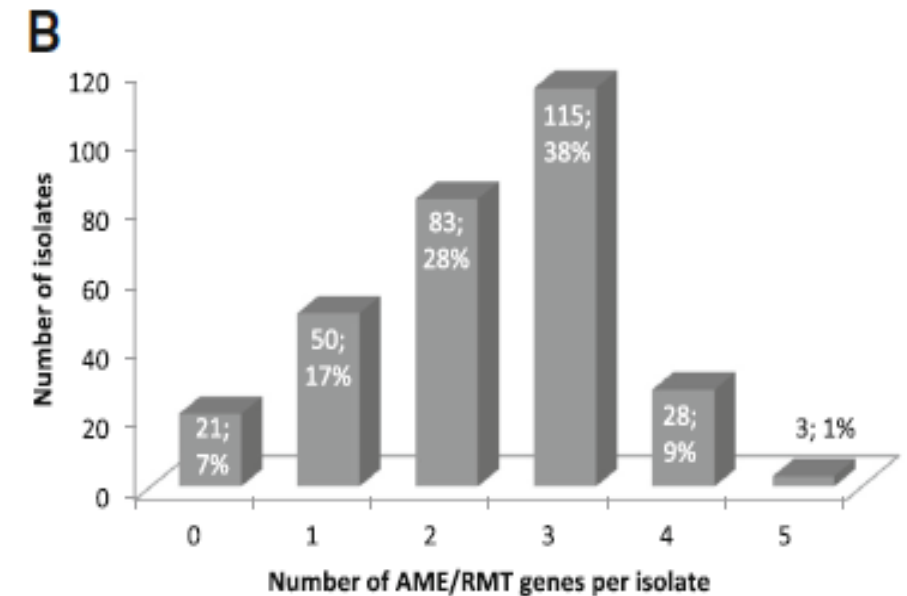
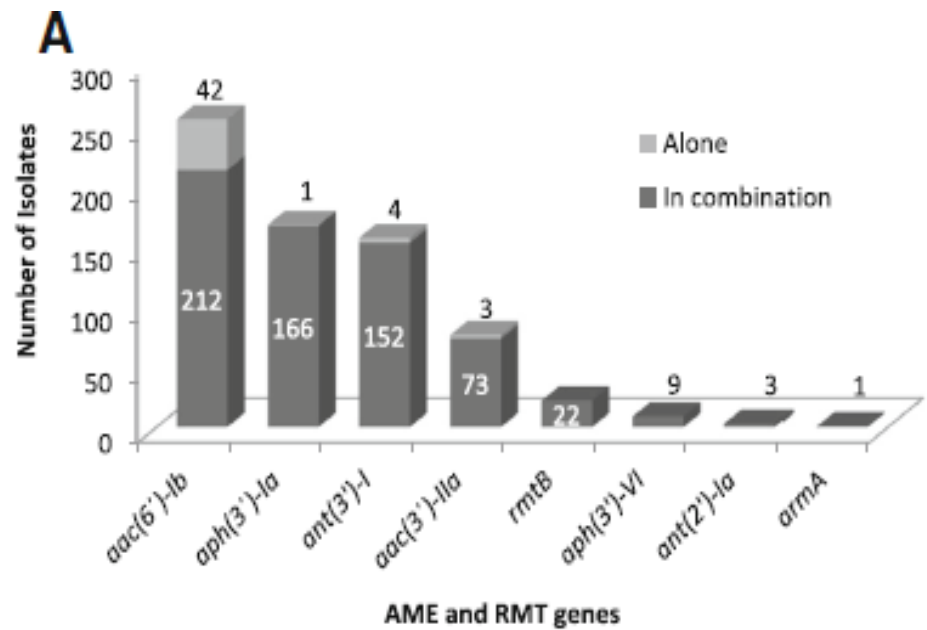
Irene Galani^{1,3*}, Konstantina Nafplioti^{1†}, Panagiota Adamou¹, Ilias Karaiskos², Helen Giamarellou², Maria Souli¹ and Study Collaborators

Table 5 Aminoglycoside MICs in relation to the presence of aminoglycoside-modifying enzyme gene combination (excluding the presence of *ant(3)-I* and *aph(3)-I*)

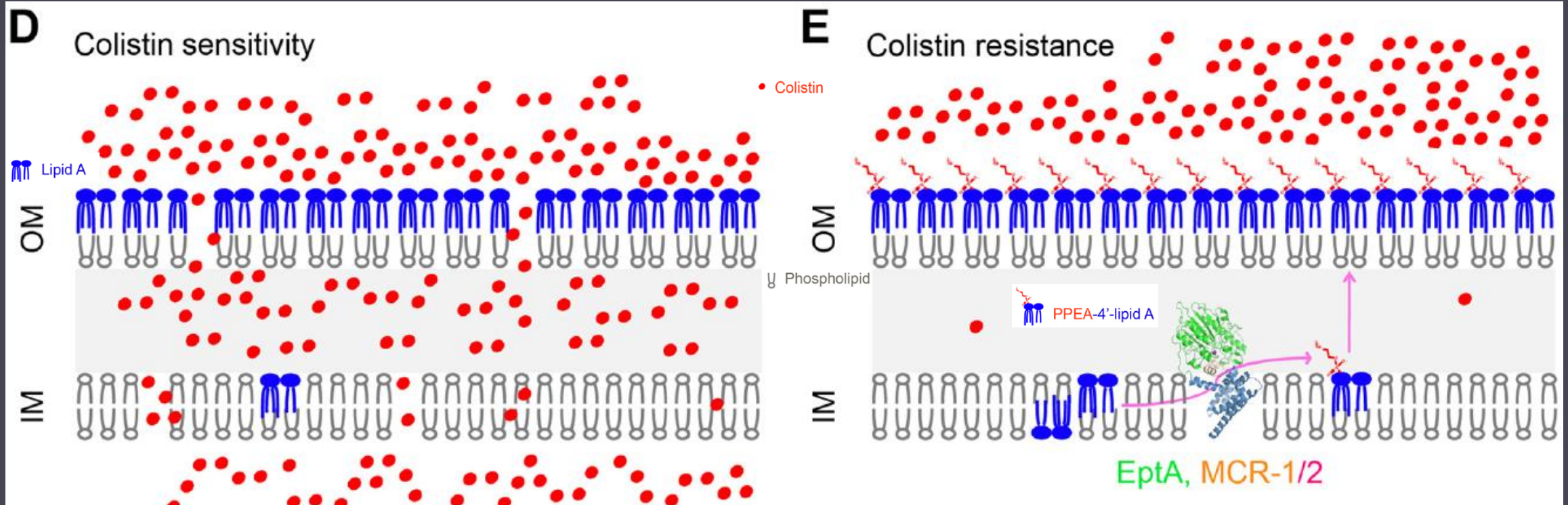
AME gene(s)	No (%) of isolates	Expected resistance phenotype ^a	Amikacin			Gentamicin			Tobramycin			Plazomicin		
			Range	MIC _{50/90}	% NS	Range	MIC _{50/90}	% NS	Range	MIC _{50/90}	% NS	Range	MIC _{50/90}	% NS ^b
None	28 (93)	Susceptible	1-8	2/8	0.0	0.25-4	1/2	7.1	0.25-8	1/4	10.7	≤0.125-4	0.5/4	14.3
<i>aac(6)-Ib</i>	168 (66)	A,T,N	2-256	32/128	91.7	0.25-> 256	2/16	47.0	2-> 256	32/64	99.4	≤0.125-8	0.5/2	4.2
<i>aac(3)-IIa</i>	6 (2.0)	G,T,N	2-8		0.0	64-256		100.0	8-64		100.0	≤0.125-1		0.0
<i>aac(6)-Ib + aac(3)-IIa</i>	64 (21.3)	A,G,T,N	4-256	32/64	90.6	1-> 256	64/256	81.3	4-> 256	64/128	100.0	≤0.125-8	0.5/1	4.7
<i>aac(6)-Ib + aph(3)-VI</i>	6 (2.0)	A,T,N	32-128		100.0	2-64		66.7%	4-256		100.0	0.25-4		33.3
<i>aac(6)-Ib + aac(3)-IIa + aph(3)-VI</i>	3 (1.0)	A,G,T,N	32-256		100.0	128-> 256		100.0	32-256		100.0	0.25-1		0.0
<i>aac(6)-Ib + ant(2)-Ia</i>	2 (0.7)	A,G,T,N	16-128		100.0	8		100.0	32		100.0	0.25-2		0.0
<i>rmtB</i> or <i>armA</i> ± any AME	23 (7.7)	A,G,T,N,P	> 256	> 256	100	128-> 256	> 256	100.0	64-> 256	> 256	100.0	64-> 256	> 256	100.0

^a A, resistance to amikacin; G, resistance to gentamicin; T, resistance to tobramycin; N, resistance to netilmicin; P, resistance to plazomicin

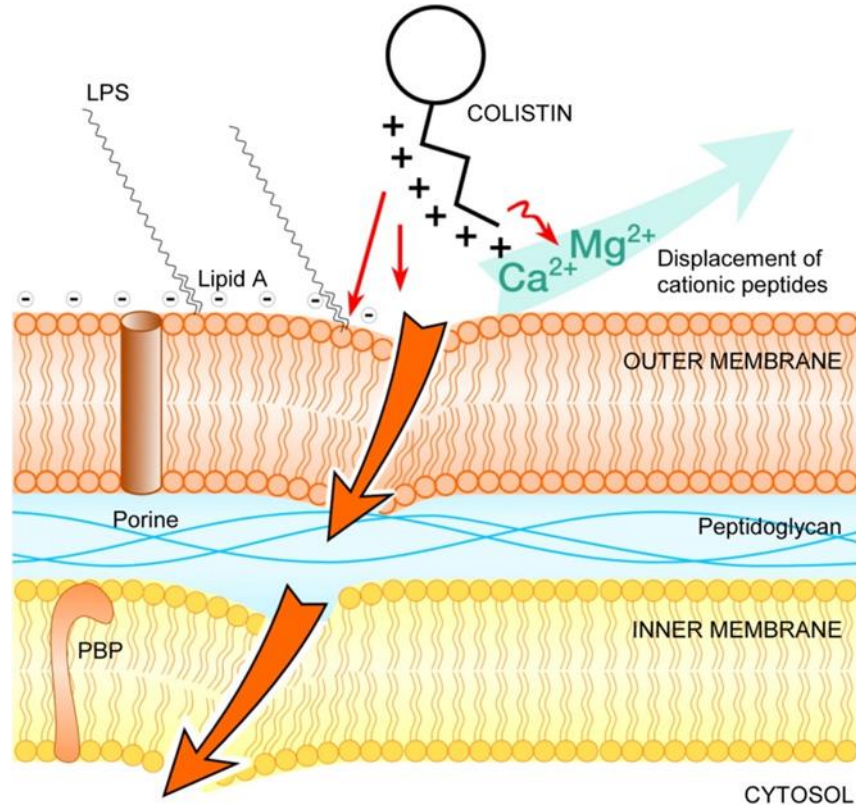
^b According to the recently approved FDA breakpoint



Αντοχή στην κολιστίνη



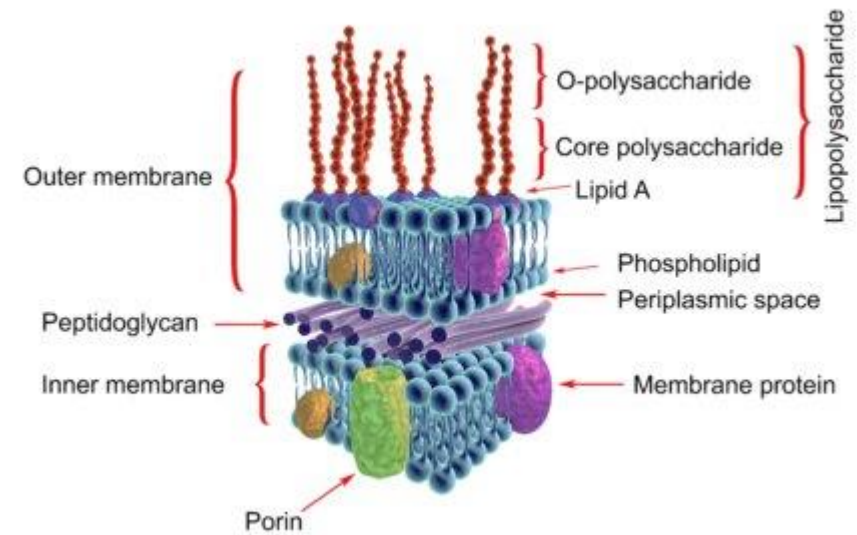
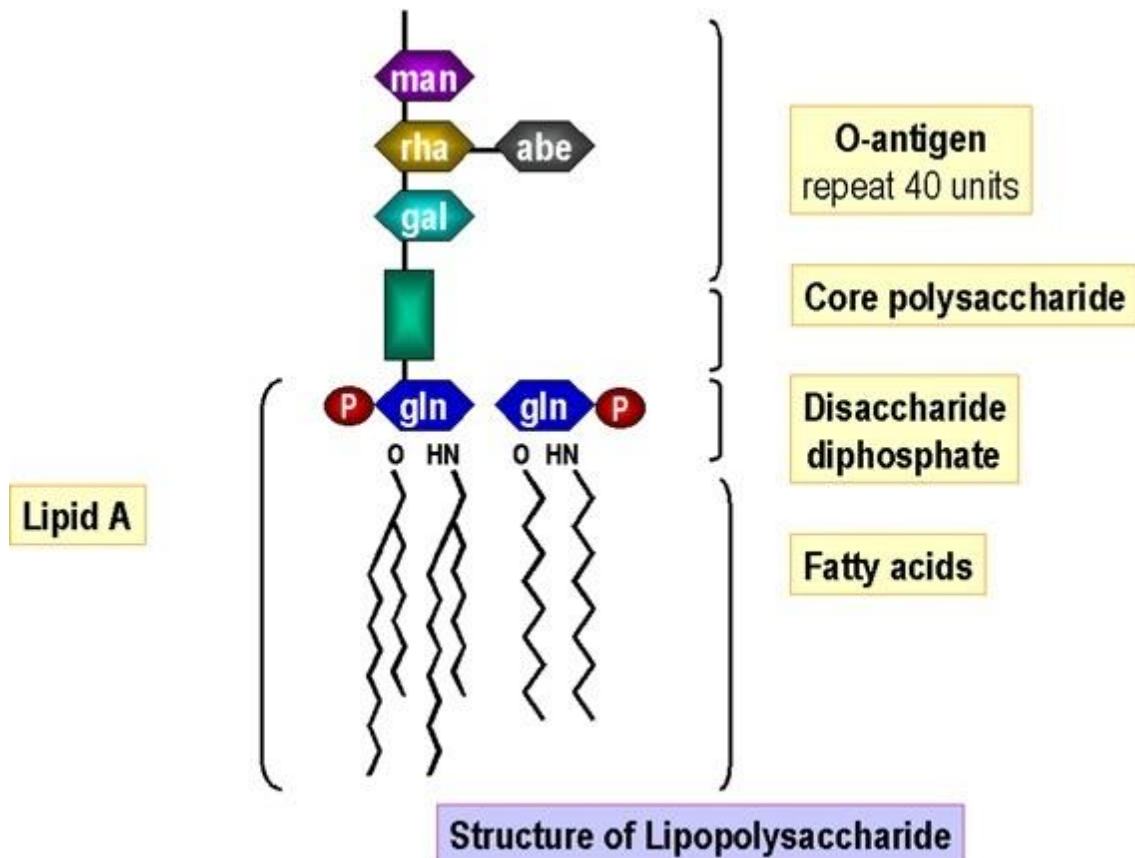
Κολιστίνη – Πολυμυξίνη Ε



Μηχανισμός δράσης

- ▶ Αναστέλλει τη λειτουργία της εξωτερικής μεμβράνης
- ▶ Η θετικά φορτισμένη κολιστίνη μετατοπίζει τα δισθενή κατιόντα που γεφυρώνουν τα γειτονικά μόρια LPS
- ▶ Αποσταθεροποίηση της εξωτερικής μεμβράνης
- ▶ Διείσδυση στην εσωτερική μεμβράνη και αναστολή του αναπνευστικού ενζύμου NDH-2

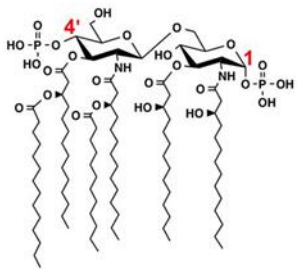
Δομή Λιποπολυσακχαρίτη



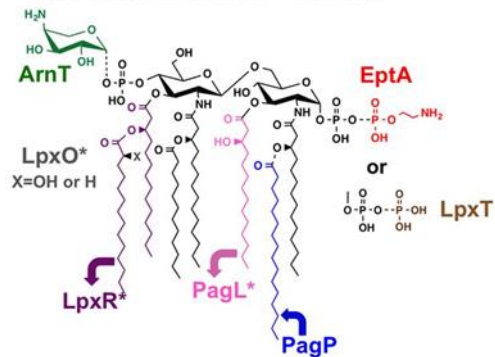
Μηχανισμός αντοχής

Τροποποίηση του λιπιδίου A

Unmodified *E. coli*



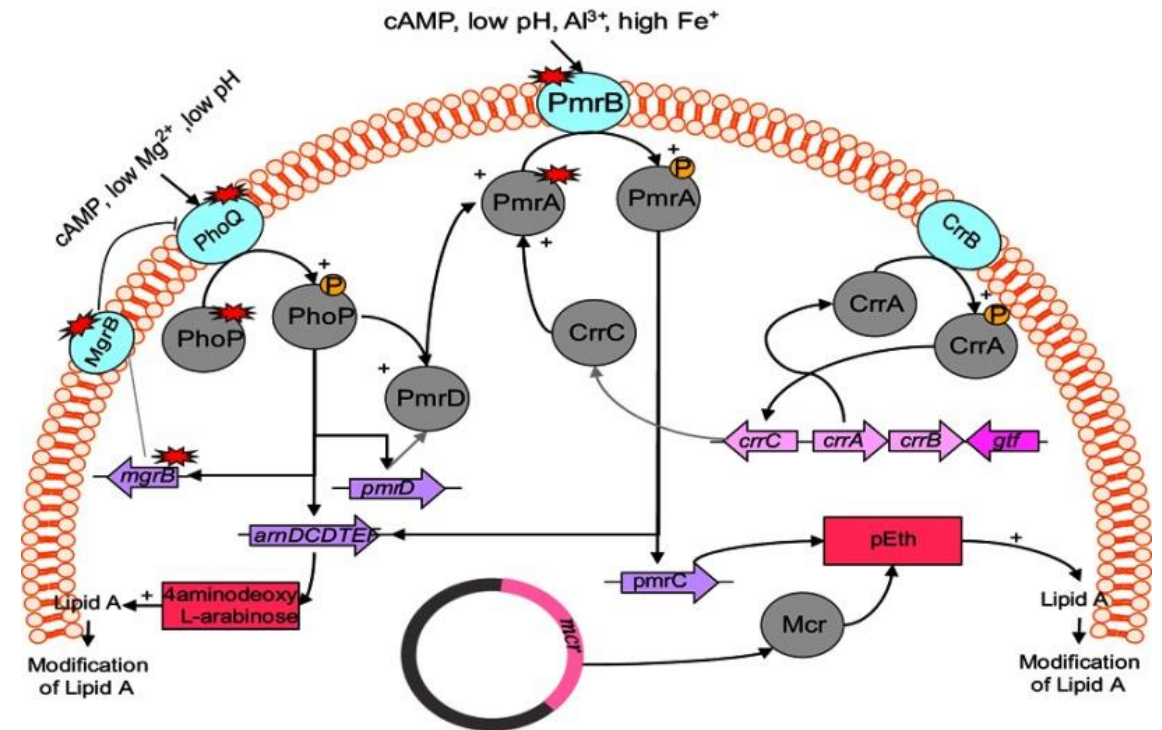
Modified *E. coli/Salmonella*



pEtN: φωσφο-αιθανολαμίνη

L-Ara4N: 4-αμινο-4 δεοξυ-L-αραβινόζη

Ρυθμιστικό σύστημα



Επίκτητοι και ενδογενείς μηχανισμοί αντοχής των Gram-αρνητικών βακτηρίων στην κολιστίνη

Genes	Gene function	<i>E. coli</i>	<i>Kpneumoniae</i>	<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Salmonella spp.</i>	<i>C. freundii</i>	<i>Protrus mirabilis</i>	<i>Serratia marcescens</i>	References
<i>pmrA/pmrB</i>	Modification of lipid A by <i>amBCADTEF</i> operon, <i>pmrC</i> and <i>pmrE</i> genes	+	+	+	+	-	-	-	65,68,69,129,130
<i>phoP/phoQ</i>	Modification of lipid A by activation of the <i>pmrHFJKLM</i> operon/activation of <i>pmrAB</i> by <i>pmrD</i>	+	+	+	+	-	-	-	50,78,131,132
<i>amBCADTEF</i>	Modification of lipid A by pEtN and L-4AraN	+	+	+	+	-	+	+	9,45,69,129-131
<i>mgrB</i> mutation	Overexpression of <i>phoPQ</i> and activation of <i>pmrHFJKLM</i>	+	+	-	-	-	-	-	51,79
<i>ramA</i>	Modulates lipid A biosynthesis	-	+	-	-	-	-	-	110
<i>ctrB</i> mutation	Modification of lipid A by upregulation of <i>pmrAB</i> /activation of the glycosyltransferase	-	+	-	-	-	-	-	52
<i>mcr1</i>	Phosphoethanolamine transferase	+	+	+	+	+	-	-	85,94,101,133,134
<i>mcr2</i>	Phosphoethanolamine transferase	+	-	-	+	-	-	-	55,135
<i>mcr3</i>	Phosphoethanolamine transferase	+	-	-	+	-	-	-	102,136
<i>mcr4</i>	Phosphoethanolamine transferase	+	-	+	+	-	-	-	103,137,138
<i>mcr5</i>	Phosphoethanolamine transferase	+	-	+	+	-	-	-	104,139
<i>mcr6</i>	Phosphoethanolamine transferase	-	-	-	-	-	-	-	105
<i>mcr7</i>	Phosphoethanolamine transferase	-	+	-	-	-	-	-	106
<i>mcr8</i>	Phosphoethanolamine transferase	+	+	-	-	-	-	-	107
<i>acrB</i> mutation	Efflux pump	+	+	-	-	-	-	-	36
<i>KpnEF</i> mutation	Efflux pump	-	+	-	-	-	-	-	117
<i>zsrABCDF</i> mutation	Efflux pump	-	-	-	-	-	+	-	42

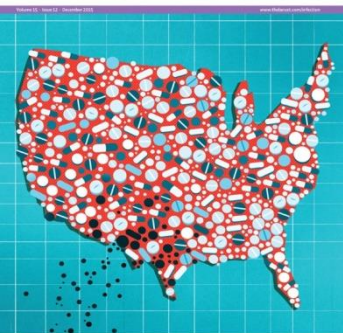
Πλασμιδιακά γονίδια

3 συστήματα efflux

Ενδογενής αντοχή

Lancet Infect Dis 2015

Published Online
 November 18, 2015
[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)



Articles
 Genomic epidemiology of *Staphylococcus aureus* in hospital-acquired infections
 100% 100%

Articles
 Antibiotic resistance and risk of surgical-site and joint-therapeutic-procedure infections in the USA
 100% 100%

Historical Review
 The outbreak of *Yersinia pestis* in the Pacific Northwest
 100% 100%

Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study



Yi-Yun Liu*, Yang Wang*, Timothy R Walsh, Ling-Xian Yi, Rong Zhang, James Spencer, Yohei Doi, Guobao Tian, Baolei Dong, Xianhui Huang, Lin-Feng Yu, Danxia Gu, Hongwei Ren, Xiaojie Chen, Luchao Lv, Dandan He, Hongwei Zhou, Zisen Liang, Jian-Hua Liu, Jianzhong Shen

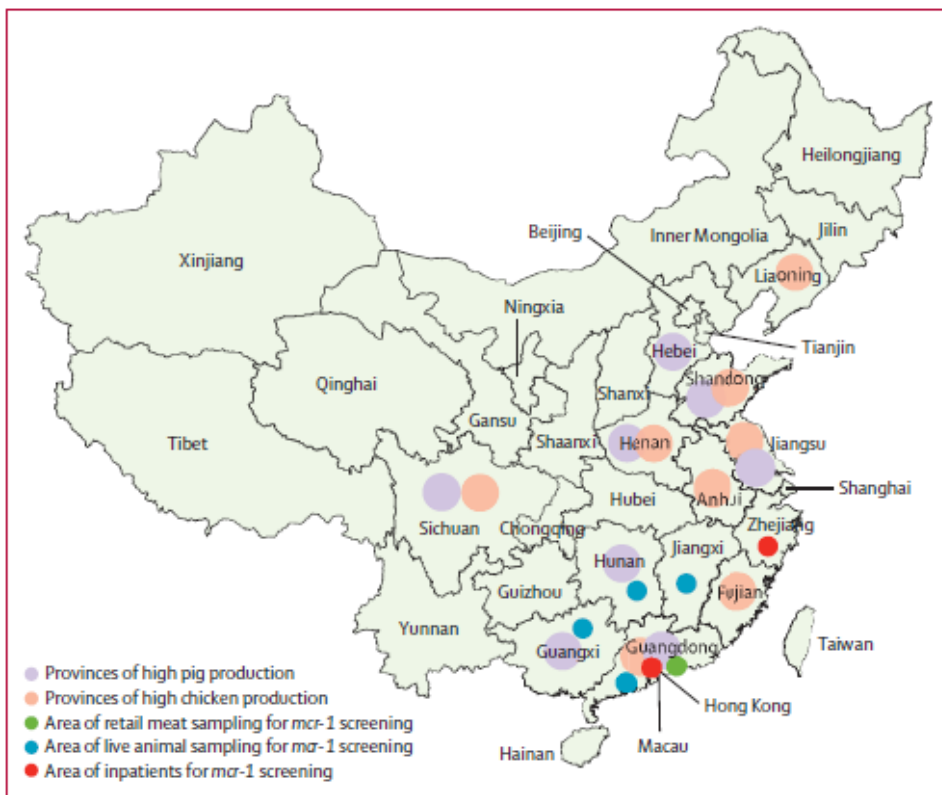
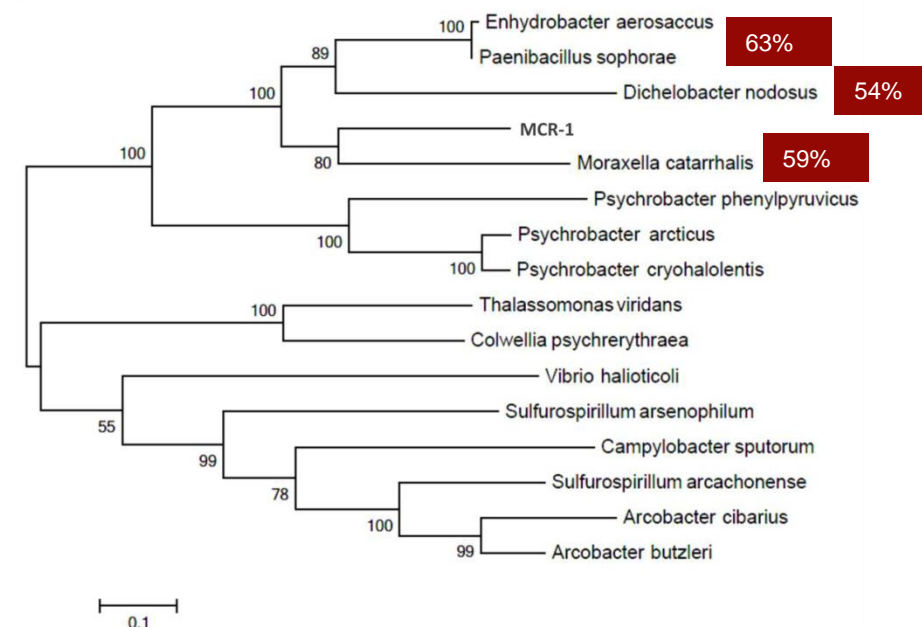
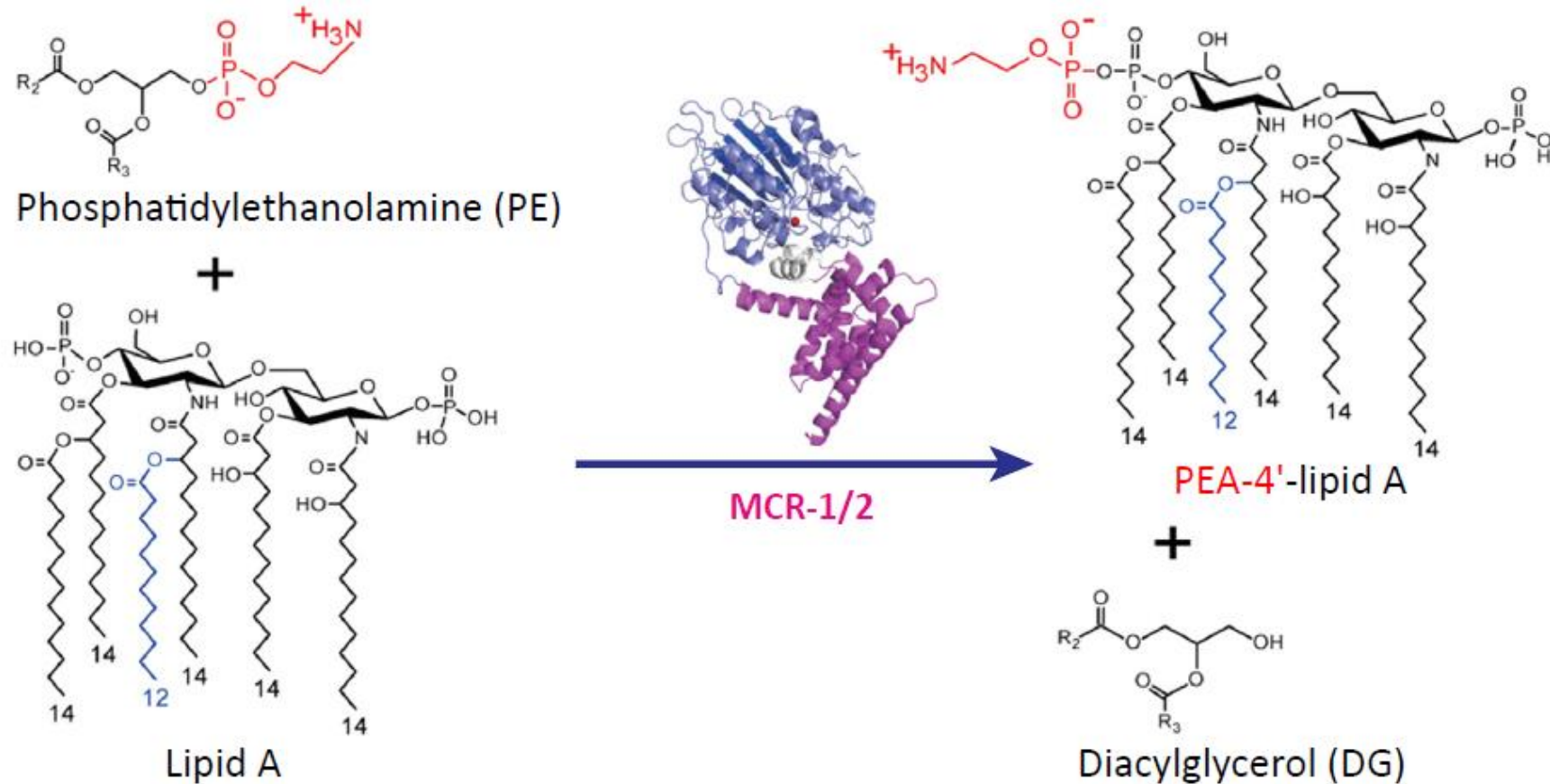


Figure 1: Map of China



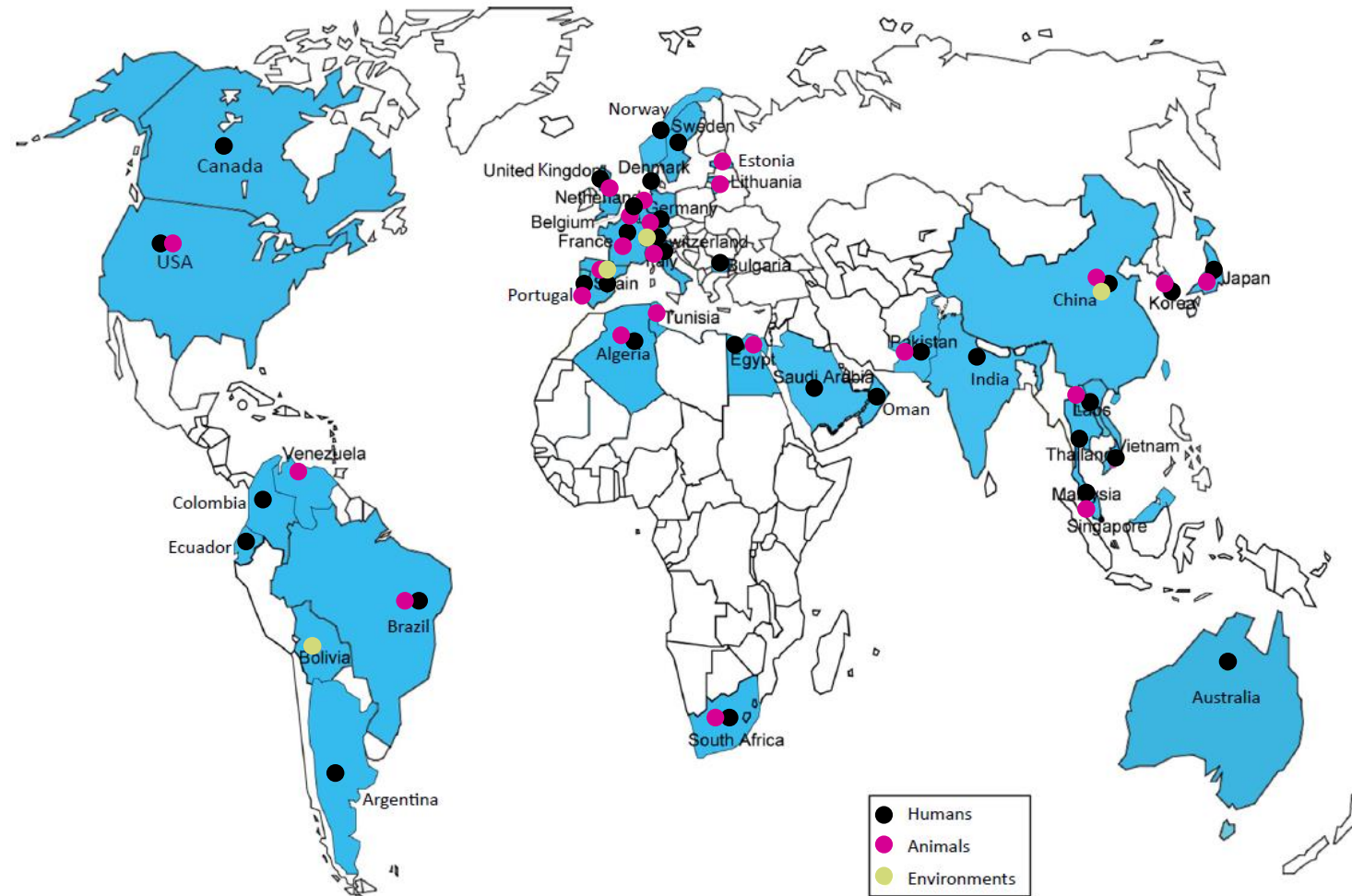
Πιθανή μεταφορά του *mcr-1* από το χρωμόσωμα αγνώστου βακτηρίου που παράγει πολυμυξίνη στο *E. coli*

Η MCR-1 είναι μια τρανσφεράση φωσφο-αιθανολαμίνης (pEtN)



- ▶ Αύξηση της MIC των πολυμυξινών (κολιστίνη και πολυμυξίνη Β) κατά 16 φορές
- ▶ Από 0.5 µg/ml (*E. coli* - δέκτης) σε 8 µg/ml (μετασυζευγμένο)

Χώρες όπου ανιχνεύθηκε το γονίδιο *mcr-1* (με μπλε χρώμα)



Trends in Microbiology

mcr-1 στην Ελλάδα







J. Dairy Sci. 103:852–857

<https://doi.org/10.3168/jds.2019-17320>

© American Dairy Science Association®, 2020.

Short communication: Bovine mastitis caused by a multidrug-resistant, *mcr-1*-positive (colistin-resistant), extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* clone on a Greek dairy farm

George Filioussis,¹  Melina Kachrimanidou,²  Georgios Christodoulopoulos,³  Maria Kyritsi,⁴ Christos Hadjichristodoulou,⁴ Maria Adamopoulou,⁵ Athanasia Tzivara,³ Spyridon K. Kritas,¹  and Alex Grinberg^{6*} 

¹Laboratory of Microbiology and Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, School of Health Science, Aristotle University of Thessaloniki, University Campus, 54124 Thessaloniki, Greece

²First Department of Microbiology, Medical School, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

³Department of Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, University of Thessaly, PO Box 199, Gr-43100 Karditsa, Greece

⁴Laboratory of Hygiene and Epidemiology, Department of Medicine, School of Health Science, University of Thessaly, 41500 Larissa, Greece

⁵Microbiology Laboratory, Department of Biomedical Sciences, University of West Attica, Athens 12243, Greece

⁶Infectious Diseases Group, School of Veterinary Science, Massey University, Palmerston North, 4442 New Zealand



Ερωτήσεις?

