

ΠΜΣ Λοιμωξιολογία

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

**Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών**

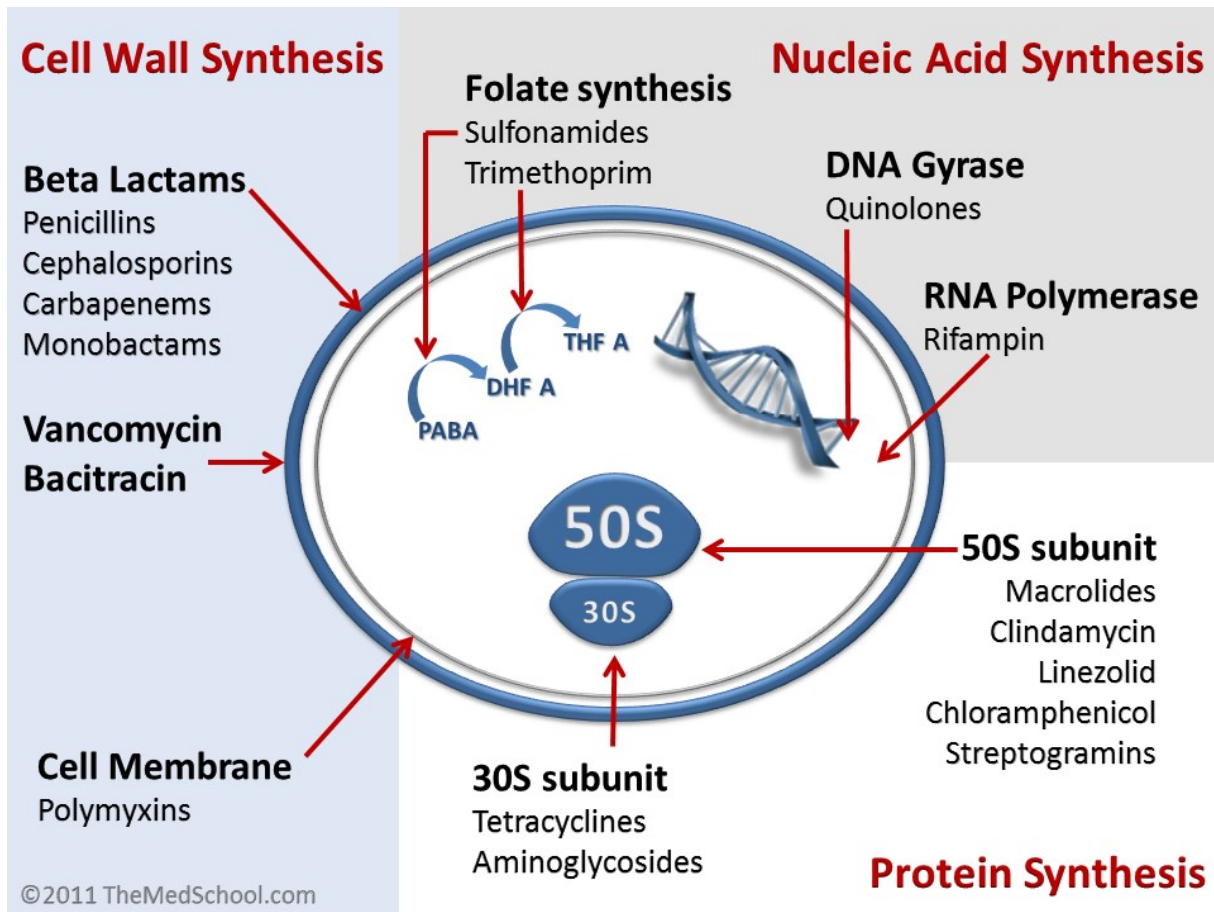
ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837

Βασικοί και ειδικοί μηχανισμοί αντοχής

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

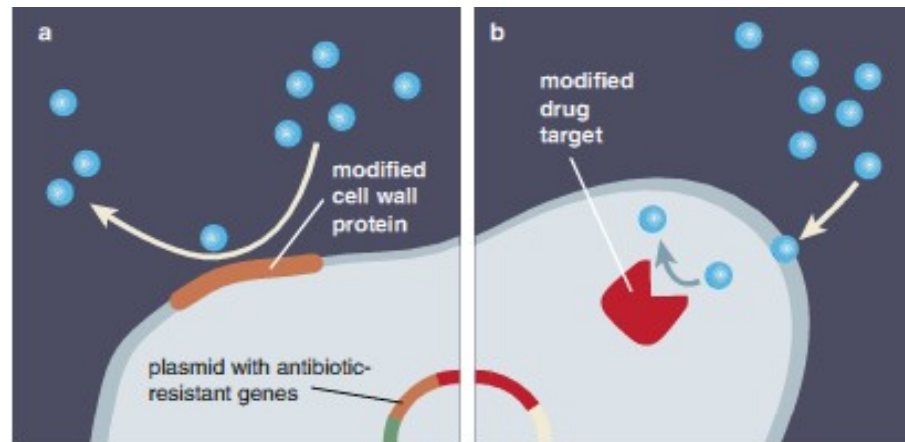
25 Οκτωβρίου 2022

Στόχοι δράσης αντιβιοτικών

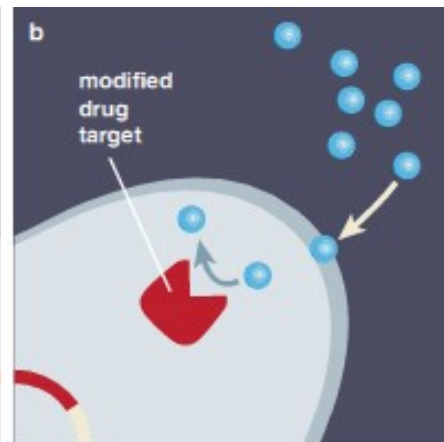


Μηχανισμοί αντοχής

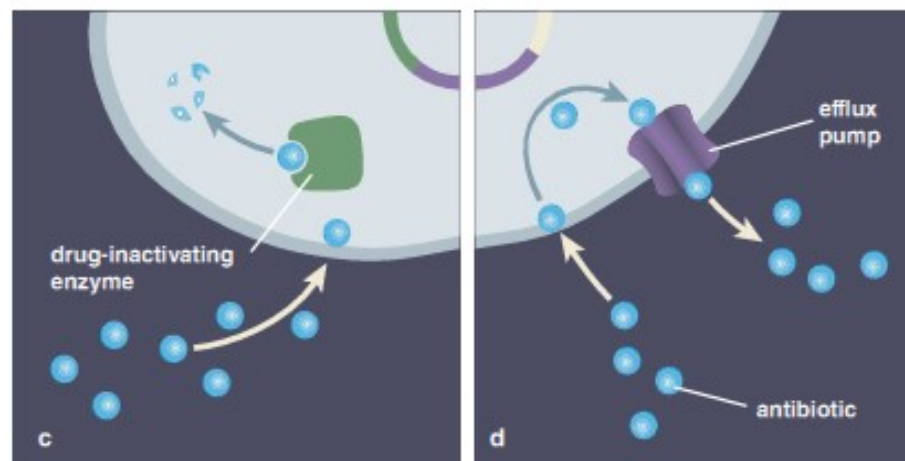
Ελαττωμένη κυτταρική διαπερατότητα



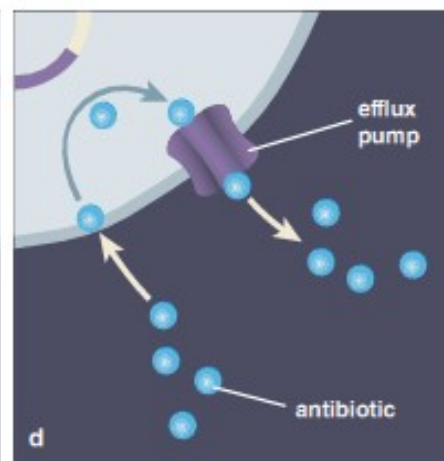
Τροποποίηση του στόχου δράσης



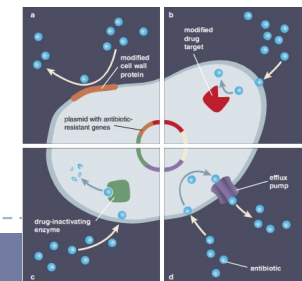
Παραγωγή ενζύμων που εξουδετερώνουν τα αντιβιοτικά



Ταχεία εκροή του αντιβιοτικού (μέσω αντλιών efflux)

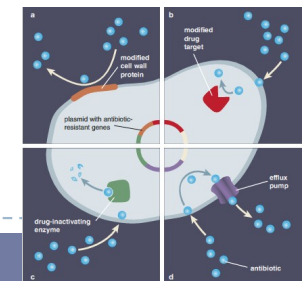


Κύριες ομάδες αντιβιοτικών



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) Κιολόνες	Αναστολή τοποϊσομεράσης (σύνθεση DNA)	Τροποποιητικά ένζυμα (AAC(6′)-Ib-cr)	Τροποποίηση στόχου <i>gyrA, parC</i>	Αντλίες ενεργητικής εκροής Μειωμένη πρόσληψη (πορίνες)
Γλυκοπεπίδια	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 (erm)	Αντλίες ενεργητικής εκροής (mefA)

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>rrbB</i> (RNA πολυμεράση)	Τροποποίηση ριφαμπικίνης (Arr)



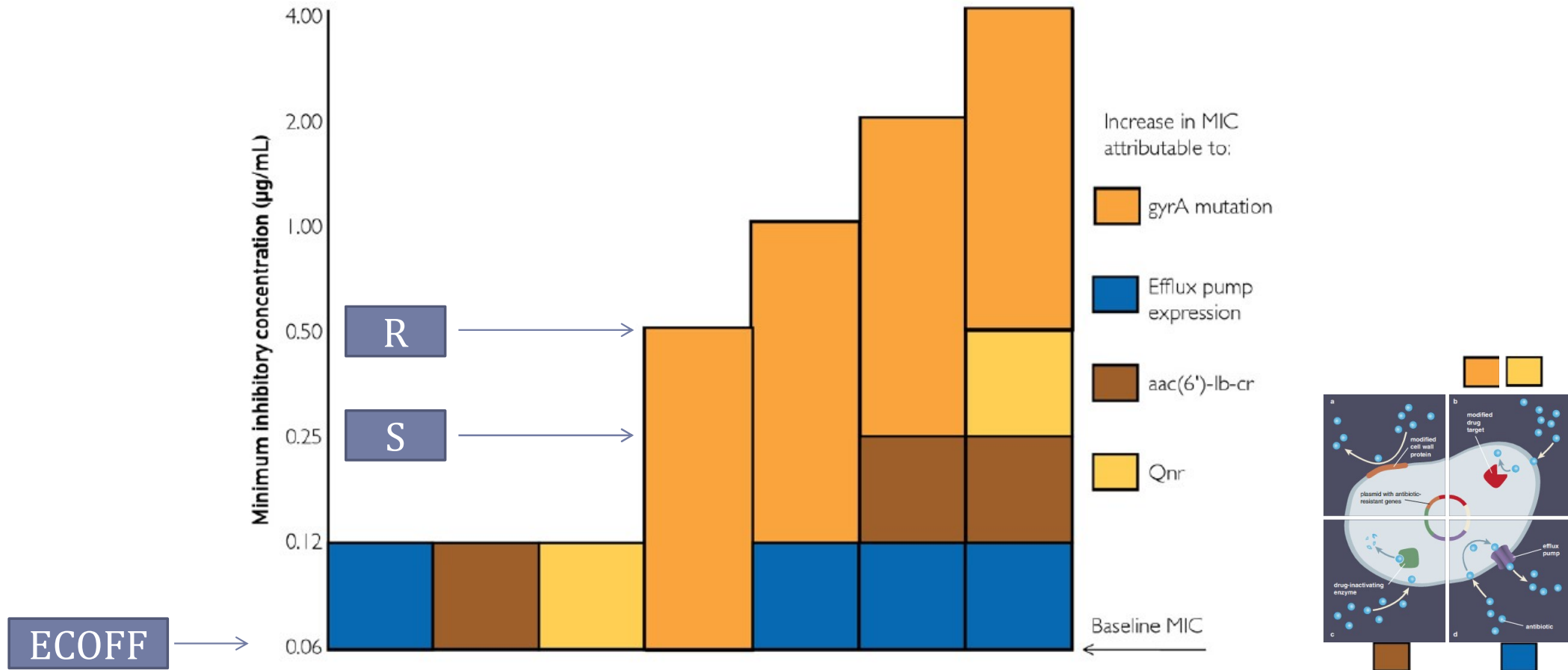
Γενετική βάση της αντιμικροβιακής αντοχής

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

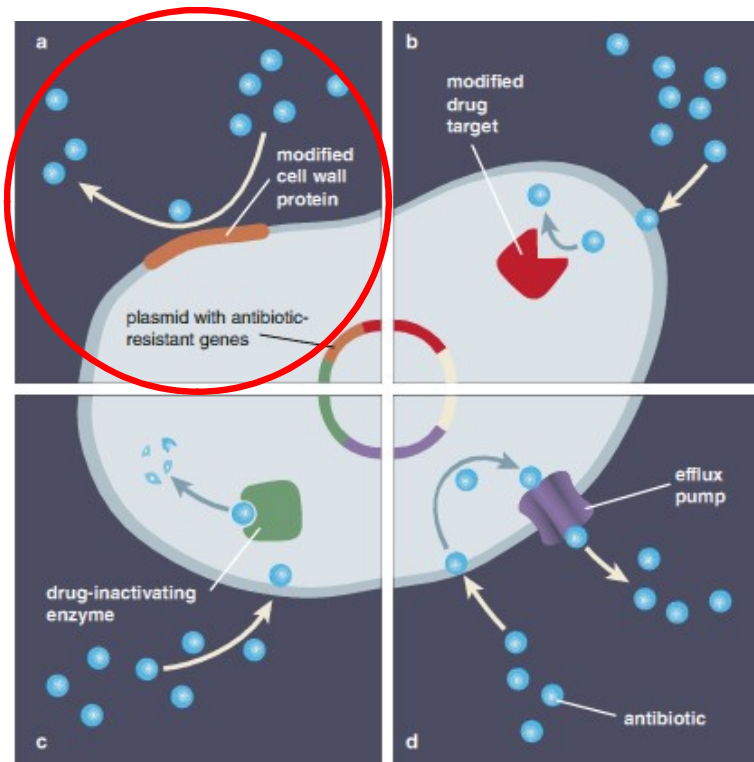


Αντιπροσωπευτικό γράφημα της συνεισφοράς διάφορων μεμονωμένων και συνδυασμένων μηχανισμών αντοχής στις φθοριοκινολόνες



Μεταβολή διαπερατότητας

Μειωμένη είσοδος



▶ Ενδογενής

- ▶ Εντεροβακτηριακά & Γλυκοπεπτίδια

▶ Επίκτητη

- ▶ Απώλεια πορινών μπορεί να συμβεί *in vivo*

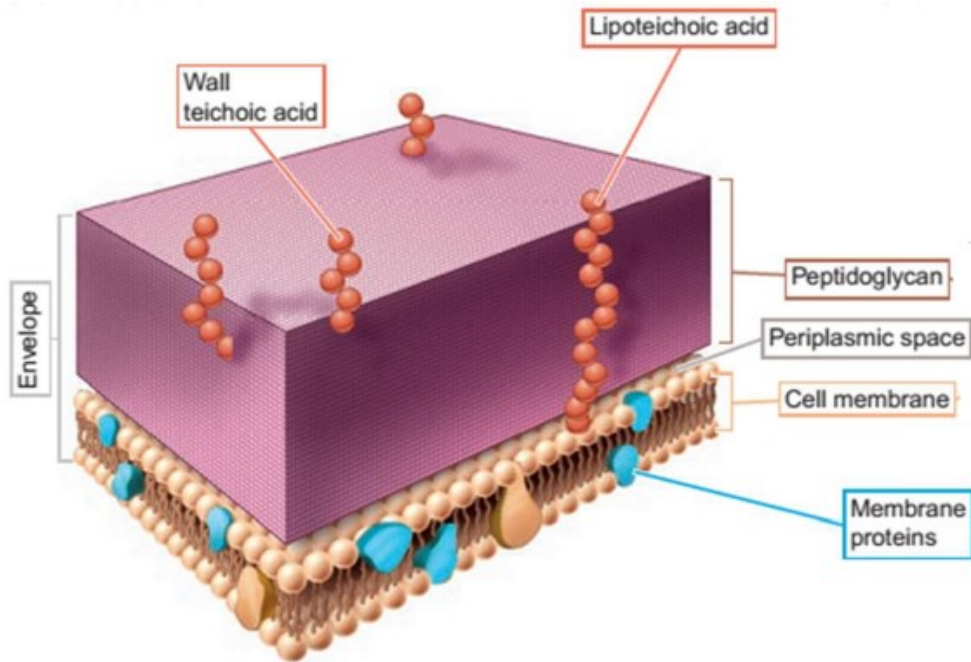
- ▶ IS elements
- ▶ Πρόωρα κωδικόνια λήξης
- ▶ Μετατόπιση πλαισίου

▶ Παραδείγματα:

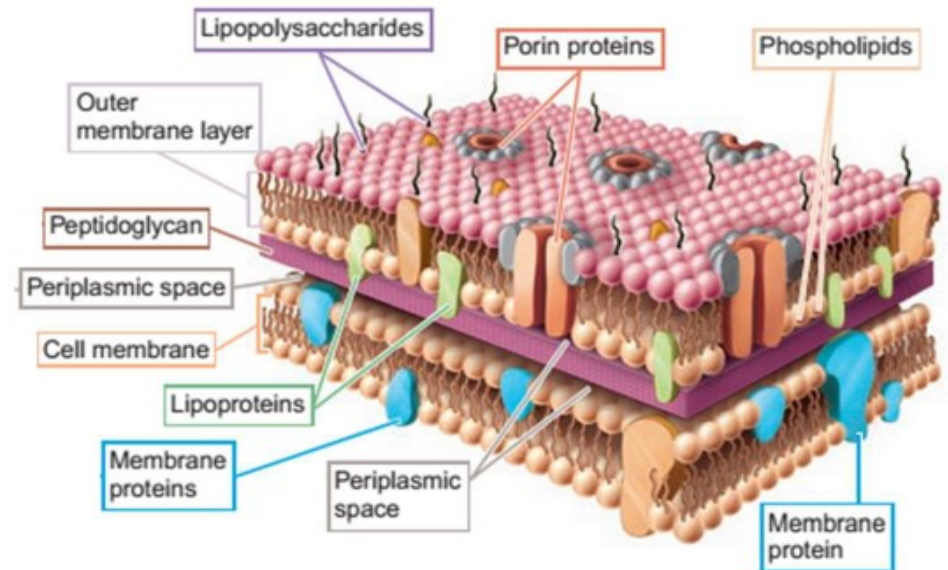
- ▶ *P. aeruginosa* – ιμιπενέμη (OprD)
- ▶ *Klebsiella* spp. – ιμιπενέμη (OmpK35, OmpK36)
- ▶ VISA (*S. aureus*)
- ▶ Gram (-) - κινολόνες (πορίνες)
- ▶ Gram (-) - αμινογλυκοσίδες (LPS)

Κυτταρικό τοίχωμα

Gram-Θετικά

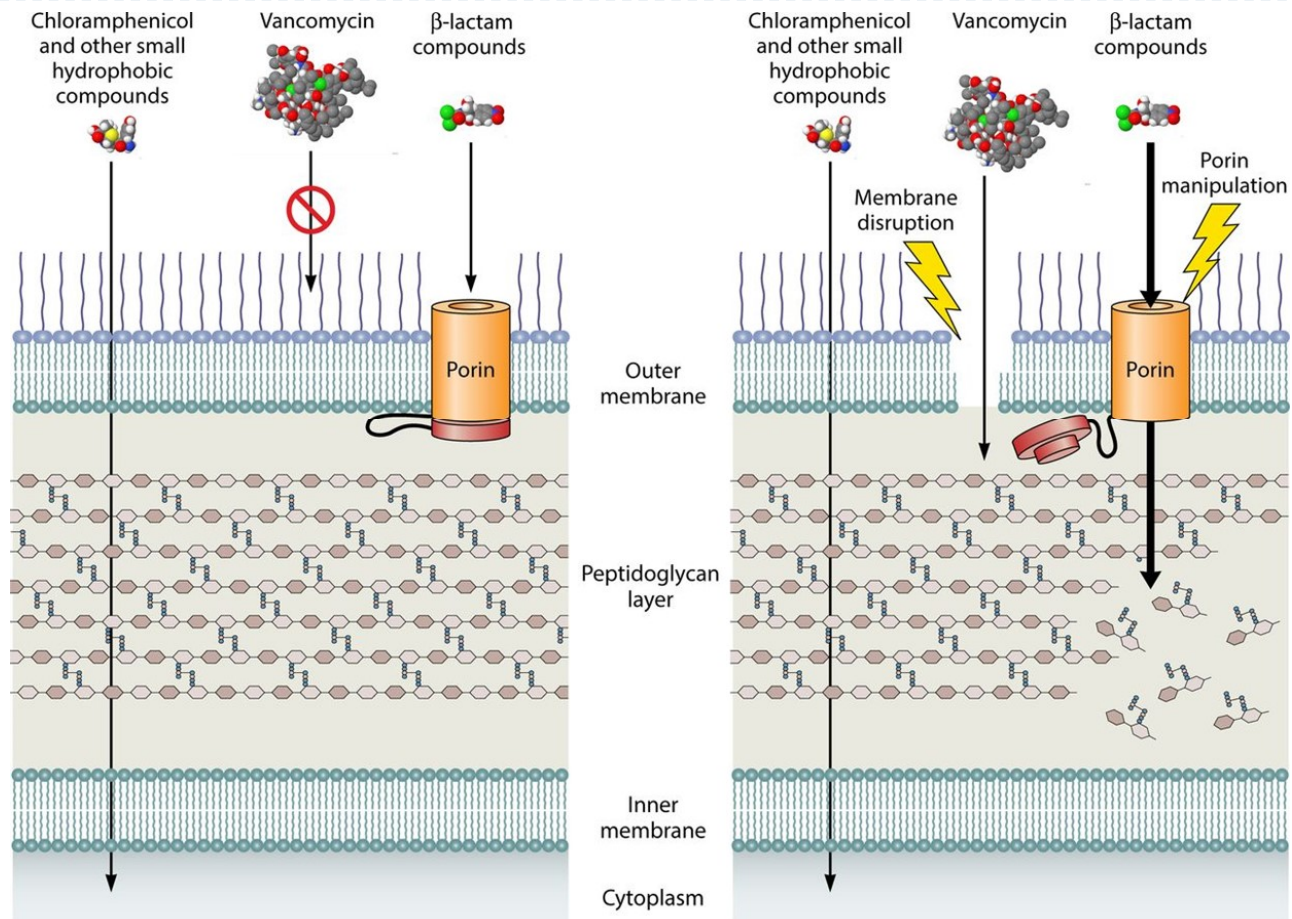


Gram-Αρνητικά



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 ενδοκυττάριους στόχους τους

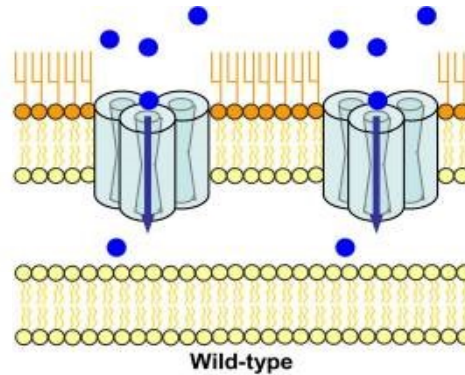


Ελαττωμένη κυτταρική διαπερατότητα – τροποποίηση πορινών

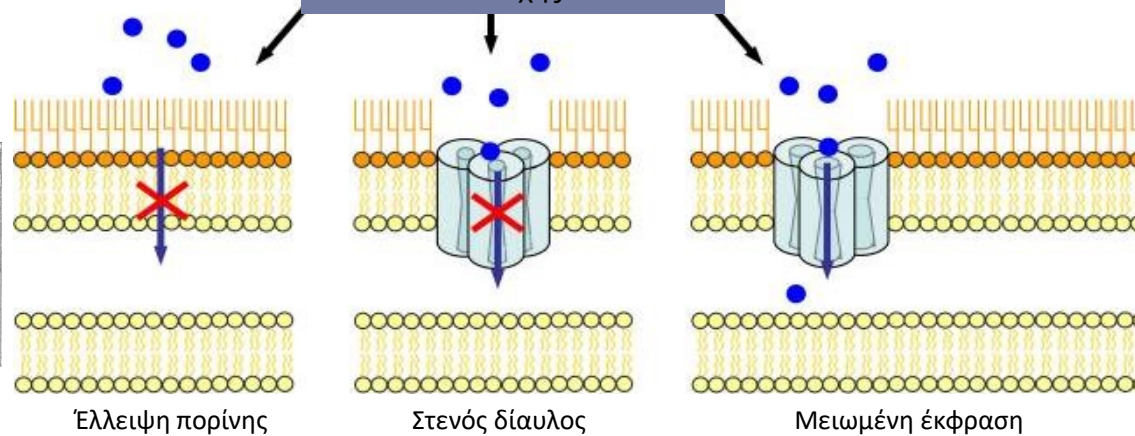
εξωτάτη μεμβράνη

περιπλαστικός χώρος

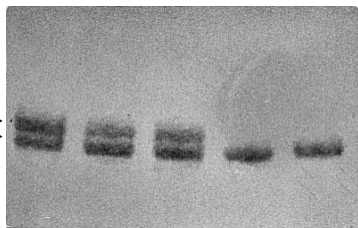
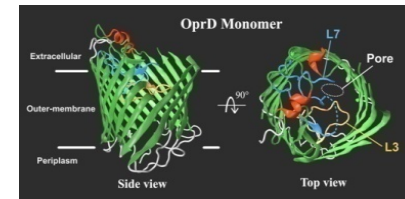
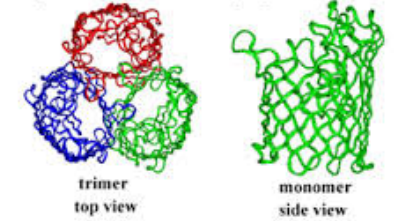
κυτταροπλασματική μεμβράνη



απόκτηση μεταλλάξεων αντοχής



Crystal structure of OmpF porin in E. coli



Συνεισφορά των μεταλλάξεων στις OmpK35 και OmpK36 στην αντοχή στις καρβαπενέμες και στον νέο αναστολέα των KPC “vaborbactam”

Antimicrobial agent	MIC (mg/L)				
	KP-90	TOP10/ pl90	KP-128	TOP10/ pl128	TOP10
Ceftazidime-avibactam	16	8	2	1	0.5
Imipenem	512	16	128	16	0.25
Meropenem	512	8	512	8	0.06
Meropenem-vaborbactam	4	0.06	16	0.06	0.03
Doripenem	>64	8	>64	8	≤0.06
Carbapenemase gene	<i>bla</i> _{KPC-23}	<i>bla</i> _{KPC-23}	<i>bla</i> _{KPC-2}	<i>bla</i> _{KPC-2}	-
Major porin	OmpK35	FS_aa89	FS_aa89	WT	WT
mutation	OmpK36	WT	GD	WT	WT

Μεταλλαγές στην OprD που προκλήθηκαν in vitro (έκθεση σε ιμιπενέμη) σε κλινικά στελέχη *P.aeruginosa*

Table 4
OprD allelic variants compared to PAO1 of the 13 *P. aeruginosa* clinical isolates, ATCC27853 and their isogenic persistent or mutated strains obtained during determination of MPCs.

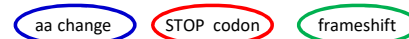
Isolate	MIC (mg/L)		L1		L2		L3		L4		L5		L6		L7		L8																						
	IMP	MEM	43	57	59	103	115	120	127	170	181	185	186	189	202	210	230	240	244	262	265	267	276	277	278	281	296	301	310	312	315	347	354	359	377	383	403	424	425
PAO1			D	S	S	T	K	Y	V	F	I	E	D	S	T	N	G	A	T	W	S	A	K	Q	R	G	A	L	G	V	S	Q	G						
U4131	2	2																																					
4131A	8	4																																					
U4145	2	2																																					
4145A	8	8																																					
b3553	1	4			S	T				L	Q	G	T																										
3553A	>32	8			S	T				L	Q	G	T																										
P3281	0.5	2			S	T				L	Q	G	T																										
3281A	16	2			S	T				L	Q	G	T																										
3267	1	0.5								L	Q	G	T																										
3267A	8	16								L	Q	G	T																										
U4185	2	0.12								L	Q	G	T																										
4185A	16	8								L	Q	G	T																										
b3546	2	2	N	E	R						Q	A	K	T	T	S																							
3546A	16	16	N	E	R						Q	A	K	T	T	S																							
P3322	2	0.5	N	E	R						Q	A	K	T	T	S																							
3322A	16	16	N	E	R						Q	A	K	T	T	S																							
b3201	1	0.25	N	E	R						Q	A	K	T	T	S																							
3201A	16	4	N	E	R						Q	A	K	T	T	S																							
ATCC27853	2	0.5	N	E	R						Q	A	K	T	T	S																							

Loop L1, amino acids 47-61; Loop L2, amino acids 93-127; Loop L3, amino acids 153-192; Loop L4, amino acids 221-233; Loop L5, amino acids 260-274;

Loop L6, amino acids 304-317; Loop L7, amino acids 352-392; Loop L8, amino acids 418-431

* Short L7 Loop; - Stop codon; * Frameshift

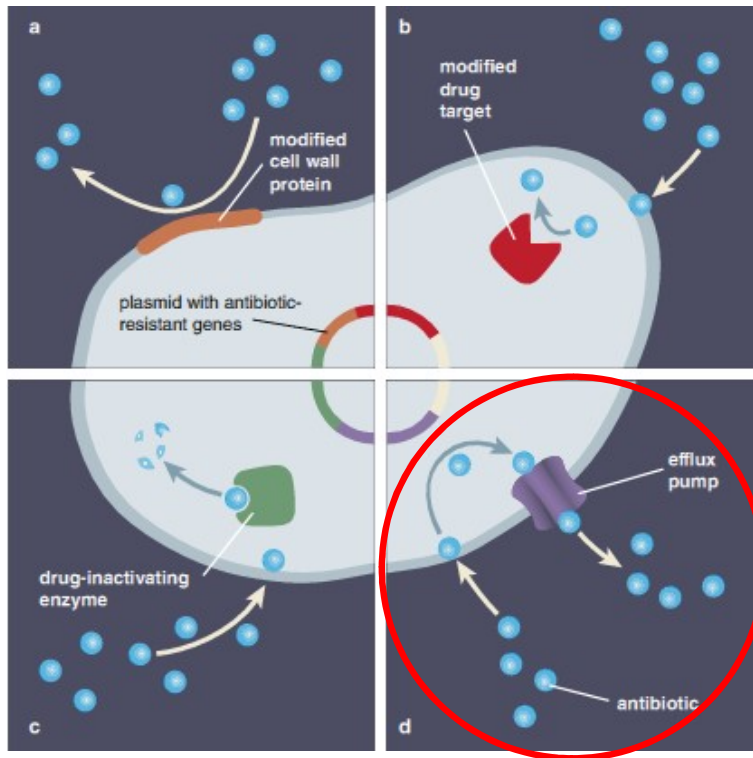
Gray shaded: OprD amino acid changes in mutated isolates compared to their isogenic clinical isolates.



FS_aa89: Μετατόπιση πλαισίου λόγω εισδοχής νουκλεοτιδίου, με αποτέλεσμα τη δημιουργία κωδικωνίου λήξης στο αμινοξύ 89
OmpK36-WT: Πορίνη χωρίς μεταλλάξεις (WP_002913005.1)
GD, Διπλασιασμός των αμινοξέων γλυκίνης (G) και ασπαρτικού (D) στις θέσεις 136 και 137

Μεταβολή διαπερατότητας

Αυξημένη απέκκριση

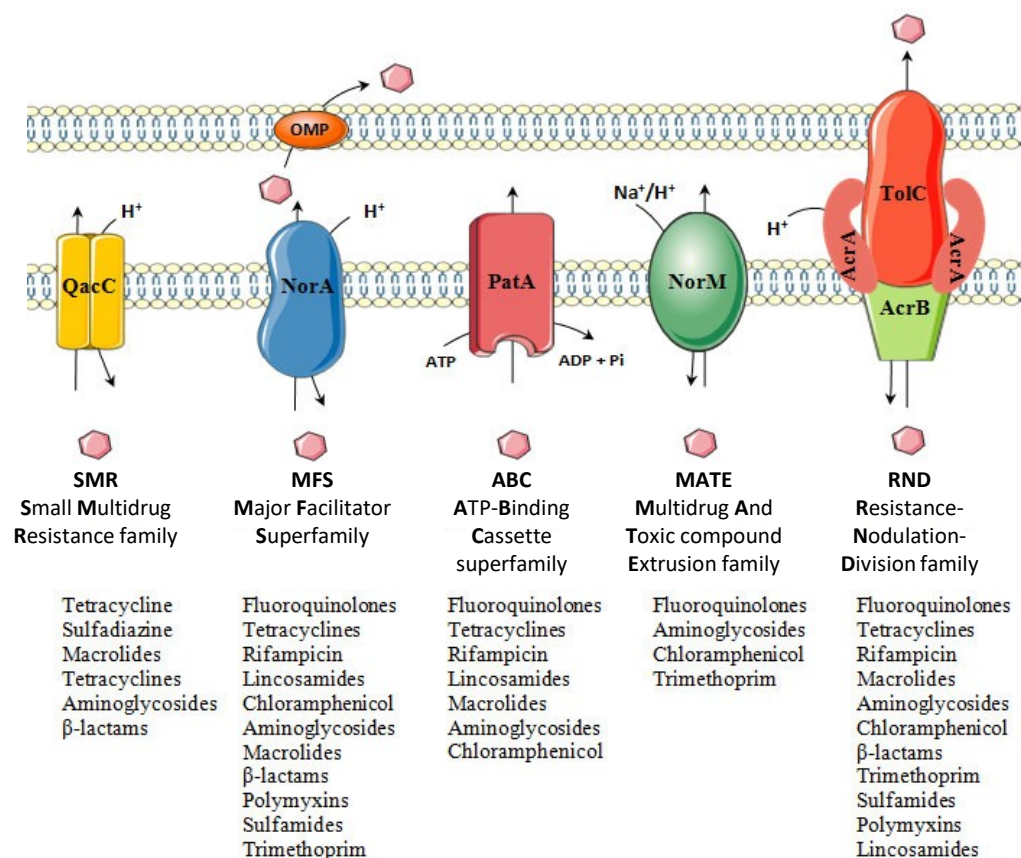


Παραδείγματα

- ▶ Enterobacterales – τετρακυκλίνες
 - ▶ Ο κύριος μηχανισμός αντοχής στην τιγεκυκλίνη
 - ▶ Η αντοχή δημιουργείται
 - Κατά τη διάρκεια της θεραραπείας με τιγεκυκλίνη
 - Χωρίς προηγούμενη χρήση της τιγεκυκλίνης
- ▶ 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)



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

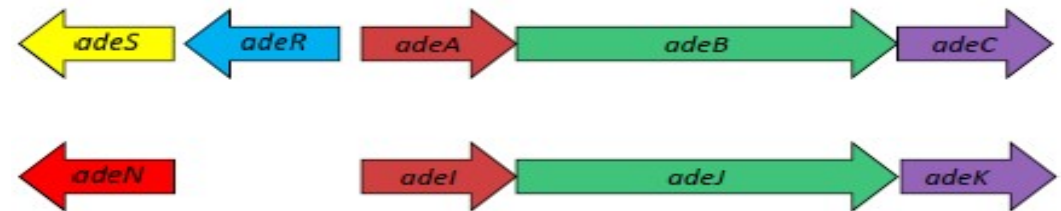
▶ *Klebsiella pneumoniae*

- ▶ 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

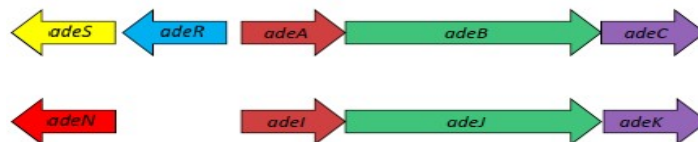


Συμμετοχή των IS elements στη ρύθμιση των efflux pumps του *Acinetobacter*

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

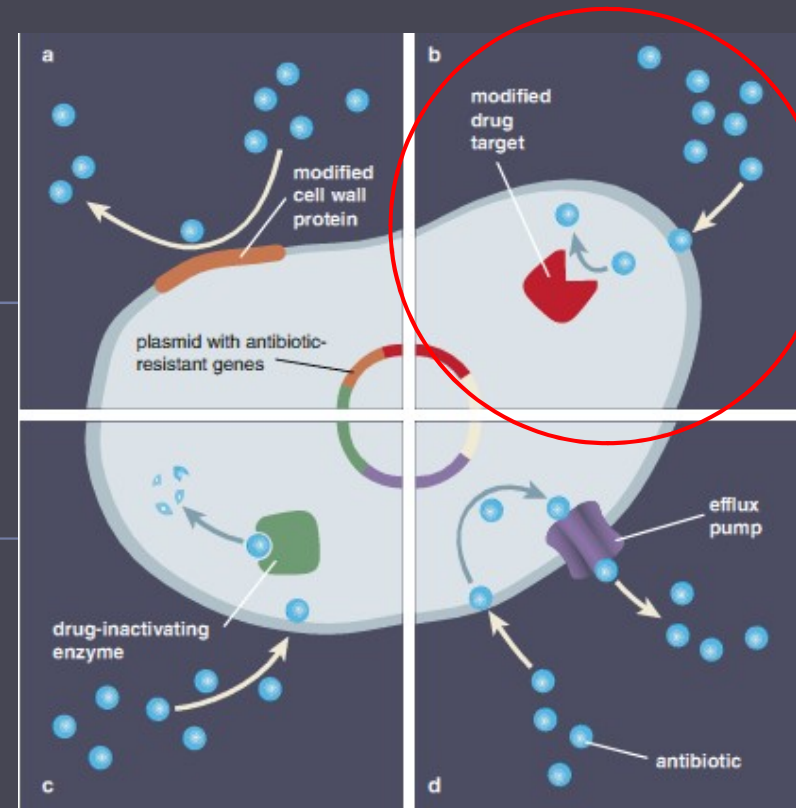
Genetic modification	Number of isolates	
	<i>adeS</i>	<i>adeN</i>
IS <i>Aba1</i>	3	18
IS <i>Aba27</i>	0	1
IS <i>Aba125</i>	0	1
IS <i>Aba1</i> insertion in intergenic region of <i>adeRS</i>	1	0
<i>adeRSABC</i> missing or truncated	2	0
1-nucleotide deletion	0	6
6-nucleotide insertion	0	2
Premature stop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

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

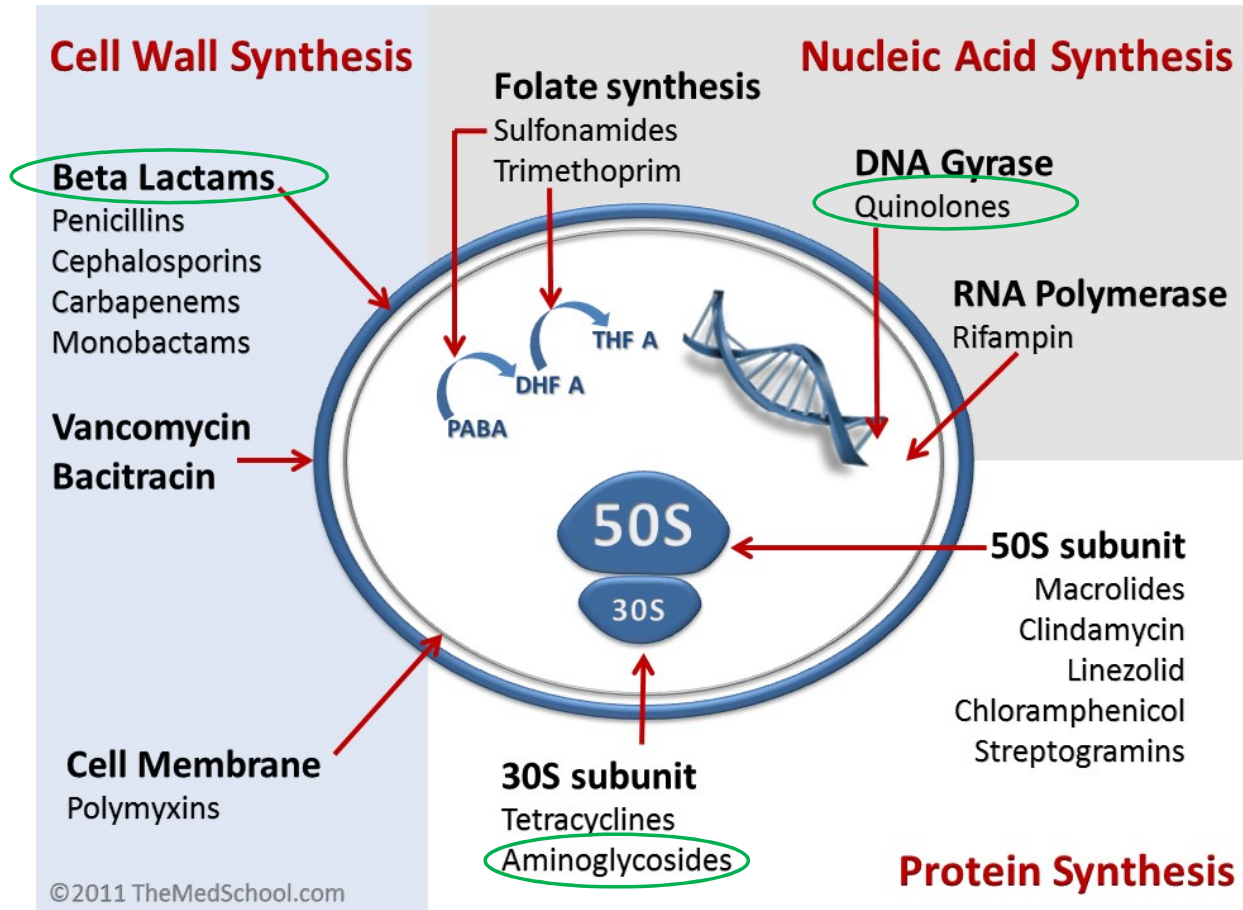


Τροποποίηση στόχου

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

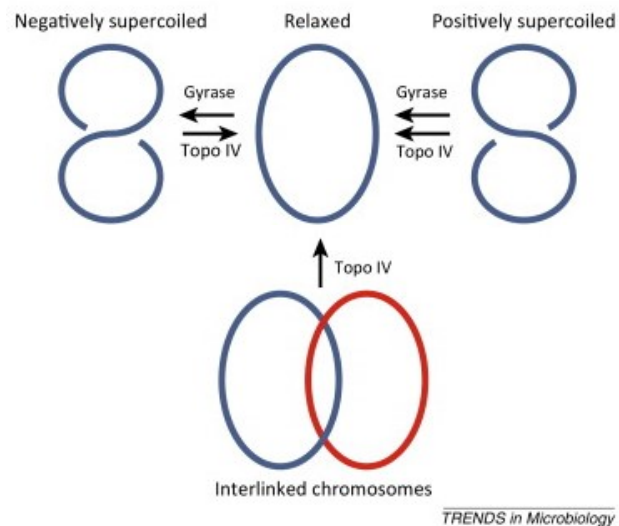


Στόχοι δράσης αντιβιοτικών



Κινολόνες: δράση και μηχανισμοί αντοχής

Δράση των τοποϊσομεράσεων τύπου II

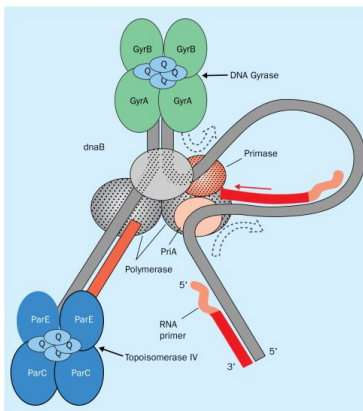


- DNA γυράση → αρνητική υπερελίκωση
- Τοποϊσομεράση IV → θετική υπερελίκωση
→ διαχωρισμό θυγατρικών χρωμοσωμάτων

- ▶ 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 τοποϊσομεράσης 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 μεταλλάξεις στις υπομονάδες
 - ▶ Κυρίως στα *gyrA* και *parC*
 - ▶ Σταδιακή αύξηση του επιπέδου της αντοχής (MIC) προκύπτει από διαδοχικές μεταλλάξεις στους πρωταρχικούς και δευτερεύοντες στόχους

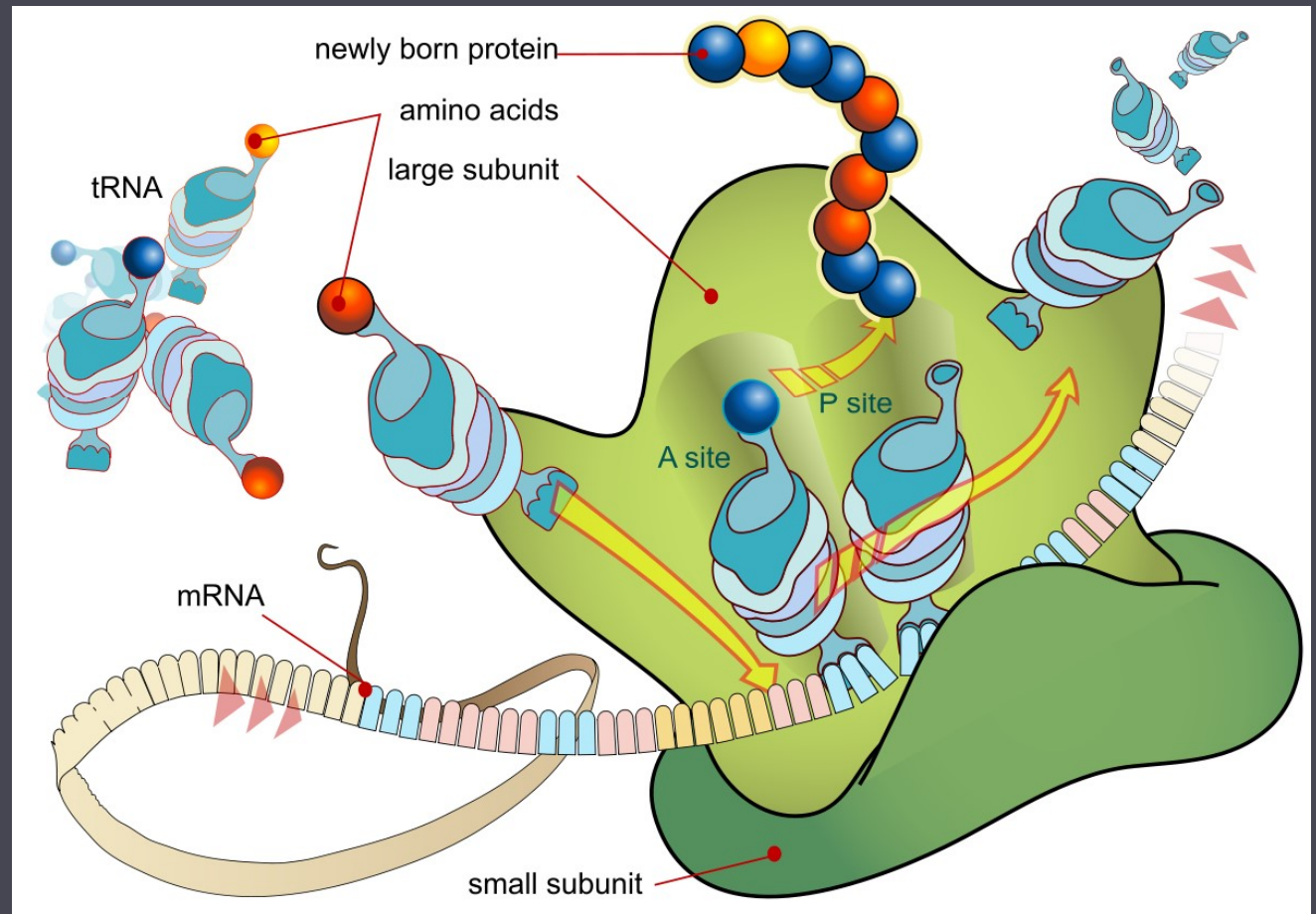
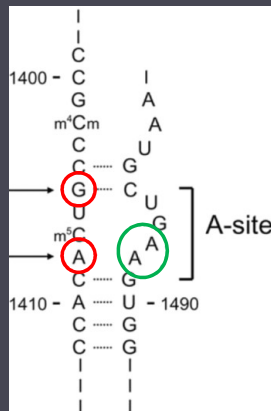


<i>gyrA</i>		<i>parC</i>		MICs (mg/L)	
Ser-83	Asp-87	Ser-80	Glu-84	Nal	Cip
Leu	-	-	-	128	0.25
Leu	-	-	-	64	0.25
Leu	-	-	-	128	0.25
Leu	-	-	-	512	0.25
Leu	-	-	-	512	0.5
Leu	-	-	-	64	0.125
Ile	-	-	-	512	0.5
-	Gly	-	-	128	0.125
-	Tyr	-	-	64	0.125
Leu	Gly	-	-	512	1
Leu	Asn	Ile	-	512	64
Leu	Asn	Ile	-	512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

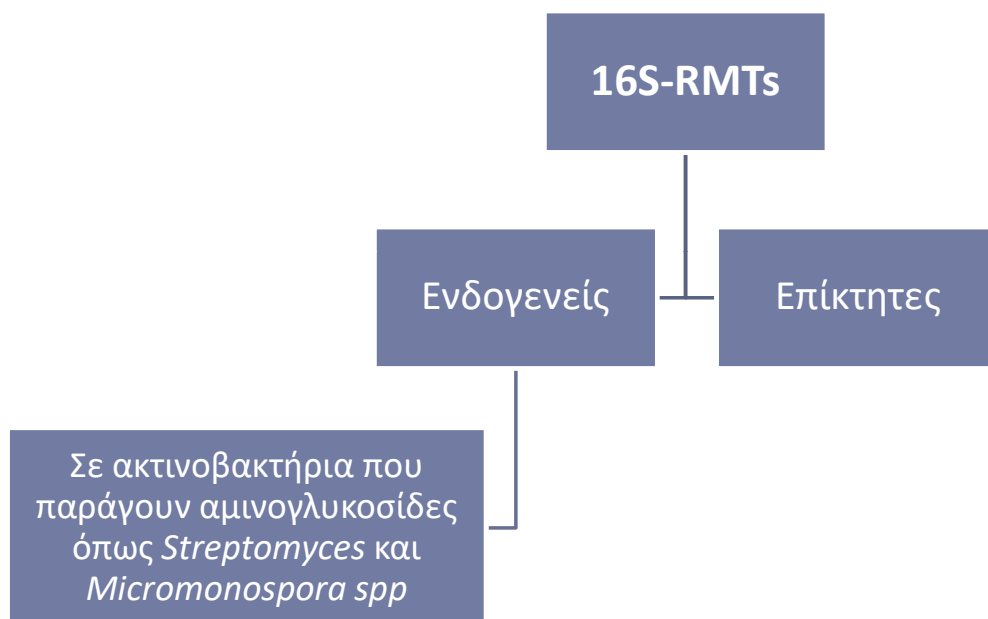
Μεθυλίωση του 16S rRNA

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)

MECHANISMS OF DISEASE

Mechanisms of disease

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

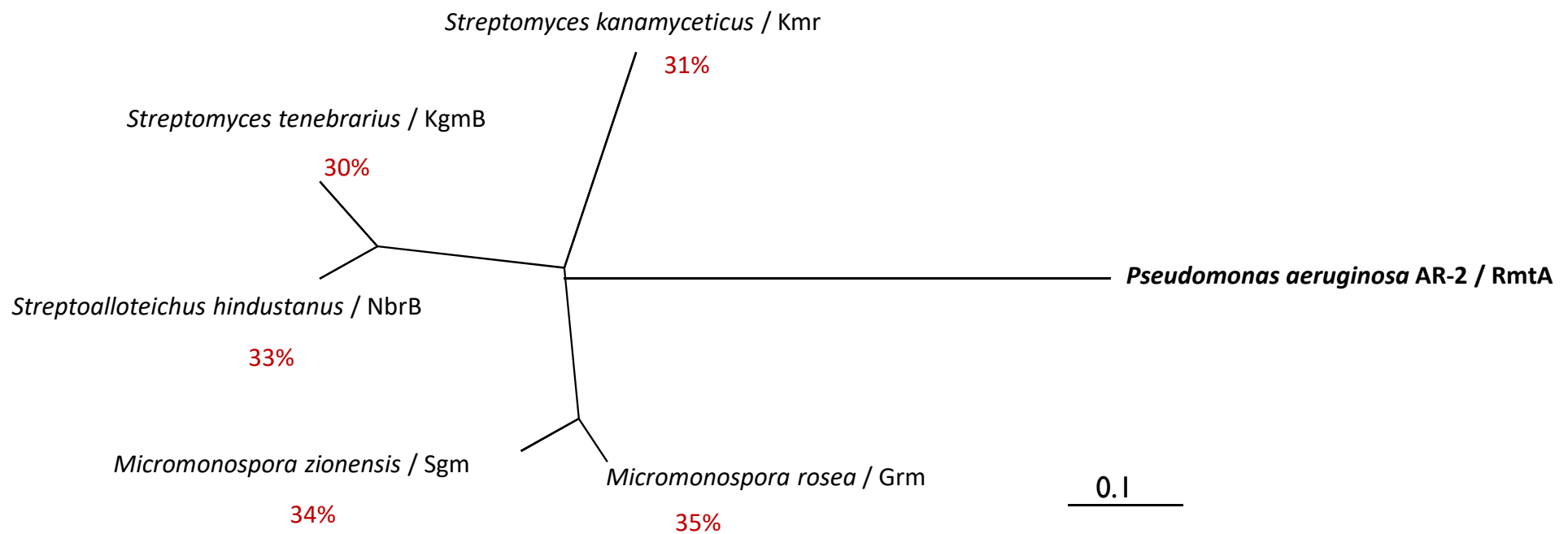
THE LANCET • Vol 362 • December 6, 2003 • www.thelancet.com

- ▶ 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> AR-2	<i>E. coli</i> XL1-blue			<i>P. aeruginosa</i> PAO1		<i>P. aeruginosa</i>	
		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	>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

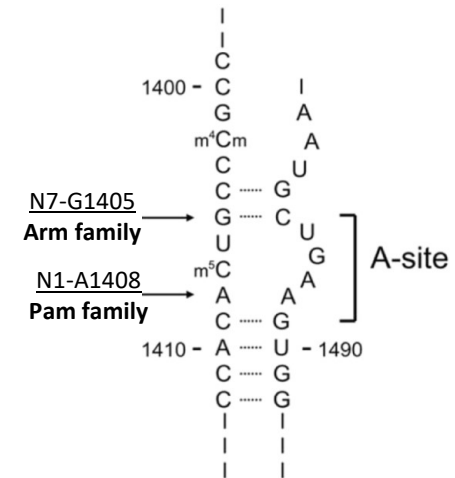
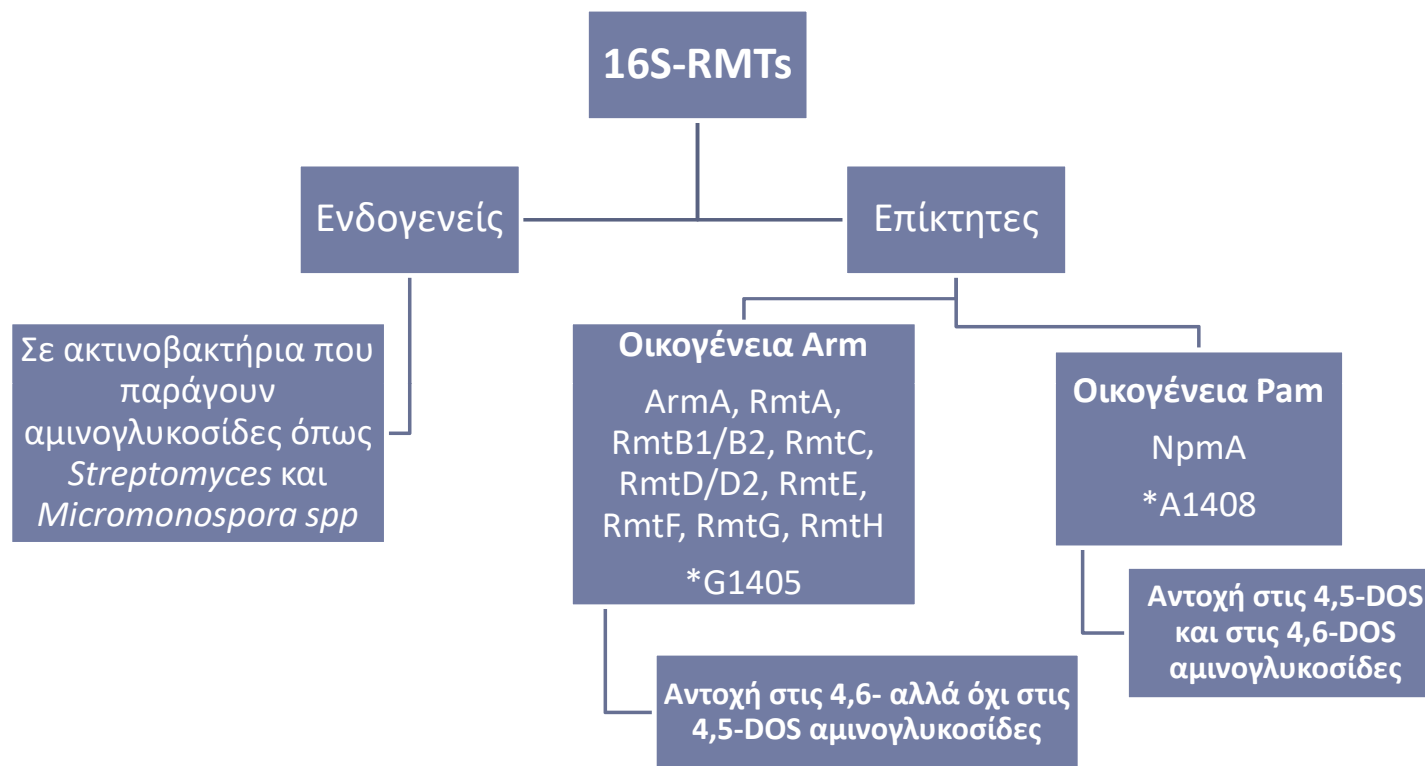
Οι συγγραφείς ανέφεραν έναν εντελώς νέο μηχανισμό για την αντοχή στις αμινογλυκοζίδες - την ενζυμική μεθυλίωση του 16S rRNA σε Gram-αρνητικά βακτήρια

Πρώτη περιγραφή πλασμιδιακής εξωγενούς 16S rRNA μεθυλάσης (RmtA)



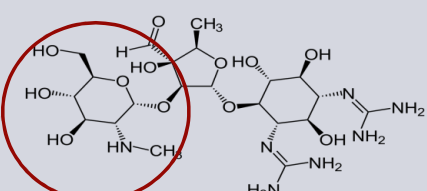
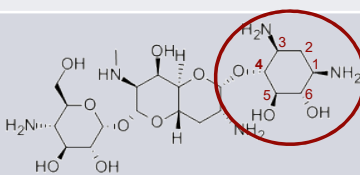
- ▶ Το προϊόν του γονιδίου *rmtA*, η RmtA, έδειξε σημαντική ομοιότητα με τις 16S rRNA μεθυλάσες που προστατεύουν το 16S rRNA στους ακτινομύκητες που παράγουν αμινογλυκοσίδες όπως τα *Streptomyces spp* και *Micromonospora spp*.

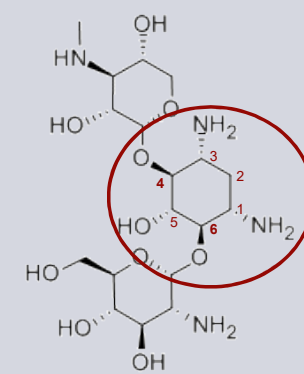
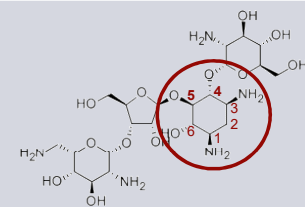
16S rRNA μεθυλάσες



4,6 DOS	4,5 DOS
<ul style="list-style-type: none"> <u>Kanamycin</u> Tobramycin Amikacin <u>Gentamicin</u> Sisomicin Netilmicin Plazomicin 	<ul style="list-style-type: none"> <u>Neomycin</u>

Δομική Ταξινόμηση Αμινογλυκοσιδών

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



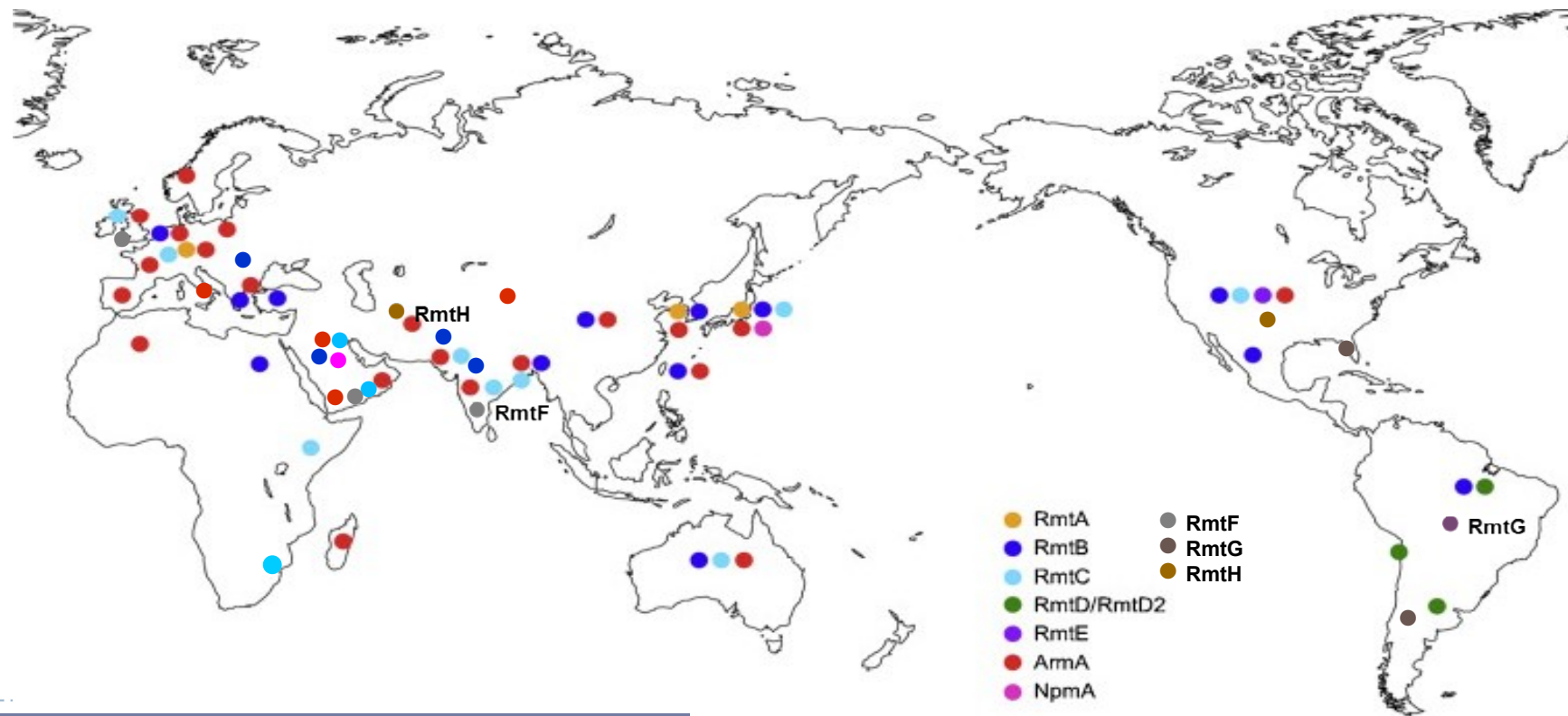
Πρώτη απομόνωση Gram-αρνητικών βακτηρίων που παρήγαγαν επίκτητη 16S-rRNA μεθυσλάση

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	κγ		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

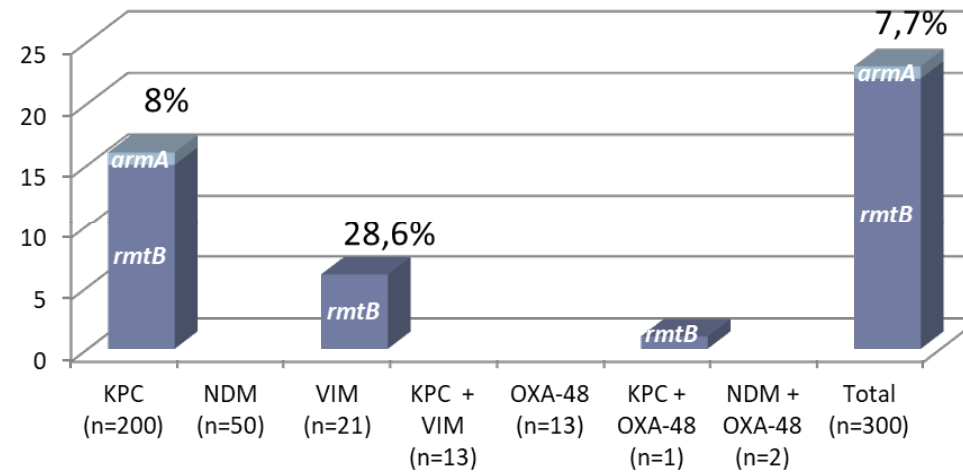
Νοέμβριος 2007 – Οκτώβριος 2009
(2 χρόνια) / ένα νοσοκομείο

- ▶ *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

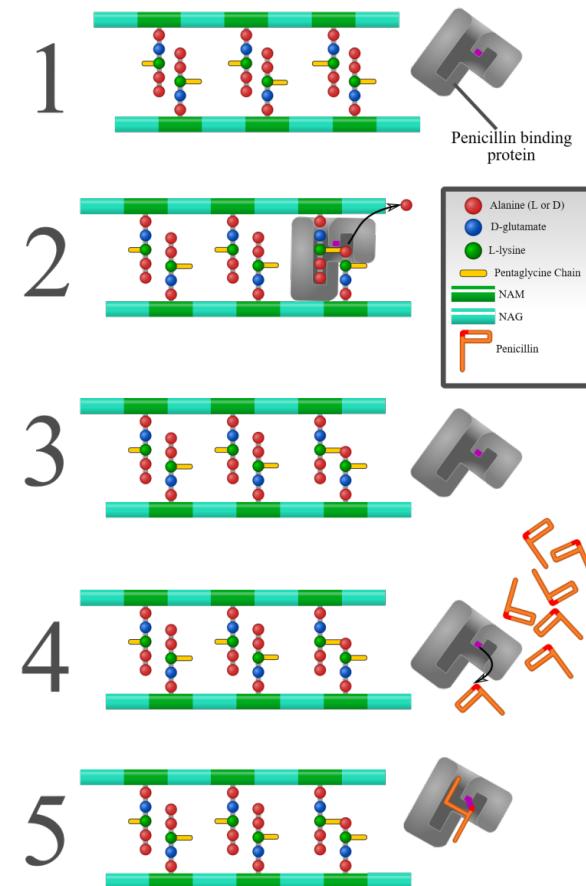
Επικράτηση των 16SrRNA μεθυσλών στις CP- *K.pneumoniae* πανελλαδικά



Μηχανισμός αντοχής του *S.aureus* στη μεθικιλίνη

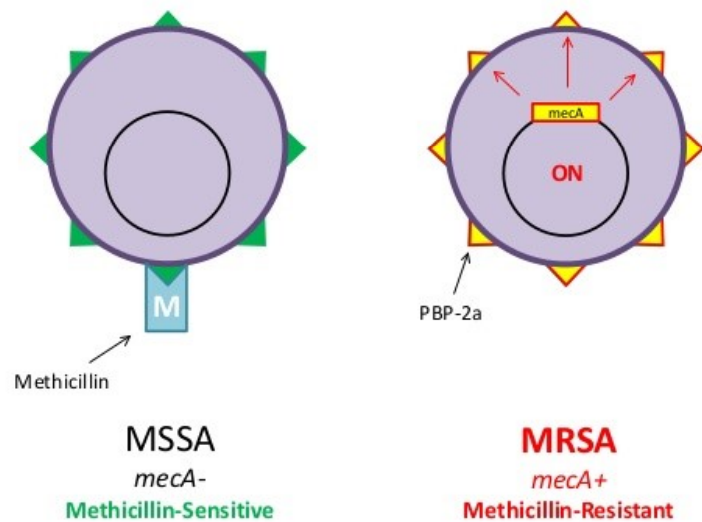
β-λακτάμες - PBP_s

- ▶ Ο στόχος δράσης των β-λακταμών είναι οι PBP_s στις οποίες προσδένονται, αναστέλλοντας τη σύνθεση της πεπτιδογλυκάνης
- ▶ Οι PBP_s δρουν ως τρανσπεπτιδάσες που καταλύουν την χιαστί σύνδεση των αλύσεων της πεπτιδογλυκάνης
- ▶ Τροποποίηση του στόχου δράσης—PBP_s
- ▶ Απαντάται συνήθως στα Gram (+) βακτήρια και συμβαίνει με:
 - ▶ Απόκτηση νέων – ξένων PBP_s (*mecA*-PBP-2a)
 - ▶ Ανασυνδυασμό των PBP_s
 - ▶ Σημειακές μεταλλαγές στις υπάρχουσες PBP_s
 - ▶ Υπερπαραγωγή PBP (σχετικά σπάνια)

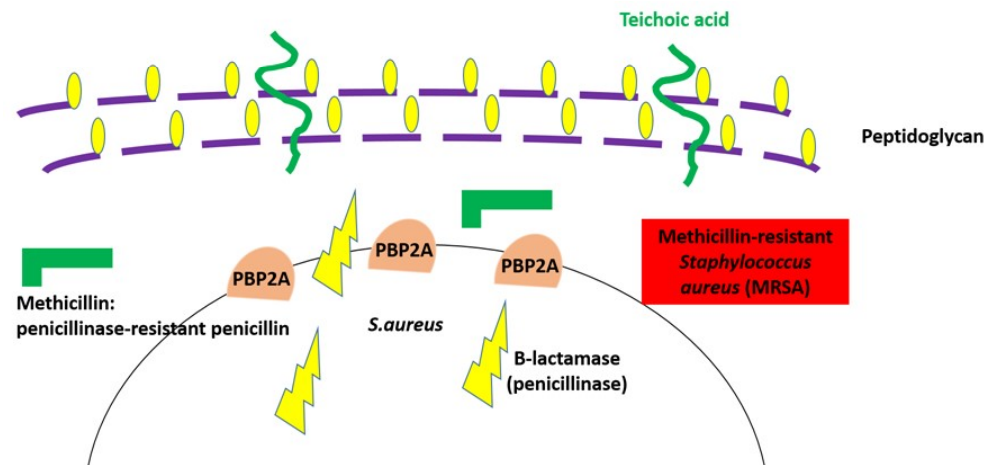


Μηχανισμός αντοχής του *S. aureus* στη μεθικιλίνη (MRSA)

mecA-encoded Methicillin Resistance

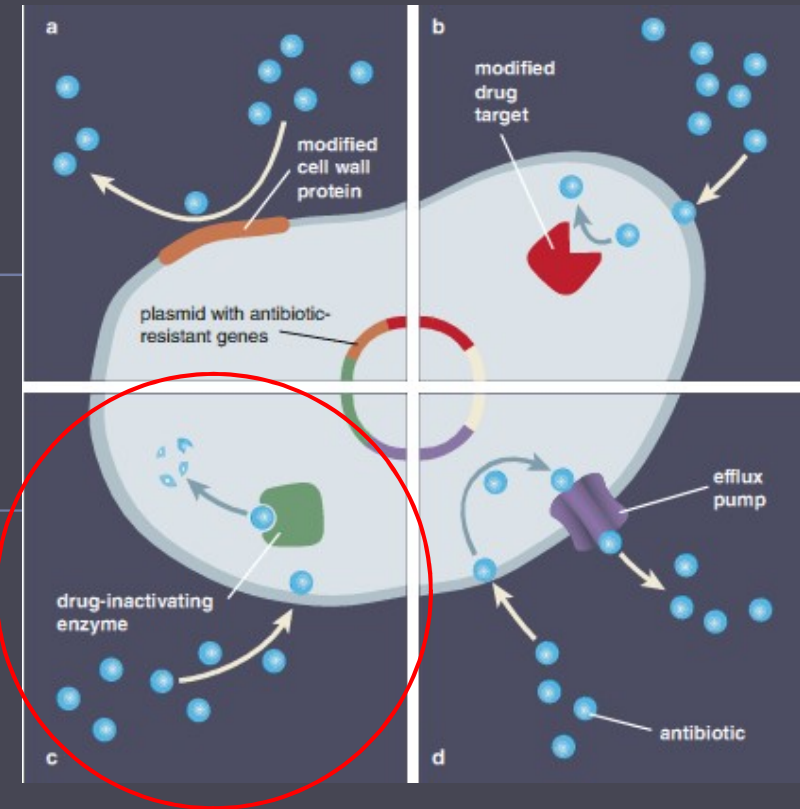


- ▶ Ο MRSA παράγει PBP-2a που κωδικοποιείται από το *mecA*
- ▶ Η PBP-2a έχει χαμηλή συγγένεια για όλες τις β-λακτάμες



Ενζυμική αδρανοποίηση

β-λακτάμες: β-λακταμάσες
Αμινογλυκοσίδες: τροποποιητικά ένζυμα



Αντοχή στα β-λακταμικά αντιβιοτικά

▶ β-Λακταμάσες

Κυρίαρχος στα
Gram-αρνητικά

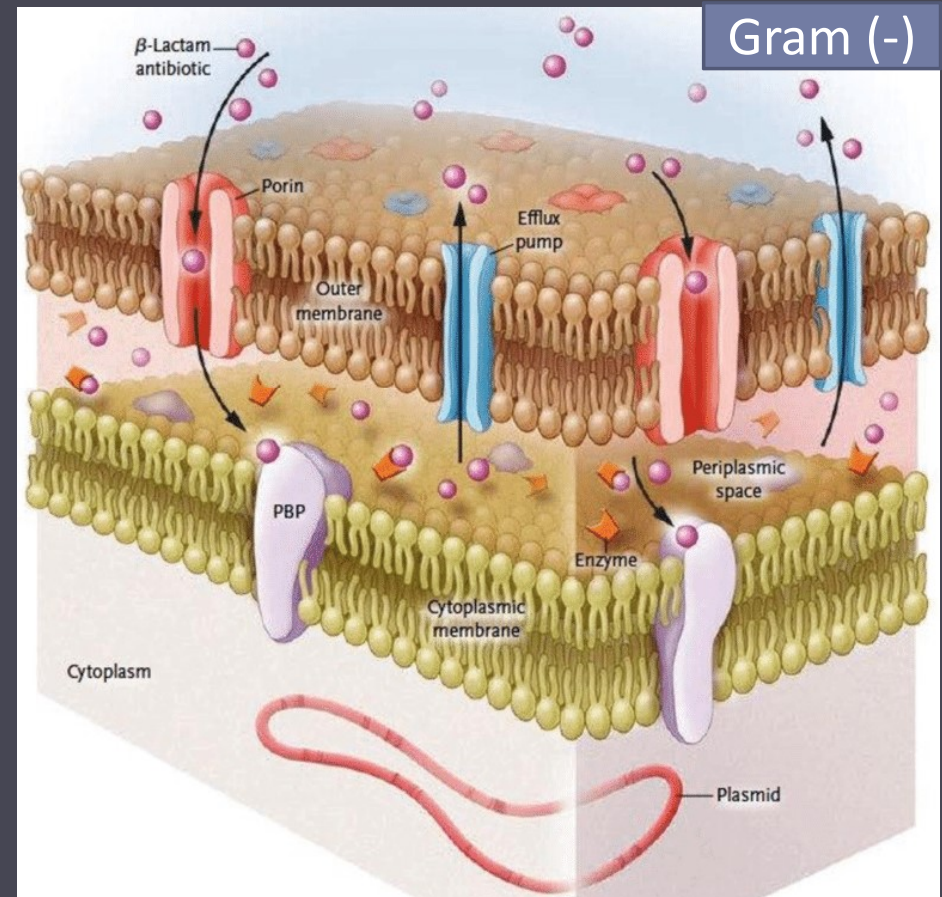
▶ Μειωμένη διαπερατότητα

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

▶ Τροποποίηση PBP's

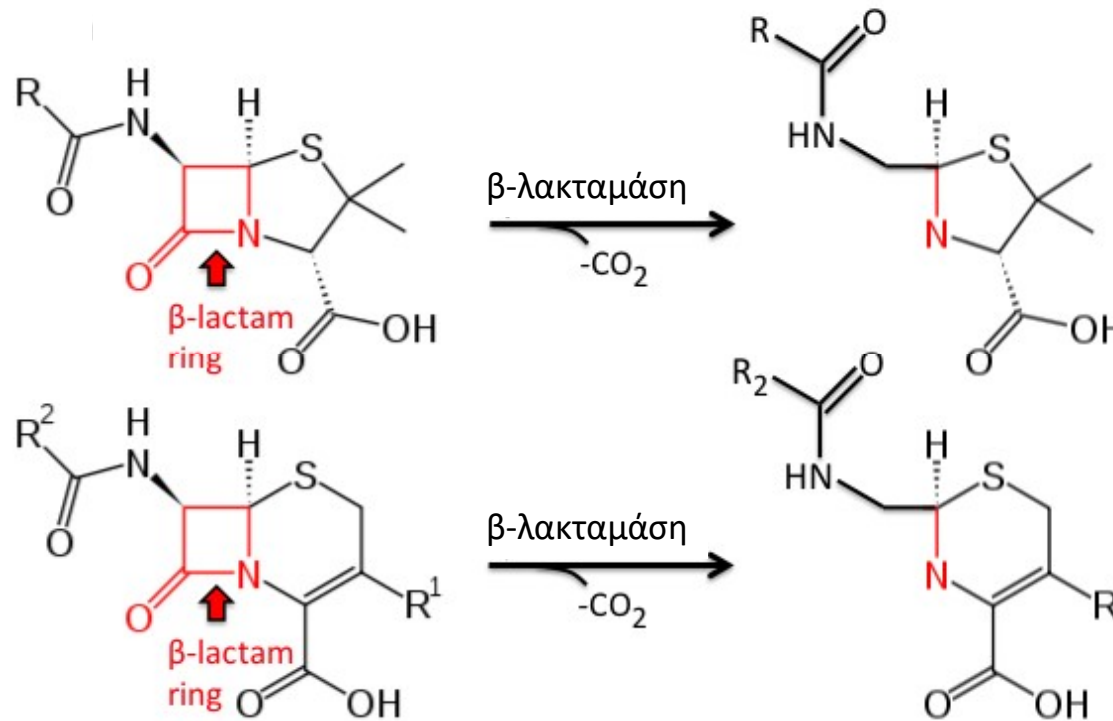
Κυρίαρχος στα
Gram-θετικά

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



Δομή πυρήνα β-λακταμών & υδρόλυση από β-λακταμάση

Πενικιλίνη

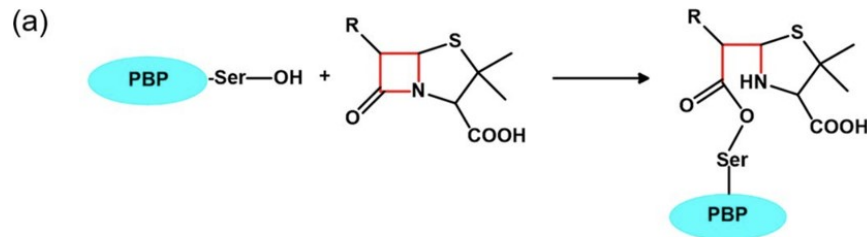


Κεφαλοσπορίνη

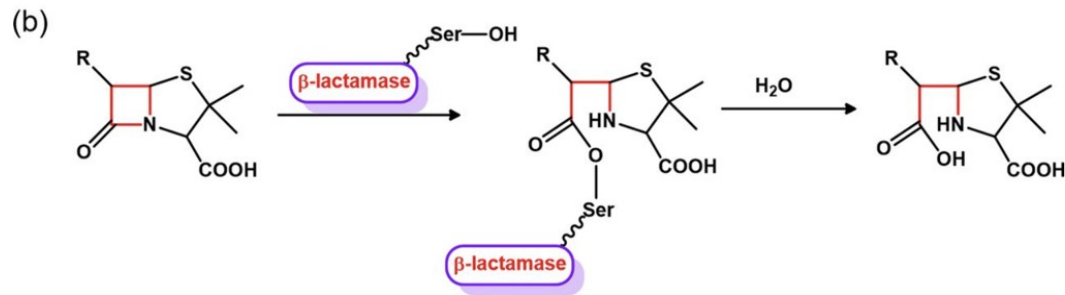
αδρανή προϊόντα υδρόλυσης

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

Μηχανισμός δράσης των β-λακταμών και των β-λακταμασών



a. Οι β-λακτάμες συνδέονται μη αναστρέψιμα με τις PBPs, εμποδίζοντας τα βακτήρια να συνθέσουν το κυτταρικό τους τοίχωμα



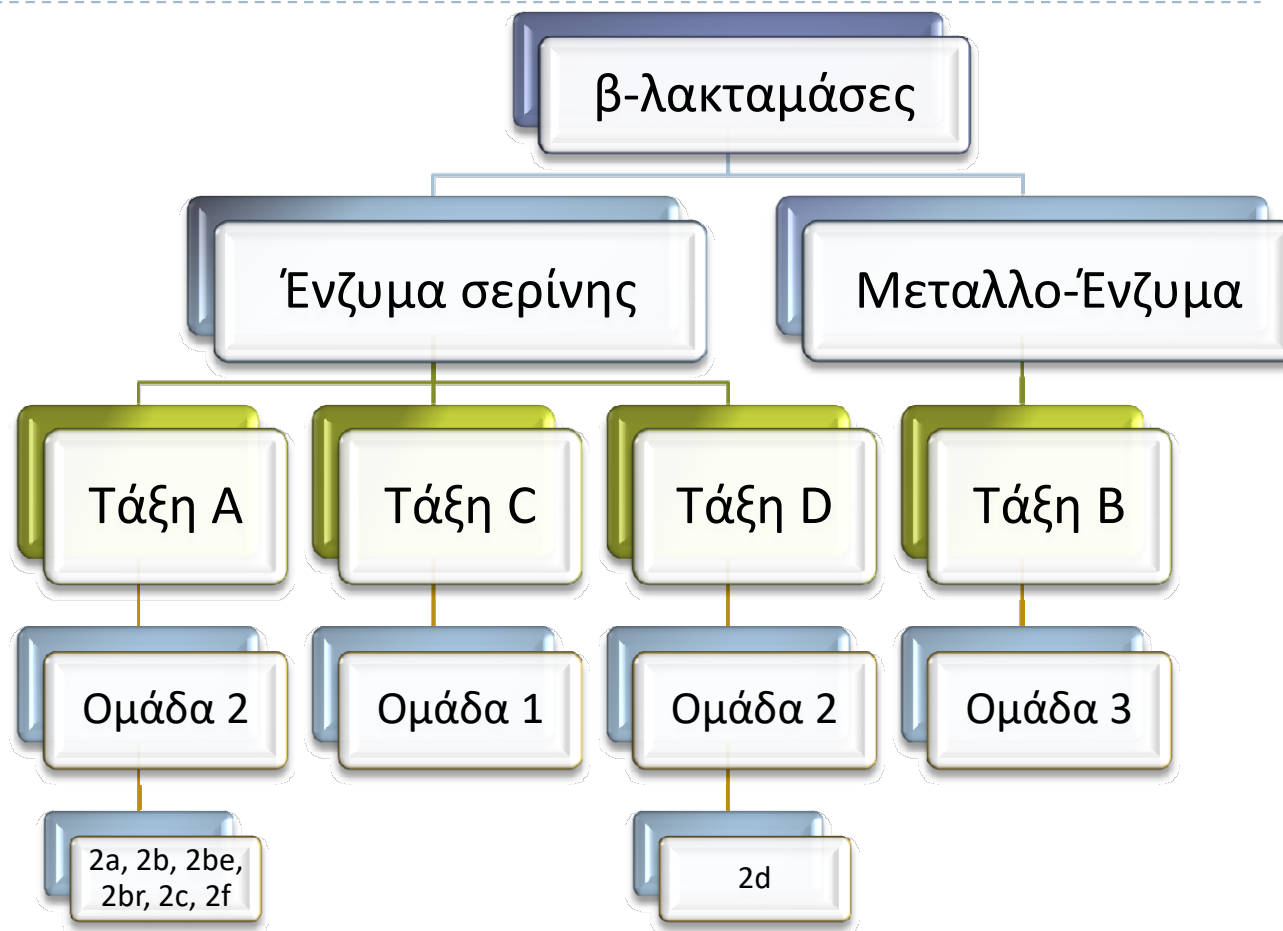
b. Οι β-λακταμάσες αλληλεπιδρούν με τις β-λακτάμες αλλά σχηματίζουν μόνο έναν προσωρινό δεσμό, οδηγώντας σε υδρόλυση

Ταξινόμηση β-λακταμασών

Ενεργό κέντρο

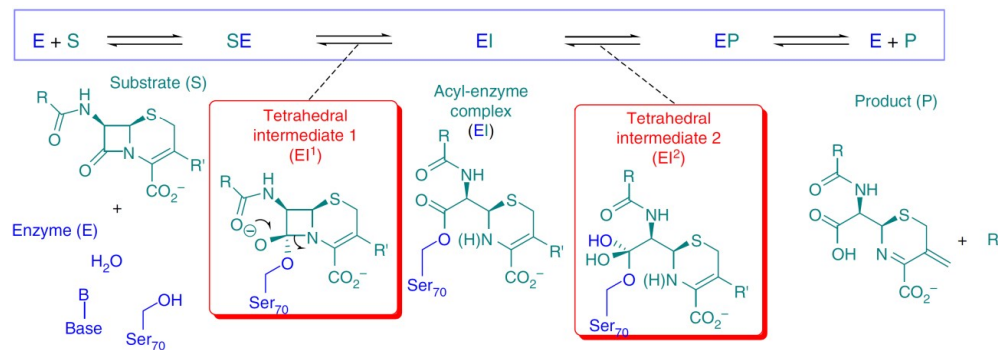
Αμινοξική αλληλουχία
κατά *Ambler*

Λειτουργικές ομάδες
κατά *Bush et al*

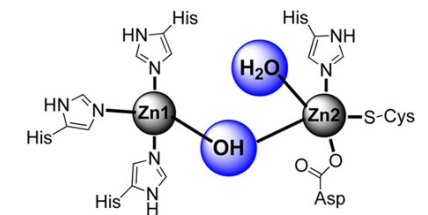
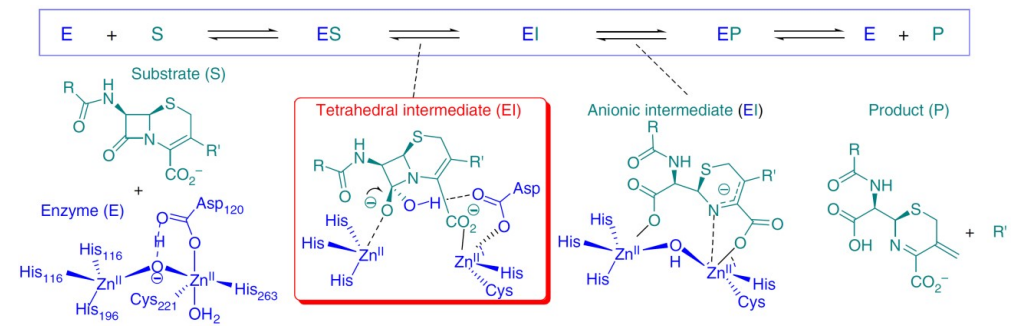


Τρόπος δράσης

Serine- β -lactamase catalysis

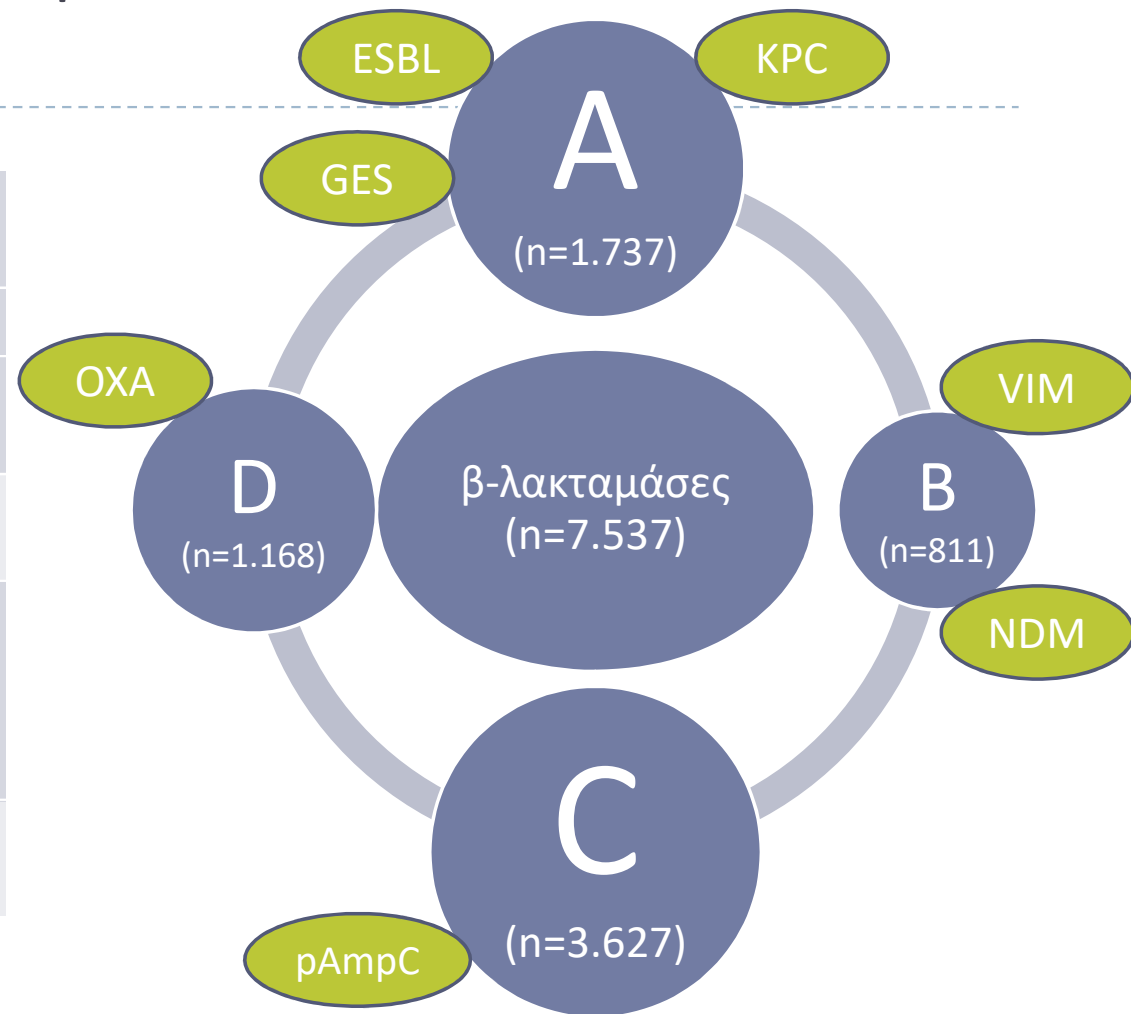


Metallo- β -lactamase catalysis

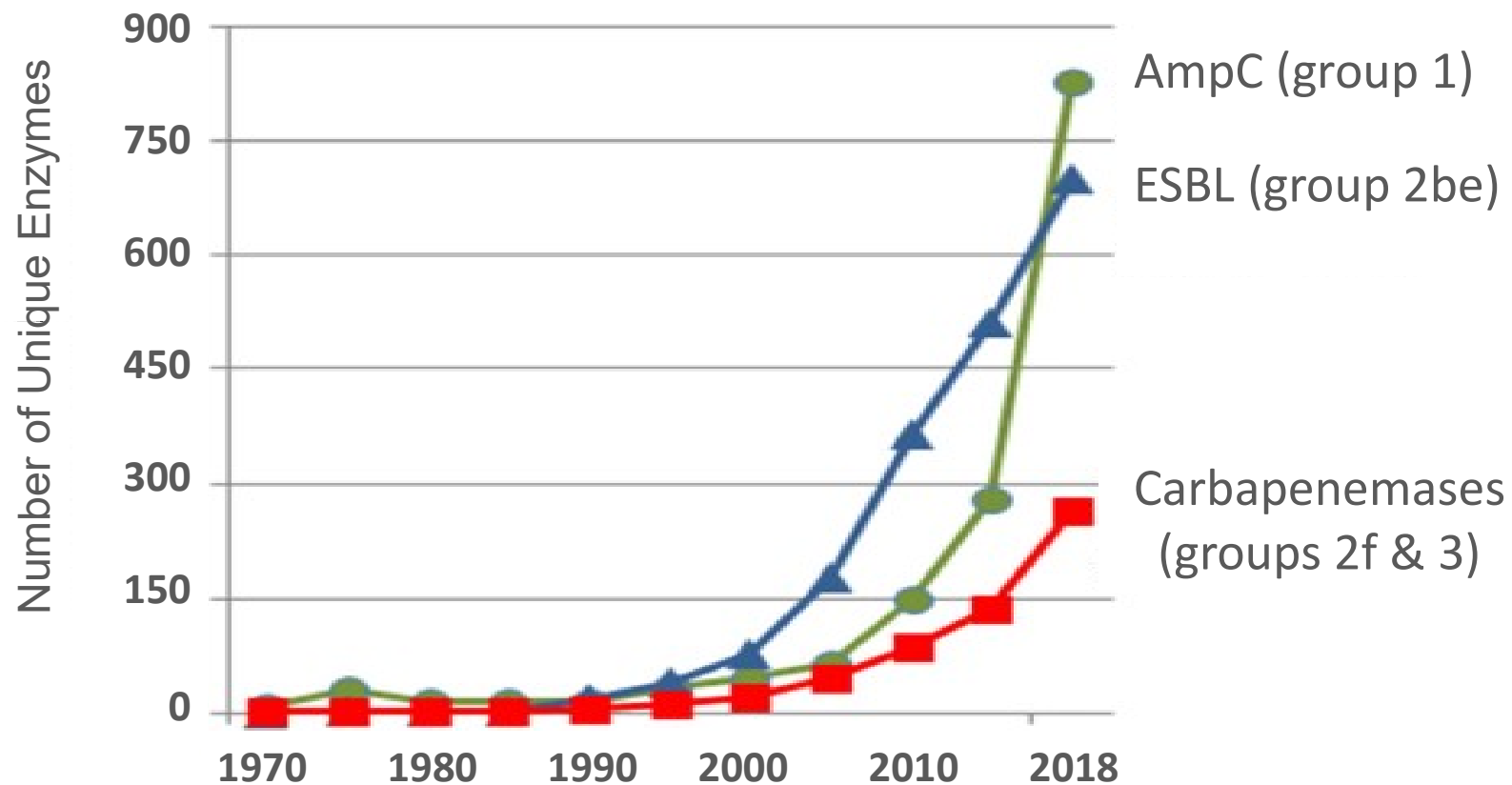


Μοριακή ταξινόμηση των β-λακταμασών κατά Ambler

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	ΟΧΑ-τύπου πλασμιδιακές β-λακταμάσες

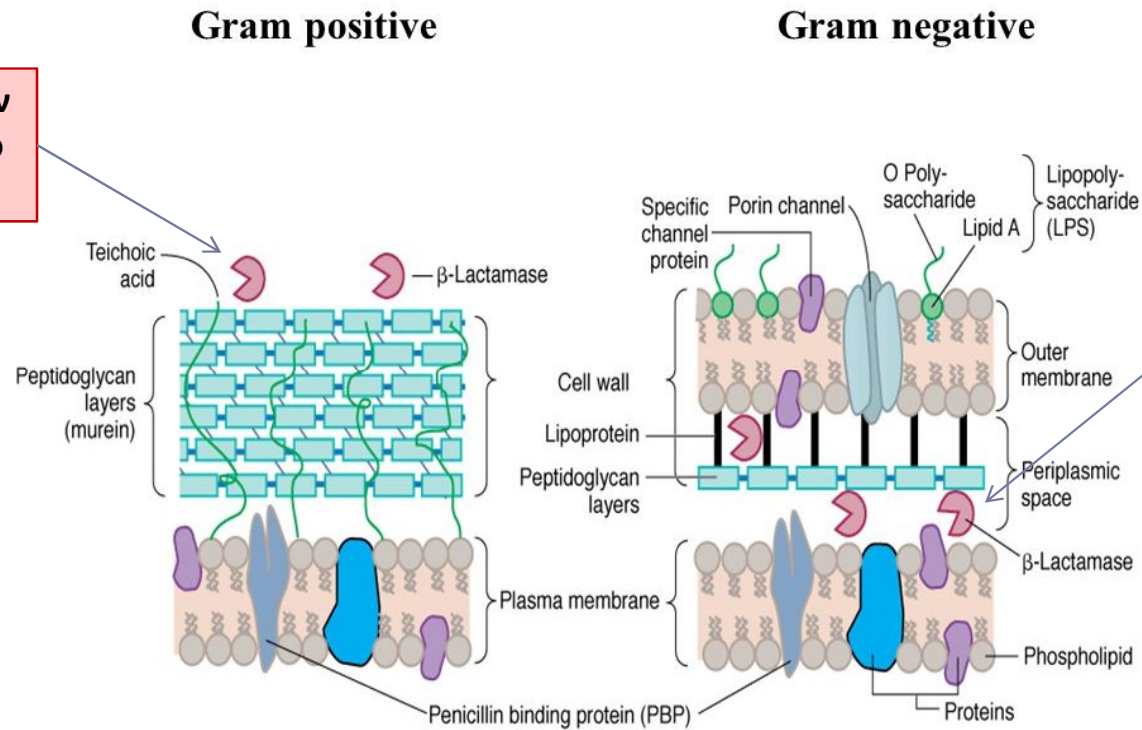


Αύξηση του αριθμού των β-λακταμασών (ESBL, carbapenemases, AmpC) από το 1970 έως σήμερα



Η θέση δράσης των β-λακταμασών

**β-λακταμάσες στον
εξωκυττάριο χώρο
(εξωένζυμα)**

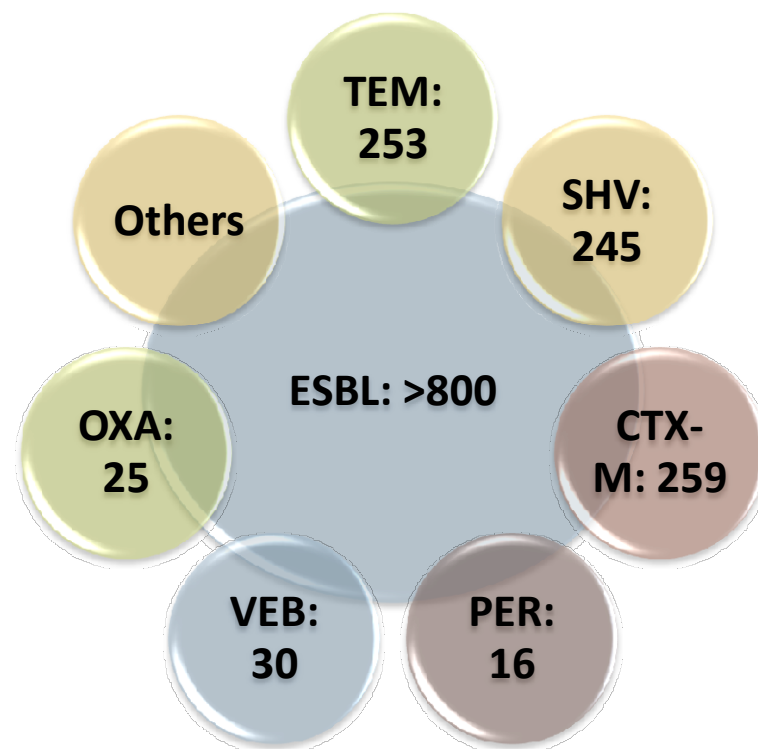


**β-λακταμάσες στον
περιπλασμικό χώρο**

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

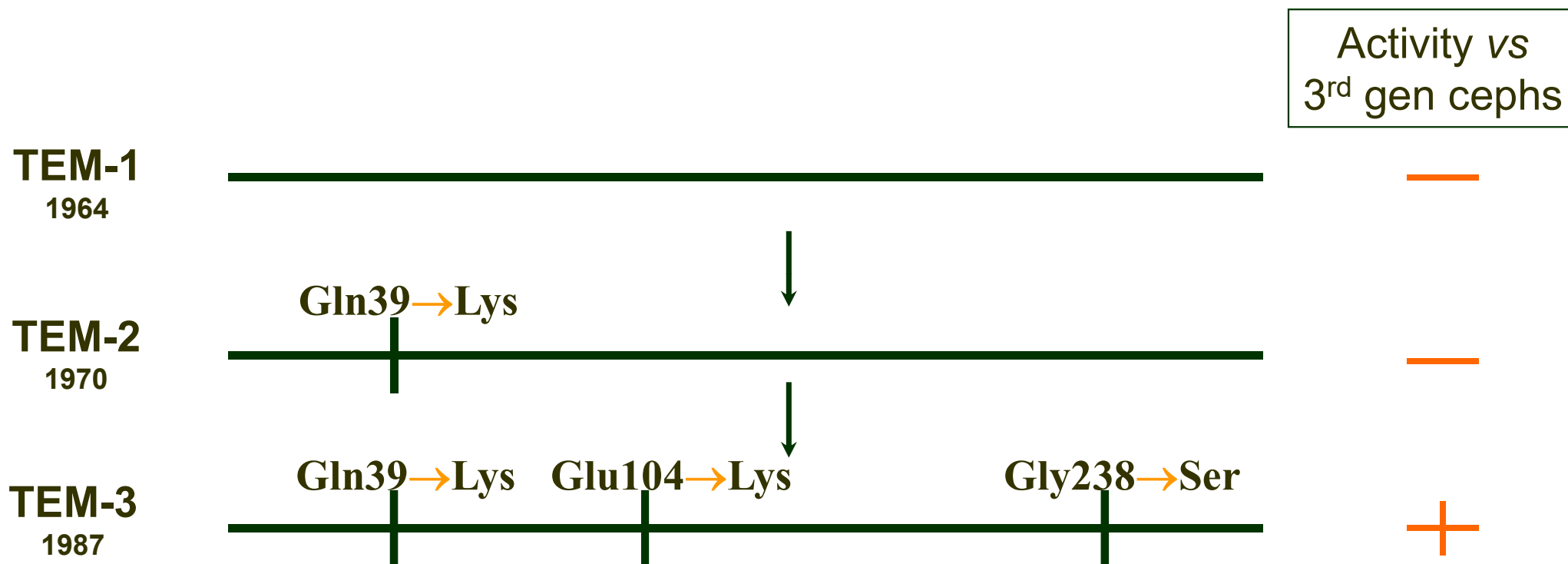
Department of Bacteriology, Clinic of Therapeutics, University of Athens

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^{3,6}. *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. Lebek⁴ 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



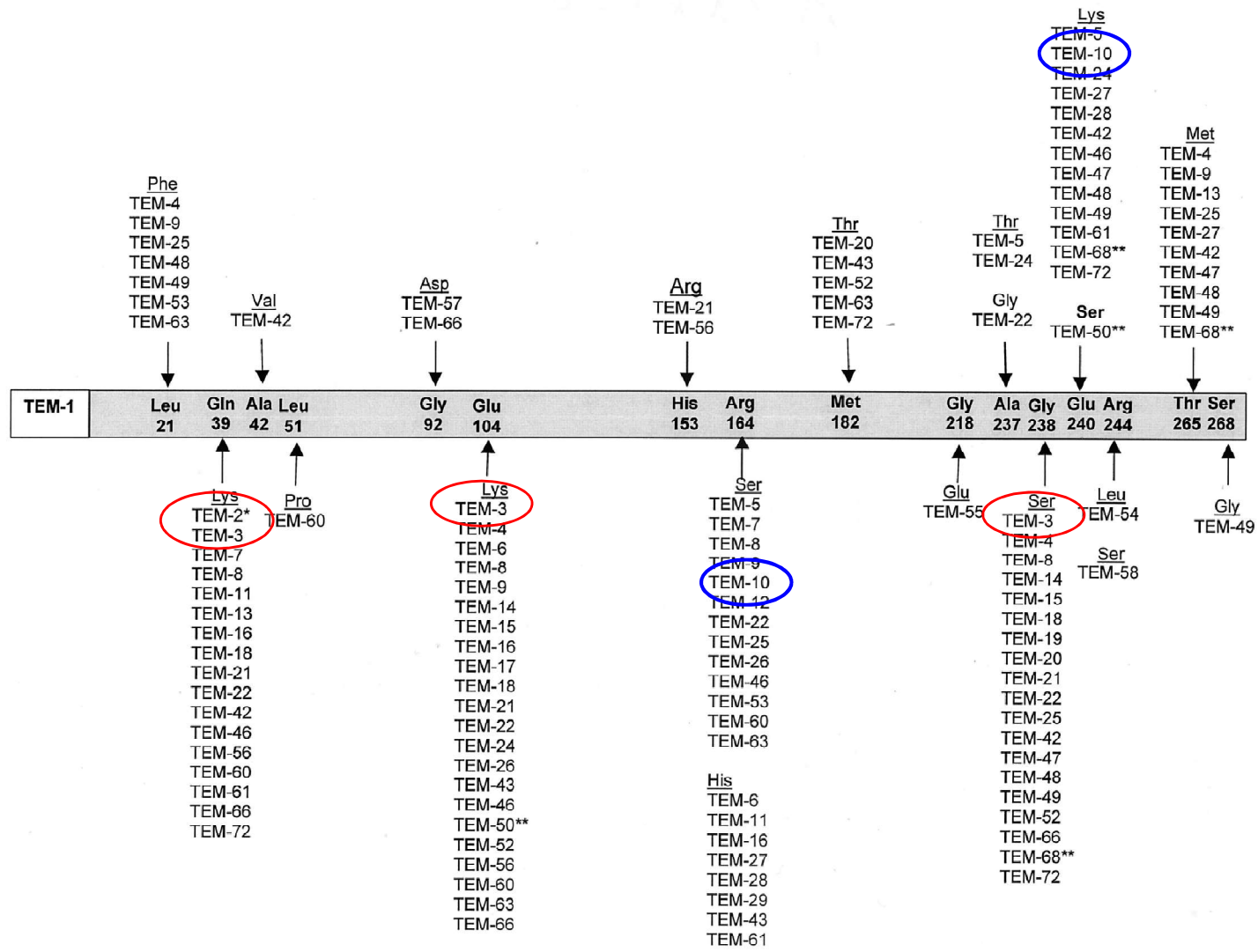
Novel Plasmid-Mediated β -Lactamase (TEM-10) Conferring
Selective Resistance to Ceftazidime and Aztreonam in Clinical
Isolates of *Klebsiella pneumoniae*

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

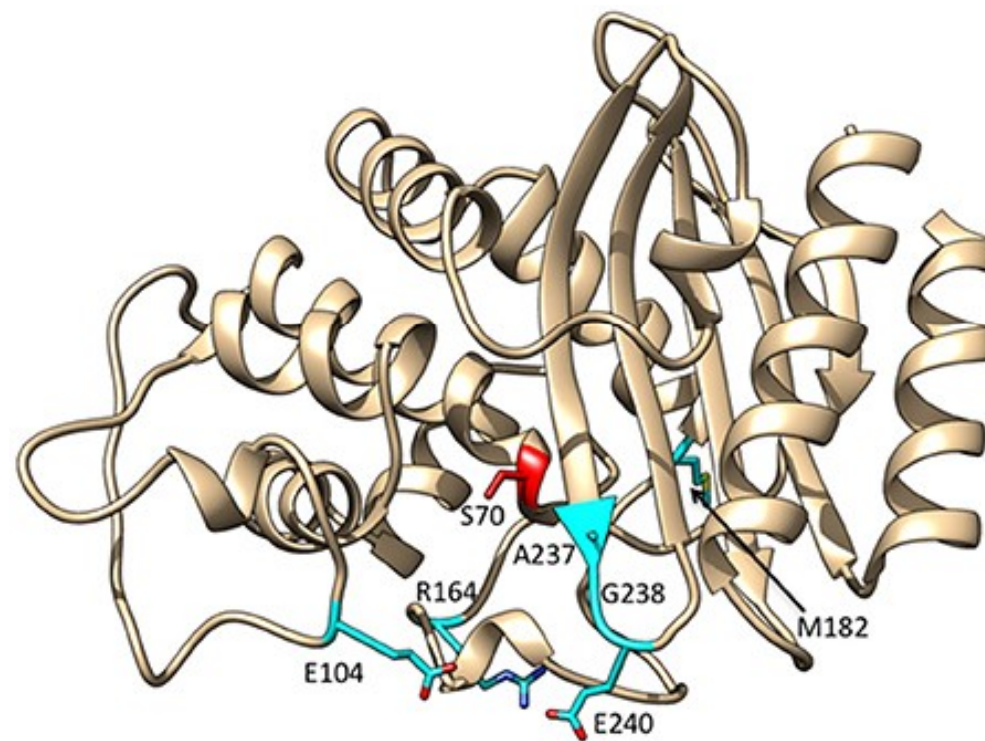
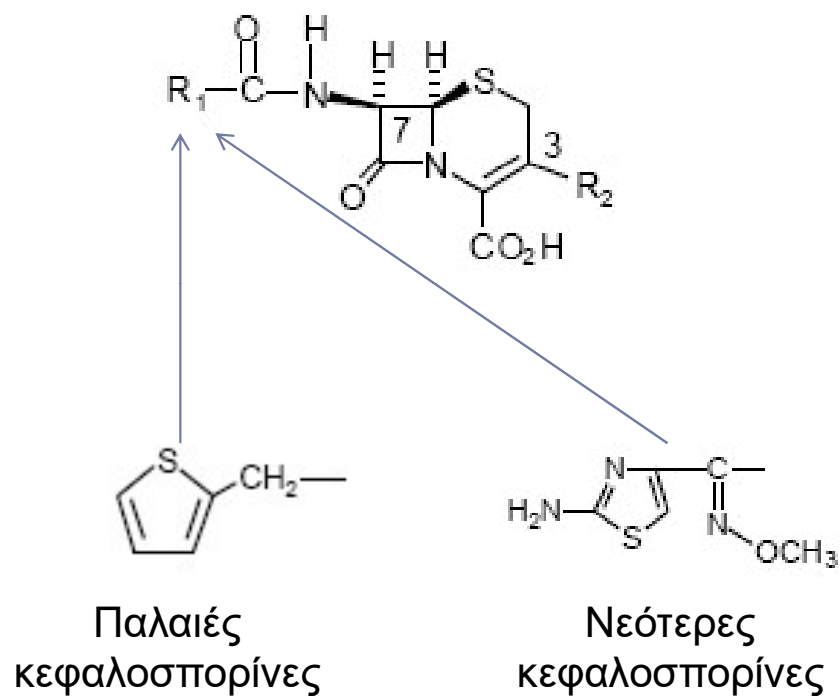
MICs (mg/L) των ESBL- θετικών *E. coli*

	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



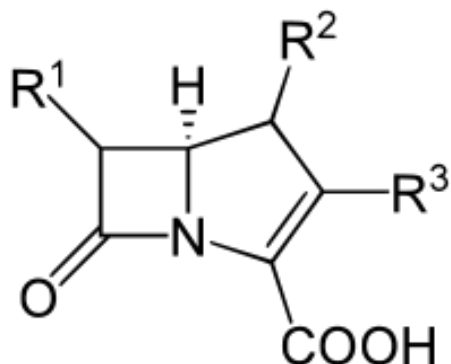


Οι αμινοξικές αλλαγές στις ESBL διευρύνουν το ενεργό κέντρο ώστε να “χωράει” την οξυιμινο-ομάδα των νεότερων κεφαλοσπορινών



Καρβαπενεμάσες

- ▶ Ένζυμα που υδρολύουν τις καρβαπενέμες
 - ▶ Και τις περισσότερες β-λακτάμες
- ▶ Κωδικοποιούνται από χρωμοσωμικά 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

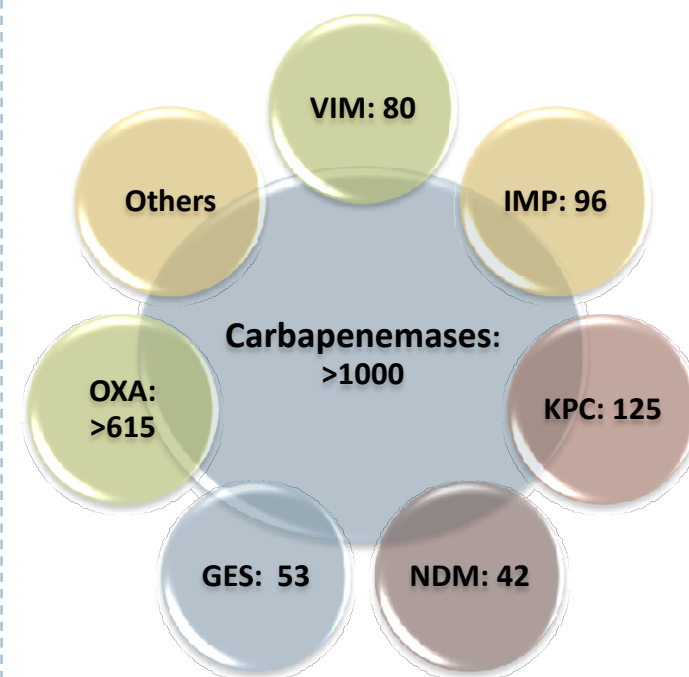
* Βασίζεται στην ομολογία της αμινοξικής αλληλουχίας

Enzyme family	Ambler Class	Pathogens	β-lactamases group
Serine-β-lactamases	A	Enterobacterales	KPC-enzymes
		<i>P. aeruginosa</i>	GES-enzymes
			SME
		Enterobacterales	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>	
		<i>Acinetobacter</i>	SIM-1

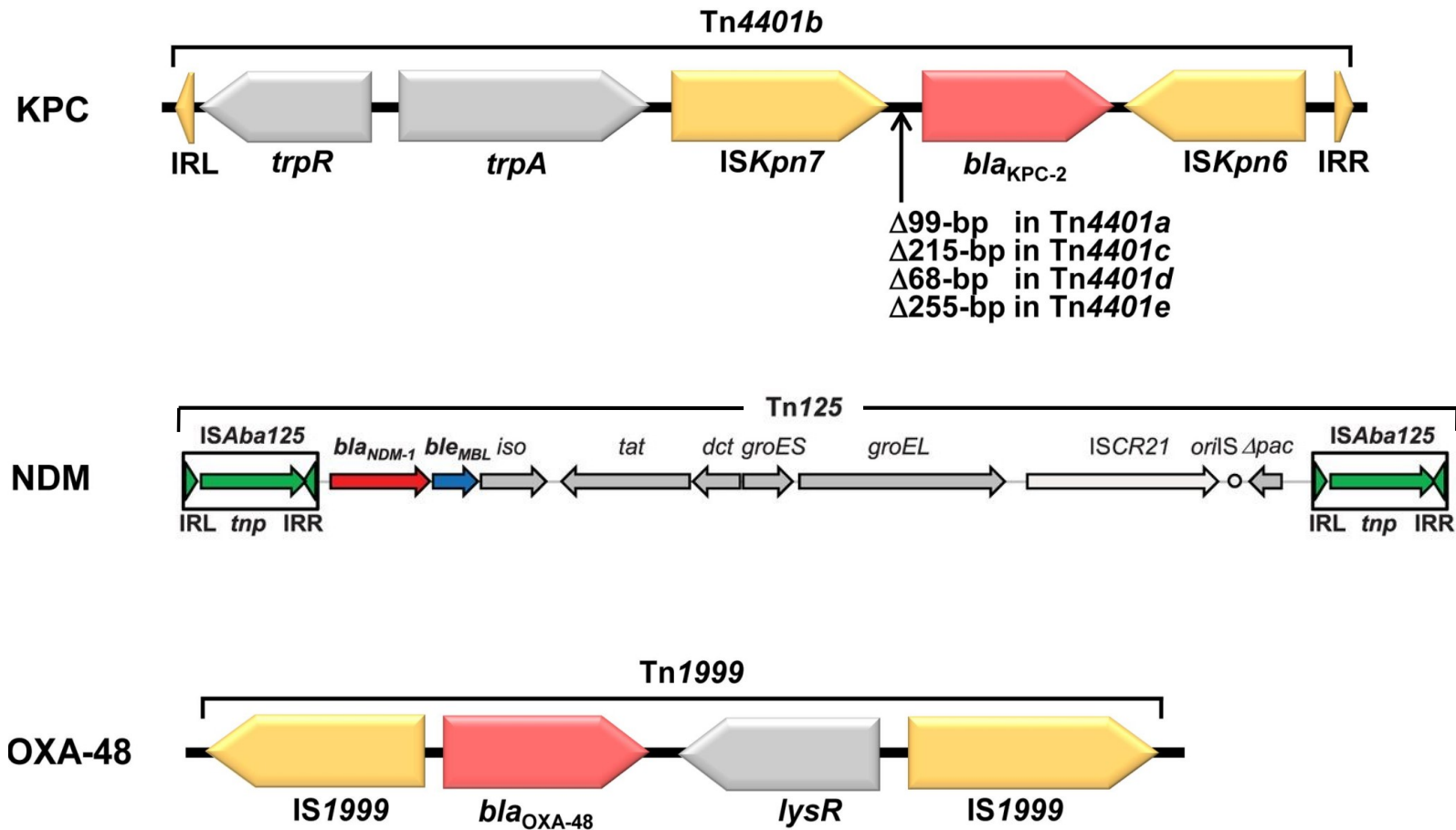
Επίκτητες καρβαπενεμάσες

30 Σεπτεμβρίου 2022

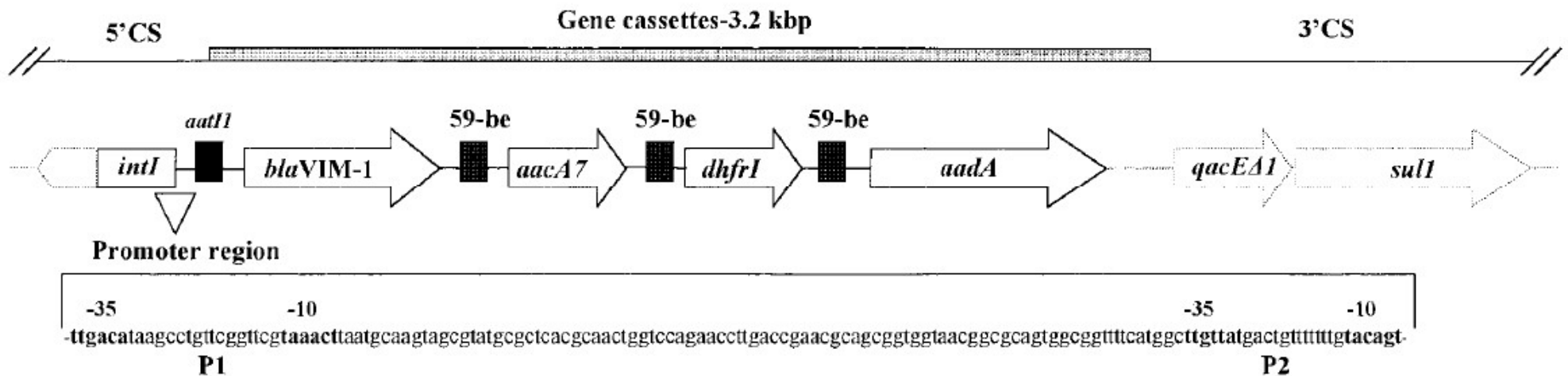
BLDB <http://bldb.eu>



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

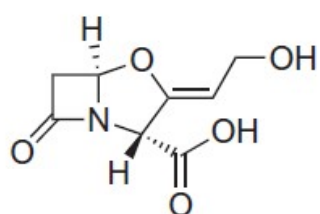


Σχηματική αναπαράσταση του integron ομάδας 1 που περιέχει το *bla*_{VIM-1} και περιέχεται στο πλασμίδιο p541

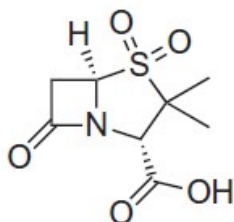


Αναστολείς β-λακταμασών

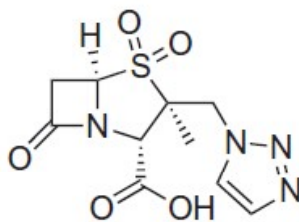
Αναστολείς με β-λακταμικό δακτύλιο



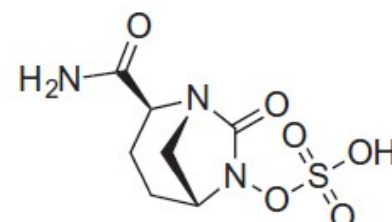
Clavulanic acid (1)



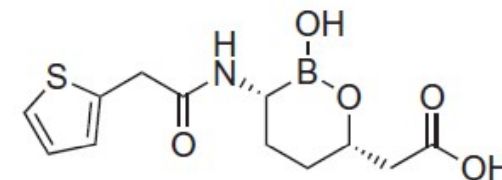
Sulbactam (2)



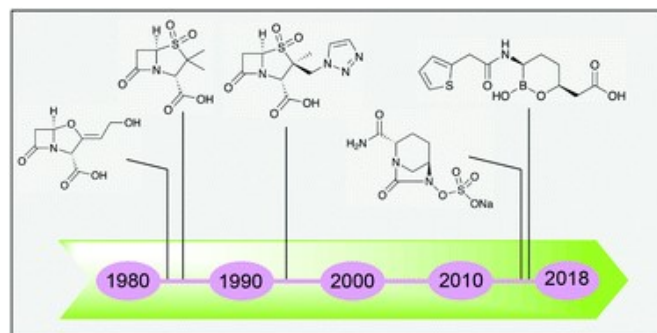
Tazobactam (3)



Avibactam (4)

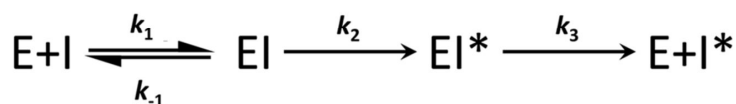
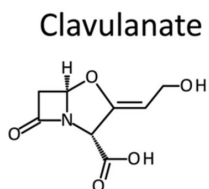
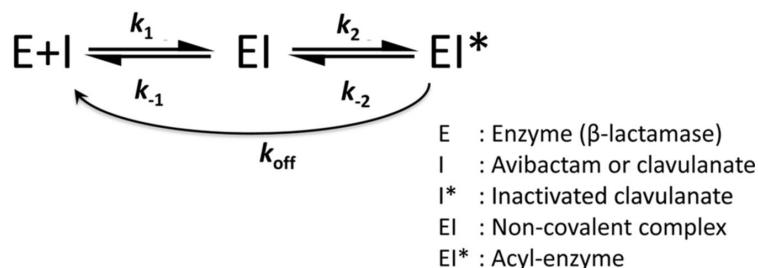
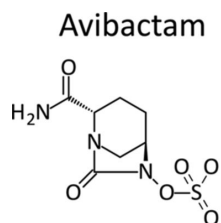


Vaborbactam (5)

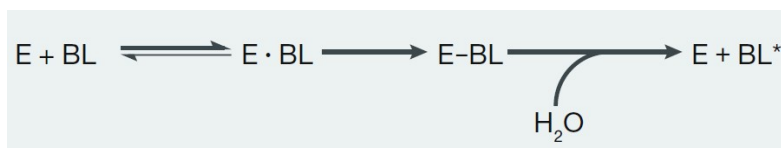


- ❖ Χωρίς β-λακταμικό δακτύλιο
- ❖ Το φάσμα αναστολής επεκτείνεται και στις KPC
- ❖ Αρκετές από τις οξακιλινάσες (class D) και όλες οι MBL (class B) είναι ανθεκτικές

Αναστολή β-λακταμασών



β-λακτάμη



BL : β-λακτάμη
 BL* : αδρανοποιημένη β-λακτάμη

- ▶ Οι αναστολείς συνδέονται με την σερίνη που βρίσκεται στο ενεργό κέντρο των β-λακταμασών (όπως συνδέονται και οι β-λακτάμες).
- ▶ Στην περίπτωση της αβιπακτάμης η ακυλίωση είναι αναστρέψιμη, ενώ στην περίπτωση του κλαβουλανικού είναι μη αναστρέψιμη.
- ▶ Συνεπώς, η αποτελεσματικότητα της αναστολής των β-λακταμασών από την αβιπακτάμη εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ των φυσικών (ενεργών) και ακυλιωμένων (ανενεργών) μορφών του ενζύμου.

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

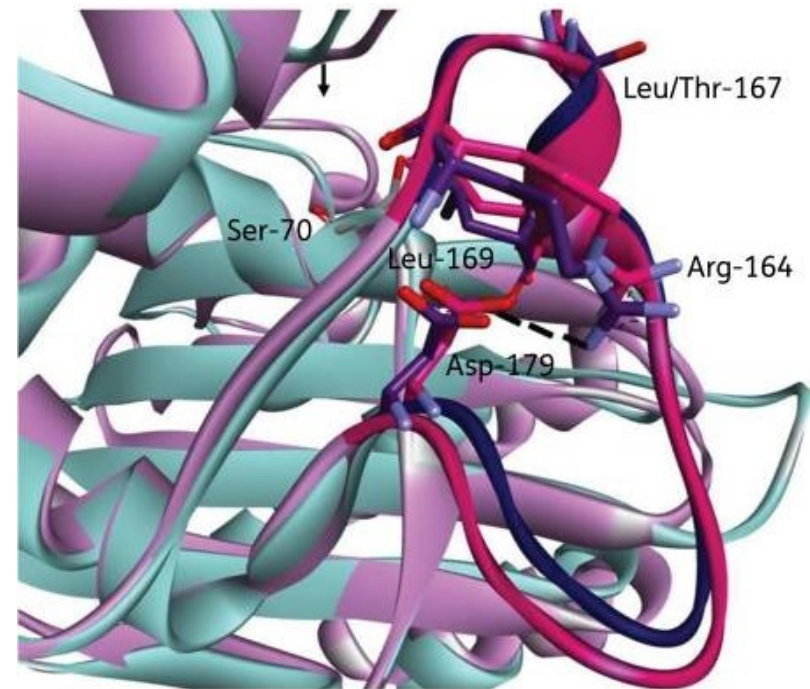
- ▶ Συνδυάζεται με μεροπενέμη (Vabomere)
- ▶ Δραστικό έναντι ESBLs (A), KPC (A), AmpC (C)
- ▶ Δεν είναι δραστικό έναντι των MBLs (B)
- ▶ Αντοχή έχει αναφερθεί σε στελέχη με μεταλλαγές στις πορίνες



2018

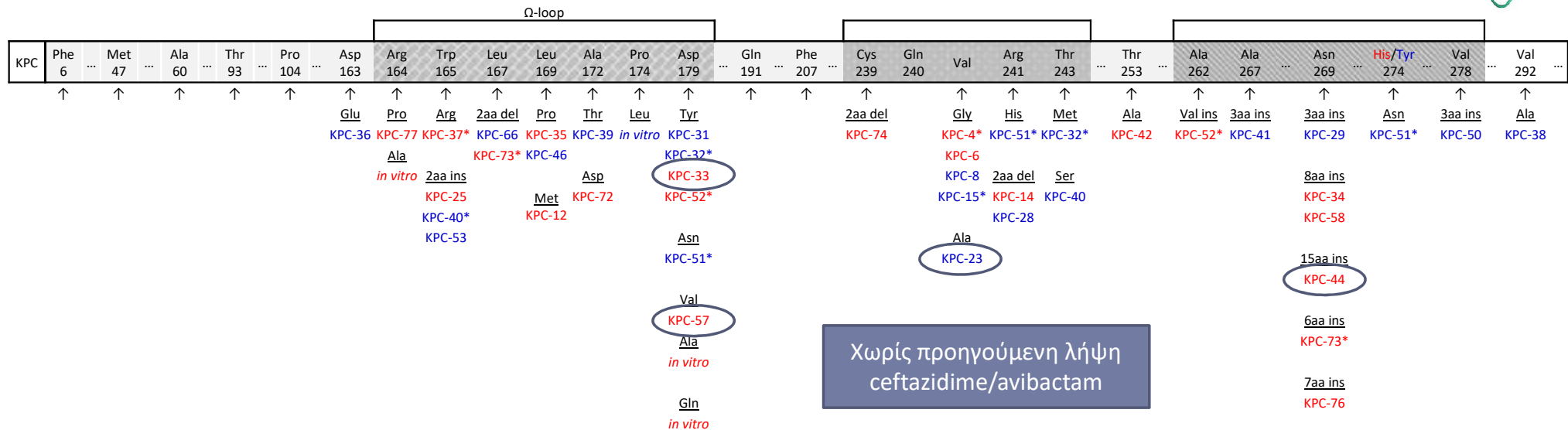
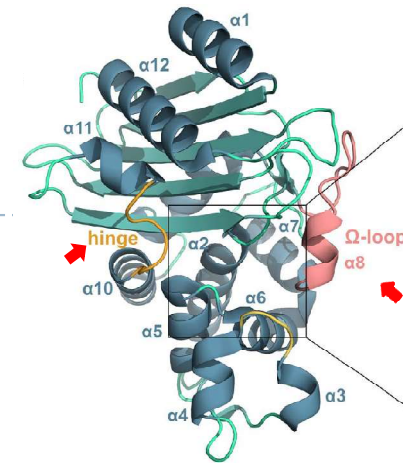
Ο βρόγχος Ω (Ω-loop) των β-λακταμασών τάξης A

	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



Χωρίς προηγούμενη λήψη ceftazidime/avibactam

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

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*)



Κεφιντεροκόλη : Σχέση δομής και δραστικότητας



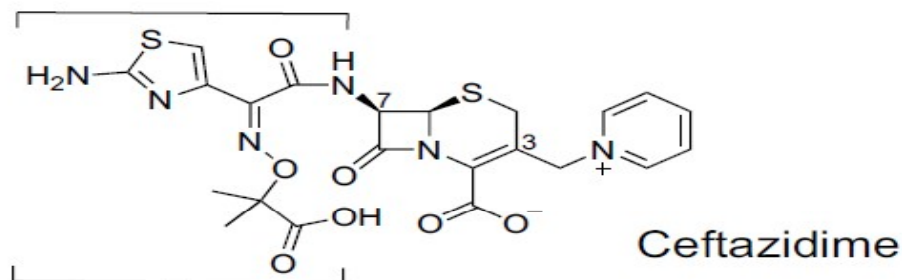
October 16, 2019



23/04/2020

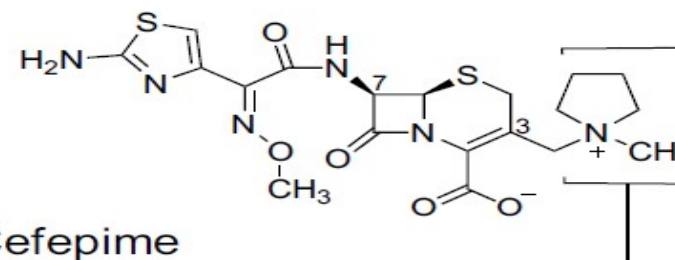
C-7 side chain

ενισχύει τη σταθερότητα έναντι των β-λακταμασών

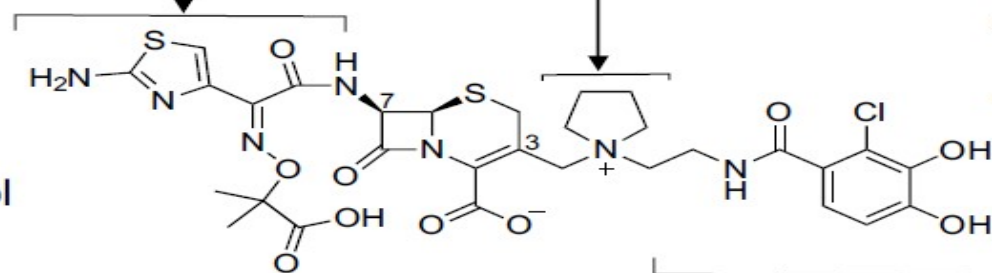


C-3 side chain

εμποδίζει την αναγνώριση από τις β-λακταμάσες (π.χ. μεταλλο-β-λακταμάσες)

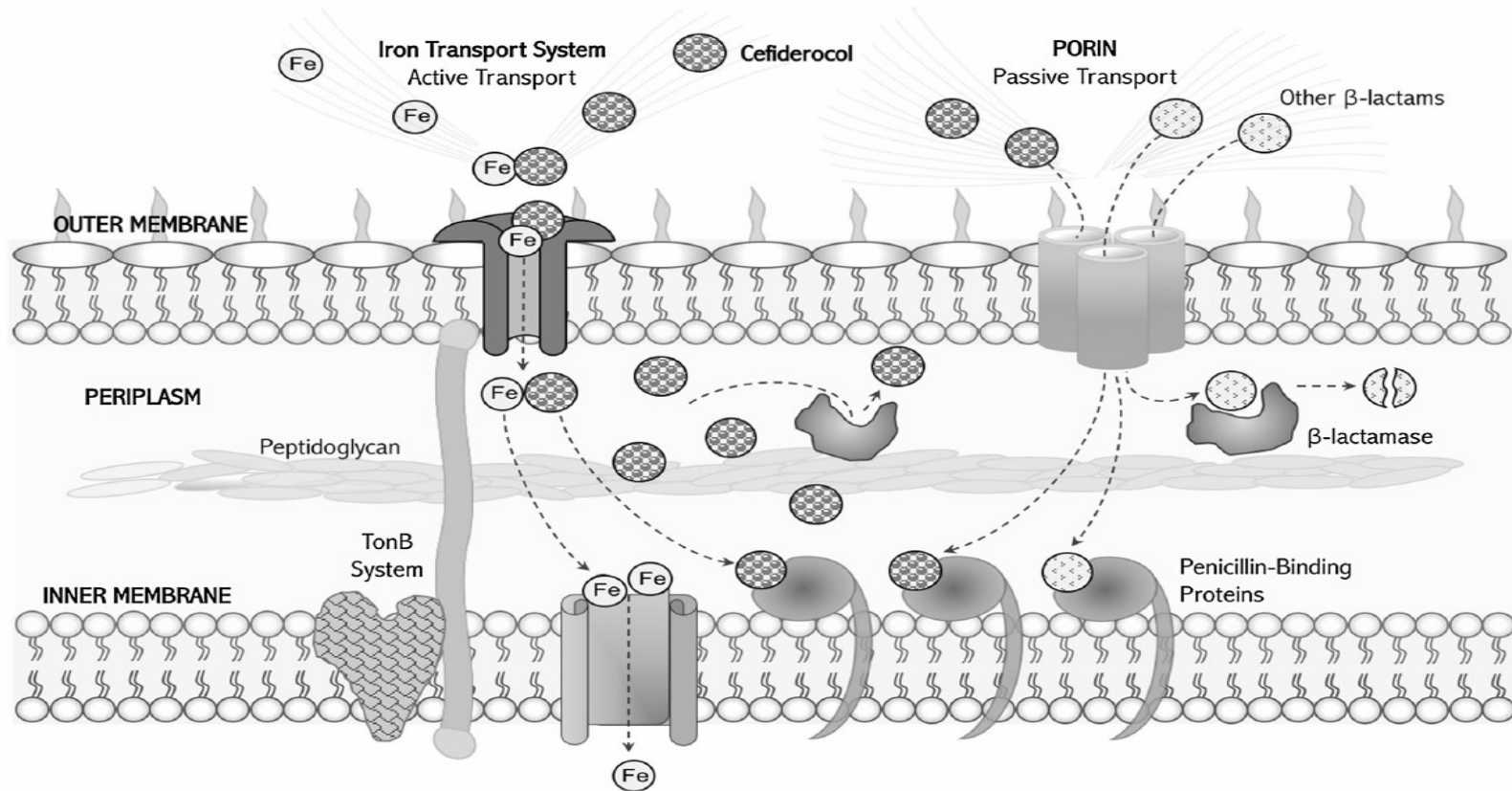
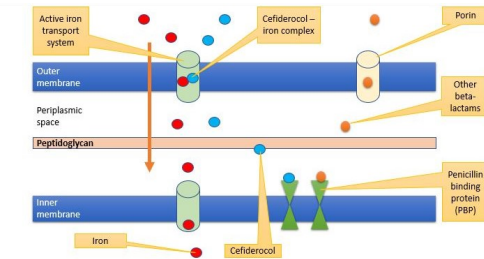


Cefiderocol



- Επιπλέον σταθερότητα έναντι των β-λακταμασών
- Δεσμεύεται με ελεύθερο σίδηρο

Μηχανισμός δράσης της cefiderocol έναντι των Gram-αρνητικών βακτηρίων



Μηχανισμός δράσης

- ▶ Το ανοσοποιητικό σύστημα ελαχιστοποιεί τον διαθέσιμο ελεύθερο σίδηρο στις βακτηριακές λοιμώξεις, επειδή είναι σημαντικός για την ανάπτυξη των βακτηρίων.
- ▶ Σε απόκριση στη μειωμένη διαθεσιμότητα σιδήρου του ξενιστή, τα βακτήρια με τη σειρά τους ρυθμίζουν την παραγωγή των σιδηροφόρων που συλλέγουν τον διαθέσιμο ελεύθερο σίδηρο.
- ▶ Η cefiderocol είναι ενέσιμη σιδηροφόρος κεφαλοσπορίνη που συνδέεται με το σίδηρο, και ως “Δούρειος ίππος” εισέρχεται στα βακτήρια αξιοποιώντας τα διαθέσιμα ενεργά συστήματα μεταφοράς σιδήρου.
- ▶ Μόλις διασχίσει την εξωτερική μεμβράνη, η cefiderocol αποσυνδέεται από το μόριο σιδήρου και συνδέεται με τις PBPs, διαταράσσοντας την σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος.
- ▶ Αυτός ο μοναδικός μηχανισμός εισόδου διασφαλίζει την είσοδο σε βακτηριακά κύτταρα ακόμη και απουσία πορίνης ή υπερέκφρασης αντλιών εκροής.
- ▶ Επιπλέον, η δομή της διασφαλίζει την σταθερότητα έναντι της υδρόλυσης τόσο από καρβαπενεμάσες τύπου σερίνης όσο και από τις MBL.

Cefiderocol

Μηχανισμός αντοχής

Ανεπάρκεια του μεταφορέα σιδήρου
λόγω μετάλλαξης ή εξάλειψης των:

- PiuA στην *P. aeruginosa* ή
- CirA και Fiu στην *E. coli*

προκαλεί 16πλάσια αύξηση στην MIC
της cefiderocol

➔ Συμβολή των μεταφορέων σιδήρου στη διεύθυνση της cefiderocol από την εξωτερική μεμβράνη

Δημιουργήθηκε για λοιμώξεις από Gram (-) ανθεκτικά στις καρβαπενέμες

- ▶ Σταθερή σε διάφορους τύπους καρβαπενεμασών KPC, OXA, IMP, VIM και NDM
- ▶ Δραστική έναντι των Gram (-) συμπεριλαμβανομένων των ανθεκτικών στις καρβαπενέμες

Acinetobacter baumannii

Pseudomonas aeruginosa

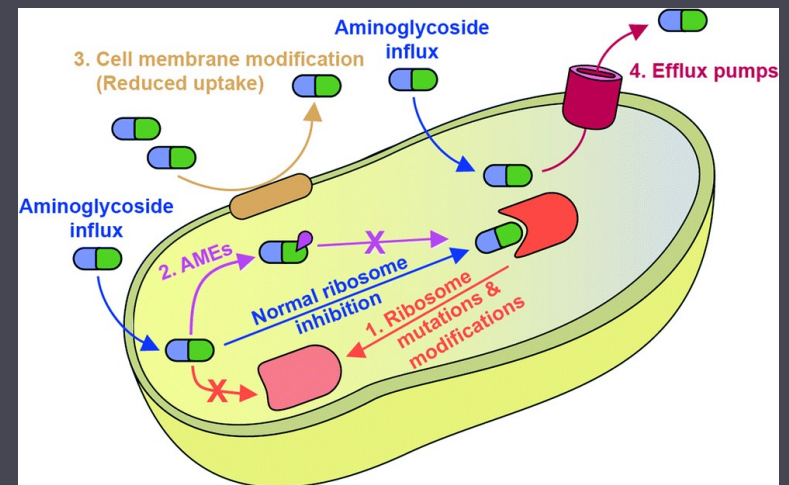
Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae

Stenotrophomonas maltophilia

- ▶ Δεν είναι δραστική στα Gram (+) και στα αναερόβια

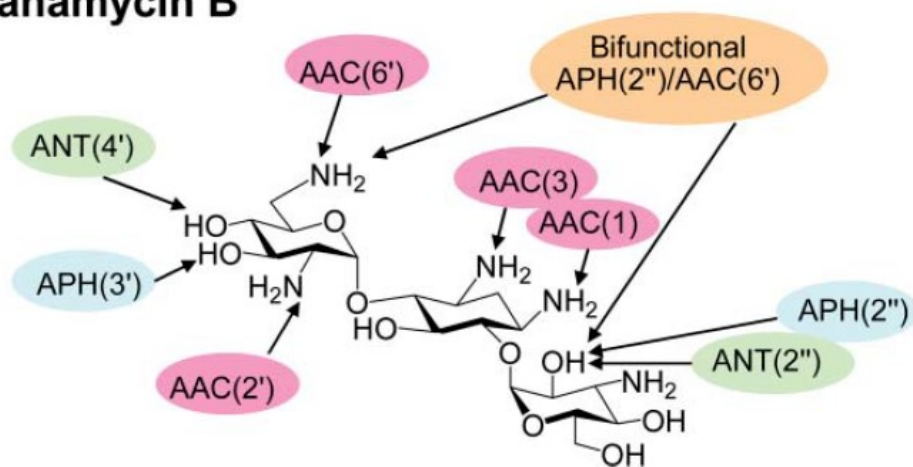
Τροποποιητικά Ένζυμα των Αμινογλυκοσιδών



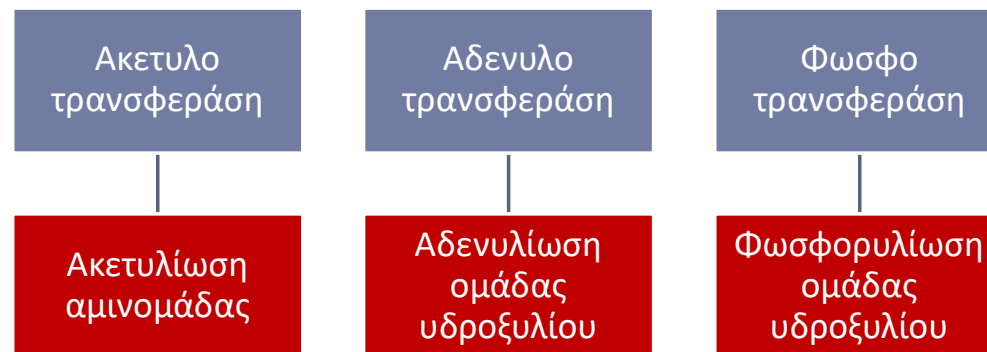
Αδρανοποίηση των αντιβιοτικών

Τροποποιητικά ένζυμα των αμινογλυκοσιδών

Κanamycin B

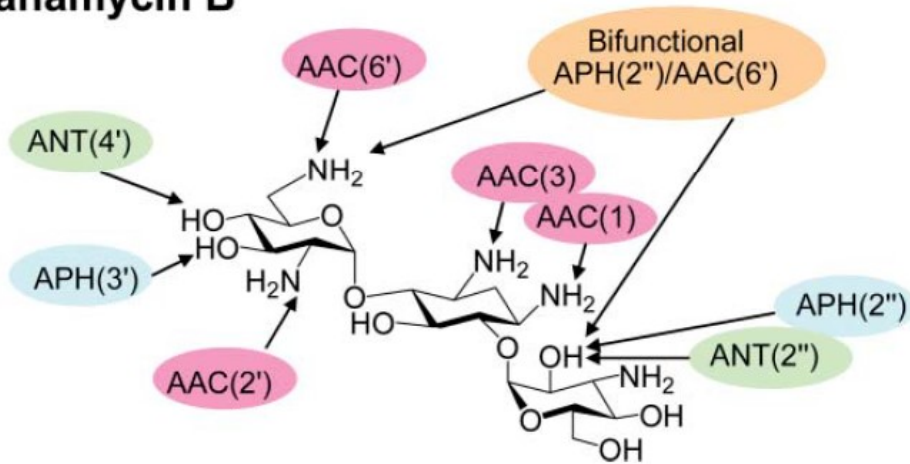


Με βάση τον μοριακό μηχανισμό τους, διαίρονται σε 3 ομάδες

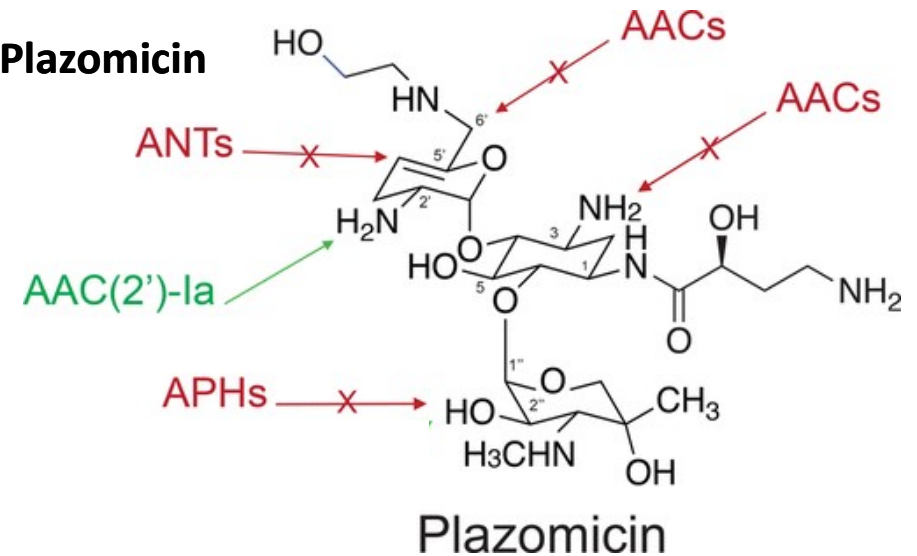


Νέες αμινογλυκοσίδες

Kanamycin B

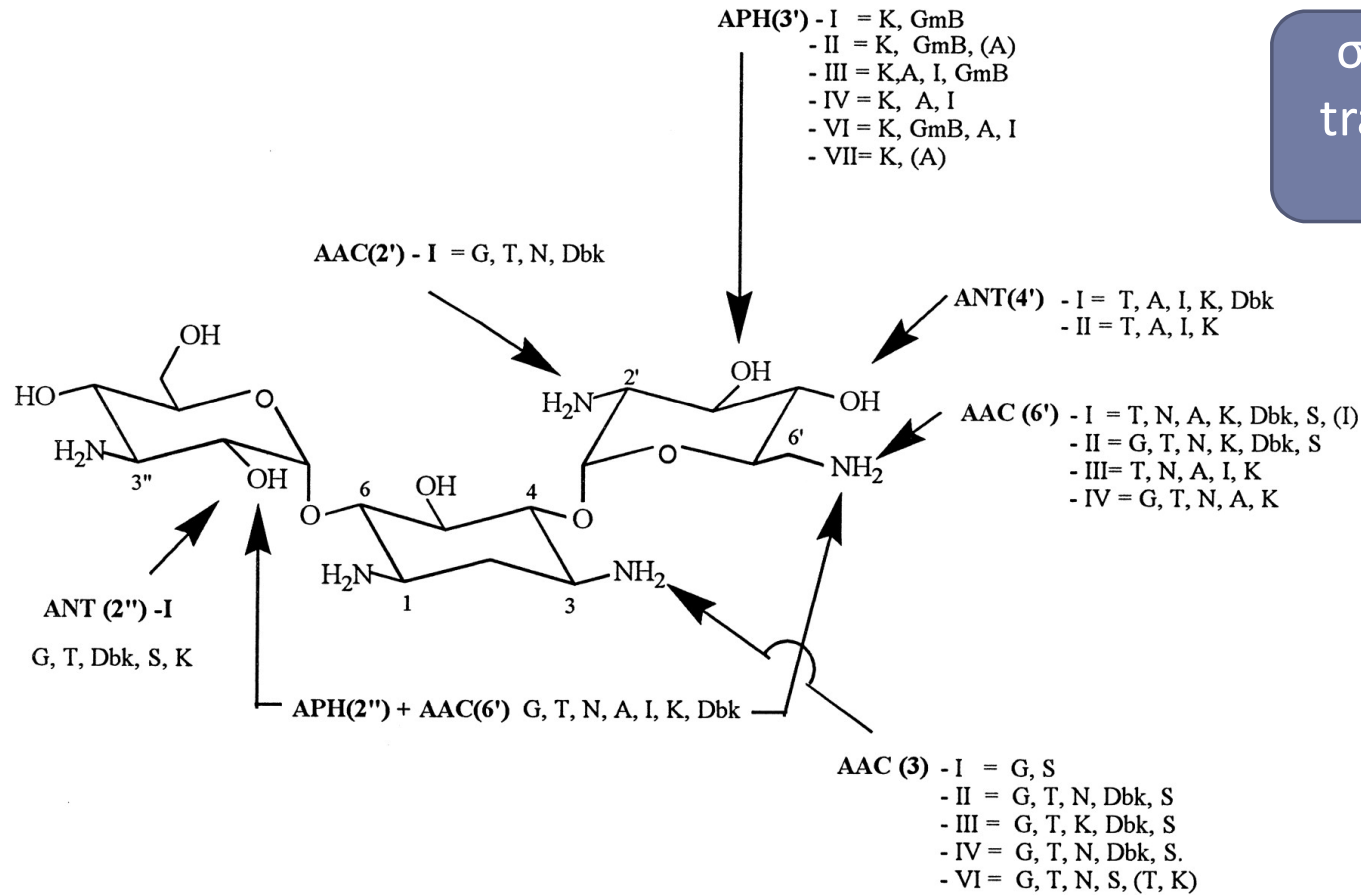


Plazomicin



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



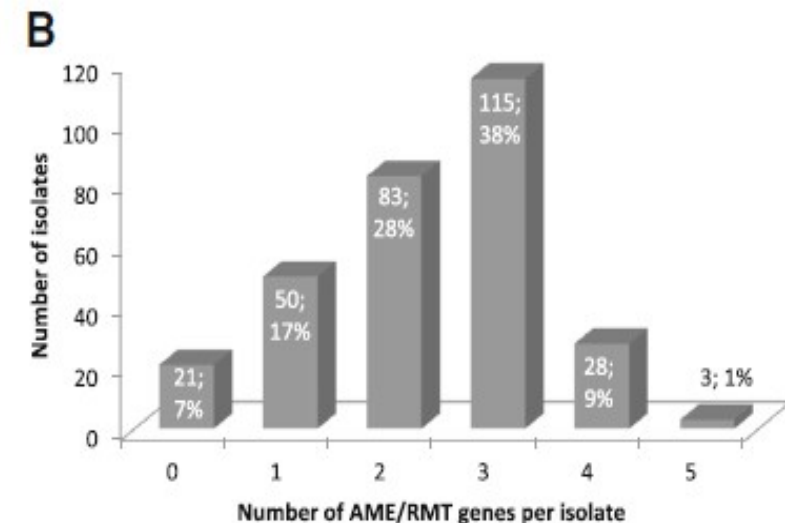
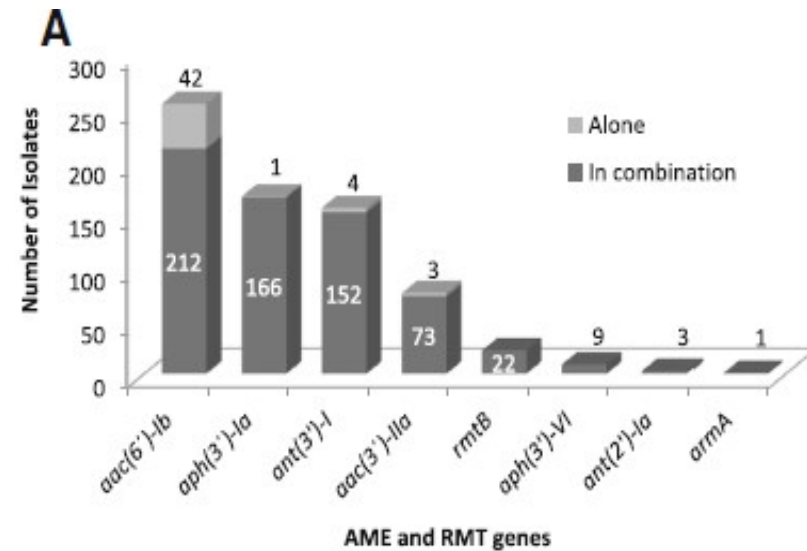
Nationwide epidemiology of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from Greek hospitals, with regards to plazomicin and aminoglycoside resistance

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

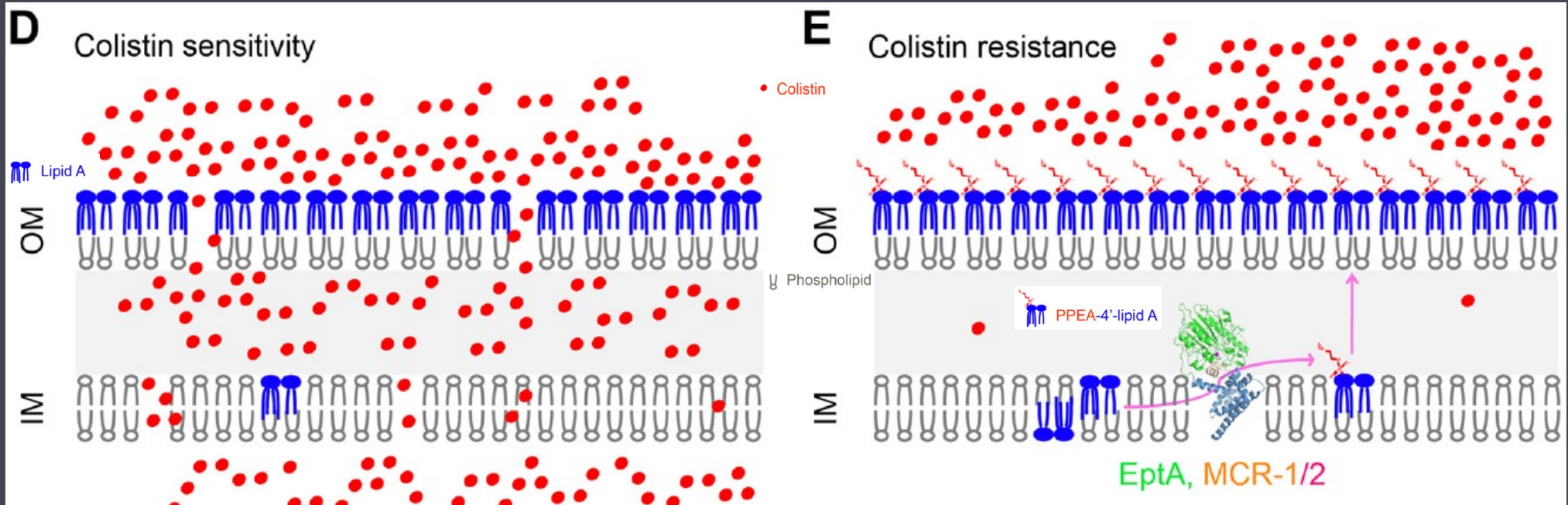
Table 5 Aminoglycoside MICs in relation to the presence of aminoglycoside-modifying enzyme gene combination (excluding the presence of *ant(3)-I* and *aph(3)-I*)

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 (9.3)	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

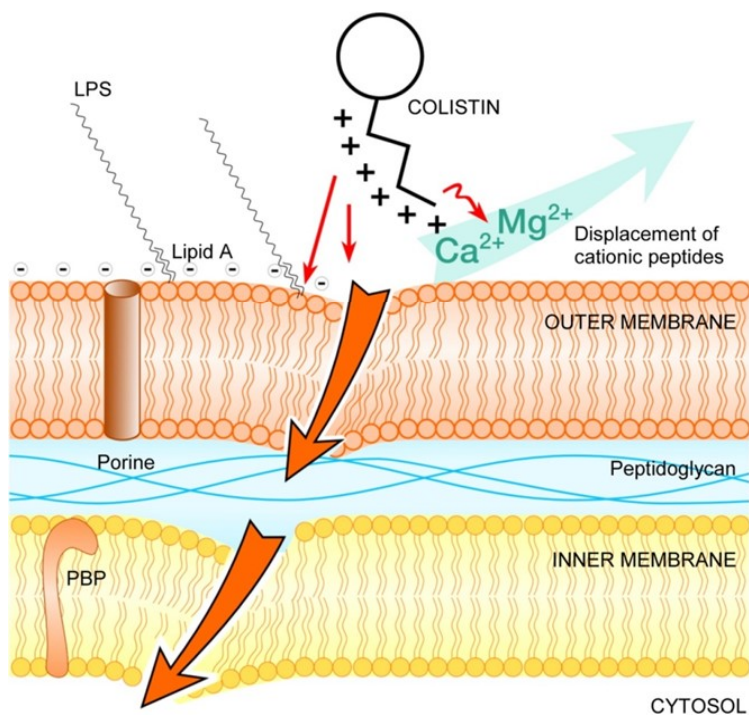
^a A, resistance to amikacin; G, resistance to gentamicin; T, resistance to tobramycin; N, resistance to netilmicin; P, resistance to plazomicin
^b According the recently approved FDA breakpoint



Αντοχή στην κολιστίνη



Κολιστίνη – Πολυμυξίνη Ε

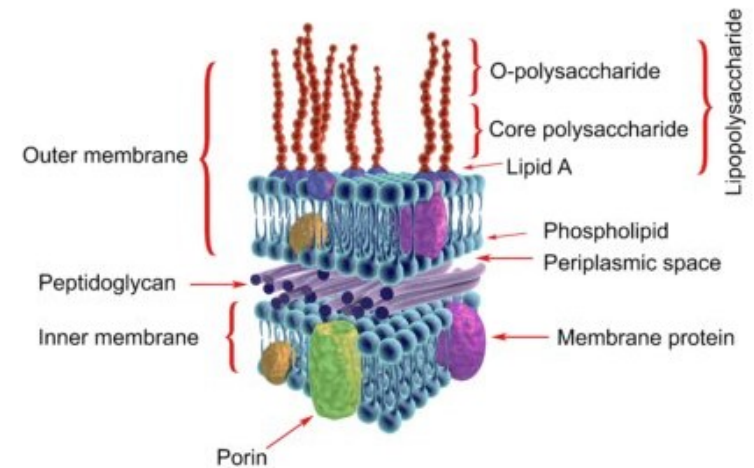
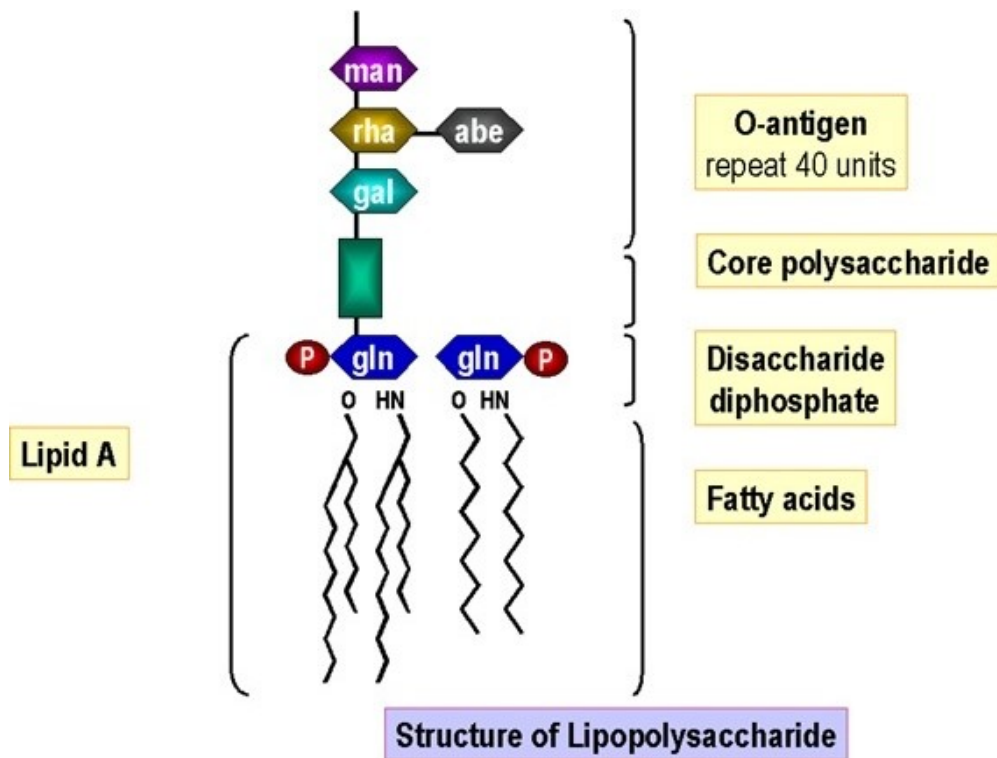


Martis et al, 2014. J Infect;69:1-12

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

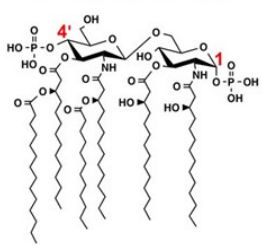
Δομή Λιποπολυσακχαρίτη



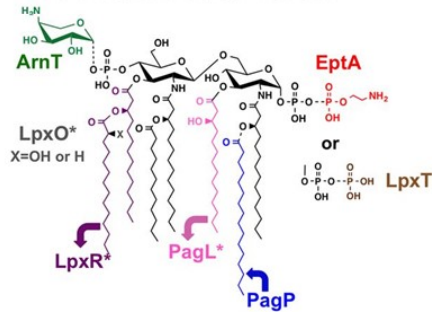
Μηχανισμός αντοχής

Τροποποίηση του λιπιδίου A

Unmodified *E. coli*



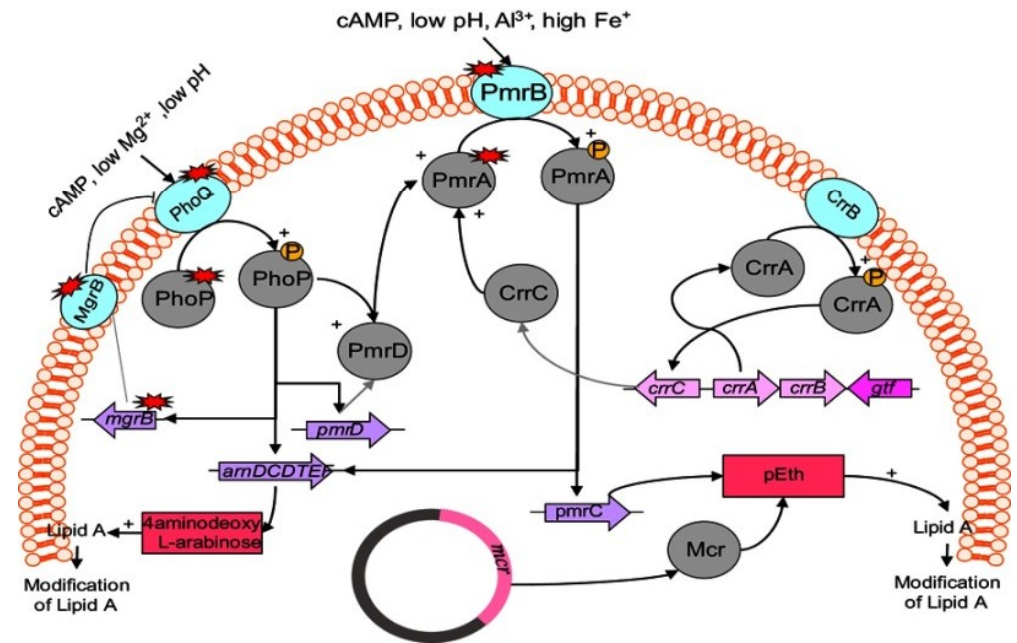
Modified *E. coli/Salmonella*



pEtN: φωσφο-αιθανολαμίνη

L-Ara4N: 4-αμινο-4 δεοξυ-L-αραβινόζη

Ρυθμιστικό σύστημα



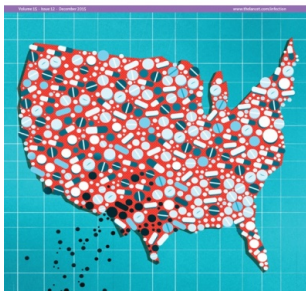
Επίκτητοι και ενδογενείς μηχανισμοί αντοχής των Gram-αρνητικών βακτηρίων στην κολιστίνη

Genes	Gene function	<i>E. coli</i>	<i>Kpneumoniae</i>	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	<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>pmrH/J/K/L/M</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>	Overexpression of <i>phoPQ</i> and activation of <i>pmrH/J/K/L/M</i>	+	+	-	-	-	-	-	51,79
mutation									
<i>ramA</i>	Modulates lipid A biosynthesis	-	+	-	-	-	-	-	110
<i>csrB</i>	Modification of lipid A by upregulation of <i>pmrAB</i> /activation of the glycosyltransferase	-	+	-	-	-	-	-	52
mutation									
<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>	Efflux pump	+	+	-	-	-	-	-	36
mutation									
<i>KpnEF</i>	Efflux pump	-	+	-	-	-	-	-	117
mutation									
<i>soxB/C/D/F</i>	Efflux pump	-	-	-	-	-	+	-	42
mutation									

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 England and Wales, 2009-13
 1000-1010

Articles
 Antibiotic resistance and risk of hospital-acquired pneumonia in intensive care units in the USA, 2008-13
 1011-1020

Historical Review
 The evolution of *Yersinia pestis* in the Americas: implications for the control of plague
 1021-1030

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

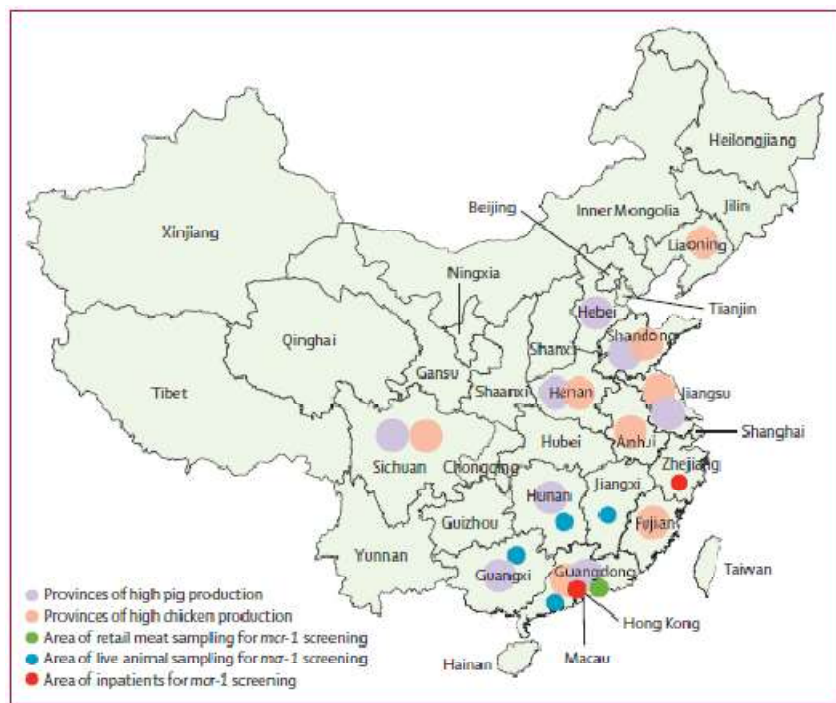
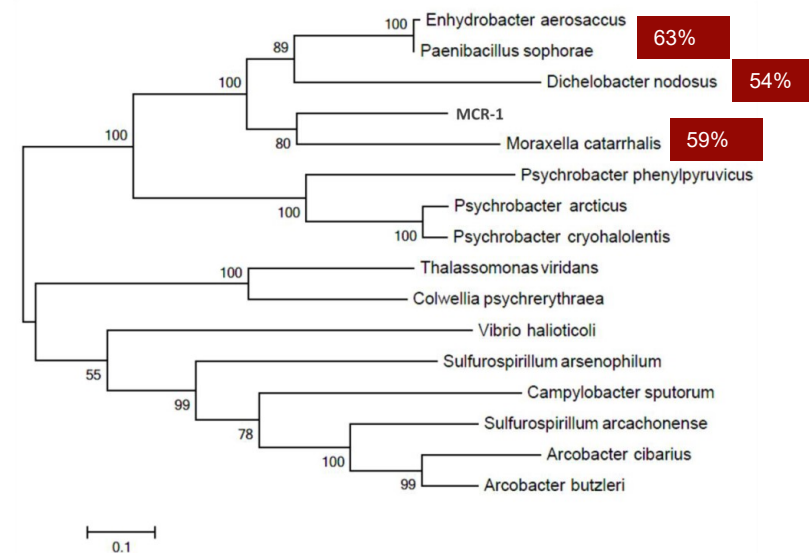
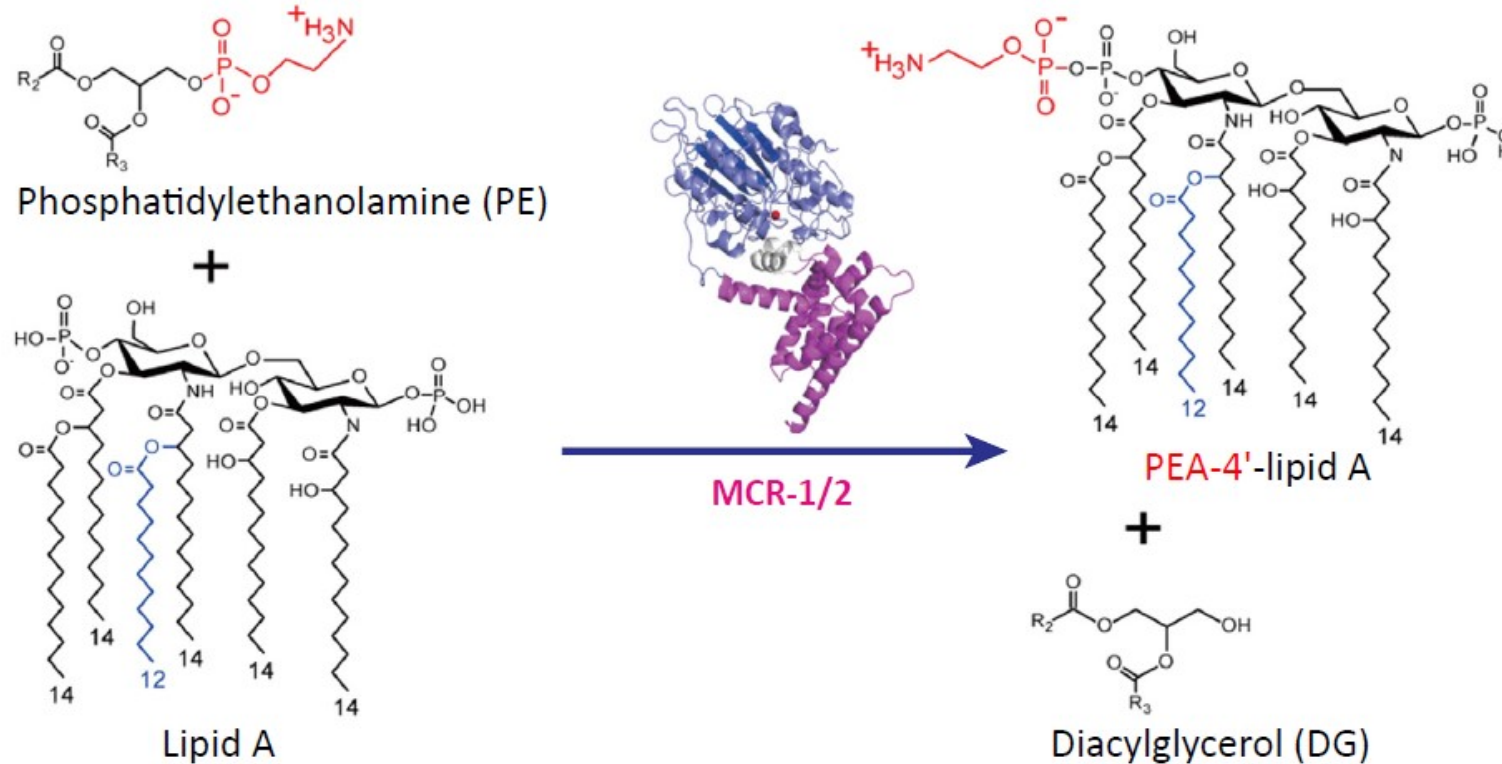


Figure 1: Map of China



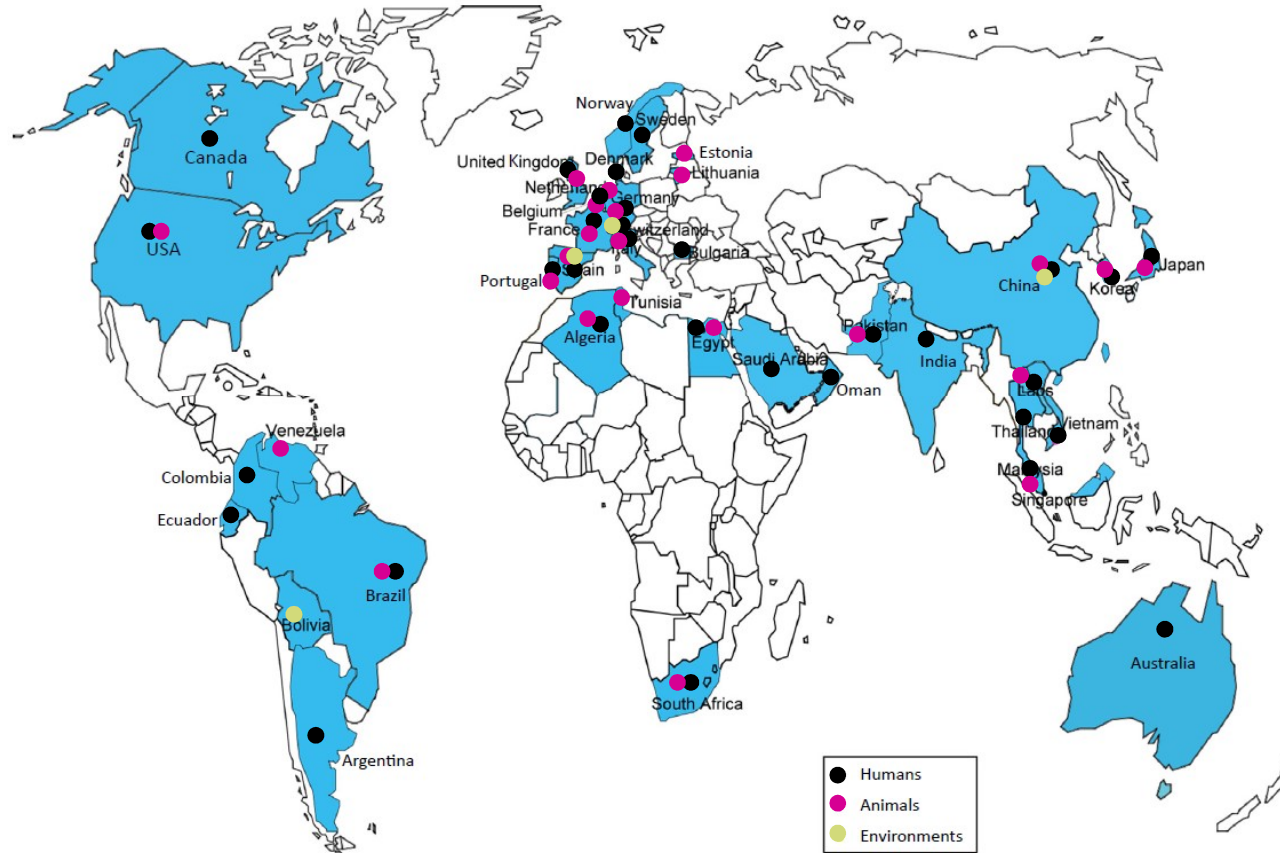
Πιθανή μεταφορά του *mcr-1* από το χρωμόσωμα αγνώστου βακτηρίου που παράγει πολυμυξίνη στο *E. coli*

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?

