



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E
DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea in Scienze Biologiche

ANTIBIOTICO-RESISTENZA BATTERICA: I PATOGENI PIU' CRITICI
BACTERIAL ANTIBIOTIC RESISTANCE: THE MOST CRITICAL PATHOGENS

Tesi di Laurea di:

Matr.1094902

Francesca Del Prete

Docente Referente:

Chiar.ma Prof.ssa

Eleonora Giovanetti

Sessione STRAORDINARIA

Anno Accademico 2022/2023

INTRODUZIONE

Il fenomeno dell'antibiotico-resistenza (AMR) è noto già dagli anni '50, quando la maggior parte degli isolati di *S. aureus* risultava resistente alla penicillina. Per molti decenni, l'AMR non ha rappresentato un motivo di preoccupazione: lo sviluppo negli anni '60 di nuove classi antibiotiche aveva, infatti, indotto a ritenere che il problema fosse risolvibile con la sintesi di nuovi farmaci.

Nei decenni successivi, tuttavia, i batteri hanno sviluppato numerosi meccanismi di AMR. Nel 2017, l'OMS pubblica un elenco di 12 famiglie batteriche che rappresentano una grave minaccia per la salute umana. L'OMS classifica i batteri in 3 categorie di priorità – **critica**, **elevata** e **media** – in base alla necessità di sviluppare nuovi antibiotici in grado di eradicare le infezioni da essi sostenute.

CRITICA

Patogeni MDR che rappresentano una seria minaccia per i pazienti ospedalizzati, in modo particolare quelli che richiedono l'impiego di ventilatori e cateteri venosi. Sono responsabili di gravi malattie infettive, spesso fatali come batteremie e polmoniti. Includono: *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, e alcune *Enterobacteriaceae* (*K. pneumoniae*, *E. coli* e *Enterobacter* spp.)

ELEVATA

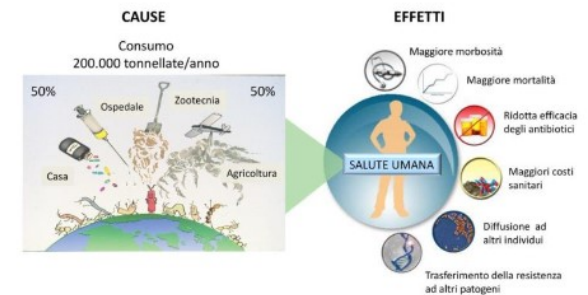
Patogeni come *Enterococcus faecium* e *Staphylococcus aureus* che sono resistenti a vari antibiotici, inclusi vancomicina e fluorochinoloni.

MEDIA

Batteri come *Streptococcus pneumoniae* e *Shigella* spp. Anche se sono diffusi ceppi antibiotico-resistenti, disponiamo ancora di farmaci in grado di trattare le infezioni da essi sostenute.

COSA SI INTENDE PER RESISTENZA ANTIMICROBICA E QUALI SONO I MECCANISMI CHE NE CONSENTONO IL COSTANTE AUMENTO?

- Secondo l'OMS, l'AMR è un fenomeno naturale: i batteri non rispondono più agli antibiotici cui precedentemente erano sensibili e che erano efficaci nel trattamento delle infezioni da essi sostenute. Ne risulta una maggiore difficoltà, o l'impossibilità, nel gestire le infezioni e un aumentato rischio di diffusione di gravi malattie infettive e di morte.
- L'uso eccessivo di antibiotici, sia in ambito umano che animale, determina un'accelerazione di questo processo naturale, favorendo la diffusione dell'AMR
- La AMR può essere naturale (intrinseca e indotta) o acquisita



impatto del consumo di antibiotici sulla salute umana (*fonte 1*)

INTRINSECA

Riguarda specie batteriche naturalmente resistenti a determinate classi antibiotiche ed è indipendente da una precedente esposizione agli antibiotici

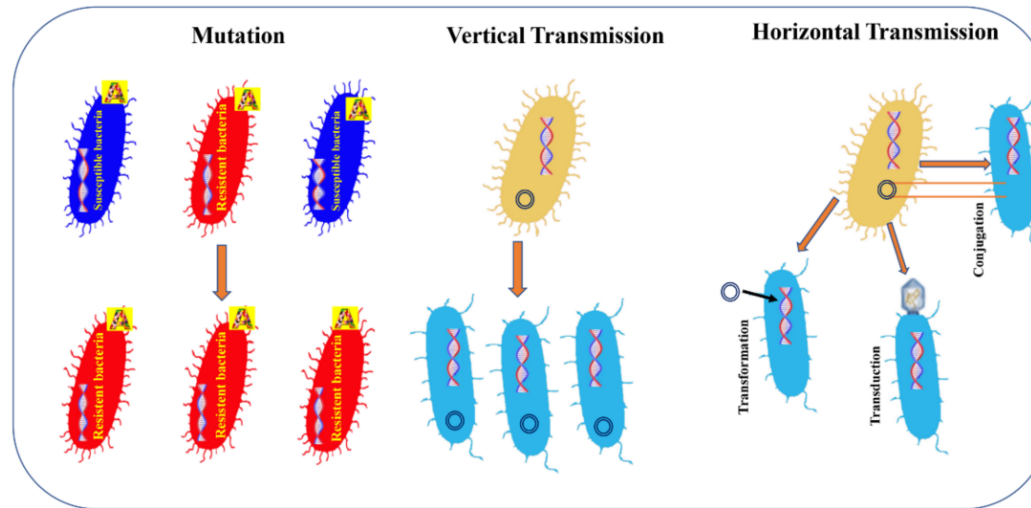
Es. Resistenza di *E. coli* alla vancomicina
Resistenza di *P. aeruginosa* ad ampicillina e cefalosporine di 1^a e 2^a generazione

INDOTTA

Cioè dovuta all'attivazione di geni in seguito all'esposizione a dosaggi clinici di antibiotici

ANTIBIOTICO-RESISTENZA ACQUISITA

How antibiotic resistance spread



In che modo diffonde l'AMR. La resistenza batterica agli antibiotici può essere naturale, o acquisita mediante trasmissione verticale od orizzontale. A: antibiotico (fonte 2)

- **MUTAZIONE** nel DNA della cellula batterica durante la sua replicazione o trasferimento
- I ceppi mutanti sono in grado di trasferire la mutazione alla progenie per via verticale

- **TRASFERIMENTO GENICO ORIZZONTALE**
I batteri acquisiscono l'AMR attraverso:
 - *trasformazione*
 - *trasduzione*
 - *coniugazione*

L'informazione genetica che codifica l'AMR viene trasferita dai batteri resistenti ai batteri sensibili per via orizzontale

IN CHE MODO I BATTERI DIVENGONO RESISTENTI ?

- La rapida diffusione dell'AMR nelle le popolazioni batteriche non può essere attribuita a un singolo meccanismo ma, piuttosto, ad una serie di processi molto complessi

Table 1. Mode of action and resistance mechanisms of antibiotics.

Antimicrobial Groups	Mechanism of Action	Resistance Mechanism
β-Lactams Penicillins Cephalosporins Carbapenems	Inhibits cell wall production	Beta-lactamase production Penicillinase Cephalosporinase Carbapenemase
β-Lactamase inhibitors	Block the activity of beta-lactamase enzymes	Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)
Aminoglycosides, Chloramphenicol Macrolides, Tetracyclines	Inhibit ribosome assembly by binding to the bacterial 30S or 50S (inhibit protein synthesis)	Multifactorial (enzymatic modification, target site modification and efflux pumps)
Fluoroquinolone	Inhibit DNA replication	Multifactorial (target-site gene mutations, efflux pumps and modifying enzyme)
Sulfonamides and trimethoprim	Inhibit folic acid metabolism	Horizontal spread of resistance genes, mediated by transposons and plasmids, expressing drug-insensitive variants of the target enzymes.

fonte 2

Principali meccanismi di AMR nei patogeni ESKAPE

E. faecium, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp.



fonte 3

Dal momento che il meccanismo d'azione di un antibiotico è largamente influenzato dalla sua struttura (che ne condiziona l'affinità per i diversi target batterici), la sua conoscenza è la «conditio sine qua non» per comprendere in che modo insorge la resistenza

Principali classi antibiotiche e relativi meccanismi di azione e di resistenza

Main mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens

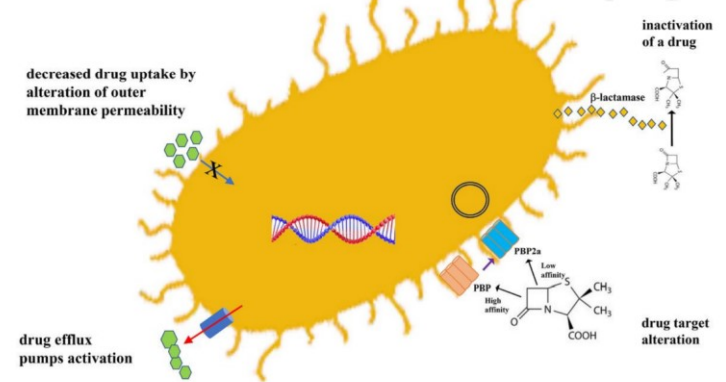
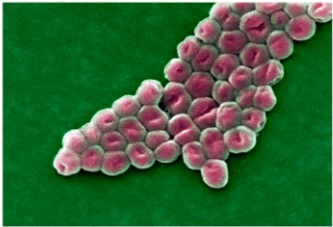


Figure 2. Mechanisms of antibiotic resistance in ESKAPE pathogens.

fonte 2

PRINCIPALI PATOGENI ANTIBIOTICO-RESISTENTI DIFFICILI DA TRATTARE

A. baumannii



fonte 4



Coccobacillo Gram-negativo

Patogeno opportunisto, responsabile di infezioni nosocomiali in tutto il mondo
Può sviluppare AMR attraverso differenti meccanismi:

- **Produzione di enzimi che degradano i beta-lattamici:** [β -lattamasi (A, B, C, e D); β -lattamasi a spettro ristretto (TEM-1, SCO-1, e CARB-4), ESBL (GES-11 and CTX-M), β -lattamasi OXA
- **Espressione di almeno 4 classi di pompe di efflusso coinvolte nella resistenza numerosi antibiotici:** major facilitator superfamily (MFS), resistance nodulation division (RND) superfamily, multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family e small multidrug resistance (SMR) family transporters
- **Modificazione enzimatica degli aminoglicosidi:** acetiltransferasi, adeniltransferasi, fosfotransferasi
- **Produzione di porine modificate** che riducono la permeabilità della membrana esterna
- **Modificazione del target**
 - Over-espressione delle PBP (resistenza all'imipenem)
 - Mutazioni nella DNA girasi (resistenza ai chinoloni)

Fino a non molti anni fa, le infezioni da *A. baumannii* erano trattabili con i carbapenemi, sostituiti poi da minociclina + tigeciclina fino a quando la resistenza è diventata significativa. La combinazione ampicillina + sulbactam + carbapenem è la terapia di elezione nel trattamento delle batteriemie da *A. baumannii* MDR. Le infezioni resistenti alla minociclina sono trattate con una combinazione di minociclina + colistina, mentre l'associazione colistina + rifampicina è impiegata sui ceppi colistino-resistenti. Anche trimetoprim-sulfametossazolo + colistina uccide rapidamente i ceppi di *A. baumannii* resistente ai carbapenemi.

Tuttavia, sempre più frequentemente vengono isolati ceppi resistenti a tutti questi antibiotici ed è, pertanto, evidente la necessità di disporre di nuovi antibiotici in grado di eradicare le infezioni da *A. baumannii* MDR

PRINCIPALI PATOGENI ANTIBIOTICO-RESISTENTI DIFFICILI DA TRATTARE

P. aeruginosa



fonte 5



Batterio Gram-negativo, aerobio

Responsabile di una varietà di infezioni nosocomiali sia acute che croniche, incluse gravi infezioni respiratorie nell'ospite immunocompromesso.

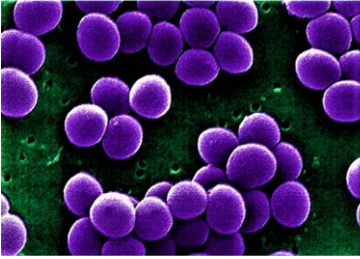
Può sviluppare AMR attraverso differenti meccanismi:

- **Sovra-espressione di pompe di efflusso**
- **Ridotta permeabilità della membrana esterna**
- **Acquisizione di geni di resistenza o mutazione nei geni che codificano le proteine che controllano la diffusione passiva degli antibiotici attraverso la membrana esterna**

- Ceftazidime e cefepime sono antibiotici ad ampio spettro efficaci nei confronti di *P. aeruginosa*. Anche in *P. aeruginosa* sono state identificate le 4 principali classi di β -lattamasi (A, B, C e D).
- β -lattamici come la benzilpenicillina e l'imipenem possono indurre β -lattamasi endogene come AmpC.
- La resistenza agli aminoglicosidi è mediata da AME trasferibili (enzimi in grado di modificare questi farmaci riducendone l'affinità di legame con il target batterico).
- Il trattamento dei ceppi MDR di *P. aeruginosa* richiede l'uso di colistina in combinazione con un agente anti-pseudomonas (imipenem, piperacillina, aztreonam, ceftazidime o ciprofloxacina)
- Infezioni sostenute da ceppi MDR di *P. aeruginosa* sono state trattati con successo con fosfomicina in associazione con aminoglicosidi, cefalosporine e penicilline.

PRINCIPALI PATOGENI ANTIBIOTICO-RESISTENTI DIFFICILI DA TRATTARE

S. aureus



fonte 6



- Cocco Gram-positivo, anaerobio facoltativo, catalasi- e coagulasi-positivo
 - Importante patogeno umano responsabile di uno spettro di infezioni: da lievi a potenzialmente letali (infezioni della cute e dei tessuti molli, endocarditi, infezioni polmonari e correlate all'impianto di cateteri)
 - Capace di sviluppare resistenza contro vecchi e nuovi antibiotici
-
- Ha rapidamente sviluppato resistenza alla penicillina
 - Nel 1961 viene isolato il primo MRSA; la resistenza alla meticillina viene sviluppata in seguito all'acquisizione per HGT dei geni *mecA* e *mecC*.
 - Fino alla fine degli anni '80, la vancomicina è stato il farmaco di elezione per trattare le infezioni da MRSA. Poi è comparsa la vancomicina-resistenza, prima negli enterococchi (VRE) poi, per acquisizione di Tn1545, in *S. aureus* (VRSA)
 - Nel 1997, viene descritto il primo VISA.
-
- MRSA, VISA e VRSA, sono considerati i principali patogeni nosocomiali ad alta priorità.
 - La resistenza alla daptomicina è rara, tuttavia può insorgere durante la terapia a causa di mutazioni responsabili di un ridotto legame del farmaco al target
 - Negli ultimi anni, c'è un rinnovato interesse nell'uso degli antibiotici MLS. In notevole aumento anche le resistenze a queste classi antibiotiche

PRINCIPALI PATOGENI ANTIBIOTICO-RESISTENTI DIFFICILI DA TRATTARE

K. pneumoniae



fonte 7

ESKAPE
pathogens

- Bacillo Gram-negativo, non esigente, capsulato
- Responsabile di infezioni nosocomiali e comunitarie (infezioni del tratto urinario, polmoniti, batteremie, ed ascessi epatici soprattutto nell'ospite immunocompromesso)
- *Klebsiella* è divenuta altamente resistente agli antibiotici soprattutto mediante **acquisizione dei geni che codificano le ESBL e le carbapenemasi**

- Nell'ambito delle *Enterobacteriaceae* resistenti ai carbapenemi (CRE), i ceppi di *Klebsiella* sono quelli clinicamente più rilevanti.
- La crescente prevalenza di isolati di *K. pneumoniae* KPC (*blaKPC-3*) rappresenta una grave minaccia per la salute pubblica

Enterobacter spp.

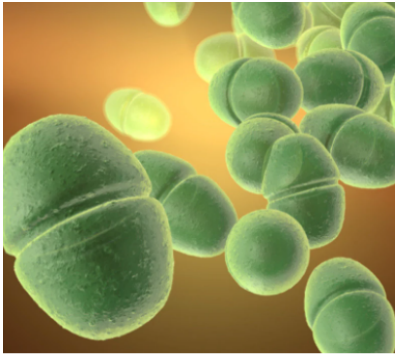


fonte 8

- Bacilli Gram-negativi aerobi, mobili, a volte capsulati.
- In ambito nosocomiale, causano infezioni opportunistiche nel paziente immunocompromesso.
- Molti ceppi di *Enterobacter* sono produttori di ESBL e carbapenemasi (VIM, OXA, metallo- β -lattamasi-1, e KPC)
- In questo genere batterico, un importante meccanismo di AMR è rappresentato dalla **derepressione permanente delle β -lattamasi ampC**
- I ceppi MDR sono resistenti a quasi tutti i farmaci disponibili, ad eccezione di **tigeciclina e colistina**.
- Recentemente la resistenza alla colistina è stata segnalata in *K. aerogenes* (precedentemente *E. aerogenes*). Inoltre, in questa specie, sono presenti sottopopolazioni colistino-R non rilevabili con gli attuali test diagnostici.

PRINCIPALI PATOGENI ANTIBIOTICO-RESISTENTI DIFFICILI DA TRATTARE

Enterococcus spp.



fonte 9



- Cocchi Gram-positivi, anaerobi facoltativi
- Normali commensali del tratto gastrointestinale dell'uomo e degli animali
- Sopravvivono in molti habitat anche in condizioni poco favorevoli.
- *E. faecalis* (maggiormente patogeno) ed *E. faecium* (più propenso a sviluppare AMR) sono responsabili della maggior parte delle infezioni umane, soprattutto nell'ospite immunocompromesso
- Negli enterococchi l'AMR è in continuo aumento a causa di:
 - (i) uso di antibiotici ad ampio spettro (penicilline e cefalosporine) negli ospedali
 - (ii) Resistenza intrinseca a diversi antibiotici di uso comune
 - (iii) Facilità di acquisire e diffondere determinanti di resistenza agli antibiotici

- Negli anni '70 viene introdotta la **vancomicina**
- Negli anni '90 emergono i VRE che guadagnano il secondo posto come patogeni nosocomiali.
- La vancomicina-resistenza è mediata da diversi **cluster genici van**: *vanA*, *vanR*, *vanS*, *vanH*, *vanX* e *vanZ*
- **VanA**: cluster genico più comune, localizzato sul trasposone Tn1546
- ***E. faecium* è un patogeno MDR**: intrinsecamente resistente agli **aminoglicosidi** grazie alla produzione di AME (ANT, AAC e APH). Può sviluppare resistenza ad alto livello alla **streptomicina** (mutazione nel gene *rpsL*) e ai **fluoroquinoloni** (in seguito a mutazioni puntiformi in *gyrA* e *parC* o grazie alla pompa di efflusso NorA).

CONCLUSIONI

- Il fenomeno dell'AMR, pur essendo un processo naturale, può essere accelerato dall'uso eccessivo e/o improprio di antibiotici. L'abuso di antibiotici, infatti, determina l'uccisione dei batteri sensibili ma, al contempo, la proliferazione di quelli resistenti.
- Tra le principali cause della diffusione della AMR vanno annoverate: una scarsa igiene, un inadeguato controllo delle infezioni e l'impiego di antibiotici negli animali da allevamento
- Esistono, inoltre, meccanismi di resistenza nuovi (o non riconosciuti) come l'eteroresistenza (HR).
- Anche se comunemente la sensibilità di un microrganismo nei confronti di un antibiotico viene valutata attraverso la determinazione della MIC è importante considerare anche la «*mutant prevention concentration*» (MPC). Un'efficace prevenzione dell'insorgenza di mutanti non può prescindere dalla determinazione del rapporto MPC/MIC.
- I batteri del gruppo ESKAPE sono patogeni potenzialmente letali, con caratteristiche di multi-resistenza in costante aumento.
- Anche se geneticamente molto diversi, i patogeni ESKAPE condividono molte strategie di antibiotico-resistenza, inclusi una ridotta diffusione dell'antibiotico, l'alterazione del target, l'inattivazione del farmaco e l'attivazione di pompe di efflusso.
- Per limitare la diffusione dei patogeni ESKAPE, e più in generale della AMR, è diventato imperativo porre maggiore attenzione nella sorveglianza e nella gestione degli antibiotici, sia in ambito umano che animale.
- L'attuazione di questi programmi, insieme allo sviluppo di nuove molecole e a nuovi approcci terapeutici (inibizione della formazione di biofilm, terapia fagica), rappresenta probabilmente l'unico modo per rallentare la diffusione di ceppi MDR a livello globale.

RIASSUNTO FINALE

Gli antibiotici hanno reso possibile il trattamento di infezioni batteriche, quali la meningite che, prima della loro introduzione, erano considerate incurabili e di conseguenza quasi sempre fatali. Purtroppo, negli ultimi decenni l'abuso e l'uso improprio degli antibiotici, nonché fattori sociali ed economici, hanno accelerato la diffusione di batteri farmaco-resistenti, rendendo il trattamento antibiotico inefficace.

Attualmente, almeno 700.000 persone ogni anno nel mondo muoiono a causa di infezioni AMR. In assenza di nuovi e migliori trattamenti, l'OMS stima che questo numero potrebbe raggiungere i 10 milioni entro il 2050, sottolineando un problema di salute pubblica di importanza primaria. Nel febbraio 2017, alla luce della crescente AMR, l'OMS ha pubblicato un elenco di agenti patogeni che include un gruppo di batteri indicati dall'acronimo ESKAPE cui attribuisce il più elevato livello di priorità dal momento che essi rappresentano una seria minaccia per l'uomo.

La comprensione dei meccanismi di resistenza sviluppati da questi batteri è un passo fondamentale nello sviluppo di nuovi farmaci antimicrobici in grado di trattare le infezioni sostenute da questi batteri MDR.

Fonte delle immagini

Fonte 1. <https://www.microbiologiaitalia.it/immunologia/resistenza-agli-antibiotici-come-viene-acquisita-dai-batteri>

Fonte 2. Giuseppe Mancuso, Angelina Midiri, Elisabetta Gerace, *et al.* 2021. Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens*, **10**: 1310. doi.org/10.3390/pathogens10101310

Fonte 3. <https://blog.eoscu.com/blog/what-are-escape-pathogens>

Fonte 4. <https://fineartamerica.com/featured/acinetobacter-baumannii-bacteria-sem-cdc.html>

Fonte 5. <https://pixels.com/featured/3-pseudomonas-aeruginosa-bacteria-sem-steve-gschmeissner.html>

Fonte 6. <https://kons-wa.blogspot.com/2021/05/staphylococcus-aureus-under-microscope.html>

Fonte 7. <https://fineartamerica.com/featured/2-klebsiella-pneumoniae-bacteria-ami-images.html>

Fonte 8. <https://www.syl.ru/article/425291/enterobacter-cloacae-rasshifrovka-norma-i-patologiya>

Fonte 9. <https://www.dreamstime.com/enterococcus-bacteria-medically-accurate-d-illustration-showing-faecalis-digestive-system-image154056066>