

UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE



DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

**Corso di Laurea in
Scienze Biologiche**

**Meccanismi molecolari di antibiotico-resistenza
Molecular mechanisms of antibiotic resistance**

Tesi di Laurea di:
Alya Zahan Sumi

Docente Referente:
Eleonora Giovanetti

Anno Accademico 2018/2019



MECCANISMI MOLECOLARI DI ANTIBIOTICO-RESISTENZA

INTRODUZIONE

- Gli Antibiotici sono alla base della Medicina moderna; il loro impiego ha ridotto drasticamente la mortalità infantile e aumentato l'aspettativa di vita.
- Tuttavia, il numero di infezioni causate da batteri MDR sta aumentando a livello globale e il pericolo di infezioni non trattabili sta diventando realtà.
- Oggi, la resistenza agli antibiotici è una delle maggiori minacce alla salute umana: si stima che ogni anno in Europa muoiano 25.000 persone a causa di infezioni da batteri MDR con costi 1,5 miliardi di euro all'anno.
- La grave crisi innescata dal diffondere delle antibiotico-resistenze è stata esacerbata dalla carenza di nuovi antibiotici.

THE 10 COUNTRIES WHERE THE MOST PEOPLE WILL DIE OF ANTIBIOTIC RESISTANT INFECTIONS BETWEEN 2015 AND 2050



Fonte 2

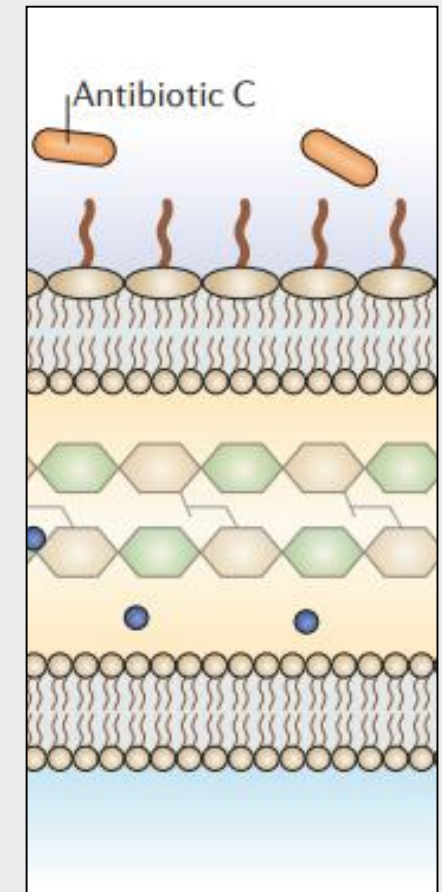


Fonte 3

RESISTENZA INTRINSECA ED ACQUISITA

- I batteri possono essere intrinsecamente resistenti a determinati antibiotici, ma possono anche acquisire la resistenza agli antibiotici attraverso mutazioni e HGT.

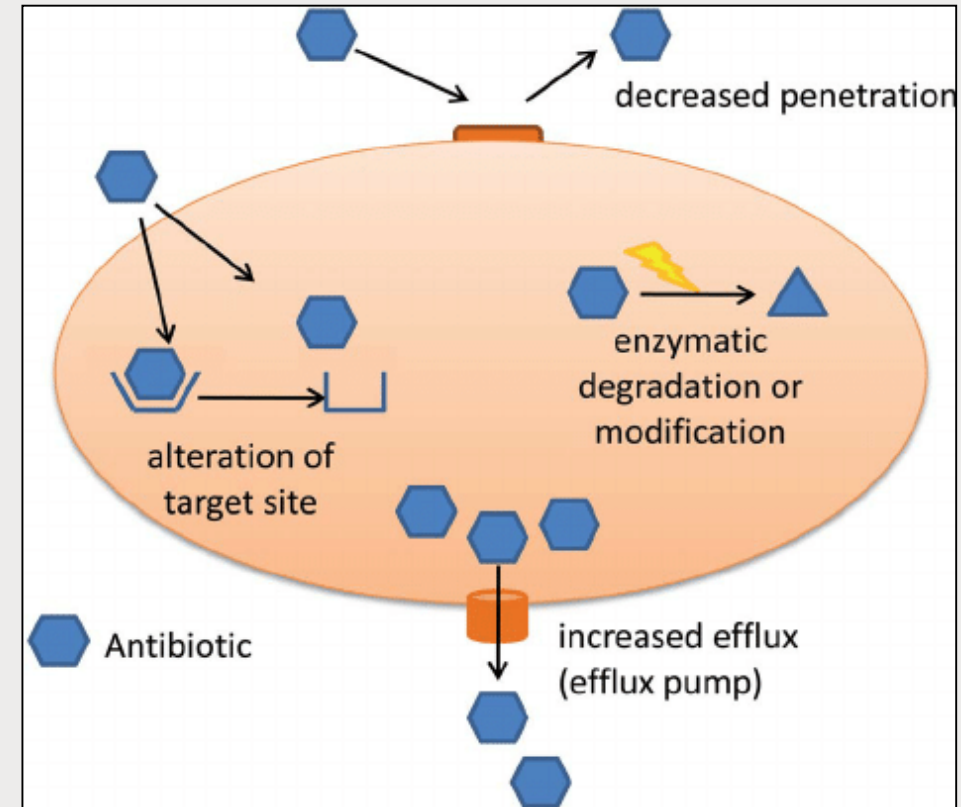
- La **resistenza intrinseca** di una specie batterica nei confronti di un determinato antibiotico è dovuta alla sua capacità di resistere all'azione antibiotica in virtù di caratteristiche strutturali o funzionali intrinseche.
 - ▶ Il biocida **Triclosan**, efficace nei confronti di batteri Gram-positivi e molti Gram-negativi, è inattivo sui membri del genere *Pseudomonas* che possiedono un allele «insensibile» del gene *fabI*, che codifica una variante dell'enzima enoil-ACP reduttasi, target del triclosan nelle specie sensibili.
 - ▶ Il glicopeptide **Vancomicina**, che inibisce gli step finali della sintesi del peptidoglicano, è efficace sui batteri Gram-positivi per la difficoltà di attraversare la membrana esterna dei Gram-negativi.
 - ▶ La **Daptomicina** è attiva solo sui batteri Gram-positivi a causa di una differenza intrinseca nella composizione della membrana citoplasmatica: nei Gram-negativi la percentuale più bassa di fosfolipidi anionici riduce l'inserimento dell'antibiotico necessario per la sua attività antibatterica.



RESISTENZA INTRINSECA ED ACQUISITA

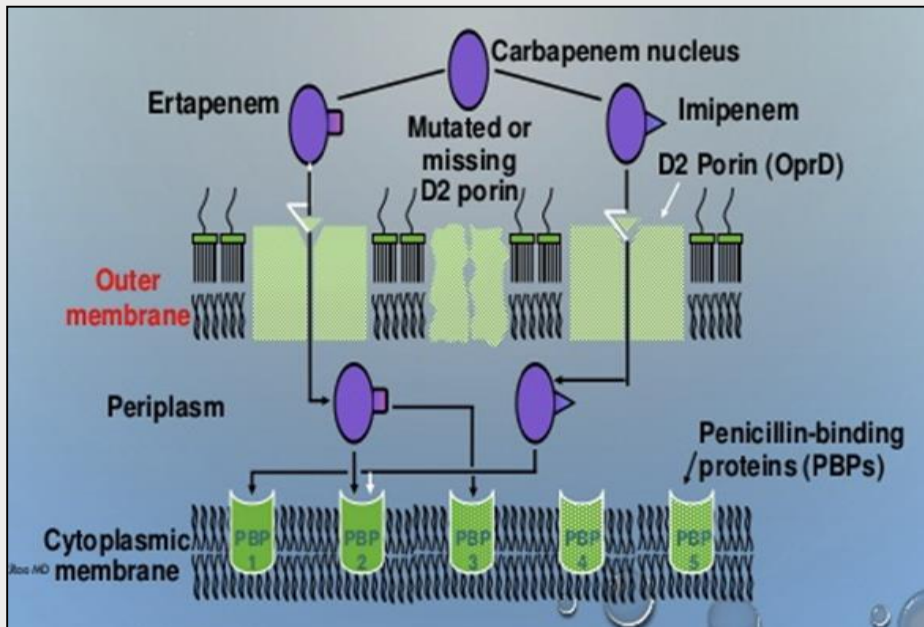
■ Oltre a possedere una resistenza intrinseca, i batteri possono acquisire o sviluppare resistenza agli antibiotici.

- I meccanismi di resistenza acquisita rientrano in tre tipologie principali:
- ▶ Riduzione della concentrazione intracellulare di antibiotico per scarsa penetrazione nel batterio o per efflusso attivo;
 - ▶ Modificazione del bersaglio dell'antibiotico attraverso mutazione genetica o modificazione post-traduzionale del target;
 - ▶ Inattivazione dell'antibiotico per idrolisi o modificazione.



MECCANISMI CHE PREVENGONO L'ACCESSO DELL'ANTIBIOTICO AL TARGET INTRACELLULARE

- RIDOTTA PERMEABILITA'
- EFFLUSSO ATTIVO

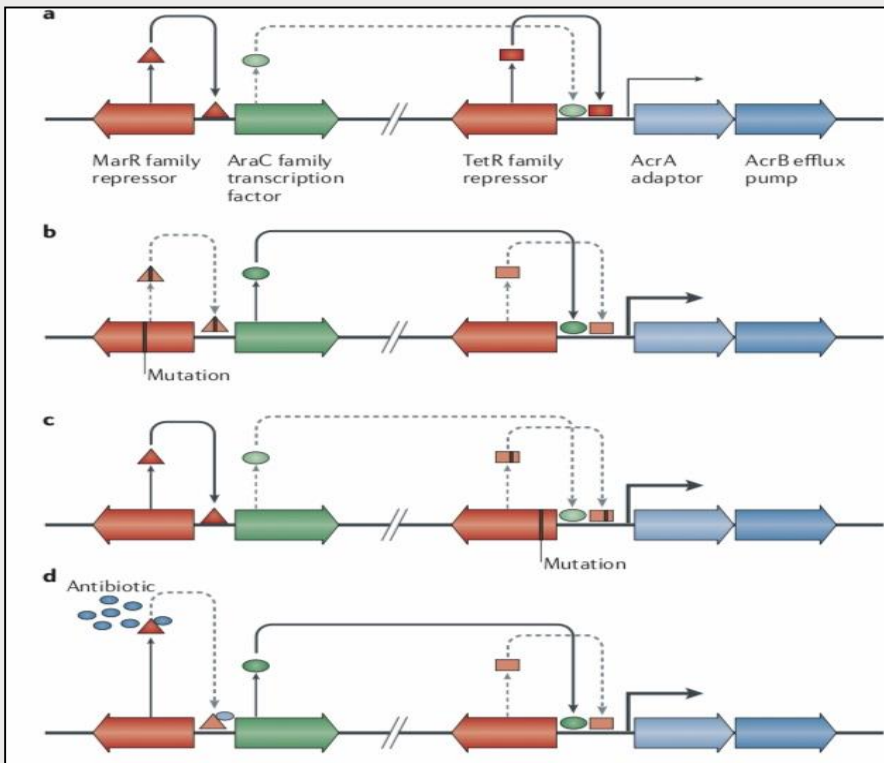


- La membrana esterna dei batteri Gram-negativi impedisce l'ingresso nella cellula di molecole polari di grandi dimensioni; piccole molecole polari possono penetrare attraverso le porine. La perdita o una mutazione ai canali porinici può limitare o impedire l'ingresso del farmaco.

- ▶ Nelle *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. e *Acinetobacter* spp., una diminuita espressione delle porine contribuisce in modo significativo alla resistenza ai carbapenemi e alle cefalosporine.
- ▶ Nelle *Enterobacteriaceae*, una resistenza ai carbapenemi clinicamente rilevante e non riconducibile alla produzione di carbapenemasi, può manifestarsi in seguito a mutazioni che riducono la produzione di porine o alla comparsa di alleli mutati per le porine.

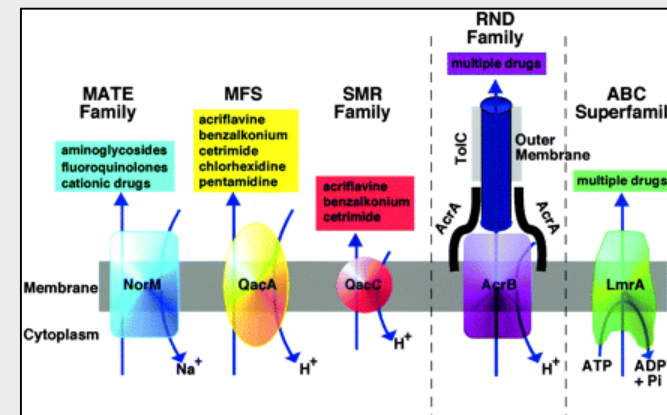
MECCANISMI CHE PREVENGONO L'ACCESSO DELL'ANTIBIOTICO AL TARGET INTRACELLULARE

- RIDOTTA PERMEABILITA'
- **EFFLUSSO ATTIVO**



Fonte 4

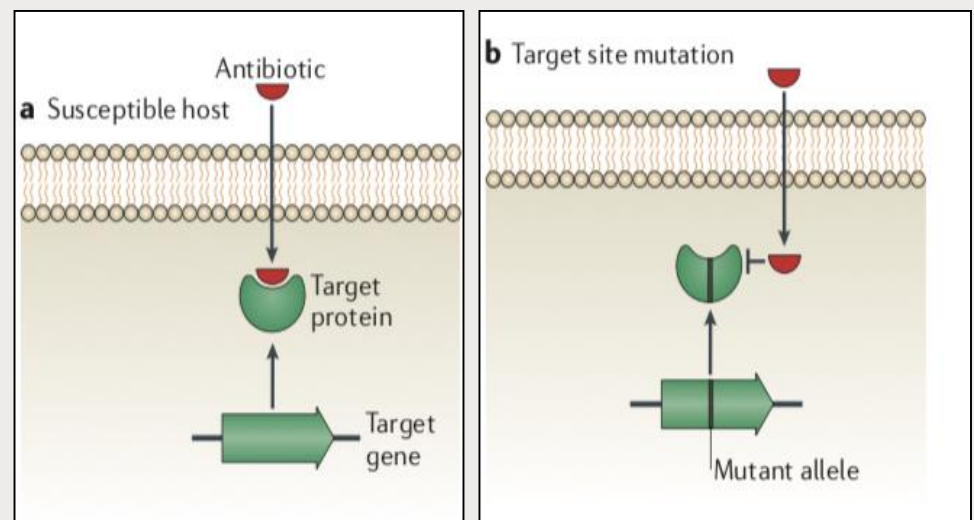
- L'antibiotico viene pompato fuori dalla cellula da specifiche proteine di membrana più velocemente di quanto riesca ad entrare: le concentrazioni intra-citoplasmatiche non raggiungono concentrazioni letali per la cellula batterica.
- Alcune pompe di efflusso hanno una elevata specificità di substrato (ad esempio, le pompe Tet), ma gran parte di esse trasporta una vasta gamma di substrati diversi. I geni codificanti per le pompe di efflusso MDR possono essere localizzati su plasmidi ed essere mobilizzati ad altri batteri.



Fonte 7

MECCANISMI DI MODIFICAZIONE DEL BERSAGLIO

- **MUTAZIONE DEL TARGET**
- **MODIFICAZIONE (E PROTEZIONE) DEL TARGET**

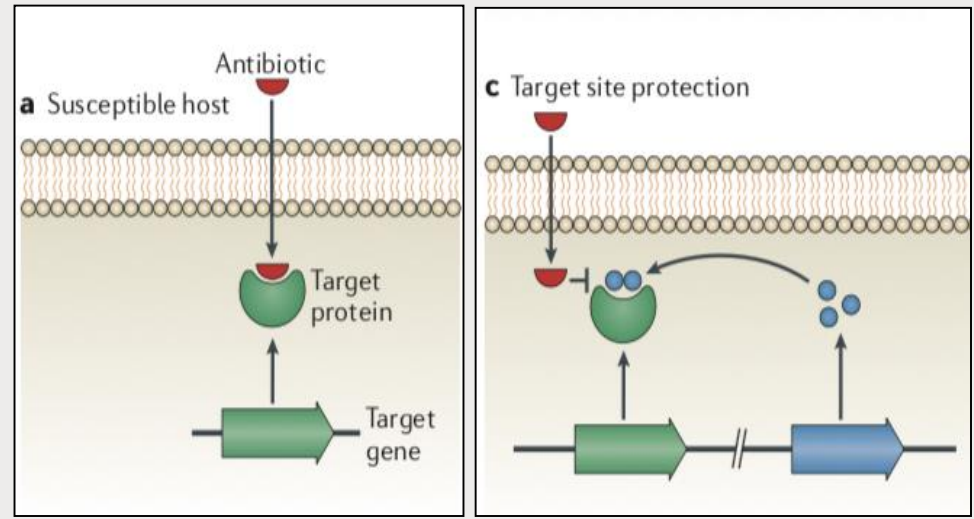


Fonte 4

- **Modifica del bersaglio per mutazione del gene che codifica il bersaglio dell'antibiotico**
 - ▶ La **resistenza al Linezolid** in *S. pneumoniae* e in *S. aureus* dovuta a mutazioni in una delle copie del gene che codifica l'rRNA 23S (bersaglio dell'antibiotico). La ricombinazione ad alta frequenza tra alleli omologhi rapidamente genera una popolazione con l'allele mutante.
 - ▶ Presenza di geni «a mosaico» originati dall'acquisizione di DNA eterologo e successiva ricombinazione con i geni endogeni. In *S. pneumoniae* la **resistenza alla penicillina** è dovuta alla presenza di geni per le PBP «a mosaico» che codificano enzimi insensibili al beta-lattamico. Un fenomeno di mosaicismo genico (*penA*) è responsabile della resistenza ad alto livello di *N. gonorrhoeae* alle cefalosporine a spettro esteso
 - ▶ Modificazione del target per acquisizione di un gene omologo a quello che codifica il target originale. Negli MRSA, la **resistenza alla meticillina** è conseguenza dell'acquisizione dell'elemento SCCmec con il gene *mecA*. Esso codifica la PBP2a insensibile a quasi tutti i beta-lattamici che consente, in presenza di antibiotico, la regolare biosintesi della parete cellulare.

MECCANISMI DI MODIFICAZIONE DEL BERSAGLIO

- MUTAZIONE DEL TARGET
- MODIFICAZIONE (E PROTEZIONE) DEL TARGET

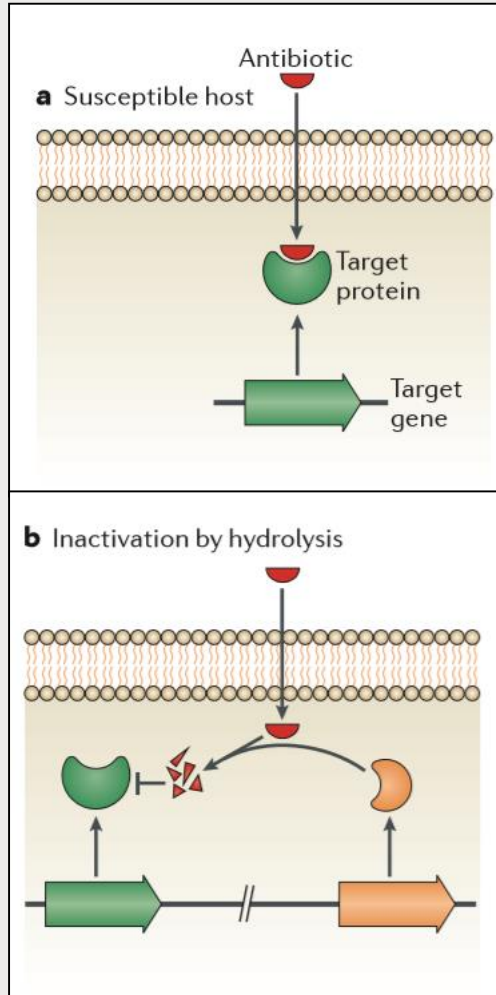


Fonte 4

- Non richiede un cambiamento mutazionale del gene che codifica il bersaglio
 - ▶ Protezione del bersaglio ribosomiale per metilazione. Specifiche metilasi, come quelle codificate dai geni *erm*, causano una perdita di affinità di **Macrolidi** e **Lincosamidi** per il ribosoma batterico e conseguente resistenza. La metiltrasferasi codificata dal gene *armA* determina resistenza agli Aminoglicosidici negli enterobatteri.
 - ▶ I geni *qnr* per la resistenza ai **Chinoloni** codificano delle «pentapeptide repeat proteins» (PRPs) in grado di legarsi e proteggere sia la topoisomerasi IV che la DNA girasi, bersagli di questa classe di farmaci.
 - ▶ Protezione mediata da cambiamenti nell'espressione dei geni regolatori: la resistenza di *P. aeruginosa* alla **Colistina** è spesso associata a cambiamenti nell'espressione dei geni che regolano la produzione di LPS, con conseguente ridotta affinità del farmaco.
 - ▶ Cambiamenti nel sistema *LiaFSR*, che regola l'omeostasi della parete cellulare, riducono il contenuto di fosfolipidi di membrana (bersaglio della **Daptomicina**), causando resistenza negli enterococchi.

MECCANISMI INATTIVAZIONE DELL'ANTIBIOTICO

- **IDROLISI**
- **MODIFICAZIONE**

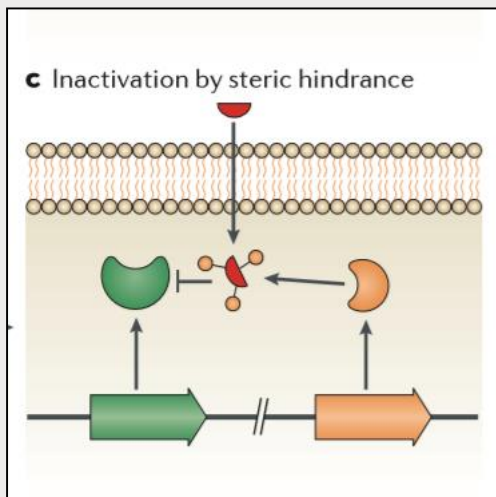
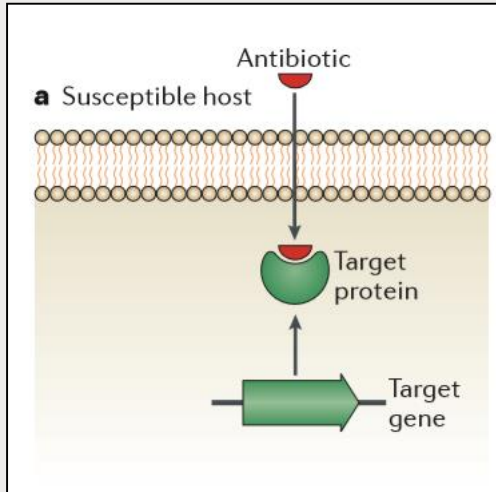


- Sono stati identificati migliaia di enzimi in grado di degradare antibiotici di diverse classi; esistono anche sottoclassi che inattivano antibiotici diversi della stessa classe come, ad esempio, la vasta gamma di **β -lattamasi**.
 - ▶ Alle prime β -lattamasi, attive sui β -lattamici di prima generazione, hanno fatto seguito β -lattamasi a spettro esteso (ESBL) capaci di idrolizzare le ossimino-cefalosporine.
 - ▶ Il diffondersi di diverse ESBL e carbapenemasi, inclusa la imipenemasi, la *K. pneumoniae* carbapenemasi (KPC), la oxacillinasi (OXA) in batteri Gram-negativi quali *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, ha portato all'emergere di isolati resistenti a tutti i β -lattamici con gravissime conseguenze, soprattutto in ambito nosocomiale.

MECCANISMI INATTIVAZIONE DELL'ANTIBIOTICO

■ IDROLISI

■ MODIFICAZIONE



Fonte 4

■ La modificazione dell'antibiotico avviene ad opera di enzimi batterici che aggiungono gruppi chimici ai siti più vulnerabili del farmaco. A causa di un ingombro sterico, l'antibiotico non è più in grado di legare il sito bersaglio.

- ▶ Gli **Aminoglicosidi**, molecole di grandi dimensioni ricche in gruppi idrossilici e amidici esposti, sono particolarmente vulnerabili alla modificazione.
- ▶ Gli enzimi modificanti gli Aminoglicosidi sono acetiltransferasi, fosfotransferasi e adeniltransferasi.

CONCLUSIONI

- **La resistenza agli antibiotici è un fenomeno naturale e i batteri si sono evoluti per miliardi di anni per resistere all'azione dei composti antibatterici naturali.**
- **La drastica riduzione di investimenti da parte delle Industrie Farmaceutiche nello sviluppo di nuove molecole antimicrobiche e la sempre più preoccupante diffusione di batteri MDR, impongono un uso ragionevole e consapevole dei farmaci ancora attivi. La resistenza batterica agli antibiotici è oramai un importante problema di salute pubblica e una delle principali sfide a livello globale**
- **I progressi nella genomica, nella biologia dei sistemi e nella biologia strutturale hanno consentito di analizzare più in dettaglio gli eventi che conducono all'insorgere delle resistenze. Queste informazioni, se usate correttamente, potranno essere di grande aiuto nella scoperta e nello sviluppo di nuovi agenti antimicrobici in grado di aggirare o neutralizzare i meccanismi di resistenza esistenti.**

GRAZIE PER L'ATTENZIONE



FORTE DELLE IMMAGINI

Fonte 1: https://www.universomamma.it/wp-content/uploads/2019/03/batteri_antibiotici-1.jpg

Fonte 2: <https://www.dailymail.co.uk/health/article-6363109/Antibiotic-resistance-kill-90-000-Britons-2050.html>

Fonte 3: World Health Organization. World Health Day 2011: Policy briefs, Geneva
<http://www.who.int/world-health-day/2011/en/index.html>

Fonte 4: Jessica M. A. Blair, Mark A. Webber, Alison J. Baylay, David O. Ogbolu, and Laura J. V. Piddock. (2015).
Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nature Reviews Microbiology: 13: 42-49

Fonte 5: Ana Cristina Abreu, Andrew J. McBain, and Manuel Simoes. (2012) Plants as sources of new antimicrobials and resistance-modifying agents. Natural Product Reports, 27: 1009-21

Fonte 6: <https://image.slidesharecdn.com/carbapenemresistanceinclinicalcare-140501010845-phpapp02/95/carbapenem-resistance-in-clinical-care-17-638.jpg?cb=1398906666>

Fonte 7: Laura J. V. Piddock. Clinically Relevant Chromosomally Encoded Multidrug Resistance Efflux Pumps in Bacteria. (2006). Clinical Microbiology Reviews, 19: 382-402.

Fonte 8: <https://lamedicinainunoscatto.it/wp-content/uploads/2018/04/images.jpg>