



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea:

SCIENZE BIOLOGICHE

Titolo tesi:

*Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa –
mechanisms, epidemiology and evolution*

Antibiotico resistenza in *Pseudomonas aeruginosa* –
meccanismi, epidemiologia ed evoluzione

Botelho et al. *Drug Resistance Updates* 2019, 44: 26-47

Tesi di Laurea di:
Daniela Amadio

Sessione Autunnale
A.A. **2019/20**

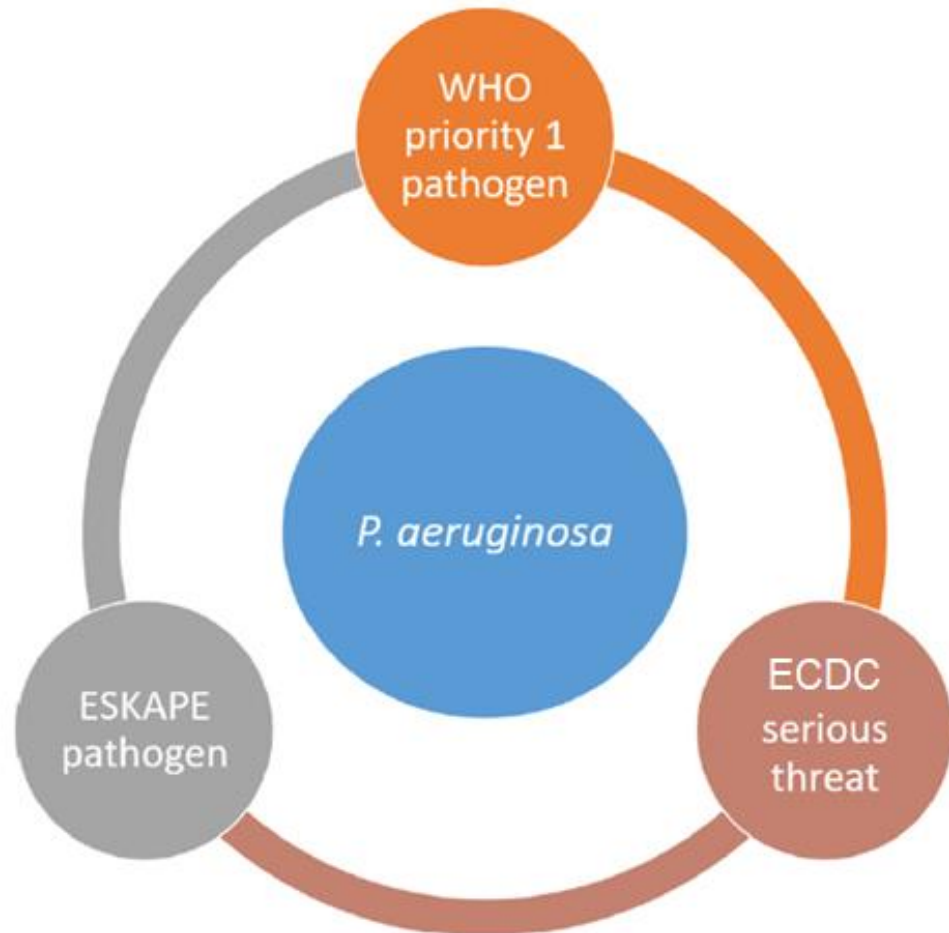
Docente Referente:
Chiar.ma Prof.ssa
Francesca Biavasco

RIASSUNTO

Antibiotico resistenza in P. aeruginosa: meccanismi, epidemiologia ed evoluzione

Pseudomonas aeruginosa è un patogeno opportunisto comunemente coinvolto in infezioni ospedaliere difficili da trattare. Alla resistenza intrinseca del batterio si somma quella acquisita per incorporazione di specifici geni di antibiotico resistenza (AR), mediante fenomeni di trasferimento genico orizzontale (HGT). I geni AR sono frequentemente localizzati all'interno di elementi genetici mobili (MGE) come plasmidi, integroni, isole genomiche ed elementi integrativi e coniugativi (ICE). Cloni specifici, detti «cloni ad alto rischio», sono associati a significativa morbilità e mortalità in tutto il mondo, conferita anche dalla loro particolare predisposizione ad acquisire MGE. L'annessione di questi elementi nel genoma di un microrganismo ricevente (host) comporta un costo di «fitness» che può essere ammortizzato nel tempo da mutazioni compensatorie, in un fenomeno di coevoluzione di MGE - ospite.

Pseudomonas aeruginosa: la costruzione di un «superbatterio»



P. aeruginosa: inquadramento

- Batterio multiresistente di importanza prioritaria, secondo la lista stilata dall'OMS (**WHO**)
- Seria minaccia per le infezioni nosocomiali di tutto il mondo, come riportato dal Centro Europeo per la prevenzione e il controllo delle malattie (**ECDC**)
- Uno dei patogeni del gruppo «**ESKAPE**»

Approcci «omici»: *genomica, trascrittomica, proteomica*

- **GENOMICA** → sequenziamento del DNA
 - *Pangenoma*:
 - Genoma core
 - Geni accessori (plasticità genomica)
- **TRASCRIPTOMICA** → valutazione quantitativa dell'mRNA
 - Differenza di espressione in vitro e in vivo
- **PROTEOMICA** → studio delle proteine rilevate in vari siti di infezione
 - Possibili target per la terapia antibiotica

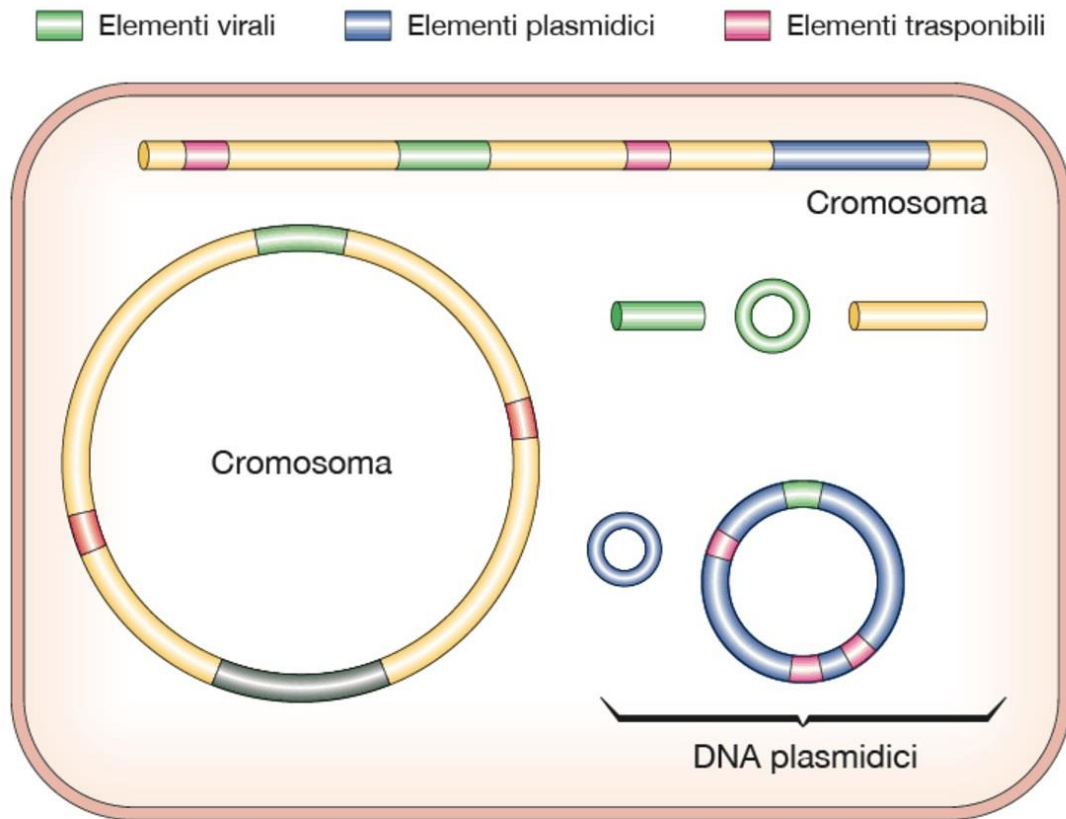
Antibiotico resistenza in *P. aeruginosa*

P. aeruginosa è un microrganismo **MDR** = multidrug resistant

→ non suscettibile all'azione di *diverse* classi di antibiotici

- **RESISTENZA INTRINSECA:** costitutiva, dovuta alla natura del batterio
 - Pompa di efflusso **MexAB-OprM** espelle β -lattamici e fluorochinoloni
- **RESISTENZA ACQUISITA:** conseguente a mutazioni spontanee, acquisizione di geni esogeni, ma indotta anche da caratteristiche associate alla capacità di vivere in comunità e adottare comportamenti comuni (biofilm e motilità *swarming*)

Disseminazione della resistenza: il ruolo del **genoma accessorio**



MGEs (elementi genetici mobili) nel genoma accessorio in *P. aeruginosa*: integroni, trasposoni, plasmidi, elementi integrativi e coniugativi (ICEs)...

→ Questi elementi rivestono un ruolo centrale nel promuovere l'acquisizione e la disseminazione dei geni di antibiotico resistenza

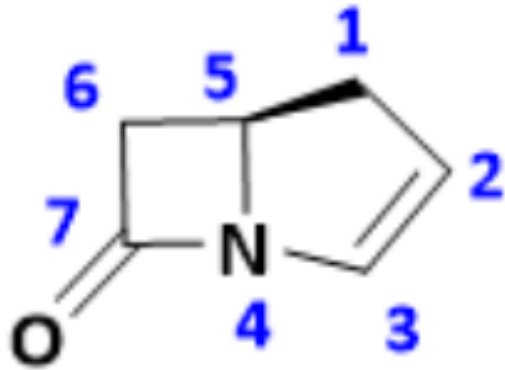
Plasmidi, principali vettori di geni AR

- I plasmidi sono piccoli elementi extracromosomici autoreplicanti generalmente di DNA circolare a doppio filamento che possono essere trasmessi da un batterio all'altro per **coniugazione**, una modalità di **trasferimento genico orizzontale (HGT)**.
- Oltre ai geni necessari alla loro stessa propagazione e stabilità, i plasmidi presentano spesso un modulo accessorio, che può comprendere svariati **geni** di antibiotico resistenza (**AR**).
- Inoltre, i plasmidi possono portare integrati trasposoni, nel loro struttura, veicolati anch'essi nel processo di trasferimento.

CEGs: geni che codificano per carbapenemasi in *P. aeruginosa*

→ **Carbapenemasi** = enzimi (particolari β -lattamasi) che inattivano gli antibiotici carbapenemici. Principalmente codificati da DNA esogeno.

- es. bla_{VIM-2}

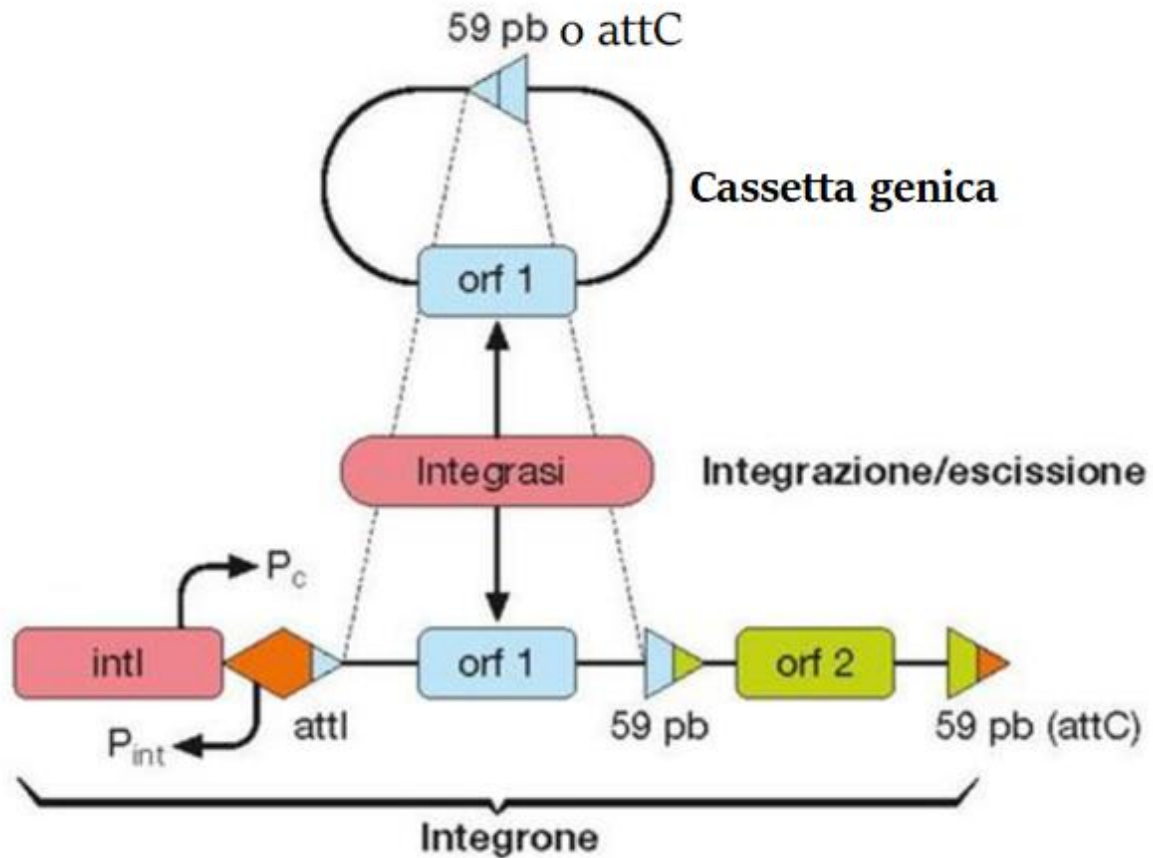


carbapenem

Bersaglio delle carbapenemasi: il nucleo carbapenemico presente nei carbapenemi

Il nucleo carbapenemico, o carbapenem, è costituito da un anello pirrolico fuso al nucleo beta lattamico.

Integrone e cassette geniche



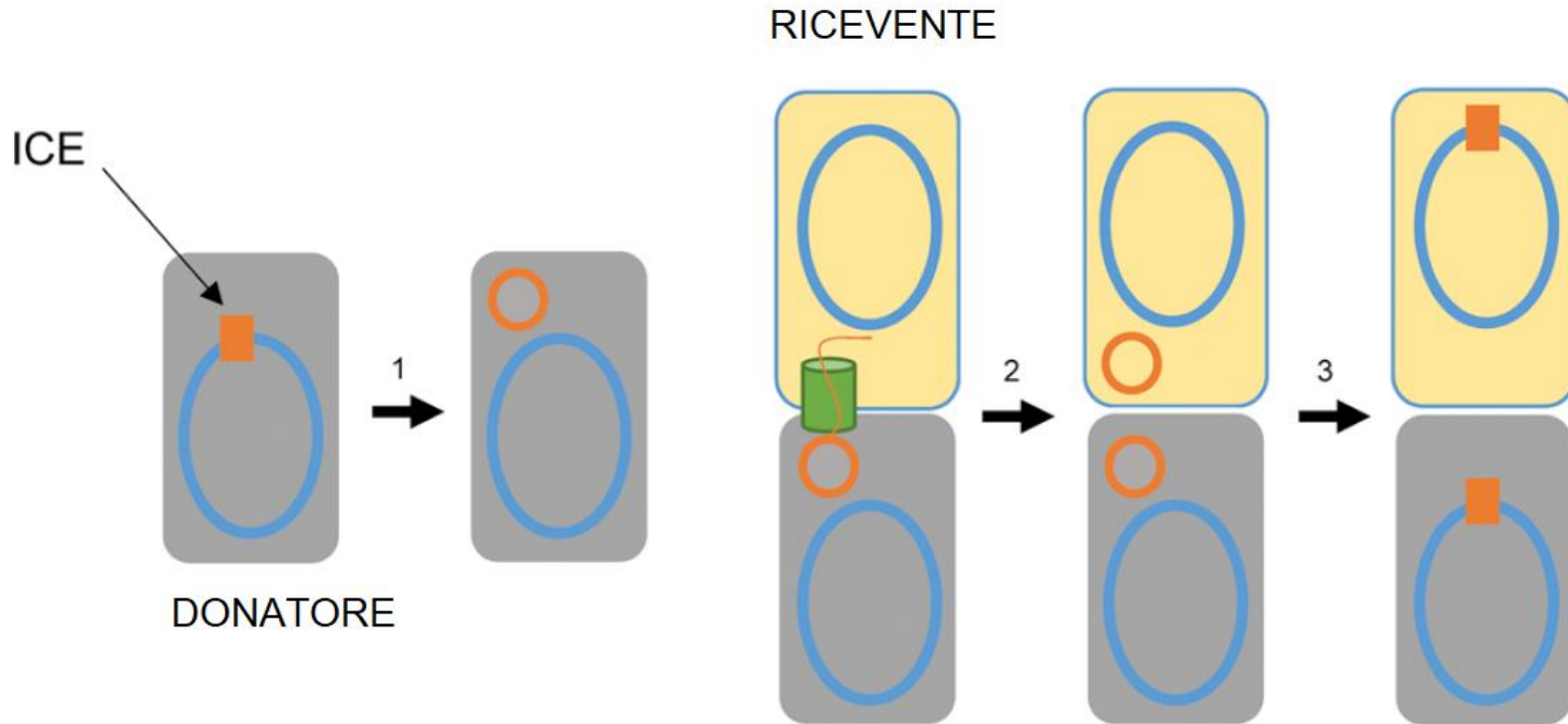
Struttura dell'integrone e della cassette genica

- **IntI**: gene che codifica per l'integrasi (ricombinasi sito-specifica)
- **attI**: sito di ricombinazione
- **P_c**: promotore che dirige l'espressione dei geni contenuti nella cassette
- **attC o 59 bp**: sequenza invertita e ripetuta localizzata sulla cassette e riconosciuta dall'integrasi

Le isole genomiche (GIs) e la trasmissione della multiresistenza

- Le isole genomiche rappresentano regioni caratterizzanti di DNA che sono state acquisite via **HGT**. Spesso sono inserite nelle vicinanze di geni per i tRNA e fiancheggiate da sequenze ripetute dirette (DR).
- Possono contenere geni che aumentano l'adattabilità e la versatilità del batterio, come per esempio **geni AR o geni VIR**
 - In questo senso sono definite *isole di fitness*.
- In *P. aeruginosa*, questi elementi possono contenere geni CEGs e contribuire pertanto alla loro diffusione.

Elementi integrativi e coniugativi (ICEs)

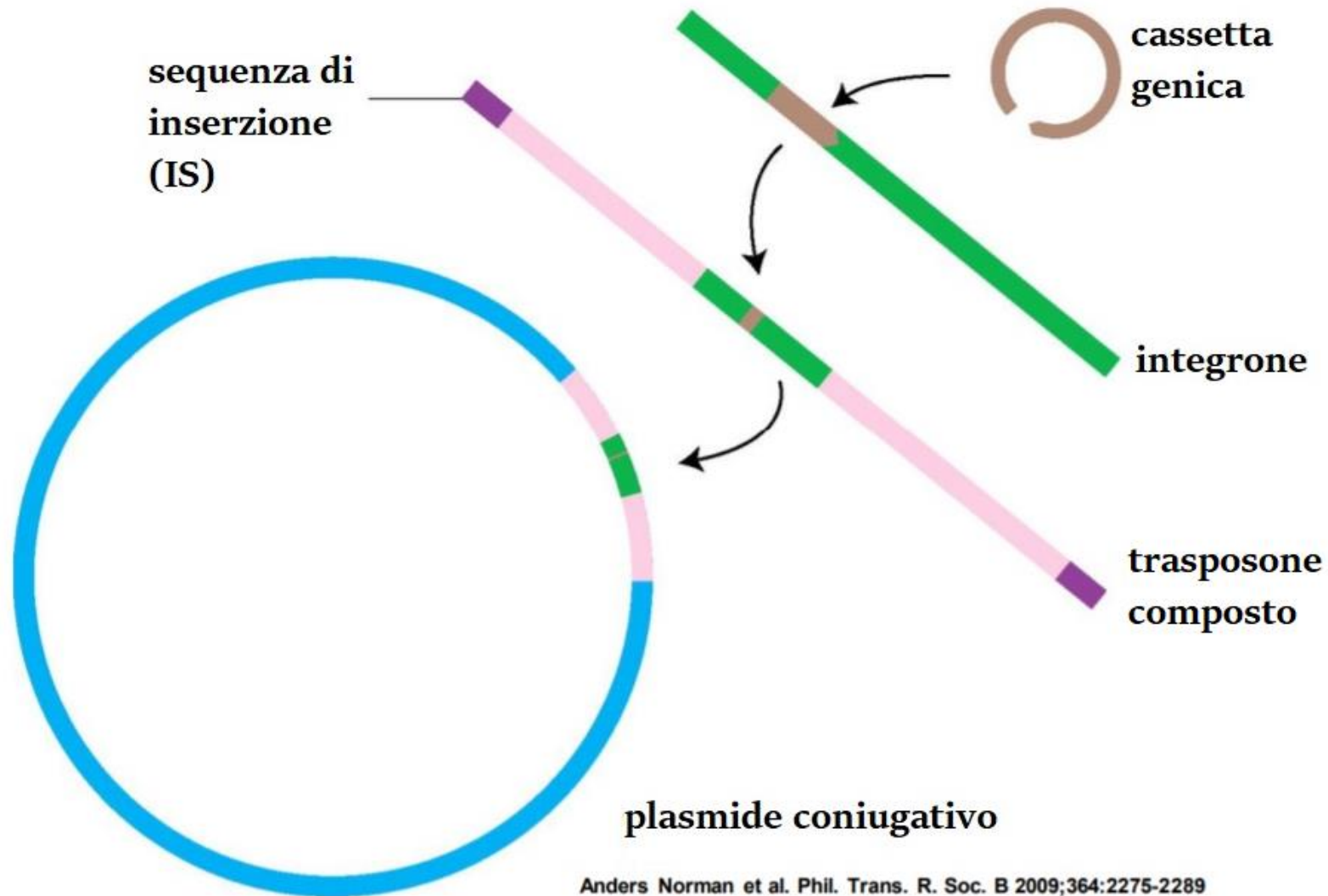


Capaci di integrarsi ed essere escissi dal cromosoma
– come *trasposoni* –

ma anche di replicarsi ed essere trasferiti per coniugazione
– come *plasmidi*

Trasferimento genico orizzontale di un ICE

Una «matrioska» di elementi mobili



*Organizzazione
modulare e gerarchica
degli MGEs*

«*Essere o non essere*»:

il *fitness cost* e il mantenimento dell'antibiotico resistenza

- *Fitness* = in ecologia, l'insieme delle caratteristiche genotipiche e fenotipiche che rendono un organismo idoneo a sopravvivere e a riprodursi
- La probabilità che una mutazione associata all'acquisizione di antibiotico resistenza si fissi in una popolazione patogena è determinata in gran parte dal suo **costo** in termini di fitness
- In *P. aeruginosa* sono stati osservati **meccanismi compensativi**, messi in atto per ripristinare la fitness eventualmente diminuita, senza compromettere l'antibiotico resistenza guadagnata

Conclusioni e prospettive future

- **Cloni batterici ad alto rischio** descritti per *P. aeruginosa*:
 - Alta frequenza di *mutazioni spontanee*
 - Spiccata propensione ad *acquisire nuovi elementi genici* (in particolar modo integroni), inclusi quelli determinanti AR
 - Tendenza a formare *biofilm*, spesso su dispositivi medici
- Auspicabile approccio globale (tecnologie «*omiche*») nello studio di più ceppi possibili per poterne definire la natura e tracciare la trasmissione degli elementi genetici mobili contenenti i geni per l'antibiotico resistenza
- Uso consapevole degli antibiotici per prevenire l'avvento di un'**era post-antibiotica**, nella quale infezioni «comuni» possano tornare ad essere letali