

Società Medico Chirurgica di Ferrara

Sabato 05 Novembre 2016

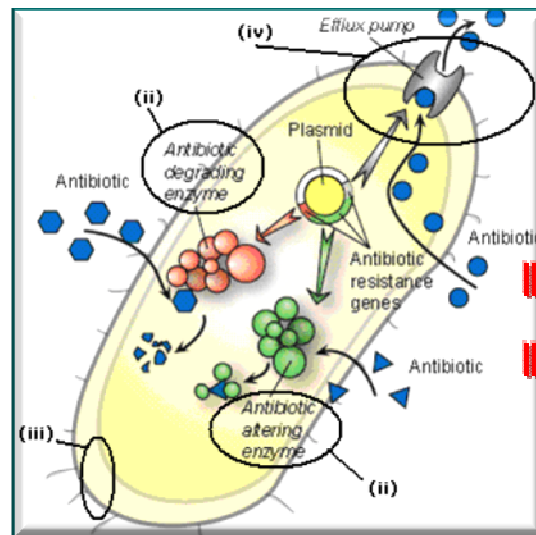
Aula Magna Nuovo Arcispedale S. Anna Cona, Ferrara

L'Antibiotico-resistenza dei batteri Un problema da risolvere

Le basi microbiologiche dell'antibiotico resistenza

M.Rita Rossi

UO Semplice di Microbiologia e Sierologia Laboratorio Unico Provinciale
AOU S. Anna Ferrara



MDR CRE

VRE MRSA

VISA

VISCV

VRSCN

ESBL..

Premessa



- Gli antibiotici hanno trasformato la pratica della medicina, rendendo facilmente **curabili infezioni una volta letali** e rendendo possibili altri progressi in campo medico, come chemioterapia e trapianto di organo
- Il precoce trattamento antibiotico per curare le infezioni ha dimostrato di **ridurre la morbilità e salvare vite umane**, un valido esempio è la tempestiva somministrazione di antibiotici nella gestione delle sepsi
- Tuttavia, il **20-50%** di tutti gli antibiotici prescritti in ospedali degli Stati Uniti per acuti sono **o inutili o inappropriati**
- Come tutti i farmaci, gli antibiotici hanno gravi effetti collaterali, tra cui **reazioni avverse al farmaco e l'infezione da Clostridium difficile** (CDI)
- I pazienti che sono inutilmente esposti agli antibiotici sono messi a rischio di gravi eventi avversi senza alcun beneficio clinico
- **L'abuso** di antibiotici ha contribuito al crescente problema della **resistenza agli antibiotici**, che è diventato una delle più gravi e crescenti **minacce alla salute pubblica**
- A differenza di altri farmaci, **la potenziale diffusione di organismi resistenti** significa che **l'abuso di antibiotici può impattare negativamente sulla salute dei soggetti non direttamente esposti**



La resistenza agli antibatterici

La resistenza non è semplicemente una conseguenza dell'uso degli antimicrobici ma parte integrante delle difese dei batteri che indica

**l'abilità di sopravvivere
in un ambiente ostile**

I Microrganismi

in natura producono antibiotici



oLa penicillina è stata scoperta da **Alexander Fleming** nel **1928** quando lo sviluppo di una coltura di stafilococchi su di una capsula Petri fu inibito da una coltura contaminante di una muffa, il ***Penicillium notatum***.

oDurante la seconda guerra mondiale la forte richiesta di chemioterapici portò allo sviluppo di processi produttivi per la penicillina e segnò l'inizio **dell'era degli antibiotici** dando vita ad una vasta area della **microbiologia industriale**



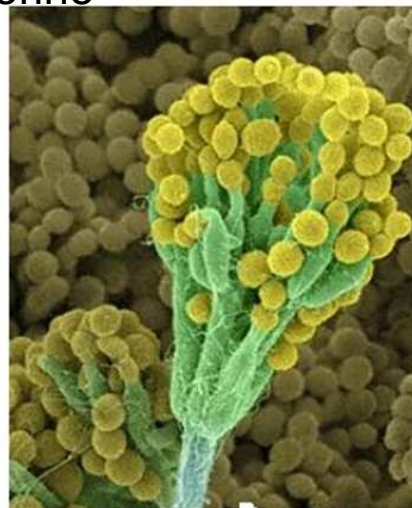
I Microrganismi **che producono antibiotici**

- Tutti vivono nel terreno
- Tutti sporulano o formano strutture di quiescenza
- Sono *resistenti all'antibiotico prodotto*
- **Perché producono antibiotici?**
 - **Vantaggio nutrizionale**
 - Segnale associato con la sporulazione e la quiescenza
 - **Possibilità di sopravvivere e riprodursi e passare la resistenza alla progenie o ad altri batteri non imparentati**

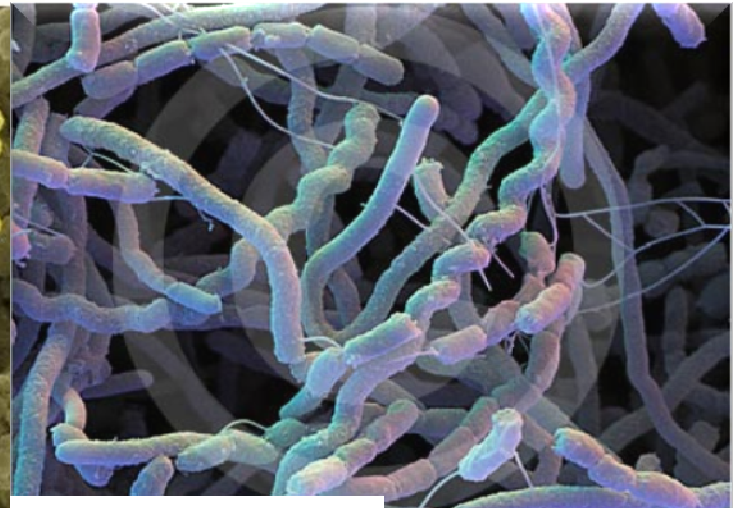
Microrganismi per produrre antibiotici

Quasi tutti gli antibiotici sono prodotti naturali o i loro derivati sintetici

- **Batteri non filamentosi (Bacillus)(12%)**
 - Polymixina, bacitracina
- **Batteri filamentosi (Streptomyces) (66%)**
 - Tetraciclina, Streptomicina, aureomicina, eritromicina, cloramfenicolo, rifamicine
- **Funghi (Penicillium, Saccharomyces, Cephalosporium) (22%)**
 - Penicillina, cefalosporine



Penicillium notatum



Streptomyces

Molecular Biology of Antibiotic Production in Bacillus
Crit Rev Technol Volume 10, 1990 - Issue 3
Isolation of soil Streptomyces as source antibiotics active against antibiotic resistant bacteria
EurAsian Journal of BioSciences
EurAsia J BioSci 2, 73-82 (2008)



Origini della resistenza agli antibiotici

- E' un passaggio naturale del processo evolutivo: **selezione naturale su predisposizione genetica**
- D'Costa e colleghi hanno isolato geni per la resistenza ai più comuni antibiotici «moderni» in sedimenti di permafrost **vecchi di 30.000 anni** nel sito di Lechuguilla Cave in New Mexico, in un'area rimasta isolata per più di 4 milioni di anni.

Antibiotic resistance is ancient [Nature](#). 2011 Aug
31;477(7365):457-61. doi: 10.1038/nature10388.

Resistenza **naturale** agli antibiotici

Table 1. Intrinsic resistance in Enterobacteriaceae. Enterobacteriaceae are also intrinsically resistant to benzylpenicillin, glycopeptides, fusidic acid, macrolides (with some exceptions¹), lincosamides, streptogramins, rifampicin, daptomycin and linezolid.

Rule no.	Organisms	Ampicillin	Amoxicillin-Clavulanic acid	Ampicillin-sulbactam	Ticarcillin	Cefazolin, Cefalotin Cefalexin, Cefadroxil	Cefoxitin ²	Cefuroxime	Tetracyclines	Tigecycline	Polymyxin B, Colistin	Nitrofurantoin
1.1	<i>Citrobacter koseri</i> , <i>Citrobacter amalonaticus</i> ³	R			R							
1.2	<i>Citrobacter freundii</i> ⁴	R	R	R		R	R					
1.3	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	R	R	R		R	R					
1.4	<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R	R		R	R					
1.5	<i>Escherichia hermannii</i>	R			R							
1.6	<i>Hafnia alvei</i>	R	R	R		R	R					
1.7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R			R							
1.8	<i>Klebsiella oxytoca</i>	R			R							
1.9	<i>Morganella morganii</i>	R	R	R		R			R		R	R
1.10	<i>Proteus mirabilis</i>								R	R	R	R
1.11	<i>Proteus penneri</i>	R				R		R	R	R	R	R
1.12	<i>Proteus vulgaris</i>	R				R		R	R	R	R	R
1.13	<i>Providencia rettgeri</i>	R	R	R		R		R	R	R	R	R
1.14	<i>Providencia stuartii</i>	R	R	R		R		R	R	R	R	R
1.15	<i>Raoultella</i> spp.	R			R							
1.16	<i>Serratia marcescens</i>	R	R	R		R	R	R	R ⁵		R	R
1.17	<i>Yersinia enterocolitica</i>	R	R	R	R	R	R					
1.18	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>										R	

R = resistant

¹ Azithromycin is effective *in vivo* for the treatment of typhoid fever and erythromycin may be used to treat travellers' diarrhoea.

Specie batteriche
costituzionalmente
resistenti verso un
determinato
antibiotico



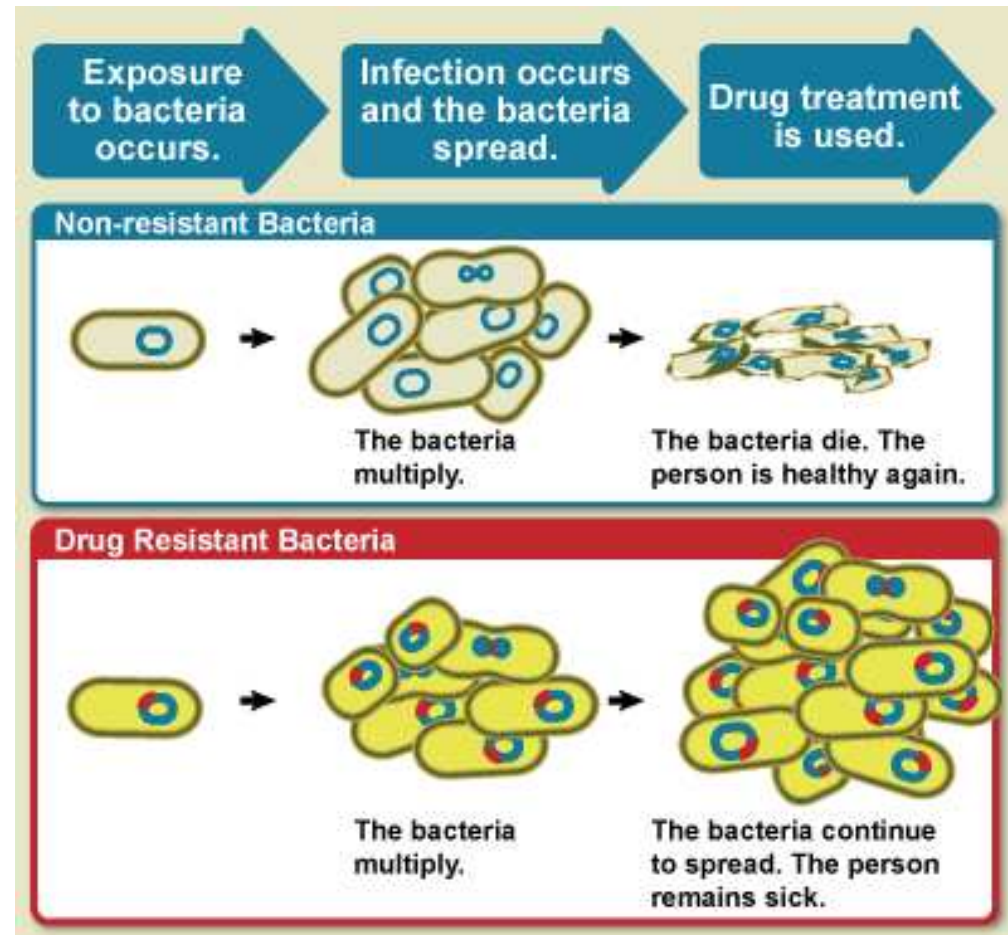
**Microorganismi che
acquisiscono la
resistenza verso uno
o più antibiotici**



Resistenza acquisita

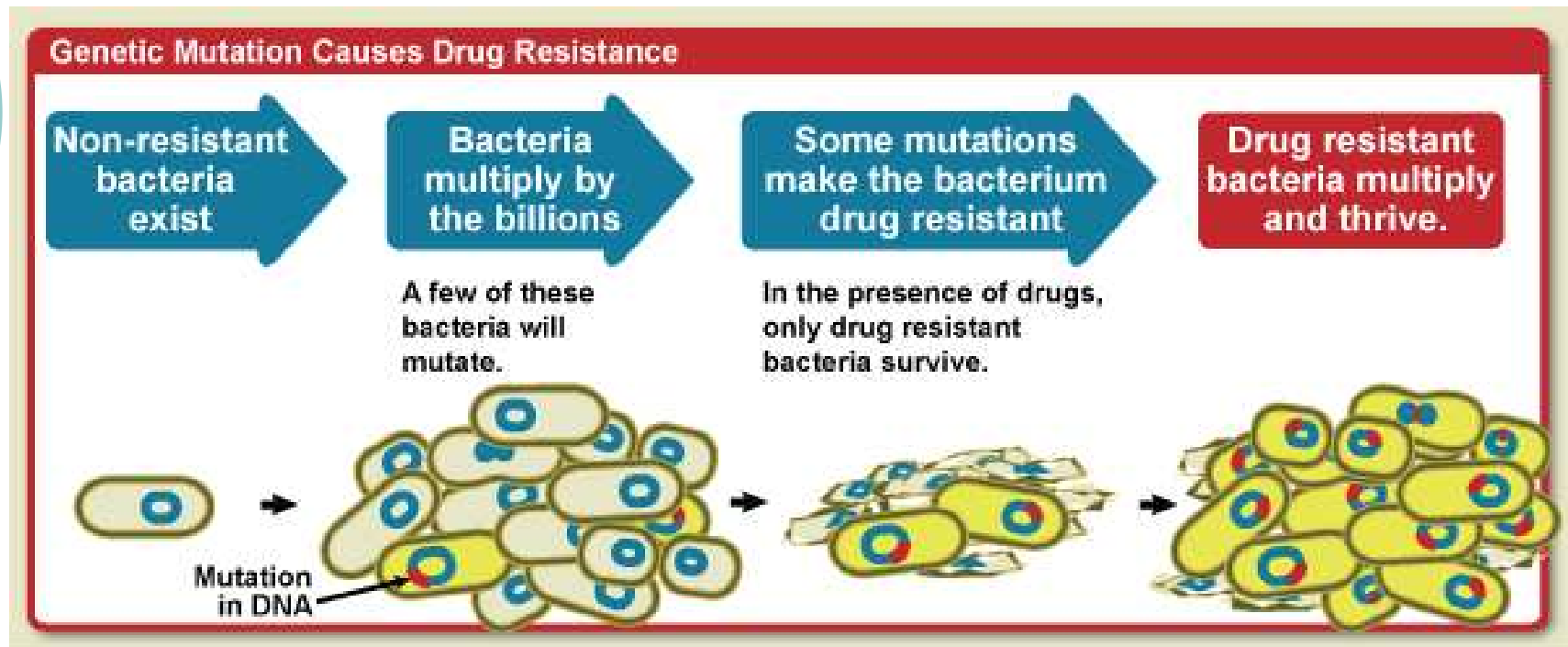
○ Pressione Selettiva

- **In presenza di un antibiotico**, i batteri sensibili muoiono, solo chi possiede un gene di resistenza sopravvive.
- **Chi sopravvive si riproduce** e la sua progenie rapidamente può diventare dominante su tutta la popolazione batterica



Resistenza acquisita: Mutazione

cambiamento nel DNA che comporta modifica o sostituzione del target



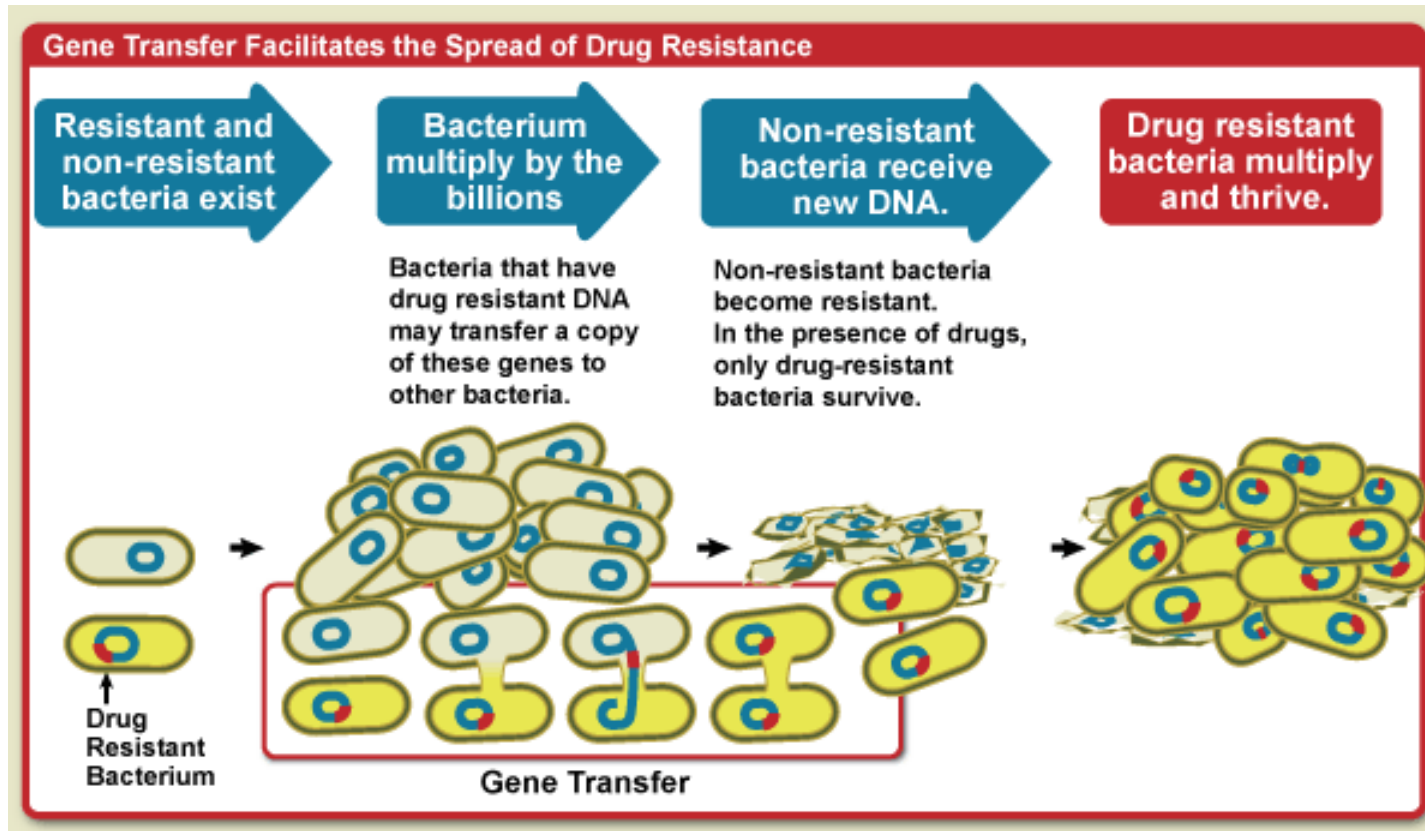
I batteri si moltiplicano in modo esponenziale (miliardi).

Alcuni di questi **mutano spontaneamente**. Qualche mutazione conferisce al batterio resistenza all'antibiotico. In presenza di antibiotico, solo il batterio resistente sopravvive. I batteri resistenti si moltiplicano e prosperano.

Resistenza acquisita: Trasferimento di Geni

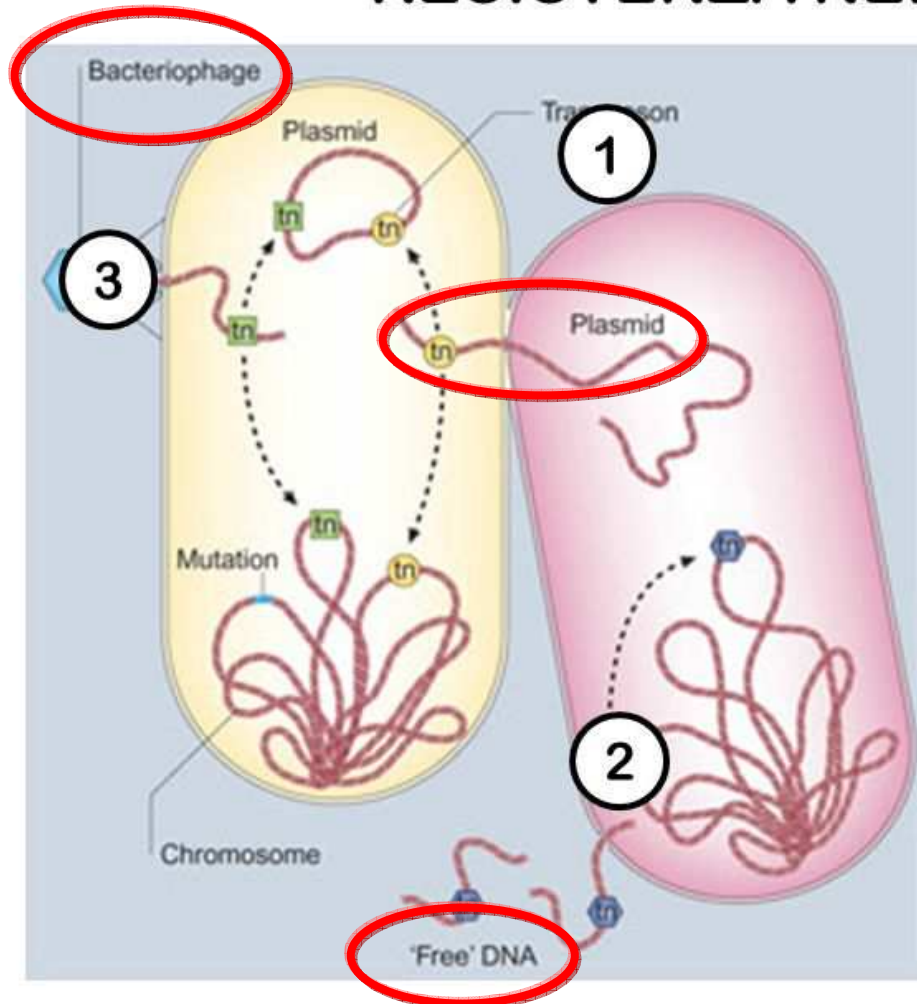
attraverso coniugazione, trasformazione molecole di DNA provenienti da

o cellule lisate vengono acquisite dai batteri direttamente dall'ambiente extracellulare **transduzione** per mezzo di virus



I batteri che possiedono geni di resistenza sul DNA possono **trasferire una copia di questi geni ad altri batteri**. I batteri non resistenti che ricevono il nuovo DNA diventano resistenti all'antibiotico. In presenza di antibiotico, solo il batterio resistente sopravvive. I batteri resistenti si moltiplicano e prosperano.

MECCANISMI DI TRASMISSIONE DELLA RESISTENZA NEI BATTERI

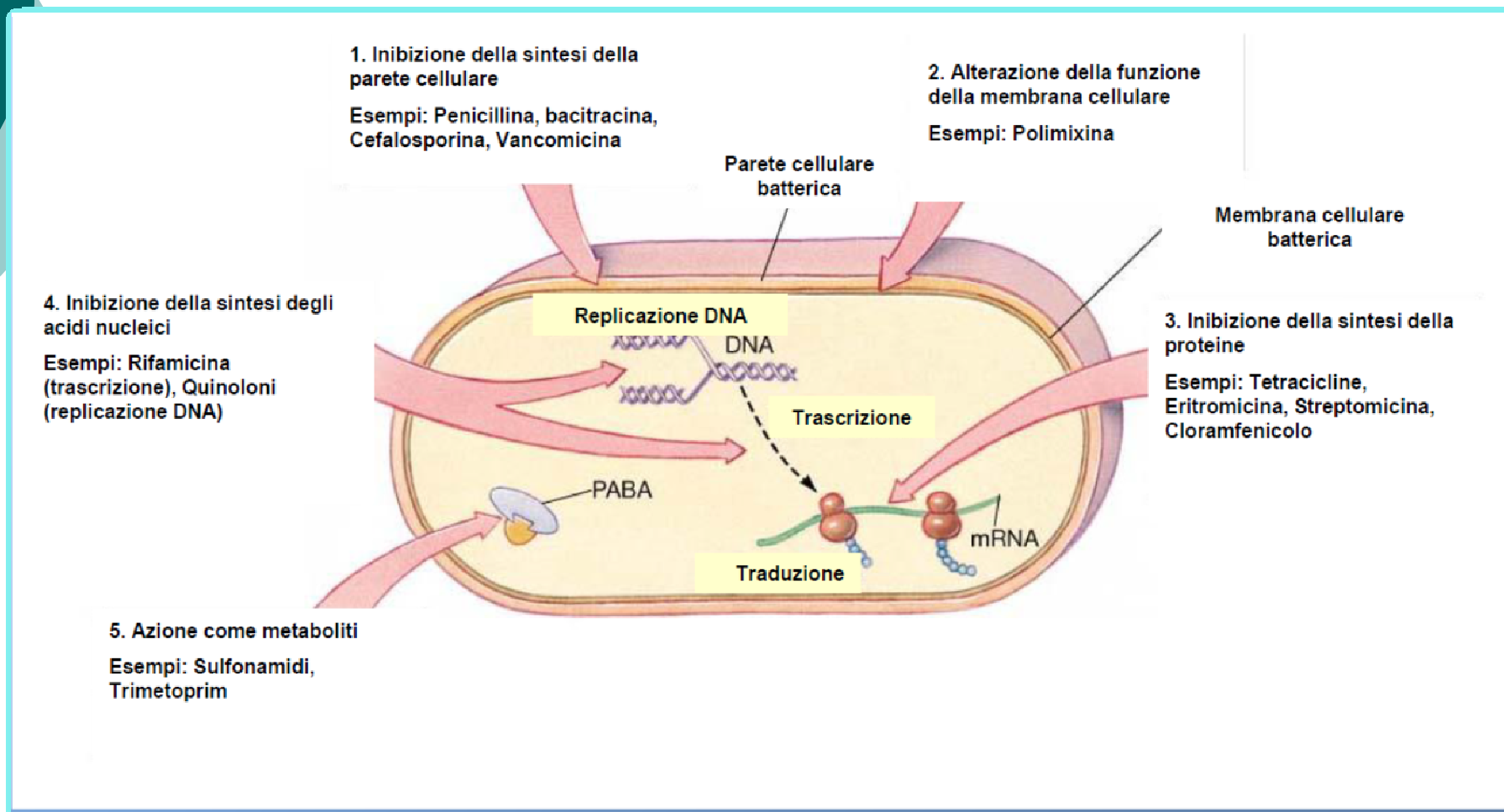


1 CONIUGAZIONE

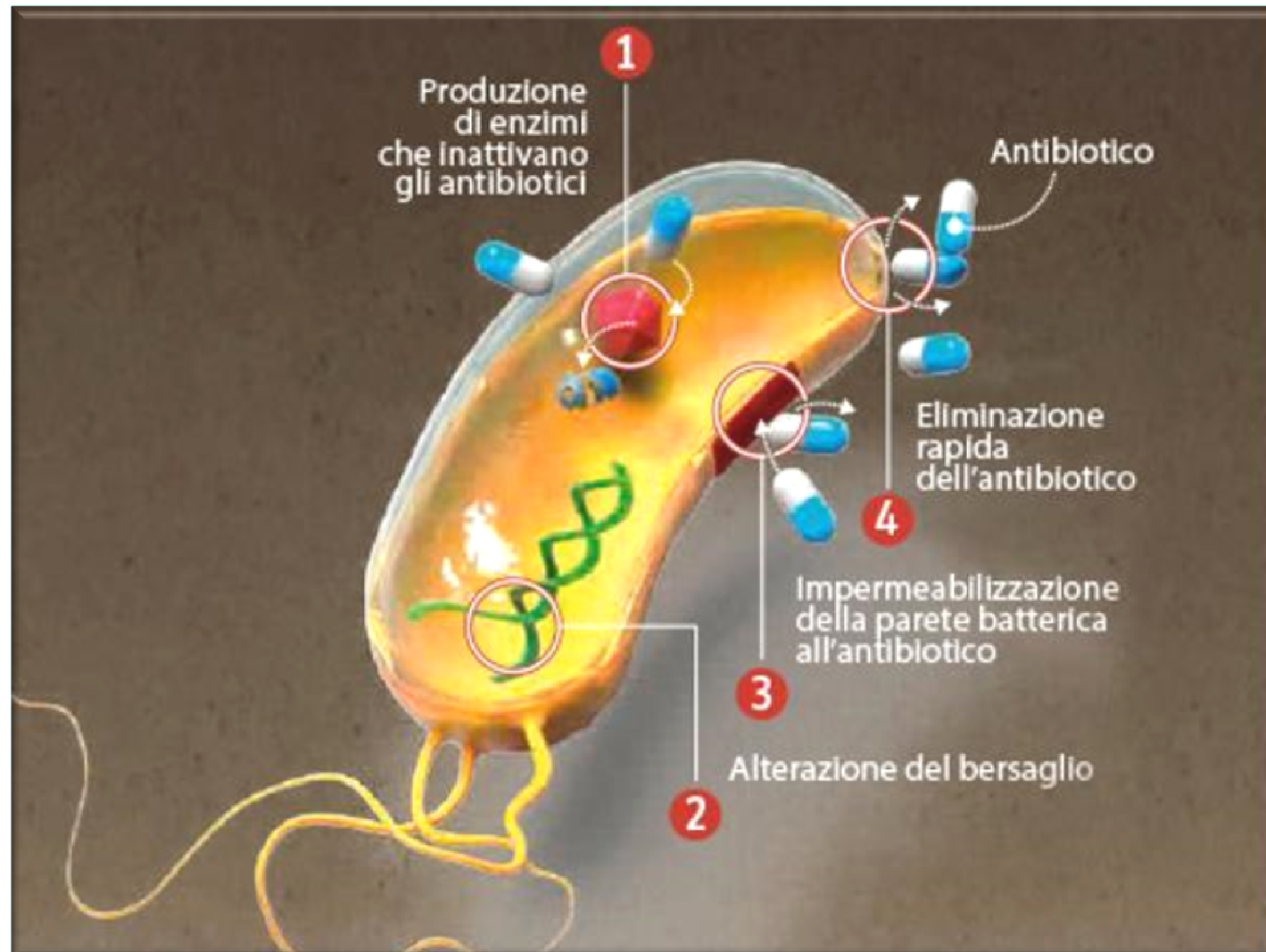
2 TRASFORMAZIONE

3 TRASDUZIONE

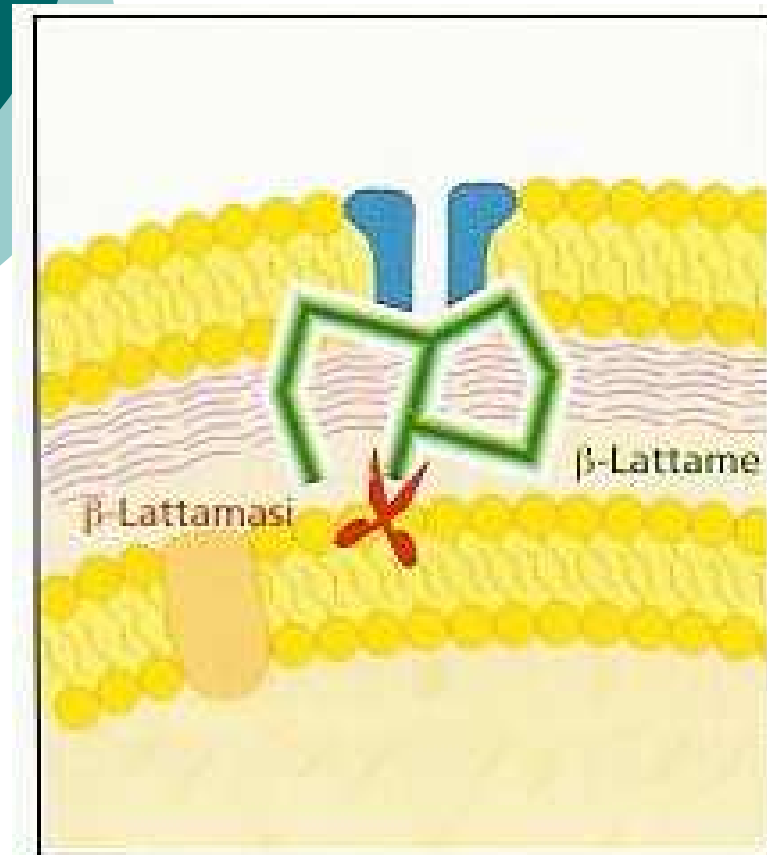
Bersagli degli antibiotici



Meccanismi biochimici di resistenza agli antibiotici



Meccanismo biochimico della resistenza produzione di enzimi

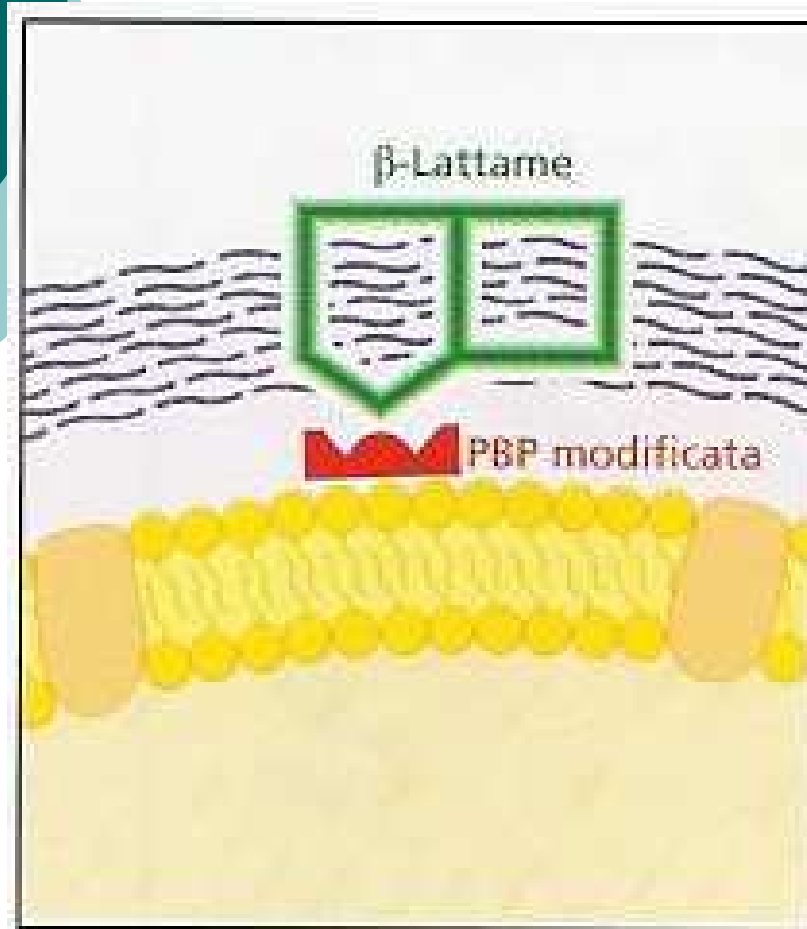


- una produzione batterica di enzimi che inattiva l'antibiotico

Esempio:

Penicillinasi degli Stafilococchi, β -lattamasi a spettro esteso (ESBL) degli Enterobatteri

Meccanismo biochimico della resistenza alterazione del bersaglio



- **una modifica del target dell'antibiotico**

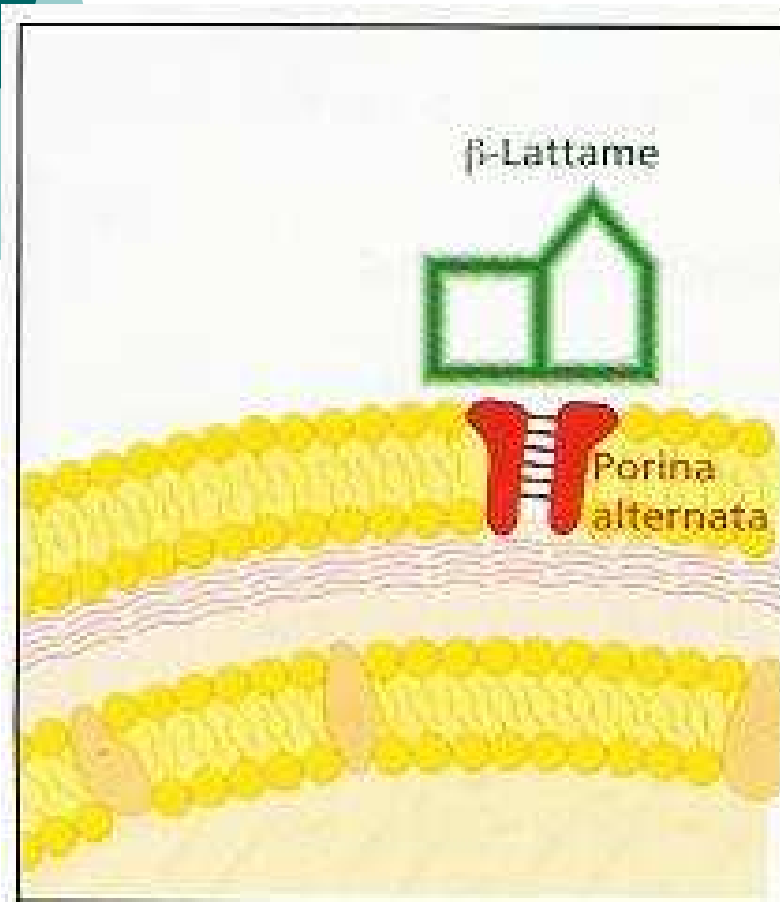
Esempio:

Modifica delle Proteine di legame alla Penicillina (PBP) degli:

- Stafilococchi resistenti all'oxacillina (detti stafilococchi "MRSA").
- Pneumococchi resistenti alla penicillina

* *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina

Meccanismo biochimico della resistenza impermeabilità di membrana

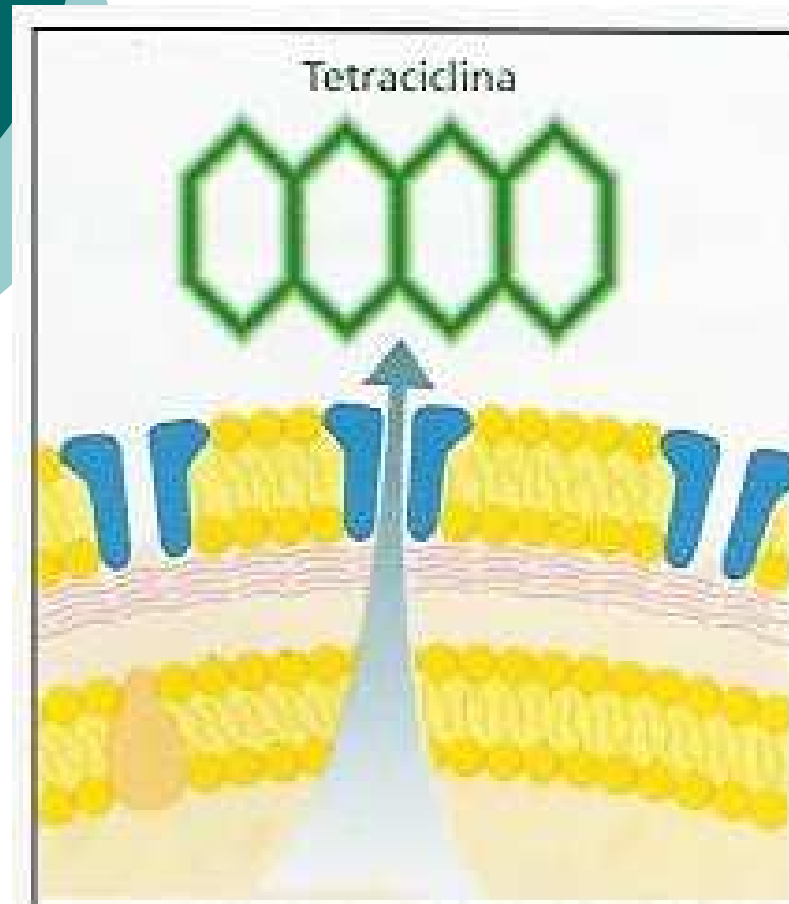


- una impermeabilità della membrana batterica per alterazione o diminuzione quantitativa delle porine.

Esempio:

Pseudomonas aeruginosa resistente all'imipenem

Meccanismo biochimico della resistenza efflusso



- **un meccanismo di efflusso:**
espulsione della molecola per
trasporto attivo.

Esempio:

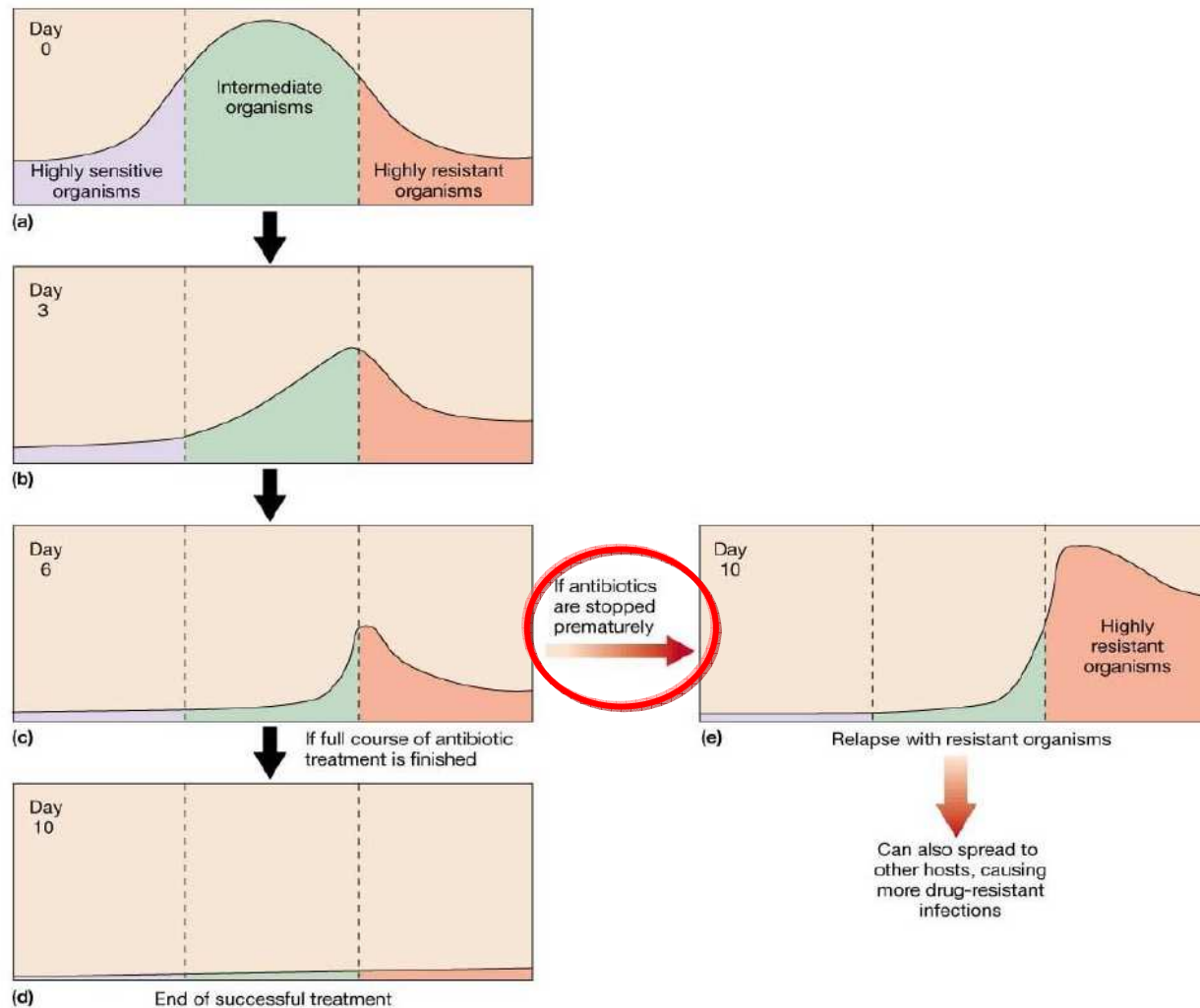
Stafilococchi resistenti alle tetracicline

E' possibile il recupero della sensibilità?



- **Lo sviluppo di resistenza costa al batterio in termini di benessere «fitness cost»**
 - I batteri resistenti crescono più lentamente
 - La replicazione di ulteriori plasmidi di DNA costa
 - Le mutazioni ribosomiali che conferiscono resistenza, riducono la sintesi di proteine
- **L'entità del fitness cost** è il principale parametro biologico che influenza la quota di sviluppo, la stabilizzazione e la **possibile reversione della resistenza nel tempo**
- Il **fitness cost** della resistenza permetterà a **batteri suscettibili di competere con i batteri resistenti** se la pressione selettiva dovuta agli antibiotici si riduce
- Esperimenti dimostrano che i batteri sviluppano rapidamente **mutazioni compensatorie** che riducono il **fitness cost** della resistenza **piuttosto che perdere la resistenza**
- Risultati sconcertanti suggeriscono che una volta selezionato , un ceppo resistente **esisterà per sempre**

Dinamica della resistenza

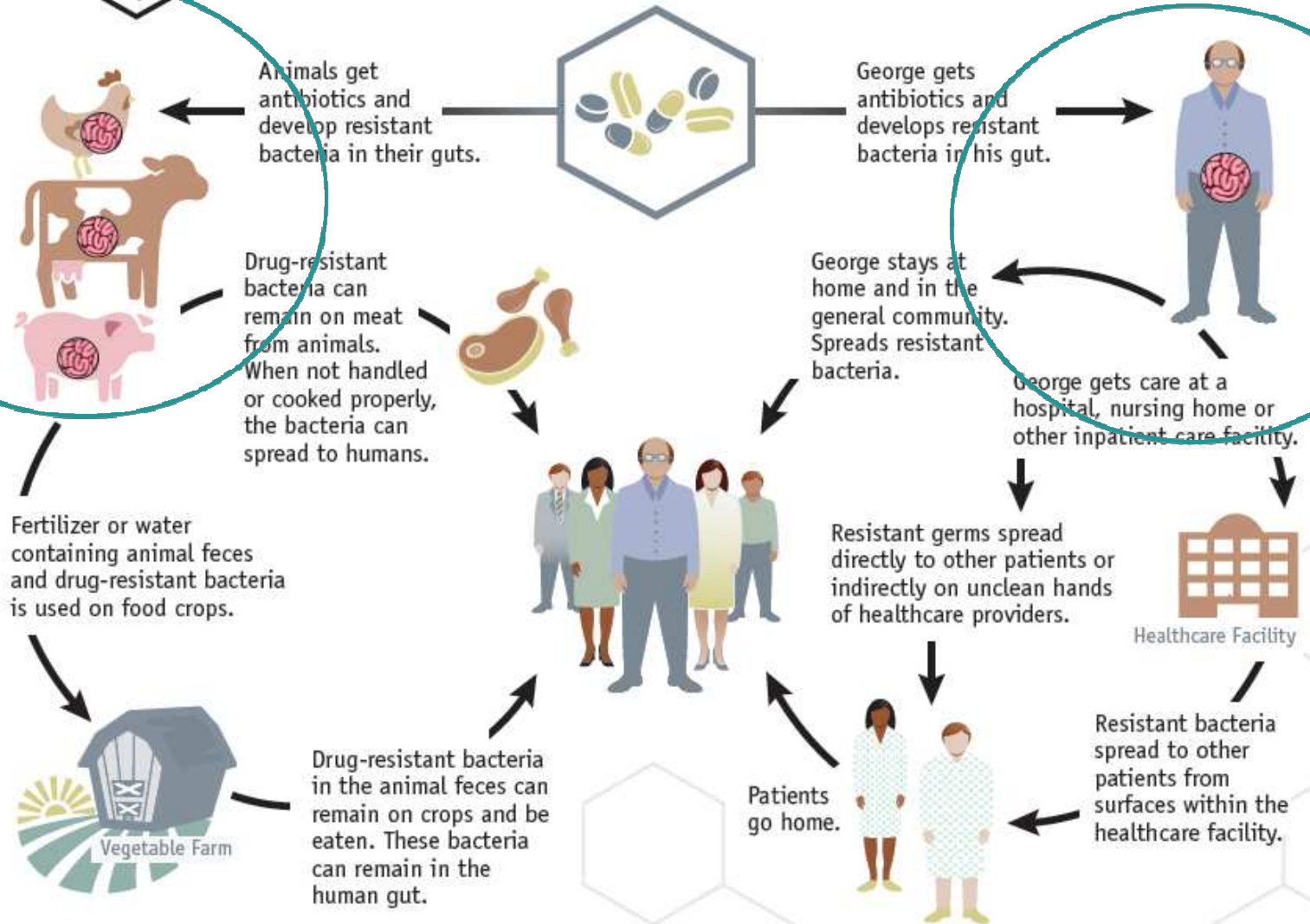


L'utilizzo massivo o incongruo degli antibiotici nell'uomo, negli animali e in agricoltura



determina una **forte pressione selettiva** e fa emergere microrganismi farmaco-resistenti

Examples of How Antibiotic Resistance Spreads



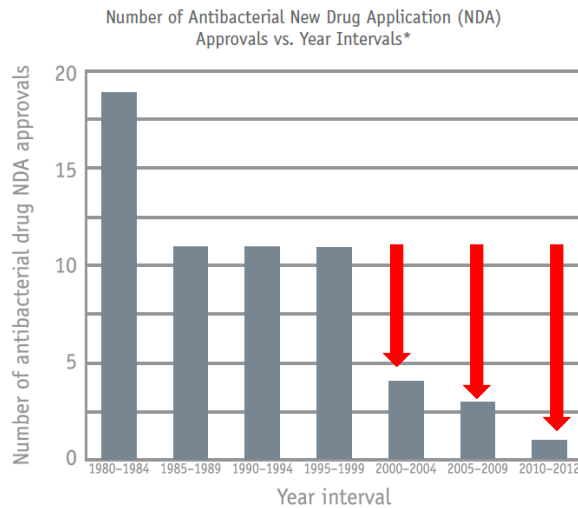
Simply using antibiotics creates resistance. These drugs should only be used to treat infections.



Antibiotici, una risorsa limitata

Tomorrow's Antibiotics: The Drug Pipeline

The number of new antibiotics developed and approved has steadily decreased in the past three decades, leaving fewer options to treat resistant bacteria.



*Intervals from 1980-2009 are 5-year intervals; 2010-2012 is a 3-year interval. Drugs are limited to systemic agents. Data courtesy of FDA's Center for Drug Evaluation and Research (CDER).

Developing Resistance

Timeline of Key Antibiotic Resistance Events

Dates are based upon early reports of resistance in the literature. In the case of pan drug-resistant (PDR)-*Acinetobacter* and *Pseudomonas*, the date is based upon reports of healthcare transmission or outbreaks. Note: penicillin was in limited use prior to widespread population usage in 1943.





Strategie chiave necessarie per affrontare il problema della resistenza agli antibiotici

- 1.** Prevenire le infezioni e prevenire la diffusione della resistenza
- 2.** Monitorare i germi resistenti
- 3.** Migliorare l'uso degli antibiotici disponibili
- 4.** Promuovere lo sviluppo di nuovi antibiotici e lo sviluppo di nuovi test diagnostici per batteri resistenti





ANTIBIOTIC STEWARDSHIP

IN YOUR FACILITY WILL



DECREASE

- ANTIBIOTIC RESISTANCE
- C. DIFFICILE INFECTIONS
- COSTS

INCREASE

- GOOD PATIENT OUTCOMES



*Grazie a tutti per
l'attenzione!*



Breakpoint: *MicS* indica il “Limite di sensibilità” e *MicR* indica il “Limite di resistenza”.

Come interpretare l'antibiogramma:

se nel referto sono presenti più antibiotici con **valori di MIC preceduti dal segno <=** significa che la crescita del microorganismo è stata inibita dalla più bassa concentrazione dell'antibiotico testata, pertanto sono da considerare parimenti sensibili indipendentemente dal valore numerico.

un valore di MIC **non** preceduto da un segno deve essere considerato in relazione alla sua **distanza dal “Limite di sensibilità”**

Esempio

la MIC dell'antibiotico X è 16

e il limite di sensibilità è 128

la MIC dell'antibiotico Y è 1

e il limite di sensibilità è 2

il microorganismo deve essere considerato più sensibile a X che a Y (perchè X è più distante dal breakpoint)

Staphylococcus aureus			MIC	MicS	MicR
Antibiotici					
Penicillina G	R	>=0,5	<= 0.125	> 0.125	
cefoxitin screen	-	Neg			
Clindamicina	S	0,25	<= 0.25	> 0.5	
Eritromicina	S	0,5	<= 1	> 2	
Acido Fusidico	S	<=0,5	<= 1	> 1	
Gentamicina	S	<=0,5	<= 1	> 1	
Levofloxacin	S	0,25	<= 1	> 2	
Linezolid	S	2	<= 4	> 4	
Oxacillina MIC	S	<=0,25	<= 2	> 2	
Rifampicina	S	<=0,03	<= 0.06	> 0.5	
Teicoplanina	S	<=0,5	<= 2	> 2	
Tigecyclina	S	<=0,12	<= 0.5	> 0.5	
Daptomicina	S	0,25	<= 1	> 1	
Trimetoprim/Sulfam.	S	<=10	<= 40	> 80	
Vancomicina	S	<=0,5	<= 2	> 2	
Tetraciclina	S	<=1	<= 1	> 2	



Interpretazione della MIC

- Valori preceduti dal segno \leq indicano che la crescita è stata inibita dalla più bassa concentrazione dell'antibiotico utilizzata per il test in vitro
- Se nel referto sono presenti più antibiotici con valori di MIC preceduti dal segno \leq **sono da considerare parimenti sensibili indipendentemente dal valore numerico.**
- Esempio
 - La MIC dell'antibiotico X è ≤ 8
 - La MIC dell'antibiotico Y è ≤ 0.5

il microrganismo si è dimostrato tanto sensibile a X quanto ad Y



Interpretazione della MIC

- Un valore **non** preceduto da un segno deve essere considerato in relazione alla sua **distanza dal valore di breakpoint** tra le categorie S e quelle I o R (Limite di sensibilità) tenendo presente che vengono testate concentrazioni al raddoppio.
- Esempio
 - La MIC dell'antibiotico X è 16 e il breakpoint 128
 - e la Mic dell'antibiotico Y è 1 e il breakpoint 2

il microrganismo deve essere considerato più sensibile a X che a Y (x' è più distante dal breakpoint)