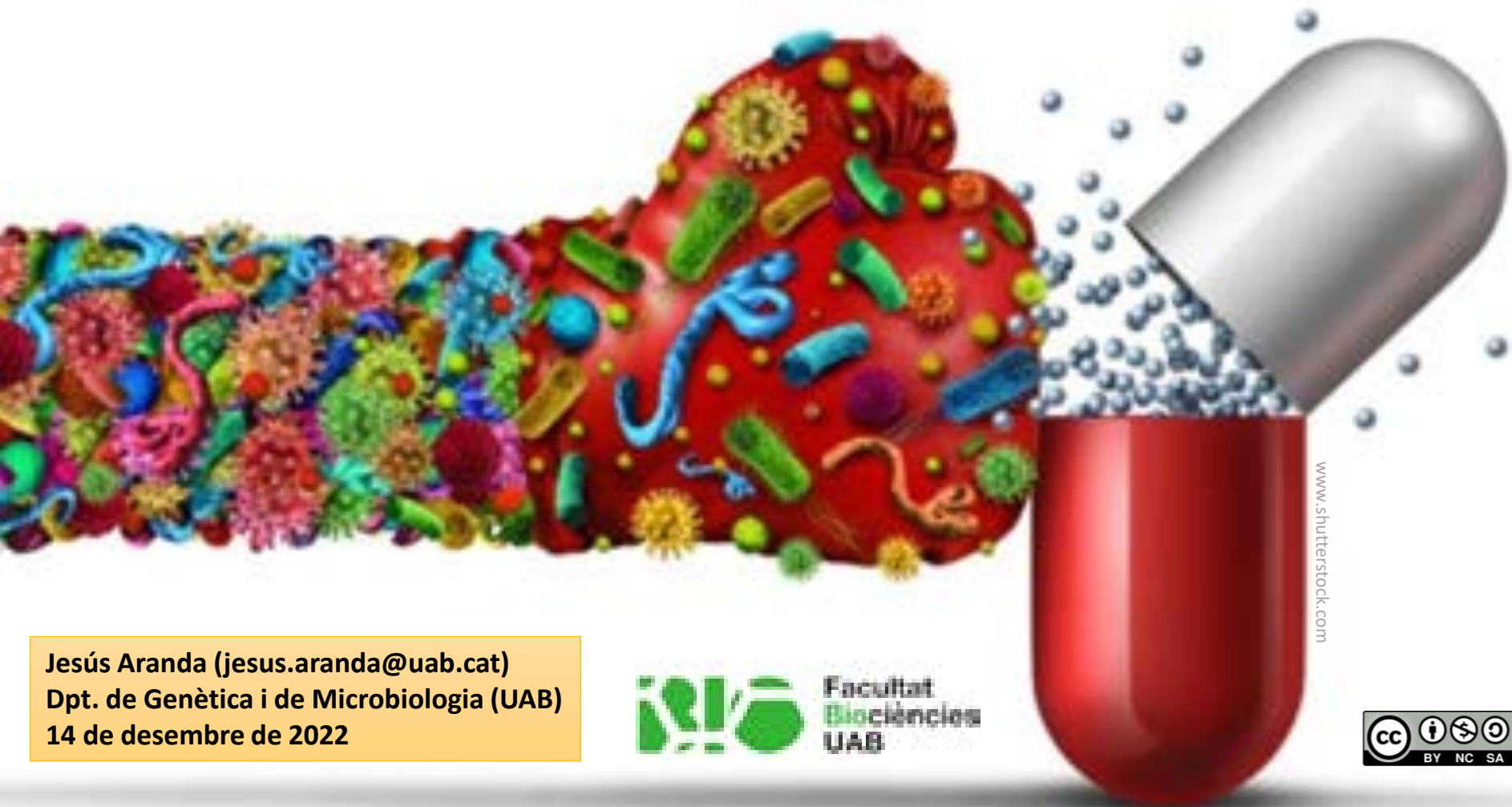


## Bloc 5. Mecanismes de resistència als antibacterians



Jesús Aranda (jesus.aranda@uab.cat)  
Dpt. de Genètica i de Microbiologia (UAB)  
14 de desembre de 2022



**Aquesta presentació no pretén ser una classe de Batxillerat, sinó una revisió i actualització.**



**Es tractarà “el problema de la resistència als antibiòtics” que forma part del bloc: “Els microorganismes i les formes acel·lulars”.**

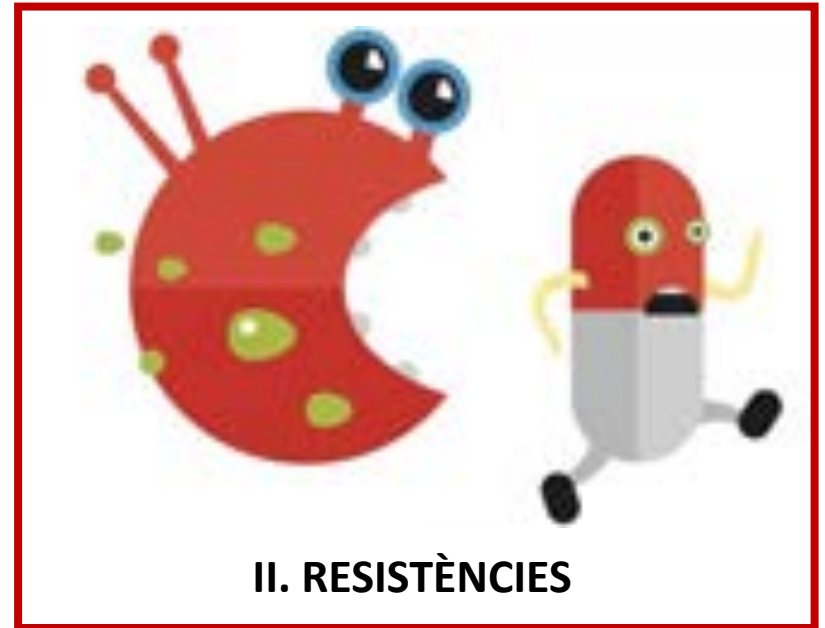
**DOGC**

**Diari Oficial  
de la Generalitat de Catalunya**

**Aquesta temàtica es troba inclosa al currículum de la matèria de Biologia del 2<sup>on</sup> curs de Batxillerat (DOGC 2022).**



**I. ANTIBACTERIANS**



**II. RESISTÈNCIES**



**III. SUPERBACTERIS**



**IV. ALTERNATIVES**



<https://fedaes.org>

# I. ANTIBACTERIANS

# TIPUS D'ANTIMICROBIANS

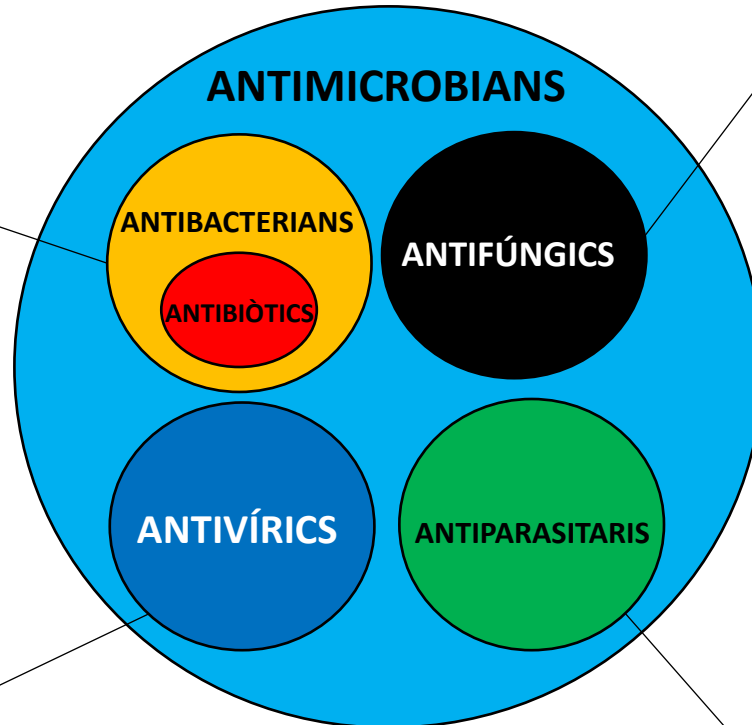
Els antimicrobians eliminen o impedeixen la proliferació de microorganismes



L'**amoxicil·lina** és un beta-lactàmic que inhibeix la síntesi de paret bacteriana i l'**àcid clavulànic** és un inhibidor de beta-lactamases.



L'**aciclovir** inhibeix la DNA polimerasa vírica.



El **clotrimazol** inhibeix la síntesi d'ergosterol, un component que forma part de la membrana cel·lular dels fongs.



La **cloroquina** impedeix l'assimilació d'hemoglobina per part del protozou que causa el paludisme.

"Solo la mitad de los encuestados saben que los antibióticos no son eficaces contra los virus" (Eurobarómetro 17.11.22) <https://ec.europa.eu/>



# ANTIBACTERIANS SEGONS ORIGEN

## NATURALS (ANTIBIÒTICS)

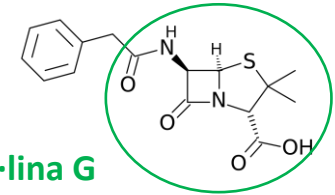
- Produïts per microorganismes:  
(principalment *Actinobacteria*, altres bacteris i fongs)
- Exs.: Penicil·lina G, cefalosporina C, estreptomycin...

## SEMISINTÈTICS

- Modificacions químiques dels antibiòtics
- Més eficients
- Menys tòxics per humans i per altres animals
- Són els més abundants i els més utilitzats en clínica
- Exs.: Amoxicil·lina, 5 generacions de cefalosporines...

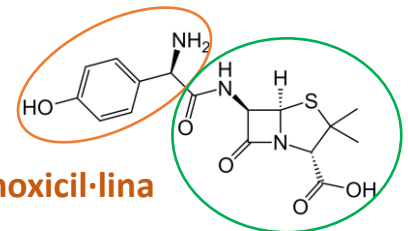
## SINTÈTICS

- Completament artificials
- Exs.: Sulfonamides, trimetoprim, quinolones...



Penicil·lina G

- Natural (*Penicillium*)
- Espectre reduït
- Poc estable

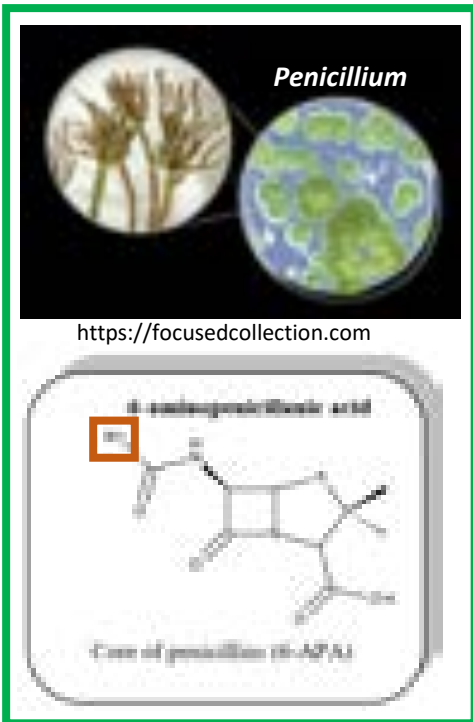


Amoxicil·lina

- Semisintètic
- Ampli espectre
- Major estabilitat

Tot i que el terme “**antibiòtic**”, estrictament parlant, fa referència només als antibacterians naturals, actualment és comú utilitzar-lo també per referir-se als antibacterians semisintètics i sintètics.

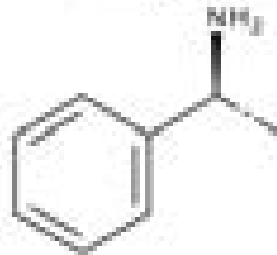
# EXEMPLES DE PENICIL·LINES SEMISINTÈTIQUES



Modificat de Rodrigo Velasco Bucheli (2016)

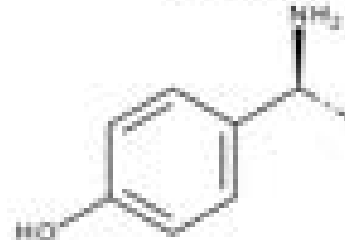
## R1 DE LES PENICIL·LINES SEMISINTÈTIQUES

**Ampicillin**



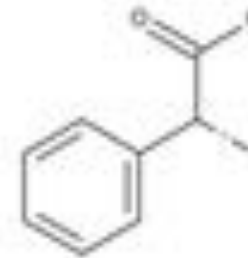
Resistent als àcids (oral)  
Sensible a beta-lactamases

**Amoxicillin**



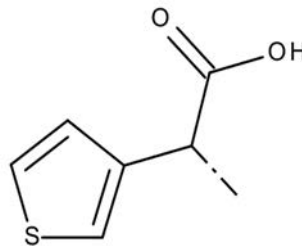
Resistent als àcids (oral)  
Sensible a beta-lactamases

**Carbenicillin**



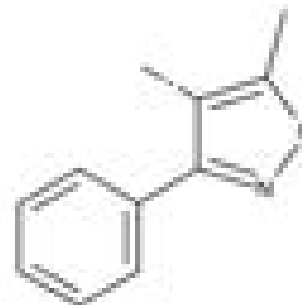
Sensible als àcids (IV)  
Resistència a beta-lactamases ~

**Ticarcillin**



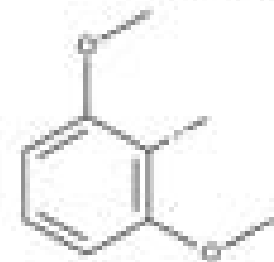
Sensible als àcids (IV)  
Resistència a beta-lactamases ~

**Oxacillin**



Resistent als àcids (oral/IV)  
Resistència a beta-lactamases ↑

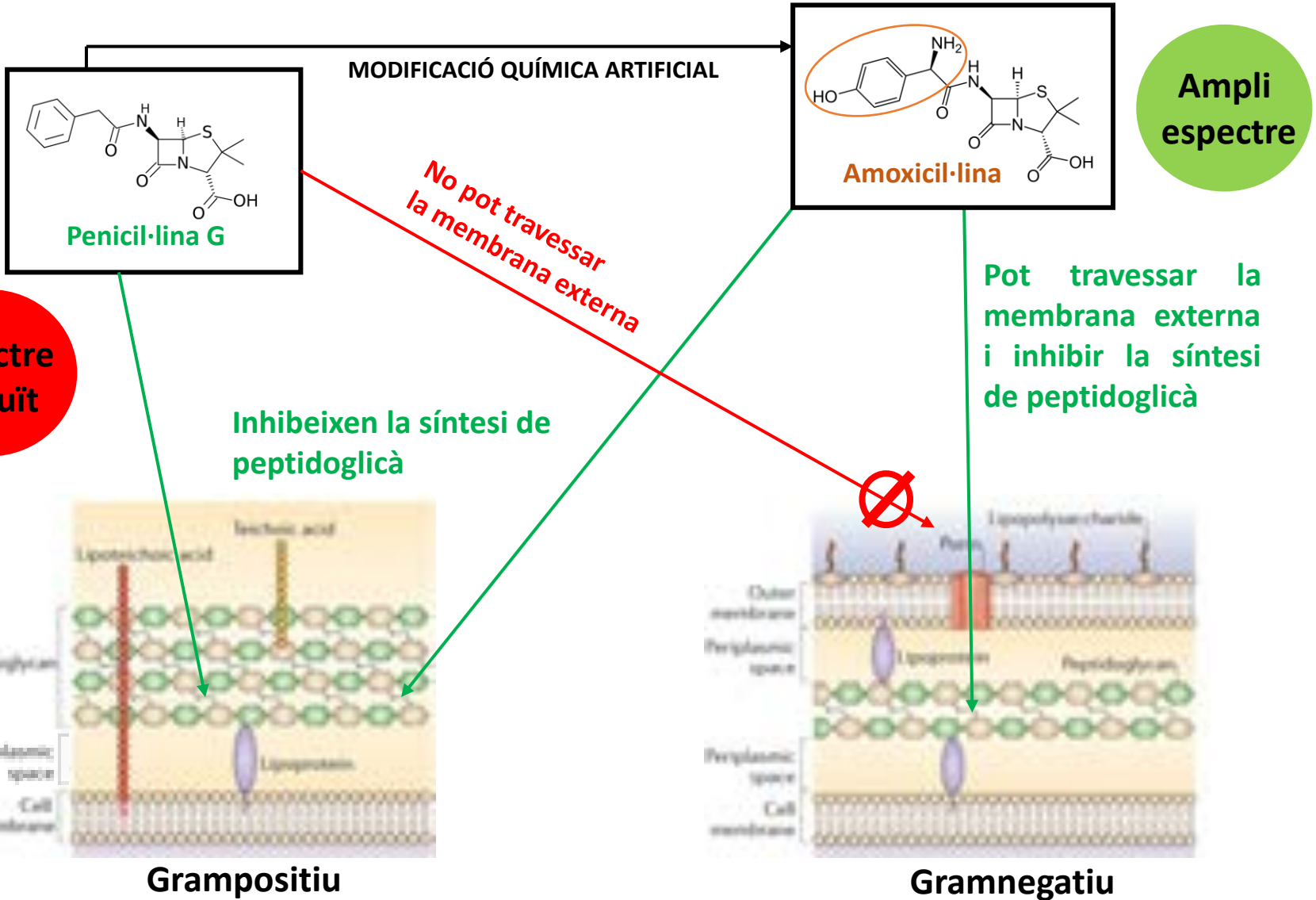
**Methicillin**



Sensible als àcids (en desús: MRSA!)  
Resistència a beta-lactamases ↑  
MRSA, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*

**Modificant el grup R1 del nucli de la penicil·lina natural s'aconsegueixen noves propietats: increment de la resistència als àcids i/o a les beta-lactamases i fins i tot es pot augmentar l'espectre d'acció.**

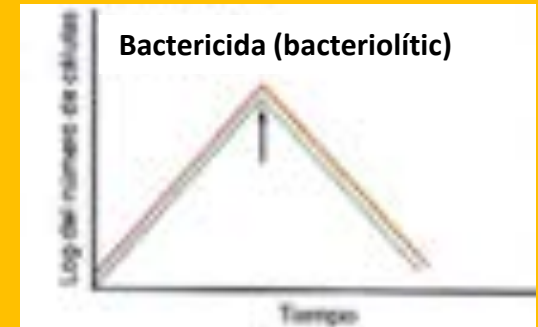
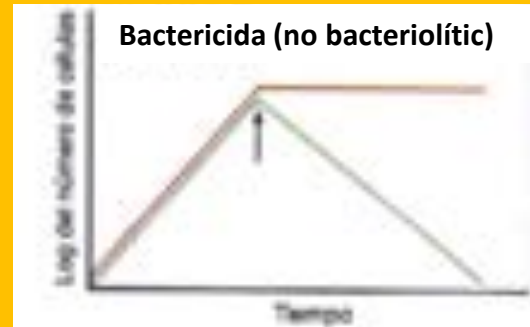
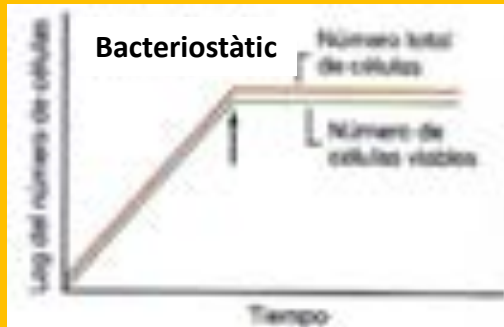
# ANTIBIÒTICS SEMISINTÈTICS: AMPLIANT L'ESPECTRE D'ACCIÓ





# ANTIBACTERIANS SEGONS ACTIVITAT

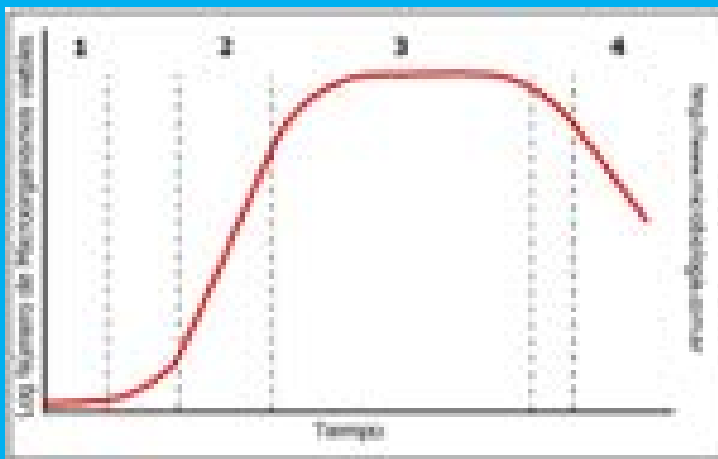
## EFFECTE DE L'ADDICIÓ DE DIFERENTS TIPUS D'ANTIBACTERIANS EN CULTIUS EN FASE EXPONENCIAL



Brock Biología de los Microorganismos

Les fletxes indiquen el moment en el que s'afegeix l'antibiòtic.

## FASES D'UNA CORVA DE CREIXEMENT TÍPICA D'UNA POBLACIÓ BACTERIANA



1. Latència: Adaptació al medi, augment de la massa cel·lular però no del n<sup>o</sup> de cèl·lules.
2. Exponencial: Increment exponencial del n<sup>o</sup> de cèl·lules.
3. Estacionària: Es la fase a la que **s'arriba** quan **s'ha** esgotat la font **d'energia**.
4. Mort: Es caracteritza per una disminució del n<sup>o</sup> de cèl·lules viables.

# REPRESENTACIÓ DEL CREIXEMENT D'UNA POBLACIÓ BACTERIANA

Representa en escala semilogarítmica i en escala aritmètica el nombre de cèl·lules bacterianes obtingudes a partir d'una cèl·lula bacteriana en les generacions 0, 5, 10, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30. Compara i interpreta els dos gràfics.

Creixement exponencial

$$1 \rightarrow 2 \rightarrow 4 \rightarrow 8 \rightarrow 16 \rightarrow 2^n$$

Generació (n)      Nº de cèl·lules

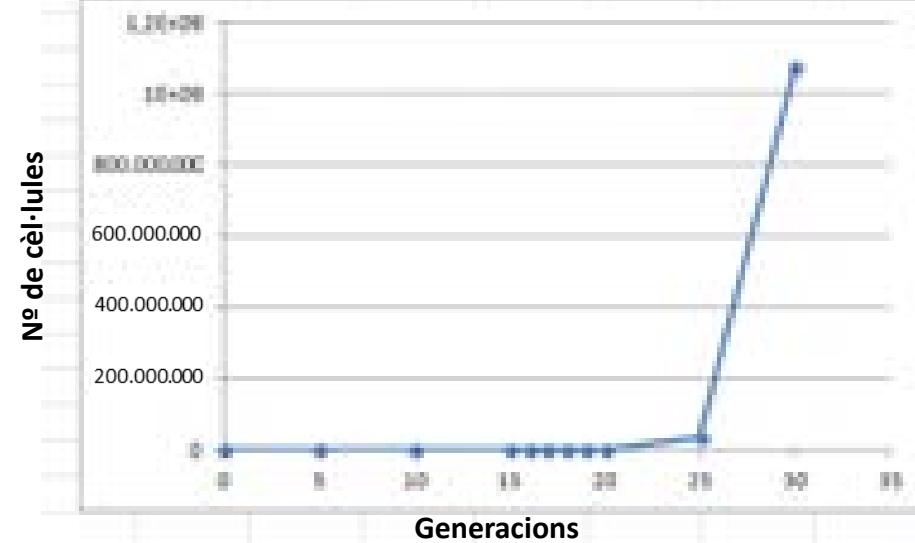
0	1
5	32
10	1.024
15	32.768
16	65.536
17	131.072
18	262.144
19	524.288
20	1.048.576
25	33.554.432
30	1.073.741.824

Temps de generació:

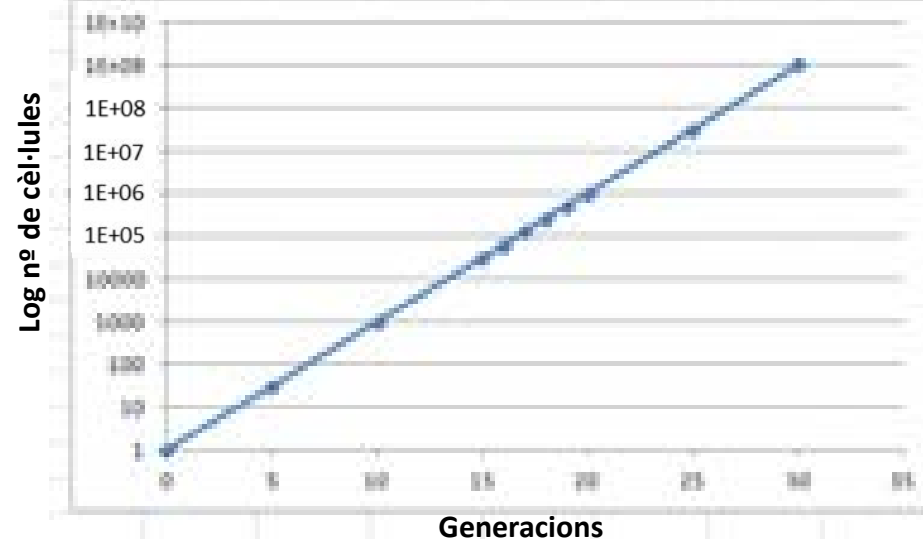
*Escherichia coli* (37°C) ~ 20 min

*Mycobacterium tuberculosis* (37°C) ~ 12h

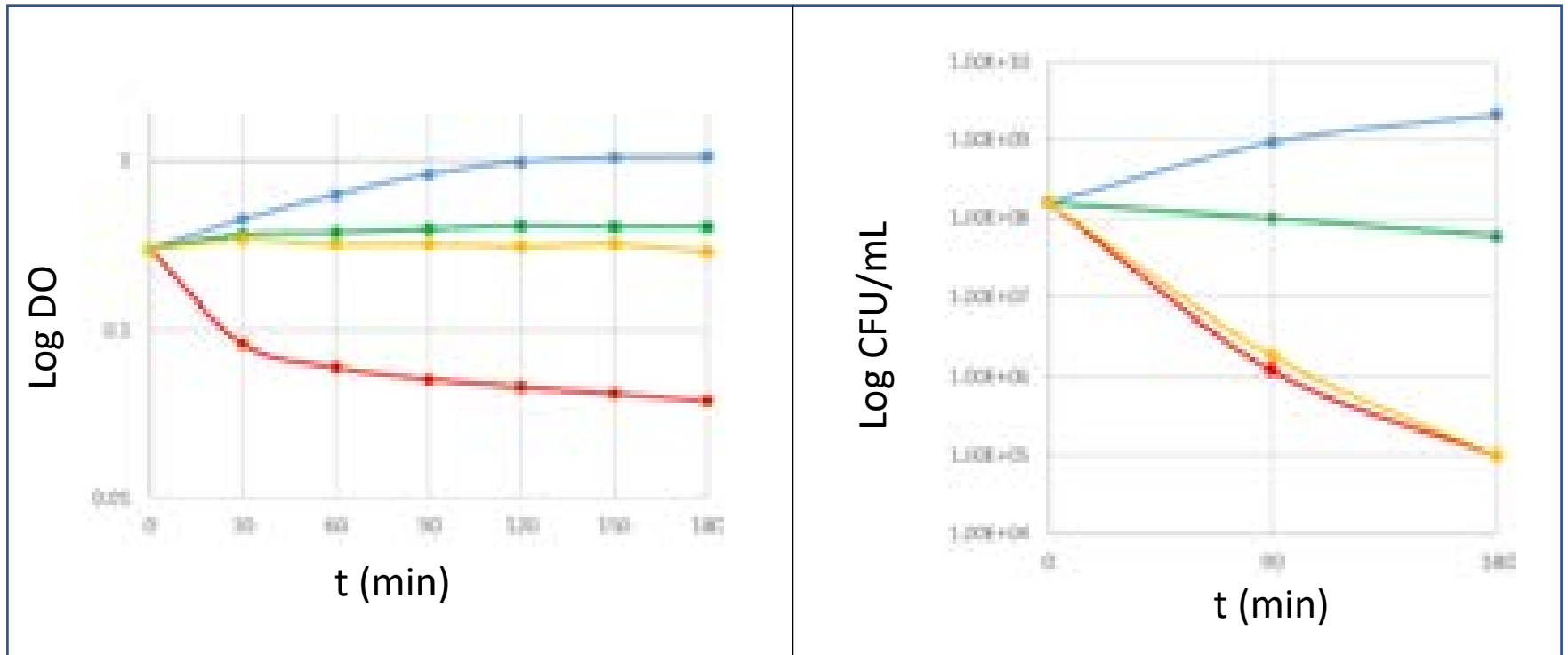
## ESCALA ARITMÈTICA



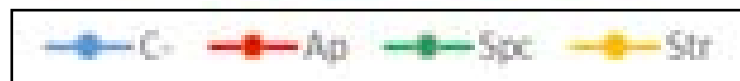
## ESCALA SEMILOGARÍTMICA



# BACTERIOSTÀTIC, BACTERICIDA O BACTERIOLÍTIC?

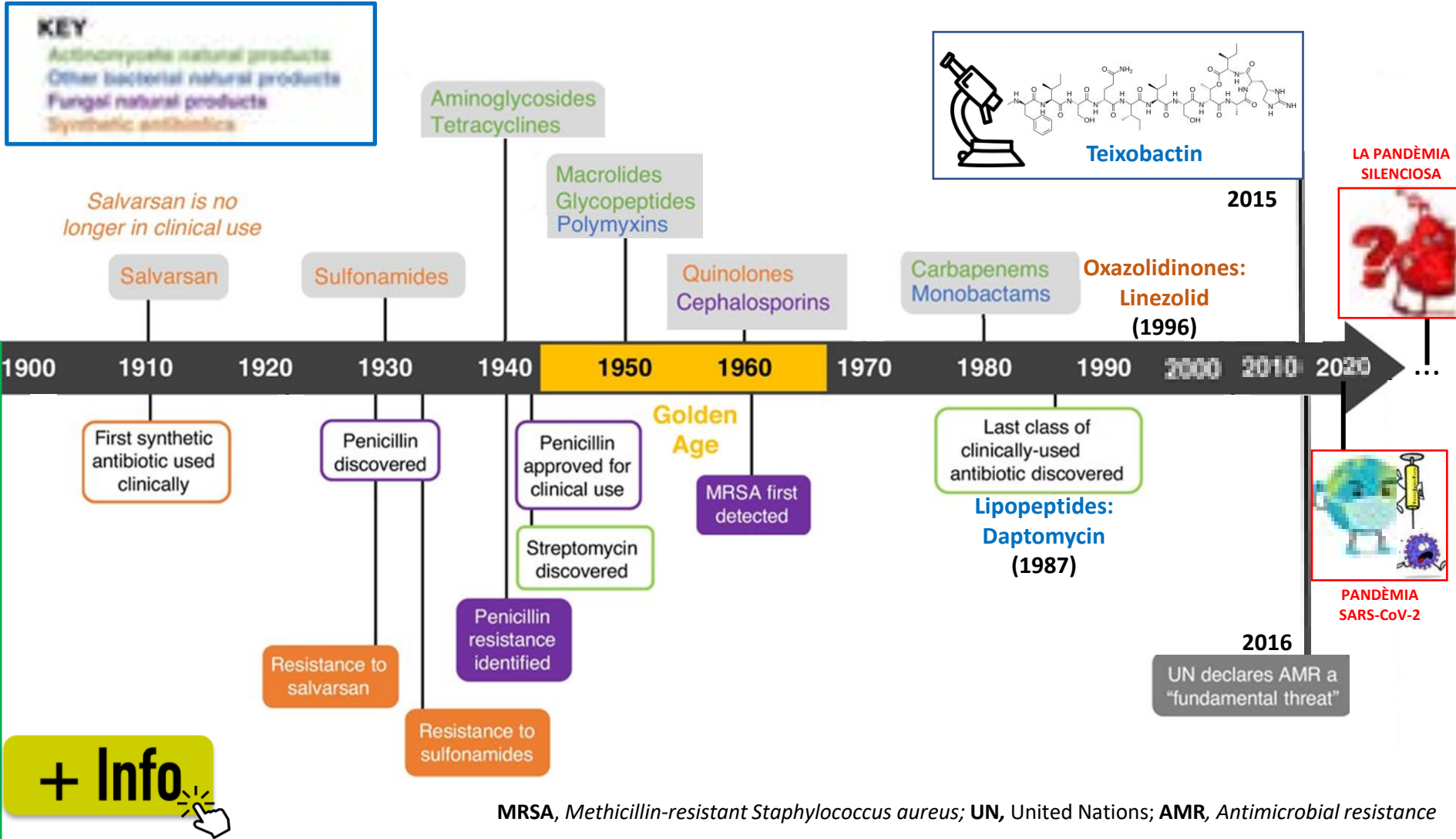


Cultiu de *Salmonella enterica* incubat a 37 °C



**Espectinomícina (Spc): bacteriostàtic, Estreptomícina (Str): bactericida, Ampicil·lina (Ap): bacteriolític.**

# BREU HISTÒRIA DELS ANTIBACTERIANS

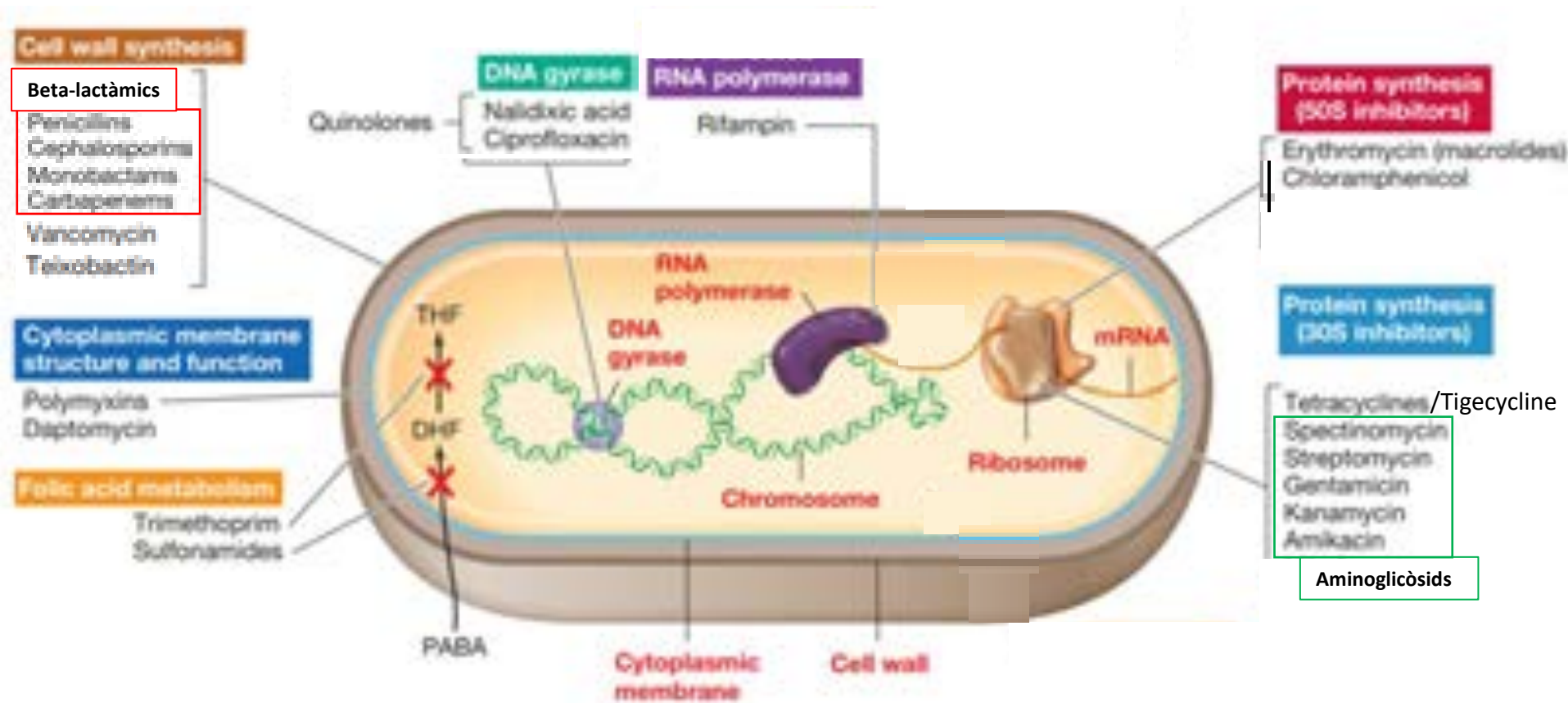


"La prehistoria de los antimicrobianos" J. Ruiz Blázquez

Modificat de Current Opinion in Microbiology (2019) 51:72-80

A finals del s. XIX es va aïllar el primer antibiòtic: la "piocianasa" produïda per *Pseudomonas* (amb èxit limitat degut a la seva toxicitat en humans). Dècades abans que Fleming, diferents investigadors ja van demostrar les capacitats antimicrobianes d'extractes de *Penicillium*.

# MECANISMES D'ACCIÓ DELS ANTIBACTERIANS



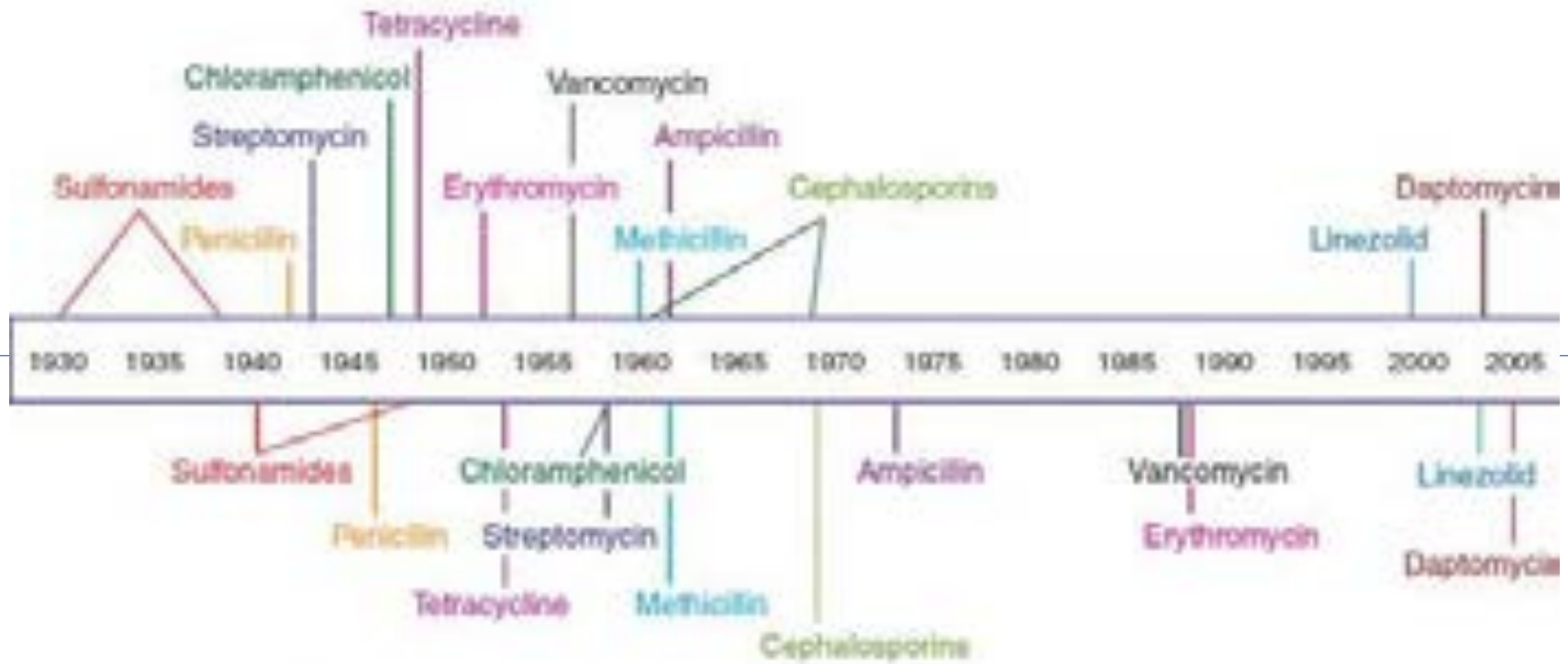




## II. RESISTÈNCIES

# RESISTÈNCIA ALS ANTIBACTERIANS

Introducció de nous antibacterians

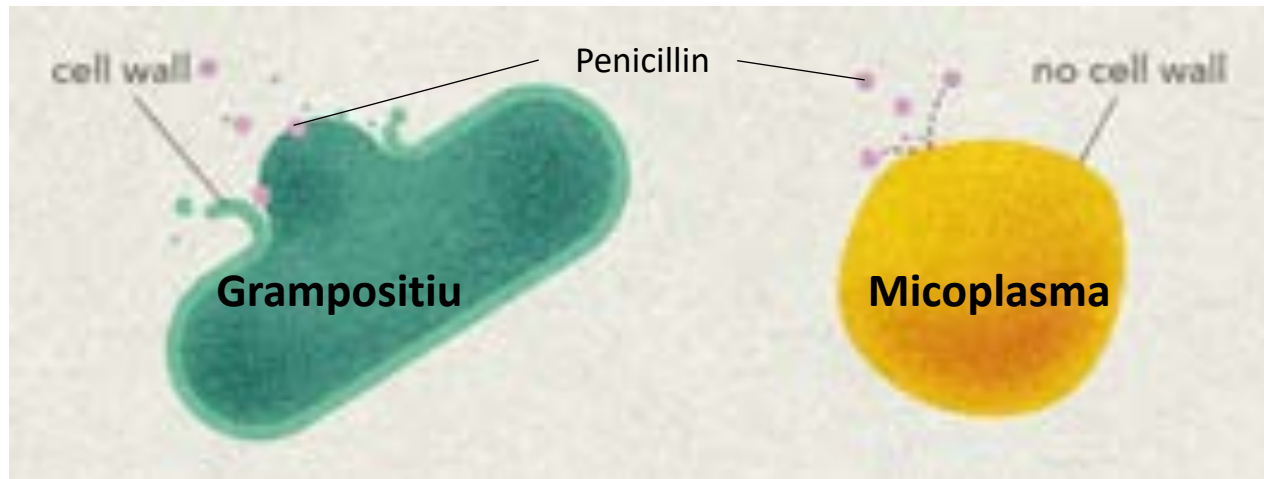


Resistència detectada

# RESISTÈNCIA INTRÍNSECA

Alguns gèneres o espècies de bacteris presenten resistència a alguns antibacterians per:

- Absència de diana o amb baixa afinitat (ex.: *Mycoplasma* i beta-lactàmics)
- Baixa permeabilitat (ex.: Gramnegatius i penicil·lina G)
- Mecanismes de resistència propis (ex.: eflux, enzims inactivadors...)



**Els micoplasmes (bacteris del gènere *Mycoplasma* com *M. pneumoniae* i *M. genitalium*) no tenen paret cel·lular i per això presenten resistència intrínseca als beta-lactàmics.**

# RESISTÈNCIA ADQUIRIDA

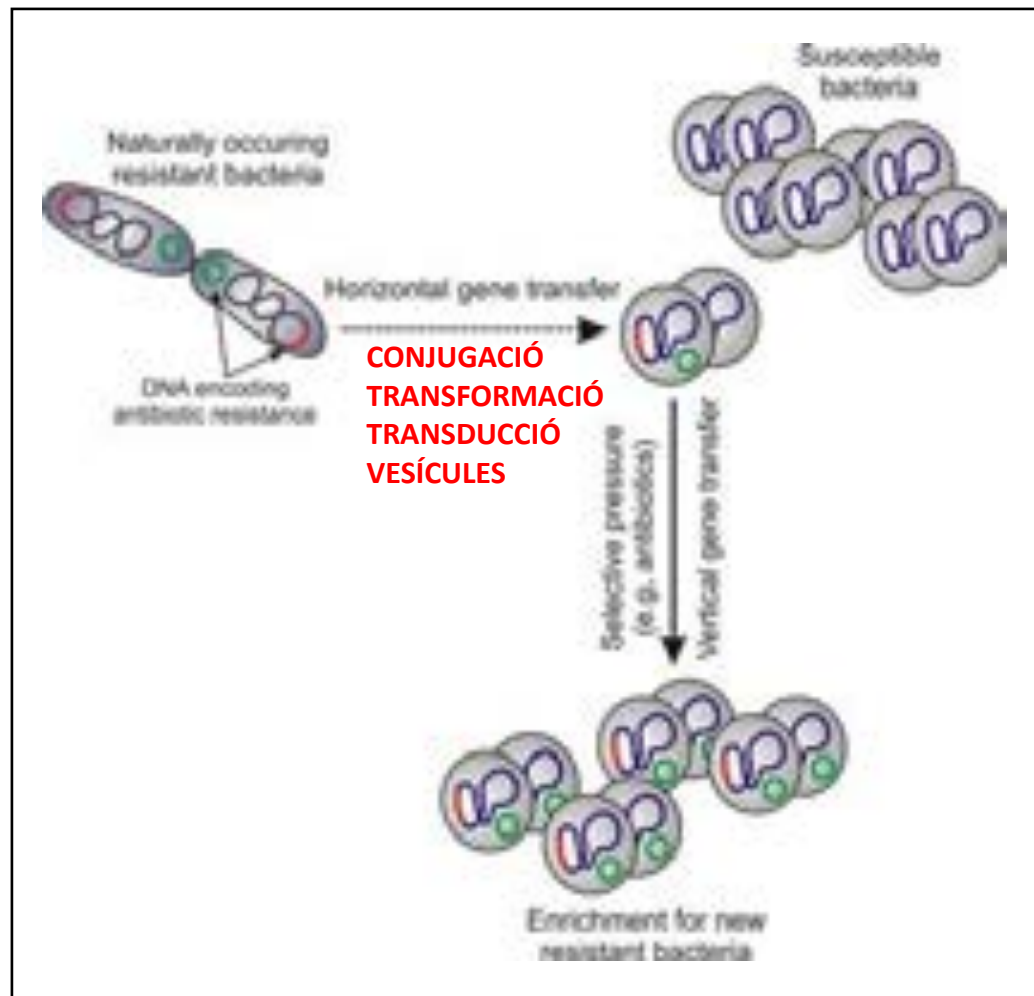
Específica de cada soca, pot donar-se principalment per:

## -Mutacions en gens propis:

- Modificacions de la diana
- Disminució de la permeabilitat
- Increment de l'eflux

## -Adquisició per transferència horitzontal de gens que codifiquen:

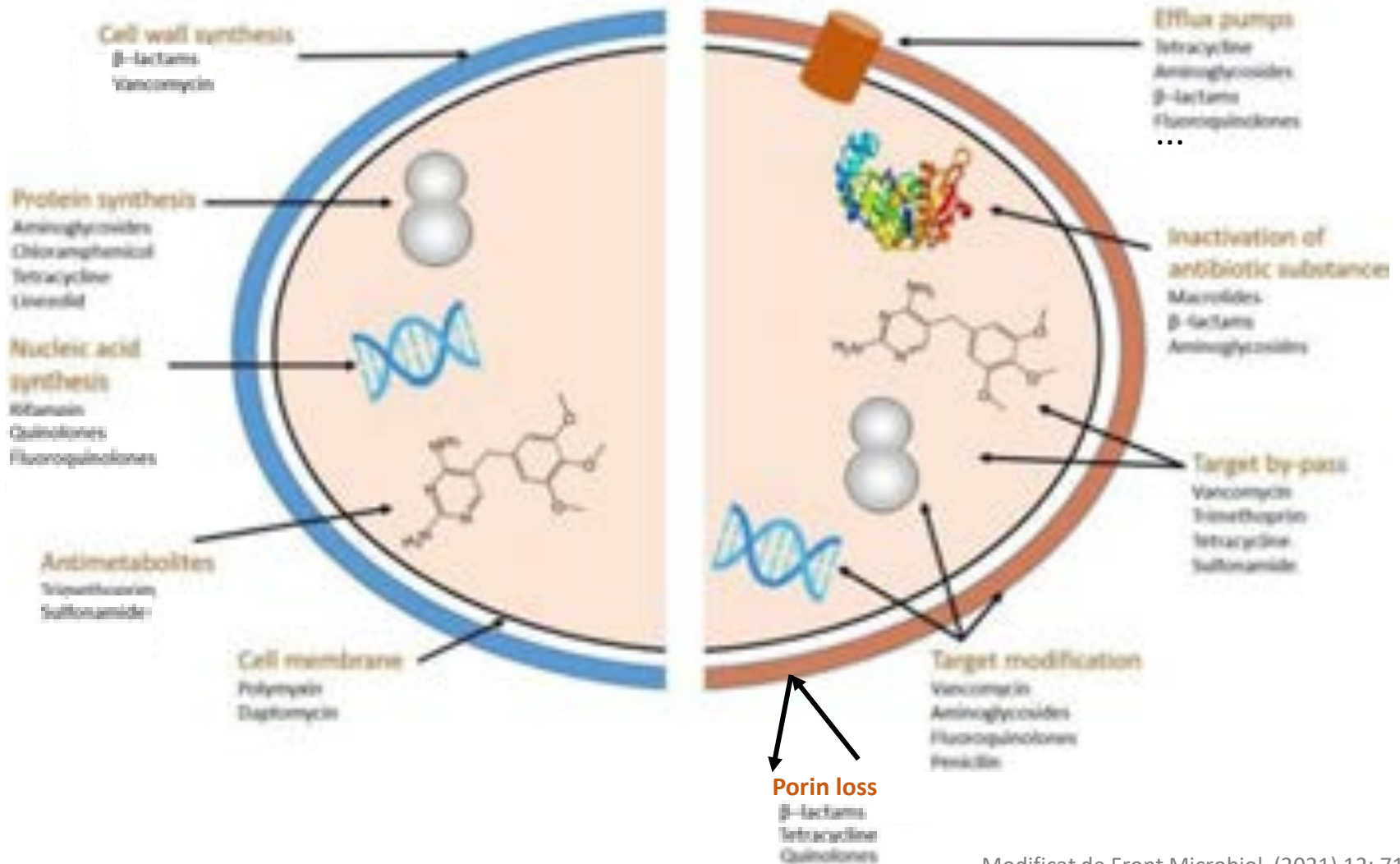
- Enzims que degraden l'antibacterià
- Enzims que modifiquen l'antibacterià
- Enzims modificadors de la diana
- Substituts de les dianes
- Bombes d'eflux



# MECANISMES DE RESISTÈNCIA ALS ANTIBACTERIANS

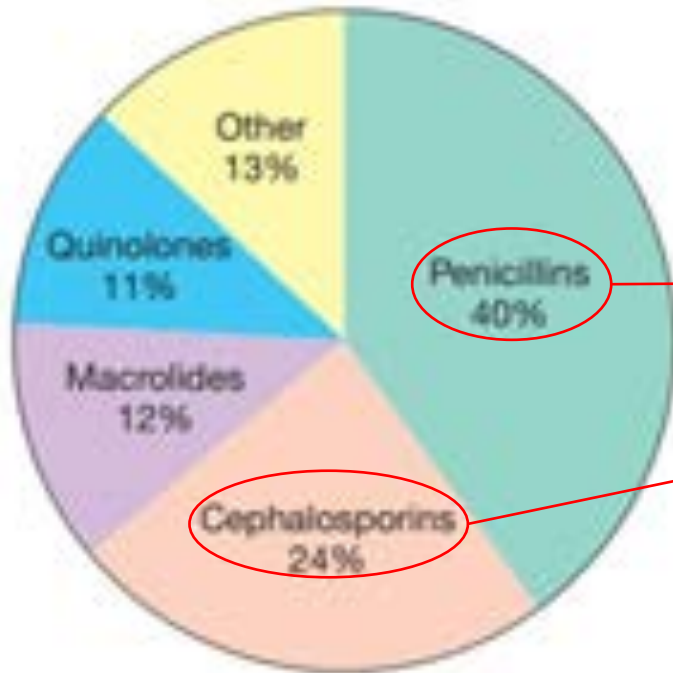
Mecanisme d'acció

Mecanisme de resistència



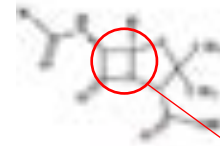


# BETA-LACTÀMICS: ELS MÉS UTILITZATS

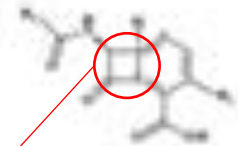


Frequency of antibiotic usage

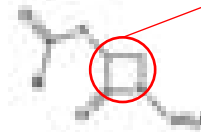
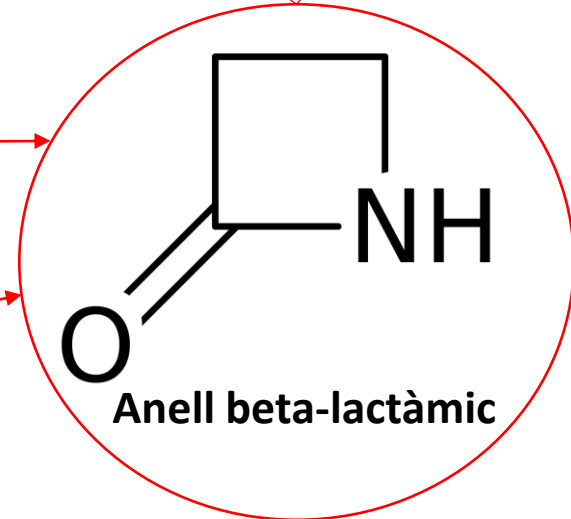
*Brock Biology of Microorganisms 16th Edition (2022)*



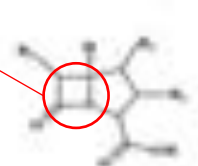
Penicillins



Cephalosporins

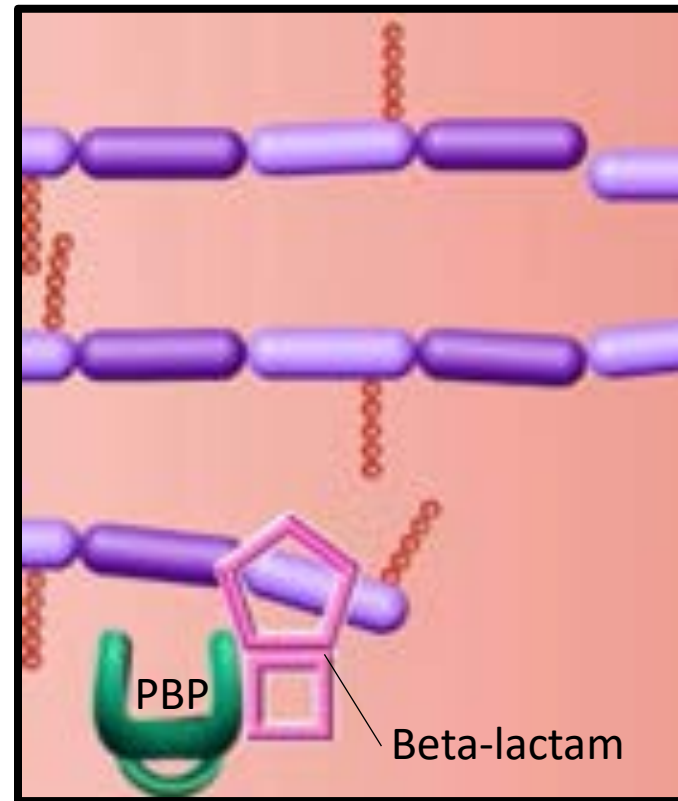
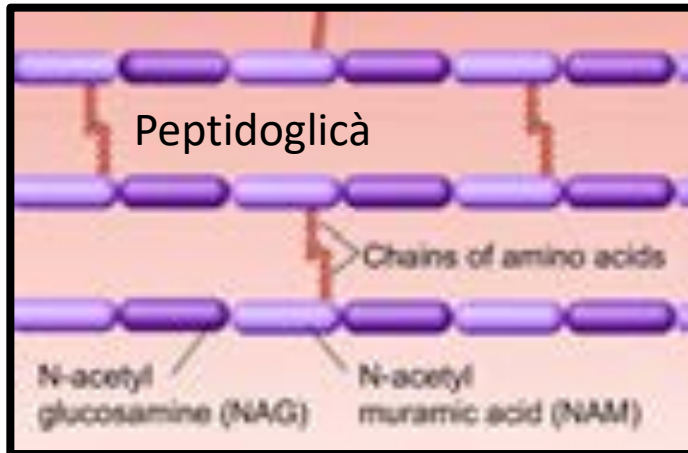


Monobactams



Carbapenems

# MECANISME D'ACCIÓ DELS BETA-LACTÀMICS

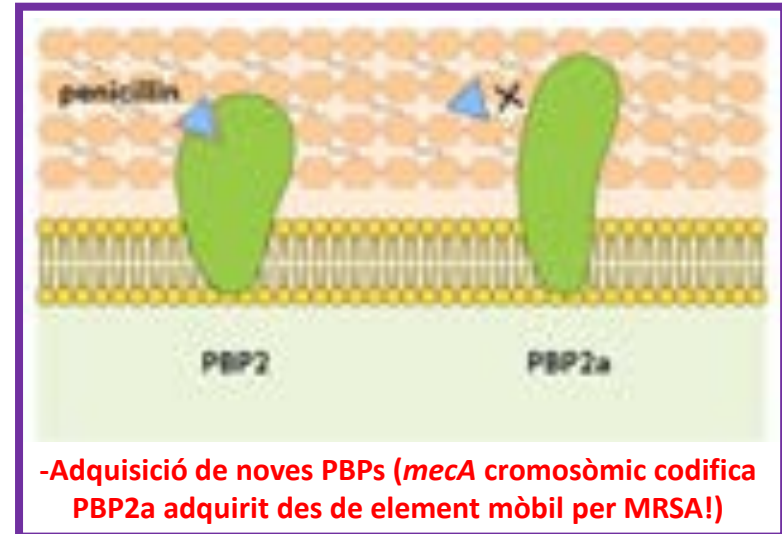
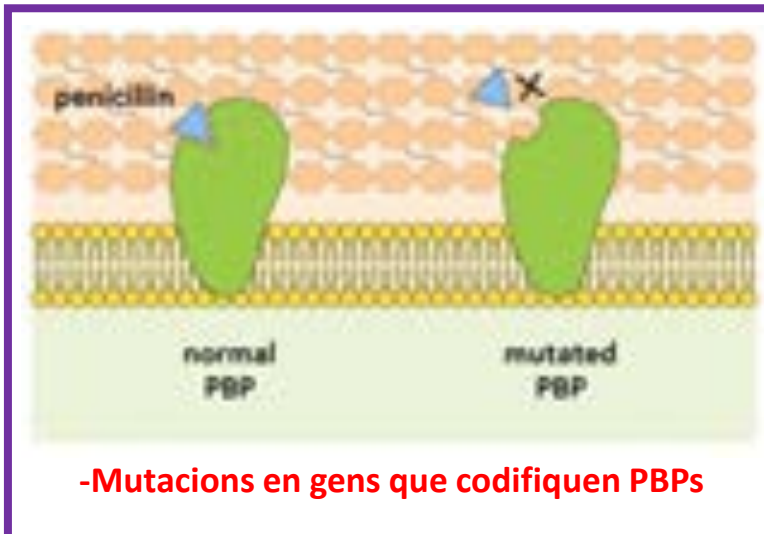
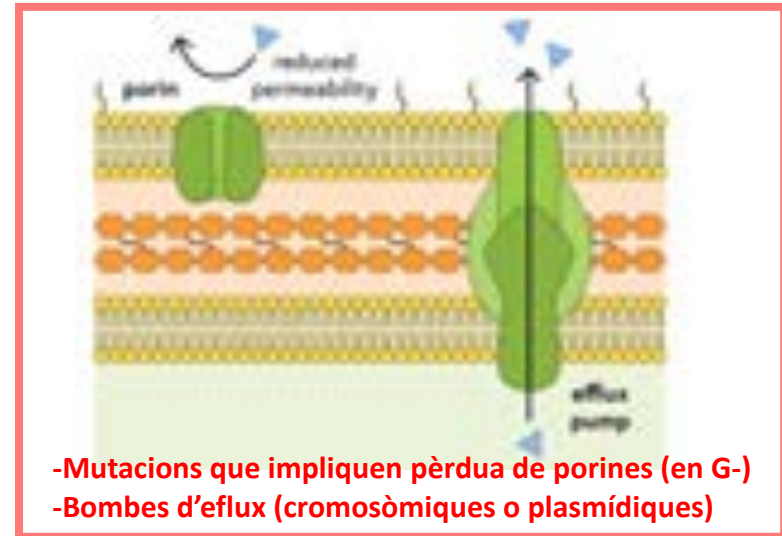
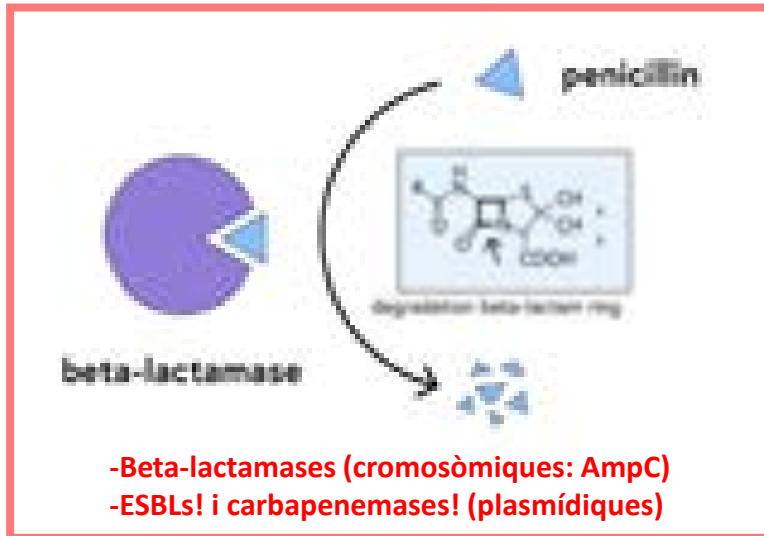


Captures de YouTube: Mechanisms in Medicine  
"β-Lactams: Mechanisms of Action and Resistance"



Les PBPs són enzims que es localitzen a la membrana citoplasmàtica, són essencials per la síntesi de la paret bacteriana i són inactivades pels beta-lactàmics.

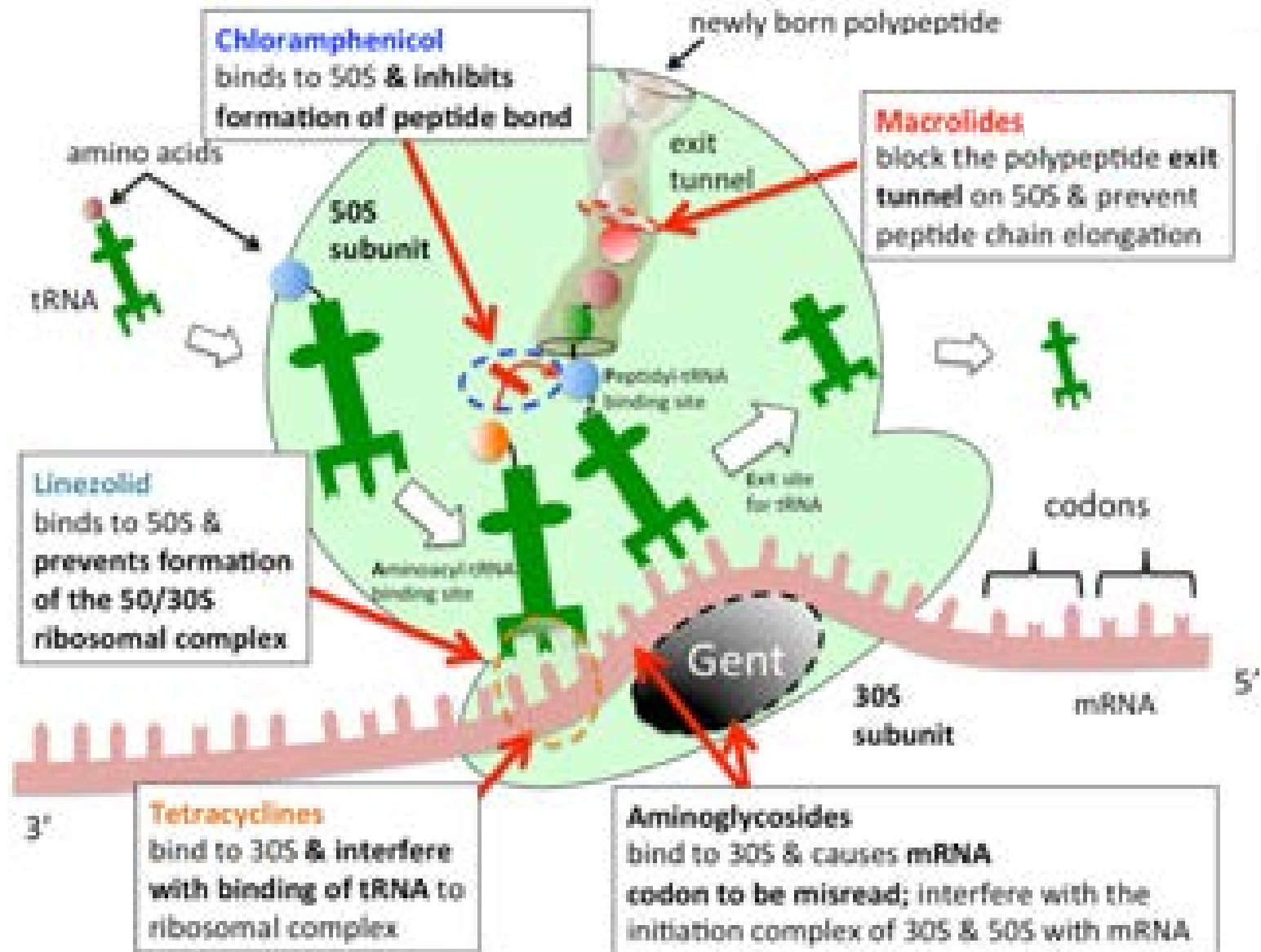
# RESISTÈNCIA ALS BETA-LACTÀMICS



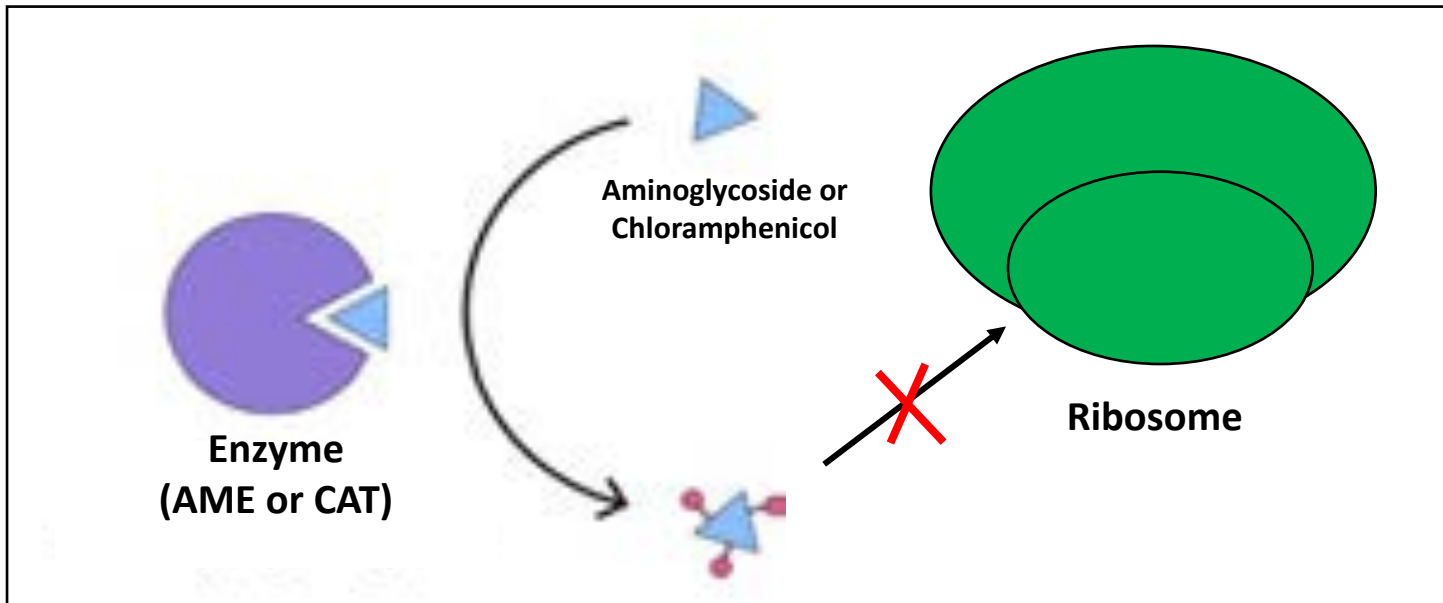
Modificat de <https://www.futurelearn.com>

Mecanismes de resistència predominants en Gramnegatius, Mecanismes de resistència predominants en Grampositius.  
ESBLs, *Extended-spectrum beta-lactamases* (també conegudes com BLEEs per l'acrònim traduït).

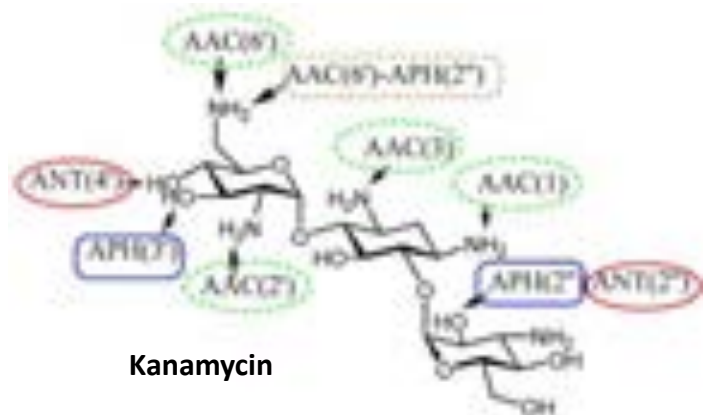
# ANTIBACTERIALS INHIBIDORS DE LA TRADUCCIÓ



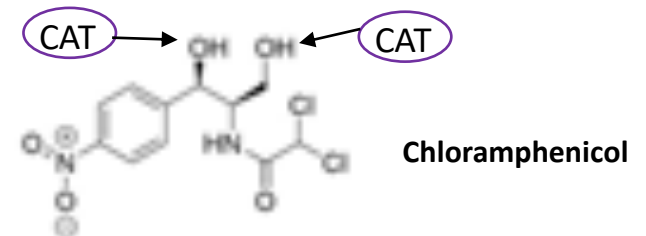
# RESISTÈNCIA PER MODIFICACIÓ DE L'ANTIBACTERIÀ



## AMEs Aminoglycoside-Modifying Enzymes (AMEs)



## Chloramphenicol-Acetyltransferase (CAT)

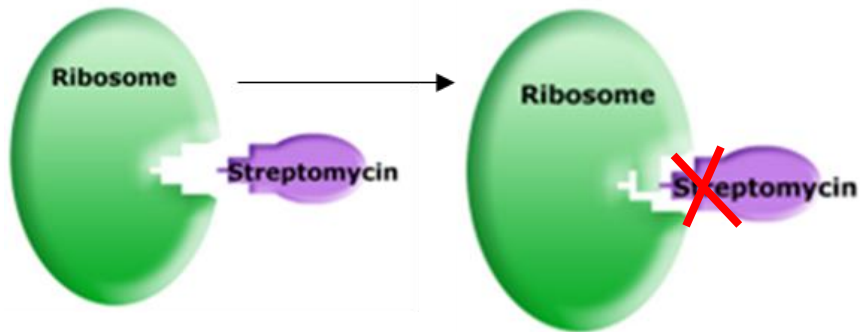


- N-acetyltransferases (**AACs**): Acetylation using acetyl-CoA
- O-nucleotidyltransferases (**ANTs**): Adenylation from ATP
- O-phosphotransferases (**APHs**): Phosphorylation from ATP
- Chloramphenicol-acetyltransferase (**CAT**): Acetylation using acetyl-CoA

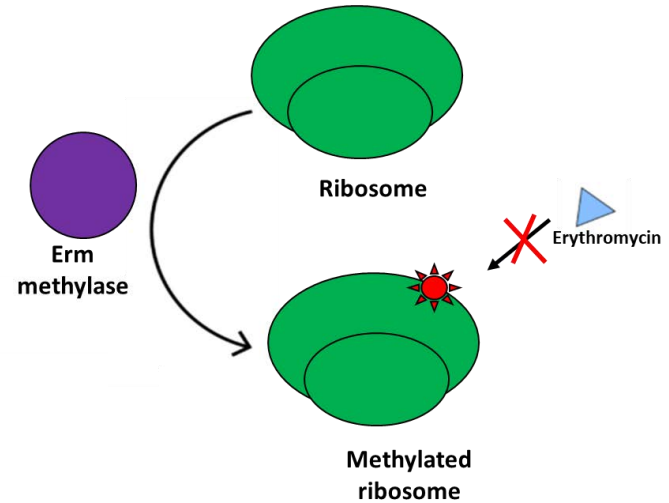


# RESISTÈNCIA PER MODIFICACIÓ DE LA DIANA

Mutacions puntuals al rRNA23S redueixen l'afinitat del **linezolid** per la subunitat 50S generant resistència a aquest antibiòtic.



Mutacions puntuals en el gen que codifica la proteïna ribosomal L12 modifiquen la regió reconeguda per l'**estreptomicina** impedit la seva unió.

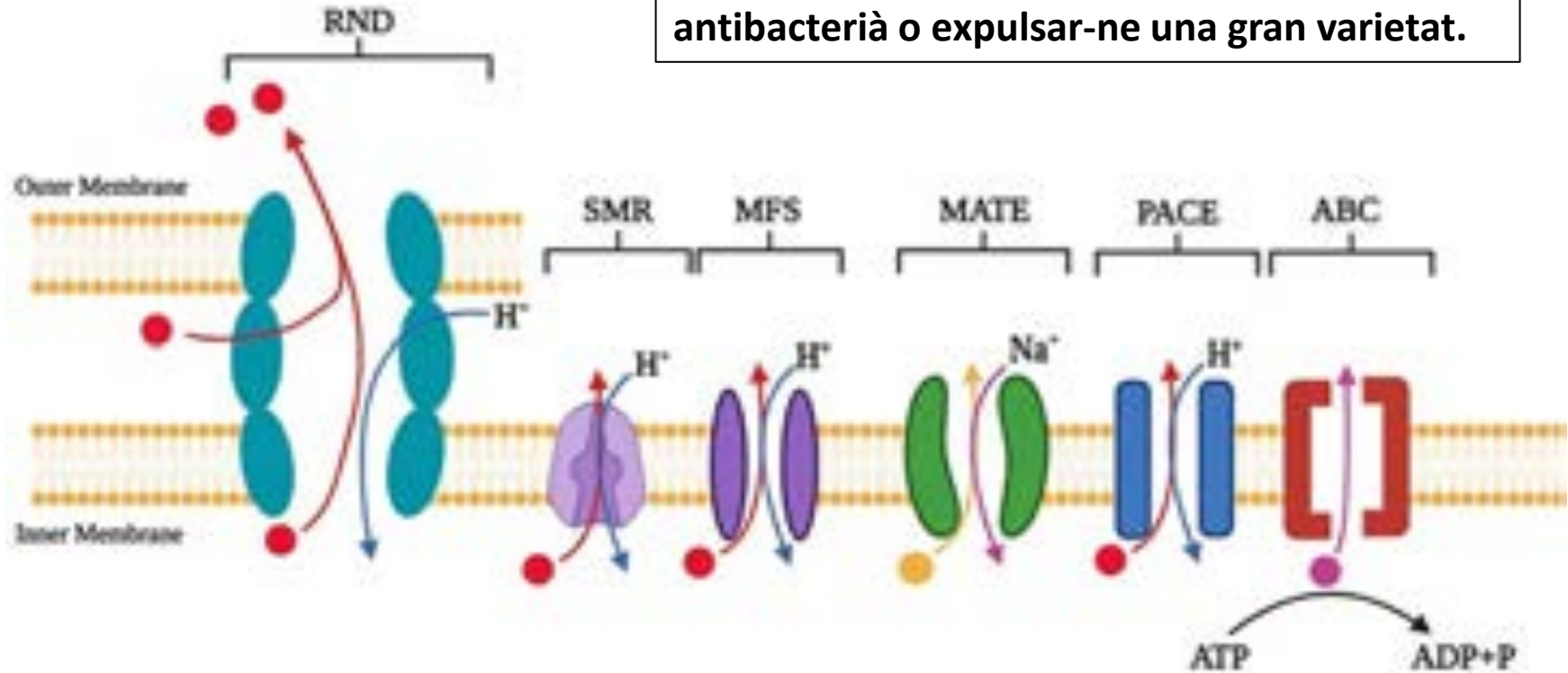


L'enzim Erm introdueix grups metil al rRNA23S bloquejant la unió d'**eritromicina**.

De forma similar, mutacions puntuals en els gens que codifiquen subunitats de la RNA polimerasa (*rpoB*) i de la DNA girasa (*gyrA*) modifiquen la regió reconeguda per la **rifampicina** (inhibidor de la transcripció) i de les **quinolones** (inhibidors de la replicació), respectivament, generant sendes resistències.

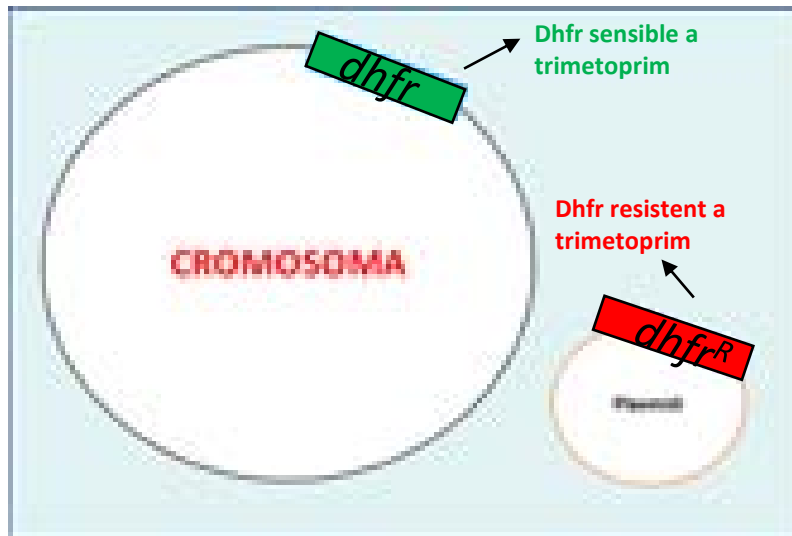
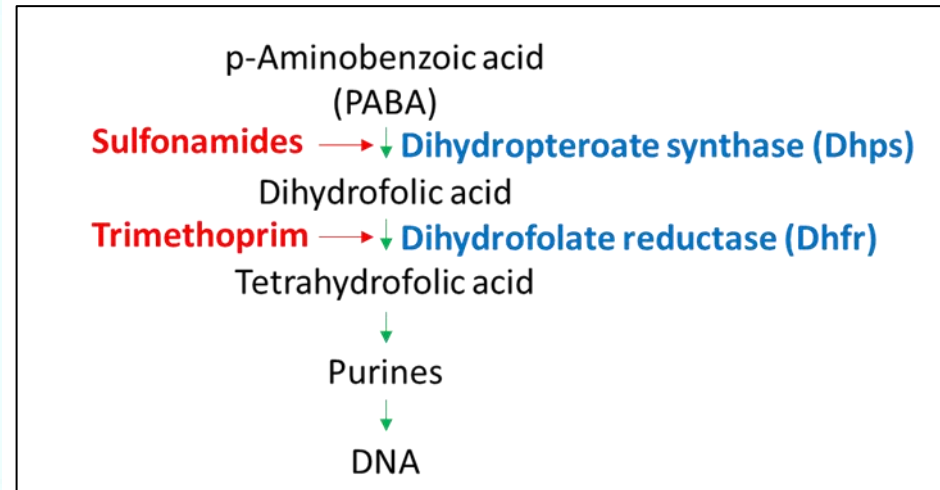
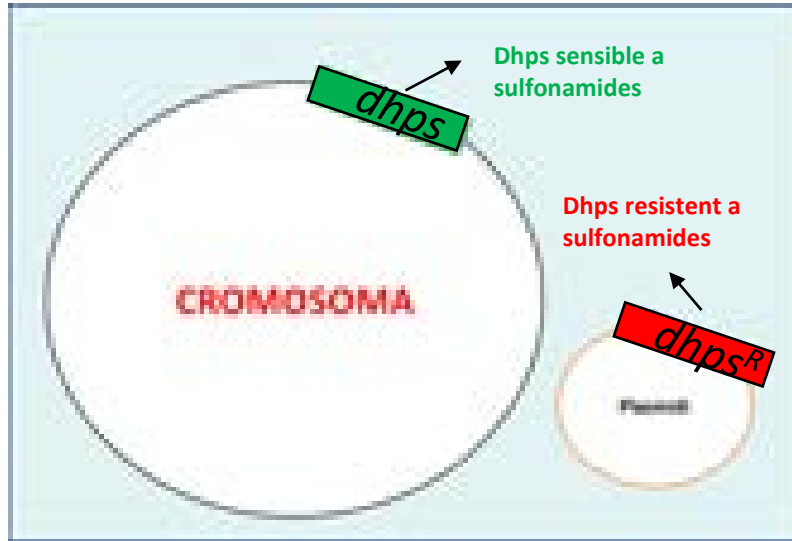
# RESISTÈNCIA PER BOMBES D'EFLUX

Existeixen diverses famílies de bombes d'eflux que poden ser molt específiques per un antibacterià o expulsar-ne una gran varietat.



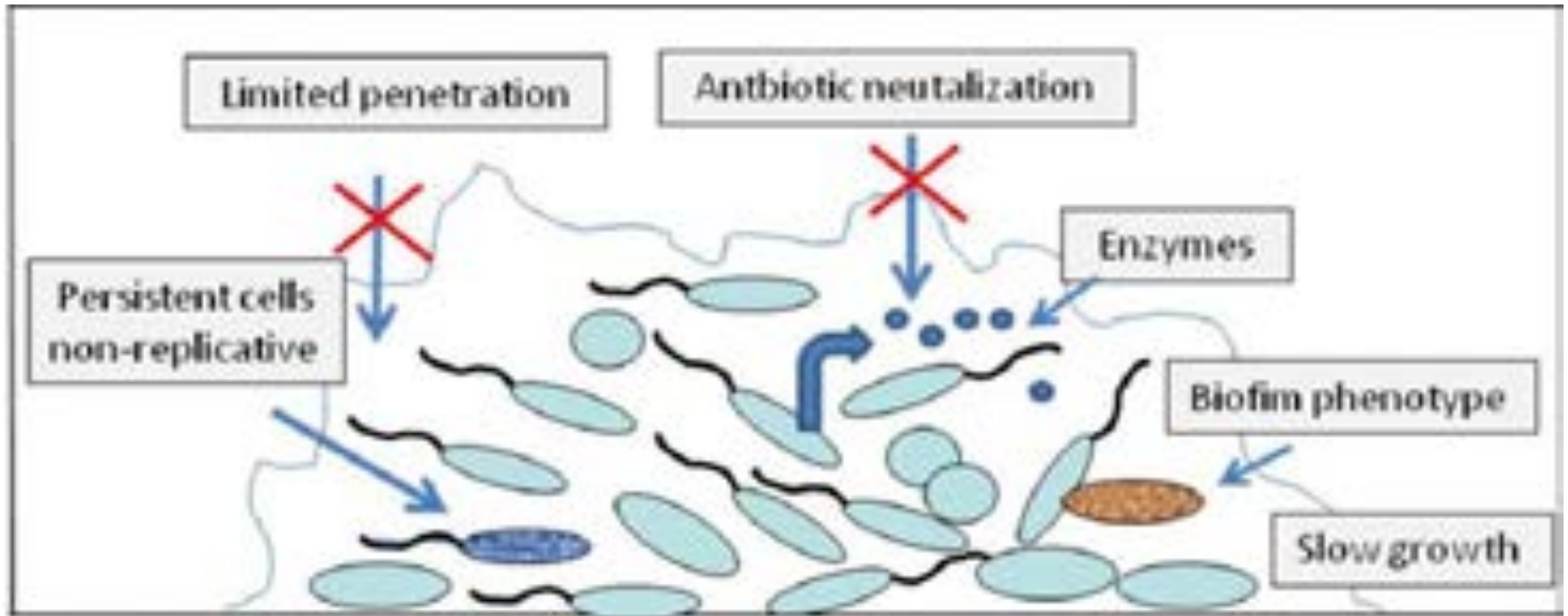
Les bombes TetA (MFS) d'*E. coli* (que confereixen resistència a **tetraciclina**) codificades en plasmidis van ser les primeres bombes d'eflux bacterianes identificades.

# RESISTÈNCIA PER ENZIMS O RUTES METABÒLIQUES ALTERNATIVES

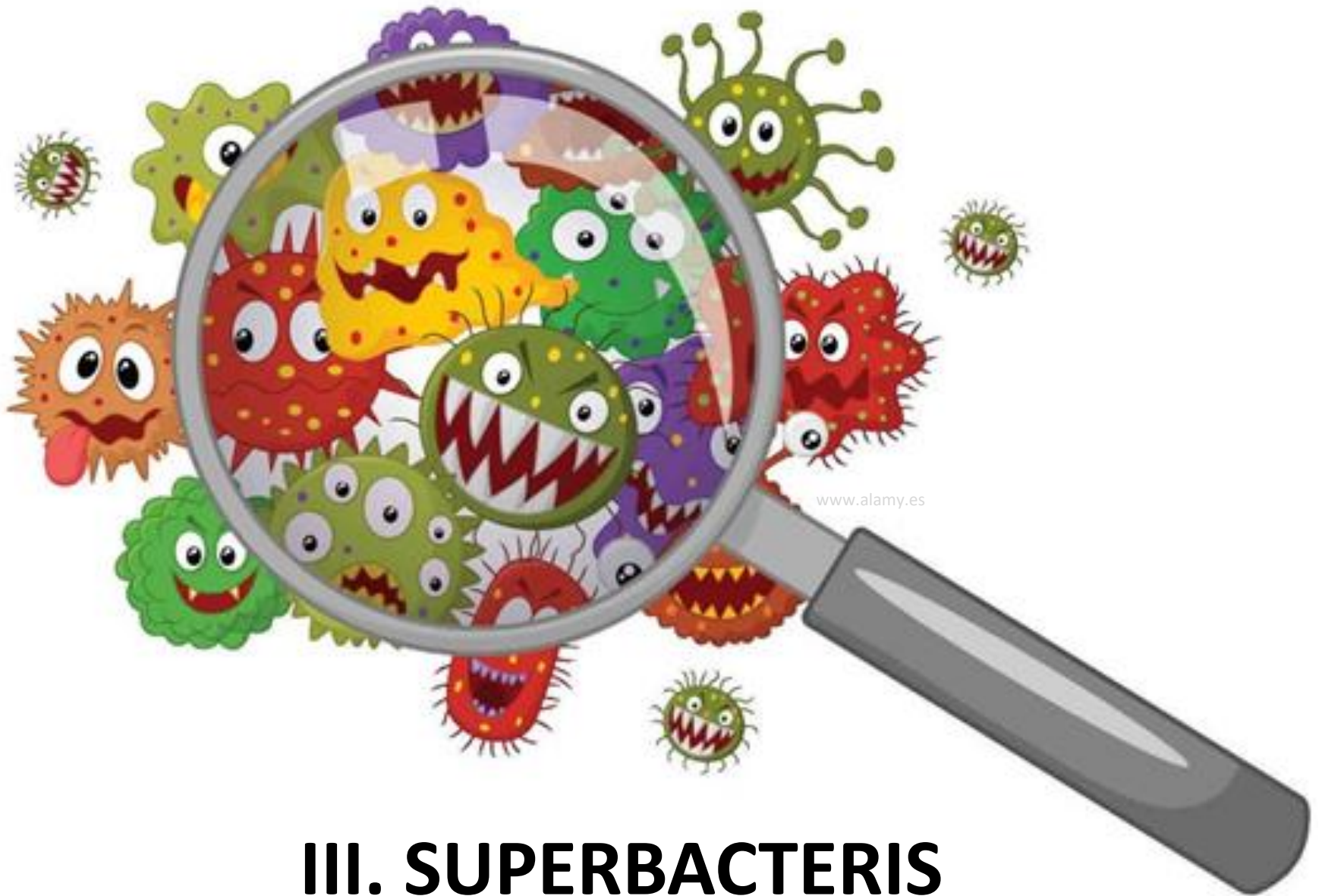


**ELS GENS *dhps<sup>R</sup>* i *dhfr<sup>R</sup>* ES PODEN TROBAR TAMBÉ EN EL CROMOSOMA FORMANT PART D'UN TRANSPOSÓ O D'UN INTEGRÓ!**

# MECANISMES DE RESISTÈNCIA GENERALITZATS



Un biofilm o biopel·lícula és una comunitat estructurada de microorganismes envoltats d'una matriu polimèrica autodesenvolupada i adherida a una superfície (vivent o inerta) que els protegeix de factors externs com per exemple els antibacterians.



### III. SUPERBACTERIS





# ENTEROBACTER SPP. (AND ESCHERICHIA COLI)

NORMAL MICROBIOTA



# STAPHYLOCOCCUS AUREUS

NORMAL MICROBIOTA



# KLEBSIELLA PNEUMONIAE

NORMAL MICROBIOTA



# ACINETOBACTER BAUMANNII

NORMAL MICROBIOTA



# PSEUDOMONAS AERUGINOSA

NORMAL MICROBIOTA



# ENTEROCOCCUS FAECIUM

NORMAL MICROBIOTA



*Neisseria gonorrhoeae* amb alts nivells de resistència als fàrmacs actualment recomanats per tractar la gonorrea, com la ceftriaxona (cefalosporina) i l'azitromicina (macròlid), però també a les penicil·lines, les sulfonamides, les tetraciclines i les quinolones, entre d'altres, és un dels denominats "superbacteris".

<https://www.who.int/es>



# SUPERBACTERIS: MDR, XDR I PDR

## **Multidrug-resistant (MDR) bacteria**

Resistent a 3 o més tipus d'antibacterians

## **Extensively drug-resistant (XDR) bacteria**

Resistent a la majoria d'antibacterians

## **Pandrug-resistant (PDR) bacteria**

Resistent a tots els antibacterians

## WHO priority pathogens list for R&D of new antibiotics

### Priority 1: CRITICAL

- *Acinetobacter baumannii*, carbapenem-resistant
- *Pseudomonas aeruginosa*, carbapenem-resistant
- Enterobacteriaceae, carbapenem-resistant, ESBL-producing

World Health Organization (<https://www.who.int>)

[Autops Case Rep.](#) 2019 Jul-Sep; 9(3): e2019106.

Published online 2019 Jul 19. doi: [10.4322/acr.2019.106](https://doi.org/10.4322/acr.2019.106)

PMCID: PMC6656356

PMID: [31440482](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31440482/)

## Death from pan-resistant superbug

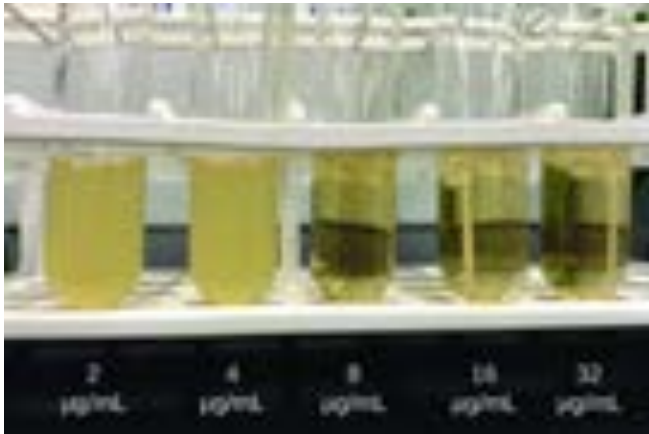
### Abstract

[Go to: ▶](#)

*Acinetobacter baumannii* has emerged as a pan-resistant superbug causing fatal infections in vulnerable patients. This report is the case of an immunosuppressed transplant patient with a fatal pneumonia due to pan-resistant *Acinetobacter baumannii*.

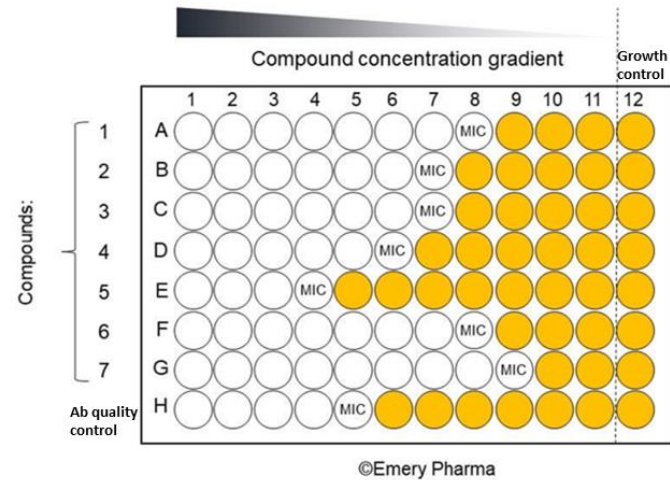
# MESURA DE LA RESISTÈNCIA

## MACRODILUCIÓ

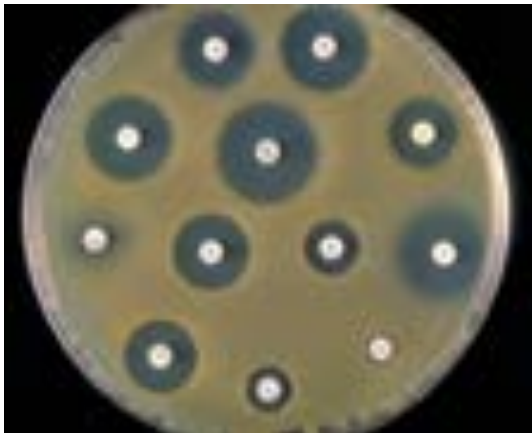


<https://courses.lumenlearning.com>

## MICRODILUCIÓ



## ANTIBIOGRAMA



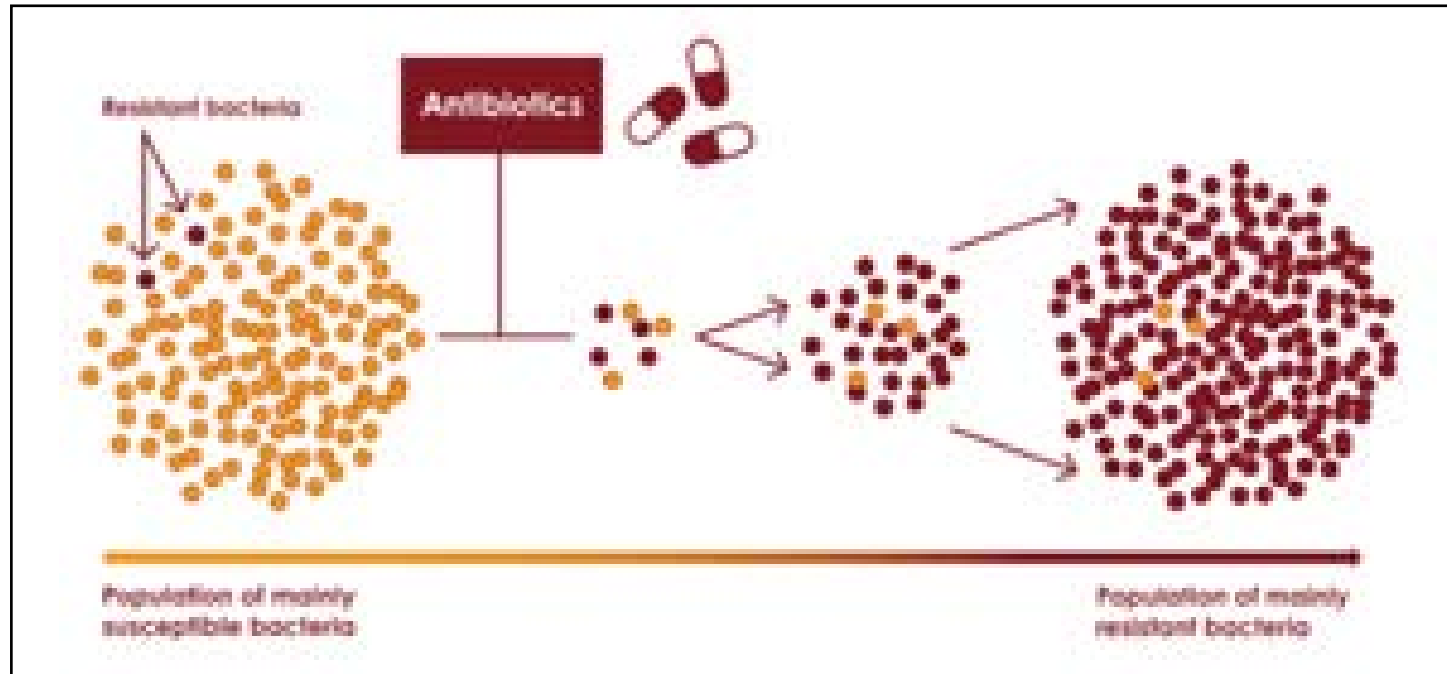
<https://urologiabe.com>

## ELIPSOMETER TEST (ETEST)



Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2018) 37:187–208

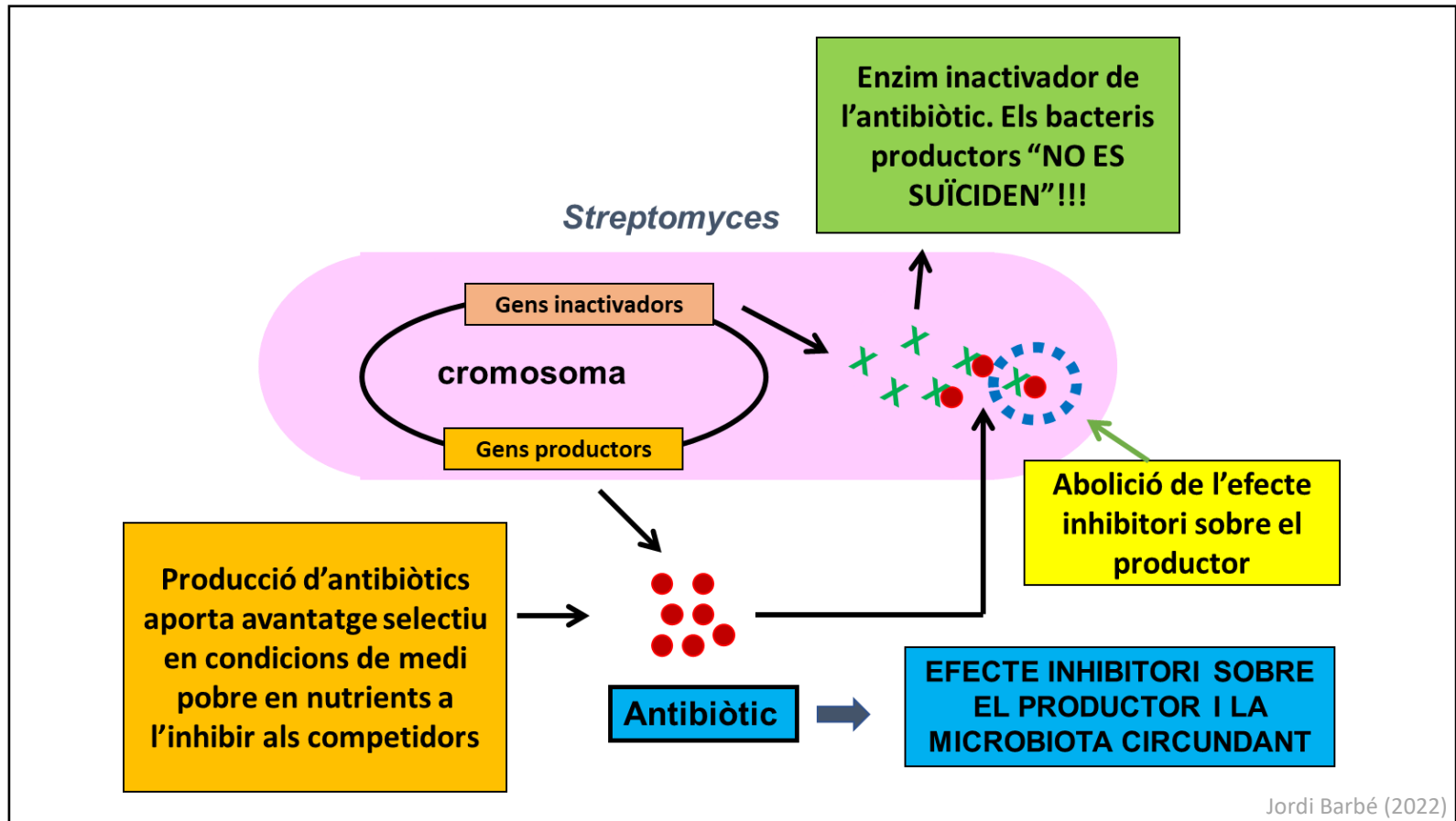
# PROLIFERACIÓ DELS BACTERIS RESISTENTS



**ELS ANTIBIÒTICS AFAVOREIXEN LA SELECCIÓ DE LES RESISTÈNCIES  
PREEXISTENTS A LA POBLACIÓ...**

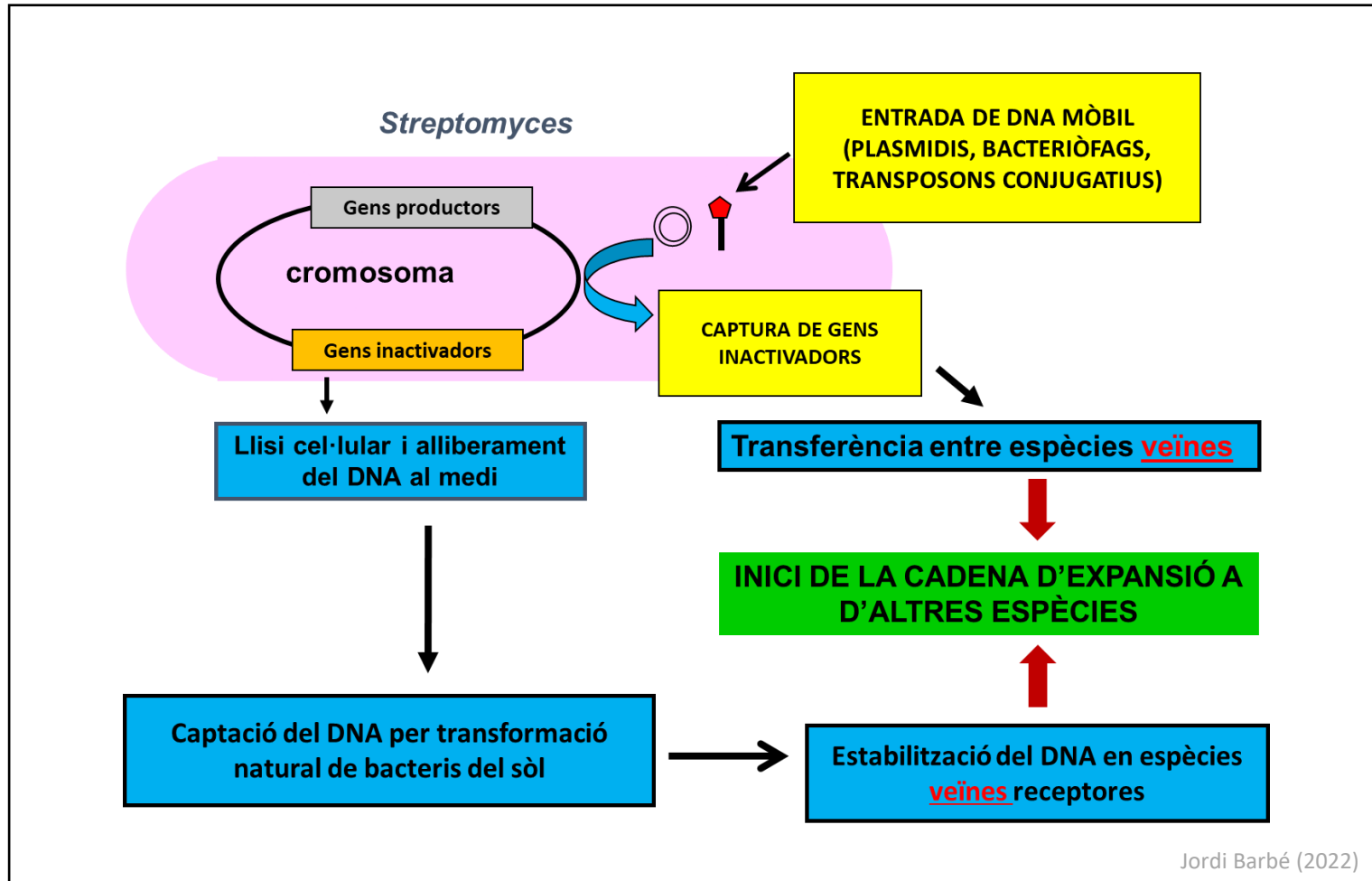
**... PERÒ, QUIN ÉS L'ORÍGEN BIOLÒGIC D'AQUELLES RESISTÈNCIES QUE  
NO PROVENEN D'UNA MUTACIÓ???**

# ORIGEN DE LES RESISTÈNCIES A ANTIBIÒTICS NATURALS



La similitut entre enzims que inactiven antibiòtics en soques d'origen clínic i enzims que inactiven antibiòtics en el gènere *Streptomyces* corrobora la hipòtesi de que molts gens de resistència provenen dels bacteris productors.

# TRANSFERÈNCIA DE LES RESISTÈNCIES A ANTIBIÒTICS NATURALS



S'han detectat resistències a antibacterians sintètics generades fa centenars de milions d'anys que han sigut seleccionades i mobilitzades durant les últimes dècades a patògens humans per l'ús d'aquests antibacterians.

AIXÒ IMPLICA QUE JA PODEN ESTAR ESCAMPANT-SE RESISTÈNCIES A ANTIBACTERIANS, ELS QUALS NI TAN SOLS EXISTEIXEN AVUI EN DIA!!!

# PRINCIPALS CAUSES DE LES RESISTÈNCIES



<https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance>





Over-prescribing  
of antibiotics

# Improve Antibiotic Use to Combat Antibiotic Resistance

70%

Necessary  
Prescriptions

100% need  
to monitor  
drug selection,  
dose and duration

At least  
30%  
Unnecessary  
Prescriptions

U.S. Centers for Disease Control and Prevention

CDC is working to reduce unnecessary antibiotic use

White House National Action Plan to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria (CARB)

<https://www.cdc.gov>



Over-use of antibiotics in livestock and fish farming

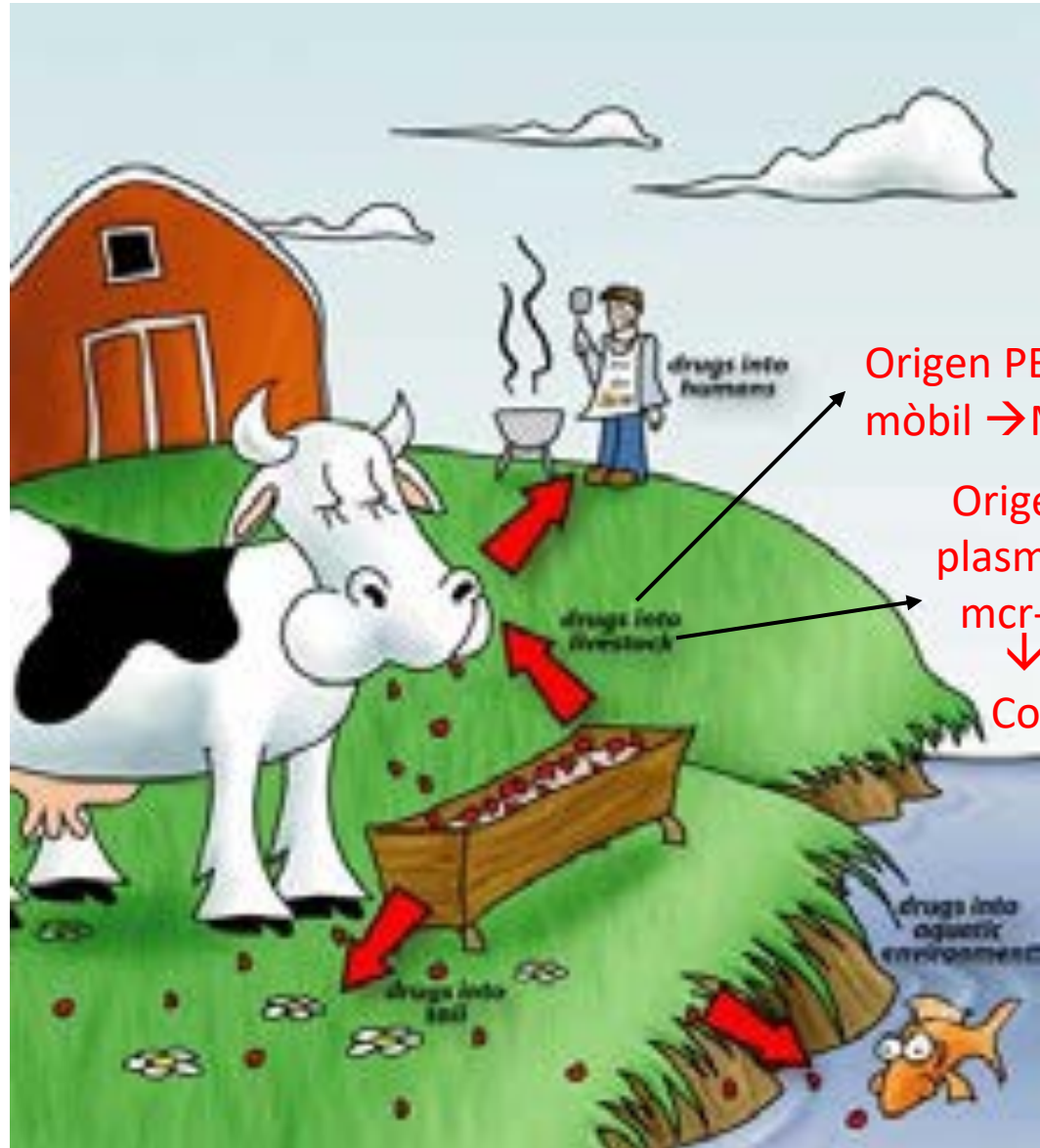
## ANTIBIÒTICS COM A PROMOTORS DEL CREIXEMENT

Prohibits a la UE des de 2006

Prohibits als EE. UU. des de 2017

Entre 2015-2017: 45 països reconeixen el seu ús, 12 d'ells continuen usant colistina

+ Info





Poor infection control  
in hospitals and clinics



Lack of hygiene and poor  
sanitation

RELACION HOSPITALARIA

## El hospital tardó 20 meses en acometer las obras que acabaron con el brote

EL PAÍS, 11 DE MAYO DE 2008

El hospital público 12 de Octubre de Madrid ha mantenido durante casi dos años una lucha sin cuartel contra una cepa de la bacteria *Acinetobacter baumannii* multirresistente a los antibióticos y especialmente letal para las personas con el sistema inmunológico deprimido. El brote, que se inició en febrero de 2006 y ha tardado 20 meses en ser controlado, ha afectado a 252 pacientes, de los que 101 han fallecido.

podría haberse hecho más y, sobre todo, mucho antes". "Durante dos años, el personal de enfermería ha estado denunciando la falta de personal y de material para cumplir con los estándares adecuados de calidad. Había días que incluso faltaba papel secamanos y pijamas limpios"

Al final, tras un año y medio de lucha, el 12 de Octubre apostó el pasado verano por la solución final: recolocar a los pacientes en otras unidades de críticos del centro y echar la UCI por tierra para construirla de nuevo y ya libre de la bacteria.



Lack of new antibiotics being developed



<https://www.who.int>





<https://mobbyt.com> & <https://www.gettyimages.es>

## IV. ALTERNATIVES



# FAGOTERÀPIA



Nature Reviews Microbiology (2022) 20:576



Vials amb fags (George Eliava Institute). En països com Georgia, l'ús de fags està regulat. A la UE, només com a tractament experimental d'ús compasiu.

Development and use of personalized bacteriophage-based therapeutic cocktails to treat a patient with a disseminated resistant ***Acinetobacter baumannii*** infection.

Antimicrob Agents Chemother (2017) 61(10). USA.

Successful adjunctive use of bacteriophage therapy for treatment of multidrug-resistant ***Pseudomonas aeruginosa*** infection in a cystic fibrosis patient.

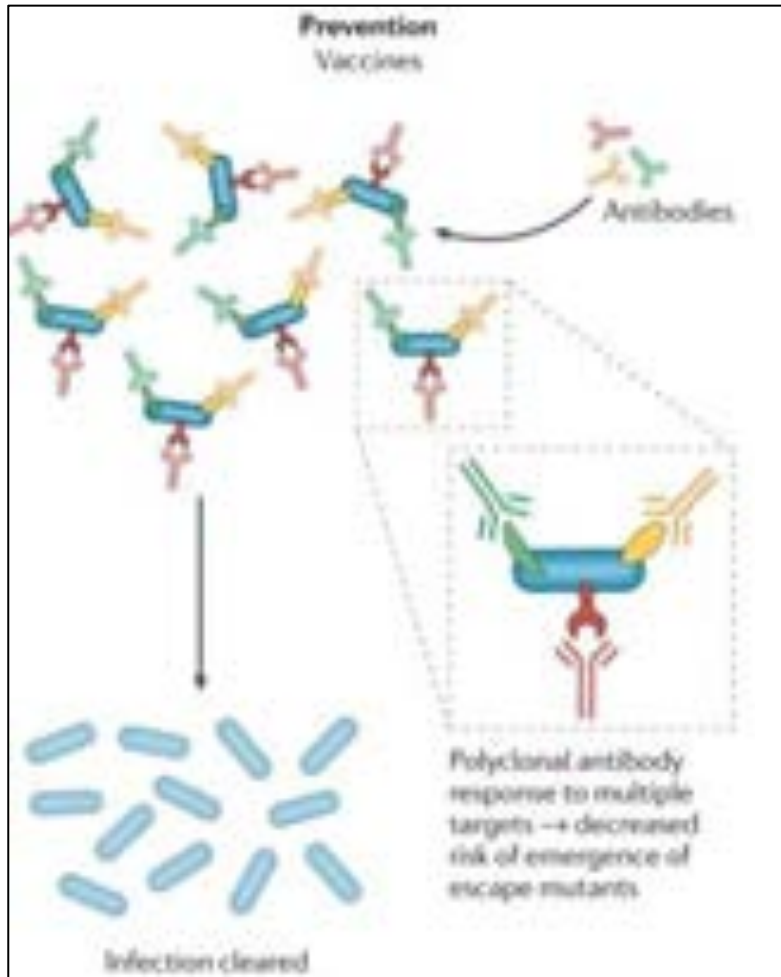
Infection (2019), 47(4):665-668. USA.

Combination of pre-adapted bacteriophage therapy and antibiotics for treatment of fracture-related infection due to pandrug-resistant ***Klebsiella pneumoniae***.

Nat Commun (2022), 13(1):302. Belgium.



# IMMUNOTERÀPIA



	Preclinical	Phase I	Phase II	Phase III
Protein vaccine	+ A/D3 + <i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Staphylococcus pneumoniae</i>	+ CuPBC	+ <i>Staphylococcus aureus</i> + CAS + <i>Staphylococcus pneumoniae</i> + <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	+ <i>Staphylococcus aureus</i>
Dysconjugate	+ <i>Staphylococcus pneumoniae</i> + A/D3 + CAS	None	None	+ <i>Staphylococcus aureus</i>
Synthetic conjugate	+ <i>E. pneumoniae</i>	+ <i>Staphylococcus aureus</i>	None	None
Bioconjugate	+ <i>E. pneumoniae</i> + <i>S. aureus</i>	None	+ CuPBC + <i>Staphylococcus aureus</i>	None
OMV	+ <i>S. pneumoniae</i> + <i>E. pneumoniae</i> + <i>M. tuberculosis</i>	+ CuPBC + A/D3	+ <i>Staphylococcus aureus</i>	None
Live attenuated vaccine	+ <i>C. difficile</i> + A/D3	None	+ <i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Staphylococcus aureus</i>	+ <i>M. tuberculosis</i>

Vaccine development for antimicrobial-resistant pathogens.

# TRASPLANTAMENT FECAL

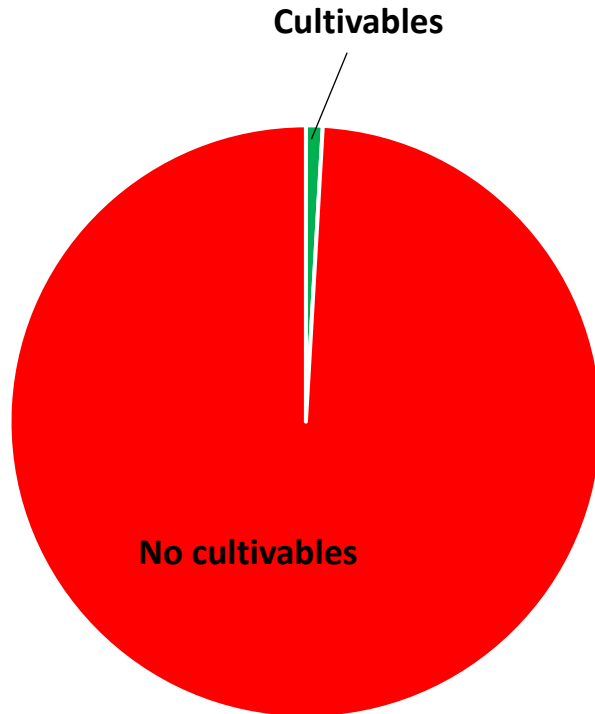


*Clostridioides difficile* resisteix als antibiòtics i pot provocar malalties intestinals greus (abans, en casos extrems: colectomia). El trasplantament fecal és eficaç desplaçant aquest bacteri per microbiota no patogènica.



Rebyota, el primer fàrmac amb microbiota fecal, aprovat als EE. UU. fa uns dies.

# AÏLLAMENT DE MICROORGANIMES “NO CULTIVABLES”



La majoria dels microorganismes (> 99 %) no es poden cultivar al laboratori.

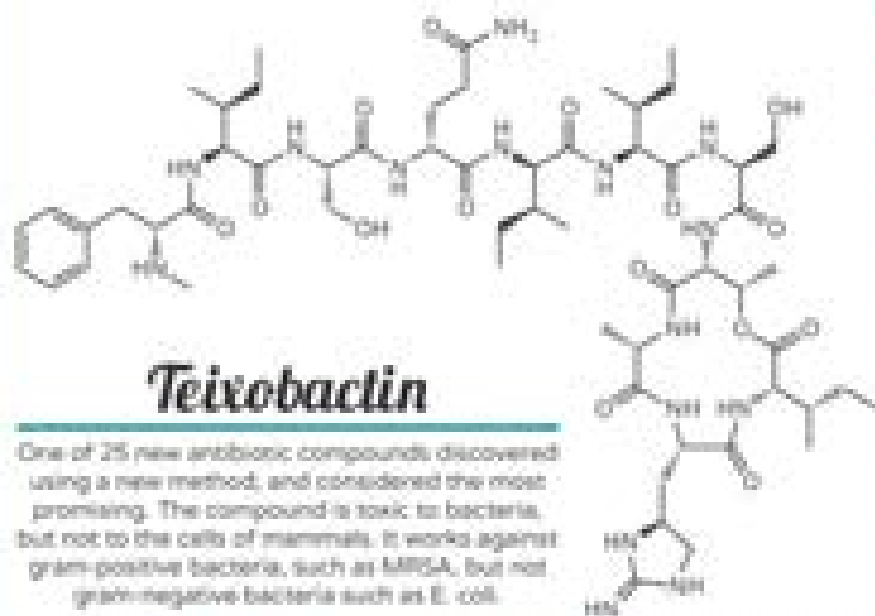


Imatge de Slava Epstein, un dels creadors de l' iChip.

El desenvolupament d'una nova tecnologia anomenada **ichip** (*isolation chip*) permet l'aïllament de microorganismes *in situ*. D'aquesta manera, al 2015, es va aïllar *Eleftheria terrae*, productor de l'últim antibiòtic conegut amb possible ús clínic: la **teixobactina**.

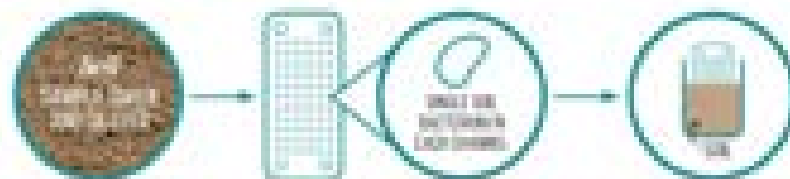
# TEIXOBACTIN - A NEW ANTIBIOTIC

Teixobactin is the first member of a new class of antibiotics - and, more importantly, the method used to discover it could lead to many more.



One of 25 new antibiotic compounds discovered using a new method, and considered the most promising. The compound is toxic to bacteria, but not to the cells of mammals. It works against gram-positive bacteria, such as MRSA, but not gram-negative bacteria such as E. coli.

## HOW TEIXOBACTIN WAS DISCOVERED



A device referred to by researchers as the 'sandwich' was used to culture soil bacteria, allowing nutrients & signal molecules to pass to the bacteria & stimulate growth.

Bacteria themselves produce antibacterial compounds to kill off competing bacteria, but 99% of these bacteria cannot be grown in a lab. The discovery of teixobactin is actually less important than the method used to discover it; researchers used a device that allowed them to dilute the bacteria-containing soil samples, sandwich them between two semi-permeable membranes, then immerse them in soil, allowing the bacteria to be grown in the lab; a method which could eventually lead to many more potential antibiotic candidates.

## HOW TEIXOBACTIN WORKS

Teixobactin has a unique mechanism of action, targeting lipid molecules bacteria use to build their cell walls. As it's hard for bacteria to alter these molecules, it's expected to take much longer for resistance to develop.



## LIMITATIONS OF TEIXOBACTIN



Teixobactin further trials are yet to begin; approval could take several years. It doesn't work against bacteria with an extra membrane around their cell wall.



# CERCA DE NOUS ANTIBIÒTICS: MICRO-MÓN@UAB\_6.0

+ Info 

Mitjançant una estratègia d'aprenentatge i servei (ApS), professors i estudiants de la UAB porten una experiència pràctica als estudiants de secundària, que s'involucraran en un projecte de recerca real als seus centres per aïllar nous antibiòtics.



Micro-Món@UAB\_5.0



MOLTES GRÀCIES PER LA  
VOSTRA ATENCIÓ!!!

