

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΕ ΓΛΥΚΟΠΕΠΤΙΔΙΑ

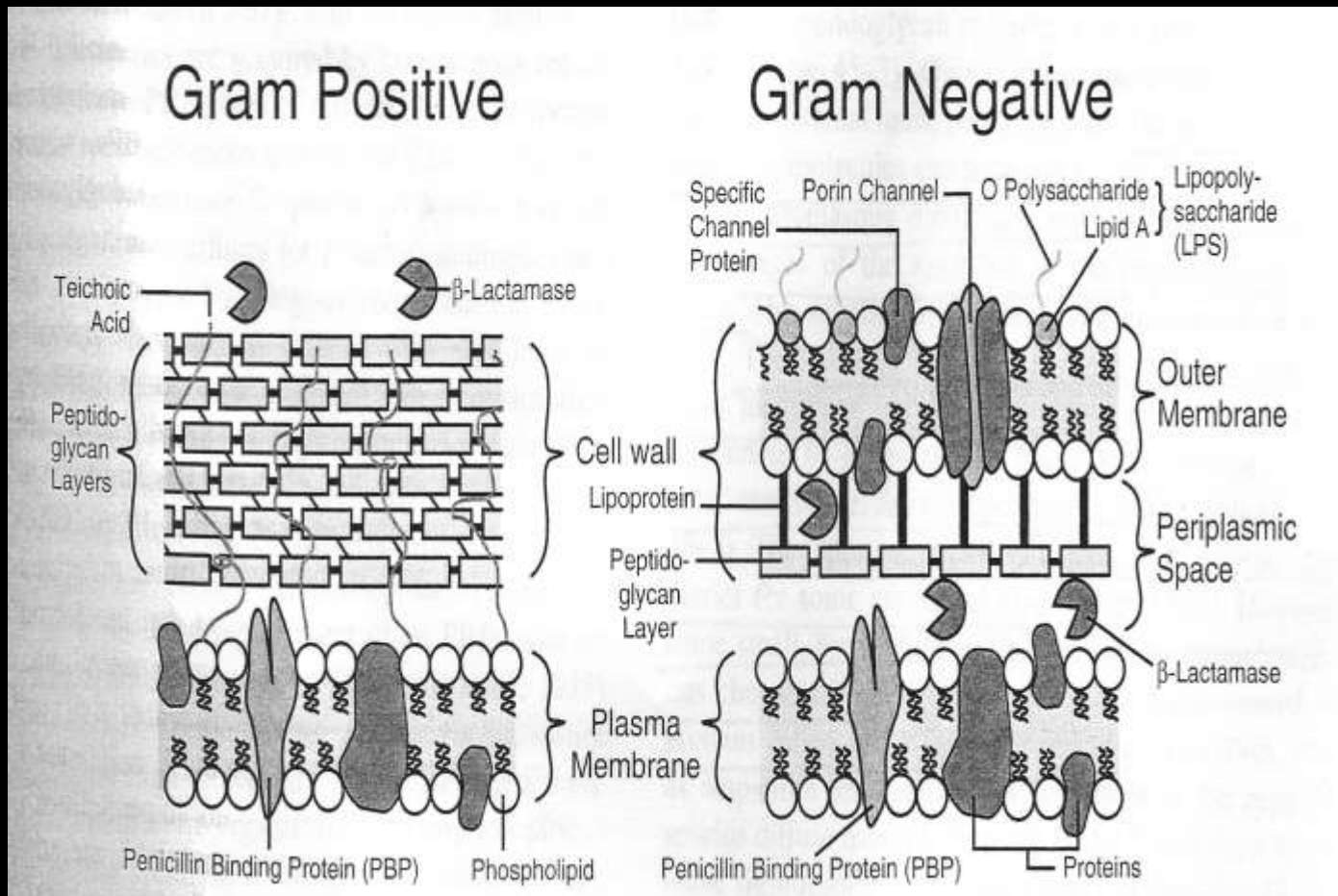
Ε. Πετεινάκη

Εργαστήριο Μικροβιολογίας
Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΓΛΥΚΟΠΕΠΤΙΔΙΑ

- βανκομυκίνη → *Streptomyces orientalis*
Nocardia orientalis
- τεικοπλανίνη → *Actinoplanes teichomyceticus*

Η Gram-χρώση αντανακλά διαφορές στη δομή του κυτταρικού τοιχώματος με προεκτάσεις και στην φυσική αντοχή των μικροβίων έναντι κάποιων αντιβιοτικών



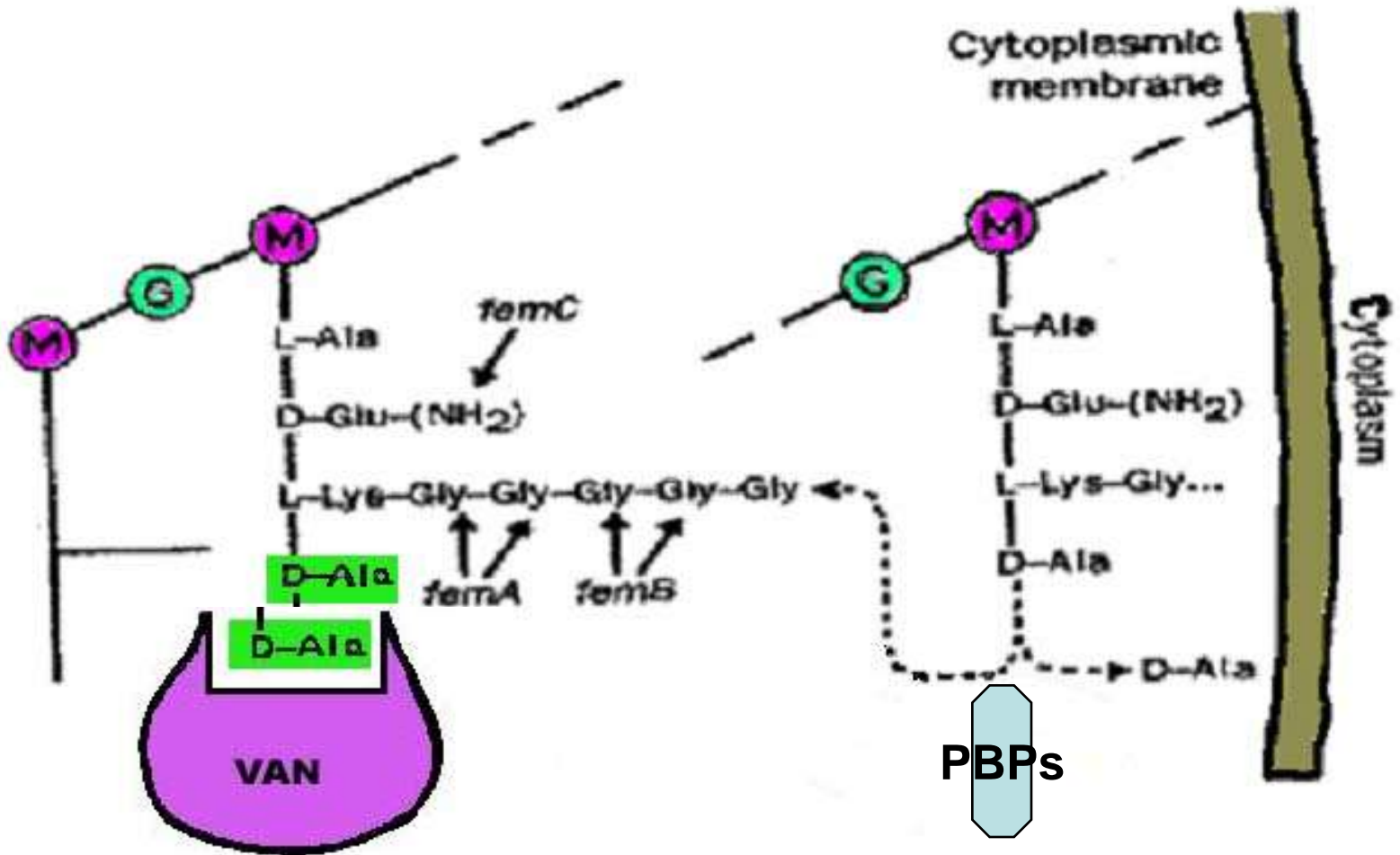
Μηχανισμός δράσης

Αδυναμία σύνθεσης κυτταρικού τοιχώματος
μέσω αναστολής της χιαστής σύνδεσης των
αλύσεων της πεπτιδογλυκάνης

Βακτηριοκτόνο

Βακτηριοστατικό σε εντεροκόκκους

ΔΡΑΣΗ ΓΛΥΚΟΠΕΠΤΙΔΙΩΝ



Αντιμικροβιακό φάσμα

- σταφυλόκοκκοι (μεθικιλίνη-ανθεκτικοί)
- εντερόκοκκοι
- στρεπτόκοκκοι
- Gram-θετικά βακτηρίδια (*Listeria*, κορυνοβακτηρίδιο της διφθερίτιδας, γαλακτοβάκιλλοι κλπ)
- κλωστηρίδια (*Clostridium difficile*)

Γλυκοπεπτίδια και σύγχρονα προβλήματα αντοχής

- Σταφυλόκοκκοι με μέτρια αντοχή σε γλυκοπεπτίδια
- Εντερόκοκκοι με αντοχή σε γλυκοπεπτίδια

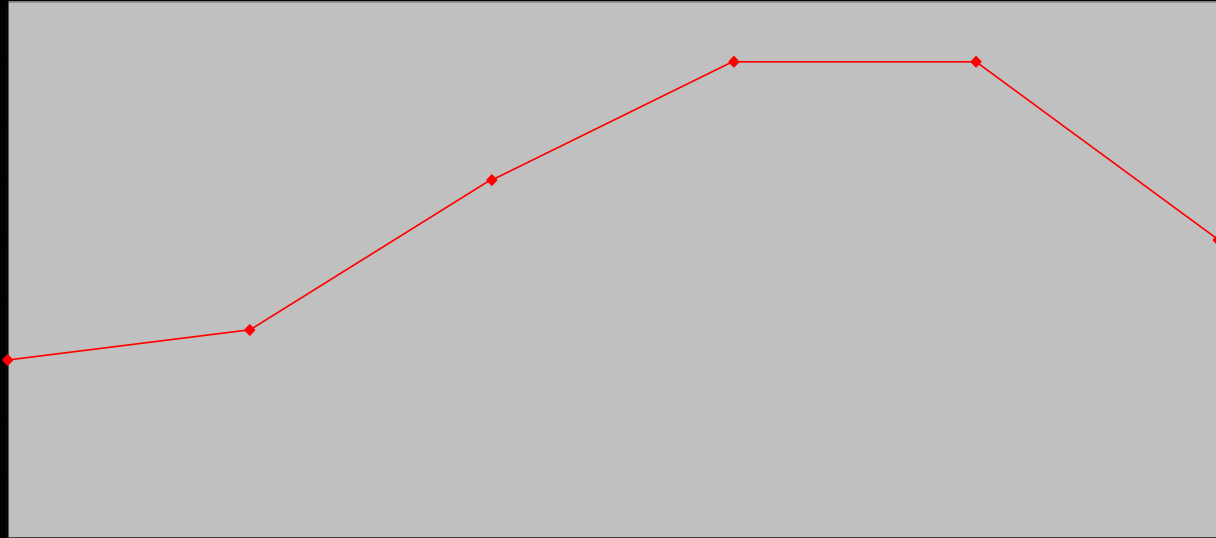
Βανκομυκίνη

**Τα τελευταία 25 χρόνια αποτελούσε
το φάρμακο επιλογής για τη θεραπεία
σοβαρών λοιμώξεων από MRSA**

Γιατί μόνο MRSA??

ΠΩΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΕΤΑΙ ΕΝΑ ΣΤΕΛΕΧΟΣ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*;

λογ₁₀ (αριθμ. ζώντων
βακτηρίων)



Χρόνος επώασης (ώρες)

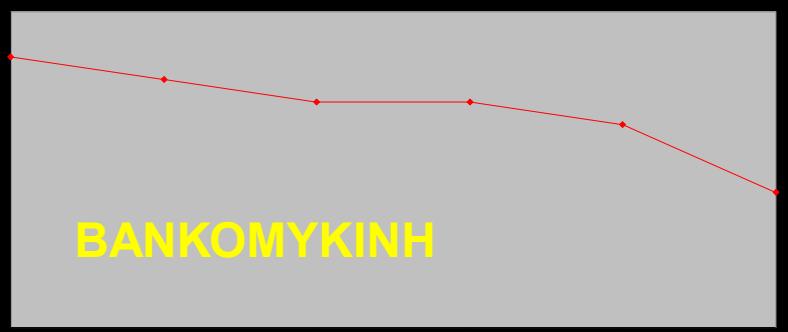
ΠΩΣ ΕΠΗΡΕΑΖΕΤΑΙ Ο ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΕΝΟΣ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*;

λογ₁₀ (αριθμ. ζώντων βακτηρίων)



Χρόνος επώασης (ώρες)

λογ₁₀ (αριθμ. ζώντων βακτηρίων)



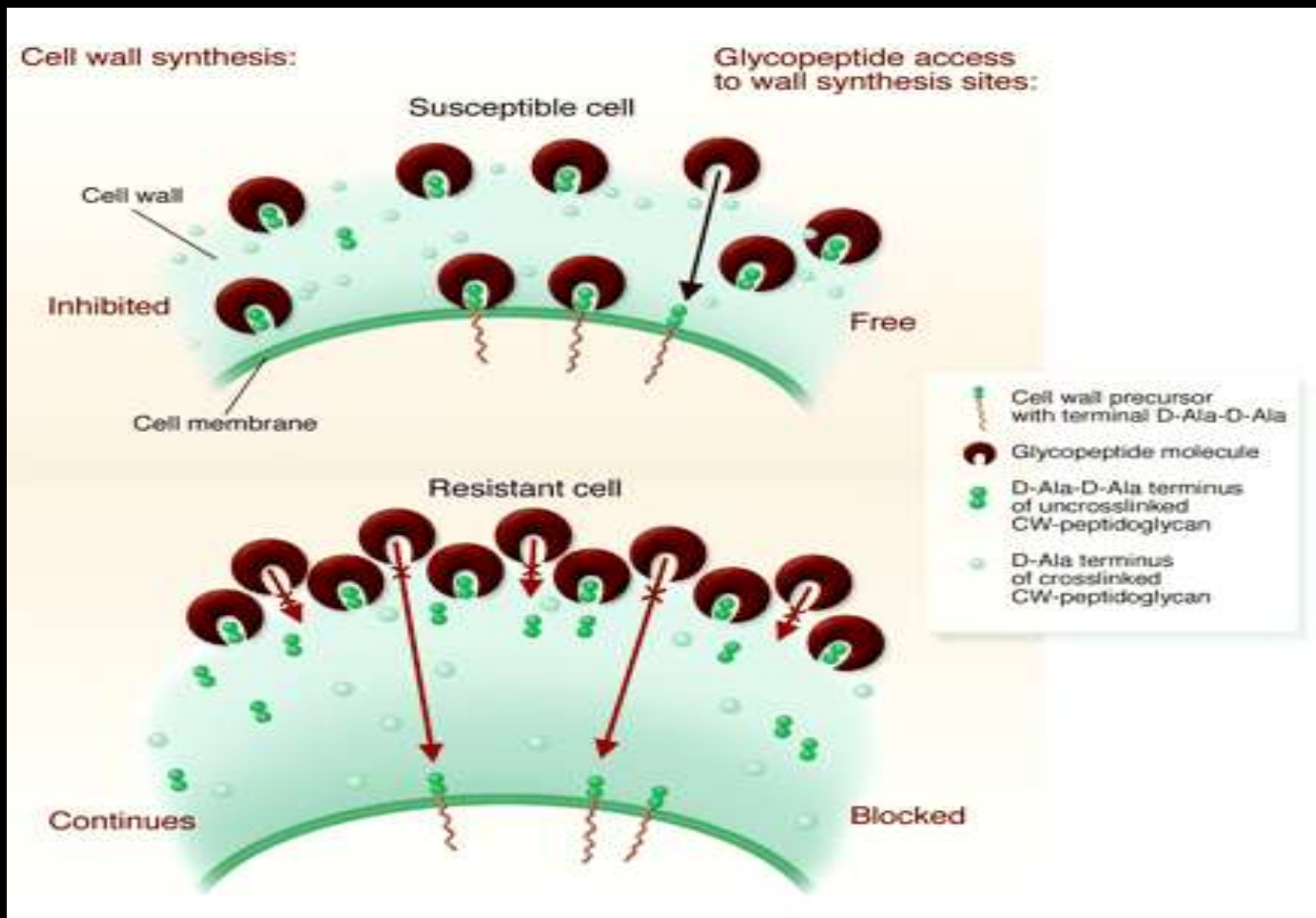
Χρόνος επώασης (ώρες)

**Για λοιμώξεις από σταφυλοκόκκους
ευαίσθητους στη Μεθικιλίνη
θεραπεία εκλογής είναι
οι αντισταφυλοκοκκικές πενικιλίνες**

Βανκομυκίνη

**Εναλλακτική επιλογή για λοιμώξεις από
σταφυλοκόκκους ευαίσθητους στη μεθικιλίνη σε
ασθενείς με ιστορικό αναφυλακτικής αντίδρασης
σε β-λακτάμες**

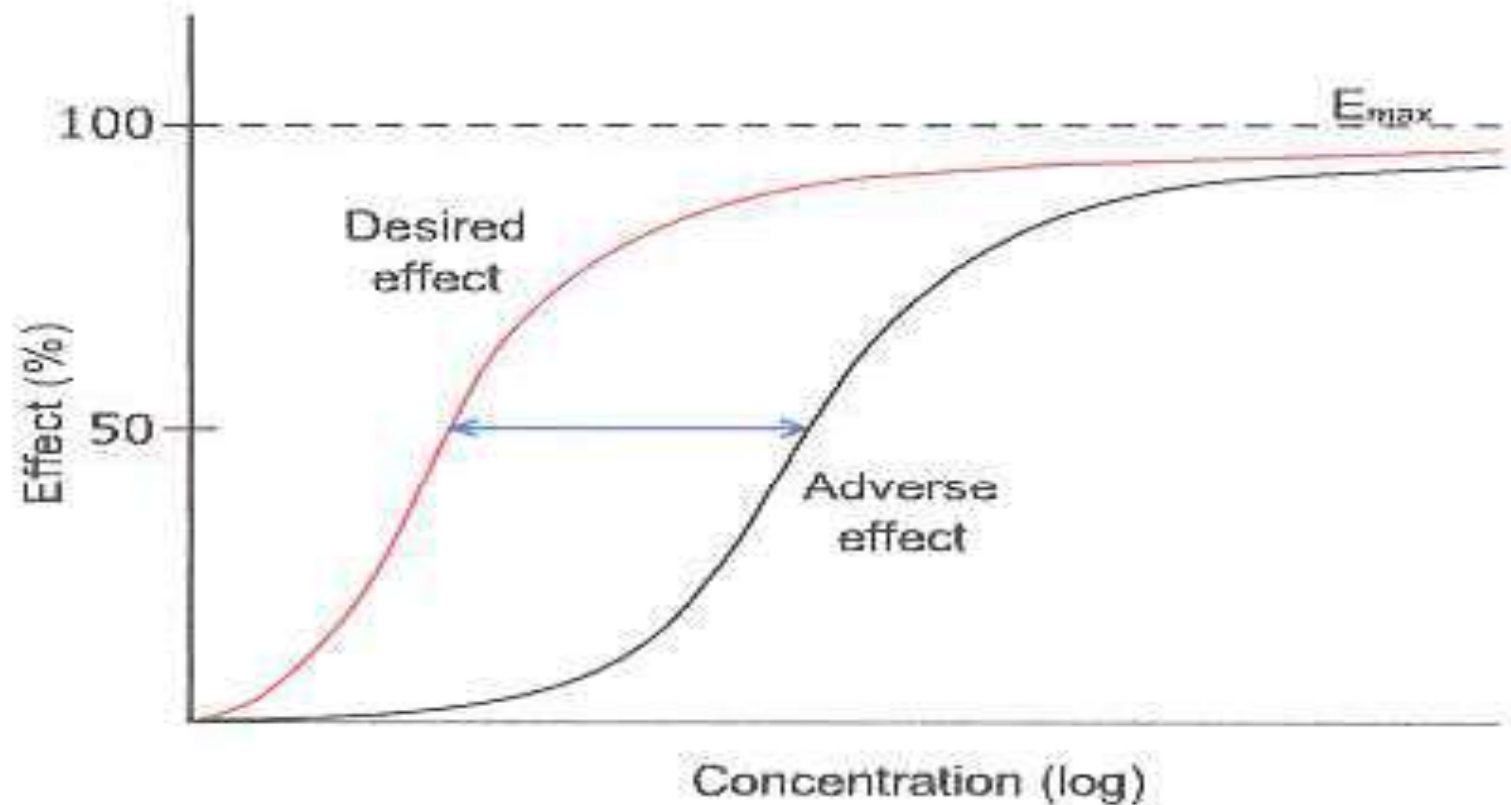
ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΝΤΟΧΗΣ



Φαρμακοδυναμική

- (24 h- AUC/MIC) με μικρή μετα-αντιβιοτική δράση
- χαμηλό θεραπευτικό δείκτη (μέτρηση επιπέδων στον ορό)

ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ



ED50: Ο λόγος της δόσης του φαρμάκου που απαιτείται να σκοτώσει το 50% των πειραματοζώων προς την δόση που απαιτείται να θεραπεύσει το 50% αυτών

Πόσο αποτελεσματικά είναι τα γλυκοπεπτίδια?

Παρακολούθηση επιπέδων στο αίμα ώστε
το ελεύθερο κλάσμα να είναι 4-5 X MIC ή $AUC/MIC > 400$
ελάχιστα επίπεδα 15-20 $\mu\text{g/ml}$

Παρόλα αυτά στελέχη με $MIC=2 \mu\text{g/ml}$ παρουσίασαν μικρότερο ποσοστό ίασης έναντι στελεχών με $MIC \leq 1 \mu\text{g/ml}$ (62% vs 85%) ακόμα και όταν επέτυχαν αυτά τα επίπεδα

Νεφροτοξικότητα !!

Hidayat et al. Arch Intern Med 2006; 166:2138

όλοι οι σταφυλόκοκκοι παρουσιάζουν ετεροαντοχή

Όλα τα μικροβιακά κύτταρα δεν έχουν την ίδια τιμή
ελάχιστης ανασταλτικής πυκνότητας

ετεροαντοχή

1 ανθεκτικό κύτταρο στα 10^6 κύτταρα

Ετεροαντοχή ➔ E-test Van



ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΣΜΟΙ ΣΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ ΣΤΑ ΓΛΥΚΟΠΕΠΤΙΔΙΑ

- Δεν έχει βρεθεί η μοριακή βάση της αντοχής των σταφυλοκόκκων στα γλυκοπεπτίδια
- Δεν έχει διευκρινισθεί από ποια συχνότητα και πέρα η ετερογένεια είναι κλινικά σημαντική
- Δεν έχει εκτιμηθεί η ειδικότητα και η ευαισθησία των διαφόρων μεθόδων στο χαρακτηρισμό της ετερογένειας

S. aureus + CoNS

► MIC breakpoints CLSI 2009

Teicoplanin

Ευαίσθητο	$\leq 8 \mu\text{g/ml}$
Μέτρια ευαίσθητο	$16 \mu\text{g/ml}$
Ανθεκτικό	$\geq 32 \mu\text{g/ml}$

Διατηρείται ο έλεγχος μέσω διάχυσης των δίσκων

S. aureus

► MIC breakpoints CLSI 2009

	Vancomycin	CLSI 2007
Ευαίσθητο	$\leq 2 \mu\text{g/ml}$	(≤ 4)
Μέτρια ευαίσθητο	4-8 $\mu\text{g/ml}$	(8-16)
Ανθεκτικό	$\geq 16 \mu\text{g/ml}$	(≥ 32)

έλεγχος ετεροαντοχής

Κατάργηση του ελέγχου με διάχυση των δίσκων

***S. aureus* + CoNS**
▶ MIC breakpoints EUCAST

Vancomycin

Ευαίσθητο	$\leq 2 \mu\text{g/ml}$
Ανθεκτικό	$\geq 2 \mu\text{g/ml}$

VRSA ➔ υψηλή αντοχή στη βανκομυκίνη
Μεταφορά in vivo του *Van-A*
γονιδίου

◆ Ιούλιος 2002 ► Michigan USA

Λοίμωξη καθετήρα - Διαβήτης

S. aureus ➔ MIC 1024 µg/ml

* Σεπτέμβριος 2002 ► Pennsylvania USA
ποδός (οστεομυελίτιδα ;)

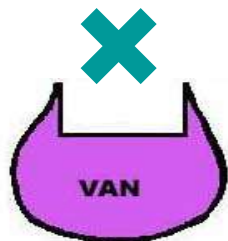
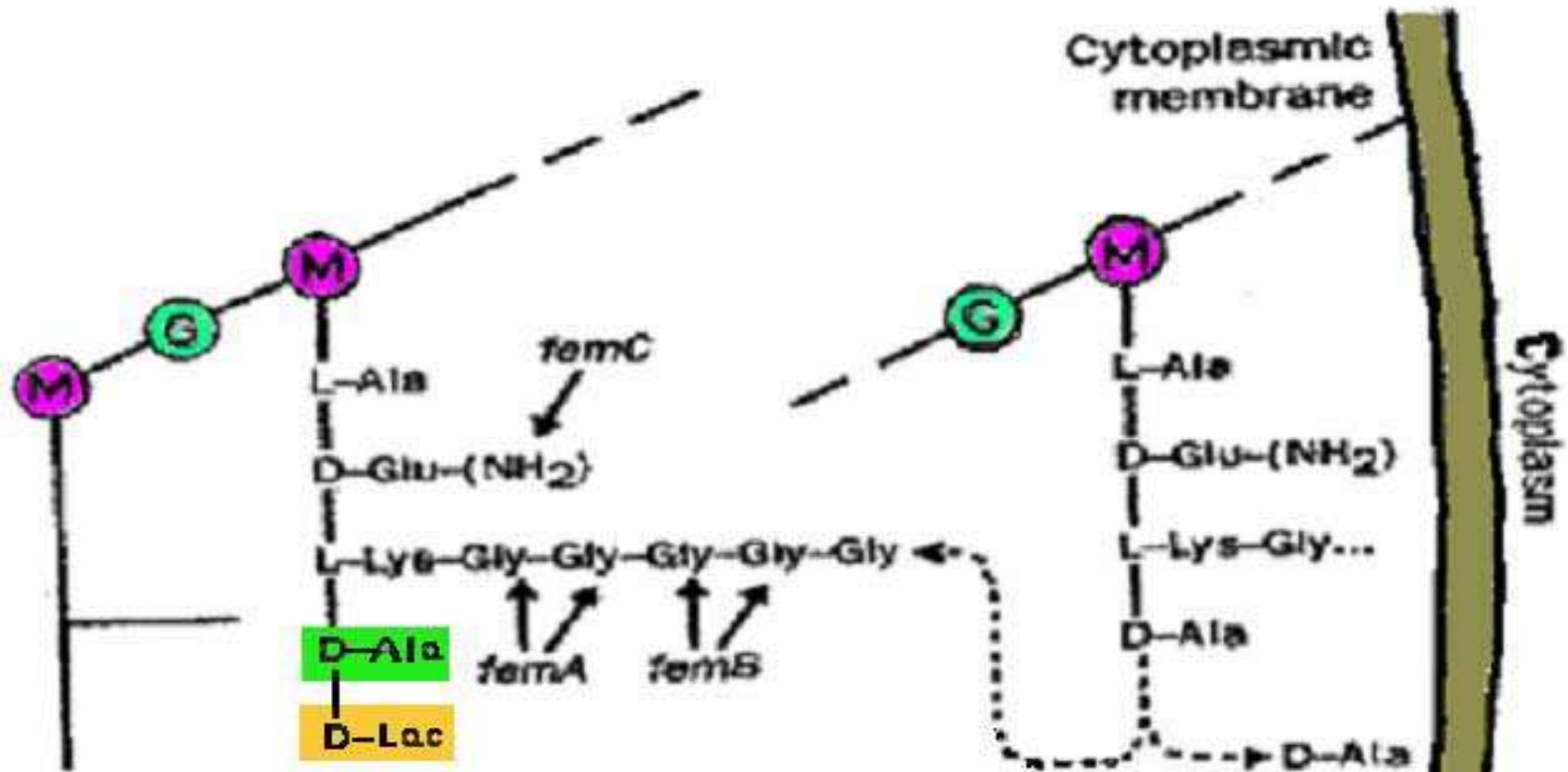
Χρόνιο έλκος

S. aureus ➔ MIC > 64 µg/ml E-test

Εντερόκοκκοι και γλυκοπεπτίδια VRE

- αναδύθηκαν το 1988
- συσχέτιση με χρήση αβοπαρσίνης στην κτηνοτροφία
- *vanA, vanB, vanD* *vanC, vanE, vanG*

ΑΝΤΟΧΗ ΕΝΤΕΡΟΚΟΚΚΩΝ ΣΤΑ ΓΛΥΚΟΠΕΠΤΙΔΙΑ



Enterococcus και φαινότυποι αντοχής στα γλυκοπεπτιδία

▶ Van-A φαινότυπος

Vancomycin^R, Teicoplanin^R

▶ Van-B φαινότυπος

Vancomycin^R, Teicoplanin^S

▶ Van-D φαινότυπος

Vancomycin^R, Teicoplanin^S

▶ Van-C & Van-E φαινότυπος

Vancomycin^{LR/S}, Teicoplanin^S

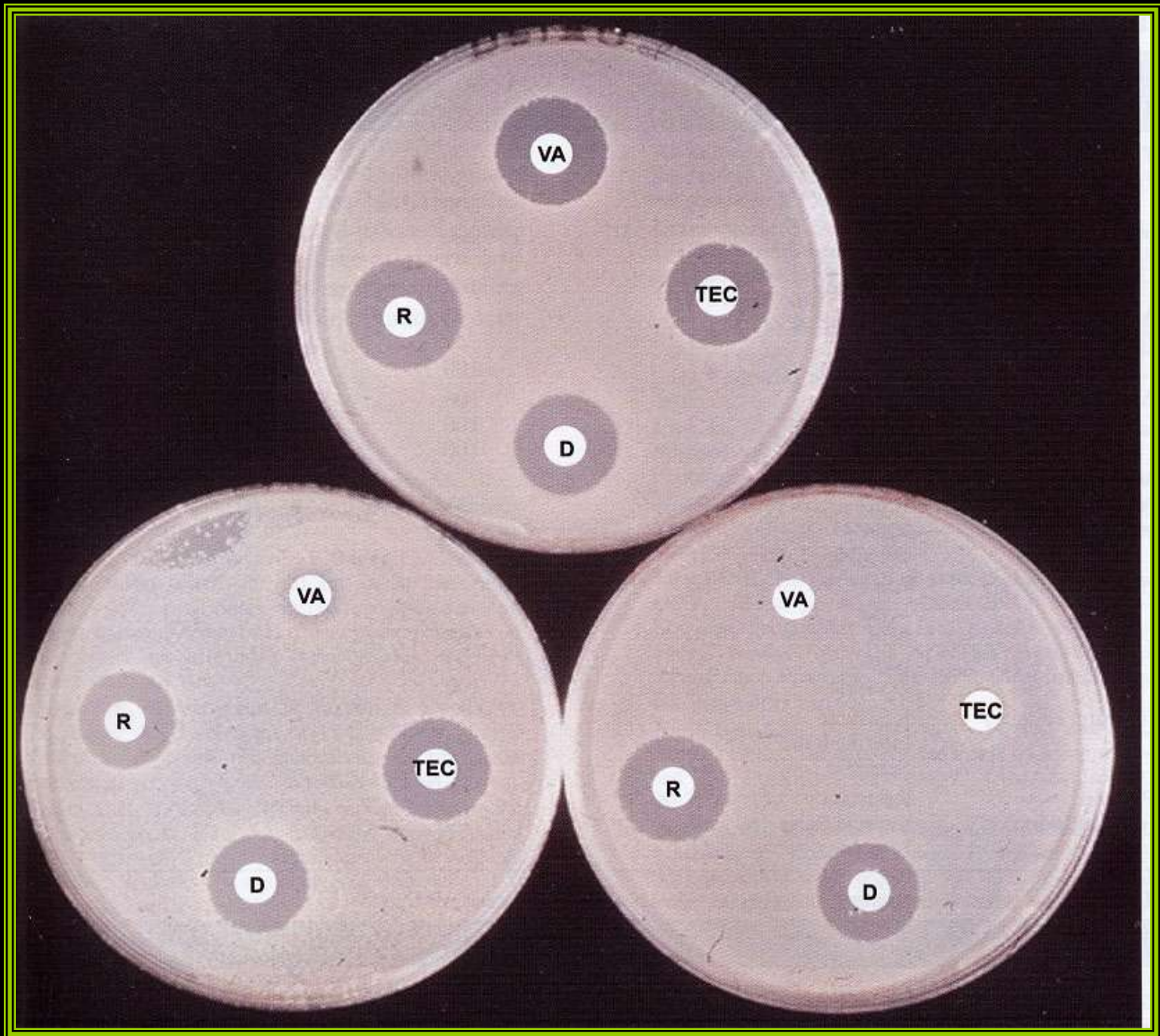
E. casseliflavus *E. gallinarum*,
E. flavescens

- Ενδογενής αντοχή σε γλυκοπεπτίδια
 - Παρουσία του *van-C* γονιδίου (species-specific gene) (χρωμόσωμα)

Αντοχή σε γλυκοπεπτίδια

Απαραίτητη προϋπόθεση η σωστή ταυτοποίηση σε επίπεδο είδους

Vitek II



Enterococci

▶ MIC breakpoints CLSI 2009

Vancomycin

Ευαίσθητο	$\leq 4 \mu\text{g/ml}$
Μέτρια ευαίσθητο	8-16 $\mu\text{g/ml}$
Ανθεκτικό	$\geq 32 \mu\text{g/ml}$

Enterococci

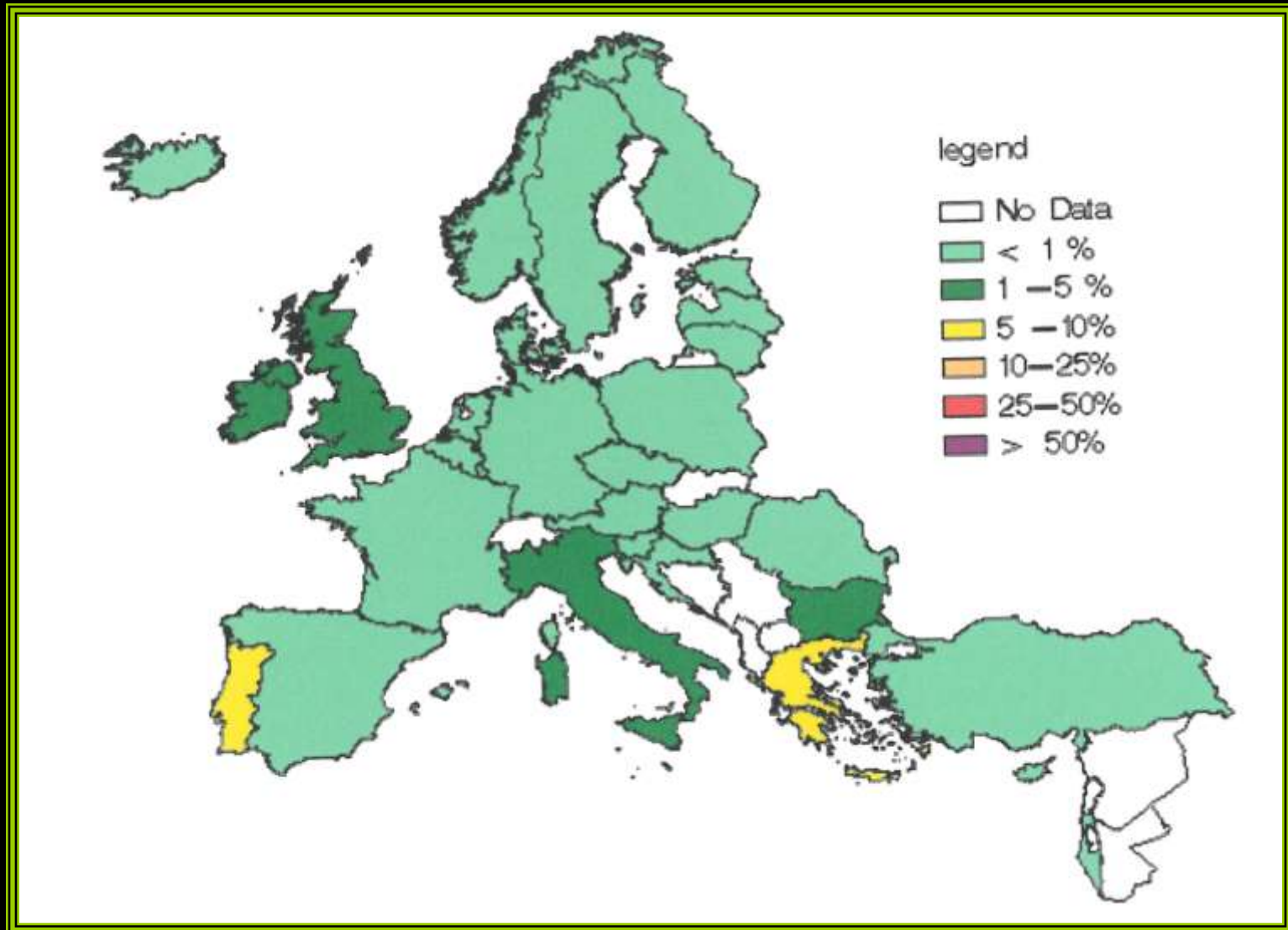
▶ MIC breakpoints EUCAST

Vancomycin

Ευαίσθητο $\leq 4 \mu\text{g/ml}$

Ανθεκτικό $\geq 4 \mu\text{g/ml}$

Αναλογία στελεχών ανθεκτικών στην βανκομυκίνη μεταξύ των κλινικών στελεχών *E. faecalis* από Διεσδοτικές Λοιμώξεις (EARSS 2006).



ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΟΧΗΣ
ΣΕ
ΜΑΚΡΟΛΙΔΕΣ-ΛΙΝΚΟΣΑΜΙΔΕΣ-
ΣΤΡΕΠΤΟΓΡΑΜΙΝΕΣ_B

MLS_B

Ιστορική αναδρομή φυσικά παράγωγα

- Ερυθρομυκίνη (1952, *Streptomyces erythreus*)
- Σπειραμυκίνη (*Streptomyces ambofaciens*)
- Ολεαντομυκίνη (*Streptomyces antibioticus*)
- Γιοσαμυκίνη (*Streptomyces josamyceticus*)

Χημική δομή Μακρολιδών

Μακροκυκλικός δακτύλιος λακτόνης
(μακρολίδιο)

ενωμένος με γλυκοσιδικούς δεσμούς
με διάφορα σάκχαρα

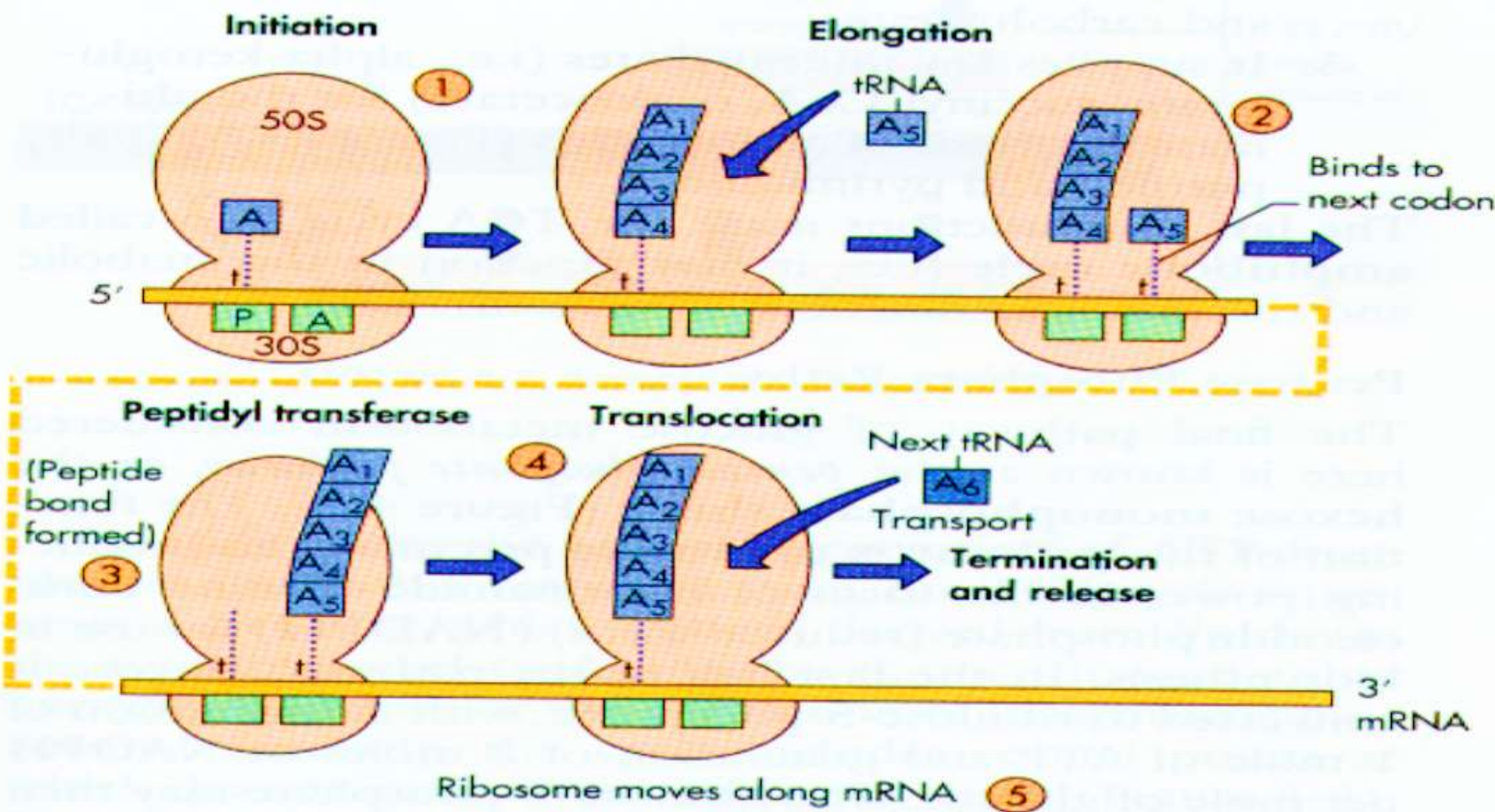
Ταξινόμηση

- **14-μελείς:** clarithromycin, dirithromycin, erythromycin, oleandomycin, roxithromycin
- **15-μελείς:** azithromycin
- **16-μελείς:** josamycine, miokamycine, midecamycine, rokitamycine, spiramycin, tylosin
- **Ketolides:** telithromycin

Μηχανισμός δράσης

- σύνδεση στην 50S υπομονάδα του ριβοσώματος
 - αναστολή στην πρωτεϊνοσύνθεση
 - βακτηριοστατικά αντιβιοτικά

Μηχανισμός δράσης: αναστολή πρωτεϊνοσύνθεσης

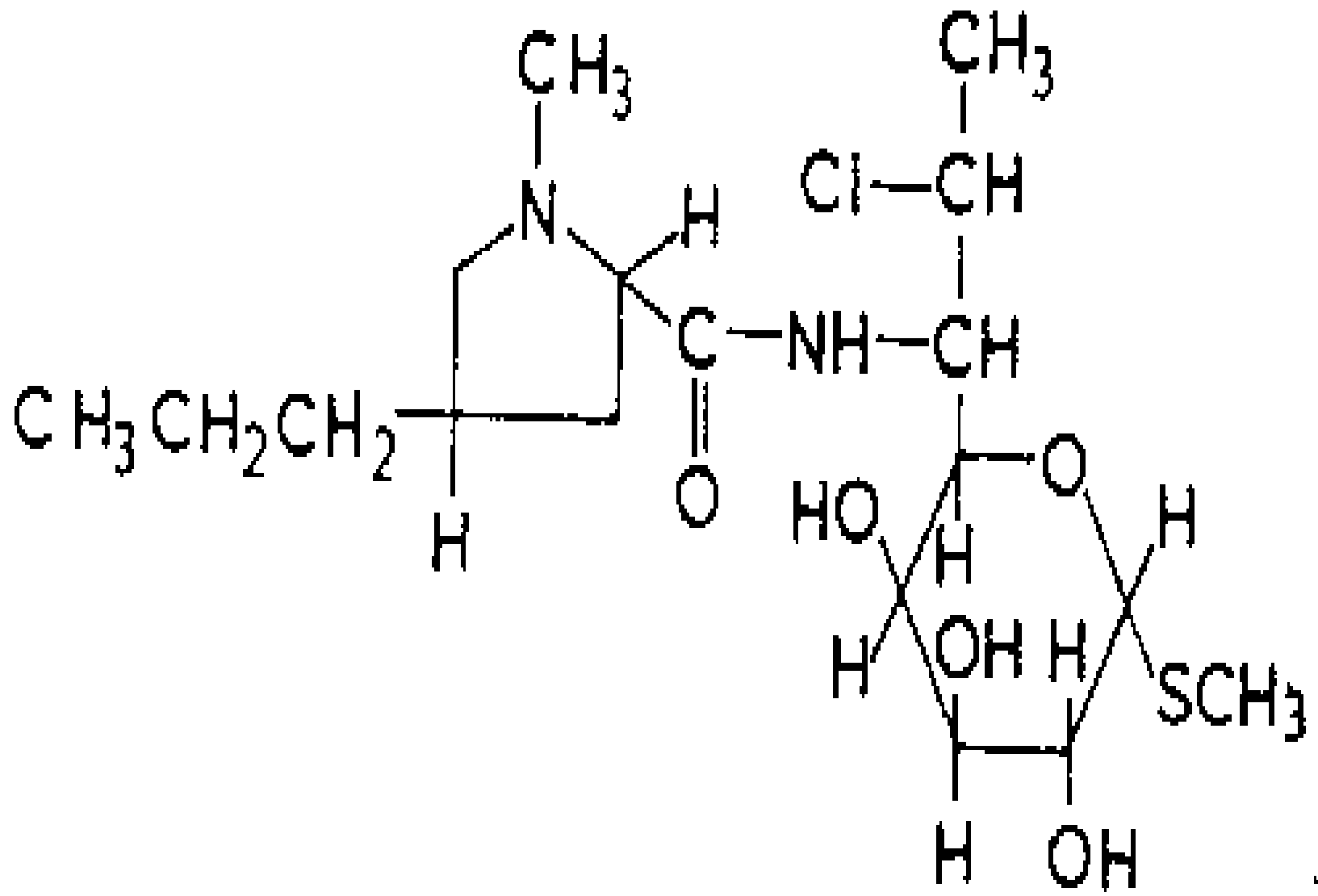


Φυσική αντοχή

- **Εντεροβακτηριακά** (αδυναμία εισόδου μέσω κυτταρικού τοιχώματος λόγω υδροφοβικότητας του μορίου)

Λινκοσαμίδες

- Λινκομυκίνη 1962-*Streptomyces lincolnensis*)
- Κλινταμυκίνη (ημι-συνθετικό παράγωγο)
- Αμινοξύ ενωμένο με αμινοσάκχαρο



Μηχανισμός δράσης

σύνδεση στην 50S υπομονάδα του ριβοσώματος

- αναστολή στην πρωτεϊνοσύνθεση
 - βακτηριοστατικά αντιβιοτικά

ΦΥΣΙΚΗ ΑΝΤΟΧΗ

- Εντερόκοκκοι
- *Staphylococcus cohnii*
- *Haemophilus* spp, *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae*
- *Mycoplasma*
- Εντεροβακτηριακά

Μηχανισμοί αντοχής σε MLS_B

- Μηχανισμός αντλίας
- Τροποποίηση στόχου δράσης

Μηχανισμός αντλίας

- Μακρολίδη (*mef-gene*) Μ-φαινότυπος
- Αντοχή σε 14-15 μελείς μακρολίδες,
- όχι 16 μελείς , telithromycin

- Λινκοσαμίδες (L-φαινότυπος)
- Αντοχή σε λινκομυκίνη (κλινταμυκίνη S)

- Στρεπτογραμίνη B (S_B -φαινότυπος)

Τροποποίηση στόχου δράσης

μεθυλίωση της αδενίνης στην 2058 θέση
(*erm*)

MLS_B φαινότυπος

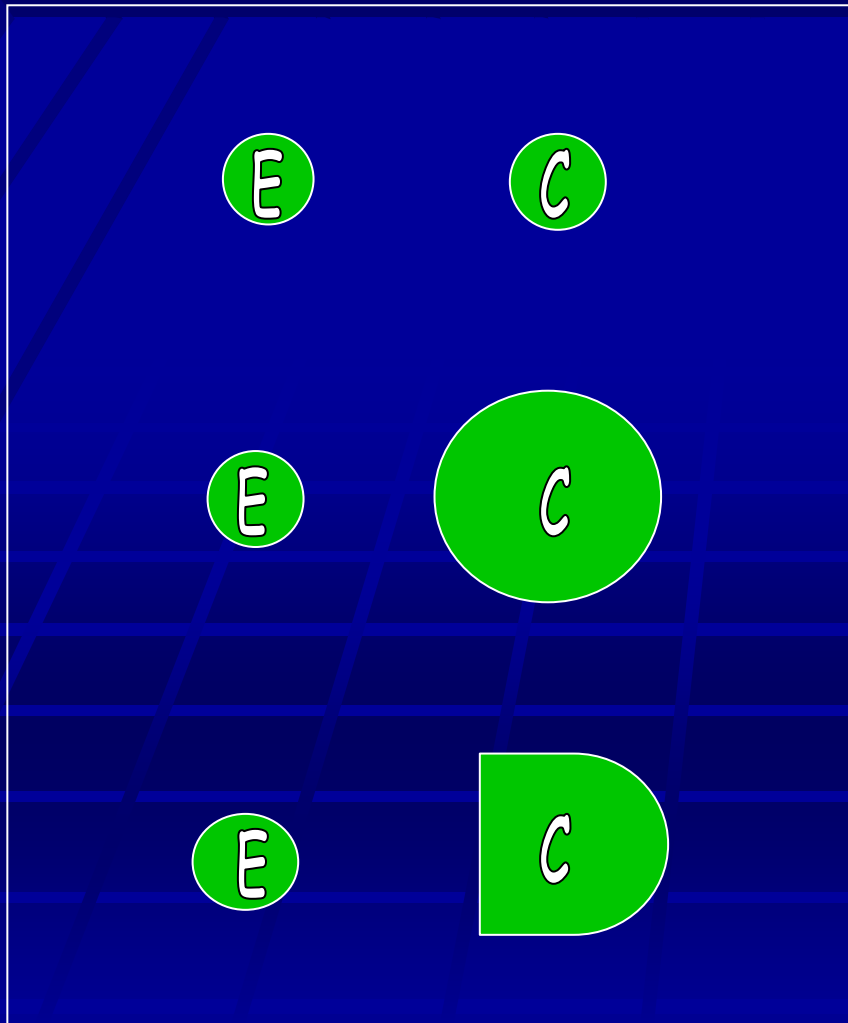
αντοχή

Μακρολίδες

Λινκοσαμίδες

Στρεπτογραμίνη Β

Πιθανοί Φαινότυποι Αντοχής στις M και L



- **cMLSB φαινότυπος**
(ιδιοσυστασιακός)
- **M φαινότυπος Dtest (-)**
- **iMLSB φαινότυπος**
(επαγωγίμος)απαιτεί
έκθεση του βακτηρίου
στον επαγωγέα
(ερυθρομυκίνη) **Dtest (+)**

ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΦΑΙΝΟΤΥΠΩΝ

MLS_{ΒΕΤΤΑΓΩΓΙΜΟΥ} ΤΥΠΟΥ ΚΑΙ Μ

- Δοκιμασία διπλών δίσκων
(ερυθρομυκίνη, κλινταμυκίνη)



Φαινότυποι αντοχής

- **MLS_B συστασιακού τύπου:** αντοχή ερυθρομυκίνη, κλινταμυκίνη
- **MLS_B επαγωγίμου τύπου:** αντοχή ερυθρομυκίνη, ευαισθησία κλινταμυκίνη
- **M - φαινότυπος** : αντοχή ερυθρομυκίνη, ευαισθησία κλινταμυκίνη

Στρεπτόκοκκοι και Μακρολίδες

- M-φαινότυπος: αντοχή σε 14-και 15 μελείς μακρολίδες
(εξαιρείται η telithromycin)
ευαισθησία σε 16-μελείς, λινκοσαμίδες
- MLS_B –φαινότυπος : αντοχή σε μακρολίδες και
λινκοσαμίδες
ακόμη και σε περίπτωση επαγωγίμου τύπου

EUCAST rule

- If resistant to erythromycin but susceptible to clindamycin or lincomycin, test for inducible MLS_B resistance. If negative, report susceptible to clindamycin and lincomycin. If positive, either report as resistant to clindamycin and lincomycin or report as susceptible with a warning
“ Clinical failure during treatment with lincomycin or clindamycin may occur by selection of constitutively resistant mutants. “ The use of clindamycin/lincomycin is probably best avoided in severe infections.

- **CLSI 2006**

Organisms that show flattening of the clindamycin zone adjacent to the erythromycin disk(referred to as D zone) have inducible clindamycin resistance. Such isolates should be reported as *clindamycin resistant* . A comment that “this isolate is presumed to be resistant based on detection of inducible clindamycin resistance. Clindamycin may still be effective in some patients” may be included.

Στρεπτογραμμίνες Α και Β

- *Streptomyces*
- δύο ξεχωριστές τάξεις κυκλικών μορίων
- Α: νταλφοπριστίνη, βιρτζινιαμυκίνη Μ, πριστιναμυκίνη ΙΙΑ
- Β: κινοπριστίνη, βιρτζινιαμυκίνη Σ, πριστιναμυκίνη ΙΑ

- νταλφοπριστίνη-κινοπριστίνη 70 / 30
- βακτηριοκτόνο

νταλφοπριστίνη-κινοπριστίνη

- 10 φορές μεγαλύτερη δραστικότητα
- 1999 στην Ευρώπη και ΗΠΑ

Αντιμικροβιακό φάσμα

Gram(+)κόκκοι

πλην

E. faecalis

S. cohnii

S. sciuri

Μηχανισμοί αντοχής

Στρεπτογραμμίνη Α

- υδρόλυση από ακετυλοτρανσφεράσες
- μηχανισμός αντλίας

Στρεπτογραμμίνη Β

- τροποποίηση στόχου δράσης στο ριβόσωμα
- υδρόλυση του φαρμάκου
- μηχανισμός αντλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΟΛΟΓΙΑ