



Pumpen, Poren und Enzyme: Die Waffen der Bakterien gegen den antibiotischen Druck

Dr. med. J.-W. Wittke



Dr. med. J.-W. Wittke
Dr. med. A. Gerritzen
Dr. med. H. D. Köster
Prof. Dr. med. W. N. Kühn-Velten
PD Dr. med. K. Klingler
Ärzte für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie
und Infektionsepidemiologie, Biochemie; Umweltmedizin

09/2012

Haferwende 12
D-28357 Bremen
Telefon (0421) 2 07 20

Die Waffen der Bakterien



Resistenzmechanismen:

Veränderung der Penetration:

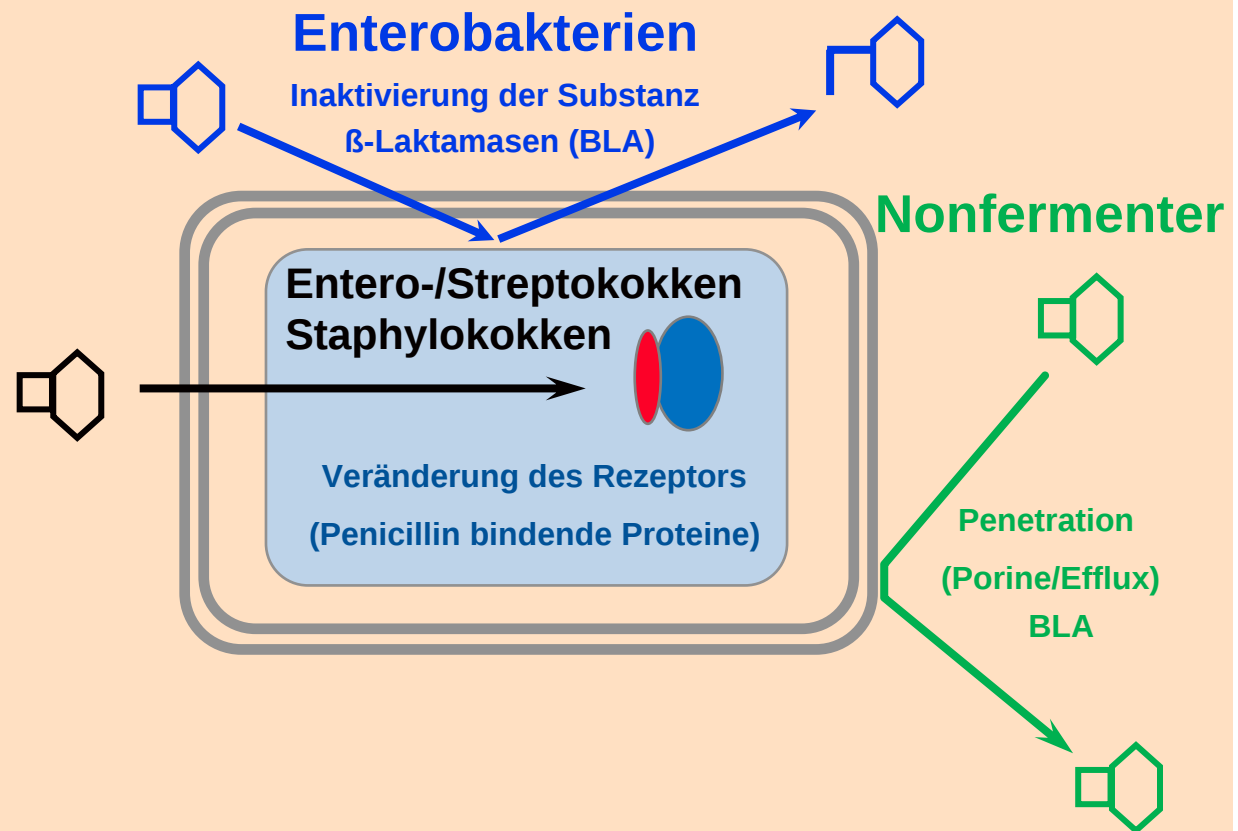
- Porine: Konformationsänderung
Verlust
- Efflux-Systeme
Membran-ATPasen, Carrier

Expression von β -Laktamasen:

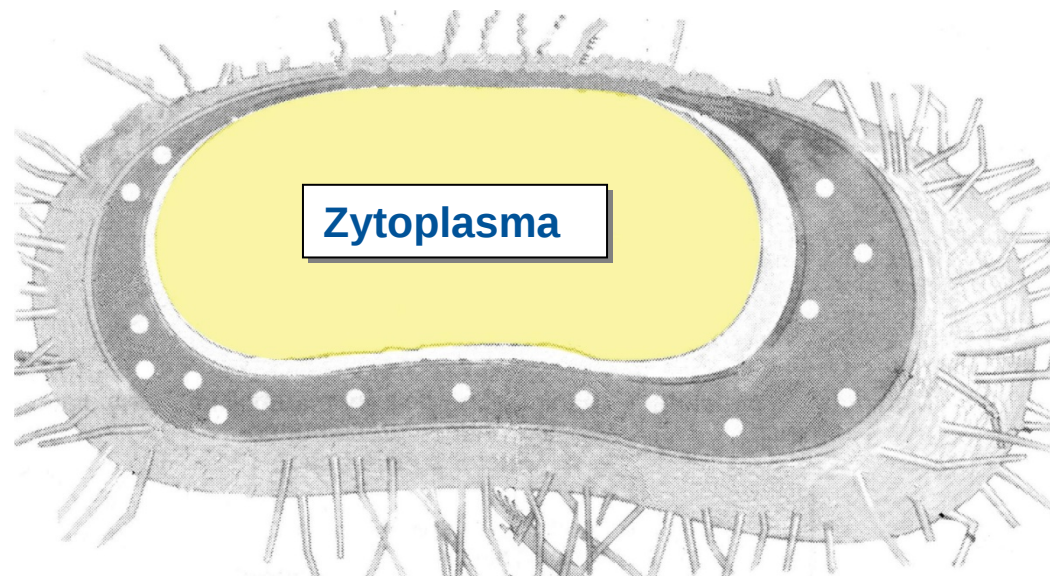
- Penicillinasen
- Cephalosporinasen
- Carbapenemasen

Veränderung des Rezeptors (PBP's):

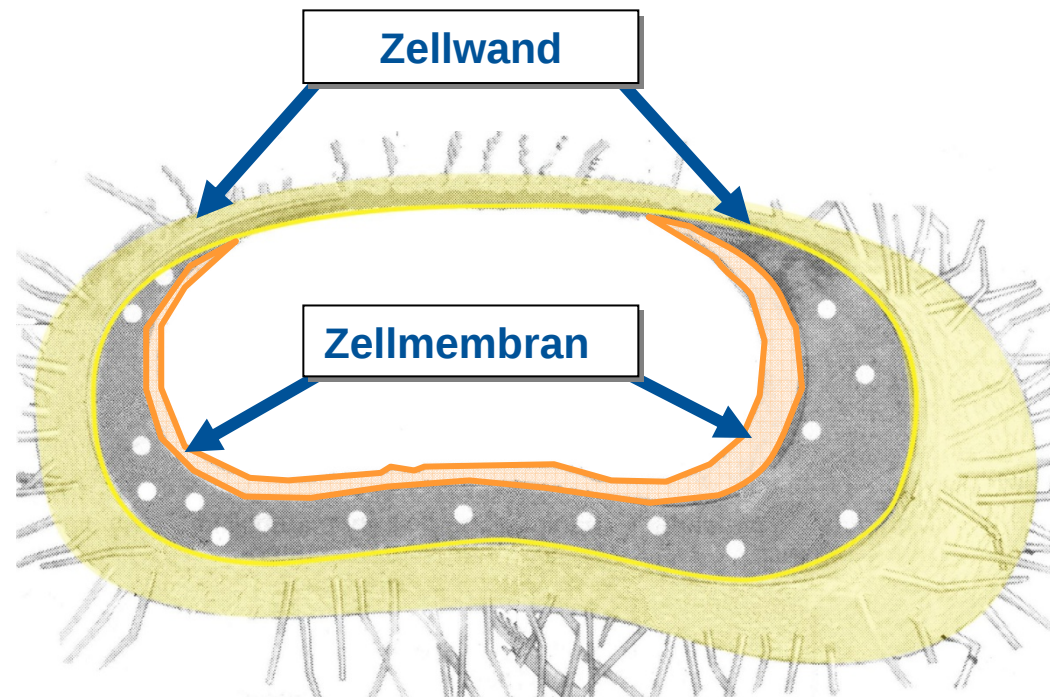
- Staphylokokken (PBP-2a)
- Enterokokken (PBP-5)
- Streptokokken (PBP- 1A, 2B, 2X)



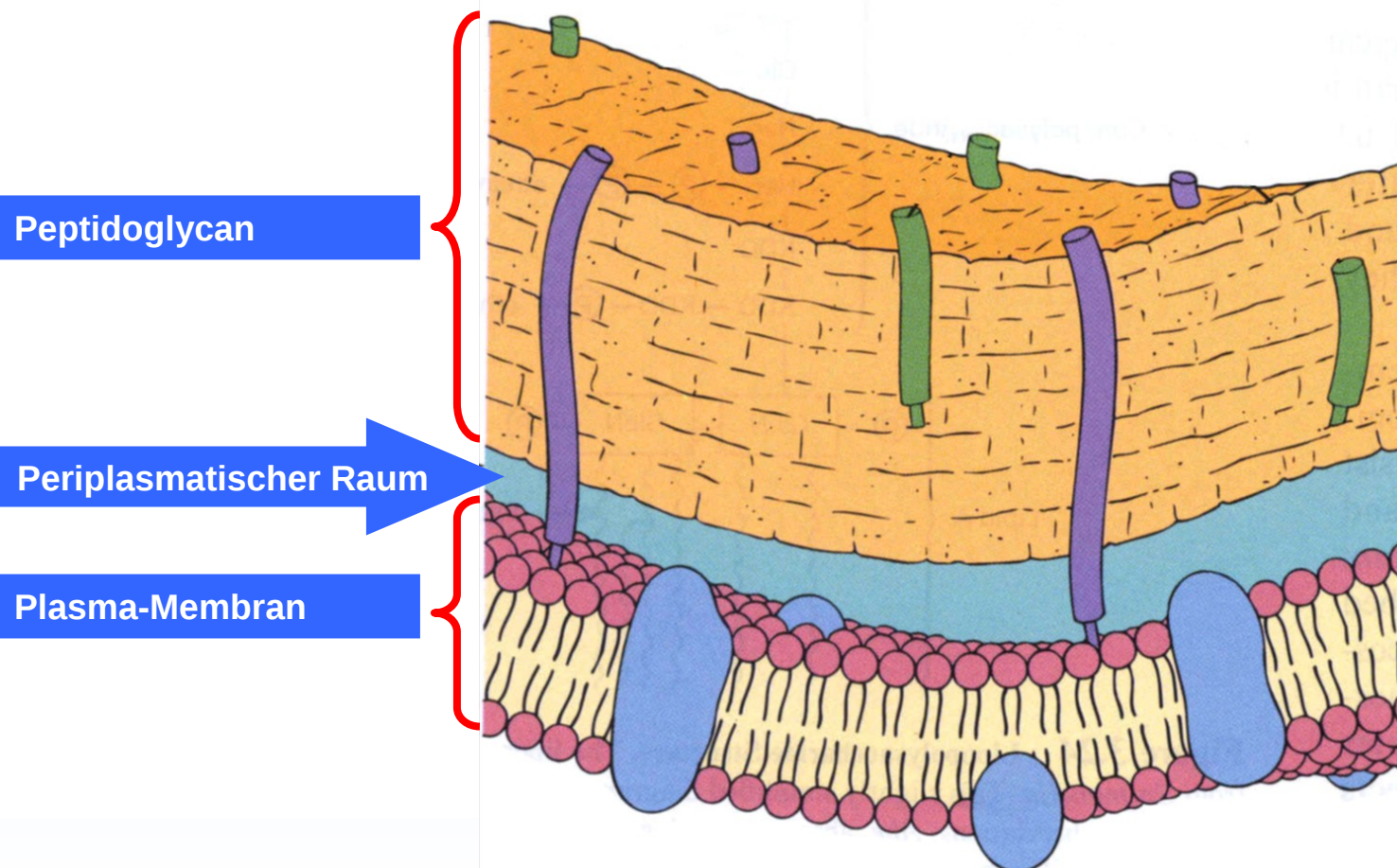
Schematische Darstellung einer Bakterienzelle



Schematische Darstellung einer Bakterienzelle



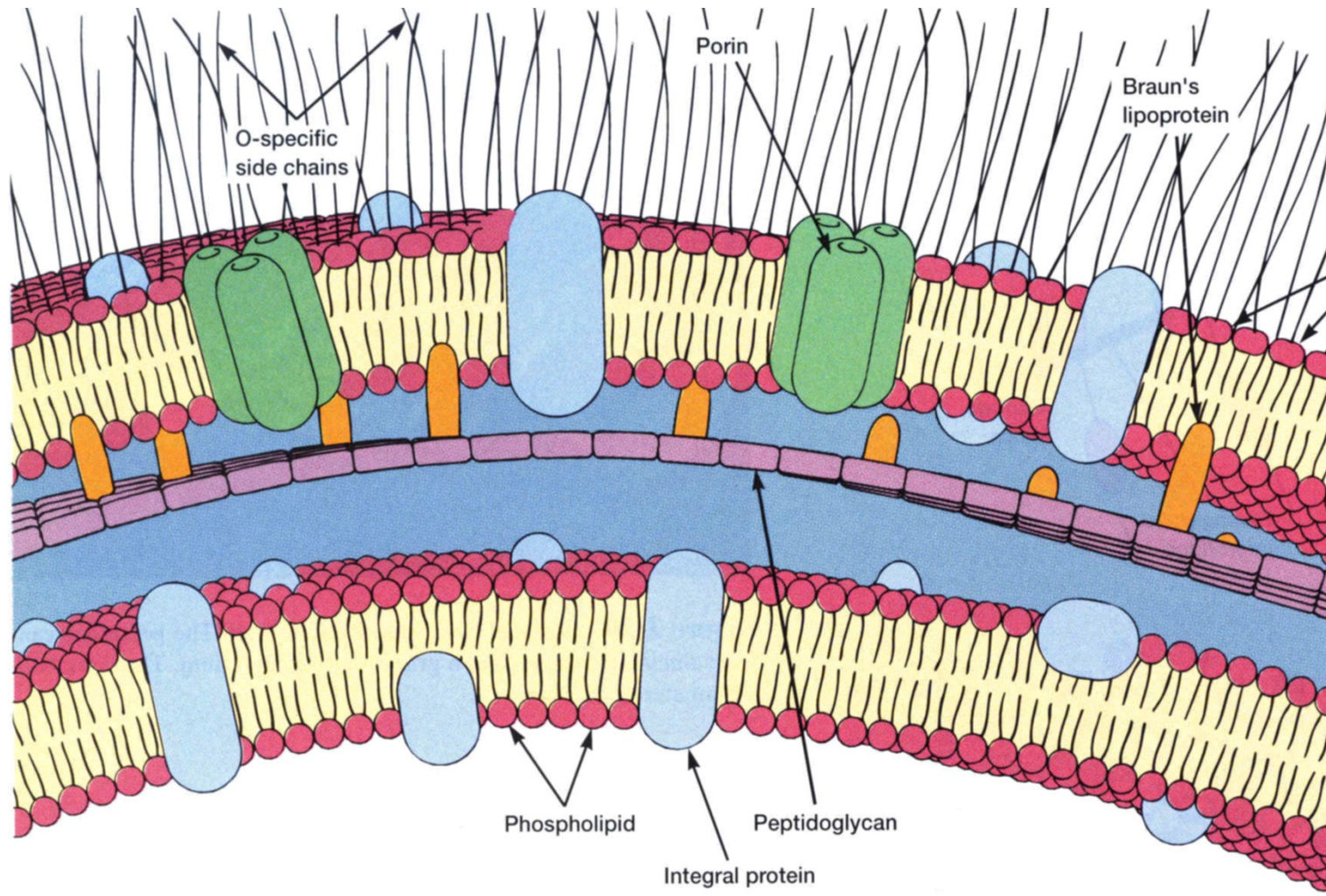
Zellwandaufbau grampositiver Bakterien



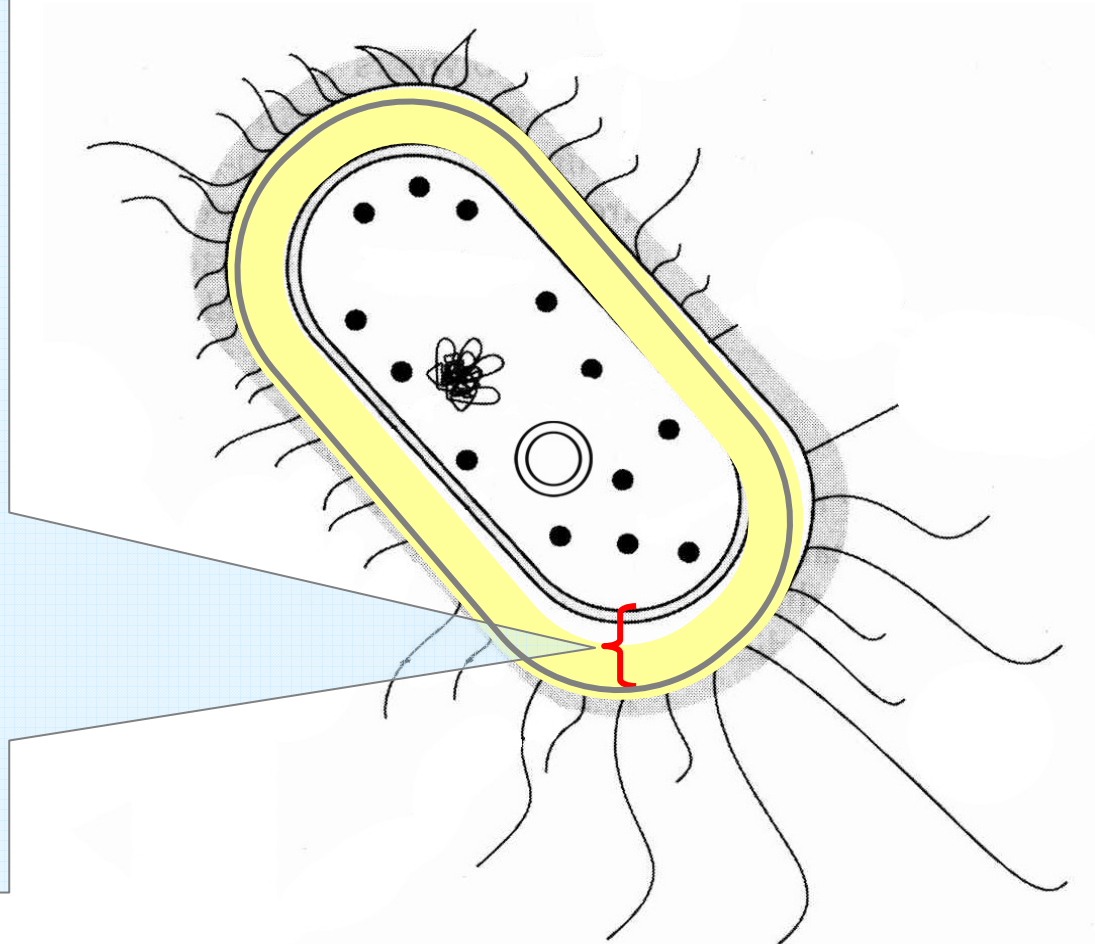
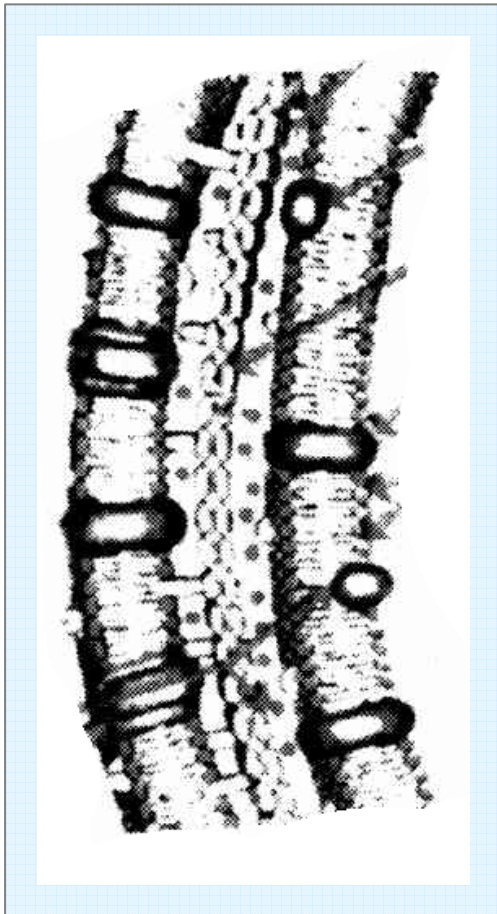
Zellwandaufbau im Elektronenmikroskop



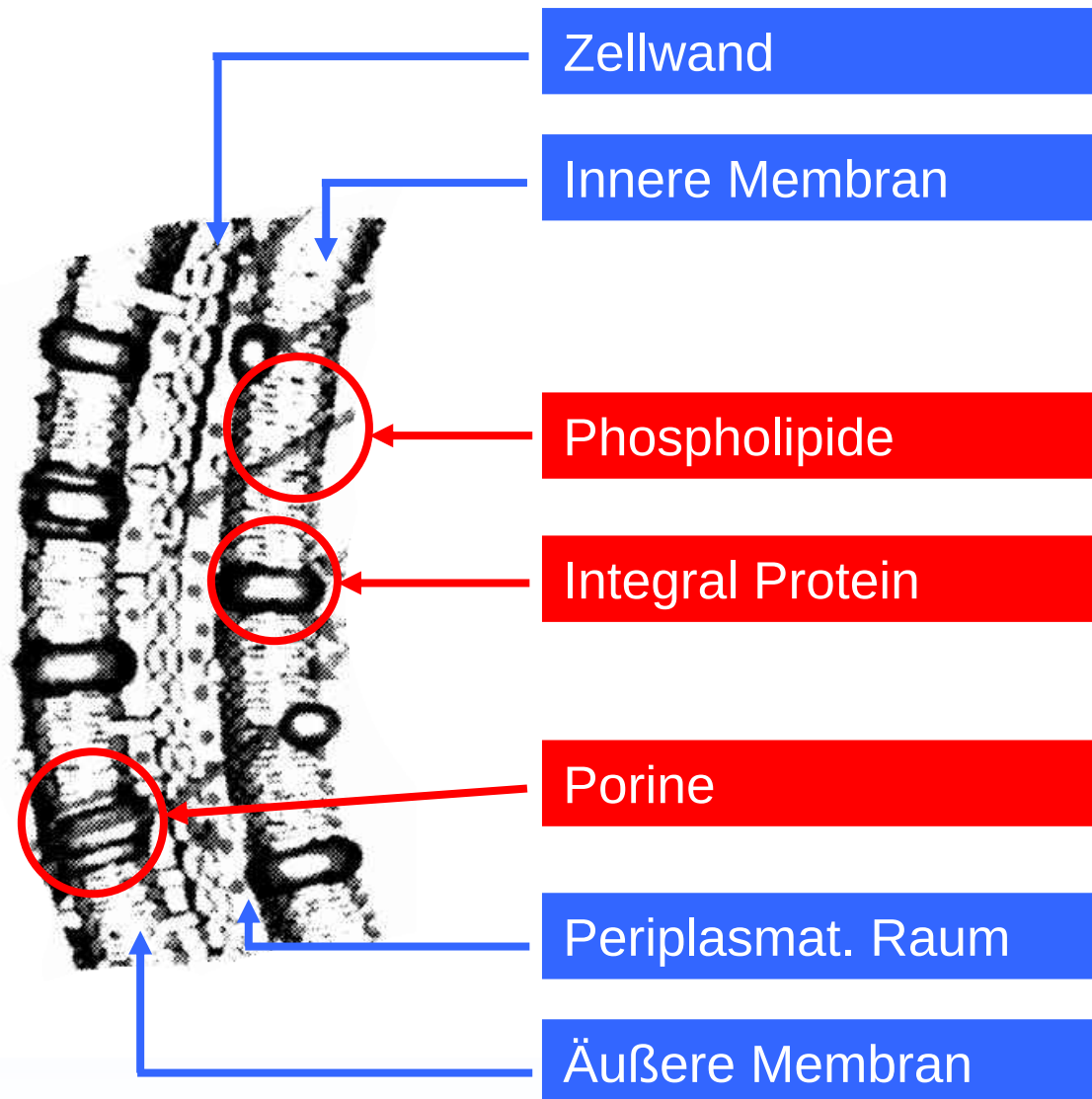
Zellwandaufbau gramnegativer Bakterien



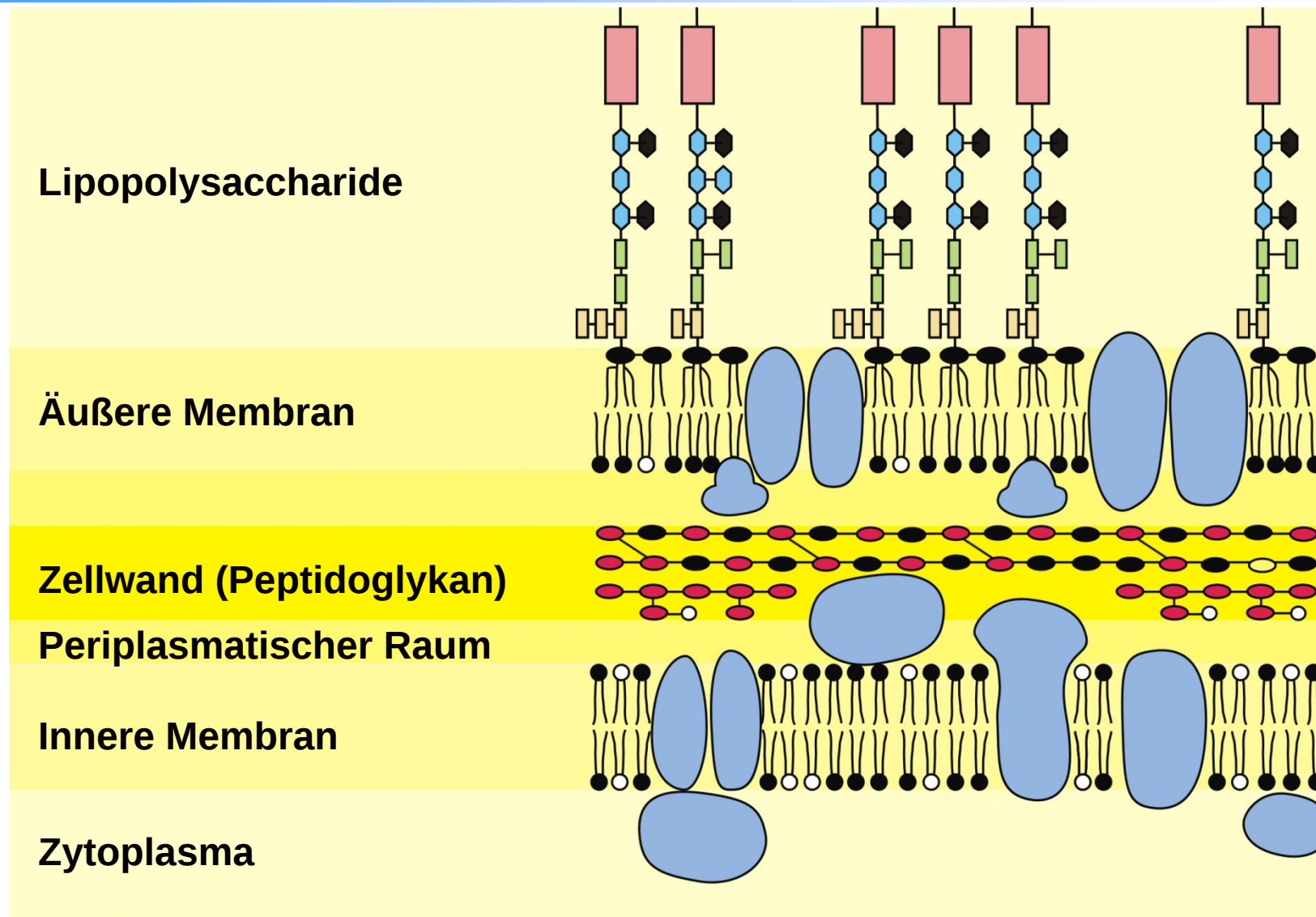
Wandaufbau im Elektronenmikroskop (1)



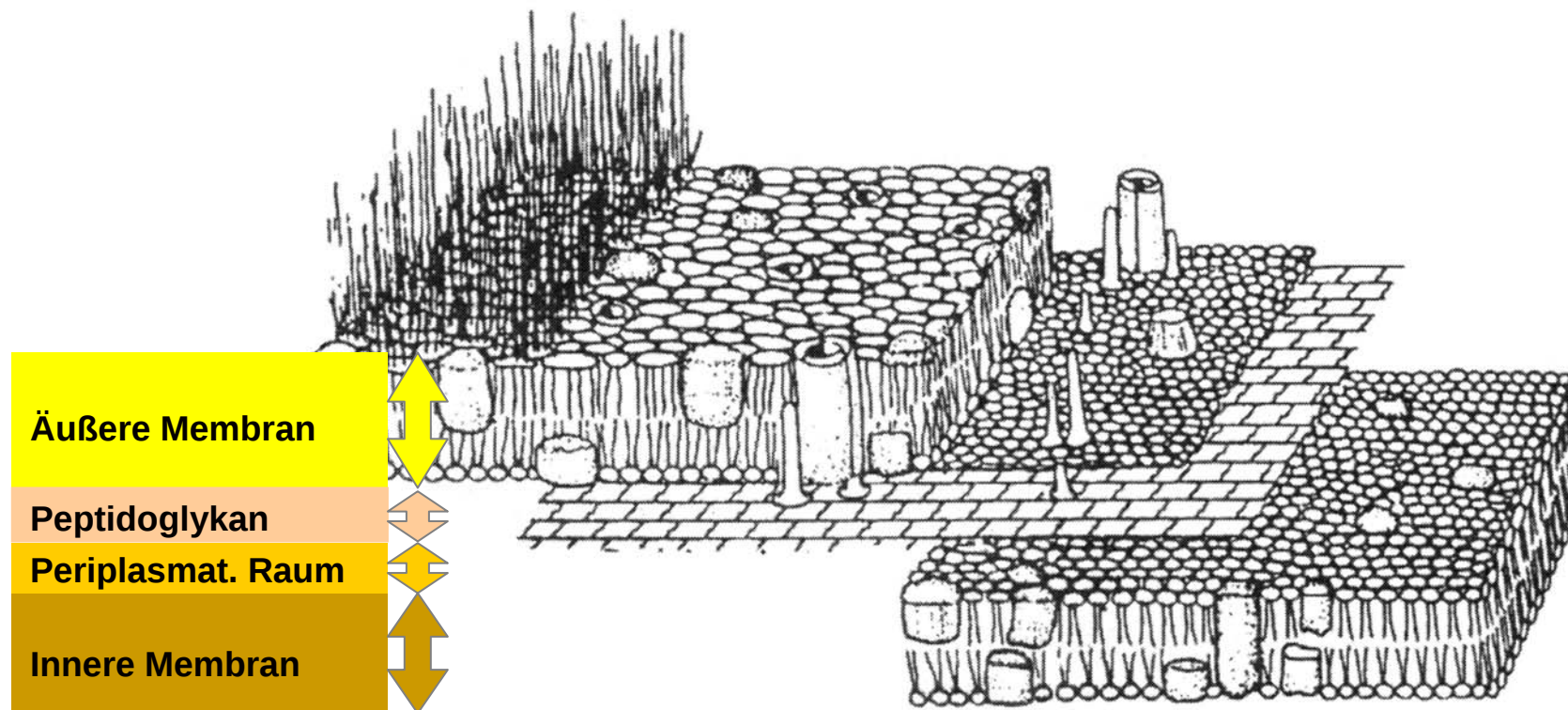
Wandaufbau im Elektronenmikroskop (2)



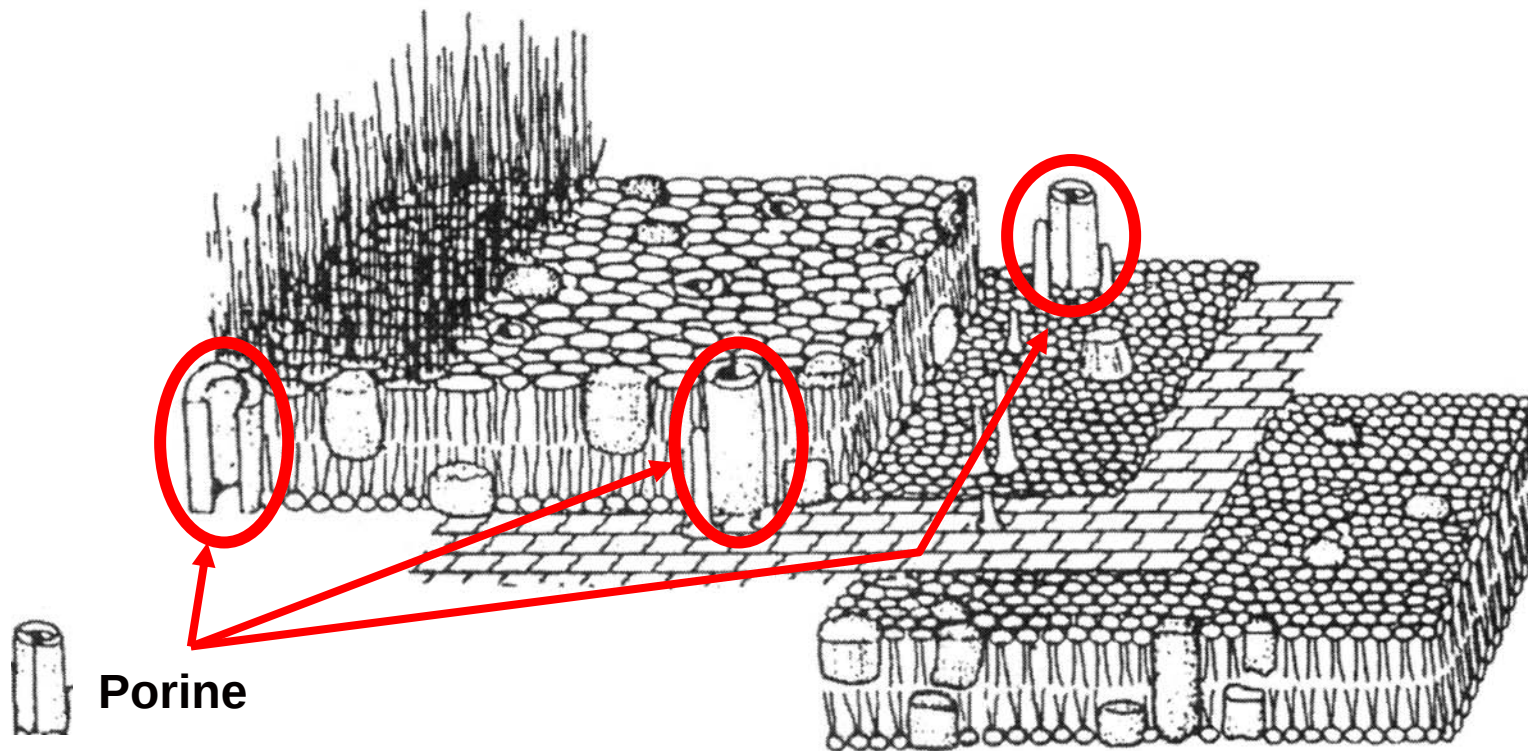
Wandaufbau gramnegativer Bakterien



Wandaufbau gramnegativer Bakterien



Wandaufbau gramnegativer Bakterien



Die Waffen: Poren und Pumpen



Resistenzmechanismus:

Veränderung der Penetration:

- Porine:

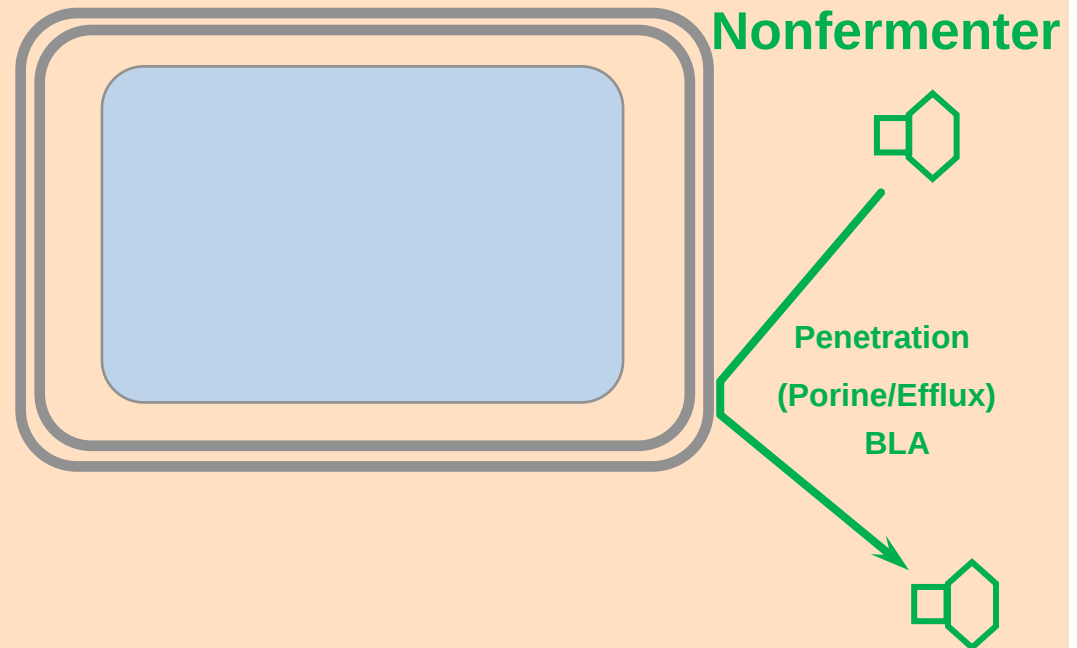
Konformationsänderung

Verlust

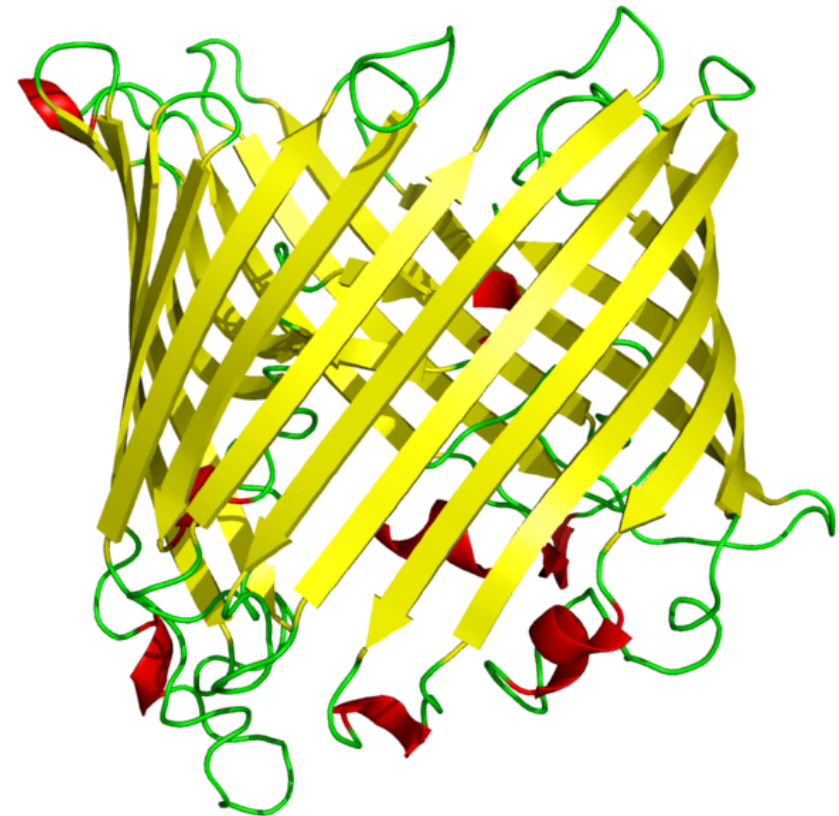
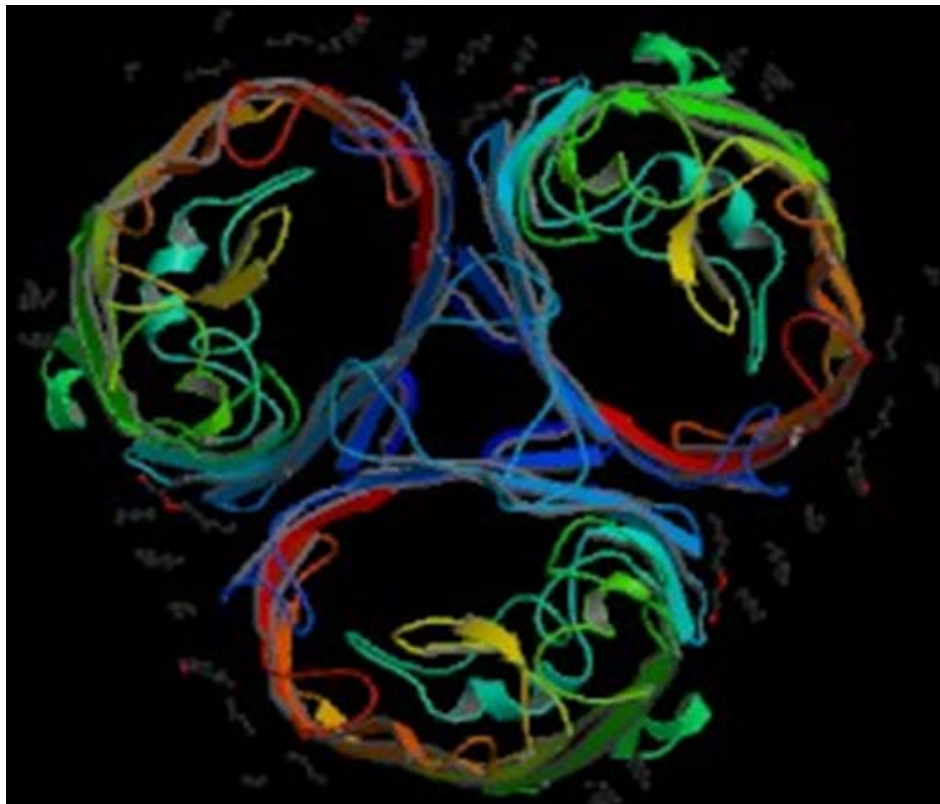
z. B Opr-D (D2-Porin)
[*Ps. aeruginosa*]

- Efflux-Systeme

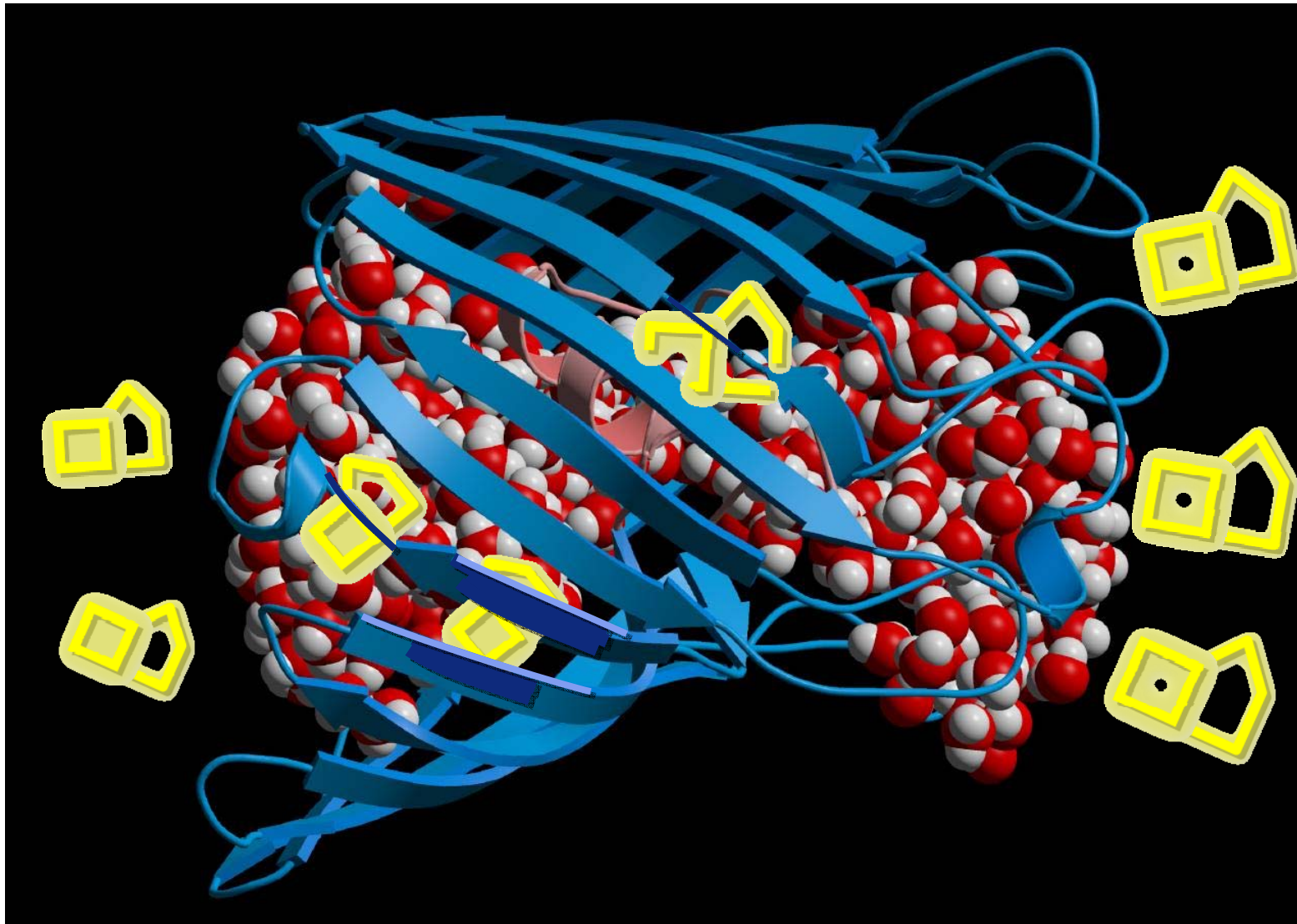
z. B Mex-AB-Opr-M
[*Ps. aeruginosa*]



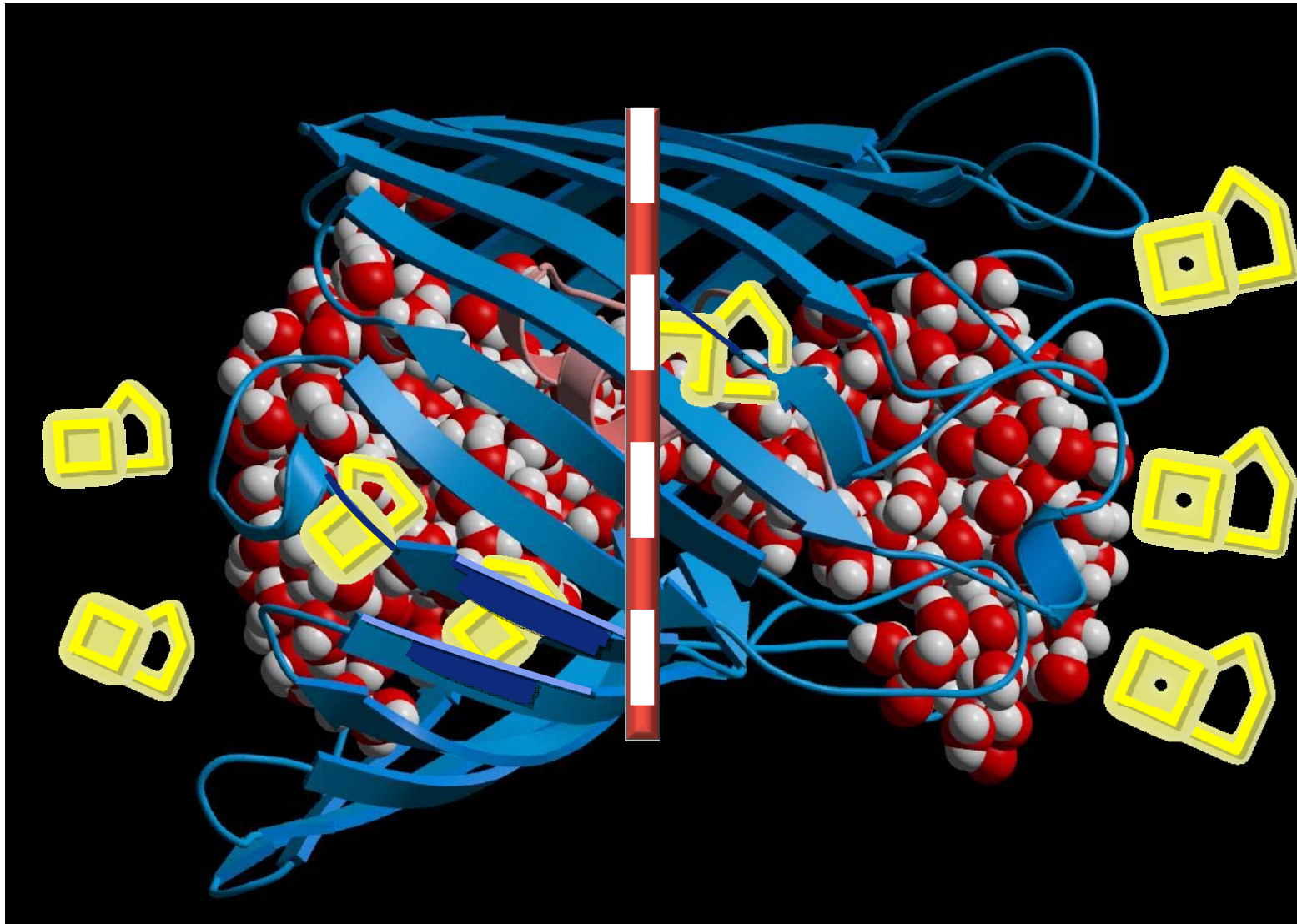
Porine, schematische Darstellung



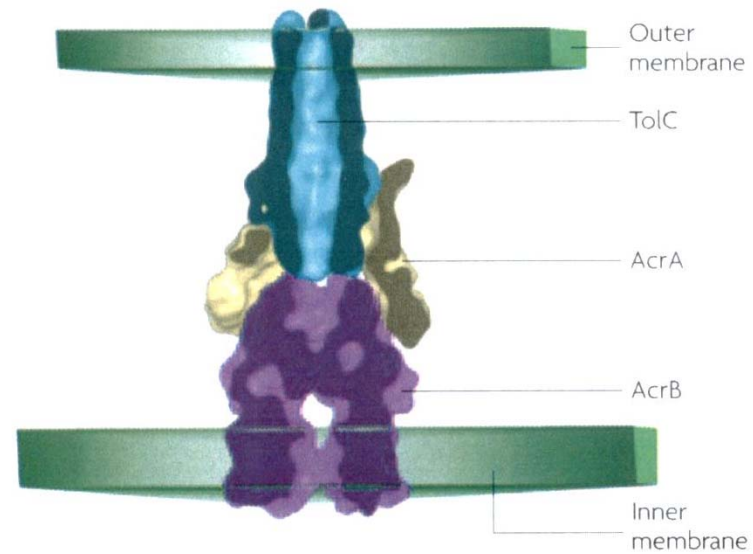
Porinfunktion



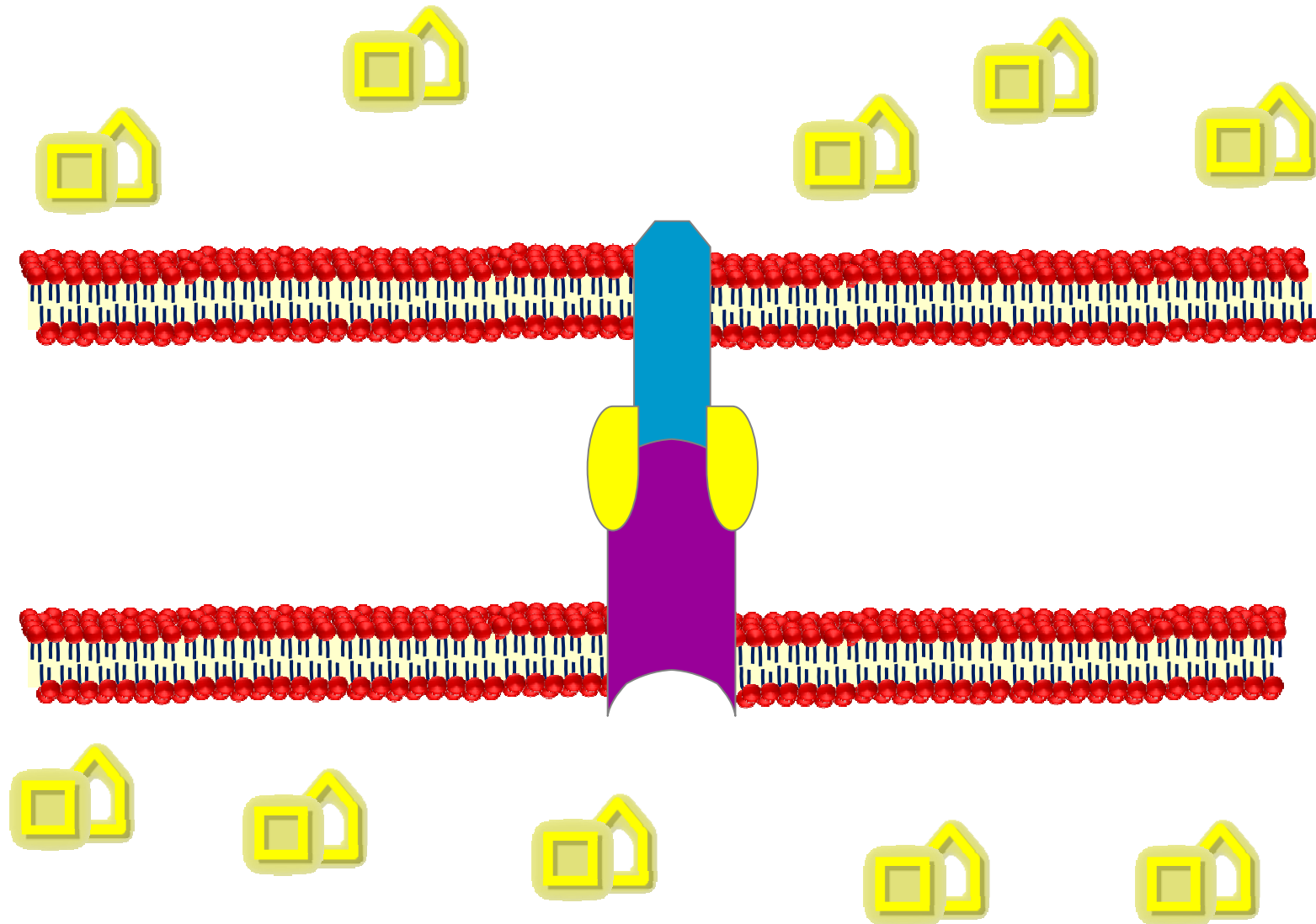
Porinfunktion



Effluxpumpe



Effluxpumpe



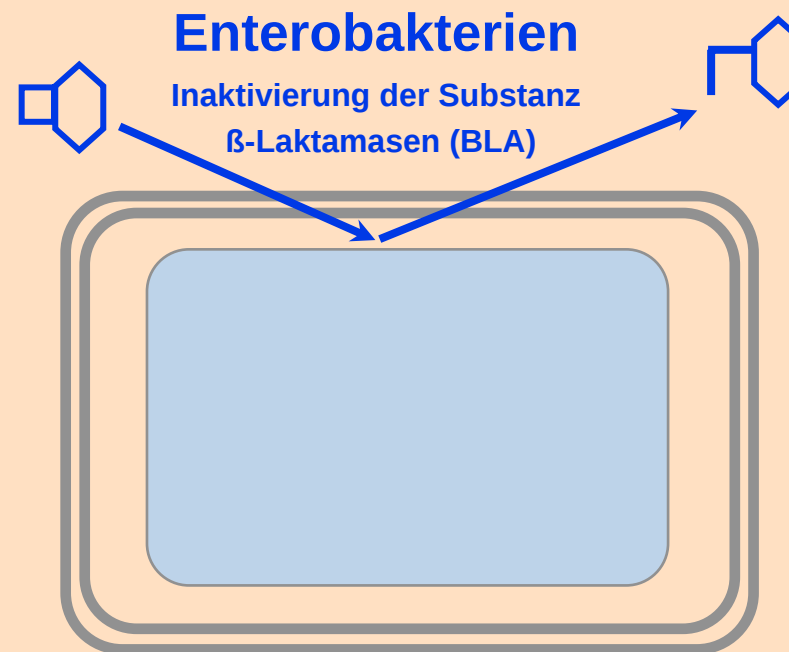
Die Waffen: Enzyme: β -Laktamasen



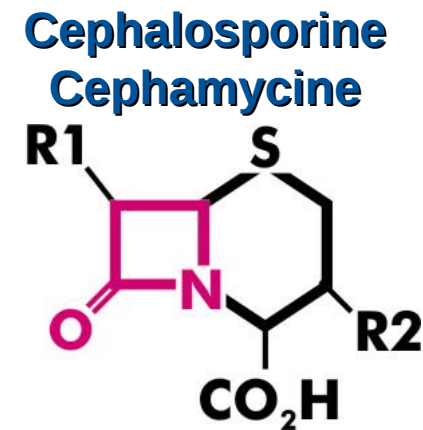
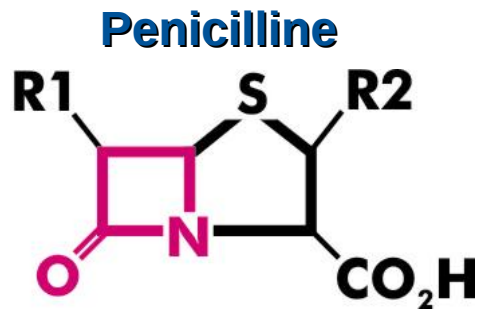
Resistenzmechanismen:

Expression von β -Laktamasen:

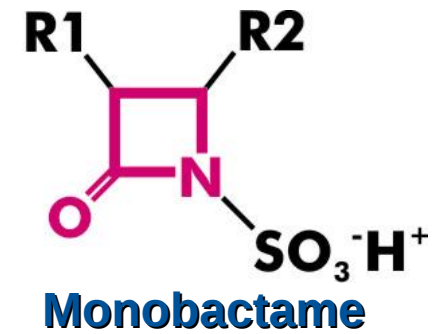
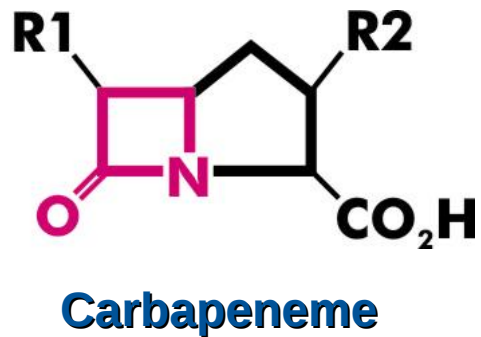
- Penicillinasen
- Cephalosporinasen
- Carbapenemasen



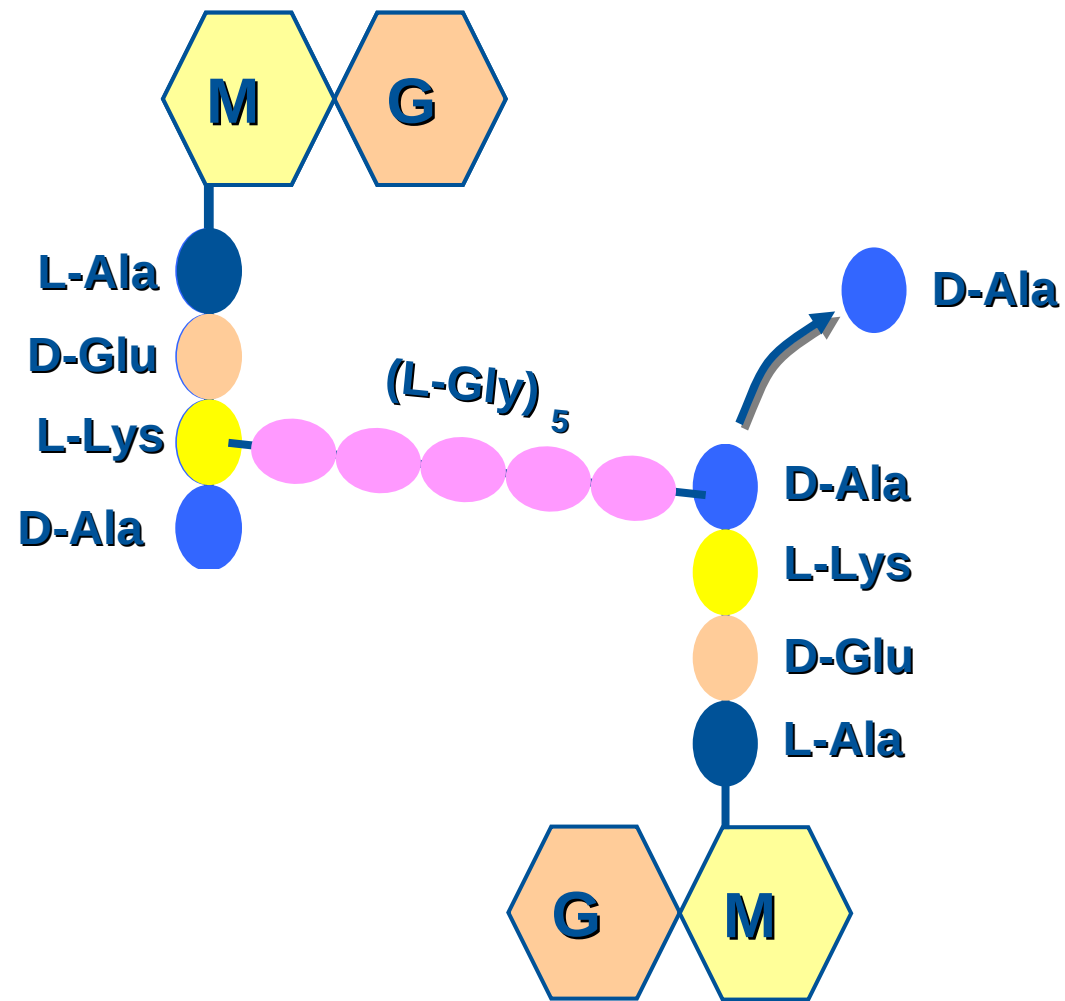
β -Laktam-Antibiotika



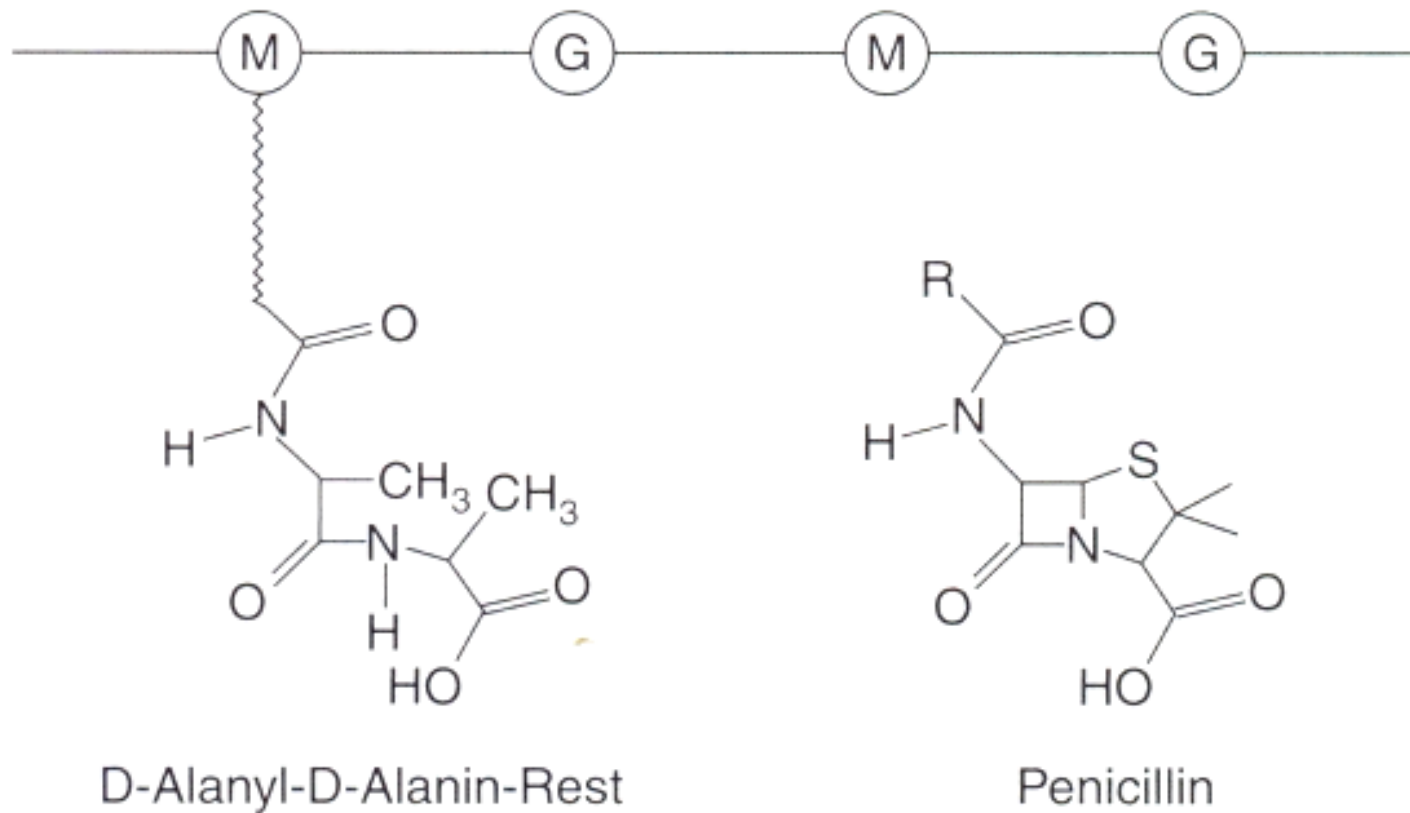
β -Laktam-Ring



Molekulares Schema Zellwandsynthese

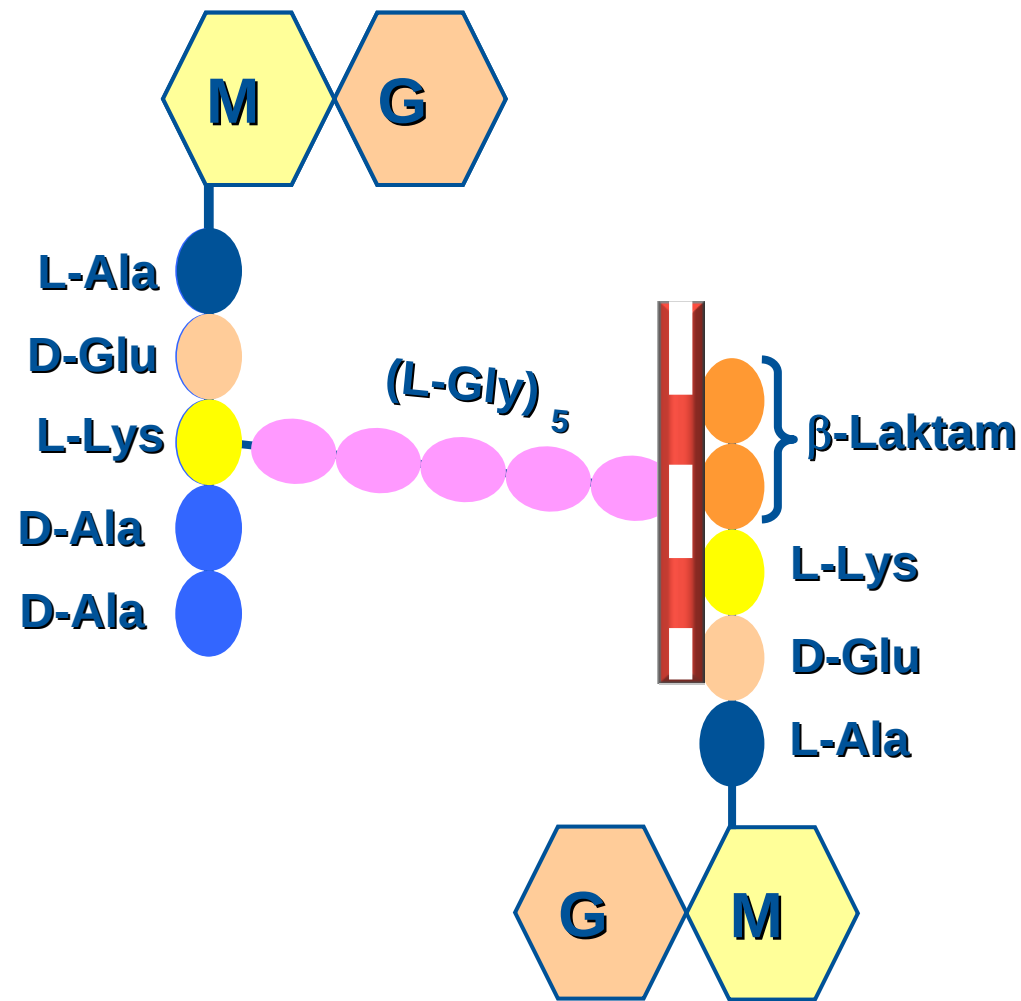


Molekularer Wirkmechanismus β -Laktam-Antibiotika (B)

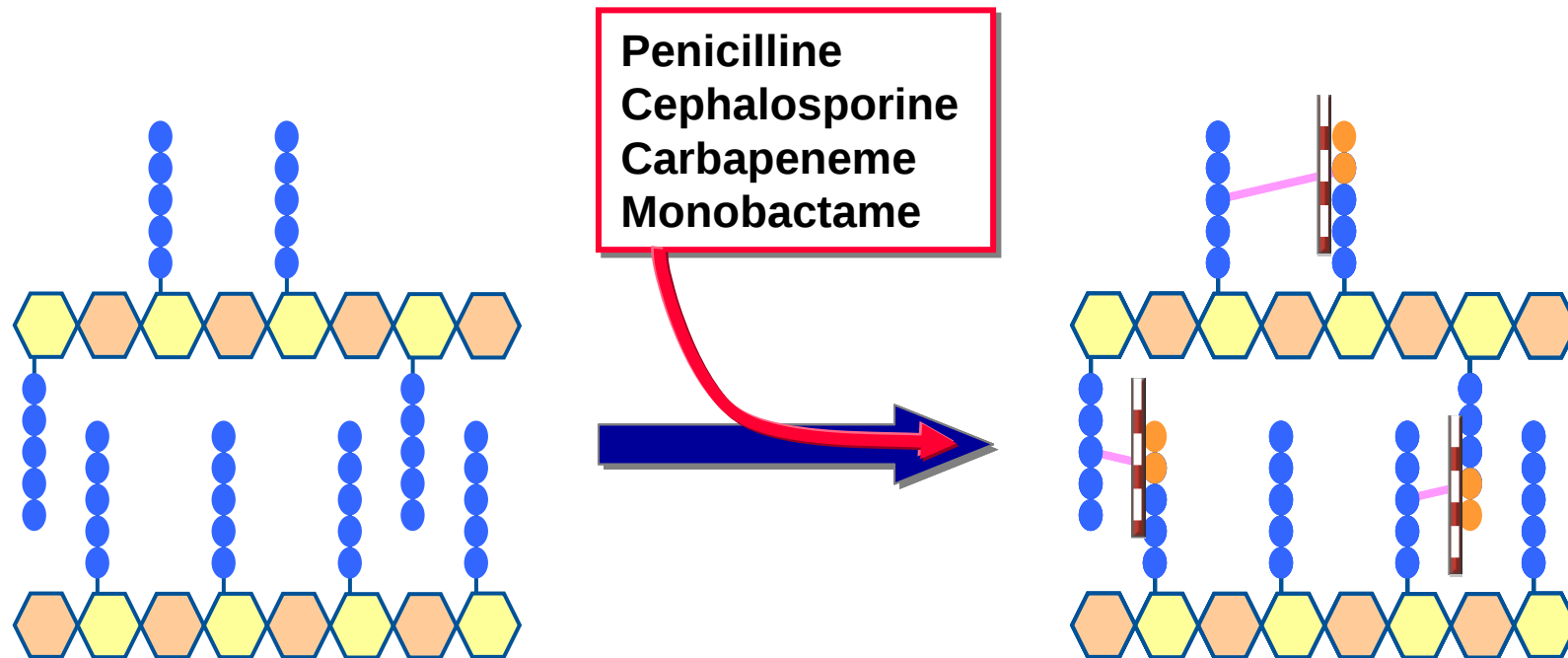


M = N-Acetylmuraminsäure
G = N-Acetylglucosamin

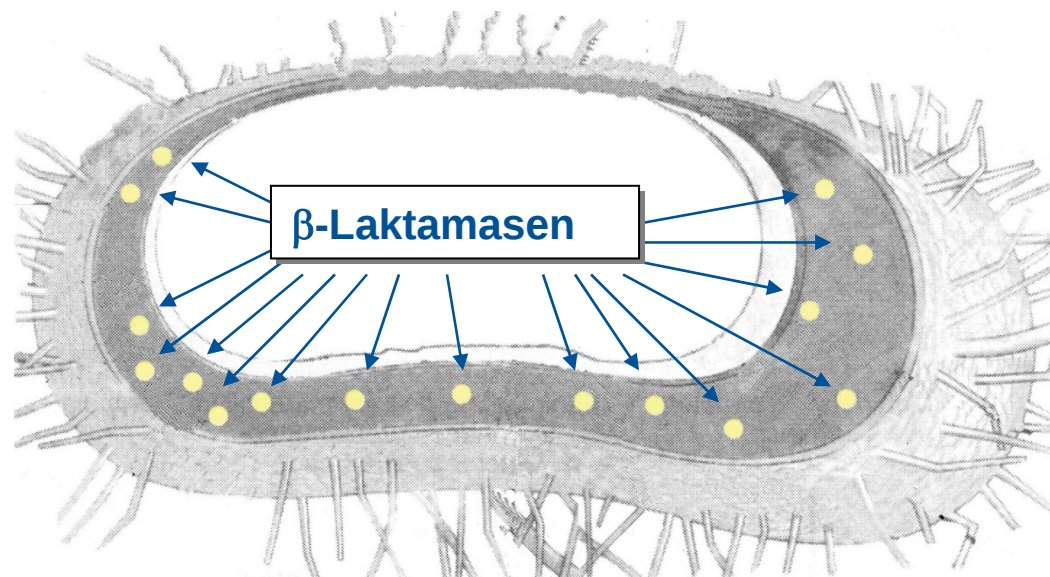
Molekularer Wirkmechanismus β -Laktam-Antibiotika (1)



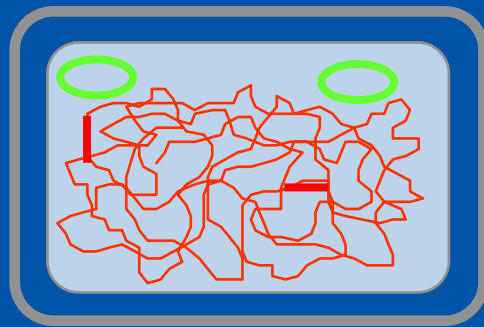
Molekularer Wirkmechanismus β -Laktam-Antibiotika (2)



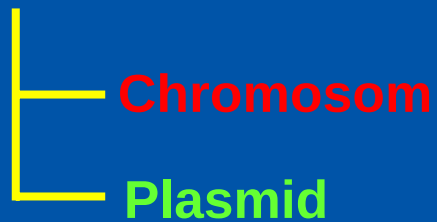
Schematische Darstellung einer Bakterienzelle



β -Laktamase- (BLA-) Typen



Lokalisation



BLA-Typ

Penicillinasen

- Penicilline

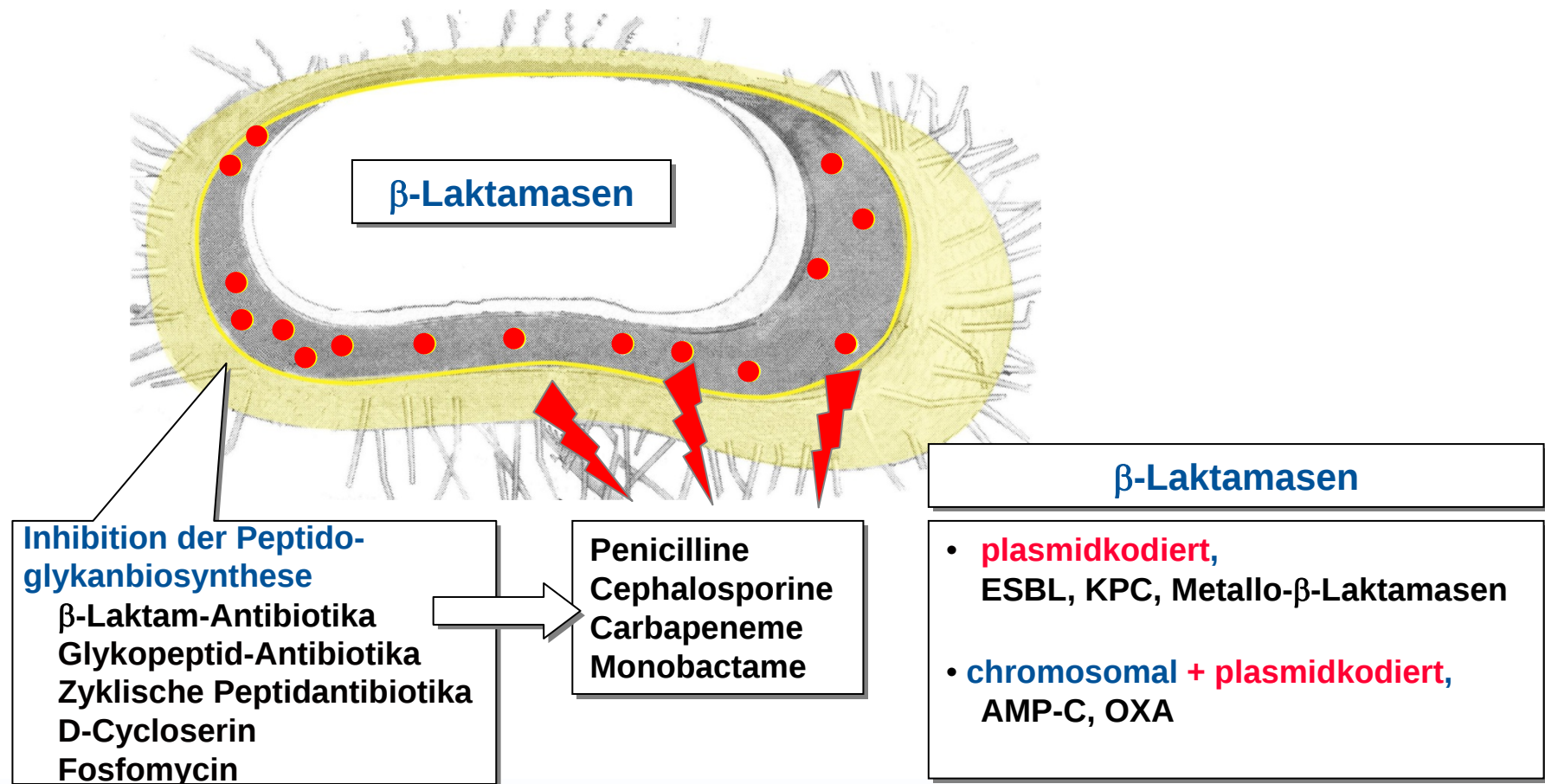
Cephalosporinasen

- Penicilline
- Cephalosporine

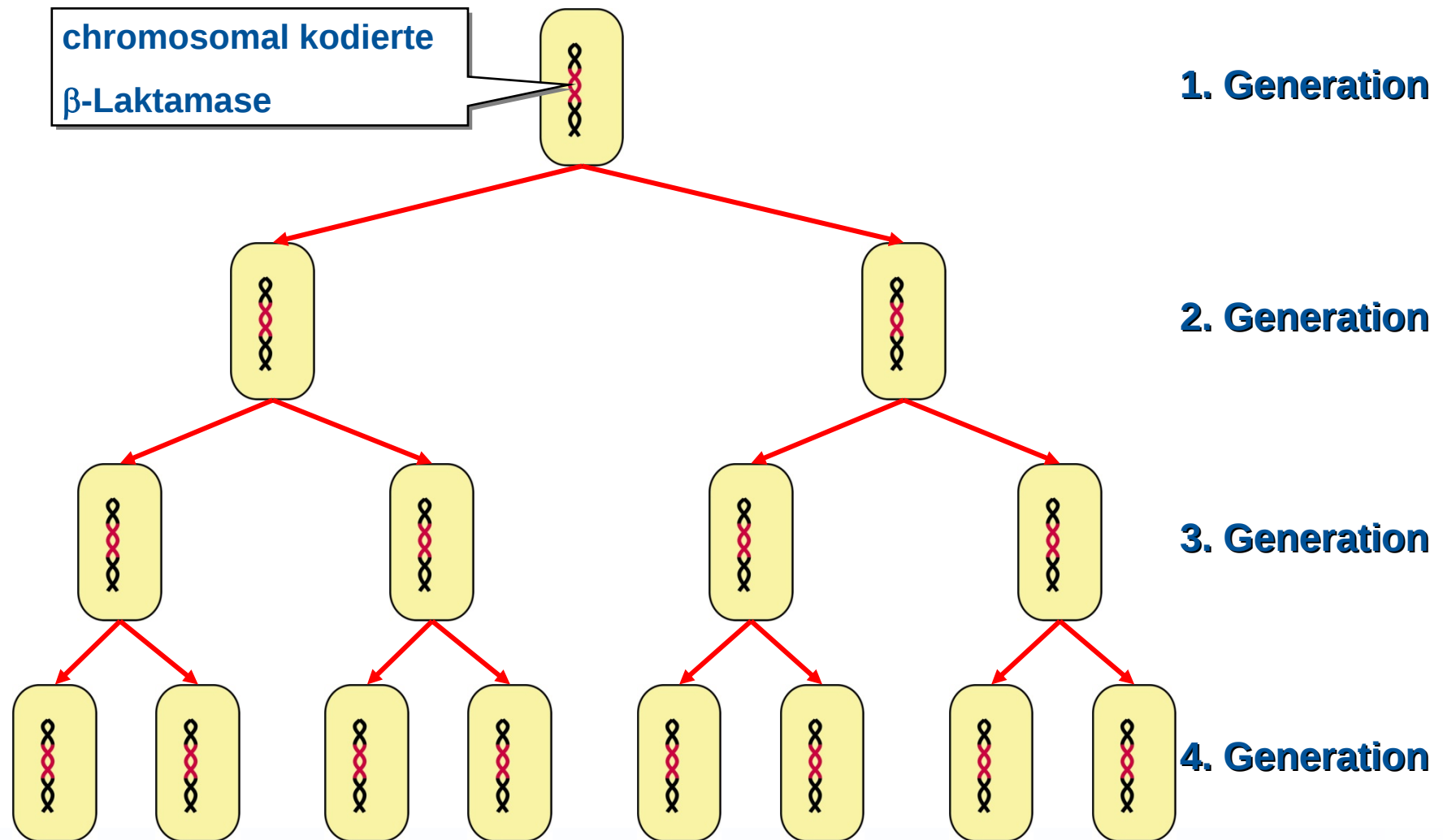
Carbapenemasen

- Penicilline
- Cephalosporine
- Carbapeneme

Schematische Darstellung der Angriffspunkte von Antibiotika an der Bakterienzelle



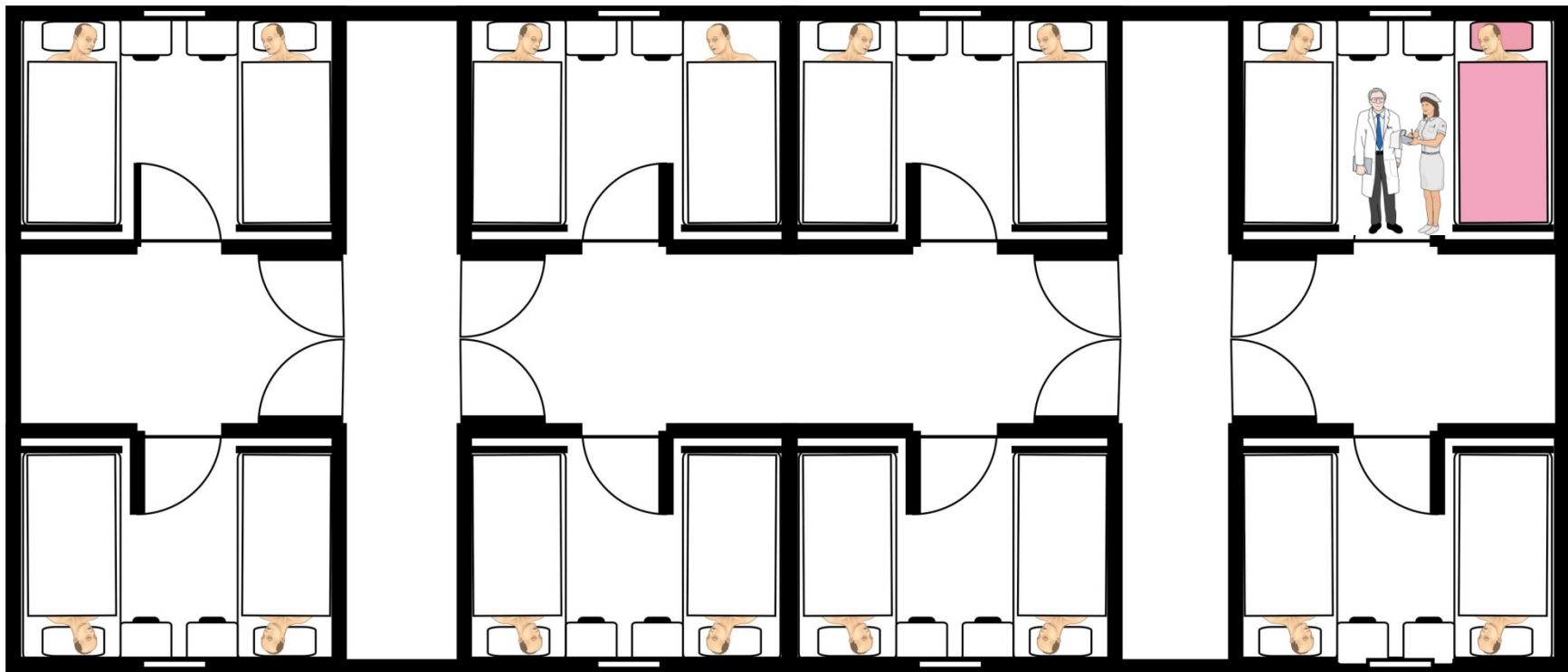
Vertikaler Gentransfer



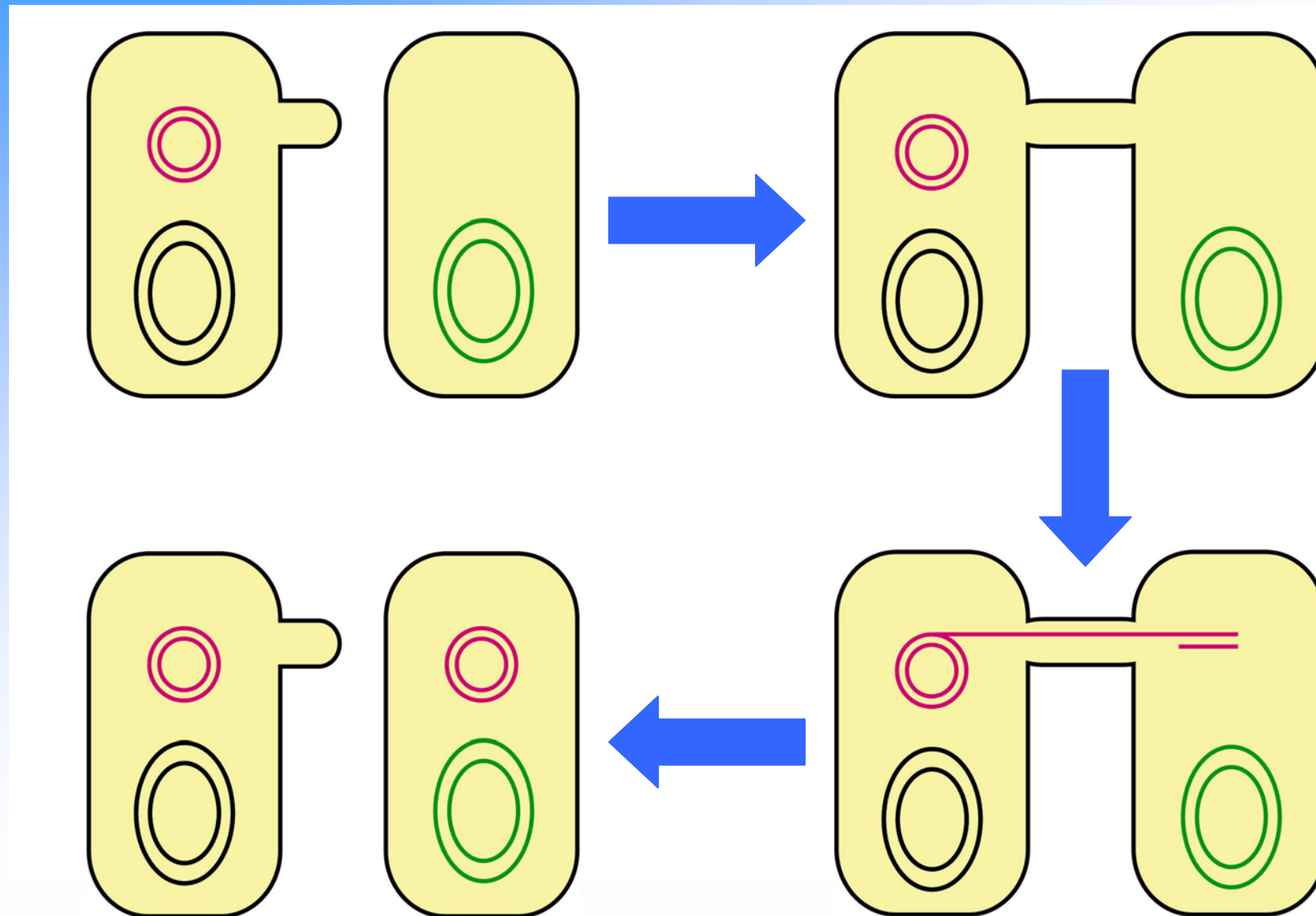
Vertikaler Gentransfer



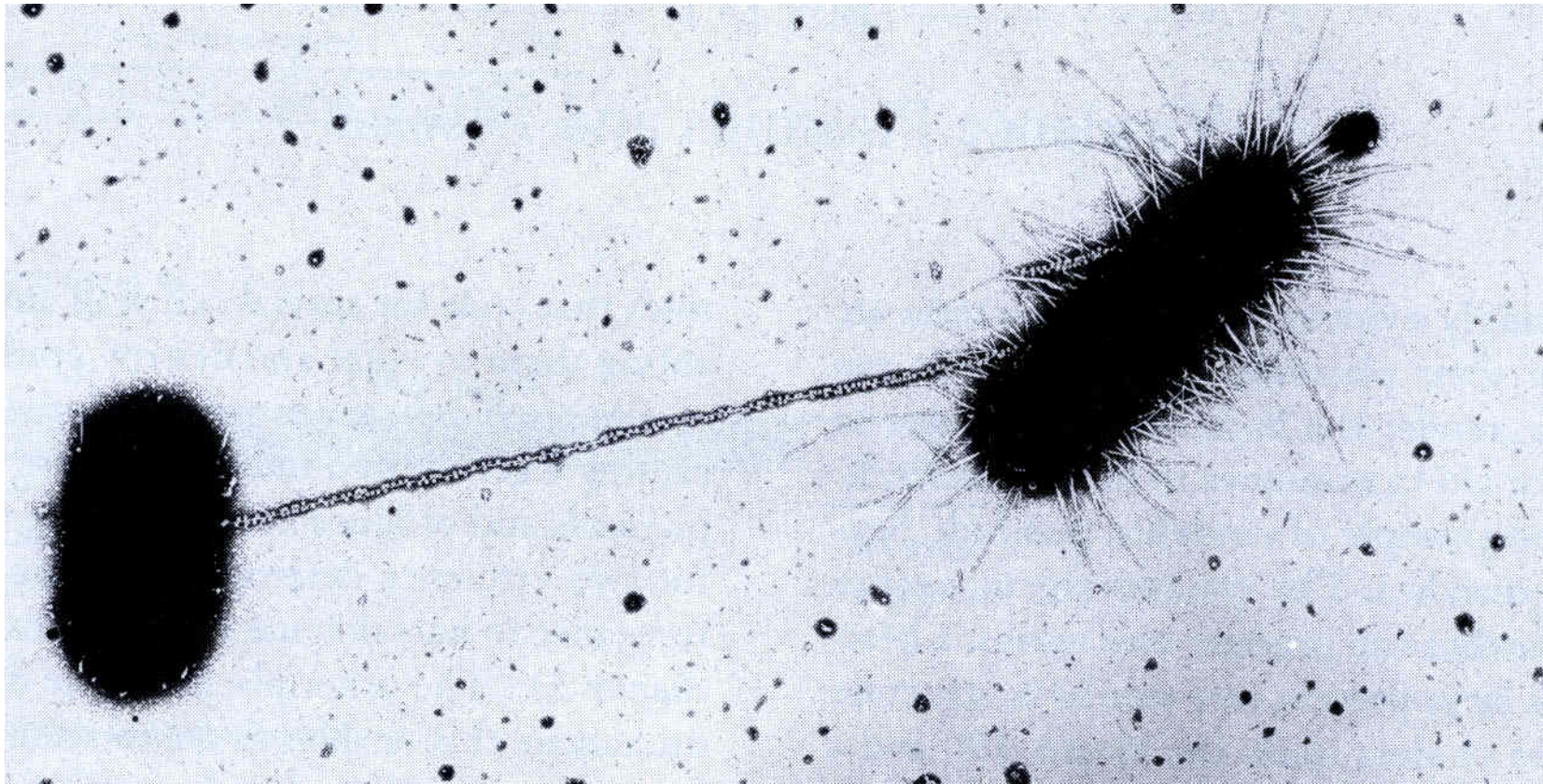
geringe nosokomiale Übertragungswahrscheinlichkeit



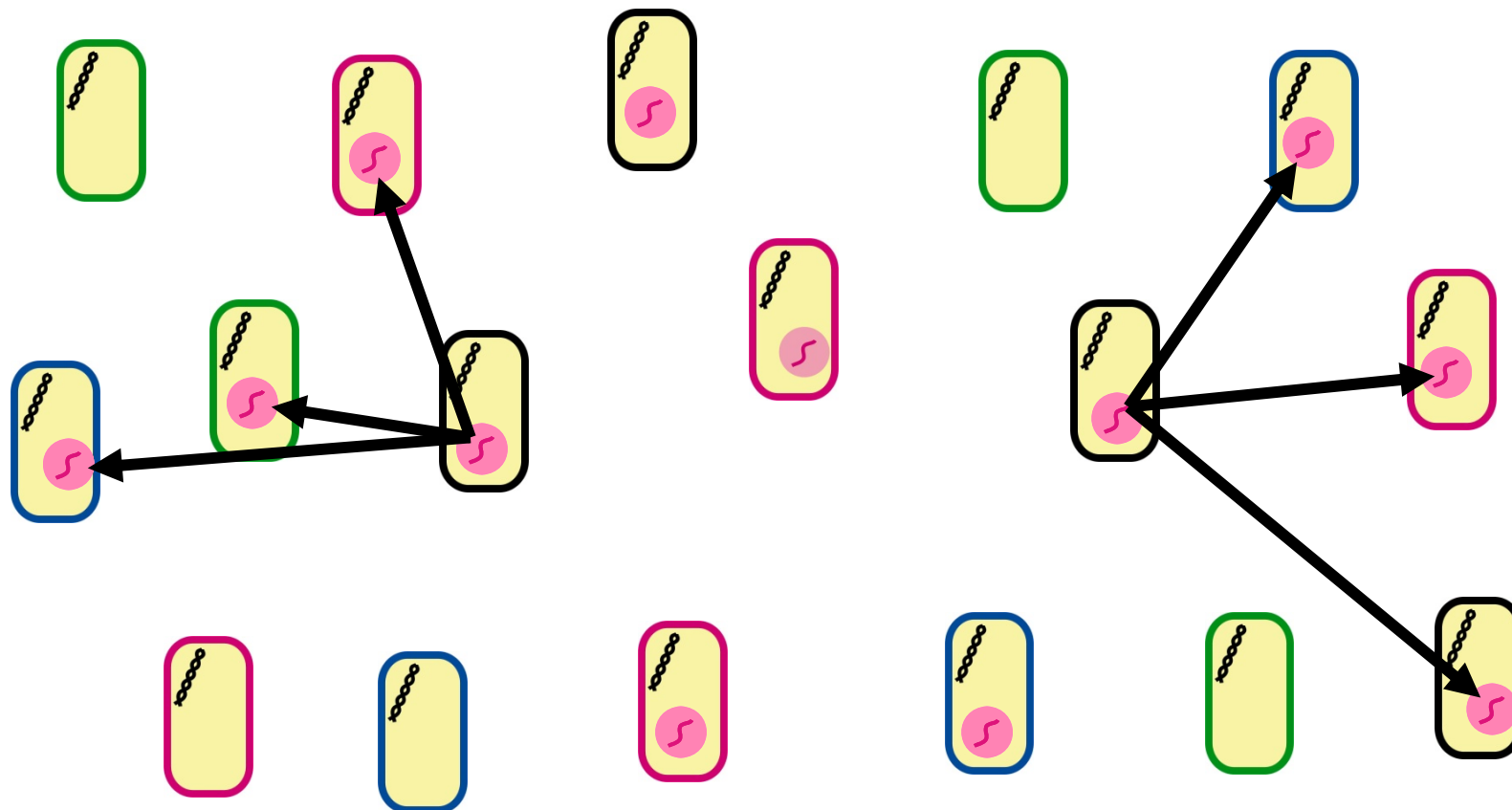
Horizontaler Gentransfer



Horizontaler Gentransfer



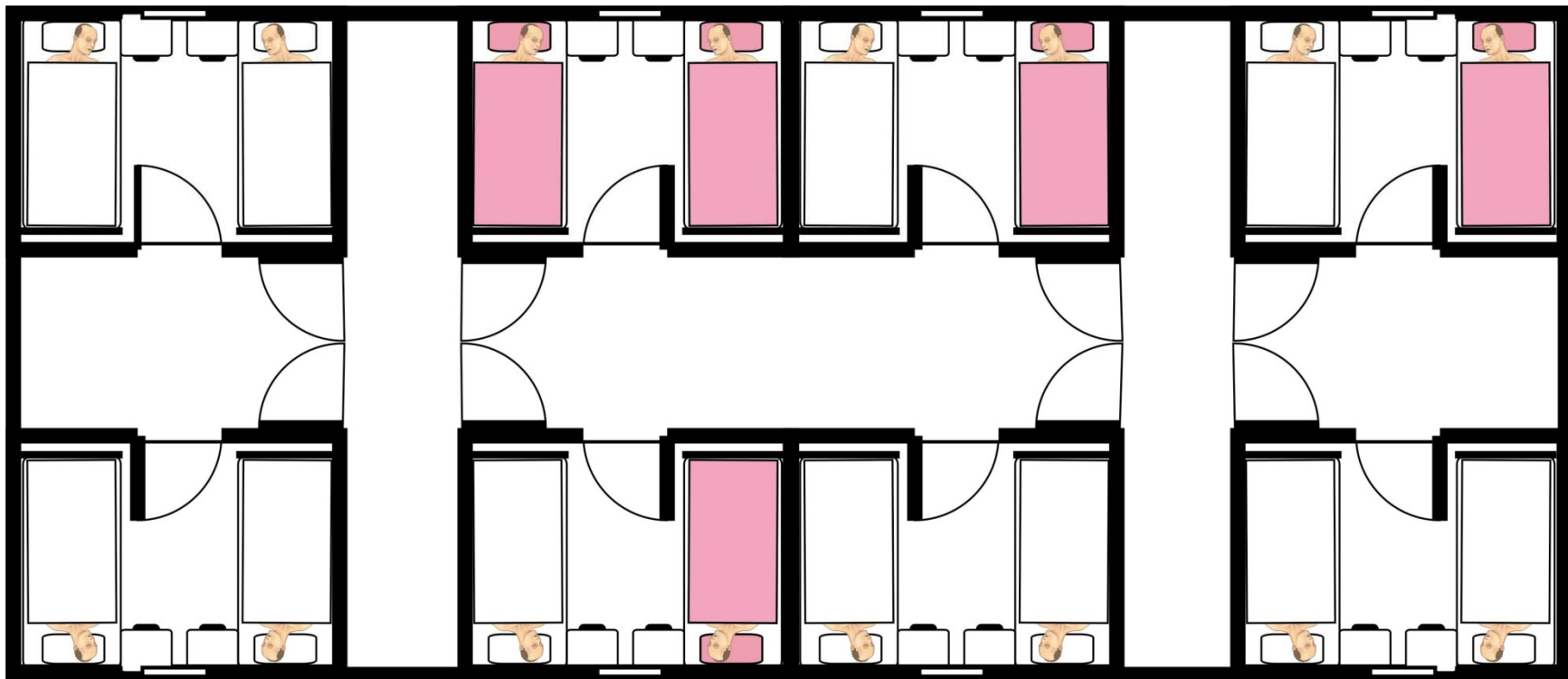
Horizontaler Gentransfer



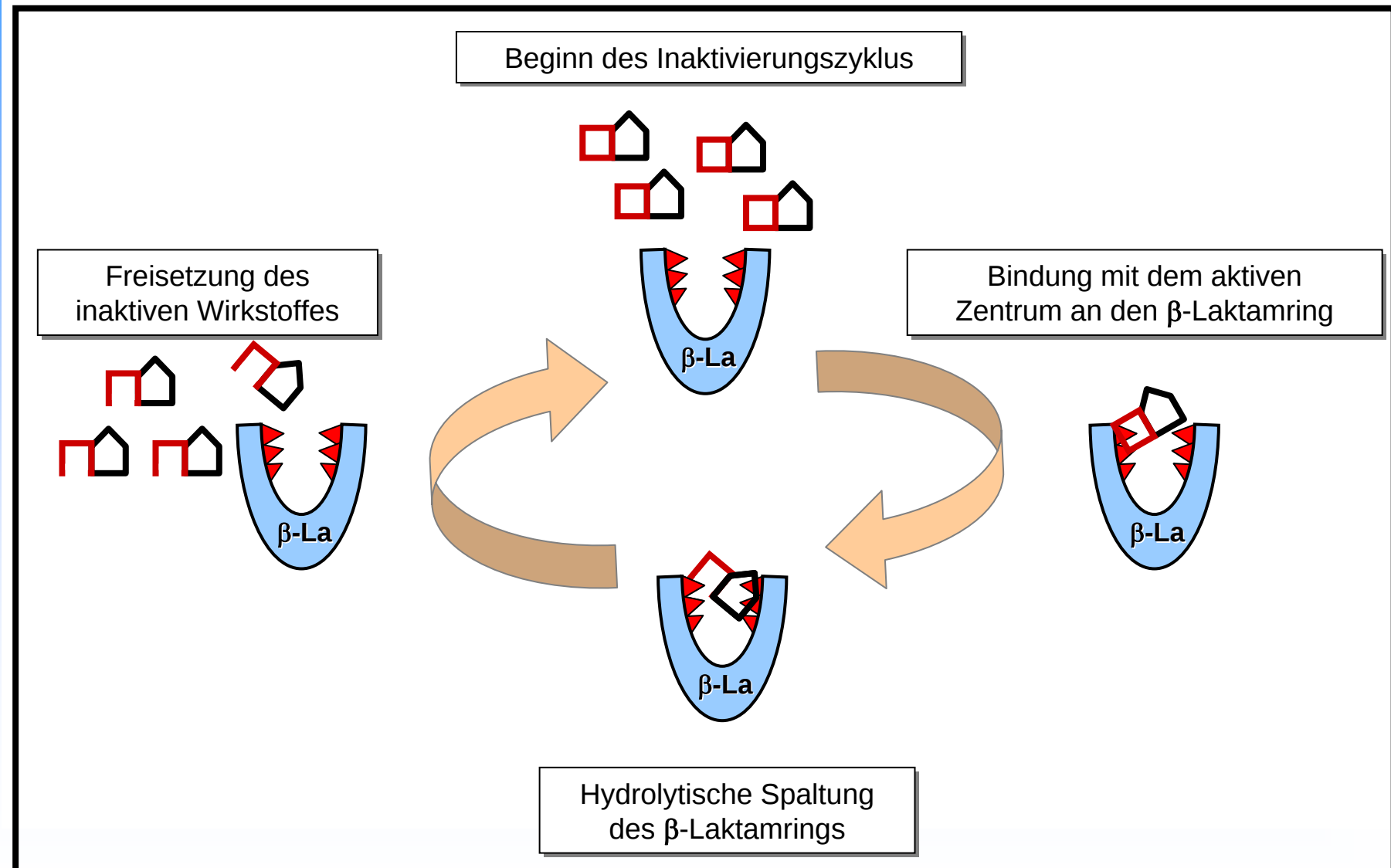
Horizontaler Gentransfer



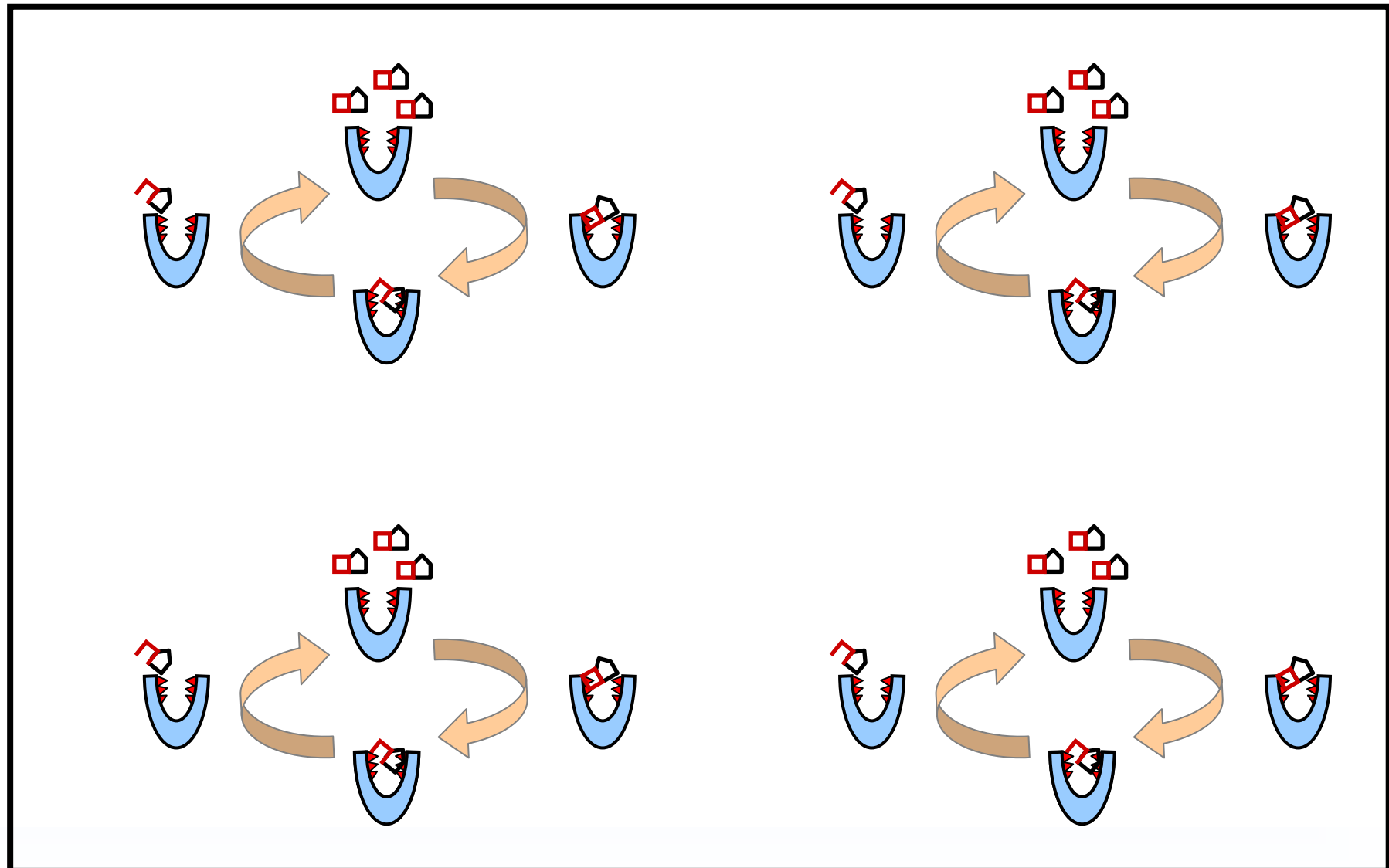
hohe nosokomiale Übertragungswahrscheinlichkeit



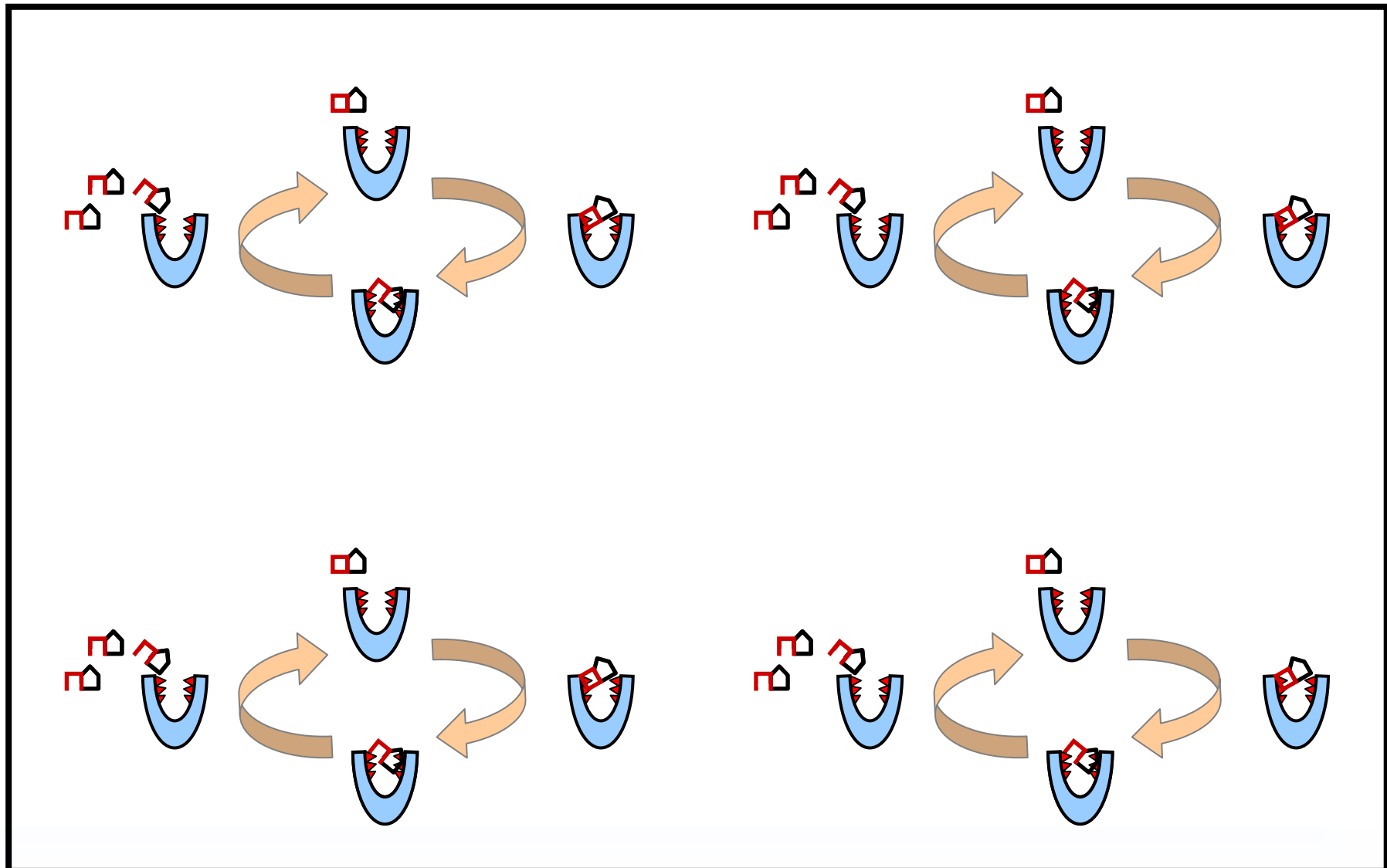
Wirkmechanismus der β -Laktamasen



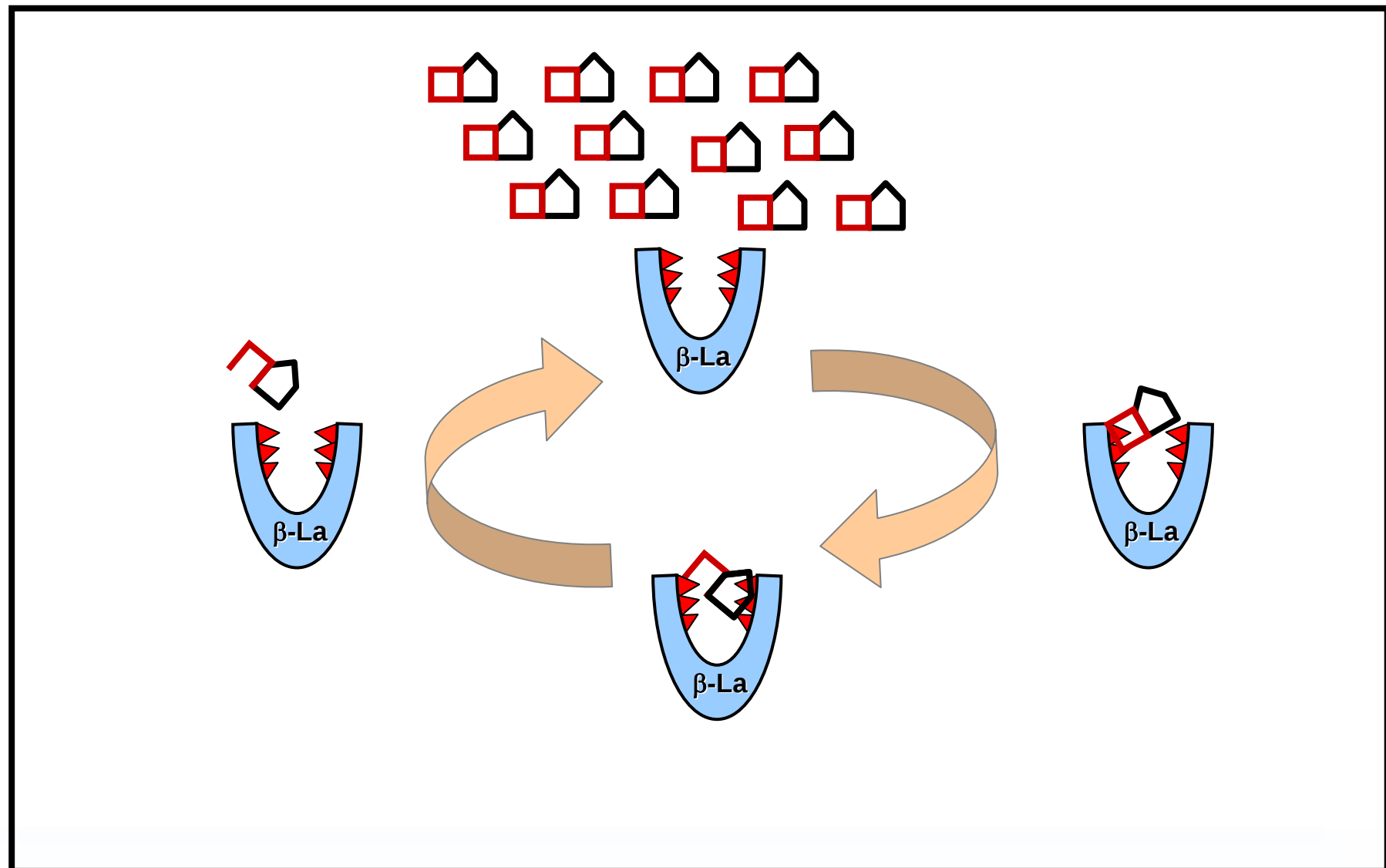
Geringe Substratspezifität – gesteigerte β -Laktamase-Produktion (AmpC-Hyperexpression)



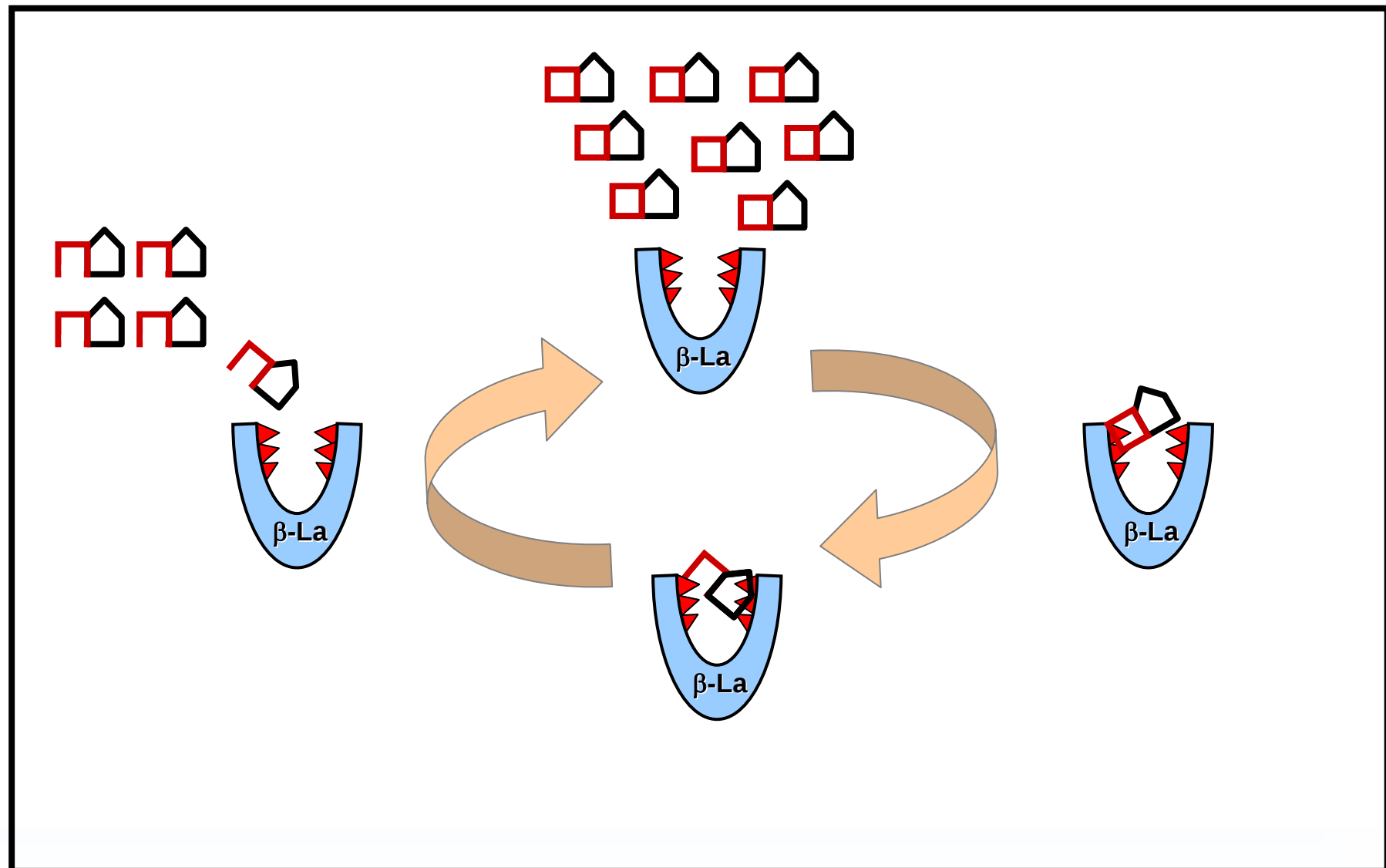
Geringe Substratspezifität – gesteigerte β -Laktamase-Produktion (AmpC-Hyperexpression)



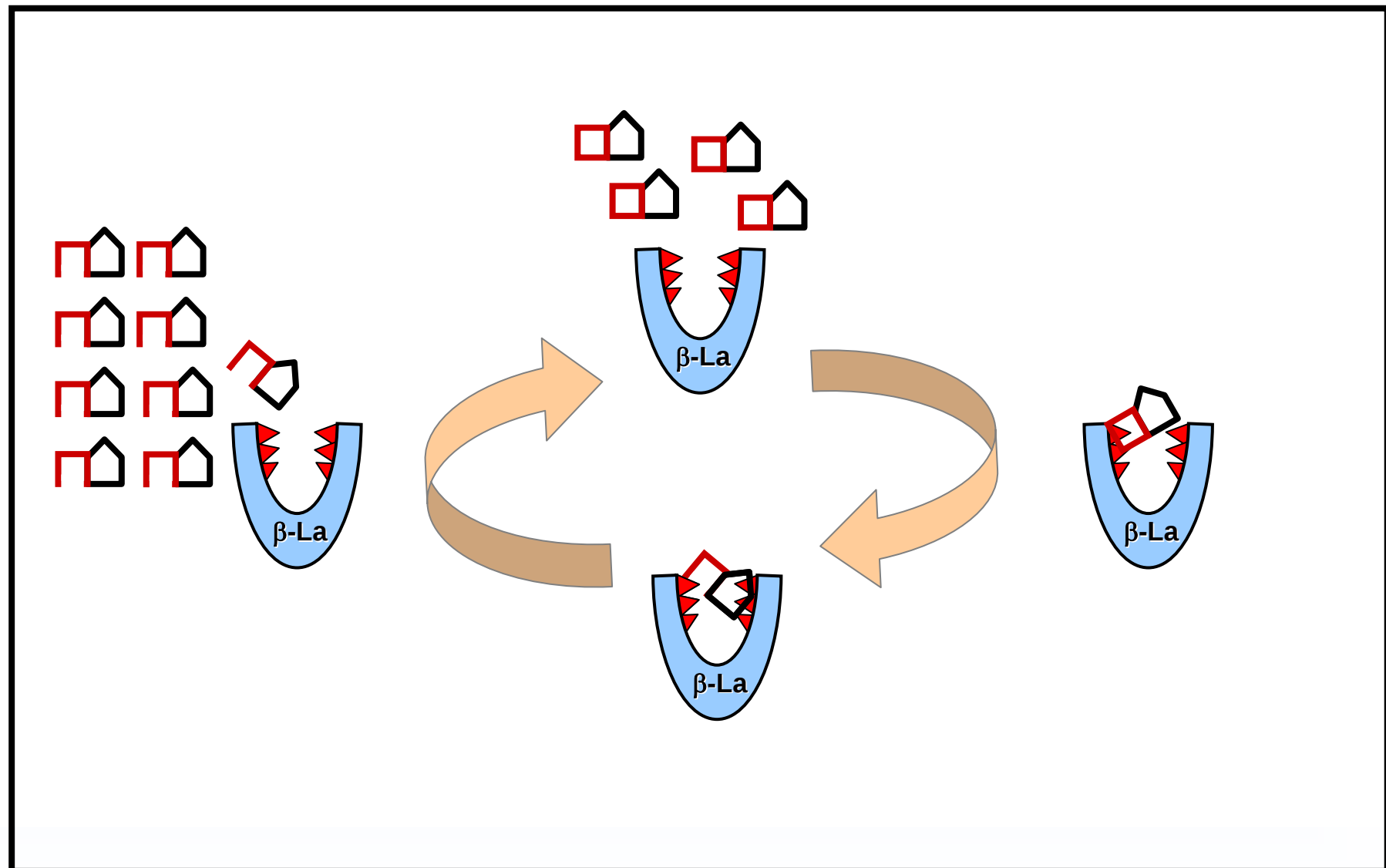
Hohe Substratspezifität – hohe Umsatzgeschwindigkeit (ESBL, plasmidkodierte AMP-C)



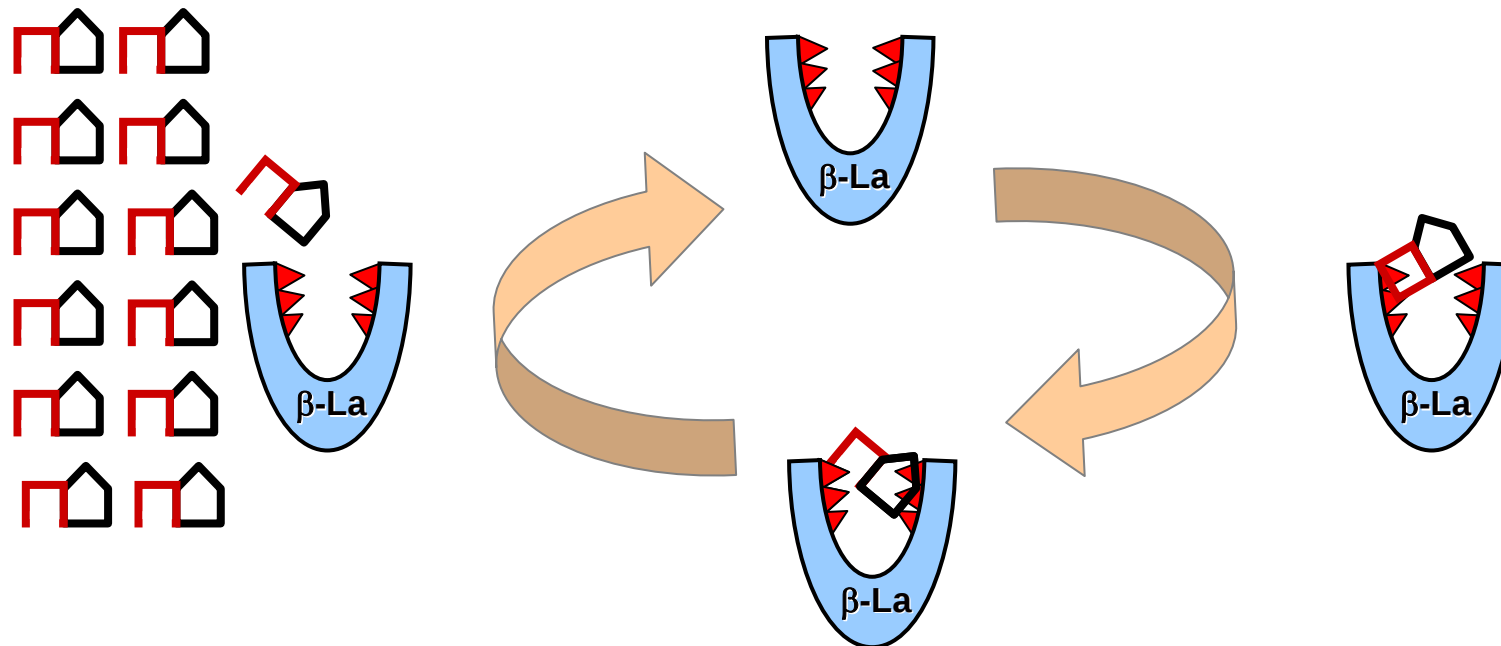
Hohe Substratspezifität – hohe Umsatzgeschwindigkeit (ESBL, plasmidkodierte AMP-C)



Hohe Substratspezifität – hohe Umsatzgeschwindigkeit (ESBL, plasmidkodierte AMP-C)



Hohe Substratspezifität – hohe Umsatzgeschwindigkeit (ESBL, plasmidkodierte AMP-C)



Stabilität der β -Laktame



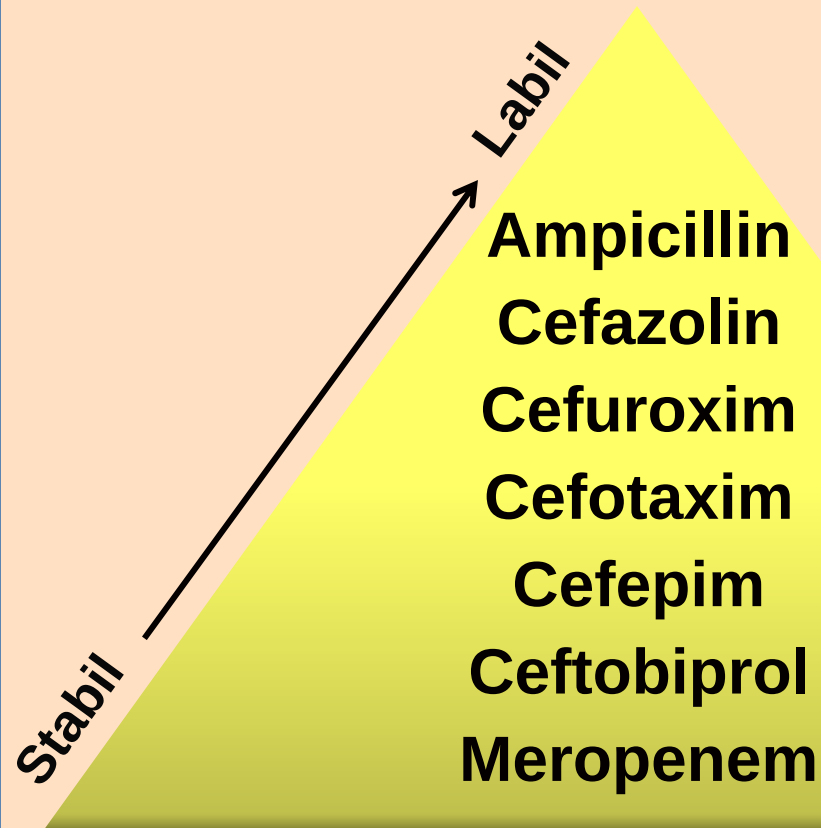
BLA - Stabilität

- BLA-Stabilität der Cepheme steigt mit zunehmender Generation

Cepheme:

- Cephalosporine 1. Generation (Cefaclor, Cefazolin, etc.)
- Cephalosporine 2. Generation (Cefuroxim, Cefotiam, etc.)
- Cephalosporine 3. Generation (Cefotaxim, Ceftazidim, etc.)
- Cephalosporine 4. Generation (Cefepim, Cefpirom etc.)
- Cephalosporine 5. Generation (Ceftbiprol, Ceftarolin)

Stabilität gegenüber β -Laktamasen

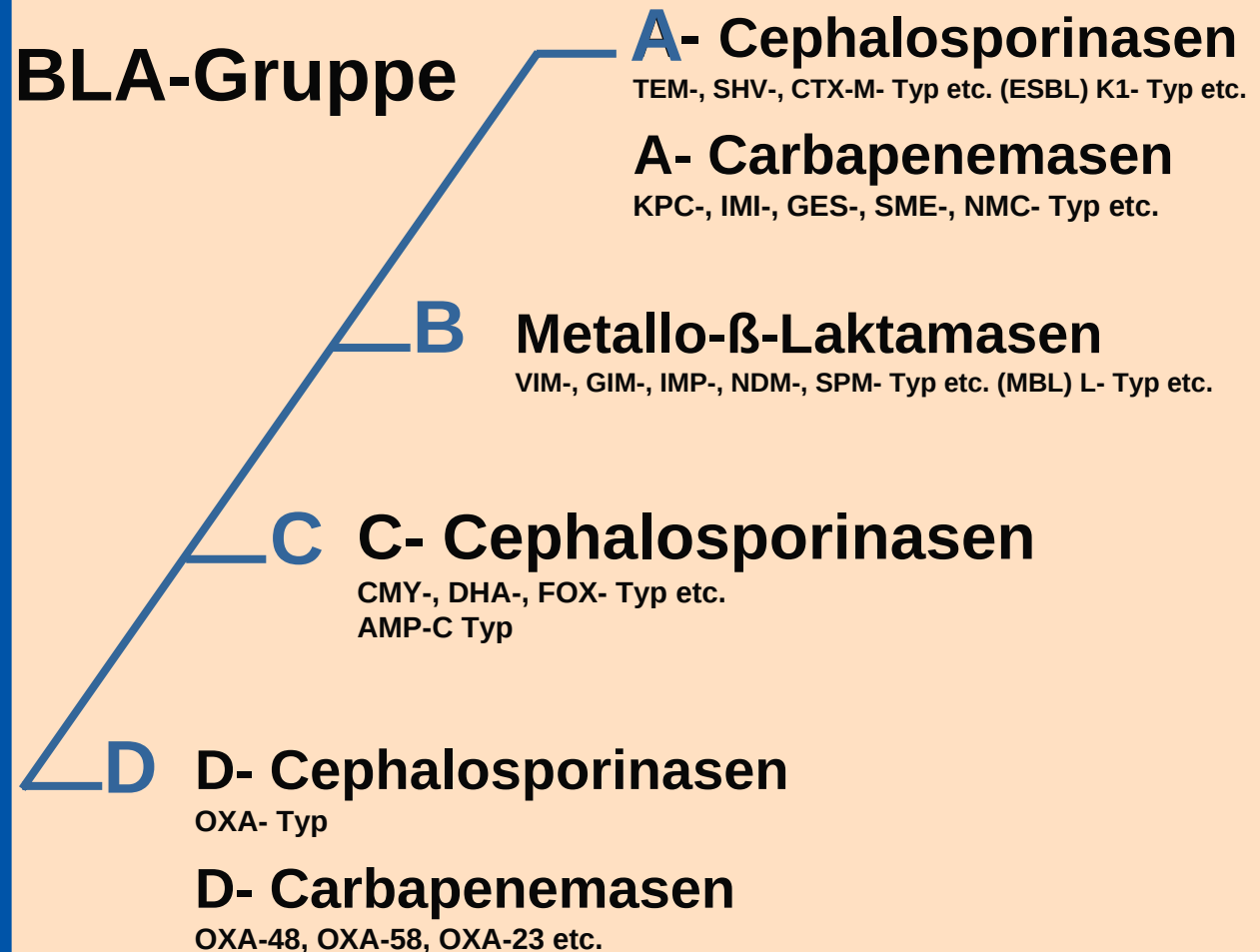


Klassifizierung der β -Laktamasen (BLA) nach Ambler

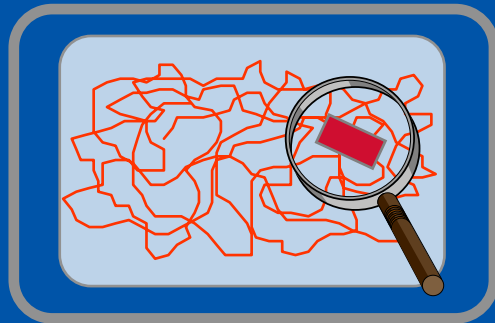


BLA-Gruppierung (Ambler):

- Homologie von Nucleotid- und Aminosäuresequenz
- Insgesamt 4 Gruppen (A – D)
- BLA-Gruppen A, C und D mit einem Serin im aktiven Zentrum
- BLA-Gruppe B mit zweiwertigem Zink-Ion im aktiven Zentrum (B-Carbapenemasen)
- Die Gruppierung erfolgt unabhängig des Lokalisationsortes der BLA



Chromosomale Cephalosporinasen



Intrinsische Cephalosporinasen

- Einteilung in Gruppe C
- Taxon – spezifische AMP-C-Typen
- Taxon – spezifische Ausprägung der AMP-C BLA
- AMP-C Hyperproduktion durch Veränderungen in der Regulation
- klonale Ausbreitung der Resistenz

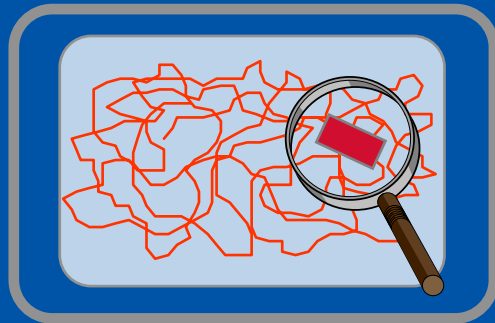
AMP-C Cephalosporinasen

- Spezies-spezifische Regulation der Laktamase-Produktion (induzierbarer Level – konstitutive Hyperproduktion)
- Vermittelt bei Hyperexpression Resistenz gegenüber Cephalosporinen der 3. und 4. Generation
- Zeigen eine geringe Aktivität gegen Carbapeneme (Resistenz in Kombination mit Porinveränderungen)

Verbreitung

Enterobacter sp. / Citrobacter freundii / Serratia sp.
Providencia sp. / Morganella morganii / Hafnia alvei
Escherichia coli etc.

Chromosomale Cephalosporinasen



Intrinsische Cephalosporinasen:

- Einteilung in Gruppe A
- Taxon – spezifische BLA-Typen
- Taxon – spezifische Ausprägung der BLA
- klonale Ausbreitung der Resistenz

Typ-A Cephalosporinasen

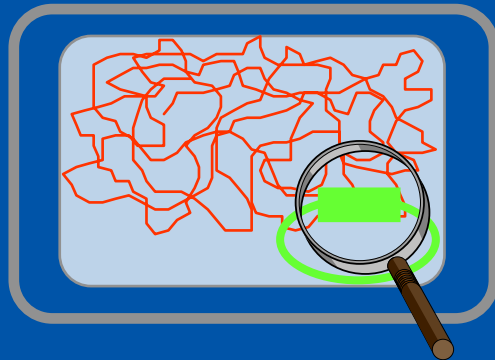
TEM-, SHV-, CTX-M- Typ etc.

- Spezies-spezifische Regulation der Laktamase-Produktion (Basis-Level – konstitutive Hyperproduktion)
- Vermittelt bei Hyperexpression Resistenz gegenüber Cephalosporinen der 3. Generation
- Vermittelt geringere Resistenz gegenüber Cephalosporinen der 4. Generation
- Vermittelt keine Resistenz gegenüber Ceftazidim

Verbreitung

Klebsiella oxytoca / *Citrobacter koseri* / *Proteus vulgaris*
Proteus penneri / *Kluyvera* sp.

Plasmidische Cephalosporinasen 1



Erworbene Cephalosporinasen:
(ESBL =
Extended Spectrum β -Lactamase)

- Einteilung in Gruppe A
- CTX-M Typ mit höchster Prävalenz weltweit
- Häufig Ausprägung multipler BLA
- Multiresistenz durch weitere Resistenzdeterminanten
- Horizontale Ausbreitung der Resistenz durch Plasmid-Transfer

Typ-A Cephalosporinasen (ESBL)

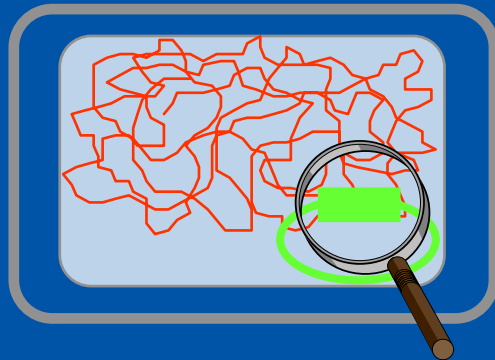
TEM-Typ / SHV-Typ / CTX-M-Typ etc.

- Entstehung durch Punktmutationen im aktiven Zentrum Plasmid-kodierter Penicillinasen (OSBL: TEM/SHV) oder durch Mobilisierung chromosomal kodierter A-Cephalosporinasen (CTX-M)
- Vermitteln Resistenz gegenüber allen Cephalosporinen der 1 - 4. Generation und Aztreonam

Verbreitung

Enterobakterien und Nonfermenter

Plasmidische Cephalosporinasen 2



Erworbene Cephalosporinasen:
(Typ C Cephalosporinasen)

- Einteilung in Gruppe A
- Häufig Ausprägung multipler BLA
- Multiresistenz durch weitere Resistenzdeterminanten
- Horizontale Ausbreitung der Resistenz durch Plasmid-Transfer

Typ-C Cephalosporinasen (AMP-C Typ)

CMY-Typ / DHA-Typ / FOX-Typ etc.

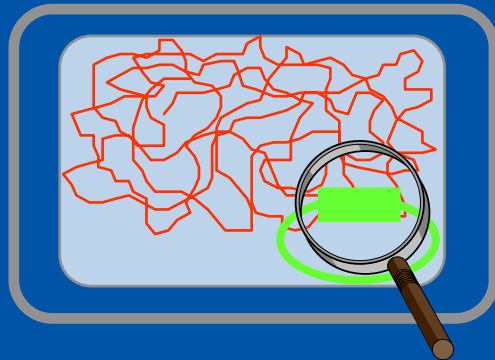
- Entstehung durch Mobilisierung chromosomal kodierter AMP-C Cephalosporinasen
- Vermitteln Resistenz gegenüber allen Cephalosporinen der 1 - 4. Generation und Aztreonam
- Zeigt eine geringe Aktivität gegen Carbapeneme

Verbreitung

Enterobakterien und Nonfermenter



Plasmidische Carbapenemasen



Erworbene Cephalosporinasen:
(KPC = *Klebsiella pneumoniae* Cephalosprinase)

- **Einteilung in Gruppe A**
- **Häufig Ausprägung multipler BLA**
- **Multiresistenz durch weitere Resistenzdeterminanten**
- **Horizontale Ausbreitung der Resistenz durch Plasmid-Transfer**

Typ-A Carbapenemasen (KPC)

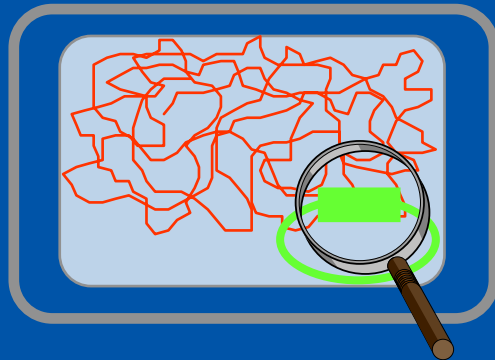
KPC-, IMI-, GES-, SME-, NMC- Typ

- **Vermitteln Resistenz gegenüber allen Cephalosporinen der 1 - 4. Generation, Cefoxitin und Aztreonam**
- **Vermitteln Resistenz gegenüber allen Carbapenemen**

Verbreitung

Enterobakterien und Nonfermenter

Plasmidische Carbapenemasen



Erworbene Cephalosporinasen:
(Typ D Carbapenemasen)

- OXA-48 Prävalenz in Deutschland
- Häufig Ausprägung multipler BLA
- Multiresistenz durch weitere Resistenzdeterminanten
- Horizontale Ausbreitung der Resistenz durch Plasmid-Transfer

Typ-D Carbapenemasen (OXA)

OXA-48, OXA-23, OXA-24, OXA-58-Typ

- Vermitteln Resistenz gegenüber allen Penicillinen, Cephalosporinen und Aztreonam
- Vermitteln Resistenz gegenüber allen Carbapenemen
- Häufig: Resistenz in Kombination mit anderen Mechanismen (Porinveränderungen / Efflux-Systeme)

Verbreitung

Enterobakterien und Nonfermenter

Bedrohliche Resistenzentwicklungen



Cephalosporinresistenz in Enterobacteriaceae:

- **ESBL Plasmid-vermittelt**
- **AmpC Überexpression** chromosomal kodiert
- **AmpC Plasmid-vermittelt**

Carbapenemresistenz in Enterobacteriaceae und Nonfermentern:

- **KPC Plasmid-vermittelt** *E. coli, Klebsiella spp., Serratia spp., Enterobacter spp.*
- **OXA Überexpression** *A. baumannii*
- **OXA Plasmid-vermittelt** *E. coli, Klebsiella spp., A. baumannii, P. aeruginosa*
- **Metallo- β -Laktamasen
Plasmid-vermittelt** *E. coli, Klebsiella spp., Enterobacter spp.,
A. baumannii, P. aeruginosa*

- ▶ **Auftreten multiresistenter Enterobacteriaceae und Nonfermenter, wobei die therapeutischen Möglichkeiten nahezu erschöpft sind.**



Klinische Relevanz:

- Risiko der Resistenzvermittlung gegenüber allen β -Laktam-Antibiotika
- Risiko von Multiresistenz durch Co-Transfer weiterer Resistenzdeterminanten
- Risiko PAN-resistenter Stämme bei nosokomialen Problemkeimen (z. B. *Ps. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*)

Carbapenemasen: therapeutische Optionen



● **Fosfomycin** ?
eingeschränktes Spektrum

● **Tigecyclin** ?
eingeschränktes Spektrum

● **Aminoglykoside** ?
Toxizität

● **Polymyxin** ?
Toxizität

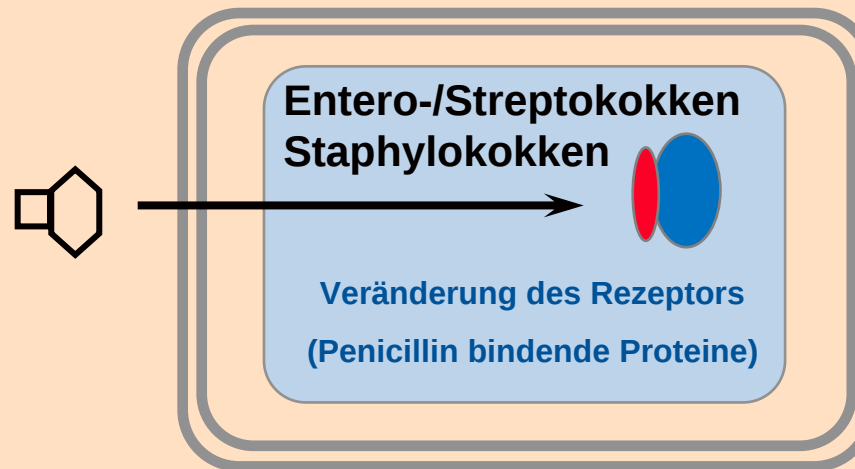
Die Waffen: Rezeptormutation



Resistenzmechanismen:

Veränderung des Rezeptors (PBP's):

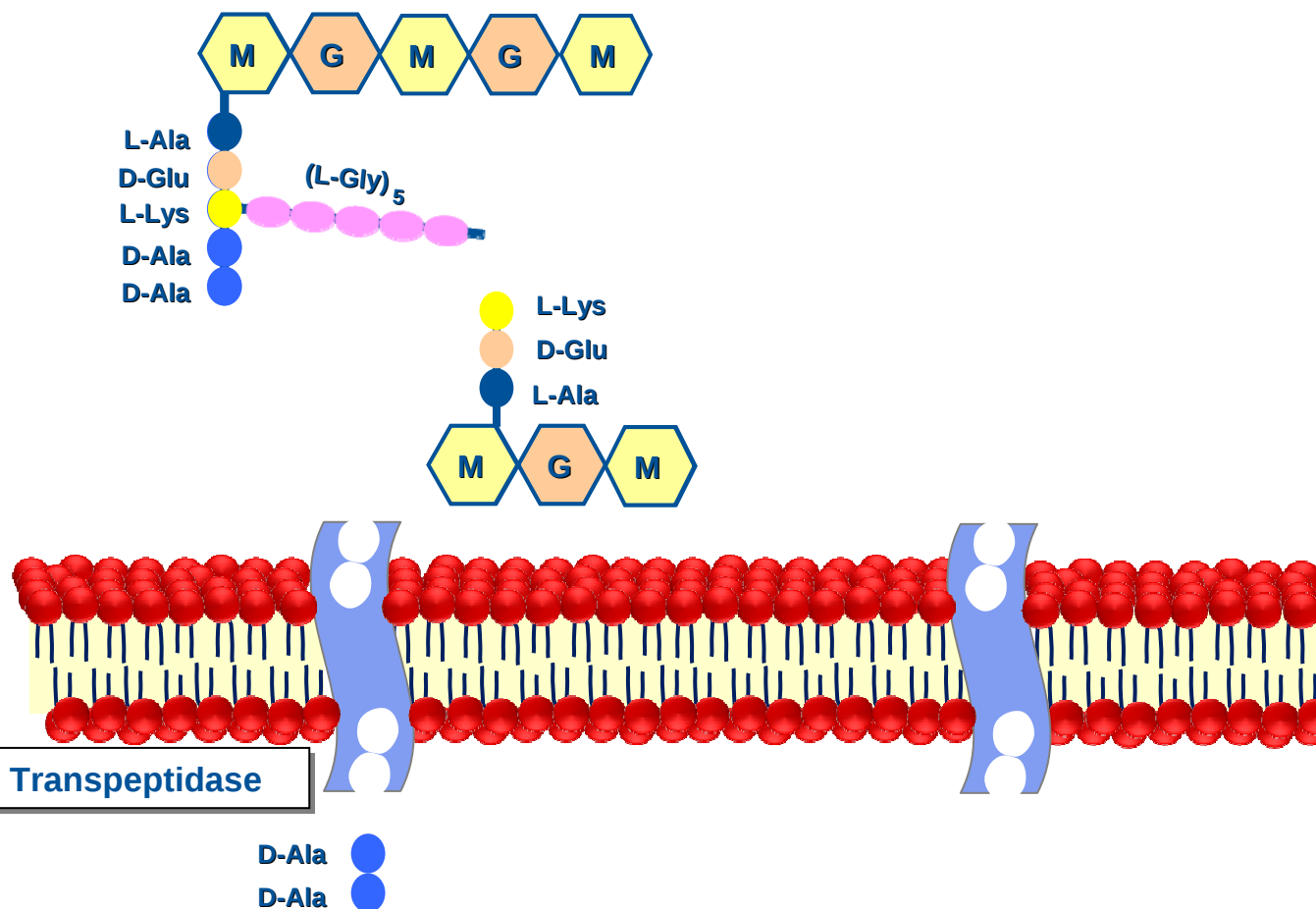
- Staphylokokken (PBP-2a)
- Enterokokken (PBP-5)
- Streptokokken (PBP- 1A, 2B, 2X)





Veränderung des Rezeptors

Außen

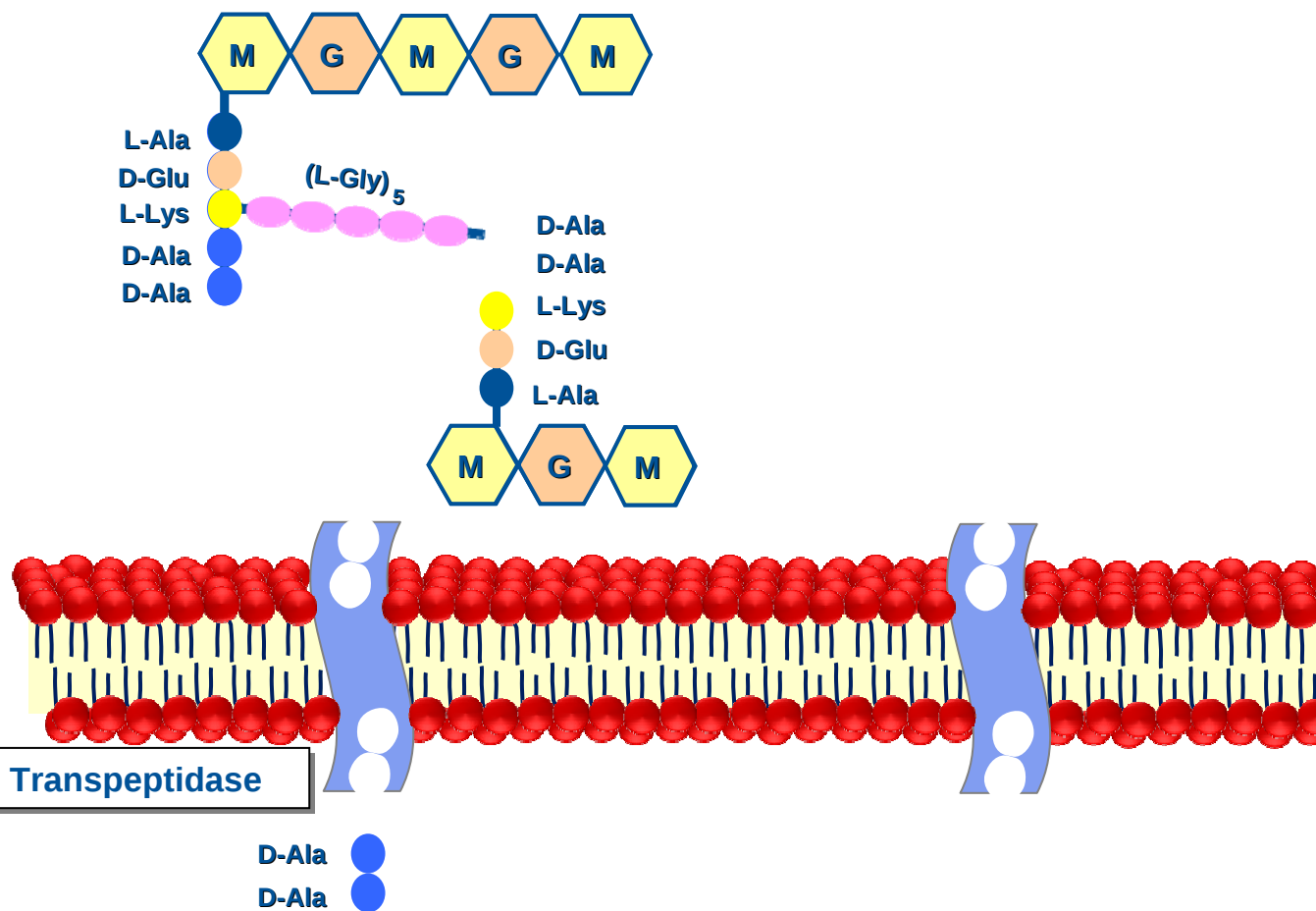


Innen



Veränderung des Rezeptors

Außen

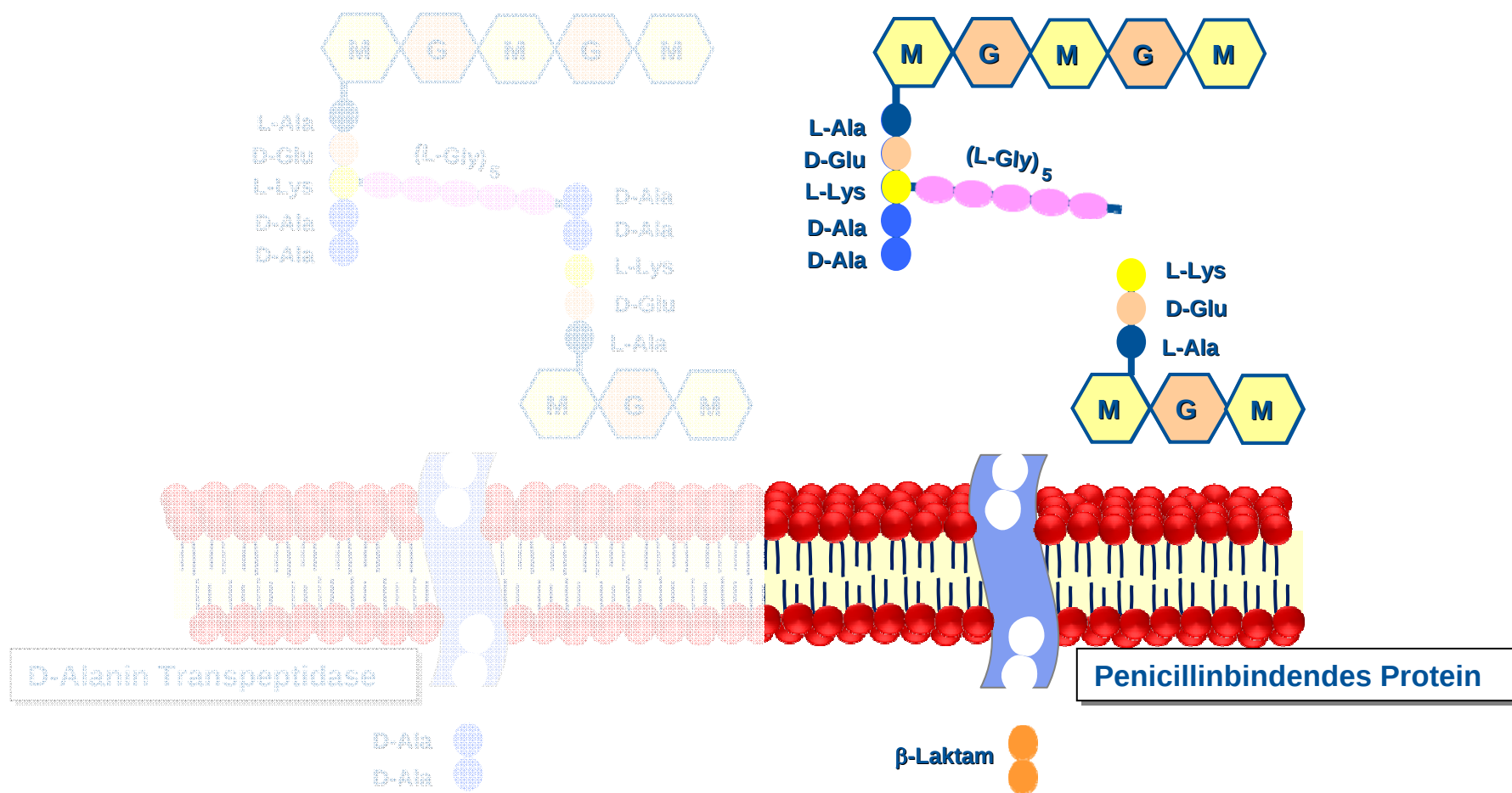


Innen



Veränderung des Rezeptors

Außen

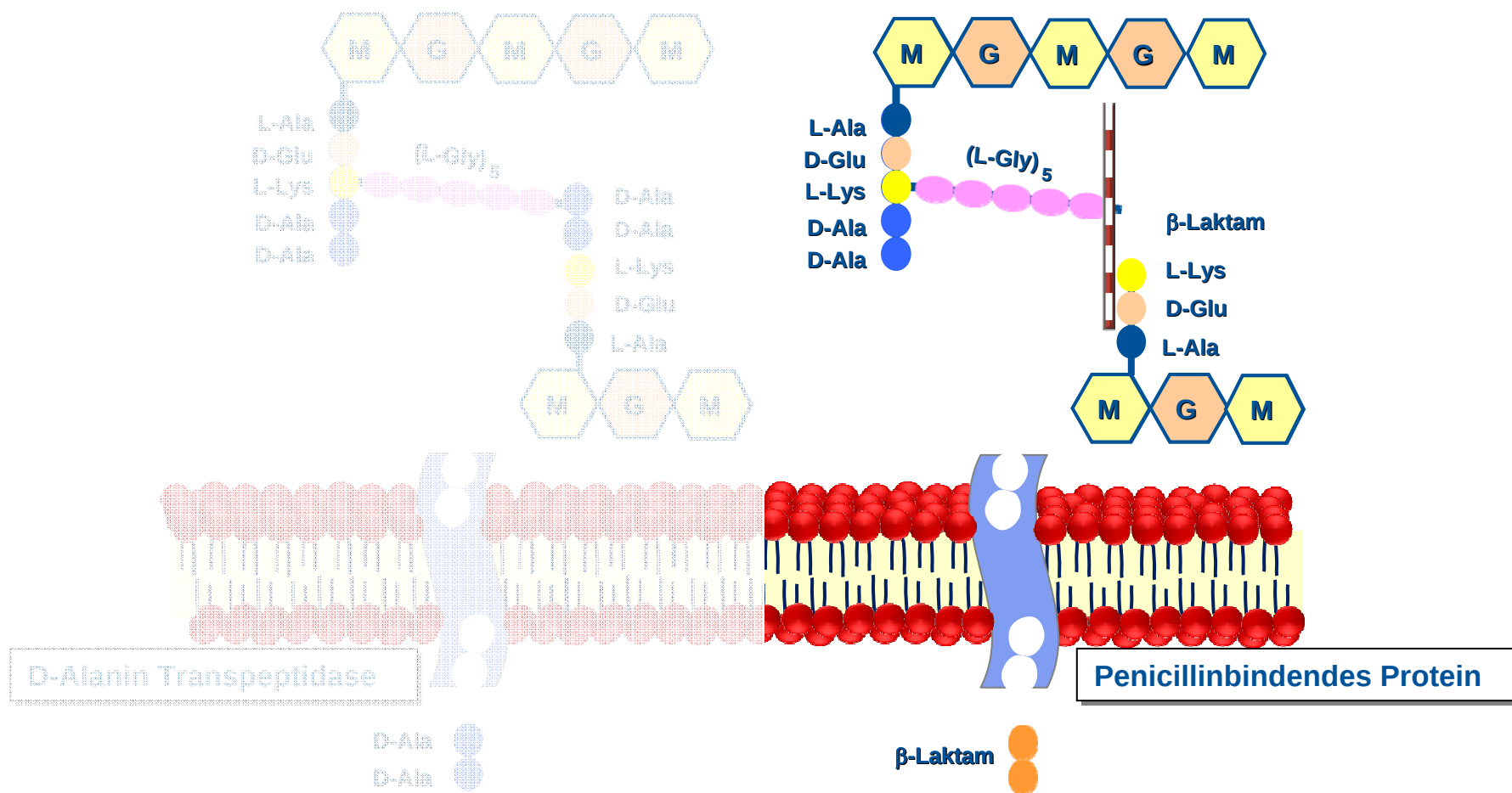


Innen



Veränderung des Rezeptors

Außen

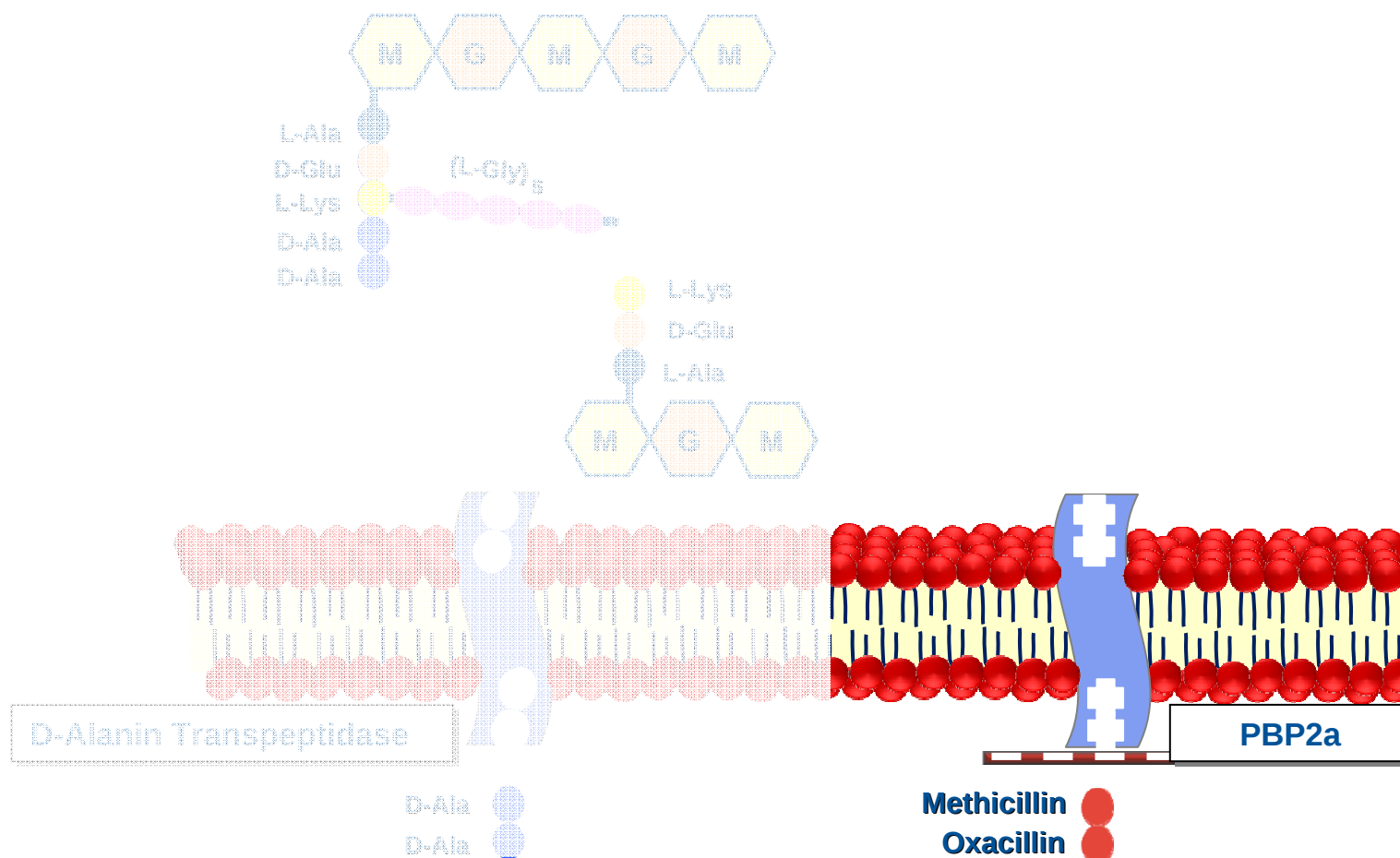


Innen



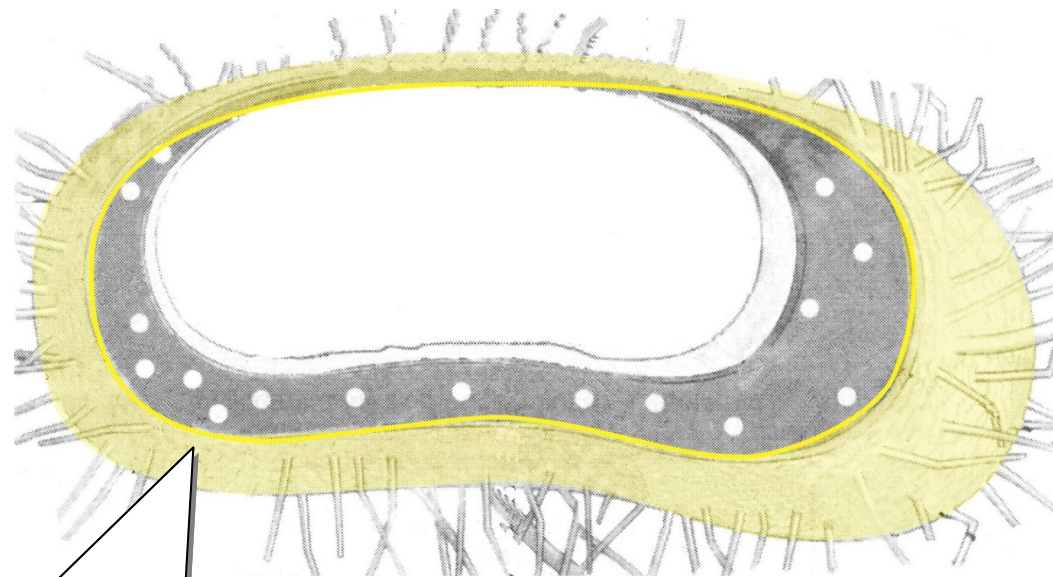
Veränderung des Rezeptors

Außen



Innen

Schematische Darstellung der Angriffspunkte von Antibiotika an der Bakterienzelle



Inhibition der Peptidoglykanbiosynthese

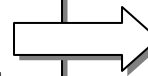
β -Laktam-Antibiotika

Glykopeptid-Antibiotika

Zyklische Peptidantibiotika

D-Cycloserin

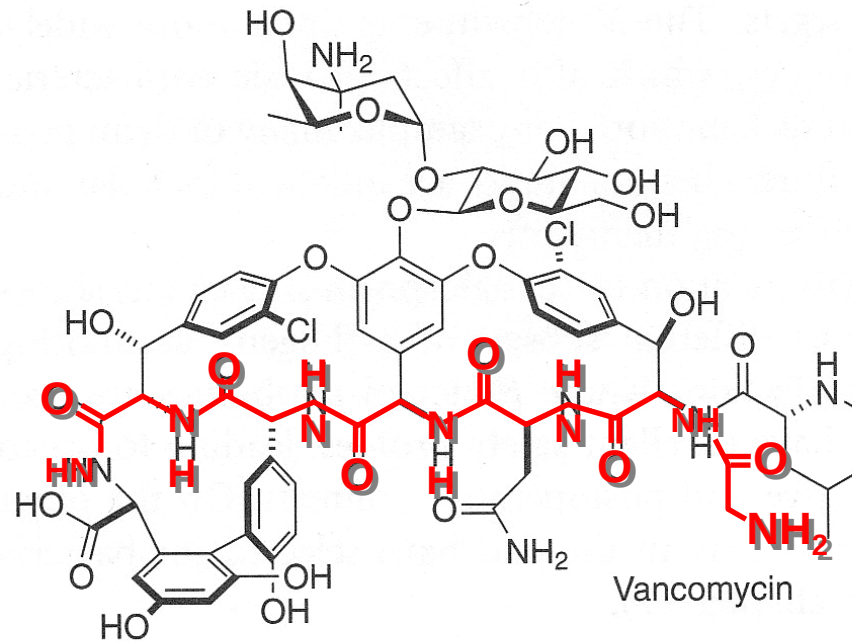
Fosfomycin



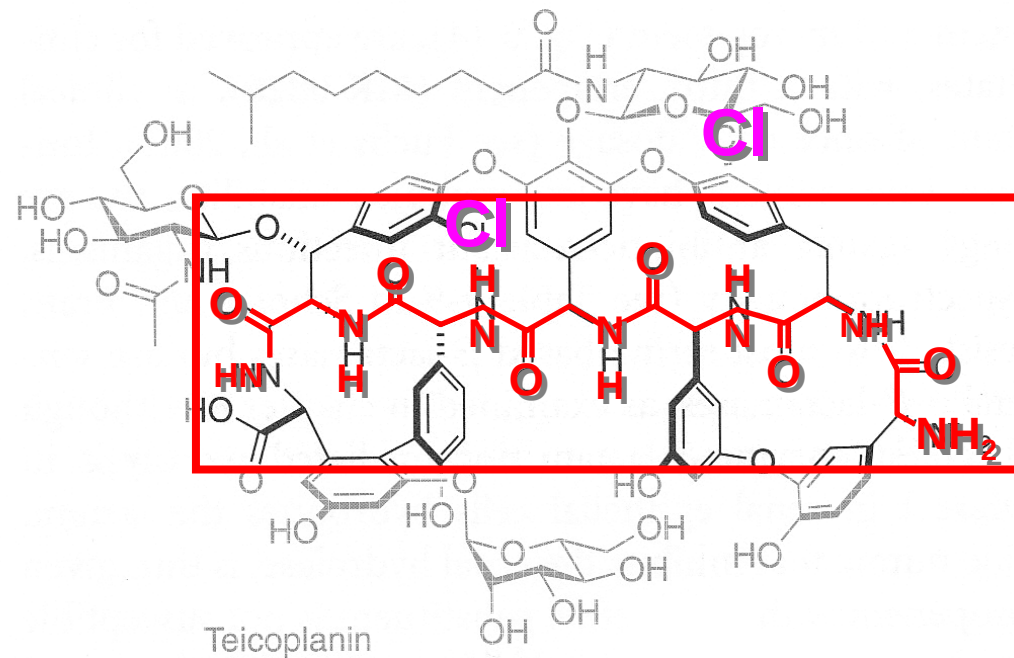
Vancomycin

Teicoplanin

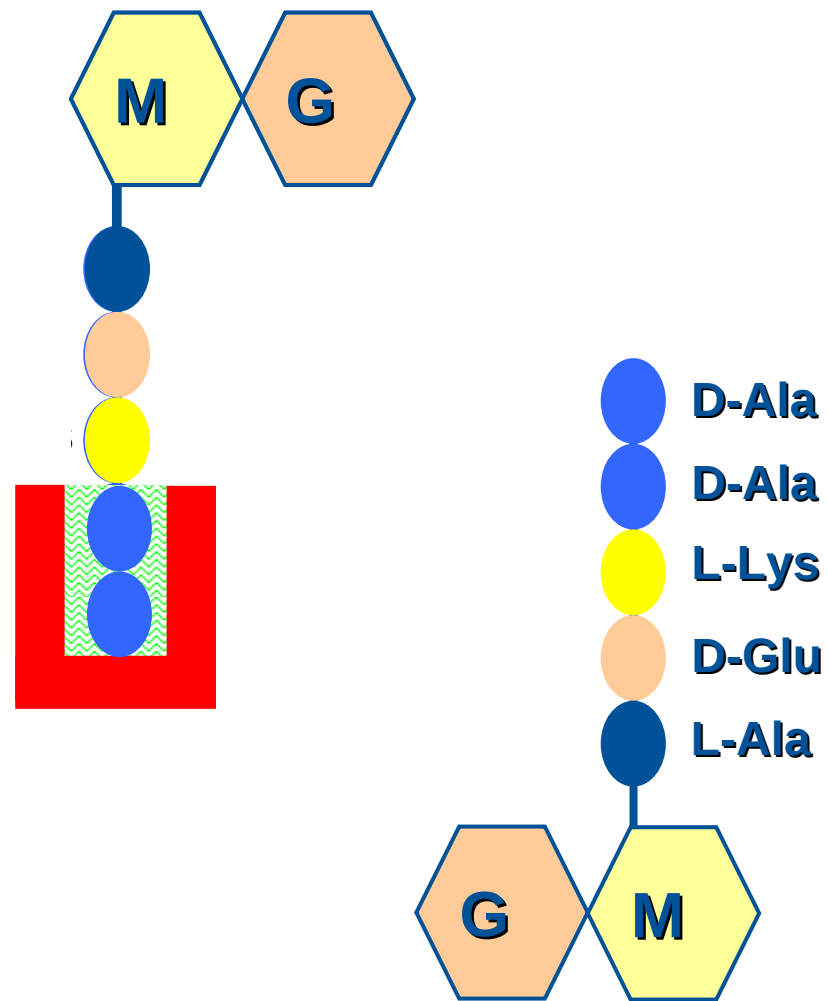
Molekulare Struktur der Glykopeptidantibiotika



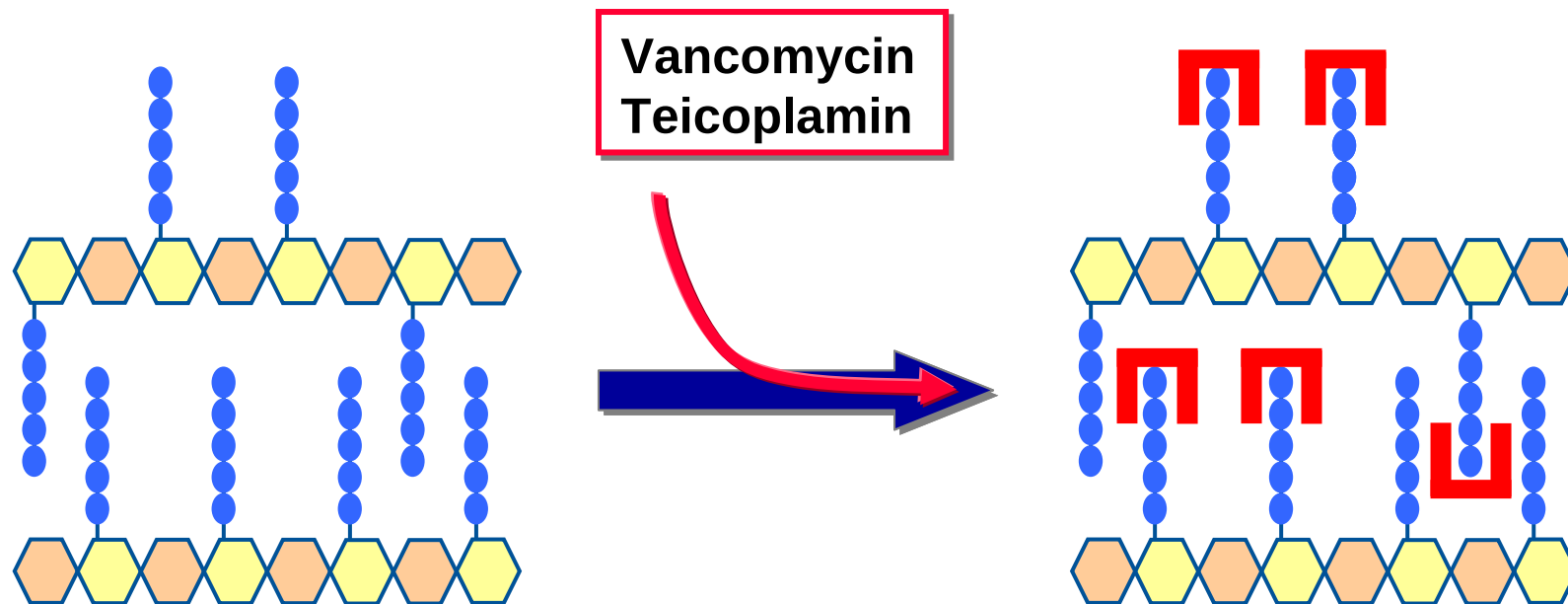
Molekulare Struktur der Glykopeptidantibiotika



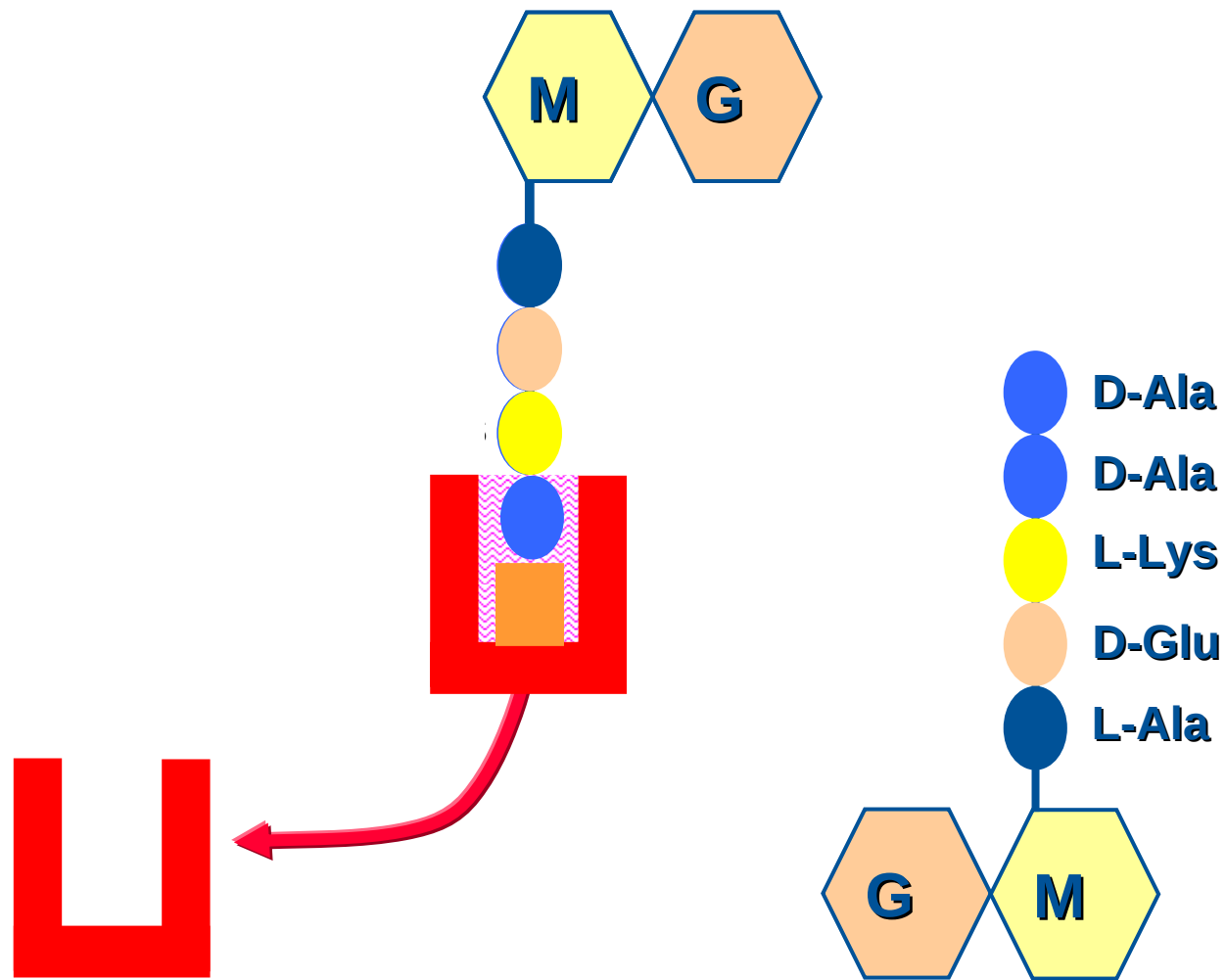
Molekularer Wirkmechanismus Glykopeptid-Antibiotika (1)



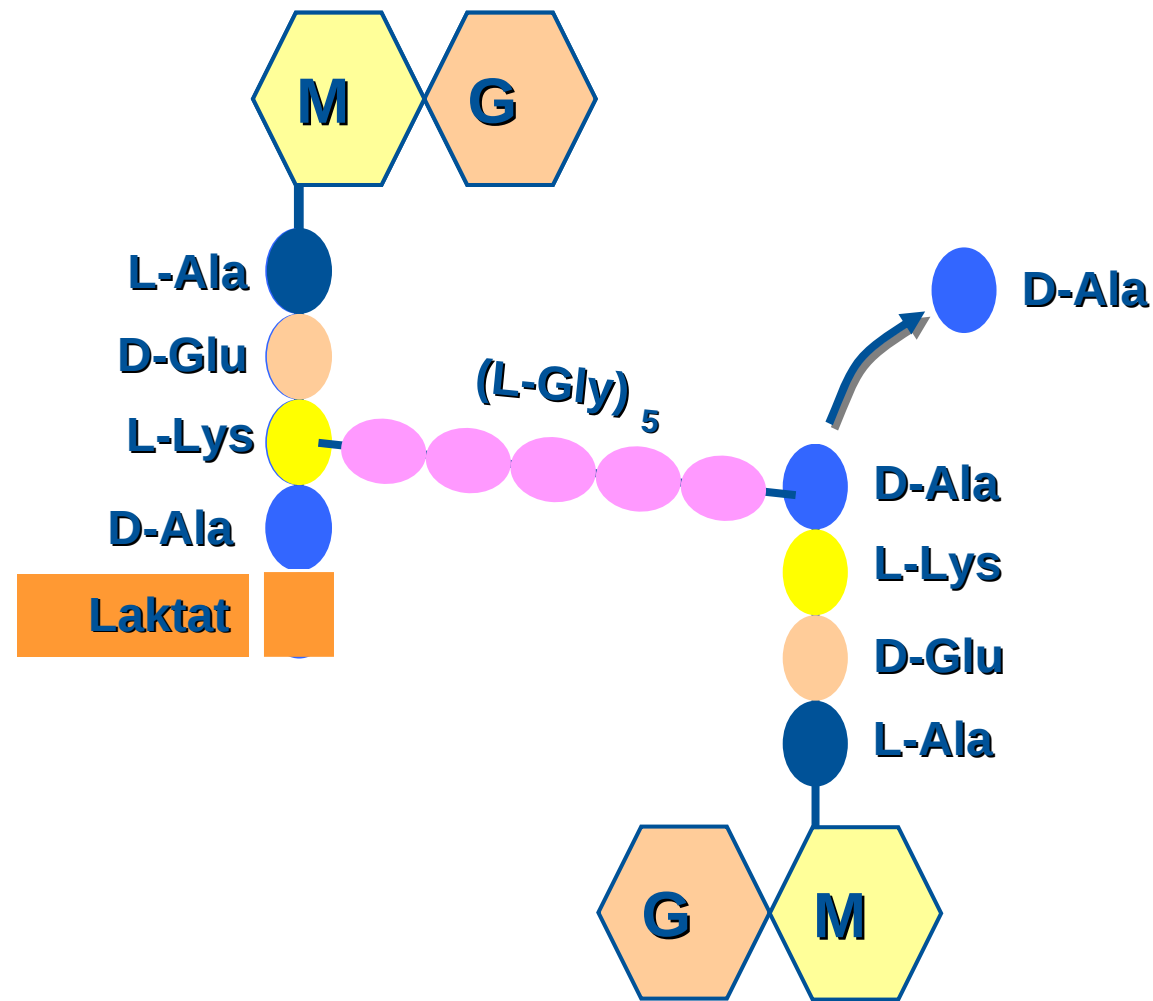
Molekularer Wirkmechanismus Glykopeptid-Antibiotika (2)



Molekularer Mechanismus Resistenzentwicklung gegen Glykopeptid-Antibiotika



Molekularer Mechanismus Resistenzentwicklung gegen Glykopeptid-Antibiotika



Phänotypen der Glykopeptid-Resistenz



Phäno- typ	Species	Vanco MHK (mg/l)	Teico MHK (mg/l)	Induzier- barkeit	Horizontale Übertragung
VAN A	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	64 - 1.000	16 - 512	X	X plasmidisch

Phänotypen der Glykopeptid-Resistenz



Phäno- typ	Species	Vanco MHK (mg/l)	Teico MHK (mg/l)	Induzier- barkeit	Horizontale Übertragung
VAN A	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	64 - 1.000	16 - 512	X	X plasmidisch
VAN B	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	4 - 1.000	0,5 - 1	X	X plasmidisch

Phänotypen der Glykopeptid-Resistenz



Phäno- typ	Species	Vanco MHK (mg/l)	Teico MHK (mg/l)	Induzier- barkeit	Horizontale Übertragung
VAN A	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	64 - 1.000	16 - 512	X	X plasmidisch
VAN B	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	4 - 1.000	0,5 - 1	X	X plasmidisch
VAN C	<i>E. gallinarium</i> <i>E. casseliflavus</i>	2 - 32	0,5 - 1	X/Ø	Ø

Phänotypen der Glykopeptid-Resistenz



Phäno- typ	Species	Vanco MHK (mg/l)	Teico MHK (mg/l)	Induzier- barkeit	Horizontale Übertragung
VAN A	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	64 - 1.000	16 - 512	X	X plasmidisch
VAN B	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	4 - 1.000	0,5 - 1	X	X plasmidisch
VAN C	<i>E. gallinarium</i> <i>E. casseliflavus</i>	2 - 32	0,5 - 1	X/Ø	Ø
VAN D	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	64 - 138	4 - 64	X	Ø

Phänotypen der Glykopeptid-Resistenz



Phäno- typ	Species	Vanco MHK (mg/l)	Teico MHK (mg/l)	Induzier- barkeit	Horizontale Übertragung
VAN A	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	64 - 1.000	16 - 512	X	X plasmidisch
VAN B	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	4 - 1.000	0,5 - 1	X	X plasmidisch
VAN C	<i>E. gallinarium</i> <i>E. casseliflavus</i>	2 - 32	0,5 - 1	X/Ø	Ø
VAN D	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	64 - 138	4 - 64	X	Ø
VAN E	<i>E. faecalis</i>	8 - 32	0,5	X	X chromosomal

Phänotypen der Glykopeptid-Resistenz



Phäno- typ	Species	Vanco MHK (mg/l)	Teico MHK (mg/l)	Induzier- barkeit	Horizontale Übertragung
VAN A	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	64 - 1.000	16 - 512	X	X plasmidisch
VAN B	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	4 - 1.000	0,5 - 1	X	X plasmidisch
VAN C	<i>E. gallinarium</i> <i>E. casseliflavus</i>	2 - 32	0,5 - 1	X/Ø	Ø
VAN D	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	64 - 138	4 - 64	X	Ø
VAN E	<i>E. faecalis</i>	8 - 32	0,5	X	X chromosomal
VAN G	<i>E. faecalis</i>	16	0,5	X	Ø

Phänotypen der Glykopeptid-Resistenz



Phäno- typ	Species	Vanco MHK (mg/l)	Teico MHK (mg/l)	Induzier- barkeit	Horizontale Übertragung
VAN A	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	64 - 1.000	16 - 512	X	X plasmidisch
VAN B	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	4 - 1.000	0,5 - 1	X	X plasmidisch
VAN C	<i>E. gallinarium</i> <i>E. casseliflavus</i>	2 - 32	0,5 - 1	X/Ø	Ø
VAN D	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	64 - 138	4 - 64	X	Ø
VAN E	<i>E. faecalis</i>	8 - 32	0,5	X	X chromosomal
VAN G	<i>E. faecalis</i>	16	0,5	X	Ø
VAN L	<i>E. faecalis</i>				

E-Test: Glykopeptid-Resistenz

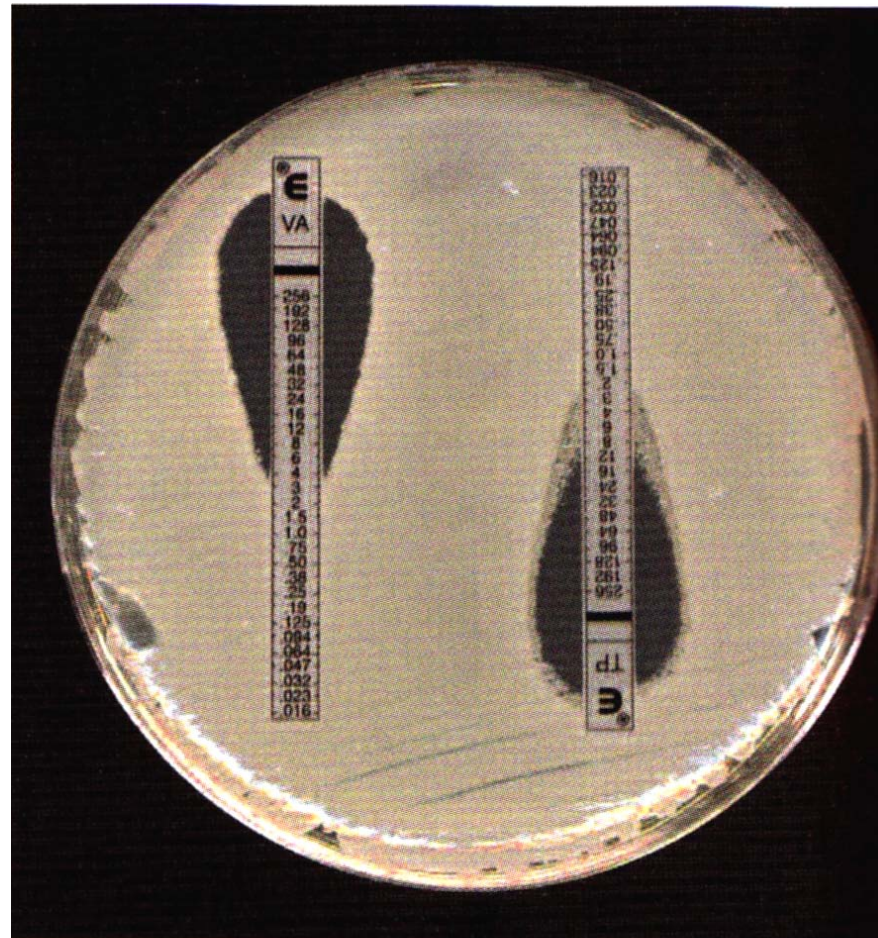


Fig. 5. Glycopeptide MICs determined by E-test® of strain with intermediate susceptibility to teicoplanin (MIC = 12 µg/ml) and vancomycin (MIC = 4 µg/ml)

E-Test: Heteroresistenz

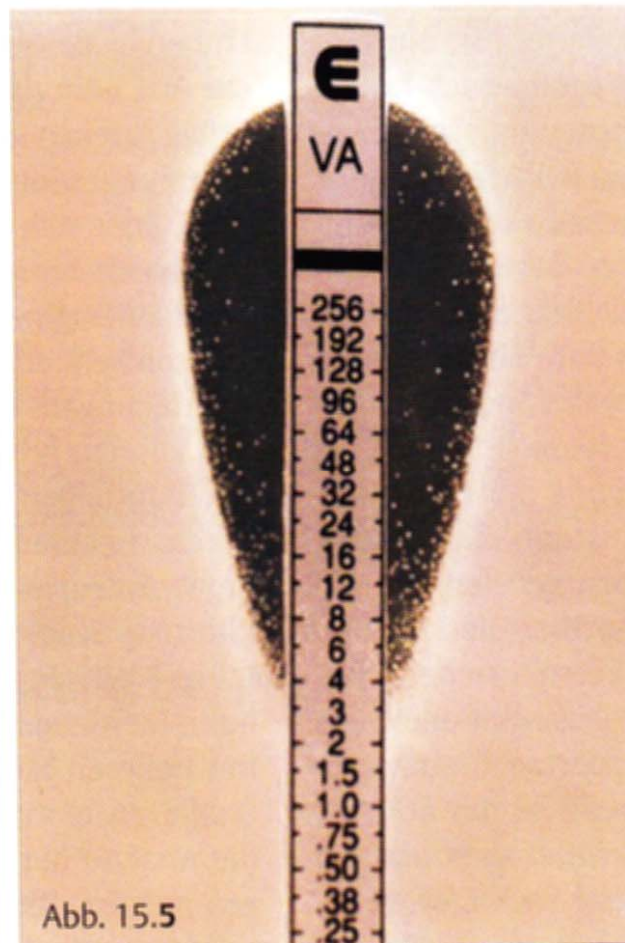
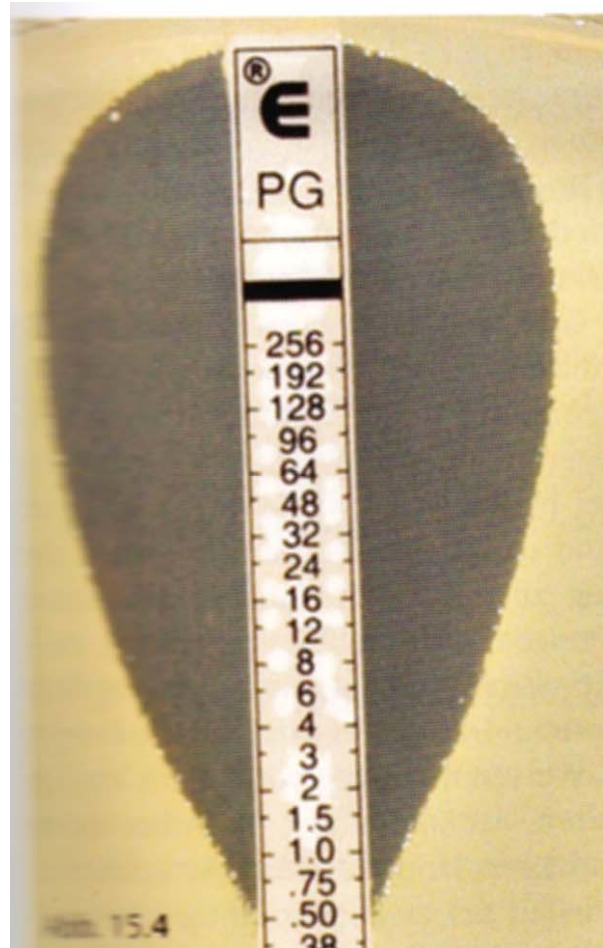


Abb. 15.4 Beispiel für die Bestimmung der MHK mit dem Etest-Verfahren.

Abb. 15.5 Nachweis einer Low-Level-Resistenz mit dem Etest.

Die Waffen der Bakterien



Resistenzmechanismen:

Veränderung der Penetration:

- Porine: Konformationsänderung

Verlust

- Efflux-Systeme

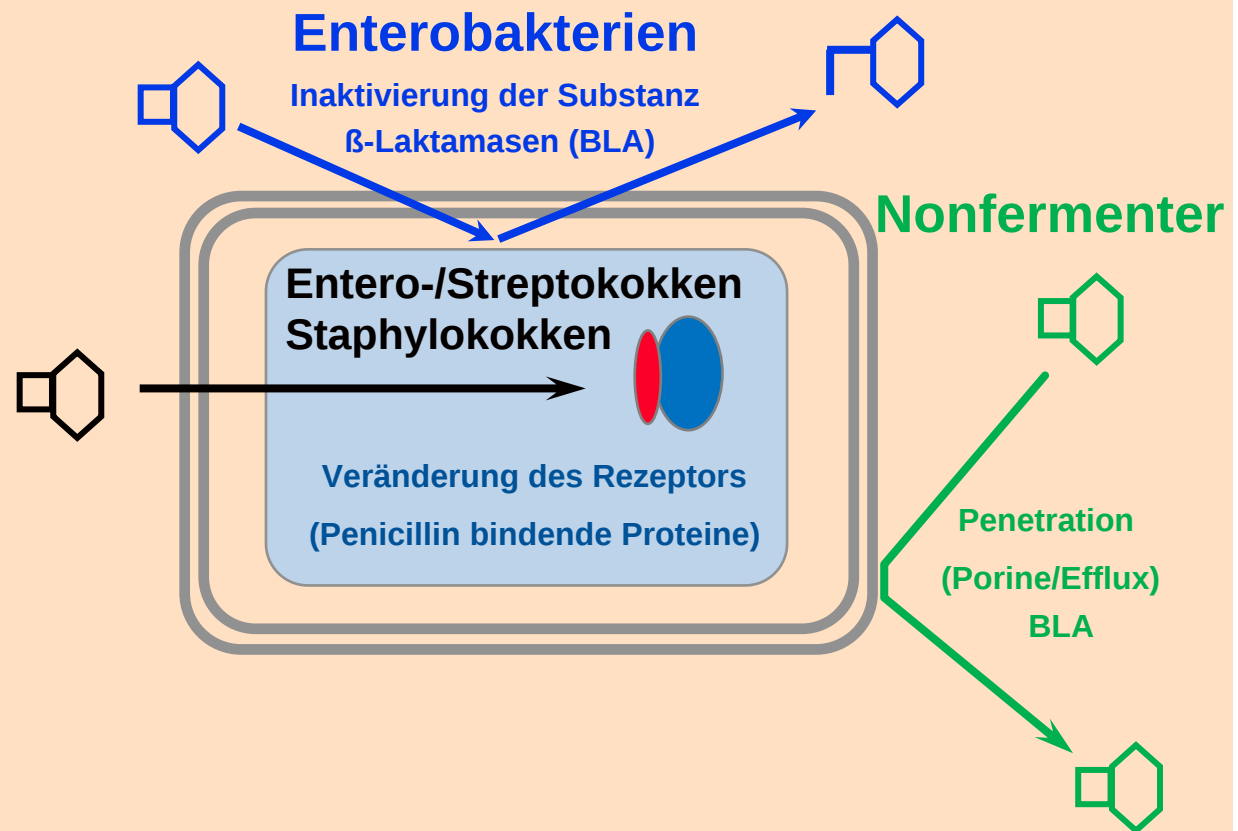
Membran-ATPasen, Carrier

Expression von β -Laktamasen:

- Penicillinasen
- Cephalosporinasen
- Carbapenemasen

Veränderung des Rezeptors (PBP's):

- Staphylokokken (PBP-2a)
- Enterokokken (PBP-5)
- Streptokokken (PBP- 1A, 2B, 2X)





Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

