ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BIYOTEKNOLOJI
ENSTITÜSÜ

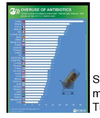
Doruk Engin, MD, PhD
Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü

antimikrobiyal direncin evrimi ve hastane enfeksiyonlarına etkisi

Antimikrobiyallerin altın çağı

Sömürülen mucize

Antibiyotik "işi" eskisi kadar karlı değil...

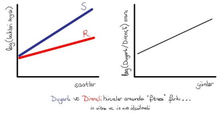


Sosyal medyada Türkiye :)

Bacteria	Resistance mutation	Resistance by	Compensatory mutation	Resistance in compensated mutant
Schizosaccharomyces pombe, eukaryote	cpt1	Streptomycin	Ineffective	Maintained
Listeria Typhimurium	rpsL	Streptomycin	Ineffective (rpsB or rpsD)	Maintained
	gyrA	Nalidixic acid	Ineffective	Maintained
	gyrB	Novobiocin	Ineffective	Maintained
	rpoA	Rifampicin	Ineffective	Maintained
	rpoC	Kasugamycin	Ineffective	Lost
	rpoD	Kasugamycin	Ineffective	Lost
	rpoB	Rifampicin	Ineffective	Lost
	rpoB	Kasugamycin	Ineffective	Lost
Escherichia coli	gyrA and rpoB	Fluoroquinolones	Ineffective (gyrA)	Increased
	gyrA and rpoB	Fluoroquinolones	gyrA 2	Increased
	cpx	Streptomycin	Ineffective (rpsB or rpsD)	Maintained
	rpoB	Rifampicin	Ineffective	Maintained
Staphylococcus aureus	fus	Fusidic acid	Ineffective	Maintained or lost
	cf	Linezolid	Gene conversion	Lost
Streptococcus pneumoniae	gyrA, parC and gyrB	Fluoroquinolones	Ineffective	Maintained or increased
Mycobacterium tuberculosis	rpoB	Rifampicin	Ineffective (rpoC)	Maintained
Neisseria meningitidis	rpoC	Sulfonamide	Ineffective	Maintained

Antibiotic resistance and its cost: Is it possible to reverse resistance? Dan I. Andersson & Diarmaid Hughes Nature Reviews Microbiology 8, 260-271 (April 2010)

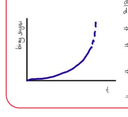
"FITNESS" nedir ve nasıl ölçülür?



Deneyde ve "Doğal" hücreler arasında "fitness" farkı...
ve ortaya çıkan, ve yok olan farklılıklar

Antimikrobiyal etkisi altında olmayan hücrelerde üremenin kinetiği bir şeyler anlatıyor

Temelde, bakteri üremesinin modeline gereksinimimiz var:



$$\frac{dx}{dt} = kx$$

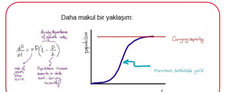
$$\Rightarrow \frac{dx}{dt} = kdt$$

$$\Rightarrow \int_{x(0)}^{x(t)} \frac{dx}{x} = k\int_0^t dt$$

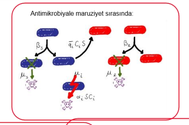
$$\Rightarrow \ln\frac{x(t)}{x(0)} = kt$$

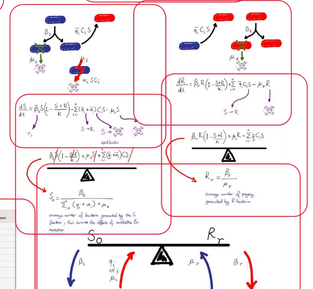
$$\Rightarrow x(t) = x(0)e^{kt}$$

Daha makul bir yaklaşım:



Antimikrobiyale maruziyet sırasında:

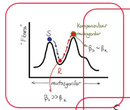


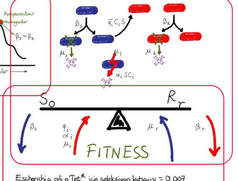


Stres her yerde ve her zaman...
Mikroorganizmalar "mılıyar yıllık" deneyimlerini nasıl kazanıyor?

Salt dijital tasarım, "fitness" in sürekli artmasını gerektirmektedir...

tepeden vadiye inişi için küçük subpopülasyonların GENETIK DRIFT geçirmesi! Shifting Balance Theory





Escherichia coli pTet^R için selektiyon katsayısı = 0.007
Üreme hızında %0.7 azalma
Doğal yolla kazanılan dirençli kalıtlanmayı ile
%0.1 R : %99.9 S hücre oranlarına dönebilmek için ~ 15 yıl süre gerekli!
5 haftada aynı düzeyim, için selektiyon katsayısı ≥ 0.06 olmalı

Paulander, W., Maisnier-Patin, S. & Andersson, D. I.The fitness cost of Streptomycin resistance depends on rpsL mutation, carbon source and RpoS (oS). Genetics183, 539–546 (2009)

SM^R *Salmonella enterica* suşlarında rpsL K42N ya da P90S substitüsyonları artmış üreme hızına sahip!

*Aslında, σ^S (RpoS) aracılı stres yanıtı gerçekleşmeyen bu hücreler durağan fitness GÖSTERMİYOR
⇒ hayatta kalmak için bu yanıt önemli!

rpsL ↔ rpoS EPİSTATİK ilişkisi

Yu, J., Wu, J., Francis, K. P., Purchio, T. F. & Kadurugamuwa, J. L. Monitoring in vivo fitness of rifampicin-resistant Staphylococcus aureus mutants in a mouse biofilm infection model. J. Antimicrob. Chemother.55, 528–534 (2005)

rpoB mutasyonları ⟶ Rif^R *S. aureus* hücreleri

Çoğu mutante fitness bağıllığını modellemede azalmış "fitness"e sahip.

Foucault, M. L., Courvalin, P. & Grillot-Courvalin, C.Fitness cost of VanA-type vancomycin resistance in methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Antimicrob. Agents Chemother.53, 2354–2359 (2009)

MRSA'larda vanA indüksiyonu ⟶ ü.r.me hızında % 20-38 azalma

(vanA indüksiyonu olmayan durumda yalnızca % 0.04–0.3 düzeyinde)

Macvanin, M., Johanson, U., Ehrenberg, M. & Hughes, D.Fusidic acid-resistant EF-G perturbs the accumulation of ppGpp. Mol. Microbiol.37, 98–107 (2000)

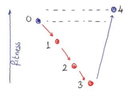
Elongasyon faktörü G'yi kodlayan fusA mutasyonları ⟶ Fus^R *S. enterica*

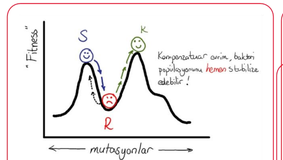
ppGpp düzeyleri etkilenmekte

Bu PLEİTROPİK etki nedeni ile, bakteri farklı ortamlara uyum sağlamakta güçlük çekmekte!

Marcusson, L. L., Frimodt-Moller, N. & Hughes, D.Interplay in the selection of fluoroquinolone resistance and bacterial fitness. PLoS Pathog.5, e1000541 (2009).

E. coli fluorokinolon direnci gyrA ve parC mutasyonları





Kompensatuar onarım, bakteri popülasyonunu ölümsün'ü stabilize edebilir!

⊗ ⇒ ☺ yavaş, düzü onarımsayısal, ölçeğe antimikrobiyal - bakteri çiftçi işsizlikmek değil, ancak YAVAŞ

? Azalmış virülans
? Azalmış bulaşıcılık

Biyolojik ve Epidemiyolojik Modeller
Nasıl Yardımcı Olabilir?

Elde bulunan antimikrobiyallerin rasyonel kullanımına katkı

Kullanıma yeni girenlerin "korunması"

Alternatif yaklaşımla???

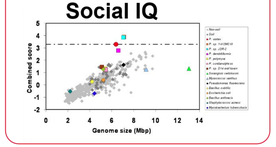
Alternatif hedefler:
Bakterilerin stres algısını düzenlemek

Hücre çeşitli sinyal bakmaktadır :

Kısıtlama et al.:
E. coli'de rifampisin direncine neden olan mutasyon hücresel "Quorum Sensing"de ilişkili
↓ hücre yoğunlukları ⟶ ↑ mutasyon hızı
△ LasS state ⟶ ↑ mutasyon hızı

Yalnızlık & Engin:
E. coli'de fluorokinolon direncinden sorumlu mutasyonların kazanılmasında QS rol oynuyor

1. Sirota-Madi A, Olender T, Helman Y, Ingham C, Brainis I, Roth D, et al. Genome sequence of the pattern forming Paenibacillus vortex bacterium reveals potential for thriving in complex environments. BMC Genomics. 2010 Dec 17;11(1):710.


Social IQ
Combined score
Genome size (Mbp)
Neural
Soil
soil video
soil sp. 1GCABCD7
soil sp. 2GCABCD7
soil sporulans
P. polymyxa
P. vortex
P. curdlanolyticus
P. dendritiformis
B. subtilis
B. cereus
B. anthracis
E. coli
M. xanthus
M. tuberculosis
S. coelicolor
S. cerevisiae
C. elegans
D. melanogaster
Drosophila melanogaster
Homo sapiens
Mus musculus
Rattus norvegicus
Danio rerio
Arabidopsis thaliana
Oryza sativa japonica
Bos taurus
Saccharomyces cerevisiae
Schizosaccharomyces pombe
Neurospora crassa
Aspergillus nidulans
Dictyostelium discoideum
Plasmodium falciparum
Giardia lamblia
Trichomonas vaginalis
Entamoeba histolytica
Trypanosoma cruzi
Leishmania major
Trypanosoma brucei
Toxoplasma gondii
Cryptosporidium parvum
Encephalitozoon cuniculi
Nosema ceranae
Giardia intestinalis