

### 3. Antibiotikoekiko erresistentziaren oinarri genetikoa.

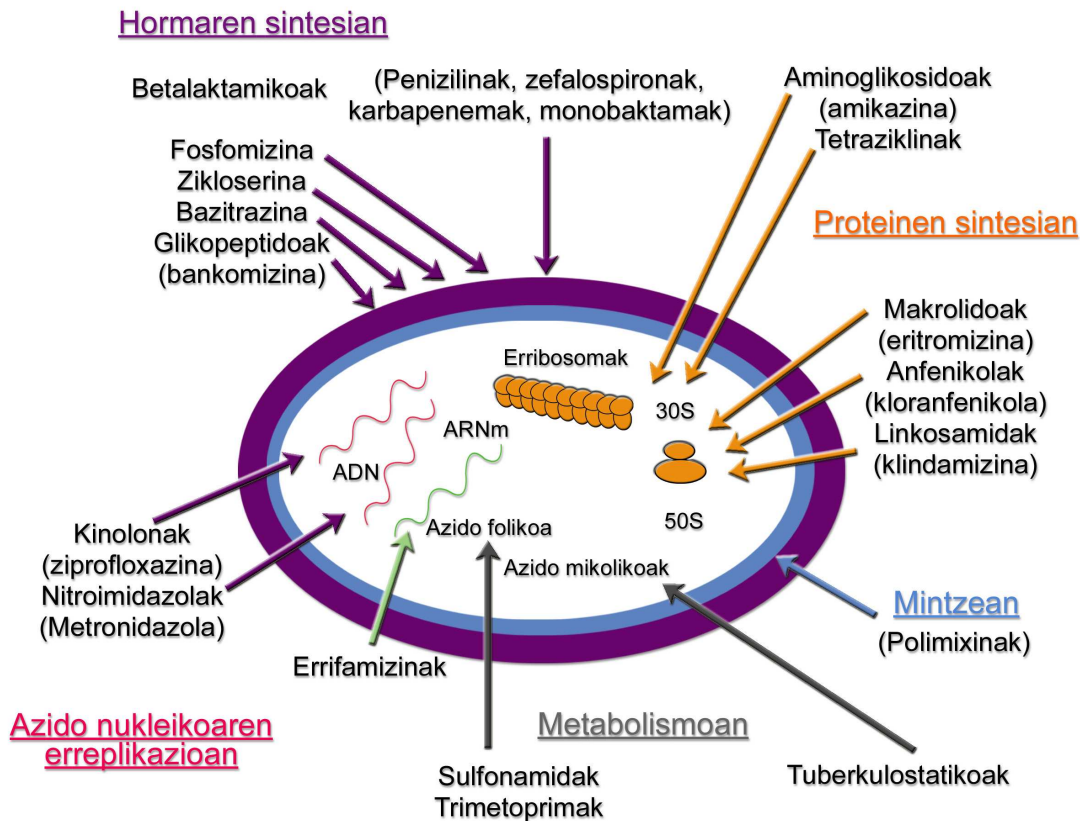
#### **Antibakterianoak: aurkikuntza eta bilakaera.**

**Alexander Fleming-ek** 1929an aurkitu zuen lehen antibiotikoa, **penizilina**. *Penicillium notatum* lizunak sortutako substantzia bat zen, estafilokokoen hazkundera galarazteko gai zena. Purifikatu ostean eta animalien gaixotasun infekziosoak sendatzeko baliagarria zela frogatu ondoren, penizilina erabiltzen hasi zen gizakien infekzioak tratatzeko, arrakasta handia lortuz. Penizilina aurkitu ondoren, **Waksman-ek** eta berarekin lan egiten zuten beste ikertzaileek beste substantzia batzuk aurkitu zituzten, lurreko onddo eta bakterio espezie desberdinekin saiaturik: estreptomizina, kloranfenikola, tetraziklinak edo eritromizina, besteak beste. 1940-50. hamarkadan, antibiotiko hauek oso baliagarriak izan ziren bakterioek eragindako gaixotasunak sendatzeko.

Dena den, naturan aurkitzen diren substantzia antimikrobiano askoren artean gutxi batzuek soilik dute **balio terapeutikoa**. Substantzia antimikrobiano bat gaixotasunak sendatzeko erabilgarria izateko, gaixotasuna eragiten duen mikroorganismoaren hazkundera galarazi beharko du, baina pazientearentzat toxikoa ez den kontzentrazioa erabiliz. **Toxikotasun hautakor** honen gakoa **ekintza mekanismoan** datza gehienetan. Antibiotikoek suntsitzen badute bakterioetan eta gizakiaren zeluletan dagoen egitura edo prozesuren bat, mintz zitoplasmatikoa adibidez, toxikotasun handiegia eduki dezakete bide sistemikotik erabiltzeko. Aldiz, **soilik bakterioek duten egitura batean eragiten** dutenak, gure zelularentzat ez dira toxikoak izango. Honela, antibiotiko onenak bakterioen horma desegiten dutenak dira, besteak beste betalaktamikoak, bakterioentzat beharrezkoa den egitura suntsituz eraginkorrak direlako infekzioak kontrolatzeko, guretzat toxikotasun txikia izanik.

#### **Sailkapena**

Hainbat modu dago antibiotikoak sailkatzeko. **Izaera kimikoaren arabera** adibidez, oinarriko egitura molekularra antzekoa duten substantziak familia berean kokatzen dira. Horrela bereizten dira **antibiotikoen familiak**: betalaktamikoak, aminoglukosidoak, tetraziklinak, makrolidoak eta abar. baina beste ikuspuntu batetik sailkatu ahal dira antibiotikoak **ekintza-mekanismoaren arabera**. Honela, 3.1. irudian ikusten denez, bost antibiotiko talde nagusiak bereizi ahal ditugu: 1) bakterioen **hormaren sintesia oztopatzen** dutenak, 2) bakterioaren **mintza suntsitzen** dutenak, 3) bakterioen **proteinen sintesia etenarazten** dutenak, 4) bakterioen **kromosomaren erreplikazioa** oztopatzen dutenak eta 5) azido folikoa edo beste substantzien **bide biosintetikoak inhibitzen** dituztenak.



**3.1. irudia:** Hainbat antibiotiko familiaren ekintza mekanismoak.

### 1. Hormaren sintesia galarazten duten antibiotikoak

Hormaren sintesia inhibitzen duten antibiotikoek **peptidoglikano berriaren sintesiaren hainbat urratsetan eragin** ohi dute.

**Betalaktamikoak**, adibidez, D-alanil-D-alaninaren analogoak dira eta peptidoen arteko loturen eraketa, hau da, peptidoglikano sintesiaren azken urratsa inhibitzen dute.

Familia barruan lau talde bereizten dira. **Penizilina naturalak** *Penicillium* onddoak sortuak dira. gram-positiboen kontra erabili izan dira, baina *Staphylococcus* kasuan penizilinasak ekoizten duten andui erresistenteak gero eta gehiago dira.

Espektrua zabalagoa dute **penizilina erdi sintetikoak**. Anpizilina, adibidez, gram-negatibo batzuen kontra erabili ahal da. Azido klabulanikoa eta antzeiko substantziak ez dira berez antimikrobianoak, betalaktamasen inhibitzaileak baizik, baina askotan penizilina erdi sintetikoekin batera erabiltzen dira (amoxizilina + klabulanikoa adibidez).

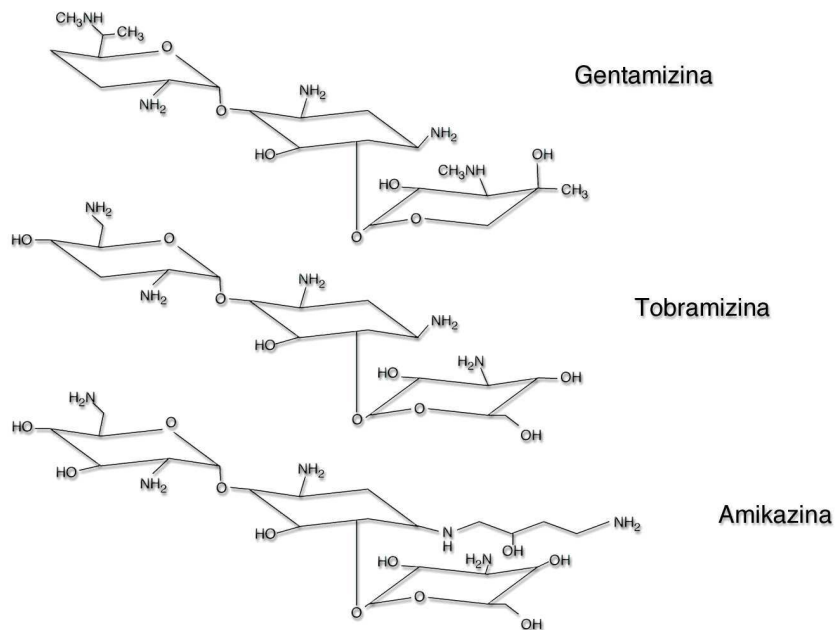
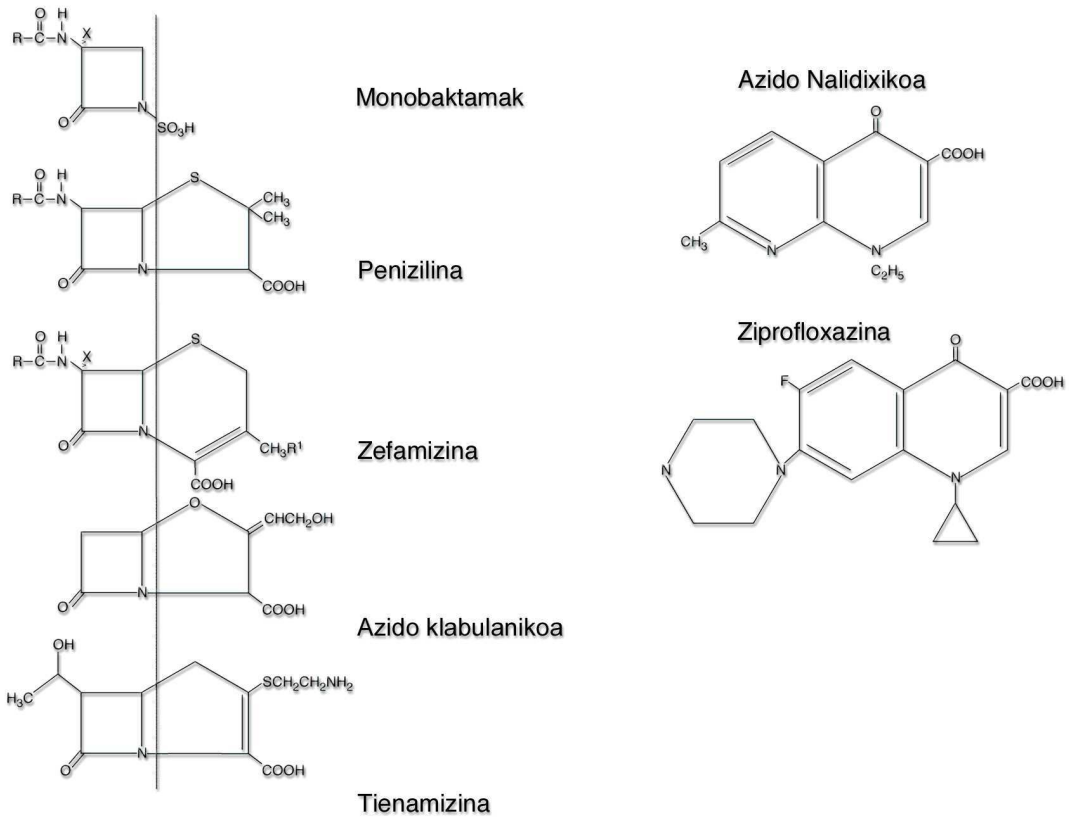
*Cephalosporium* onddoek ekoizten dituzten **zefalosporinak**, penizilinen mekanismo bera dute, baina penizilinasen aurrean egonkorragoak direnez espektrua antimikrobianoa zabalagoa dute. Dena den, zefalosporinasak diren betalaktamasa batzuk daude.

**Monobaktamak** penizilina eta zefalosporinen aurreko alergia duten pertsonak tratatzeko erabili daitezke.

*Bacillus* generoko bakterioek ekoiztutako **bazitrazina** eta beste **antibiotiko polipeptidikoek** zitoplasmatik kanporako peptidoglikanoaren unitateen garraioa inhibitzen dute.

**Zikloserina** D-alanina bezalako da eta peptidoglikano unitateen eraketa inhibitzen du. Oso eraginkorra izan arren, toxizitatea dela eta, oso gutxi erabiltzen da.

Bankomizina bezalako **glukozeptidoek** peptidoglikanoaren muntaia-prozesuan transpeptidazioa inhibitzen dute. Beste antibiotikoekiko erresistenteak diren *S.aureus* anduientzat erabiltzen da.



3.2. irudia: hainbat antibiotiko-familien egitura.

## 2. Mintz zitoplasmatikoa suntsitzen duten antibiotikoak

*Bacillus polymixis*-ek sortutako **polimixinak** bakterioen mintz zitoplasmatikokoaren egitura suntsitzen du, baina mintzen egitura guztiak oso antzekoak direnez ostalariaren zelulentzat **oso toxikoa** da eta erabilera murriztua du.

### 3. Proteinen sintesia etenarazten duten antibiotikoak

Bakterioen proteinen sintesia 50S eta 30S azpiunitateak dituzten 70S erribosometan gertatzen da; eukariotoena, aldiz, 80S erribosometan gertatzen da. Aminoglikosido, tetraziklina eta proteinen sintesien urratsen bat inhibitzen dituzten antibiotikoak **bakterioen erribosomentzako espezifikoak** dira.

*Streptomyces* edo *Micromonospora* generoko bakterioek sortutako antibiotiko **aminoglikosidoak** (estreptomizina, kanamizina, tobramizina, gentamizina,..) erribosomen **30S azpiunitatea** elkartzen dute, proteinen sintesiaren lehenengo urratsa oztopatuz. Aminoglikosidoak bakterio gram-positibo eta gram-negatiboen kontra espektruz zabaleko antibiotikoak dira.

**Tetraziklinak** (tetraziklina, klorotetraziklina eta doxiziklina) erdisintetiko edo sintetikoak dira. Proteinen sintesia inhibitzen dute bakterioetan -eta baita zelula eukariotoetan ere-, baina, **bakterioek tetraziklina barneratzeko sistema espezifikoak** dituztenez, kontzentrazio handiak lortzen dira bakterioen zitoplasman. Tetraziklinak oso erabiliak izan dira iraganean, eta, ondorioz, bakterio asko erresistente bihurtu dira. Oraindik erabiltzen dira espiroketa eta klamidien kontra.

**Kloranfenikolak** polipeptidoaren luzapena blokeatzen du peptidil-transferasa entzima inhibituz. Espektruz zabalekoa eta bakterioen 70S erribosometarako espezifikoa da, baina izan ditzakeen **eragin sekundario** txarregatik (anemia aplasikoa), oso gutxitan erabiltzen da.

- **Makrolidoek** erribosomen 50S azpiunitatea elkartzen dute eta proteinen luzapena etenarazten dute. Gram-positiboentzat bakterizidak dira eta gram-negatiboentzat bakterioestatikoak. **Linkosamidek**, makrolidoek duten ekintza-mekanismo bera dute. Familia honetako klindamizina bazilo gram-negatibo **anaerobioen kontra** erabili ohi da.

### 4. Azido nukleikoen erreplikazioa oztopatzen duten antibiotikoak

**Kinolonek** DNA biribilkatzeko beharrezkoa diren **DNA-girasak** inhibitzen dituzte. Lehen aurkitu zena, **azido nalidixikoa**, **gernu infekzioetan** erabiltzen zen, baina geroago sintetizatutako eratorri fluorodunak, **fluorokinolonak** deitutakoak, erabilera zabalagoa dute. Zelula barneko parasitoak diren bakterioen kontra eta gram-positibo batzuen kontra erabiltzen dira.

**Errifamizinek** DNA menpeko ARN polimerasa inaktibatuz, ARN mezularien eraketa blokeatzen dute. Errifanpizina gram-positiboen kontra, baita *Mycobacterium tuberculosis*-en kontra ere, eta gram-negatibo batzuen kontra erabili ahal da.

**Nitroimidazolak** eraginkorrak dira bakterio anaerobio eta protozooen kontra eta hauen artean metronidazola da erabiliena. Metronidazola, behin bakterio anaerobioen zitoplasman egon eta gero, elektroiak garraiatzen dituen proteina baten bidez erreduzituta izaten da eta orduan DNAaren kateak ebakitzen ditu. Gure zeluletan metronidazola erreduzitzeko entzimarik ez dagoenez guretzat ez da toxikoa izaten.

### 5. Metabolismoan eragina duten antibakterianoak

Kimioterapiko sintetikoek bakterioentzat beharrezkoak diren metabolito batzuen sintesia blokeatzen dute. **Sulfonamidek, Trimetropimak eta azido paraminosalizilikoak** azido folikoaren sintesia inhibitzen dute. Animaliek inguruan dagoen azido folikoa asimilatzen dutenez, haientzat ez dute eraginik. Beste botika tuberkulosikontroakoek, **isoniazinak eta etanbutolak**, bere aldetik, mikobakterioen azido mikolikoak sintetizatzea edo horman ezartzea oztopatzen dute.

### **Antibiotikoekiko hartutako erresistentziak**

Bakterio espezie batzuk, **jatorriz**, erresistenteak dira antibiotiko batzuekiko. **Gram-negatiboek** antibiotiko batzuekiko erresistentzia naturala dute, antibiotiko hauek ezin dutelako kanpo mintza zeharkatu, eraginkorrak izateko behar den bezain azkar.

Beste kasuetan, jatorriz sentikorra den espezie batek erresistentzia hartzen du. **Erresistentziak hartzeko** bi bide daude: 1) bere kromosomako gene batean **mutazio** bat izatea eta horrek antibiotiko ekintzarekin zerikusia duen proteina batean aldaketa ekartzea edo 2) beste bakterioetatik erresistentzia gene eramaten duen **plasmido edo transposoi** bat bereganatzea.

Edozein antibiotikok, eraginkorra izateko, bakterioan sartu eta bere xedeak diren molekulak bereganatu eta lotu behar ditu xedeen funtzioak inhibitzeko. Beraz, bakterioak antibiotiko batekiko erresistente bihurtzeko mekanismoak lau motatakoak izan daitezke:

1. Antibiotikoak xedean behar duen kontzentrazioa ez lortzea, **antibiotikoen sarrera** murriztuta egoteagatik edo **antibiotikoa kanporatzeko sistemak** egoteagatik. Antibiotiko hidrosolugarriek bakterio gram-negatiboen zitoplasmara heltzeko kanpo mintzaren **porinak** zeharkatu behar dituzte. Mutazioak direla medio, bakterioak porina estuagoak edo porina gutxiago sintetizatzen baditu, antibiotikoaren kontzentrazio eraginkorra lortzea ezinezkoa izango da. Beste kasuetan bakterioak antibiotikoa kanporatzeko proteinak sintetizatzen ditu eta honela eraginkorra izateko behar den kontzentrazioa ez da inoiz lortzen. Tetraziklinarekiko erresistentzia aipatutako mekanismoengatikoa da eta askotan plasmidoetan idatzita dago.

2. Xedera heldu baino lehen **antibiotikoa entzimen bidez indargabetua** izatea. Antibiotikoak indargabetzen dituzten entzimen artean garrantzitsuenak **betalaktamasak** dira. Eratzun betalaktamikoa hidrolizatuz apurtzen dute eta honela antibiotikoaren aktibitatea galtzen da. Betalaktamasa mota asko daude, kromosoman, plasmidoetan edo transposoietan, eta betalaktamikoaren erabilera zabalarengatik bakterio patogeno gehienetan hedatu dira. Indargabetzen duten antibiotiko motaren arabera penizilinasak, zefalosporinasak edo espektro zabaleko betalaktamasak deitzen dira.

**Aminoglikosidoen** aktibitate antibakterianoa galarazten dituzten entzima mota batzuk daude, **azetilasak, fosforilasak eta adenilasak**. Plasmido eta transposoien bidez hedatu dira, batez ere bakterio gram-negatiboen artean. Kloranfenikola azetilatzten duen entzima bat kloranfenikolarekiko erresistentziaren erantzulea izan ohi da.

3. Antibiotikoaren **xedea aldatuta** egotea antibiotikoarekiko kidetasuna galtzeko beste. Betalaktamikoaren molekula xedeak mintz zitoplasmatikokoan dauden proteina batzuk dira: penizilina elkartzen duten proteinak edo PBP (peniciling binding proteins). Mutazioen bitartez bakterio batzuek antibiotikoekin elkartzeko **kidetasun gutxiko PBP proteinak**

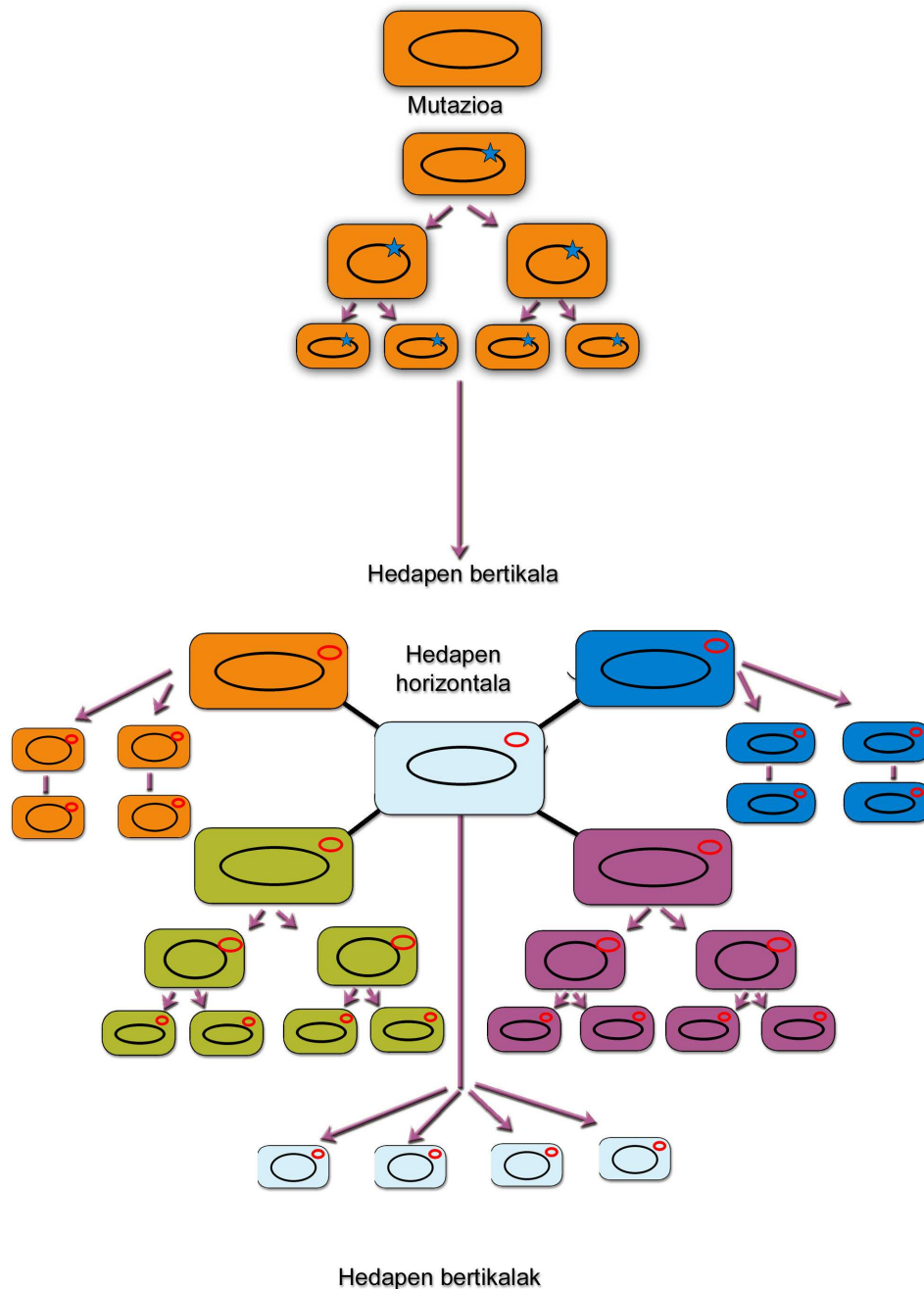
sintetiza ditzakete eta honela erresistente bihurtzen dira betalaktamikoekiko. Modu berean, **errribosometan edo DNA girasetan** mutazioengatik gertatzen diren **aldaketa** batzuek aminoglikosidoekiko, tetraziklinarekiko edo kinolonekiko erresistentzia sor dezakete.

4. Antibiotikoak inhibitzen duen **prozesua beste bidetik burutzea**. Hainbat bakterio anduiek, sulfamidek inhibitzen duten bide metabolikoaren produktua, **folatoa** adibidez, **beste bide batetik sintetizatzen dute**, antimikrobianoaren eragina saihesten .

Deskribatutako **erresistentzia mekanismoak bateragarriak dira** eta bakterio berean bil daitezke. Adibidez, enterobakterio batek porinetan eragina duen mutazio bat eta PBP proteinetan eragiten duen beste mutazioak kromosoman edukitzeaz gain, betalaktamasa bat kodetzen duen plasmido bat eskura dezake. Horregatik nahiz eta batzuetan mutazio bakar batek ekarritako erresistentzia txikia izan, mutazioak metatu ahala -eta baita mekanismo desberdinen bidez lortutako erresistentziak gehituz ere- anduia guztiz erresistente bihurtu daiteke antibiotiko batekiko. Modu berean, bakterioak, **plasmido eta transposoi eskuratzearen** bidez batez ere, antibiotiko **talde desberdinekiko erresistentziak** aldi berean eskura ditzake, infekzioen tratamendua oso zaila bihurtzen delarik

### **Erresistentzien hedapena**

Mutazioak aldaketa genetiko heredagarriak dira; beraz, bakterio mutatuaren zelula kumeak ere erresistenteak izango dira (hedapen bertikala) (10.4.irudia). Ugalketa prozesu guztietan noizbehinka gertatzen diren akatsak dira,, baina bakterioak hogeitun minutuko edo, belaunaldi berri bat sortzen dutenez, hilabete batzuetan mutazio asko izateko probabilitatea dute. Dena den, inguruan, mutazioengatik erresistente diren andui hauek bakterio sentikorrek baino abantaila gehiago edukitzeko presio hautakorrik ez balego, jatorrizko andui sentikorrek jarraituko lukete gehiengoa izaten. Zoritxarrez antibiotikoak barra-barra erabiltzeak hautatzen ditu andui mutatu erresistenteak, eta bakterio sentikorrek desagertzen dira.



### 3.3.irudia: Antibiotikoekiko erresistentzien hedapena.

Plasmidoek askotan antibiotikoekiko erresistentzia-geneak eramaten dituzte. Adibidez, penizilina eta beste betalaktamikoak indargabetzeko gai diren entzimak, betalaktamasak, plasmidoen geneetan idatzita daude maiz. Kezkagarriena da plasmidoak bakterio batetik bestera joateko mekanismoak dituztela (konjugazioa edo transdukzioa direla medio), baita espezie desberdinetakoen artean ere (**hedapen horizontala**). Horregatik, erresistentziak plasmidoetan daudenean **arin-arin zabaltzen dira** bakterio-populazio guztien artean, antibiotikoak balio gabe utziz. Gainera, erresistentzia gene batzuk **transposoietan** sartu dira eta horrek haien hedapena areagotzen du, transposoiak bakterio hartzailearen kromosoman sar daitezkeelako garraio plasmidoa galdu arren.

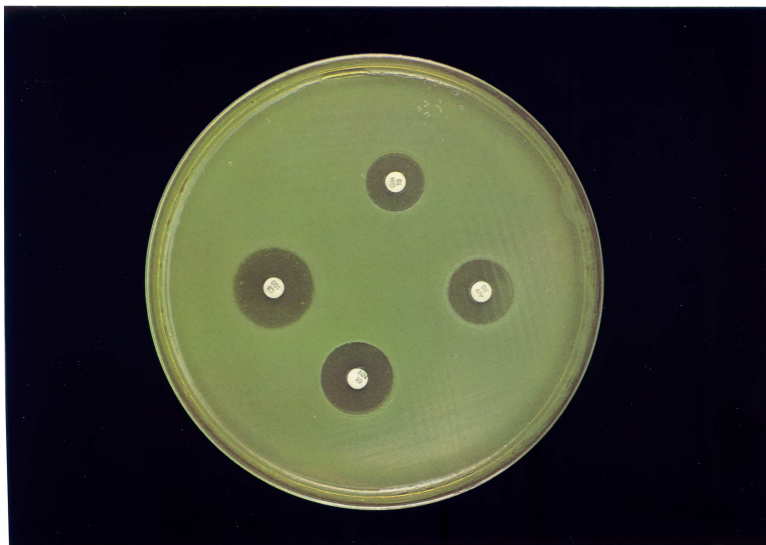


Antibiotikoak aurkitu eta erabiltzen hasi zirenean tuberkulosia bezain hilgarriak ziren infekzioak behin betiko desagertarazteko bidea aurkitu zela pentsatu zuten medikuek., baina oker zeuden, *Mycobacterium tuberculosis* bezala, bakterio patogeno askok erresistente bilakatu dira haien kontra erabiltzen ditugun antibiotikoekiko. **Antibiotikoen erabilerak zentzuzkoa** izan beharko du erresistentzien zabalpena kontrolatzeko.

#### **Antibiotikoekiko sentikortasuna neurtzeko teknologia.**

Bakterio espezie gehiengan antibiotikoekiko sentikortasuna ez da homogenea. Beraz, salbuespenak salbuespen, espeziearen diagnostikoan soilik oinarritutako **terapia antibakteriano enpirikoek** huts egin dezakete. Antibioterapia erabakitzeko modu egokiena lagin klinikoetatik isolatutako bakterio **anduiaren sentikortasuna neurtzea** da. Metodo erabiliena **antibiograma** deitzen da. Müller-Hinton agarrean bakterioa erein ondoren, antibiotiko desberdinekin prestatutako diskok jartzen dira gainean. Agarra inkubatu ondoren antibiotiko bakoitzerako hazkuntzaren inhibizio-ziskuaren diametroa neurtzen da eta estandarren taulak erabiliz anduia sentikorra ala erresistentea den jakin ahal izango da (3.4. irudia).

Zehaztasun gehiago lortzeko, bakterio anduiaren hazkundera inhibitzeko gai den antibiotiko kontzentrazio txikiena kalkula daiteke. Horretarako Müller-Hinton salda dituen hodi batzuei antibiotiko dosi gero eta handiagoak gehitzen zaizkie. Hodi guztiak bakterioarekin erein eta inkubatu ondoren hazkundera inhibitu duen antibiotiko kontzentrazio txikiena aurkituko dugu, hau da, **Kontzentrazio inhibitzaile txikiena (MIC)**. Antzeko beste prozedura erabiliz bakterio anduiaren Kontzentrazio bakterizida txikiena kalkula daiteke.



**3.4. irudia:** Antibiogramak, antibiotikozko diskoen inguruan hazkuntzaren inhibizioak erakusten dituztelarik.