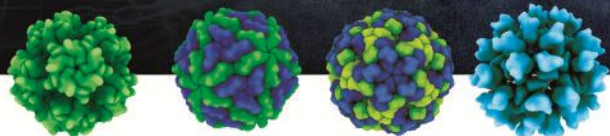




Οργάνωση:
Εταιρεία Παθολογίας Βορειοδυτικής Ελλάδος



Υπό την αιγίδα του:
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων



ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΗΜΕΡΙΔΑ
ΕΞΩΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΕΣ & ΕΝΔΟΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ
ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Σάββατο, **10** Ιανουαρίου 2015 Ξενοδοχείο **Du Lac** Ιωάννινα

Μηχανισμοί ανάπτυξης αντοχής στα αντιβιοτικά

Σαϊνης Ιωάννης

ΕΔΙΠ

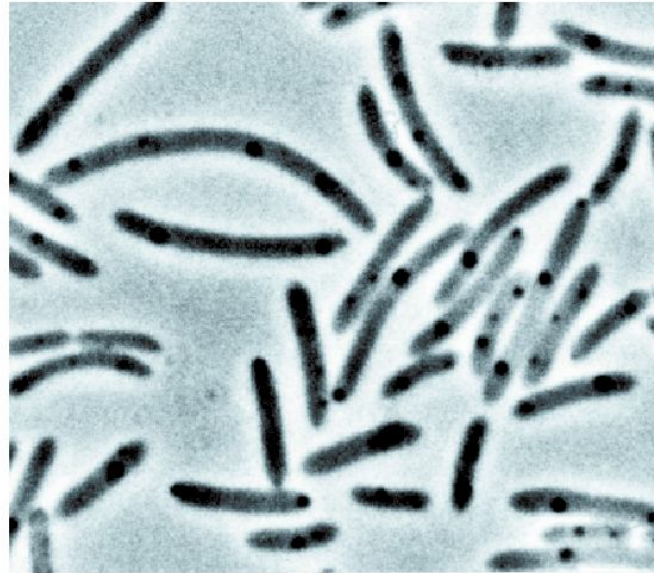
Βιοτράπεζα Καρκίνου Παν/μιου Ιωαννίνων

και

Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών

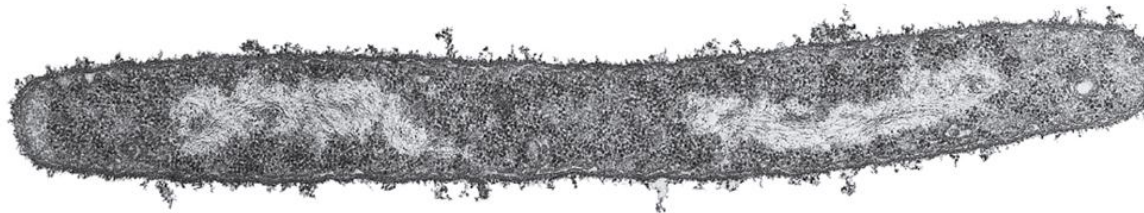
Παν/μιο Ιωαννίνων

- **Ο θαυμαστός κόσμος των βακτηρίων**



L.K. Kimble and M.T. Madigan

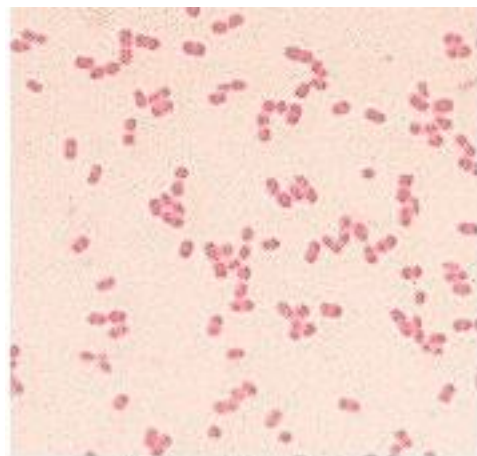
(α)



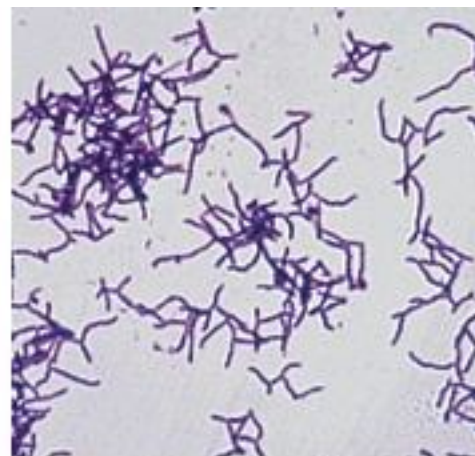
Herbert Voelz

(β)

Εικόνα 1.2 Κύτταρα. (α) Μικροφωτογραφία ραβδόμορφων βακτηριακών κυττάρων, όπως φαίνονται στο οπτικό μικροσκόπιο. Κάθε κύτταρο έχει διάμετρο περίπου 1 μm . (β) Διαμήκης τομή βακτηριακού κυττάρου, όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Οι δύο ανοιχτόχρωμες περιοχές συσιστούν το πυρηνοειδές· αυτές οι περιοχές του κυττάρου περιέχουν συγκεντρωμένο DNA.

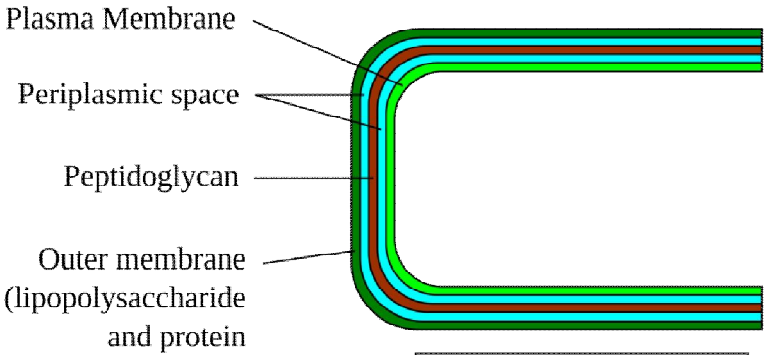
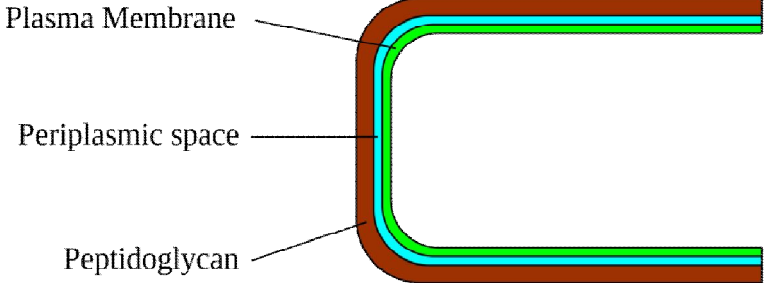


Gram Negative



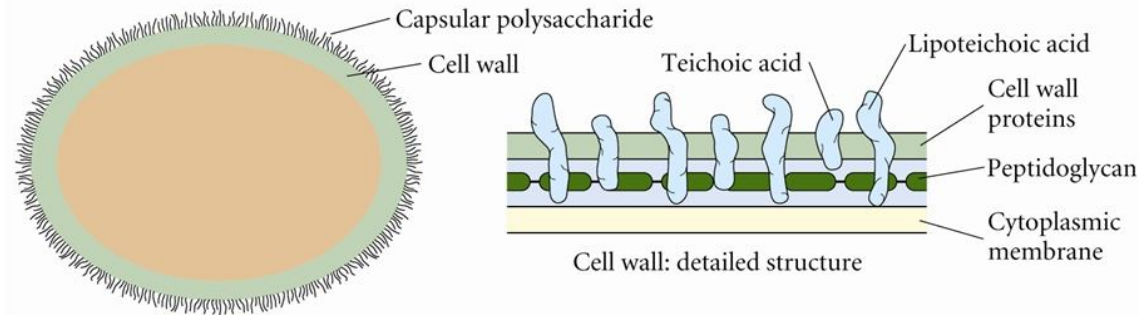
Gram Positive

Gram Positive

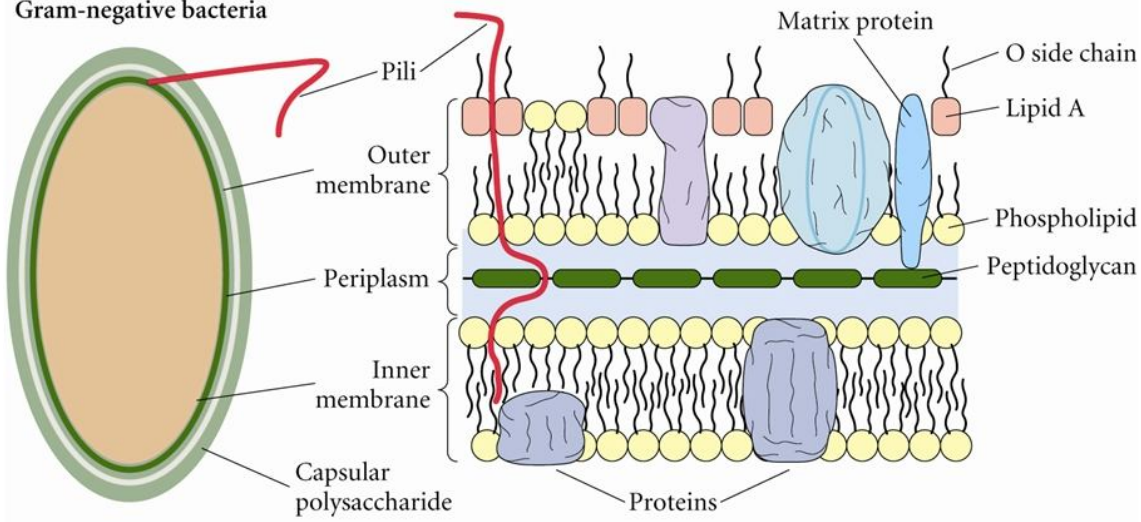


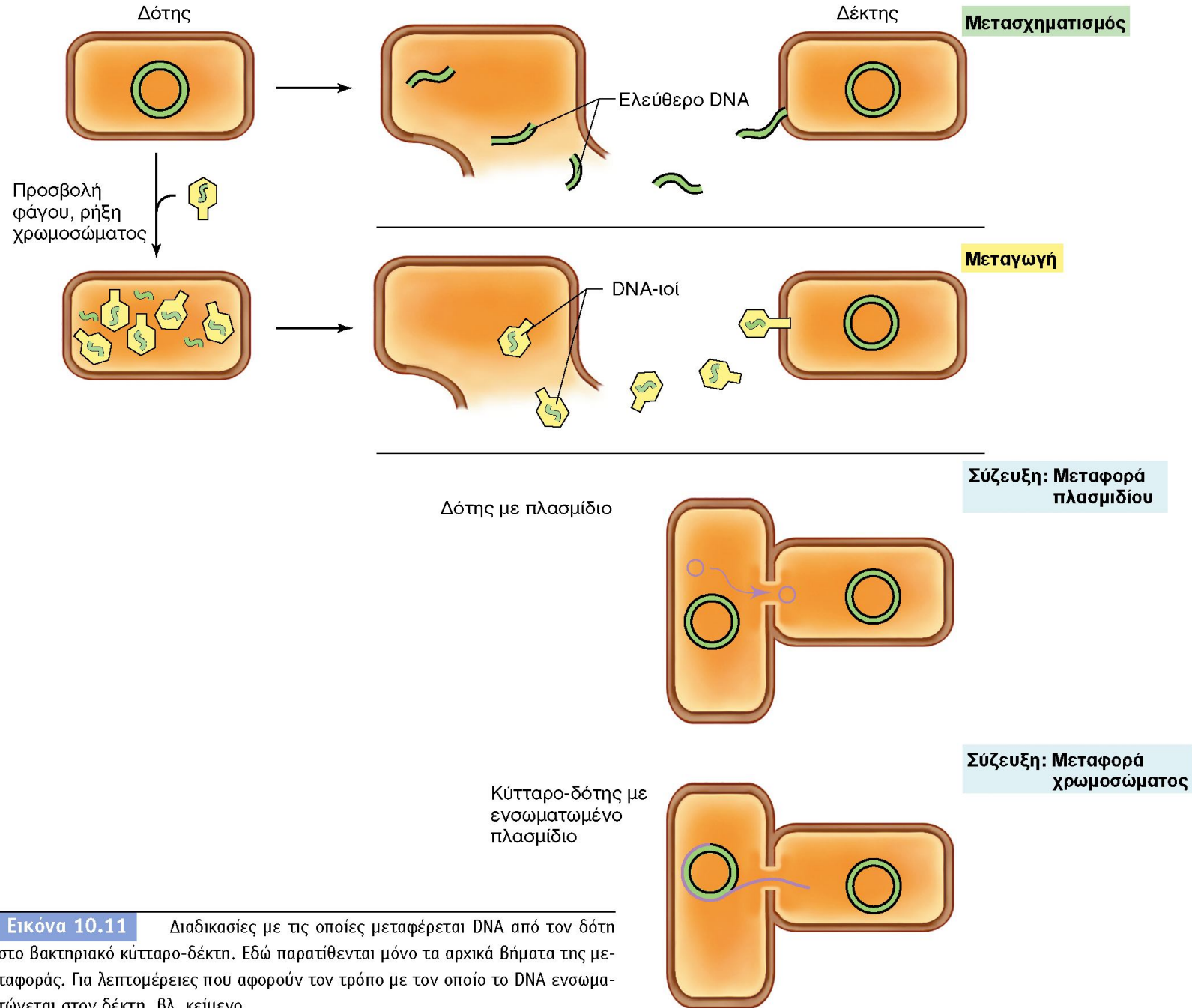
Gram Negative

Gram-positive bacteria

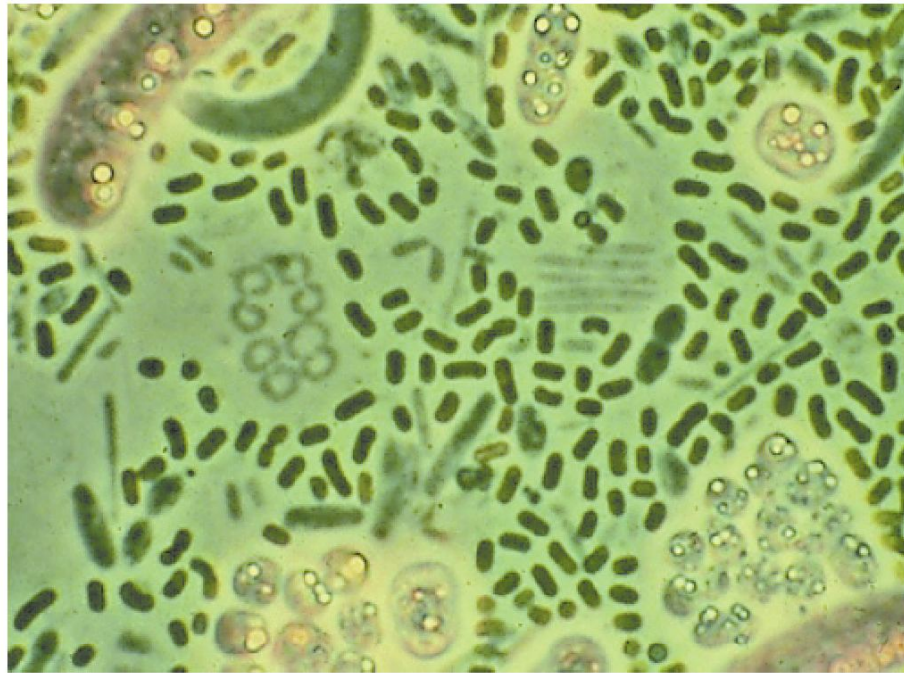


Gram-negative bacteria



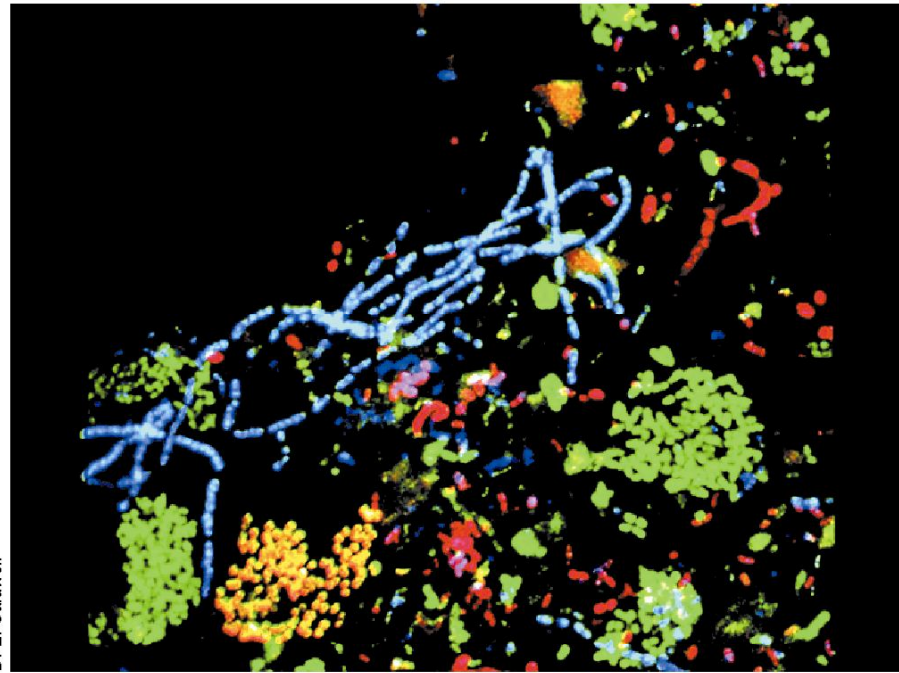


Εικόνα 10.11 Διαδικασίες με τις οποίες μεταφέρεται DNA από τον δότη στο βακτηριακό κύτταρο-δέκτη. Εδώ παρατίθενται μόνο τα αρχικά βήματα της μεταφοράς. Για λεπτομέρειες που αφορούν τον τρόπο με τον οποίο το DNA ενσωματώνεται στον δέκτη, βλ. κείμενο.




D. E. Caldwell

(a)



Jiri Snajdr

(β)

Εικόνα 1.5 Παραδείγματα μικροβιακών κοινοτήτων. (α) Μικροφωτογραφία μικροβιακής κοινότητας που αναπτύσσεται στον βυθό μιας μικρής λίμνης (Λίμνη Wintergeen, Michigan, ΗΠΑ), στην οποία φαίνονται κύτταρα διαφόρων μεγεθών. (β) Κοινότητα βακτηρίων σε δείγμα αστικών αποβλήτων. Το δείγμα έχει χρωσθεί με σειρά διαφορετικών χρωστικών, καθενιά από τις οποίες χρωματίζει διαφορετική ομάδα βακτηρίων ( Τμήμα 18.4 και Εικόνα 18.11β, για τις λεπτομέρειες της συγκεκριμένης μεθόδου χρώσης). Από R. Amann, J. Snajdr, M. Wagner, W. Ludwig, & K.-H. Schleifer, 1996. *Journal of Bacteriology* 178: 3496-3500. Fig. 2b. ©1996 American Society for Microbiology.

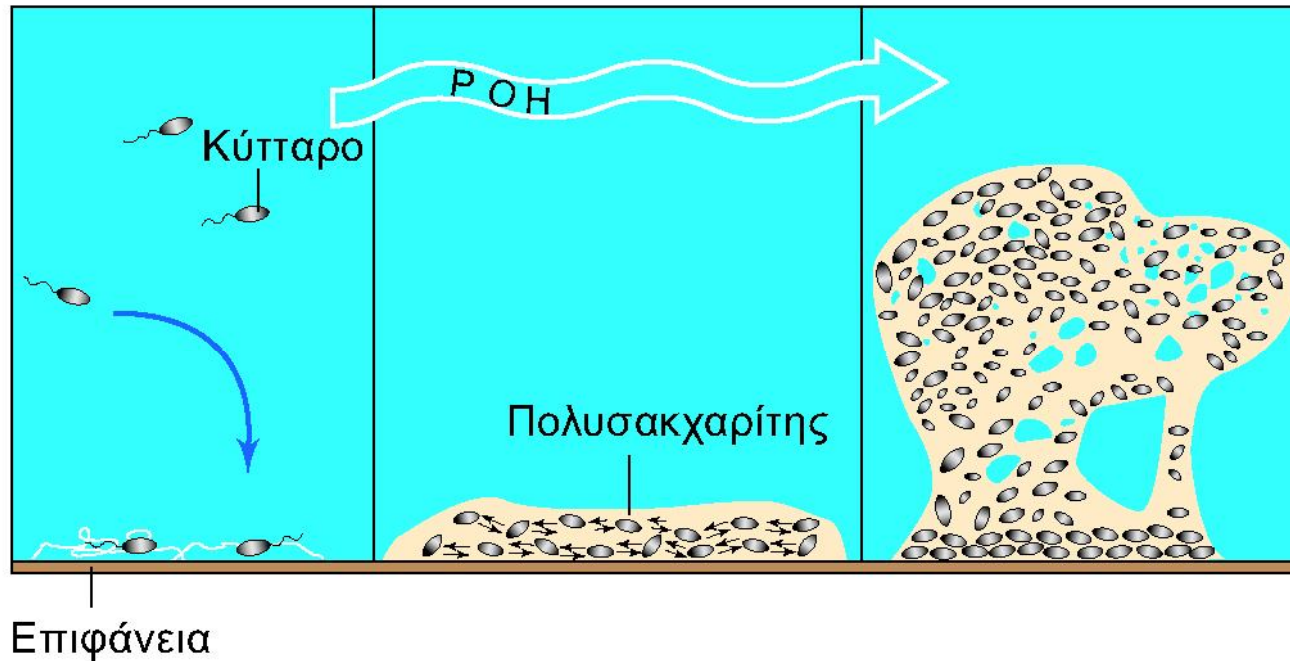
Βακτηριακές κοινότητες

- Ανεξάρτητα κύτταρα που κινούνται ελεύθερα σε υδατικά περιβάλλοντα
- Πιο συχνά όμως αναπτύσσονται πάνω σε άβιες ή έμβιες επιφάνειες (βιοφίλμ)

Προσκόλληση
(προσκόλληση
ενός ή λίγων
κυττάρων σε
κατάλληλη στερεά
επιφάνεια)

Αποικισμός
(διακυτταρική
επικοινωνία,
σύνθεση και
έκκριση
πολυσακχαριτών)

Ανάπτυξη
(περαιτέρω
αύξηση και
έκκριση
πολυσακχαριτών)



Εικόνα 19.5 Σχηματισμός Βακτηριακού Βιοφίλμ. Το βιοφίλμ αρχίζει να σχηματίζεται με την προσκόλληση λίγων κυττάρων, την οποία ακολουθεί πολλαπλασιασμός των βακτηρίων και έναρξη της διακυτταρικής επικοινωνίας. Κατόπιν λαμβάνει χώρα ο σχηματισμός πολυσακχαριτών, που γίνεται εντονότερος όσο επεκτείνεται το βιοφίλμ.

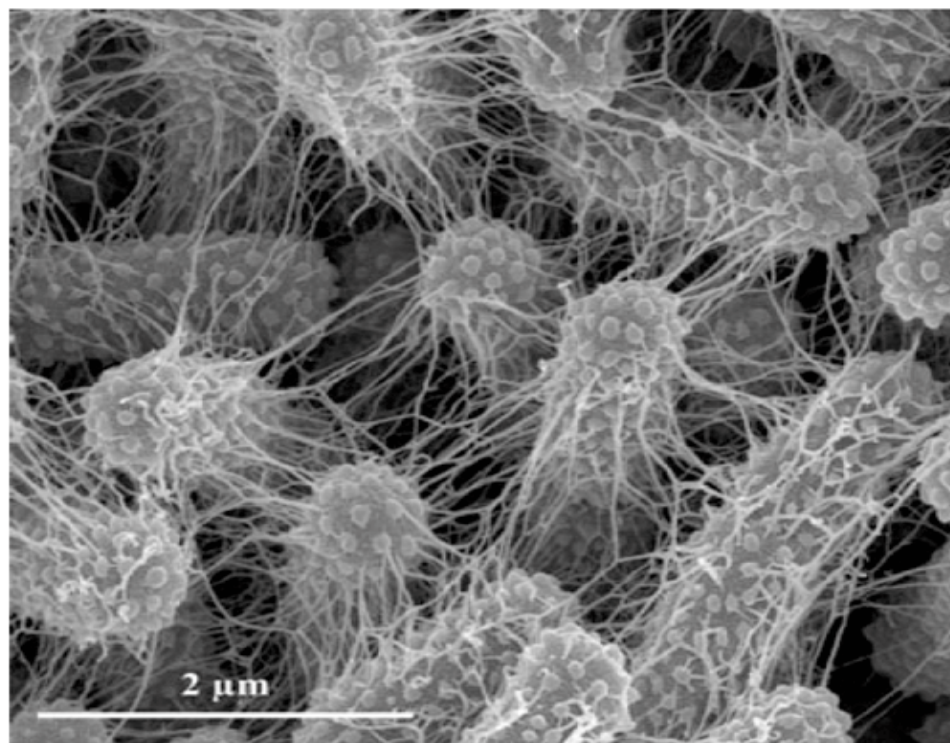


Fig. 6. Thin threads emerged from bacterial body surface. Scanning electron microscopy of sessile *K. pneumoniae* LM21 performed in mature biofilm formed on Thermanox® slides in microfermentor system after 48 h of development at X20,000 magnification.

Η έκταση της μικροβιακής ζωής- μικροβιακή βιομάζα.

Συνολικός εκτιμώμενος αριθμός προκαρυωτών στη ΓΗ: 5×10^{30} κύτταρα.

Συνολική ποσότητα C ενσωματωμένη στους προκαρυώτες = ποσότητα C όλων των φυτών της Γης.

Συνολική περιεκτικότητα σε N και P = 10 X από εκείνη που υπάρχει στη φυτική βιομάζα της Γης.

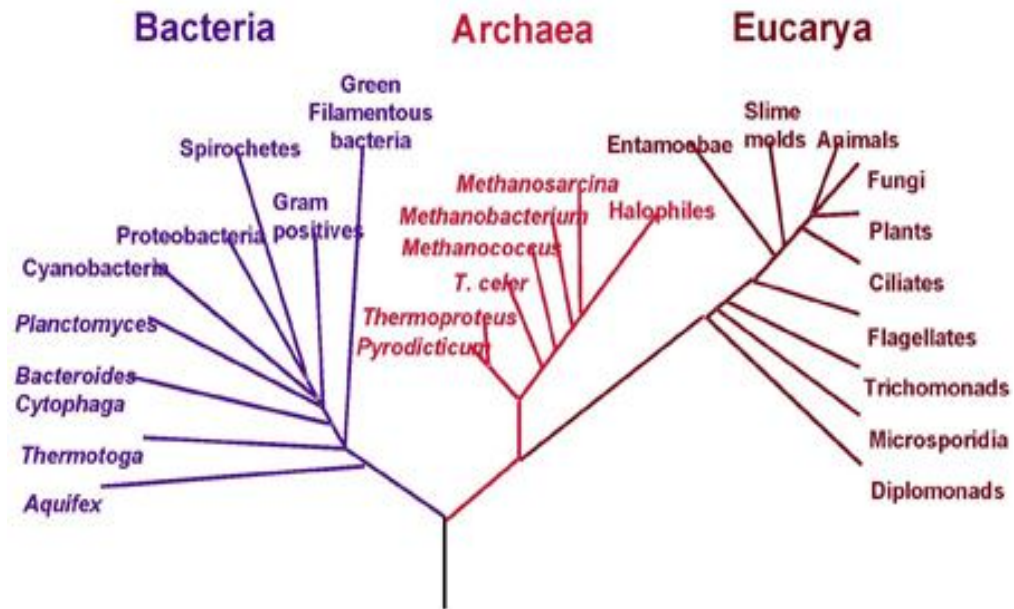


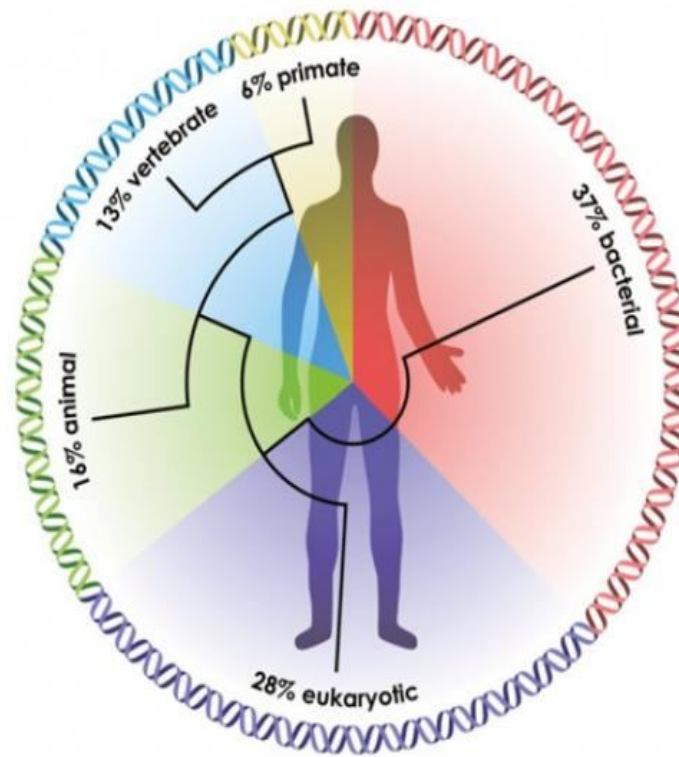
Οι προκαρυώτες συνιστούν το μεγαλύτερο τμήμα της συνολικής βιομάζας της Γης και ως εκ τούτου καθίστανται σημαντικές δεξαμενές ουσιωδών θρεπτικών συστατικών για τη Ζωή

Σημαντική παρατήρηση: Οι περισσότεροι προκαρυώτες δεν διαβιούν στην επιφάνεια της Γης αλλά στο υπέδαφος του ωκεάνιου και χερσαίου περιβάλλοντος

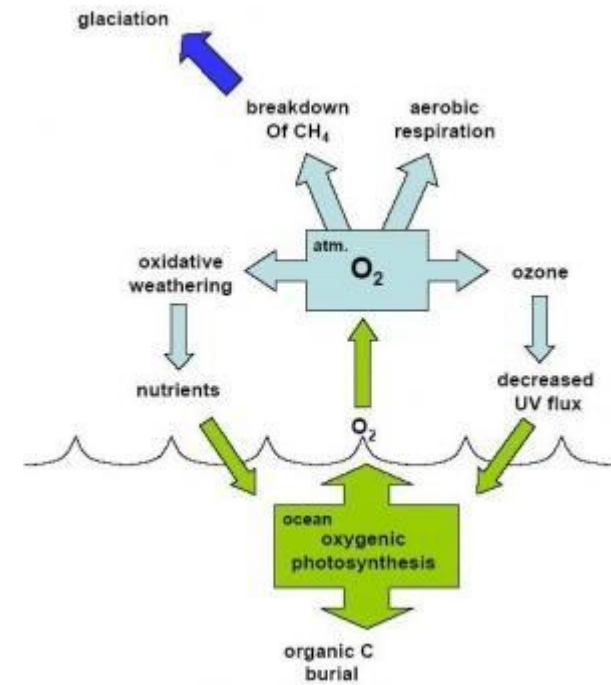
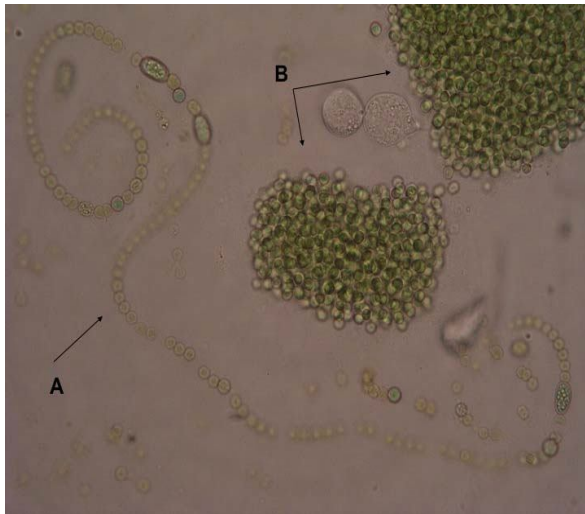
- **Άνθρωπος και Βακτήρια**

Phylogenetic Tree of Life

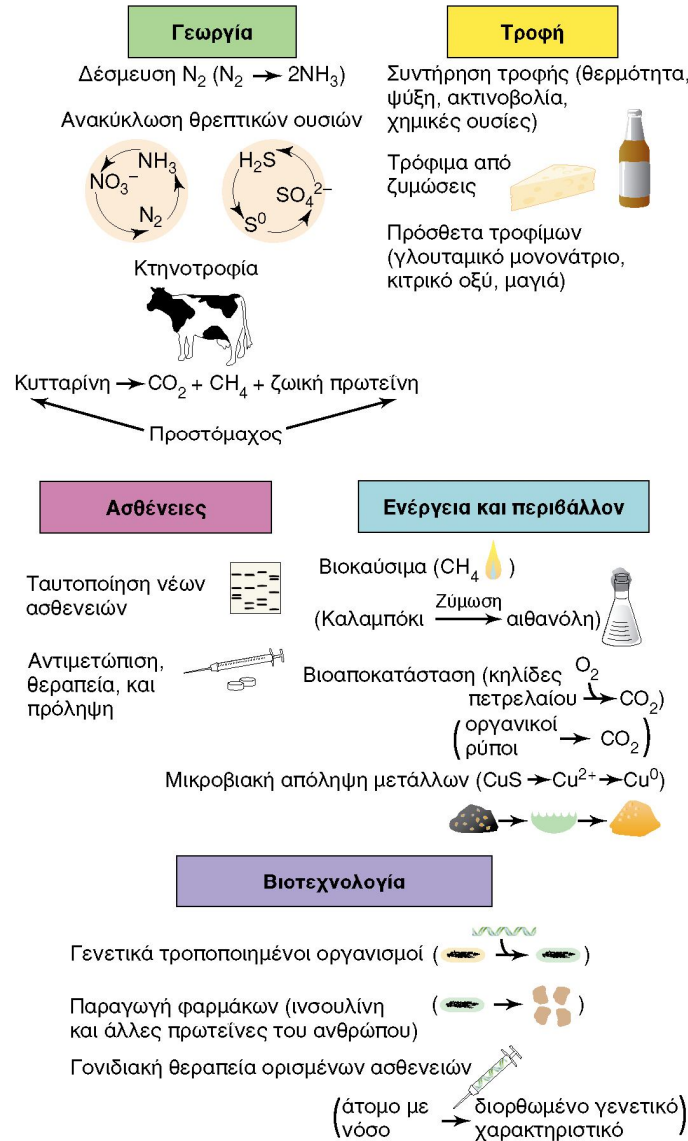




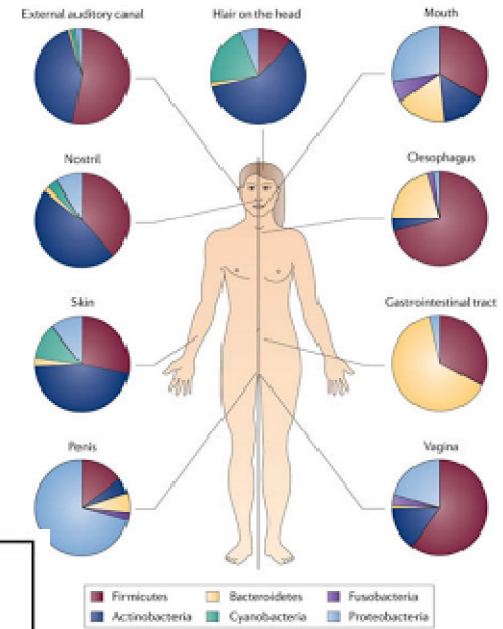
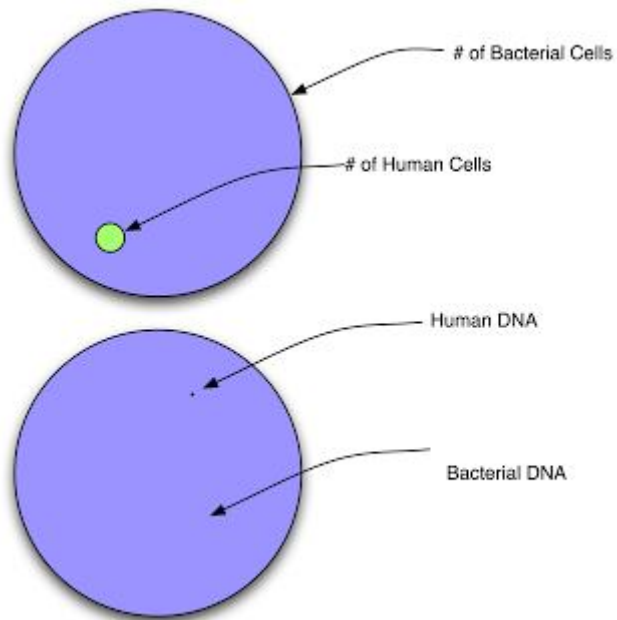
The percentage of the human genome that arose at a series of stages in evolution. 37% of human genes originated in bacteria. Credit: Margaret McFall-Ngai, et al. ©2013 PNAS



ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ – ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΚΡΗΤΗΣ



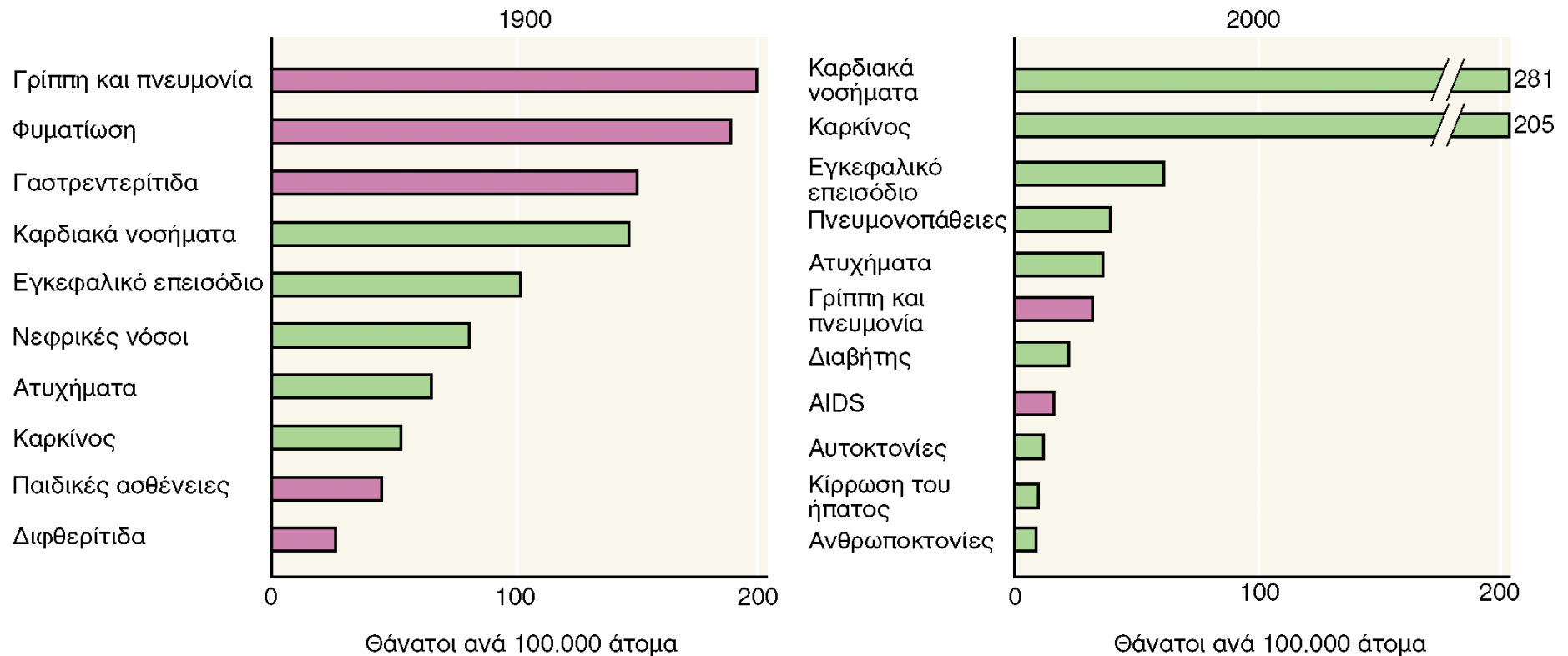
Εικόνα 1.6 Η επίδραση των μικροοργανισμών στη ζωή του ανθρώπου. Αν και πολλοί άνθρωποι συνδέουν τους μικροοργανισμούς με τις λοιμώξεις, στην πραγματικότητα λίγοι μικροοργανισμοί είναι πράγματι νοσογόνοι. Οι μικροοργανισμοί, εκτός από τον ρόλο τους στην πρόκληση νόσων, επηρεάζουν ποικίλες πλευρές της ζωής μας.



<p>Karyome $\sim 10^{13}$ human cells single genome 3 Gbase sequence 30-100 k proteins</p>	<p>OUR OTHER GENOME</p>	<p>Mitochondriome $\sim 10^{14}$ mitochondria single genome 17 Kbase sequence 13 proteins</p>
<p>Microbiome $\sim 10^{14}$ microbial cells $\sim 10^3 - 10^4$ species ~ 500 Gbase sequence now reference genome of 3 M genes - proteins</p>		

- **Βακτήρια και ασθένειες**

ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ – ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΚΡΗΤΗΣ



Εικόνα 1.7 Θνησιμότητα από τα 10 κυριότερα αίτια θανάτου στις ΗΠΑ, το 1900 και το 2000. Οι λοιμώξεις ήταν η κυριότερη αιτία θανάτου το 1900, ενώ σήμερα έχουν πολύ μικρότερη σημασία. Οι μικροβιακές νόσοι αναπαρίστανται με κόκκινο χρώμα, οι μη μικροβιακές με πράσινο. Τα στοιχεία προέρχονται από το Εθνικό Κέντρο Στατιστικών Υγείας των ΗΠΑ.

Αντιμικροβιακοί παράγοντες

A. Συνθετικά αντιμικροβιακά φάρμακα

B. Φυσικά αντιμικροβιακά (Αντιβιοτικά)

Συνθετικά αντιμικροβιακά φάρμακα

1. Ανάλογα αυξητικών παραγόντων.

π.χ σουλφοναμίδες και ισονιαζίδιο

Σουλφοναμίδες (ανάλογα του π-αμινοβενζοϊκού): αναστολή της σύνθεσης φολικού (πρόδρομη ένωση για σύνθεση νουκλεϊκών οξέων).

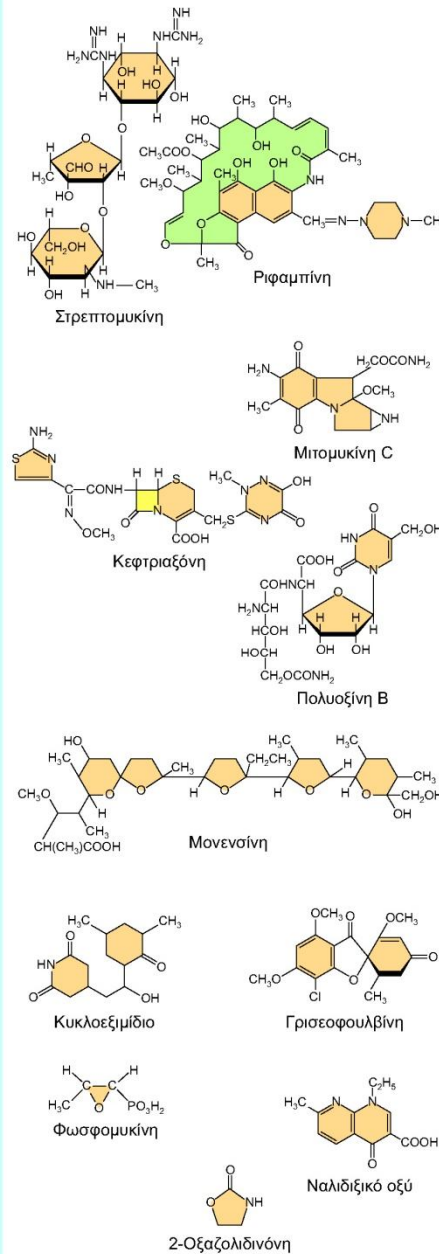
Ισονιαζίδιο ανάλογο του νικοτιναμίδιου (μιας βιταμίνης) αναστέλλει τη σύνθεση κυτταρικού τοιχώματος στο *Mycobacterium tuberculosis* (Φυματίωση).

2. Κινολόνες

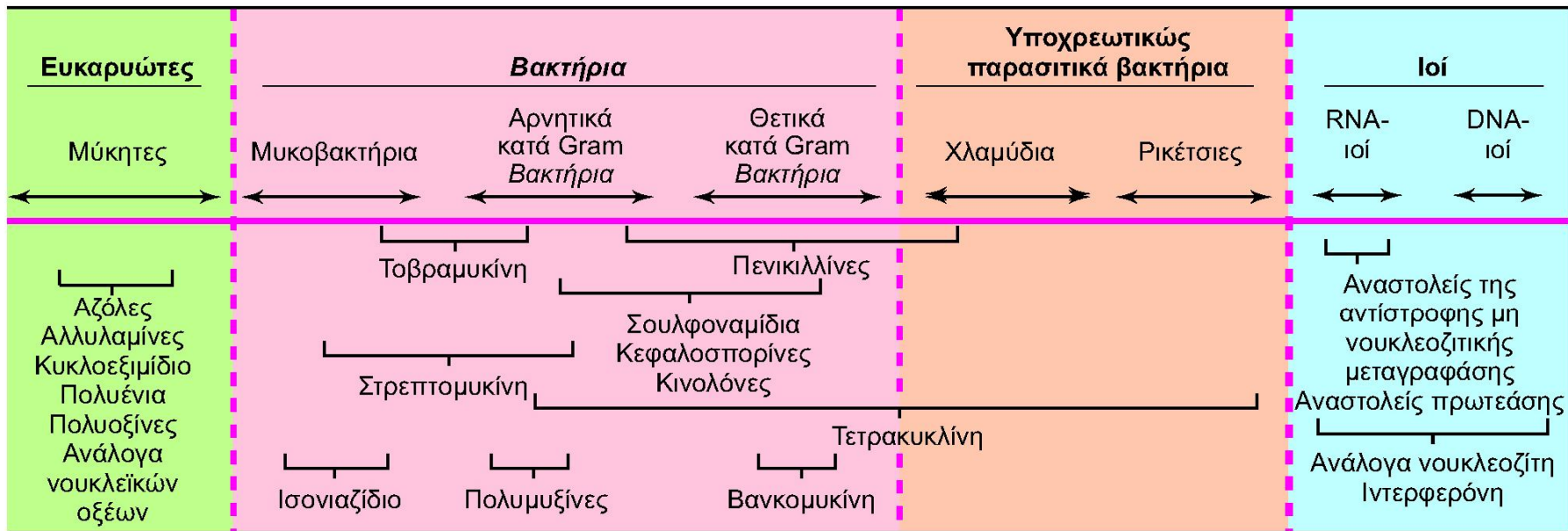
Αλληλεπιδρούν με τη DNA γυράση των βακτηρίων παρεμποδίζοντας την υπερέλικωση του Βακτηριακού DNA.

Κατηγορία αντιβιοτικού	Υποκατηγορία	Παράδειγμα
I. Ενώσεις που περιέχουν υδατάνθρακες	Καθάρη σάκχαρα Αμινογλυκοζίδες Ορθοσομκίνες N-Γλυκοζίδες C-Γλυκοζίδες Γλυκολιπίδια	Νοζιριμκίνη Στρεπτομκίνη Εβερνινομκίνη Στρεπτοθρίκίνη Βανκομκίνη Μοενομκίνη
II. Μακροκυκλικές λακτόνες	Μακρολιδικά αντιβιοτικά Αντιβιοτικά πολυενίου Ανσαμκίνες Μακροτετρολιδια	Ερυθρομκίνη Κανδιιδίνη ΡΙφαμπίνη Τετρανακίνη
III. Κιόνες και συναφείς ενώσεις	Τετρακυκλίνες Ανθρακυκλίνες Ναφθοκινόνες Βενζοκινόνες	Τετρακυκλίνη Αδριαμκίνη Ακτινοροδίνη Μιτομκίνη
IV. Ανάλογα αμινοξέων και πεπτιδίων	Παράγωγα αμινοξέων Αντιβιοτικά β-λακτάμης Πεπτιδικά αντιβιοτικά Χρωμοπεπτιδια Δεσμιπεπτιδια Χηλικοποιητικά πεπτιδια	Κυκλοσερίνη Πενικιλίνη, κεφτριαζόνη Βακτρακίνη Ακτινομκίνη Βαλινομκίνη Βλεομκίνη
V. Ετεροκυκλικές ενώσεις που περιέχουν άζωτο	Νουκλεοζιδικά αντιβιοτικά	Πολυοξίνες
VI. Ετεροκυκλικές ενώσεις που περιέχουν οξυγόνο	Αντιβιοτικά πολυαιθέρα	Μονενσίνη
VII. Αλικυκλικά παράγωγα	Παράγωγα κυκλοσακλινών Στεροειδή αντιβιοτικά	Κυκλοεξιμίδιο Φουσιδικό οξύ
VIII. Αρωματικές ενώσεις	Παράγωγα βενζολίου Συμπικνωμένα αρωματικά Αρωματικός αιθέρας	Χλωραμφαινικόλη Γρισεοφουλβίνη Νοβοβοσίνη
IX. Αλειφατικές ενώσεις	Ενώσεις που περιέχουν φωσφόρο	Φωσφομκίνη
X. Ενώσεις της κινολόνης	4-Κινολόνη Φθορο-4-κινολόνη	Ναλιδιξικό οξύ Σιπροφλοξακίνη
XI. Οξαζολιδινόνη	Κυκλική λακτόνη	2-Οξαζολιδινόνη

Χαρακτηριστική δομή



Εικόνα 20.12 Ταξινόμηση αντιβακτηριακών χημειοθεραπευτικών παραγόντων βάσει της χημικής δομής τους. Δίνεται ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα για κάθε κατηγορία.



Εικόνα 20.15 Αντιμικροβιακό φάσμα δράσης επιλεγμένων χημειοθεραπευτικών παραγόντων.

Σύνθεση κυτταρικού τοιχώματος

- Κυκλοσερίνη
- Βανκομικίνη
- Βακιτρακίνη
- Πενικιλίνες
- Κεφαλοσπορίνες
- Μονοβακτάμες
- Καρβαπενέμες

Μεταβολισμός φολικού οξέος

- Τριμεθοπρίμ
- Σουλφοναμίδια

Κυτταροπλασματική μεμβράνη

Δομή κυτταροπλασματικής μεμβράνης*

Πολυμυξίνες

Επιμήκηση RNA

Ακτινομυκίνη

Γυράση του DNA

- Ναλιδιξικό οξύ
 - Σιπροφλοξακίνη
 - Νοβοβοισίνη
- (κινολόνες)

RNA πολυμεράση κατευθυνόμενη από DNA

Ριφαμπίνη
Στρεπτοβαρικίνες

Πρωτεϊνοσύνθεση (αναστολείς υπομονάδας 50S)

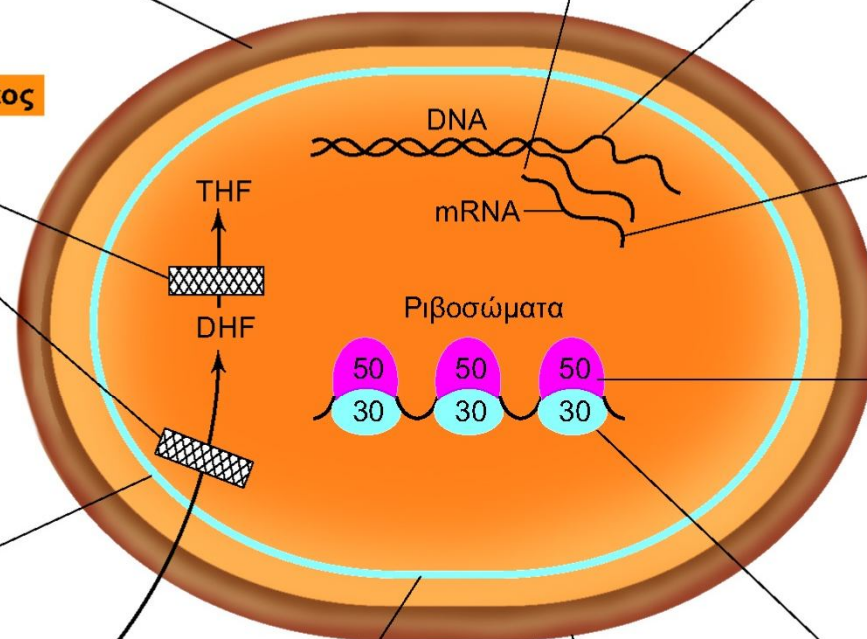
- Ερυθρομυκίνη (μακρολίδια)
- Χλωραμφαινικόλη
- Κλινδαμυκίνη
- Λιγκομυκίνη

Πρωτεϊνοσύνθεση (αναστολείς υπομονάδας 30S)

- Τετρακυκλίνες
- Στεκτινομυκίνη
- Στρεπτομυκίνη
- Γενταμικίνη, τοβραμυκίνη
- Καναμυκίνη (αμινογλυκοζίτες)
- Αμικακίνη
- Νιτροφουράνια

Πρωτεϊνοσύνθεση (tRNA)

Μουπιροκίνη
Πουρομυκίνη



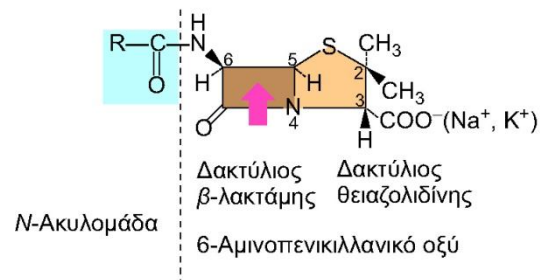
Εικόνα 20.13 Τρόπος δράσης των σημαντικότερων αντιμικροβιακών χημειοθεραπευτικών παραγόντων.

THF: τετραϋδροφολικό άλας· DHF: διυδροφολικό άλας· mRNA: αγγελιοφόρο RNA· tRNA: μεταφορικό RNA.

* Βλ. Παράρτημα 3, Σ.τ.Ε.Ε. 2.

ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ SOS

Πενικιλίνη και αντιβιοτικά β-λακτάμης
(αμπικιλίνη)



Περιγραφή	N-Ακυλομάδα
<p>ΦΥΣΙΚΗ ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΗ</p> <p>Βενζυλοπενικιλίνη (πενικιλίνη G) δραστική έναντι θετικών κατά Gram βακτηρίων, ευαίσθητη στη β-λακταμάση</p>	
<p>ΗΜΙΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ</p> <p>Μεθικιλίνη σταθερή στα οξέα, ανθεκτική στη β-λακταμάση</p> <p>Οξακιλίνη σταθερή στα οξέα, ανθεκτική στη β-λακταμάση</p> <p>Αμπικιλίνη διευρυμένο φάσμα δράσης (κυρίως έναντι αρνητικών κατά Gram βακτηρίων), σταθερή στα οξέα, ανθεκτική στη β-λακταμάση</p> <p>Καρβενικιλίνη διευρυμένο φάσμα δράσης (κυρίως έναντι του <i>Pseudomonas aeruginosa</i>), σταθερή στα οξέα αλλά αναποτελεσματική σε στοματική λήψη, ευαίσθητη στη β-λακταμάση</p>	

Εικόνα 20.19 Δομή ορισμένων σημαντικών πενικιλινών. Το κόκκινο βέλος υποδεικνύει τη θέση όπου δρουν οι περισσότερες β-λακταμάσες.

Αντιβιοτικά από προκαρυώτες

Αμινογλυκοζιτικά αντιβιοτικά (Στρεπτομυκίνη από τον ακτινομύκητα *Streptomyces sp.*)
αναστολείς πρωτεϊνοσύνθεσης (30S υπομονάδας)

Αντιβιοτικά μακρολιδίων (Ερυθρομυκίνη από τον ακτινομύκητα *Saccharopolyspora erythraea*) αναστολείς πρωτεϊνοσύνθεσης (50S υπομονάδας)

Τετρακυκλίνες αναστολείς πρωτεϊνοσύνθεσης (από τον ακτινομύκητα *Streptomyces sp.*)
(30S υπομονάδας)



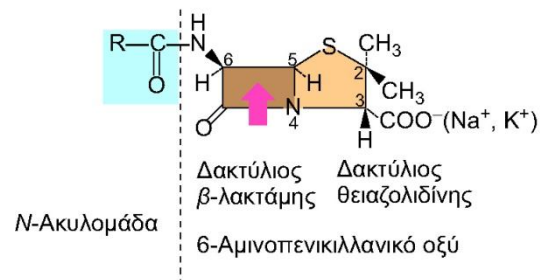
Antibiotics **V** Resistant Bacteria
The Big Fight

Μηχανισμοί αντοχής

- 1. Ο μικροοργανισμός δε διαθέτει τη δομή που αναστέλλει το αντιβιοτικό.
- Π.χ μυκοπλάσματα δε διαθέτουν το τυπικό βακτηριακό κυτταρικό τοίχωμα και, ως εκ τούτου, είναι ανθεκτικά στην πενικιλίνη.

Μηχανισμοί αντοχής

- 2. Ο μικροοργανισμός μπορεί να είναι αδιαπέρατος όσον αφορά το συγκεκριμένο αντιβιοτικό.
- Παράδειγμα: η πενικιλίνη G αδυνατεί να εισέλθει στο εσωτερικό των περισσότερων αρνητικών κατά Gram βακτηρίων.



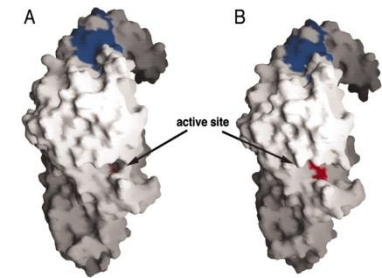
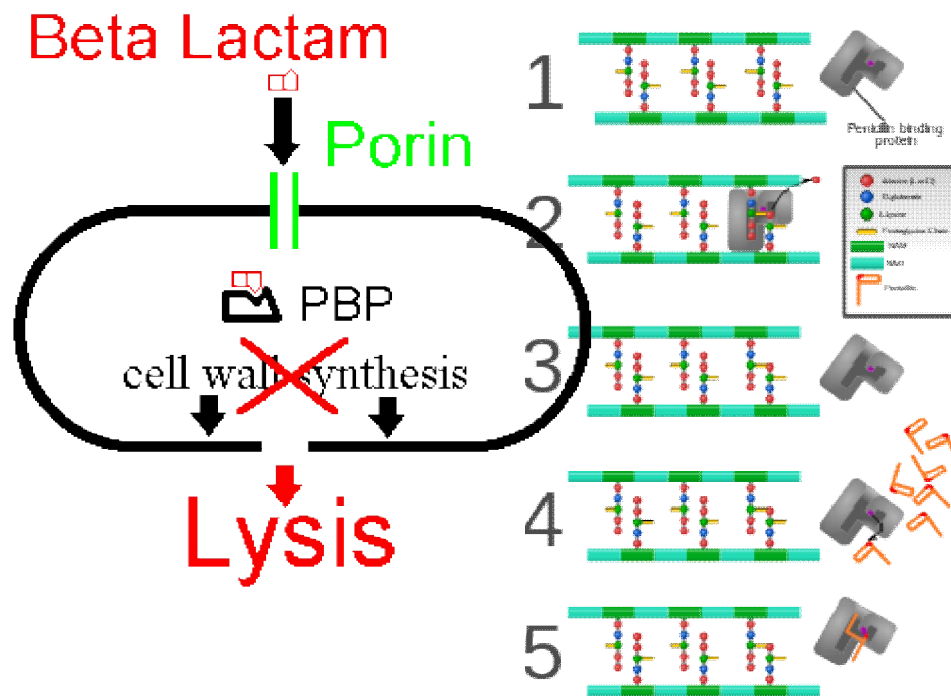
Περιγραφή	N-Ακυλομάδα
<p>ΦΥΣΙΚΗ ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΗ</p> <p>Βενζυλοπενικιλίνη (πενικιλίνη G) δραστική έναντι θετικών κατά Gram βακτηρίων, ευαίσθητη στη β-λακταμάση</p>	
<p>ΗΜΙΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ</p> <p>Μεθικιλίνη σταθερή στα οξέα, ανθεκτική στη β-λακταμάση</p> <p>Οξακιλίνη σταθερή στα οξέα, ανθεκτική στη β-λακταμάση</p> <p>Αμπικιλίνη διευρυμένο φάσμα δράσης (κυρίως έναντι αρνητικών κατά Gram βακτηρίων), σταθερή στα οξέα, ανθεκτική στη β-λακταμάση</p> <p>Καρβενικιλίνη διευρυμένο φάσμα δράσης (κυρίως έναντι του <i>Pseudomonas aeruginosa</i>), σταθερή στα οξέα αλλά αναποτελεσματική σε στοματική λήψη, ευαίσθητη στη β-λακταμάση</p>	

Εικόνα 20.19 Δομή ορισμένων σημαντικών πενικιλινών. Το κόκκινο βέλος υποδεικνύει τη θέση όπου δρουν οι περισσότερες β-λακταμάσες.

Μηχανισμοί αντοχής

- 3. Δυνατότητα τροποποίησης της δομής του αντιβιοτικού και αδρανοποίησή του.
- Παράδειγμα: Σταφυλόκοκκοι που παράγουν β-λακταμάση.

Penicillin Binding Proteins



Μηχανισμοί αντοχής

- 4. Τροποποίηση του στόχου του αντιβιοτικού.
- Παράδειγμα: στην περίπτωση των πενικιλινών- τροποποίηση του ενεργού κέντρου των PBP (Penicillin Binding Proteins)

Μηχανισμοί αντοχής

- 5. μετατροπή της μεταβολικής οδού που αναστέλλει το αντιβιοτικό ή ο αντιμικροβιακός παράγοντας.
- Παράδειγμα: σουλφοναμίδες που αναστέλλουν την παραγωγή φολικού οξέος.

Σύνθεση κυτταρικού τοιχώματος

- Κυκλοσερίνη
- Βανκομικίνη
- Βακιτρακίνη
- Πενικιλίνες
- Κεφαλοσπορίνες
- Μονοβακτάμες
- Καρβαπενέμες

Μεταβολισμός φολικού οξέος

- Τριμεθοπρίμ
- Σουλφοναμίδια

Κυτταροπλασματική μεμβράνη

PABA

Δομή κυτταροπλασματικής μεμβράνης*

Πολυμυξίνες

Επιμήκηση RNA

Ακτινομυκίνη

Γυράση του DNA

- Ναλιδιξικό οξύ
 - Σιπροφλοξακίνη
 - Νοβοβοισίνη
- (κινολόνες)

RNA πολυμεράση κατευθυνόμενη από DNA

Ριφαμπίνη
Στρεπτοβαρικίνες

Πρωτεϊνοσύνθεση (αναστολείς υπομονάδας 50S)

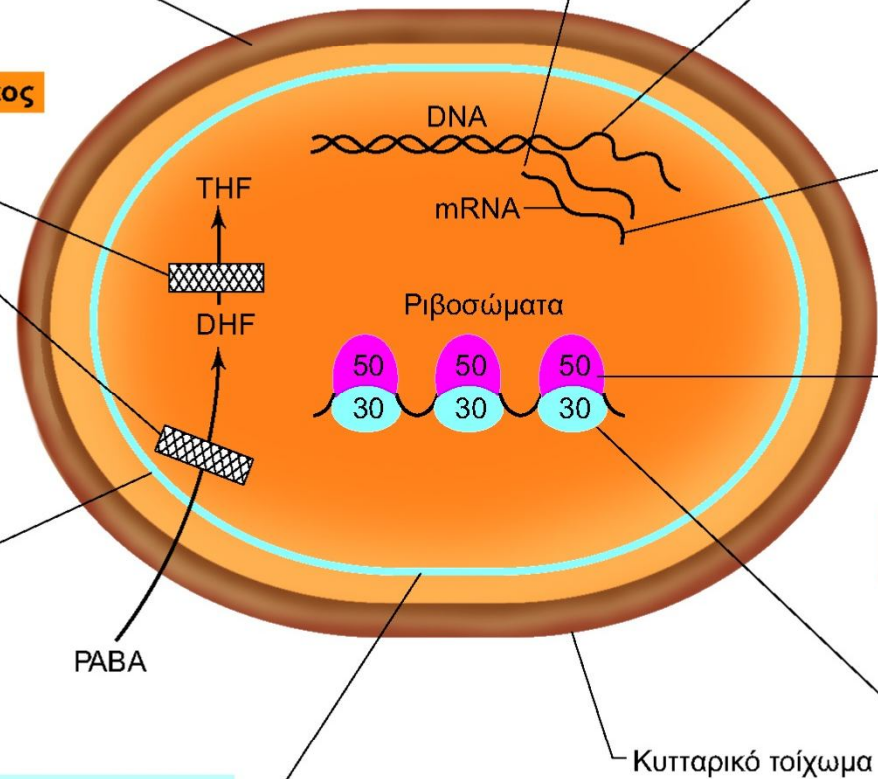
- Ερυθρομυκίνη (μακρολίδια)
- Χλωραμφαινικόλη
- Κλινδαμυκίνη
- Λιγκομυκίνη

Πρωτεϊνοσύνθεση (αναστολείς υπομονάδας 30S)

- Τετρακυκλίνες
- Στεκτινομυκίνη
- Στρεπτομυκίνη
- Γενταμικίνη, τοβραμυκίνη
- Καναμυκίνη (αμινογλυκοζίτες)
- Αμικακίνη
- Νιτροφουράνια

Πρωτεϊνοσύνθεση (tRNA)

Μουπιροκίνη
Πουρομυκίνη



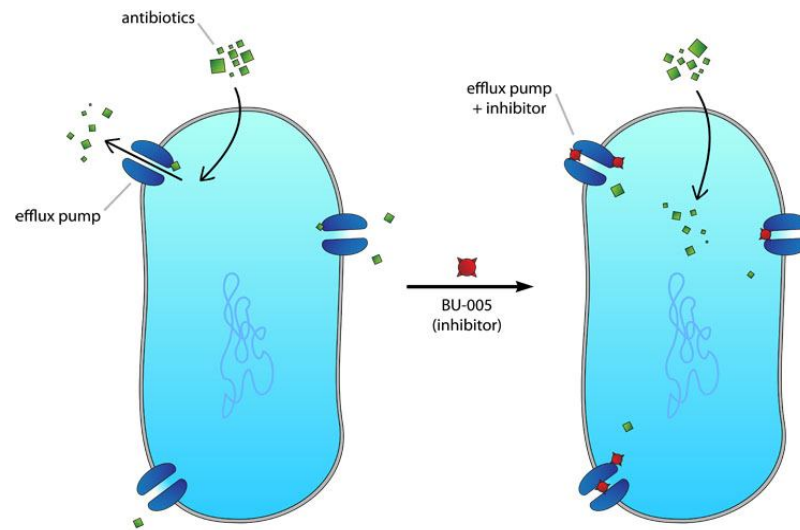
Εικόνα 20.13 Τρόπος δράσης των σημαντικότερων αντιμικροβιακών χημειοθεραπευτικών παραγόντων.

THF: τετραϋδροφολικό άλας· DHF: διυδροφολικό άλας· mRNA: αγγελιοφόρο RNA· tRNA: μεταφορικό RNA.

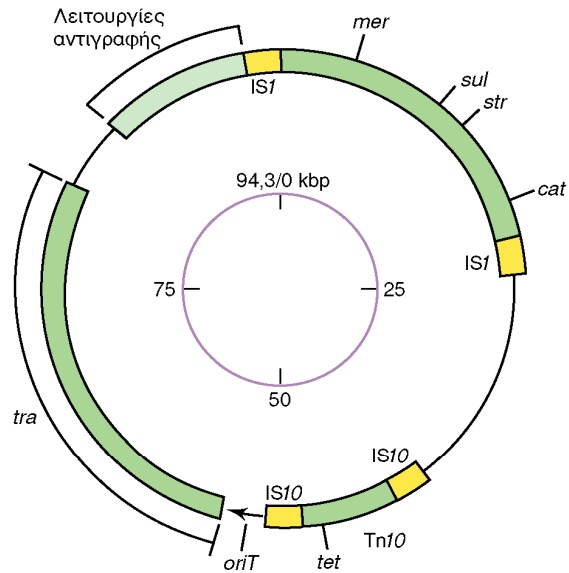
* Βλ. Παράρτημα 3, Σ.τ.Ε.Ε. 2.

Μηχανισμοί αντοχής

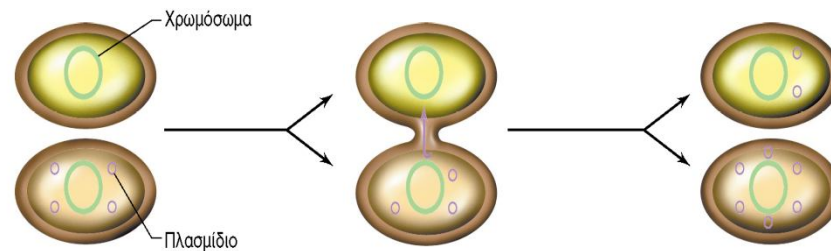
- 6. Ο μικροοργανισμός ωθεί το αντιβιοτικό εκτός του κυττάρου πριν αυτό δράσει.
- Efflux pumps



Πού εδράζεται η ικανότητα τροποποίησης αντιβιοτικού?

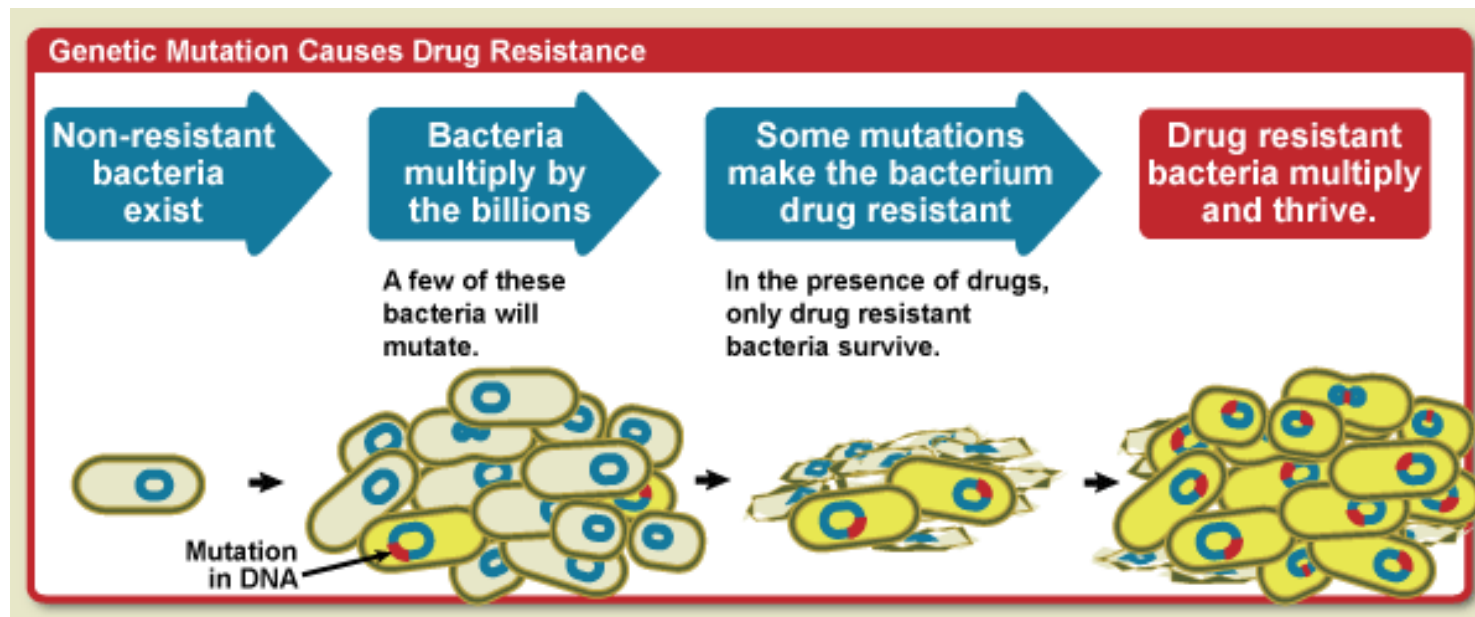


Εικόνα 10.19 Γενετικός χάρτης του πλασμιδίου ανθεκτικότητας R100. Στον εσωτερικό κύκλο φαίνεται το μέγεθος του πλασμιδίου σε κιλοβάσεις ζευγών. Στον εξωτερικό κύκλο φαίνονται οι περιοχές όπου εντοπίζονται τα σημαντικότερα γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, και άλλες καθοριστικές λειτουργίες: *cat*, ανθεκτικότητα στη χλωραμφαινικόλη· *oriT*, σημείο έναρξης της συζευκτικής μεταφοράς· *mer*, ανθεκτικότητα στα ιόντα υδραργύρου· *sul*, ανθεκτικότητα στη σουλφοναμίδη· *str*, ανθεκτικότητα στη στρεπτομυκίνη· *tet*, ανθεκτικότητα στην τετρακυκλίνη· *tra*, λειτουργίες μεταφοράς. Επίσης, υποδεικνύονται οι περιοχές όπου βρίσκονται οι αλληλουχίες ένθεσης (IS) και το μεταθετόνιο Tn10. Ορισμένα γονίδια που συνδέονται με την αντιγραφή του πλασμιδίου εντοπίζονται στην περιοχή από 88 έως 92 kbp.



Εικόνα 10.18 Διακυτταρική μεταφορά πλασμιδίων κατά τη σύζευξη.

Πού εδράζεται η ικανότητα τροποποίησης στόχου?



- **Νέες τάσεις – νέες ελπίδες**

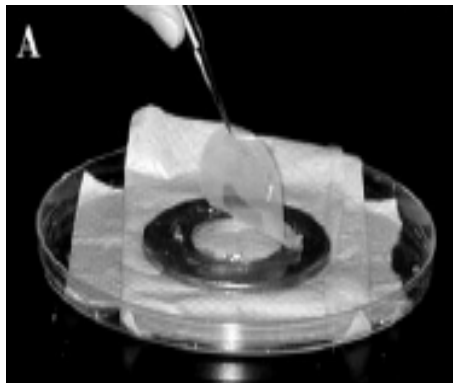


Isolating "Uncultivable" Microorganisms in Pure Culture in a Simulated Natural Environment

T. Kaeberlein, K. Lewis,* S. S. Epstein*†

The majority (>99%) of microorganisms from the environment resist cultivation in the laboratory. Ribosomal RNA analysis suggests that uncultivated organisms are found in nearly every prokaryotic group, and several divisions have no known cultivable representatives. We designed a diffusion chamber that allowed the growth of previously uncultivated microorganisms in a simulated natural environment. Colonies of representative marine organisms were isolated in pure culture. These isolates did not grow on artificial media alone but formed colonies in the presence of other microorganisms. This observation may help explain the nature of microbial uncultivability.

www.sciencemag.org SCIENCE VOL 296 10 MAY 2002



A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance

Losee L. Ling^{1*}, Tanja Schneider^{2,3*}, Aaron J. Peoples¹, Amy L. Spoering¹, Ina Engels^{2,3}, Brian P. Conlon⁴, Anna Mueller^{2,3}, Till F. Schäberle^{3,5}, Dallas E. Hughes¹, Slava Epstein⁶, Michael Jones⁷, Linos Lazarides⁷, Victoria A. Steadman⁷, Douglas R. Cohen¹, Cintia R. Felix¹, K. Ashley Fetterman¹, William P. Millett¹, Anthony G. Nitti¹, Ashley M. Zullo¹, Chao Chen⁴ & Kim Lewis⁴

Antibiotic resistance is spreading faster than the introduction of new compounds into clinical practice, causing a public health crisis. Most antibiotics were produced by screening soil microorganisms, but this limited resource of cultivable bacteria was overmined by the 1960s. Synthetic approaches to produce antibiotics have been unable to replace this platform. Uncultured bacteria make up approximately 99% of all species in external environments, and are an untapped source of new antibiotics. We developed several methods to grow uncultured organisms by cultivation *in situ* or by using specific growth factors. Here we report a new antibiotic that we term teixobactin, discovered in a screen of uncultured bacteria. Teixobactin inhibits cell wall synthesis by binding to a highly conserved motif of lipid II (precursor of peptidoglycan) and lipid III (precursor of cell wall teichoic acid). We did not obtain any mutants of *Staphylococcus aureus* or *Mycobacterium tuberculosis* resistant to teixobactin. The properties of this compound suggest a path towards developing antibiotics that are likely to avoid development of resistance.

[doi:10.1038/nature14098](https://doi.org/10.1038/nature14098)

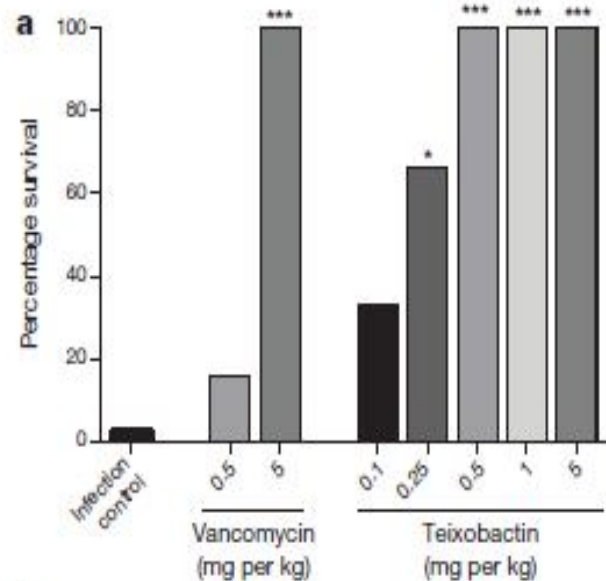


Table 1 | Activity of teixobactin against pathogenic microorganisms

Organism and genotype	Teixobactin MIC ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
<i>S. aureus</i> (MSSA)	0.25
<i>S. aureus</i> + 10% serum	0.25
<i>S. aureus</i> (MRSA)	0.25
<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	0.5
<i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	0.5
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (penicillin ^R)	≤ 0.03
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0.06
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0.12
Viridans group streptococci	0.12
<i>B. anthracis</i>	≤ 0.06
<i>Clostridium difficile</i>	0.005
<i>Propionibacterium acnes</i>	0.08
<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	0.125
<i>Haemophilus influenzae</i>	4
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2
<i>Escherichia coli</i>	25
<i>Escherichia coli</i> (asmB1)	2.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>32
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>32

The MIC was determined by broth microdilution. MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*; VRE, vancomycin-resistant enterococci.

