

A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance

Ling, L. L. *et al. Nature* **517**, 455–459 (2015)

Ausgangslage

- Unsere Antibiotika stammen vom „goldenen Antibiotika-Zeitalter“ (1940-1960er Jahre)
- In letzten 50 Jahren nur 1 neue Antibiotika-Klasse (Lipopeptid) entdeckt und eingeführt
- Zunehmende Resistenzen
- 99 % aller Bakterien nicht kultivierbar („dark matter“, „great plate count anomaly“)

Ziel der Studie

- (Boden-) Bakterien kultivierbar machen und auf neue antibiotische Substanzen testen

Screening

Methode

- iChip (Fig.1 ext. Dat.): - Inkubation der Bakterien in ihrer eigenen Erde („grassy field“)
- Geschätzte 50 % der Bakterien so kultivierbar
- Zugabe von *S. aureus* zu Extrakten der gewachsenen Bakterien → Inhibitionszone?

Resultate

- Ca. 10'000 neue Bakterienextrakte wurden gescreent.
- 1 neues gram-negative Bakterium mit sehr guter Antistaphylokokkus-Eigenschaft
 - Getauft auf *Eleftheria terrae*
 - Whole Genome Sequenzierung und Identifizierung der 16S rRNA-Sequenz:
Klasse der β -Proteobakterien (Fig. 2 ext. Dat), verwandter Genus: *Aquabacterium*

Isolation und Charakterisierung des produzierten Antibiotikums: Teixobactin

Isolation/Purifikation

- Mehreren Extraktionsschritten aus 40 Litern flüssiger Bakterienkultur: Zentrifugationen, Verdampfung etc. und schliesslich mittels Hochleistungsflüssigchromatographie

Charakterisierung der Struktur und Gensequenz

- Molekulargewicht mittels Massenspektrometrie: 1242 Dalton
- Aufklärung der Struktur mittels Kernspinresonanzspektrometrie (Fig 1c)
- Identifizierung der Gensequenz mittels Homologie Suche (Fig 1a)

In vitro antibiotische Aktivität

- MIC-Bestimmung mittels „broth microdilution“ Methode: breite Wirksamkeit gegen gram-positive Erreger, kaum wirksam gegen gram-negative (Tab.1)
- Time kill curves (10 x MIC) gegen früh- und spätexponentiell wachsende *S. aureus*: deutlich bessere Wirksamkeit als Vancomycin in der spätexponentiellen Phase (Fig. 2a und b)
- Serielles Passagieren in Sub-MIC-Konzentrationen: keine Resistenzentwicklung (Fig. 2c)
- Zellproliferations-Assay: Keine Toxizität gegenüber eukaryoten Zellen

Aufklärung des Wirkmechanismus

- Messen der Inkorporation radioaktiv markierter Vorläufermetabolite für DNA-, RNA-, Protein- und Zellwandsynthese: nur Zellwandsynthese gehemmt (Fig. 3a)
- MALDI-Tof: intrazelluläre Akkumulation von Zellwand-Vorläufern (Fig. 3b)
- Messen der Hemmung verschiedener Zellwandsyntheseschritte: Konzentrationsabhängige Hemmung der Lipid II- und C₅₅PP-Synthese (Fig. 3c)
- Mischen von Zellwand-Lipidvorstufen mit Teixobactin: Inhibition der Extraktion durch fixe Komplexbildung (Fig. 3d)
- Mischen von Zellwand-Teichonsäure-Vorläufer (Lipid III) mit Teixobactin: Inhibition der Extraktion durch fixe Komplexbildung (Fig. 3d)
- Umgekehrt: Zugabe von Lipid-II negierte die Wachstumshemmung von Teixobactin auf *S. aureus*

→ Wirkmechanismus: **1. Hemmung der Peptidoglykan-Synthese**

2. Hemmung des Einbaus der Zellwand-Teichonsäure

→ Freisetzung von Autolysinen

Pharmakokinetik und in vivo Aktivität

- Nach 20 mg/kg KG iv.-Gabe in Mäuse: Serumlevel 4 h über MIC
- Maus Sepsis-Modell mit MRSA: Teixobactin 0.5 mg/kg KG iv. verhindert Tod (Fig. 4a)
- Intramuskuläre Infektion mit MRSA bei neutropenen Mäusen: Teixobactin 2.5 mg/kg KG iv. kontrolliert Infektion (cfu-Zahl bleibt konstant) (Fig. 4b)
- Pneumonie-Modell mit Pneumokokken: Teixobactin 5 mg/kg KG 2 x iv. (nach 24 h und 36 h) reduziert Keimzahl um 5 log¹⁰.

Diskussion und Ausblick

- Neue, vielversprechende Methode zur Kultivierung von bislang unbekanntem Bakterien und Gewinnung neuer Antibiotika („Dies war nur die Spitze des Eisbergs.“)
- Erkenntnis, dass Nicht-Protein-Ziele resistenter gegenüber Resistenzentwicklung sind.
- Teixobactin als erstes Mitglied einer neuen Antibiotika-Klasse von Lipid-II-Inhibitoren
- Früheste klinische Anwendung in 5-6 Jahren, falls es Teixobactin durch die klinischen Studien schafft.