

Genetyczne podłoże oporności bakterii na antybiotyki glikopeptydowe i β -laktamowe

Agnieszka Kubica^a, Igor Jatulewicz^b

^aStudentka IV roku Biotechnologii, Akademia im. Jana Długosza, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, al. Armii Krajowej 13/15, 42-201 Częstochowa, e-mail: kubica.kubica@gmail.com

^bAkademia im. Jana Długosza, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Instytut Chemii, Ochrony Środowiska i Biotechnologii, Katedra Zoologii i Ekologii Zwierząt, al. Armii Krajowej 13/15, 42-201 Częstochowa, e-mail: i.jatulewicz@ajd.czyst.pl

Streszczenie

W artykule przedstawiono mechanizmy oporności bakterii na antybiotyki glikozydowe i β -laktamowe biorąc pod uwagę genetyczne podłoże obniżonej wrażliwości. Omawianie problemu oporności na antybiotyki wymaga opisu aktywności poszczególnych antybiotyków. Informacje te zostaną zawężone tylko do wyjaśnienia głównych mechanizmów działania na komórkę bakteryjną, z pominięciem właściwości chemicznych i farmakokinetycznych leków.

Słowa kluczowe: bakterie, oporność, antybiotyki, β -laktamy, glikopeptydy.

Wstęp

Infekcje bakteryjne stają się coraz trudniejsze do wyleczenia. Coraz częściej antybiotykoterapia nie przynosi oczekiwanych rezultatów, ze względu na wzrastającą oporność bakterii na stosowane farmaceutyki. Zjawisko to uwarunkowane jest zdolnością bakterii do wypracowania mechanizmów obrony, które pozwalają im przetrwać w środowisku zawierającym antybiotyki. Podłożem lekooporności przede wszystkim są mutacje w obrębie genomu lub nabywanie genów oporności od innych bakterii.

Oporność na leki o działaniu przeciwbakteryjnym występuje często i sprawia duże problemy w placówkach szpitalnych, z uwagi na trudności w leczeniu, szczególnie gdy patogen jest oporny na kilka różnych grup antybiotyków. Oporność staje się coraz bardziej niebezpieczna, ponieważ częstość izolacji szczepów lekoopornych ciągle wzrasta, a zmniejsza się ilość skutecznych antybiotyków, które można stosować w leczeniu.

Mechanizmy oporności bakterii

Wraz z odkryciem penicyliny przez Aleksandra Fleminga w roku 1928, otworzyła się nowa droga przed leczeniem zakażeń bakteryjnych [1]. Zapoczątkowano erę antybiotyków, która była obiecująca w leczeniu zakażeń bakteriami opornymi na sulfonamidy. Takie powszechne wykorzystanie antybiotyków w leczeniu pacjentów oraz dodawanie ich do pasz zwierzęcych, pociąga za sobą selekcję opornych szczepów bakteryjnych [2]. W wyniku antybiotykoterapii prowadzonej nieprawidłowo, dochodzi do rozprzestrzeniania się szczepów wieloopornych, często niewrażliwych na żaden z dostępnych środków leczniczych. Na uwagę zasługuje fakt, że w ostatnim czasie, wiele koncernów farmaceutycznych zaprzestało inwestować w badania nad nowymi antybiotykami z racji wysokich kosztów prowadzenia stosownych badań naukowych, oraz zbyt szybkiego rozwoju oporności na nowo wprowadzone leki. Przykładami są takie antybiotyki jak linezolid, chinuprystyna i dalfoprystyna, stworzone z myślą o zwalczaniu zakażeń wywołanych wieloopornymi bakteriami gram-ujemnymi. Pierwszy przypadek oporności na linezolid opisano już po około roku od momentu wprowadzenia na rynek, natomiast oporność na chiuprystynę i dalfoprystynę zaobserwowano jeszcze przed wprowadzeniem ich do obrotu medycznego [2-3].

Oporność może mieć charakter pierwotny, gdy jest ona stałą cechą gatunku, szczepu lub całej grupy bakterii. Spowodowana głównie jest brakiem odpowiedniego punktu uchwytu dla antybiotyku lub ograniczoną przepuszczalnością powierzchni komórki [4]. Bakterie, które początkowo wykazywały wrażliwość na dany antybiotyk, mogą stać się na niego odporne w skutek zmian w genomie, np. mutacji lub nabycia genów warunkujących oporność [1]. Przenoszenie genów oporności jest zjawiskiem częstym i może zachodzić poprzez horyzontalny transfer genów. Wektorami niosącymi takie geny są zazwyczaj plazmidy (zwane plazmidami R – ang. resistance), które w procesach koniugacji mogą być przekazywane od komórki dawcy do komórki biorcy. Proces ten w odróżnieniu od transdukcji i transformacji zachodzi z wysoką wydajnością [5]. Oporność na antybiotyki również może być przenoszona przez ruchome elementy genetyczne takie jak transpozony czy integrony, które są jednym ze źródeł powstawania szczepów bakterii opornych równocześnie na kilka chemioterapeutyków [1].

Pierwsze gronkowce odporne na penicylinę wyizolowano w roku 1942, u których lekooporność wynikała ona z produkcji enzymu penicylinazy zdolnej do hydrolizy pierścienia β -laktamowego antybiotyku. W związku z szybko rozpowszechniającą się opornością na penicylinę, wprowadzono do użytku metycylinę i penicylinę izoksazolilową, na które nie działały penicylinazy. Pierwsze szczepy *Staphylococcus aureus* odporne na metycylinę (MRSA – ang. methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) wyizolowano po dwóch latach od wdrożenia tego leku do obrotu medycznego. Obecnie szczepy MRSA są jednym

z najtrudniejszych infekcji do wyleczenia, ze względu na jednoczesną oporność na tetracykliny i fluorochinolony. W szpitalach coraz częściej identyfikuje się szczepy MRSA niewrażliwe na wankomycynę, do tej pory uznawaną za lek ostatniej szansy w leczeniu zakażeń opornymi szczepami *Staphylococcus aureus* [1].

Klasyfikacja podstawowych mechanizmów oporności (wg Davisa i Maasa)

W roku 1952 amerykański mikrobiolog Bernard Davis przeprowadził badania nad opornymi bakteriami. Z uzyskanych wyników opracowano klasyfikację podstawowych mechanizmów oporności:

- Inaktywacja leku przez enzymy bakteryjne (np. β -laktamazy),
- Zatrzymanie transportu antybiotyku do wnętrza komórki bakteryjnej, np. przez pogrubienie ściany komórkowej lub syntezę poryn,
- Modyfikacja miejsca docelowego dla leku, np. zmiany w białkach wiążących penicylinę PBP,
- Pominięcie etapu syntezy lub metabolizmu na który działa antybiotyk,
- Zwiększenie produkcji substancji antagonistycznej w stosunku do inhibitora,
- Synteza pomp, aktywnie usuwających lek z komórki odpornej [1].

Oporność na antybiotyki β -laktamowe

Antybiotyki o strukturze pierścienia β -laktamowego zatrzymują syntezę mureiny u bakterii. Zahamowaniu ulega aktywność transpeptydaz D-Ala-D-Ala oraz DD-karboksypeptydaz, które w normalnych warunkach katalizują powstawanie wiązań krzyżowych w warstwie mureiny. Poprzez zablokowanie tej reakcji dochodzi do osłabienia struktury ściany komórkowej, w następstwie czego komórka bakteryjna obumiera [5-6]. β -laktamy zachowują się jak analogi dipeptydu D-Ala-D-Ala, który jest obecny jako zakończenie prekursora mureiny. Cząsteczka antybiotyku wiąże się z transpeptydazą, co uniemożliwia powstawanie wiązań krzyżowych w ścianie komórkowej. Zanim jednak wyjaśniono mechanizm działania β -laktamów na bakterie, naukowcy przy pomocy elektroforezy w żelu PAA wykryli obecność białek wiążących penicylinę – PBP. Po analizie tych struktur okazało się, że białka PBP są enzymami odpowiedzialnymi za syntezę mureiny i wykazują różne powinowactwo do penicyliny [1].

Oporność bakterii na β -laktamy może być głównie związana z:

- Inaktywacją enzymatyczną za pomocą β -laktamaz,
- Zmianą przepuszczalności osłon bakteryjnych dla antybiotyku, szczególnie błony zewnętrznej bakterii gram-ujemnych,
- Modyfikacją celu działania antybiotyku β -laktamowego – modyfikacja białek PBP [7]

Inaktywacja enzymatyczna antybiotyku

β -laktamazy są produkowane przez bakterie gram-dodatnie, prawie wszystkie bakterie gram-ujemne z rodziny *Enterobacteriaceae*, a także pałeczki niefermentujące z rodzajów *Acinetobacter* i *Pseudomonas* [5]. Te specyficzne enzymy hydrolizują wiązanie amidowe w cząsteczce β -laktamu, powodując jego dezaktywację. Geny odpowiedzialne za syntezę tych enzymów mogą być zlokalizowane na chromosomie bakteryjnym (β -laktamazy typowe dla gatunku, warunkujące naturalną oporność), jednak częściej są umieszczone na ruchomych elementach genetycznych, takich jak plazmidy, transpozony, czy integrony [8].

Proces produkowania β -laktamaz ma zazwyczaj charakter indukcyjny i jego mechanizm można przedstawić na przykładzie regulacji transkrypcji genu odpowiedzialnego na syntezę cefalosporynazy AmpC. Wytwarzanie β -laktamazy jest indukowane działaniem antybiotyku, w wyniku którego z warstwy mureiny zostają uwolnione muropeptydy aktywujące system *amp*. W normalnych warunkach zdegradowane resztki peptydoglikanu są uwalniane do środowiska zewnętrznego. System *amp* pozwala na zawracanie muropeptydów z powrotem do komórki, dzięki aktywności białka AmpG w błonie cytoplazmatycznej. Następnie białko AmpD modyfikuje muropeptydy i w takiej zmienionej formie przyłączają się do białka regulatorowego AmpR. Białko AmpR reguluje transkrypcję genu strukturalnego *ampC*, syntetyzującego β -laktamazę – cefalosporynazę [1]. W przypadku ekspresji indukowanej, synteza enzymów rozpoczyna się dopiero, gdy w środowisku pojawi się cząsteczka antybiotyku – induktora, natomiast gdy jego brak, synteza β -laktamaz zatrzymuje się. Odwrotną sytuacją jest ekspresja konstytutywna, gdzie synteza enzymu utrzymuje się na niskim poziomie, niezależnie od obecności antybiotyku w otoczeniu [5]. Synteza enzymów w sposób konstytutywny bardzo często występuje u bakterii gram-ujemnych, gdzie doszło do mutacji w obrębie promotora i atenuatora genu *ampC*. W wyniku takiej mutacji gen *ampC* ulega derepresji i synteza β -laktamaz jest prowadzona konstytutywnie w dużych ilościach. Mutanty z derepresjonowanym genem *ampC*, produkują β -laktamazy o bardzo szerokim spektrum substratowym [5,9]

W odpowiedzi na wprowadzenie do lecznictwa antybiotyków β -laktamowych nowszej generacji, bakterie wyspecjalizowały się w syntezie β -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym oznaczanych skrótem ES β L (ang. extended spectrum β -lactamases). Większość enzymów ES β L jest kodowana plazmidowo i wywodzą się z klasycznych β -laktamaz, które posiadają mutacje punktowa w genach odpowiedzialnych za ich syntezę [5].

Modyfikacja białek PBP

Białka wiążące penicylinę PBP (ang. penicillin binding protein) są głównym celem działania antybiotyku β -laktamowego, który łącząc się z białkami powoduje zahamowanie syntezy mureiny. W wyniku mutacji doszło do modyfikacji białek PBP, dzięki czemu bakterie mogą przetrwać w obecności penicyliny. Często zmienione białka PBP występują u tych szczepów, które nie produkują β -laktamaz lub ich ściana komórkowa jest zbyt słabą ochroną przed wyniknięciem antybiotyku do wnętrza bakterii. Nie mniej jednak znane są szczepy bakterii, u których w tym samym czasie mogą działać różne mechanizmy oporności.

W strukturach szczepu wrażliwego *Streptococcus pneumoniae* obecnych jest 6 białek PBP. Oporność na β -laktamy warunkowana jest zazwyczaj mutacjami w białkach PBP2b, PBP2x i PBP1a. Zazwyczaj mutacje mają charakter substytucji, ponieważ delecja aminokwasów mogłaby być letalna dla komórki. W sekwencji białka PBP2b dochodzi do substytucji sześciu lub siedmiu aminokwasów w pobliżu seryny w centrum aktywnym enzymu, przez co zostaje obniżone powinowactwo do antybiotyku. W podobny sposób substytucji ulegają aminokwasy w PBP2x [1,10].

Bakterie odporne mogą też posiadać ścianę komórkową o zmienionej strukturze, gdy w warstwie mureiny obecne są rozgałęzione peptydy. Zmiany podstawników z nierozgałęzionych na formy rozgałęzione wynika z mutacji białek PBP (enzymów), odpowiedzialnych za tworzenie ściany komórkowej. Istnieją hipotezy, że zmodyfikowane białka PBP mają wyższe powinowactwo do rozgałęzionych prekursorów mureiny niż antybiotyki β -laktamowe oraz, że taka rozbudowana struktura mureiny jest niezbędna do wzrostu i podziału komórki w obecności antybiotyku [5].

Bakterie odporne mogą być wyposażone w dodatkowe białko PBP, które ma bardzo niskie powinowactwo do penicyliny, oraz które przejęło funkcje innych białek PBP naturalnie występujących w komórce. U szczepów wrażliwych *Enterococcus hirae* celami letalnymi dla penicyliny są białka PBP2 i PBP3, natomiast u szczepu opornego, np. *Enterococcus hirae* S185 syntetyzowane jest dodatkowe białko PBP3r. Gen odpowiedzialny za syntezę PBP3r znajduje się na plazmidzie, co może ułatwiać rozprzestrzenianie się tej cechy w środowisku [1]. Oporność u *Staphylococcus aureus* może wynikać zarówno z produkcji β -laktamaz oraz z syntezy dodatkowego białka PBP2a (oznaczanego również PBP2'). Gen *mecA* odpowiedzialny za syntezę PBP2a jest zlokalizowany w kasetach *SCCmec* (ang. Staphylococcal cassette chromosome *mec*), które są ruchomymi elementami genetycznymi integrującymi się z chromosomalnym DNA bakterii. Kasety *SCCmec* przenoszą się za pomocą transpozonów, genów *tra* oraz fagów [5,10].

U szczepów opornych białka PBP mogą być również produkowane w nadmiarze. Taki typ oporności wykryto u penicylioopornych *Enterococcus*

hirae, gdzie białko PBP5 jest syntetyzowane w nadmiarze, co powoduje pełne wysycenie cząsteczek antybiotyku, a pozostałe, wolne białka PBP5 mogą bez zakłóceń pełnić swoje funkcje w sieciowaniu peptydoglikanu. Za nadprodukcję białek PBP5 odpowiedzialny jest gen *pbp5*, który znajduje się pod kontrolą genu *psr*. W skutek mutacji lub delecji genu kontrolnego dochodzi do zwiększenia syntetyzowanych cząsteczek białka PBP5 [1,11].

Zmiana przepuszczalności osłon bakteryjnych na antybiotyku

U opornych bakterii gram-ujemnych błona zewnętrzna może charakteryzować się zmniejszoną przepuszczalnością dla chemioterapeutyku. Szybkość penetracji antybiotyku do wnętrza bakterii zależy przede wszystkim od obecności białek porynowych w błonie zewnętrznej. U *Escherichia coli* występują poryny OmpC i OmpF, przez które przechodzi antybiotyk. Zmniejszenie przepuszczalności osłon wynika z całkowitego zahamowania syntezy poryny OmpC lub produkcji poryny o zmienionej konformacji, która nie tworzy kanału w błonie zewnętrznej. U lekoopornych szczepów *Enterobacter aerogenes* obniżenie przepuszczalności osłon wspomagane jest czynnym usuwaniem antybiotyku z komórki za pomocą pomp MDR [1].

Oporność na glikopeptydy

Ciągły wzrost oporności na antybiotyki β -laktamowe, zmusił naukowców do odkrycia nowych chemioterapeutyków, które rozwiązałyby problem trudności w leczeniu zakażeń wywoływanych bakteriami gram-dodatnimi. Wśród antybiotyków glikopeptydowych, zastosowanie znalazła wankomycyna i teikoplanina. Interesujące jest, że w przypadku wankomycyny, która została wprowadzona do leczenia w roku 1958, dopiero po upływie 30 lat opisano pierwszą nabytą oporność na ten glikopeptyd [12]

Wankomycynę stosuje się w przypadku zakażeń metycylinoopornymi *Staphylococcus aureus* (MRSA), enterokokami opornymi na wysokie stężenia aminoglikozydów oraz penicylinoopornymi *Streptococcus pneumoniae*.

W roku 1988 po raz pierwszy wyizolowano enterokoki, wykazujące kodowaną plazmidowo oporność na wankomycynę i teikoplaninę. W latach 1989-1993 liczba opornych na wankomycynę enterokoków, izolowanych z materiałów klinicznych, wzrosła 26-krotnie [10].

W latach 90. XX wieku, gdy oporność na glikopeptydy stawała się coraz powszechniejsza, lekarze i naukowcy obawiali się, że oporność na tę grupę antybiotyków, również pojawi się u szczepów *Staphylococcus aureus*. Początkowo oporność na wankomycynę zaobserwowano u *Staphylococcus haemolyticus* i *Staphylococcus epidermidis*, a w roku 1996 udokumentowano pierwsze, kliniczne zakażenie wywołane przez *Staphylococcus aureus* o obniżonej oporności na wankomycynę (VISA –ang. vancomycin-intermediate

Staphylococcus aureus; innym skrótem, często używanym zamiennie jest GISA-ang. glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus*) [1].

Antybiotyki glikopeptydowe hamują syntezę mureiny wyłącznie u gram-dodatnich bakterii. Wankomycyna (pozostałe glikopeptydy również) przyłącza się do jednostki prekursorowej mureiny, do końca peptydu D-Ala-D-Ala, uniemożliwiając powstanie wiązań krzyżowych. W rezultacie zostaje osłabiona mechaniczna wytrzymałość bakteryjnej ściany komórkowej [12].

Oporność na glikopeptydy u enterokoków jest wynikiem modyfikacji miejsca w komórce, będącego celem działania leku. Bakterie z rodzaju *Enterococcus* syntetyzują zmienione prekursory mureiny, które wykazują obniżone powinowactwo do antybiotyków glikopeptydowych [11].

Do tej pory opisano sześć fenotypów oporności enterokoków na wankomycynę (VRE-ang. vancomycin-resistant enterococci) VanA, VanB, VanC, VanD, VanE, VanG. Największe znaczenie kliniczne mają fenotypy VanA i VanB, natomiast bakterie o fenotypie VanC - *Enterococcus gallinarum*, i *Enterococcus cesseliflavus*, wykazują naturalną oporność na wankomycynę [1,10].

Bardzo ciekawym mechanizmem charakteryzuje się wankomycynooporność klasy A, która jest najszerzej rozpowszechniona. Wystąpienie oporności o fenotypie VanA jest indukowane przez obecność wankomycyny w środowisku. Enterokoki VanA wykazują oporność na duże stężenia wankomycyny i teikoplaniny. Geny odpowiedzialne za ten rodzaj oporności zostały zidentyfikowane w obrębie transpozonu Tn1546, leżącym na plazmidzie pIP816, wyizolowanym ze szczepu *Enterococcus faecium* BM4147. Najważniejszymi elementami tego transpozonu są geny takie jak: *vanH*, *vanA*, *vanX* – będące genami strukturalnymi (tzw. białka VanHAX) oraz *vanR* i *vanS*, które są genami regulatorowymi. Wszystkie wymienione geny tworzą strukturę operonu *van*. Oprócz tych pięciu genów, które są warunkiem wystarczającym do ujawnienia się oporności, można wymienić również geny ORF1 i ORF2, uczestniczące w transpozycji, gen *vanY* – odpowiedzialny za hydrolizę prekursorów peptydoglikanu oraz gen *vanZ* warunkujący dodatkowy mechanizm oporności na niskie stężenia teikoplaniny.

W przypadku genów strukturalnych, gen *vanA* jest ligazą D-dipeptydową, syntetyzującą peptyd D-Ala-D-Lac, przyłączany do cytoplazmatycznych prekursorów peptydoglikanu zamiast standardowo występującego dipeptydu D-Ala-D-Ala. Jednak, aby synteza D-Ala-D-Lac mogła zajść wydajnie, gen *vanH*, koduje enzym dehydrogenazę D-hydroksykwasów, dzięki któremu pirogronian przekształcany jest w D-mleczan. Enzym kodowany przez gen *vanH* jest niezbędny do ujawnienia się oporności o fenotypie VanA, ponieważ D-mleczan naturalnie nie występuje w komórce bakterii. Dzięki inwersji dipeptydu D-Ala-D-Ala na D-Ala-D-Lac, wankomycyna nie może przyłączyć się do prekursorów mureiny.

Pomimo syntezy D-Ala-D-Lac, w komórce nadal syntetyzowany jest dipeptyd D-Ala-D-Ala, który może zostać włączony w ścianę komórkową co w efekcie daje potencjalne miejsce, gdzie może zadziałać antybiotyk. Enterokoki o fenotypie VanA, poradziły sobie z problemem syntezy dwupeptydów alaninowych, dzięki obecności genu *vanX*, kodującego enzym DD-dipeptydazę, która hydrolizuje wiązania amidowe tylko w cząsteczce D-Ala-D-Ala. Dzięki hydrolizie naturalnego dipeptydu jego poziom w komórce ulega zmniejszeniu, a tym samym oporność drobnoustrojów wzrasta. Kiedy dojdzie do inaktywacji genu *vanX*, komórka bakteryjna traci oporność na wankomycynę, ponieważ wzrasta ilość syntetyzowanych prekursorów mureiny, które zostają związane przez wankomycynę [1,5,12,13]

Gen *vanY* jest pewnego rodzaju zabezpieczeniem dla odpornej komórki bakteryjnej, gdy dipeptydy D-Ala-D-Ala nie ulegną hydrolizie przez enzymy kodowane genem *vanX*. Synteza genu *vanY* jest indukowana obecnością wankomycyny, a białko VanY nie jest czynnikiem koniecznym do wystąpienia oporności. Mimo to, synteza takiego białka może czterokrotnie podnieść poziom wankomycynooporności [1,5,12,13].

Za regulację ekspresji zespołu genów *vanHAX* na poziomie transkrypcji, odpowiedzialne są geny *vanR* i *vanS*, tworzące charakterystyczny, dwuskładnikowy system regulujący, indukowany obecnością wankomycyny lub teikoplaniny. Białko VanS jest białkiem sensorowym czyli kinazą histydynową, leżącą w błonie cytoplazmatycznej. Natomiast białko VanR jest białkiem cytoplazmatycznym, o charakterze regulatora odpowiedzi. Białko VanS wykrywa obecność glikopeptydu w środowisku, dzięki czemu ulega ono autofosforylacji (fosforylacji ulega aminokwas His164) i przekazuje sygnał do VanR, aby rozpocząć syntezę zespołu białek VanHAX. Ufosforylowane białko VanS, przenosi resztę fosforanową na Asp53 białka VanR, które w takiej formie ma większe powinowactwo do promotora transkrypcji genów *vanHAX*. Po aktywacji transkrypcji genów *vanHAX* dochodzi do syntezy enzymów, które odpowiadają za oporność typu VanA. Prawdopodobnie, gdy w środowisku jest brak glikopeptydu, dochodzi do defosforylacji VanR i inaktywacji transkrypcji genów *vanHAX* [1,5,12,13].

Wankomycynooporność klasy B jest analogiczna do fenotypu VanA. Enterokoki o fenotypie VanB wykazują indukowaną oporność na średnie stężenia wankomycyny, pozostając wrażliwe na teikoplaninę. W przeciwieństwie do wcześniej omówionego fenotypu, geny *vanB* mogą znajdować się na chromosomie bakteryjnym. Sekwencje aminokwasowe genów decydujących o fenotypie VanB, wykazują znaczne podobieństwo do genów operonu *vanHAX*, dlatego zostały oznaczone następującymi skrótami: *vanB*, *vanX_B*, *vanR_B*, *vanS_B*, *vanY_B*, *vanW* (który nie ma odpowiednika w fenotypie VanA). Efektem działania genów u enterokoków o fenotypie VanB, jest synteza prekursora peptydoglikanu, w którym obecny jest depsyptyd D-Ala-D-Lac.

Oporność enterokoków na wankomycynę o fenotypie VanB jest niższa od fenotypu VanA, co może być spowodowane o wiele niższym poziomem syntezy białek, nadających komórce oporność. Teikoplanina nie jest induktorem systemu regulacji VanS_B/VanR_B, dzięki czemu nie obserwuje się oporności na ten antybiotyk [1,5,12,13].

Gdy oporność na wankomycynę ujawniła się u enterokoków, naukowcy obawiali się lawinowego wzrostu wankomycynooporności u gronkowca złocistego, opornego już na metycylinę, erytromycynę, penicylinę i tetracyklinę. W roku 1996, naukowiec Hiramatsu, jako pierwszy opisał przypadek występowania szczepów VISA/GISA. Po przebadaniu tych szczepów stwierdzono, że oporność jest warunkowana pogrubioną ścianą komórkową, powstającą w wyniku zwiększonej syntezy prekursorów peptydoglikanu. Pod wpływem antybiotyku, dochodzi do zmian w strukturze peptydoglikanu, polegających na zmniejszeniu liczby wiązań krzyżowych i zamianie części reszt glicyny na serynę. Zmianie podlega również zwiększenie poziomu nieusieciowania mureiny, przez co komórka oporna ma nadmiar wolnych miejsc D-Ala-D-Ala, które potencjalnie mogą związać antybiotyk. W wyniku tych zmian, zostaje utworzona gruba warstwa mureiny, która adsorbuje cząsteczki glikopeptydu, uniemożliwiając mu dalszą penetrację komórki bakteryjnej. Znacznie poważniejszym problemem od szczepów VISA/GISA, jest pojawienie się szczepów *Staphylococcus aureus*, które nabyły gen oporności *vanA* od wankomycynoopornych szczepów enterokoków. Pierwsze szczepy VRSA (ang. vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*) opisano w 2002 roku w USA. U VRSA stwierdzono obecność transpozonu Tn1546, niosący operon *vanA*. U niektórych szczepów geny warunkujące oporność były bardziej stabilne, z tego względu *Staphylococcus aureus* wykazywał oporność zarówno na wankomycynę i teikoplaninę. Należy podkreślić, że charakterystyczną cechą szczepów VRSA i VISA/GISA jest jednoczesna oporność na metycylinę, dlatego też największe prawdopodobieństwo wyizolowania gronkowców opornych na wankomycynę istnieje w szpitalach o dużym odsetku zakażeń szczepami MRSA i VRE [1,5,12].

Zakończenie

W „złotej erze antybiotyków”, która trwała do lat 60. ubiegłego wieku, powszechnie sądzono, że zakażenia bakteryjne zostały opanowane. Nierozsądne i nadmierne stosowanie terapii antybiotykami doprowadziło do selekcji szczepów opornych na większość dostępnych preparatów. Według niektórych naukowców, leczenie infekcji bakteryjnych powoli wchodzi w „erę przedantybiotykową”, gdy znane sposoby walki z zakażeniami stają się nieskuteczne, a klinicyści stają przed ogromnym wyzwaniem, jakim jest leczenie pacjentów skolonizowanych przez wielooporne bakterie [1,2].

Niekonwencjonalną formą walki z patogenami opornymi jak terapia fagowa, z którą obecnie wiąże się największe nadzieje. Zastosowanie bakteriofagów, jako naturalnych wirusów infekujących bakterie jest korzystne ze względu na bardzo swoiste działanie wobec konkretnego patogenu, przy jednoczesnym zachowaniu mikroflory własnej pacjenta. Terapia fagowa, jest bardzo skuteczna w leczeniu zakażeń wieloopornymi szczepami takimi jak MRSA, VRE czy *Escherichia coli* syntetyzujące enzymy ES β L. Co więcej, ryzyko wystąpienia oporności na bakteriofagi jest o wiele mniejsze niż w przypadku antybiotykoterapii, co może stanowić kolejny powód do upowszechnienia tej metody leczenia [2,3].

Polska jako jeden z nielicznych krajów, ma największe doświadczenie w stosowaniu terapii fagowej. Obok Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu nad tym zagadnieniem pracują również naukowcy z Gruzińskiej Akademii Nauk.

Problem lawinowo narastającej oporności bakterii, na pewno nie zostanie całkowicie rozwiązany. Podjęcie odpowiednich kroków, w celu zmniejszenia rozwoju tego zjawiska, może w przyszłości zaowocować poprawą bezpieczeństwa mikrobiologicznego w szpitalach.

Literatura

1. Markiewicz Z., Kwiatkowski Z., Bakterie, antybiotyki, lekooporność, PWN, 2008.
2. Borysowski J., Weber-Dąbrowska B., Górski A., Potencjalne zastosowanie bakteriofagów w świetle obecnego kryzysu antybiotykoterapii, Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej 113, 2005, s. 73-78
3. Międzybrodzki R., Borysowski J., Fortuna W., Weber-Dąbrowska B., Górski A., Terapia fagowa jako alternatywa w leczeniu zakażeń wywołanych przez bakterie antybioykooporne, Kardiochirurgia i Torakochirurgia 3(2), 2006, s. 201-205.
4. Mazur E., Klag S., Mechanizmy lekooporności bakterii, Medycyna Rodzinna, 7 (6), 2004, s. 278-281.
5. Borowiec D., Mechanizmy bakteryjnej oporności na antybiotyki, Zakażenia szpitalne pod red. Dzierżanowskiej D., Alfa Medica Press, 2008, s. 475-496.
6. Kunicki-Goldfinger W.J.H., Życie bakterii, PWN, 2008, s. 224-226.
7. Zmudziński M., Gospodarek E., Mechanizmy oporności pałeczek *Acinetobacter spp.* na antybiotyki β -laktamowe, Postępy Mikrobiologii, 46 (3), 2007, s. 263-273.
8. Młynarczyk G., Molekularne podstawy antybioykooporności bakterii, Przegląd Epidemiologiczny, 54 supl. 1, 2000, s. 75-80.

9. Michalska A., Gospodarek E., Pałeczki *Enterobacter spp.* - zakażenia, lekowrażliwość i mechanizmy oporności na antybiotyki, *Postępy Mikrobiologii*, 46 (1), 2008, s. 423-429.
10. Gago J., Noworyta J., Ząbek J., Niezbędna wiedza na temat oporności drobnoustrojów na chemioterapeutyki, *Reumatologia*, 42 (1), 2004, s. 64-75.
11. Młynarczyk G., Młynarczyk A., Łuczak M., Oporność na antybiotyki glikopeptydowe u ziarenkowców gram-dodatnich, *Zakażenia*, 1, 2005, s. 27-33
12. Juda M., Dadas E., Malm A., Rola dwuskładnikowych systemów regulacyjnych w chorobotwórczości i lekooporności bakterii, *Postępy Mikrobiologii*, 46 (3), 2007, s. 237-247.