

Received: 2015.05.26
Accepted: 2016.05.20
Published: 2016.07.07

Mobilna antybiotykooporność – o rozprzestrzenianiu się genów determinujących oporność bakterii poprzez produkty spożywcze*

Mobile antibiotic resistance – the spread of genes
determining the resistance of bacteria through food
products

Jolanta Godziszewska¹, Dominika Guzek¹, Krzysztof Głąbski², Agnieszka Wierzbicka¹

¹Samodzielny Zakład Techniki w Żywieniu, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW, Warszawa

²Zakład Biochemii Drobnoustrojów, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa

Streszczenie

W ostatnich latach antybiotyki coraz częściej okazują się nieskuteczne w leczeniu infekcji bakteryjnych. Nabywanie antybiotykooporności przez drobnoustroje jest związane z krążącymi w środowisku genami, które ją warunkują. Drogą horyzontalnego transferu genów (HGT) determinanty oporności mogą zostać przeniesione do bakterii patogennych. Wykazano, że jednym z głównych mechanizmów odpowiedzialnych za rozprzestrzenianie genów antybiotykooporności jest koniugacja - proces bardzo wydajny, który omija bariery restrykcji i modyfikacji. Niektóre moduły koniugacyjne umożliwiają transfer plazmidów nawet pomiędzy odległymi filogenetycznie gatunkami bakterii.

Wiele doniesień naukowych wskazuje, że istotnym rezerwuarem genów antybiotykooporności jest żywność. Geny wywołujące oporność na antybiotyki identyfikowane są m.in. w produktach mięsnych, w mleku, na owocach czy warzywach. Powodem tak szerokiego rozprzestrzenienia genów oporności na antybiotyki w dużym stopniu jest nadużywanie antybiotyków przez hodowców roślin i zwierząt, a także horyzontalny transfer genów. Wykazano, iż determinanty oporności wyizolowane z produktów spożywczych mogą z łatwością zostać przeniesione do innej niszy, jeśli umiejscowione są na mobilnych elementach genetycznych.

Geny warunkujące oporność na antybiotyki są obecne w środowisku już od co najmniej 30 000 lat. Usunięcie ich z produktów spożywczych jest niemożliwe, a zagrożenia związane z pojawieniem się chorobotwórczych szczepów wieloantybiotykoopornych są bardzo duże. Jedyne co można zrobić to kontrolować pojawianie się, selekcję i ich rozprzestrzenianie. Dlatego też trwają poszukiwania metod zapobiegających horyzontalnemu transferowi genów. Obiecujące wydają się koncepcje zakładające połączenie założeń biologii rozwoju, ewolucji i ekologii w walce z szerzeniem się antybiotykooporności.

Słowa kluczowe: żywność • rezerwuariusz genów antybiotykooporności • horyzontalny transfer genów • antybiotykooporność

*Praca finansowana z projektu: „Biożywność – innowacyjne, funkcjonalne produkty pochodzenia zwierzęcego” POIG.01.01.02-14-090/09-07.

Summary

In recent years, more and more antibiotics have become ineffective in the treatment of bacterial infections. The acquisition of antibiotic resistance by bacteria is associated with circulation of genes in the environment. Determinants of antibiotic resistance may be transferred to pathogenic bacteria. It has been shown that conjugation is one of the key mechanisms responsible for spread of antibiotic resistance genes, which is highly efficient and allows the barrier to restrictions and modifications to be avoided. Some conjugative modules enable the transfer of plasmids even between phylogenetically distant bacterial species.

Many scientific reports indicate that food is one of the main reservoirs of these genes. Antibiotic resistance genes have been identified in meat products, milk, fruits and vegetables. The reason for such a wide spread of antibiotic resistance genes is the overuse of antibiotics by breeders of plants and animals, as well as by horizontal gene transfer.

It was shown, that resistance determinants located on mobile genetic elements, which are isolated from food products, can easily be transferred to another niche.

The antibiotic resistance genes have been in the environment for 30 000 years. Their removal from food products is not possible, but the risks associated with the emergence of multiresistant pathogenic strains are very large. The only option is to control the emergence, selection and spread of these genes. Therefore measures are sought to prevent horizontal transfer of genes. Promising concepts involve the combination of developmental biology, evolution and ecology in the fight against the spread of antibiotic resistance.

Keywords: food • reservoir of genes of antibiotic resistance • horizontal gene transfer • antibiotic resistance

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1209214>

Word count: 2361

Tables: –

Figures: 1

References: 48

Adres autorki: dr Jolanta Godziszewska, Samodzielny Zakład Techniki w Żywieniu, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW, ul. Nowoursynowska 159c (budynek 32), 02-776 Warszawa; e-mail: jolanta_godziszewska@sggw.pl.

Wykaz skrótów: **AR** – oporność na antybiotyki (antibiotic resistance), **HGT** – horyzontalny transfer genów (horizontal gene transfer), **T4SS** - czwarty system sekrecji (type IV secretion system), **Dtr** - (DNA transfer and replication), **Mpf** - (Mating pair formation)

WSTĘP

Wiek XX nazwano wiekiem antybiotyków – „cudownych leków”, którymi można zwalczyć prawie każde zakażenie bakteryjne, natomiast obecnie świat wszedł w „erę poantybiotykową”. Dlaczego tak szybko antybiotyki stały się nieskuteczne? Czemu przegrywamy w wyścigu zbrojeń z drobnoustrojami? Czy najważniejsze są zdolności adaptacyjne drobnoustrojów i żywność, która jest rezerwuarem genów warunkujących lekooporność bakterii?

Celem publikacji jest próba odpowiedzi na powyższe pytania, a także wskazanie sposobów walki z transferem genów determinujących oporność bakterii na antybiotyki.

Antybiotyki – substancje stosowane w leczeniu zakażeń drobnoustrojami, wykazują działanie bakteriobójcze i/lub bakteriostatyczne. Za początek ery antybiotyków uważa się 1928 r. – datę odkrycia penicyliny przez A. Fleminga. Było to wydarzenie przełomowe, co potwierdza przyznana w 1945 r. Nagroda Nobla za wyizolowanie i wykorzystanie tego antybiotyku. Jednocześnie rozpoczęły się, trwające do dziś, poszukiwania nowych substancji o działaniu antybakteryjnym.

Odkryte antybiotyki mają zróżnicowane mechanizmy działania. Wśród nich są związki, które wpływają na syntezę: mureiny, DNA, RNA, białka, funkcjonowanie błony komórkowej czy są antymetabolitami. Również pod względem chemicznym antybiotyki nie stanowią jedno-

rodnej grupy, od prostych peptydów po złożone związki wielopiersścieniowe [28].

ZASTOSOWANIE ANTYBIOTYKÓW

Pierwszym i najważniejszym zastosowaniem antybiotyków jest zastosowanie przeciw zakażeniom bakteryjnym. Niestety nie zawsze związki te są stosowane odpowiednio lub zgodnie z przeznaczeniem. Okazuje się, iż prawie 90% wszystkich antybiotyków wykorzystywanych w leczeniu człowieka, przepisywanych jest przez lekarzy pierwszego kontaktu pacjentom z zakażeniami dróg oddechowych, które nie zawsze są spowodowane przez bakterie [25]. Zdarza się, że pacjenci z zakażeniami bakteryjnymi, zbyt krótko stosują antybiotyki lub też zażywają za niską dawkę substancji antibakteryjnej. W wyniku takich działań rozwija się oporność bakterii na antybiotyki (antibiotic resistance, AR). AR jest uważana za jedno z największych zagrożeń dla zdrowia ludzi na świecie, zwłaszcza jeśli dotyczy wielooporności patogennych bakterii. Szczególnie groźne bywają zakażenia szpitalne wywoływane przez wielolekooporne pałeczki *Pseudomonas aeruginosa* czy gronkowce *Staphylococcus aureus*. Okazuje się, iż tylko jeden gatunek bakterii – oporny na metycylinę *Staphylococcus aureus* (MRSA) zabija rocznie więcej Amerykanów niż HIV/AIDS, rozedma płuc i choroba Parkinsona [14].

Przeraża to, iż zużycie antybiotyków w celach medycznych nie jest duże w porównaniu z ilościami antybiotyków stosowanych przy produkcji żywności pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. W USA, w 2009 r. około 80% wszystkich sprzedanych antybiotyków wykorzystano w gospodarstwach hodowlanych [31]. W związku z popularnością stosowania antybiotyków, migracją ludzi, zwierząt i mobilnością ruchomych elementów genetycznych doniesienia o szczepach lekoopornych izolowanych z różnego rodzaju produktów spożywczych napływają z całego świata.

Udowodniono, że stosowanie streptomycyny na terenie Unii Europejskiej doprowadziło do rozprzestrzenienia genów warunkujących oporność na ten antybiotyk [38]. Przyczyną opisanego zjawiska było stosowanie go już od lat 50 XX w. w sadownictwie do kontroli zakażeń jabłoni i gruszy spowodowanych bakterią *Erwinia amylovora* [30]. W Izraelu, Kanadzie, Meksyku czy Nowej Zelandii streptomycyna jest nadal zarejestrowanym i wykorzystywanym preparatem antibakteryjnym [43].

Geny warunkujące antybiotykooporność rozprzestrzeniły się na świecie także za sprawą produktów mlecznych. W Czechach np. w latach 2010-2013 z surowego mleka wyizolowano szczepy *E. coli* wieloantybiotkooporne. Analizy genetyczne wykazały, że większość z nich przenosi geny determinujące oporność na antybiotyki β-laktamowe, tetracyklinę i chinolony [40]. Również w Iranie w surowym mleku i niepasteryzowanych serach bytują patogenne szczepy *E. coli* oporne na cipro-

floksacynę, trimetoprim, oksytetracyklinę, gentamycynę, kwas nalidyksowy, ampicylinę, streptomycynę [5].

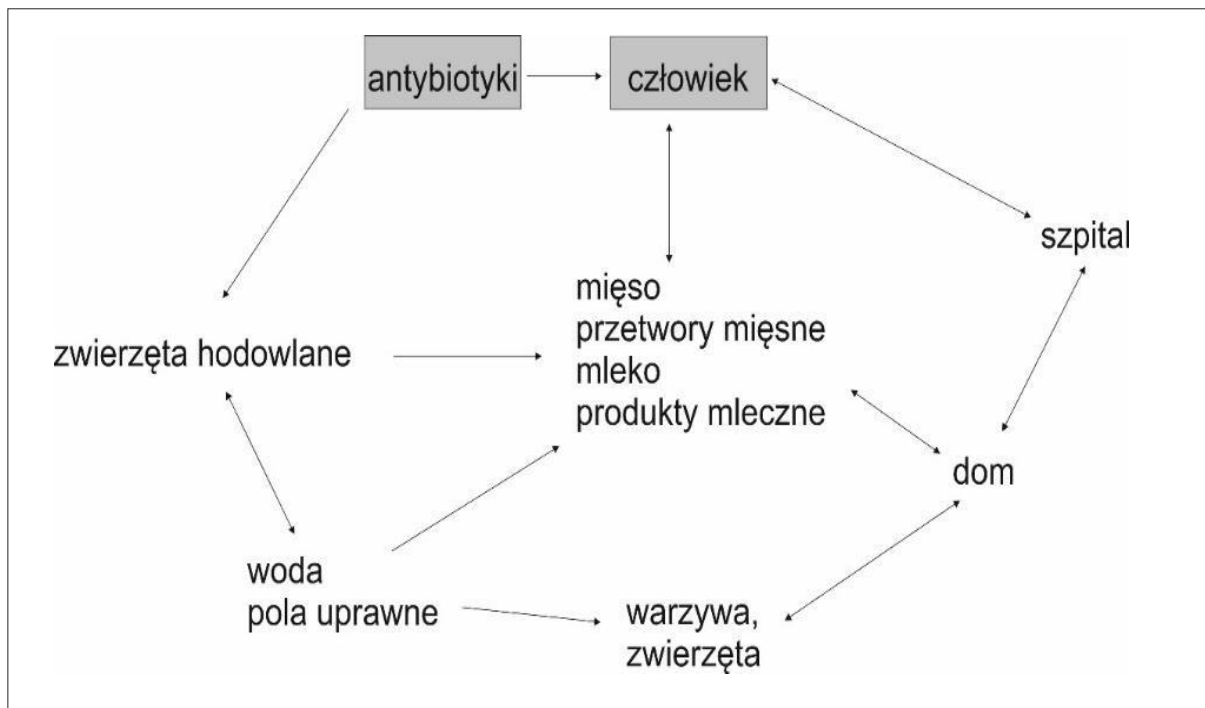
Coraz więcej doniesień dotyczących antybiotykoopornych bakterii dotyczy mięsa. W Kanadzie, w południowym Ontario, z cielęciny kupionej w lokalnym sklepie wyizolowano bakterie *E. coli*, które były odporne m.in. na ceftiofur, ceftriakson, ciprofloksacynę, kwas nalidyksowy [7]. Badania, przeprowadzone w Rumunii, wykazały, iż w około jednej piątej przebadanych próbek surowego mięsa wieprzowego i pakowanych produktów wieprzowych bytują bakterie z rodzaju *Salmonella*, które są rezerwuarem genów determinujących oporność na antybiotyki, m.in. tetracyklinę, ampicylinę, trimetoprim, amoksycylinę, tazobactam, imipenem, ciprofloksacynę i norfloksacynę. Pod tym kątem badano również miejsca uboju i rozbioru tusz, w których przygotowywano mięso. W 40% pobranych próbek wykazano obecność bakterii *Salmonella* przenoszących geny rozkładające antybiotyki [32]. Rozprzestrzenienie determinantów lekooporności w tym środowisku jest prawdopodobnie wynikiem stosowania antybiotyków w niewielkich stężeniach jako stymulatorów wzrostu zwierząt. W Danii wykazano, że stosowanie tylozyny u warchlaków i świń w okresie tuczu wstępnego doprowadziło do rozwoju oporności na erytromycynę i azytromycynę u bakterii [45].

W Polsce około 40% spożywanego mięsa to mięso wieprzowe [47]. Według prognoz spożycie wieprzowiny w krajach Unii Europejskiej wzrośnie o 2% do 2020 r. [47]. Ze względów ekonomicznych hodowcom zależy na szybkim przyroście masy prosiąt, a stosowanie antybiotyków jako stymulatorów wzrostu doprowadza do rozwoju bakterii antybiotykoopornych na tuczonych zwierzętach. Problem zanieczyszczenia mięsa wieprzowego genami warunkującymi antybiotykooporność może dotyczyć też Polski.

Szczególnie niebezpieczne jest przedostanie się AR do środowiska. Determinanty oporności wyselekcjonowane w leczonych zwierzętach są wydalane z kałem. Pola uprawne nawożone takim bionawozem są miejscem powielania genów warunkujących lekooporność i ich transferu do bakterii glebowych czy bytujących w środowisku wodnym. Również tą drogą determinanty oporności mogą trafić do organizmu ludzkiego [46] (ryc. 1)

Wprowadzenie antybiotyku, a więc silnej presji selekcyjnej do ekosystemu, doprowadza do szybkiej adaptacji danej populacji drobnoustrojów. Pojawienie się genów wywołujących oporność na antybiotyki bardzo rzadko jest wynikiem mutacji w narażonych populacjach. Najczęściej nabywanie i rozprzestrzenianie „oporności” zachodzi za pośrednictwem mobilnych elementów genetycznych i ich transferu do antybiotykowrażliwych drobnoustrojów za pośrednictwem horyzontalnego transferu genów (HGT, horizontal gene transfer).

Przeprowadzone analizy wykazują, iż bakterie bytujące na żywności zawierają „mobilne determinanty oporno-



Ryc. 1. Przenoszenie genów warunkujących antybiotykooporność w środowisku

ści”, jak np. izolowana z miodu bakteria - *Paenibacillus larvae*. Przenosi plazmidy, które warunkują oporność na tetracyklinę (pPL373 - szczep PL373, pPL374 - PL374 czy pPL395 - PL395). Analiza bioinformatyczna sugeruje, iż na wektorach tych znajdują się sekwencje *oriT* oraz geny *mob*, które prawdopodobnie umożliwiają plazmidom koniugacyjny transfer. Wykazano również, że bardzo podobne wektory są izolowane z innych szczepów bakterii Gram-dodatnich m.in. *Bhargavaea*, *Bacillus*, *Lactobacillus* czy *Sporosarcina*, co wskazuje, że transfer koniugacyjny się odbywa, a wektory mogą mieć szeroki zakres gospodarzy (BHR) [2]. Innym przykładem drobnoustrojów, u których zidentyfikowano mobilne elementy genetyczne są bakterie z rodzaju *Enterococcus*, dla których wykazano horyzontalny transfer genów ze szczepu bytującego w żywności do szczepów klinicznych. W doświadczeniach *in vitro* potwierdzono koniugacyjny transfer genu *tet* warunkującego oporność na tetracyklinę ze szczepu *Enterococcus faecium* S27 izolowanego z żywności do klinicznych szczepów *E. faecium* i *E. faecalis* 82916. Podobna sytuacja dotyczy genów oporności na streptomycynę *aadA*, które przeniesiono w warunkach laboratoryjnych ze szczepu *E. faecium* S27 do szczepu *E. faecalis* 82916 [15].

W Polsce dopiero rozpoczęły się badania nad identyfikacją, genów, od których zależy lekooporność bakterii izolowanych z gotowych produktów spożywczych, takich jak sery, wędliny, kiełbasy, wędzone ryby. Analizowano genotypy i fenotypy koagulazoujemnych gronkowców. Wykryto oporność na metycylinę, cefotaksym, klindamycynę, tigecylinę, ryfampicynę, erytromycynę, tetracyklinę. Szczególnie niebezpieczne jest

umieszczenie genów, warunkujących oporność na tetracyklinę, na mobilnych elementach genetycznych (na transpozonach z rodziny Tn916-Tn1545). W wyniku horyzontalnego transferu genów determinanty oporności mogą trafić do bakterii komensalnych organizmu człowieka [6].

TRANSFER KONIUGACYJNY/TRANSFORMACJA

Proces otrzymania genów niewynikający z nabycia ich od organizmu rodzicielskiego w procesie różnego typu rozmnażania nazywa się horyzontalnym transferem genów (HGT) [3]. Jednym z głównych mechanizmów odpowiedzialnych za horyzontalne rozprzestrzenianie się informacji genetycznej (HGT) jest transfer koniugacyjny. Odgrywa niezwykle istotną rolę w ewolucji mikroorganizmów. Transfer koniugacyjny jest procesem ukierunkowanym: DNA transferowane jest z komórki zawierającej plazmid koniugacyjny lub transpozon koniugacyjny do komórki, która nie ma takiego lub podobnego modułu transferowego. Koniugacja po raz pierwszy opisana została dla plazmidu F z *Escherichia coli* przez J. Lederberga i E. Tatum w 1946 r. W oparciu o dotychczasową wiedzę o różnych systemach koniugacyjnych plazmidów z bakterii Gram-ujemnych wyłania się obraz skomplikowanego procesu, w którym uczestniczą dwa wieloskładnikowe kompleksy: relaksosom i transferosom. Relaksosom to nukleoproteinowy kompleks zaangażowany w rozpoznanie i procesowanie *oriT* (miejsce inicjacji transferu), a następnie dostarczenie jednej nici DNA do transferosomu, systemu transportu przez błony komórkowe (T4SS, type IV secretion system). Połączenie między relaksosomem a transfero-

somem zapewnia białko łącznikowe (coupling protein), które wiąże się z kompleksem relaksosomu i transportuje go do T4SS umiejscowionego w błonach. Białka relaksosomu działające w regionie *oriT*, odpowiedzialne za przygotowanie DNA do transferu, są kodowane przez geny Dtr (DNA transfer and replication), natomiast produkty białkowe genów Mpf (Mating pair formation) są zaangażowane w proces tworzenia koniugacyjnych par. Relaksazy (nikazy) i białka pomocnicze wiążące się do DNA są wysoce swoiste, rozpoznają tylko własne *oriT*, natomiast najmniej swoisty w modułach koniugacyjnych jest system tworzenia koniugacyjnych par – Mpf (z tego samego systemu transferosomu mogą korzystać różne kompleksy relaksosomów). Swoistość białka łącznikowego wobec relaksosomu i transferosomu jest różna w zależności od typu plazmidu koniugacyjnego. Plazmidy koniugacyjne są zdolne do mobilizacji transferu horyzontalnego plazmidów niekoniugacyjnych, pod warunkiem posiadania przez te plazmidy sekwencji *oriT* (origin transferu) i obecności (na plazmidzie mobilizowalnym lub koniugacyjnym) genów kodujących swoisty dla danego *oriT* kompleks relaksosomu (minimalna kasetka mobilizacyjna *mob*). Mimo wspólnego schematu przygotowania DNA do transferu koniugacyjnego struktury relaksosomów różnią się od siebie i wykazują swoistość plazmidową. Globalne analizy wykazały, iż prawie jedna czwarta wszystkich plazmidów to plazmidy koniugacyjne, natomiast około połowa to plazmidy mobilizowalne. Plazmidy mobilizowalne są mniejsze, kodują *oriT*, własny relaksosom, ewentualnie białko łącznikowe. Do transferu, podobnie jak transpozony mobilizacyjne, wymagają obecności pomocniczych plazmidów bądź transpozonów koniugacyjnych. Moduł koniugacyjny na plazmidzie lub transpozonie niesie sekwencję *oriT*, geny kodujące relaksazę, białka pomocnicze, białko łącznikowe i dodatkowo białka kompleksu transferosomu (12-30 w zależności od systemu) [41]. Koniugacja jest procesem niezwykle wydajnym, który omija bariery restrykcji i modyfikacji. Niektóre systemy koniugacyjne bakterii Gram-ujemnych w warunkach optymalnych umożliwiają zamianę nawet 100% biorców na transkoniuganty po 30 min od dodania dawcy w temperaturze 37°C. W takich warunkach utworzenie par koniugacyjnych przez aparat Mpf zajmuje około 5-7 min, natomiast transfer DNA zachodzi z szybkością 45 kb min⁻¹ [21].

Innym mechanizmem doprowadzającym do szybkich zmian w genomach bakteryjnych jest transformacja. W procesie tym niezwykle istotna jest kompetencja, czyli zdolność do pobierania nagiego DNA ze środowiska. Transformacja została opisana po raz pierwszy w 1928 r. przez F.Griffith dla bakterii z rodzaju *Streptococcus*. Avery i wsp. w latach 40 XX w. odkryli, że substratem w tym procesie jest DNA. Zauważono zdolność do naturalnej transformacji bakterii Gram-dodatnich z rodzaju *Bacillus* i *Staphylococcus* pp [17,26], a także bakterii Gram-ujemnych, m.in. *Neisseria* i *Haemophilus* [34]. W procesie transformacji bakterie kompetentne mogą pobierać ze środowiska fragmenty DNA z genami oporności na antybiotyki.

WIEK XXI – ERA POANTYBIOTYKOWA

Dużym zagrożeniem dla zdrowia człowieka stała się wielolekowa oporność drobnoustrojów [42]. Bakterie odporne na kilka antybiotyków są izolowane z trzody chlewnej, bydła czy drobiu [9,22,29], a także są przenoszone na produkty spożywcze pochodzenia zwierzęcego, takie jak: surowe mięso drobiowe, wieprzowe, wołowe [18,20,35], mleko i jego przetwory [11,13,19,36,37] czy produkty rybne [44]. Wieloantybiotykooporność nie zawsze jest związana z posiadaniem przez bakterie kilku czy nawet kilkunastu genów oporności na antybiotyki. Wynikać to może z obecności pojedynczego genu lub mutacji, która zmienia strukturę lub skład ściany komórkowej drobnoustroju, syntezę otoczki czy też tworzy pompy, które aktywnie usuwają szkodliwą substancję z komórki [16].

Wciąż napływające doniesienia o antybiotykooporności sugerują, że świat wchodzi w „erę poantybiotykową”. Oporność na antybiotyki rozprzestrzenia się szybciej, niż trwanie procesu wprowadzenia związku do rutynowego leczenia ludzi czy zwierząt.

Czemu więc tak szybko pojawia się lekooporność? Nowo zidentyfikowane substancje o działaniu bakteriobójczym lub bakteriostatycznym przed wprowadzeniem na rynek oprócz prac- i czasochłonnych badań fizykochemicznych i klinicznych testowane są także pod kątem pojawiania się na nie antybiotykooporności. Tak m.in. sprawdzano „nowy” antybiotyk teiksobaktynę - związek wyizolowany z *Eleftheriaterrae*. W warunkach laboratoryjnych nie udało się uzyskać mutantów *Staphylococcus aureus* czy *Mycobacterium tuberculosis* na niego opornych [24].

Okazuje się, iż geny warunkujące oporność na antybiotyki były już w środowisku od milionów lat, a nabywanie oporności zazwyczaj nie zależy od przypadkowych mutacji. Podczas analiz DNA z wiecznej zmarzliny sprzed 30 000 lat zidentyfikowano różnorodne geny mogące warunkować oporność na β-laktamy, tetracykliny czy glikopeptydy [8]. Pulę genów determinujących antybiotykooporność bowiem zwiększają sami producenci antybiotyków. Dodatkowo produkty tych genów mogą być zaangażowane w metabolizm podstawowy komórki bakteryjnej [33].

Lekooporność stała się problemem na skalę światową. W celu „ratowania antybiotyków” wprowadzono regulacje prawne dotyczące ich stosowania. W 2006 r. Unia Europejska zakazała stosowania antybiotyków jako stymulatorów wzrostu w hodowlach zwierzęcych [1]. W Polsce minister zdrowia ogłosił „Narodowy Program Ochrony Antybiotyków” na lata 2011-2015, a zanieczyszczenia antybiotykami objęto badaniami kontrolnymi według Załącznika 1 rozporządzenia ministra rolnictwa i rozwoju wsi z 20 marca 2003 r. [39]. Działania te powinny być jednak wspomagane. Wiadomo, iż determinanty oporności rozprzestrzeniają się w środowisku.

Niemożliwe jest usunięcie wszystkich genów warunkujących lekooporność, ponieważ niektóre z nich pełnią istotną rolę w funkcjonowaniu organizmu zupełnie niezwiązaną z antybiotykoopornością [33]. Można jedynie kontrolować pojawianie się, selekcjonowanie i rozprzestrzenienie tych genów w bakteriach, które mają kontakt z ludźmi, zwierzętami i roślinami [48]. Szansą jest spowolnienie procesu rozprzestrzeniania genów tworzących oporność.

LECZYĆ PACJENTA CZY ŚRODOWISKO?

Powstały nowe koncepcje walki z antybiotykoopornością np. eco-evo - integrująca ekologię i biologię rozwoju czy eco-evo-devo - spajająca ekologię, ewolucję i biologię rozwoju [4]. Zwolennicy tych teorii uważają niszę, w której żyją antybiotykooporne bakterie za środowisko chore, które należy uzdrowić. Nie zakładają usuwania genów antybiotykooporności, ale proponują poszukiwanie związków, które będą hamowały rozprzestrzenianie antybiotykooporności i blokowały procesy prowadzące do powstania nowych determinantów wywołujących niewrażliwość na antybiotyki [4]. W myśl tej hipotezy zanieczyszczona antybiotykoopornością żywność może być leczona.

Dane literaturowe wskazują, iż można hamować m.in. koniugację czy rekombinację [4]. Udowodniono, że nienasycone kwasy tłuszczowe blokują koniugację plazmidu R388. Jest to działanie swoiste systemowo, czyli w obecności nienasyconych kwasów tłuszczowych zatrzymana jest tylko koniugacja wektorów z systemami koniugacyjnymi plazmidu R388 [10]. Również bardzo wydajnie blokują transfer przeciwciała przeciwko relaksazie plazmidu R388. Działają one swoiście plazmidowo, w komórkach biorcy plazmidu R388 [12]. Proces transferu koniugacyjnego plazmidu F może zostać zatrzymany przez białko gp3 z bakteriofaga M13, które wpływa

negatywnie na proces formowania T4SS [23]. Bisfosfoniary są także proponowane jako inhibitory koniugacji [27]. Związki hamujące wymienione procesy są niezwykle specyficzne. Stąd też, aby „wyleczyć” produkty spożywcze z genów warunkujących antybiotykooporność należy poszczególne grupy produktów poznać. Uwolnienie żywności od tych genów jest trudne. Można jednak podjąć działania mające na celu np. zablokowanie transferu koniugacyjnego genów oporności w obrębie produktu spożywczego pozwalające na zahamowanie transferu genów do bakterii patogennych czy bakterii komensalnych organizmu człowieka.

PODSUMOWANIE

W ostatnich latach wieloantybiotykooporne bakterie patogenne, komensalne i środowiskowe są identyfikowane na całym świecie. Podjęte działania mające na celu zmniejszenie liczby przepisywanych pacjentom antybiotyków i zakaz stosowania antybiotyków jako stymulatorów wzrostu zwierząt hodowlanych wydają się niewystarczające. Do niedawna antybiotykooporność była kojarzona jedynie ze środowiskiem szpitalnym. Szczegółowe zbadanie problemu wykazało, iż rezerwuarem genów lekooporności jest też żywność. Łańcuch pokarmowy może odgrywać znaczącą rolę w transmisji genów determinujących lekooporność między środowiskiem a człowiekiem. Usunięcie z produktów spożywczych genów antybiotykooporności jest niemożliwe. Można jedynie kontrolować pojawianie się, selekcję i rozprzestrzenianie genów AR. Częściową kontrolę procesu zapewniają substancje blokujące koniugacyjny transfer plazmidów/transpozonów opornościowych. Proponowane działania łączą ewolucję i ekologię, dzięki czemu mogą zmniejszyć szerzenie się antybiotykooporności w środowisku.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Aarestrup F.: Get pigs off antibiotics. *Nature*, 2012; 486: 465-466
- [2] Alippi A.M., León I.E., López A.C.: Tetracycline-resistance encoding plasmids from *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American foulbrood disease, isolated from commercial honeys. *Int. Microbiol.*, 2014; 17: 49-61
- [3] Baj J., Markiewicz Z.: *Biologia molekularna bakterii*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2006
- [4] Baquero F., Coque T.M., de la Cruz F.: Ecology and evolution as targets: the need for novel eco-evo drugs and strategies to fight antibiotic resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2011; 55: 3649-3660
- [5] Bonyadian M., Moshtaghi H., Akhavan T.M.: Molecular characterization and antibiotic resistance of enterotoxigenic and enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from raw milk and unpasteurized cheeses. *Vet. Res. Forum*, 2014; 5: 29-34
- [6] Chajęcka-Wierzchowska W., Zadernowska A., Nalepa B., Sierpińska M., Łaniewska-Trokenheim Ł.: Coagulase-negative staphylococci (CoNS) isolated from ready-to-eat food of animal origin – phenotypic and genotypic antibiotic resistance. *Food Microbiol.*, 2015; 46: 222-226
- [7] Cook A., Reid-Smith r.J., Irwin r.J., McEwen S.A., Young V., Butt K., Ribble C.: Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from retail milk-fed veal meat from Southern Ontario, Canada. *J. Food Prot.*, 2011; 74: 1328-1333
- [8] D'Costa V.M., King C.E., Kalan L., Morar M., Sung W.W., Schwarz C., Froese D., Zazula G., Calmels F., Debruyne r., Golding G.B., Poinar H.N., Wright G.D.: Antibiotic resistance is ancient. *Nature*, 2011; 477: 457-461
- [9] de Neeling A.J., van den Broek M.J., Spalburg E.C., van Santen-Verheuvél M.G., Dam-Deisz W.D., Boshuizen H.C., van de Giessen A.W., van Duijkeren E., Huijsdens X.W.: High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. *Vet. Microbiol.*, 2007; 122: 366-372
- [10] Fernandez-Lopez r., Machón C., Longshaw C.M., Martin S., Molin S., Zechner E.L., Espinosa M., Lanka E., de la Cruz F.: Unsaturated fatty acids are inhibitors of bacterial conjugation. *Microbiology*, 2005; 151: 3517-3526

- [11] Fessler A.T., Olde Riekerink r.G., Rothkamp A., Kadlec K., Sam-pimon O.C., Lam T.J., Schwarz S.: Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 obtained from humans and animals on dairy farms. *Vet. Microbiol.*; 2012; 160: 77-84
- [12] Garcillán-Barcia M.P., Jurado P., González-Pérez B., Moncalián G., Fernández L.A., de la Cruz F.: Conjugative transfer can be inhibited by blocking relaxase activity within recipient cells with intrabodies. *Mol. Microbiol.*, 2007; 63: 404-416
- [13] Gundogan N., Citak S., Yuçel N., Devren A.: A note on the incidence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples. *Meat Sci.*, 2005; 69: 807-810
- [14] IDSA Eduction & Research Foundation.: Antibiotic Resistance. http://www.idsociety.org/uploadedFiles/IDSA/Policy_and_Advocacy/Current_Topics_and_Issues/Antimicrobial_Resistance/WHHD/Antibiotic%20Resistance%20Fact%20Sheet%281%29.pdf (10.04.2015)
- [15] Jahan M., Zhanel G.G., Sparling r., Holley r.A.: Horizontal transfer of antibiotic resistance from *Enterococcus faecium* of fermented meat origin to clinical isolates of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Int. J. Food Microbiol.*, 2015; 199: 78-85
- [16] Jarmuła A., Obłąk E., Wawrzycka D., Gutowicz J.: Efflux-mediated antimicrobial multidrug resistance. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2011; 65: 216-227
- [17] Johnsborg O., Eldholm V., Håvarstein L.S.: Natural genetic transformation: prevalence, mechanisms and function. *Res. Microbiol.*, 2007; 158: 767-778
- [18] Kitai S., Shimizu A., Kawano J., Sato E., Nakano C., Uji T., Kitagawa H.: Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 2005; 67: 107-110
- [19] Kreauskon K., Fetsch A., Kraushaar B., Alt K., Müller K., Krömker V., Zessin K.H., Käsbohrer A., Tenhagen B.A.: Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from bulk tank milk of dairy herds. *J. Dairy Sci.*, 2012; 95: 4382-4388
- [20] Kwon N.H., Park K.T., Jung W.K., Youn H.Y., Lee Y., Kim S.H., Bae W., Lim J.Y., Kim J.Y., Kim J.M., Hong S.K., Park Y.H.: Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness. *Vet. Microbiol.*, 2006; 117: 304-312
- [21] Lawley T.D., Gordon G.S., Wright A., Taylor D.E.: Bacterial conjugative transfer: visualization of successful mating pairs and plasmid establishment in live *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.*, 2002; 44: 947-956
- [22] Lee J.: Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from cattle and chicken, and analyses of their *mecA*, *mecRI* and *mecI* genes. *Vet. Microbiol.*, 2006; 114: 155-159
- [23] Lin A., Jimenez J., Derr J., Vera P., Manapat M.L., Esvelt K.M., Villanueva L., Liu D.R., Chen I.A.: Inhibition of bacterial conjugation by phage M13 and its protein g3p: quantitative analysis and model. *PLoS One*, 2011; 6: e19991
- [24] Ling L.L., Schneider T., Peoples A.J., Spoering A.L., Engels I., Conlon B.P., Mueller A., Schäberle T.F., Hughes D.E., Epstein S., Jones M., Lazarides L., Steadman V.A., Cohen D.R., Felix C.R. i wsp.: A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature*, 2015; 517: 455-459
- [25] Llor C., Bjerrum L.: Antimicrobial resistance: risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem. *Ther. Adv. Drug Saf.*, 2014; 5: 229-241
- [26] Lorenz M.G., Wackernagel W.: Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. *Microbiol. Rev.*, 1994; 58: 563-602
- [27] Lujan S.A., Guogas L.M., Ragonese H., Matson S.W., Redinbo M.R.: Disrupting antibiotic resistance propagation by inhibiting the conjugative DNA relaxase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 12282-12287
- [28] Markiewicz Z., Kwiatkowski A.A.: Bakterie, antybiotyki, lekooporność. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2006
- [29] McEachran A.D., Blackwell B.R., Hanson J.D., Wooten K.J., Mayer G.D., Cox S.B., Smith P.N.: Antibiotics, bacteria, and antibiotic resistance genes: aerial transport from cattle feed yards via particulate matter. *Environ. Health Perspect.*, 2015; 123: 337-343
- [30] McGhee G.C., Guasco J., Bellomo L.M., Blumer-Schuette S.E., Shane W.W., Irish-Brown A., Sundin G.W.: Genetic analysis of streptomycin-resistant (Sm^R) strains of *Erwinia amylovora* suggests that dissemination of two genotypes is responsible for the current distribution of Sm^R *E. amylovora* in Michigan. *Phytopathology*, 2011; 101: 182-191
- [31] Mole B.: MRSA: farming up trouble. *Nature*, 2013; 499: 398-400
- [32] Morar A., Sala C., Imre K.: Occurrence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates recovered from the pig slaughter process in Romania. *J. Infect. Dev. Ctries.*, 2015; 9: 99-104
- [33] Morar M., Wright G.D.: The genomic enzymology of antibiotic resistance. *Annu. Rev. Genet.*, 2010; 44: 25-51
- [34] Muschiol S., Balaban M., Normark S., Henriques-Normark B.: Uptake of extracellular DNA: Competence induced pili in natural transformation of *Streptococcus pneumoniae*. *Bioessays*, 2015; 37: 426-435
- [35] Normanno G., Corrente M., La Salandra G., Dambrosio A., Quaglia N.C., Parisi A., Greco G., Bellacicco A.L., Virgilio S., Celano G.V.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007; 117: 219-222
- [36] Peles F., Wagner M., Varga L., Hein I., Rieck P., Gutser K., Keresztúri P., Kardos G., Turcsányi I., Béri B., Szabó A.: Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007; 118: 186-193
- [37] Pereira V., Lopes C., Castro A., Silva J., Gibbs P., Teixeira P.: Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. *Food Microbiol.*, 2009; 26: 278-282
- [38] Phillips I.: Withdrawal of growth-promoting antibiotics in Europe and its effects in relation to human health. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2007; 30: 101-107
- [39] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 20 marca 2003 r. w sprawie badań kontrolnych pozostałości chemicznych, biologicznych, leków i skażeń promieniotwórczych u zwierząt żywych, w tkankach lub narządach zwierząt po uboju i w produktach spożywczych pochodzenia zwierzęcego. *Dz. U.*, 31 marca 2003
- [40] Skočková A., Bogdanovičová K., Koláčková I., Karpišková r.: Antimicrobial resistant and extended Spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* in raw cow's milk. *J. Food Prot.*, 2015; 78: 72-77
- [41] Smillie C., Garcillán-Barcia M.P., Francia M.V., Rocha E.P., de la Cruz F.: Mobility of plasmids. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2010; 74: 434-452
- [42] Smith K.P., Kumar S., Varela M.F.: Identification, cloning, and functional characterization of EmrD-3, a putative multidrug efflux pump of the major facilitator superfamily from *Vibrio cholerae* O395. *Arch. Microbiol.*, 2009; 191: 903-911
- [43] Stockwell V.O., Duffy B.: Use of antibiotic in plant agriculture. *Rev. Sci. Tech.*, 2012; 31: 199-210
- [44] Valenzuela A.S., Benomar N., Abriouel H., Cañamero M.M., Gálvez A.: Isolation and identification of *Enterococcus faecium* from seafoods: antimicrobial resistance and production of bacteriocin-like substances. *Food Microbiol.*, 2010; 27: 955-961
- [45] Virge H.: Effects of the termination of antibiotic growth promoters use on antimicrobial resistance in pig farms: Macrolide-resistance among enterococci in finishers. *DIAS report. Animal Husbandry*, 2004; 57: 29-33

[46] Wang N., Yang X., Jiao S., Zhang J., Ye B., Gao S.: Sulfonamide-resistant bacteria and their resistance genes in soils fertilized with manures from Jiangsu Province, Southeastern China. *PLoS One*, 2014; 9: e112626

[47] Wojtasik-Kalinowska I., Konarska M., Sakowska A., Guzek D., Głowska D., Wierzbicka A.: Sektor mięsa wieprzowego w Polsce i na świecie w latach 2000-2012. *Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie*, 2014; 3: 205-215

[48] Wright G.D.: Making sense of antisense in antibiotic drug discovery. *Cell Host Microbe*, 2009; 6: 197-198

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.