

V. Bencko¹, P. Šíma²

¹Ústav hygieny a epidemiologie

1. LF UK a VFN, Praha

²Laboratoř imunoterapie,
Mikrobiologický ústav, v. v. i. AV ČR,
Praha



VÝZNAM HORIZONTÁLNÍHO PŘENOSU GENETICKÉ INFORMACE PRO VZNIK ANTIBIOTICKÉ REZISTENCE

První průkazy horizontální genetické transformace (HGT)

„Griffithův experiment“ (1928) prokázal s definitivní platností, že **bakterie přijímají cizorodý genetický materiál z okolního prostředí**, nebo od jiných, dokonce taxonomicky nepříbuzných organismů a vestavují jej do svého genomu. Do té doby byli mikrobiologové přesvědčeni, že bakterie jsou geneticky stabilní, že se z jedné generace na druhou nemění, a tudíž nemohou měnit ani své vlastnosti (**patogenitu, virulenci**).

Griffith použil dvě formy pneumokoků (*Streptococcus pneumoniae*), kterými infikoval myši: **S formu**, která byla pro zvířata **virulentní**, a **R formu**, která byla **nevirulentní**. Virulentní produkují **polysacharidovou kapsuli**, která bakterie ochraňuje před imunitním systémem hostitele zatímco forma R kapsuli nevytváří a je z těla eliminována. **Griffith S bakterie tepelně usmrtil a přidal je k živým R bakteriím**. Mrtvé S bakterie myším samy neublížily, ale **směs mrtvých virulentních S a živých R bakterií je zabíjela**. **Usmrcené S formy injikované myším transformovaly neškodné bakterie na virulentní formy**.

Prokázal, že transformaci lze provést i *in vitro* smícháním živých bakterií R s bezbuněčným extraktem z virulentních forem. Vyslovil hypotézu, že při kultivaci mrtvých S se živými R došlo k přeměně avirulentního kmene na virulentní kmen za pomoci nějakého faktoru.

Dnes víme, že Griffithův faktor je DNA bakterii S, kterou vyšší teplota na rozdíl od proteinů bakteriální buňky nepoškodila, a která se při kultivaci usmrcených S forem s živými R bakteriemi inkorporovala prostřednictvím HGT do jejich genomu.

Přestože Griffithovy a následné Averyho experimenty znamenaly **revoluční obrat** v interpretaci nových poznatků o dědičnosti, byly ve své době naprosto ignorovány.

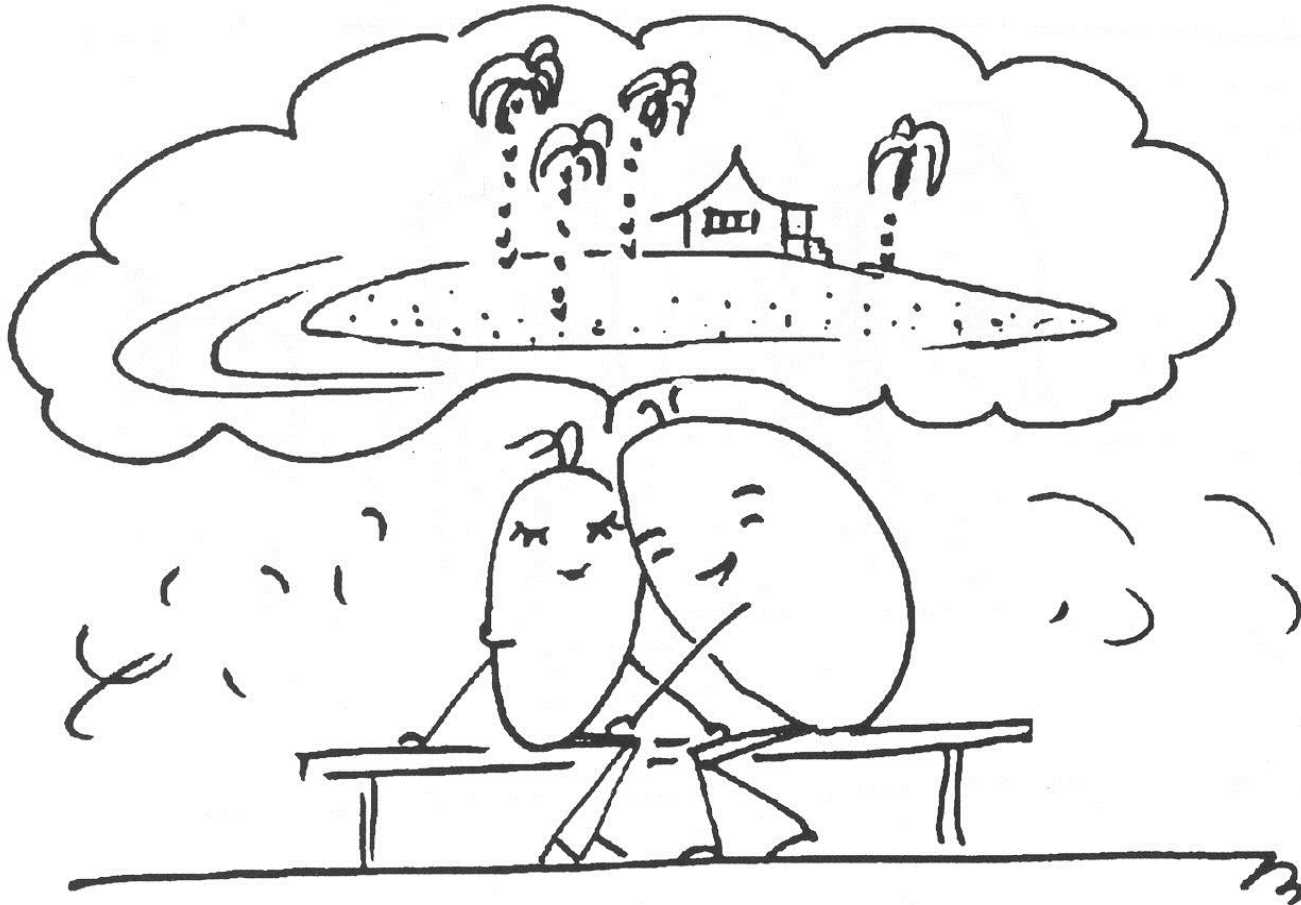
Koncept HGT přispěl k objasnění a lepšímu pochopení různých způsobů jak je získávána a přenášena rezistence vůči antibiotickým látkám, která se vždy v přírodě vyskytovala, a která se stala relevantní zejména po objevení penicilinu a dalších antibiotik.

CO JE HGT?

HGT přes druhové bariéry je zprostředkována buď **splýváním celých genomů dvou či více organismů** nebo **vkládáním rozsáhlejších genomových oblastí** neboli **genových kazet**, nebo jde jen o **jednotlivé geny** či jejich části (jednotlivé nukleotidové báze). V tomto případě jsou **vektorem viry** (bakteriofágy) a **konjugační plasmidy**, což jsou extrachromozomální sekvence DNA, nebo **mobilní genetické elementy** jako jsou **genomické ostrovy** a jejich podmnožiny, **ostrůvky patogenity**, **DNA transpozóny**, **retrotranspozóny** a **integróny**, které jsou zvláště odpovědné za šíření rezistence vůči antibiotikům.

Ostrůvek patogenity (PAI)

A co takhle strávit nějaký čas na malém, krásném ostrůvku patogenity?



5. *And what about spending some time on a little, nice island of pathogenicity?*

HGT se uskutečňuje **čtyřmi základními mechanismy**, transformací, konjugací, transdukcí a transpozicí.

Transformace: je přenos genetického materiálu z okolního prostředí do buňky. **U bakterií je běžná.** Transformace je **aktivní proces, který vyžaduje expresi membránových markerů nutných pro přenos DNA.** Často se používá při genetických *in vitro* manipulacích.

Konjugace: je přenos genetického materiálu prostřednictvím plasmidu nebo jiného mobilního elementu, který do příjemcovské buňky přechází proteinovým vláknem (pilus) z dárkovské buňky při vzájemném kontaktu. Poprvé byla popsána v roce 1946. Jde o přenos analogický sexuálnímu spojení, ale nesplývají při něm pohlavní buňky. Konjugace je považována za hlavní mechanismus při přenosu genů virulence a hlavně rezistence vůči antibiotikům.

Transdukce: je přenos genetického materiálu z jedné bakterie do druhé **prostřednictvím viru bakteriofágů**. Na začátku padesátých let minulého století ji popsali N. D. Zinder a J. Lederberg.

Gen dárčové buňky je sbalen dovnitř viru a přenesen do příjemcovské buňky.

Transpozice: je přenos genetického materiálu na jiné místo genomu, buď autonomně, nebo pomocí mobilních elementů (transpozonů). Vyvolává změny genové exprese (aktivace, inaktivace) a mutace. Byla popsána B. McClintockovou v r. 1938 objevitelkou mobilních genetických elementů, transpozonů, neboli „skákajících genů“. Její práce nebyly vůbec brány vážně, až teprve další molekulárně genetické experimenty tyto objevy plně potvrdily.

V době, kdy se objevily první zmínky o možné existenci tohoto fenoménu, a kdy byla všeobecně a bez výjimek přijímána Morganova hypotéza, že se geny na chromozomech nacházejí v přesně definovaných a neměnných pozicích, bylo nemyslitelné, že by některé fenotypické vlastnosti mohly být kódovány volnými geny nevázanými v jaderné DNA.

REZISTENCE NA ANTIBIOTIKA

O rychlosti šíření antibiotické rezistence si lze udělat představu z údajů **mezinárodní sítě národních systémů surveillance antibiotické rezistence** (v Evropě např. EARS-Net, European Antimicrobial Survelilance Network).

jako klasickou ilustraci rychlosti šíření rezistence k penicilinu jen v nemocničním prostředí lze uvést bakterii *Staphylococcus aureus*. Na začátku 40. let minulého století bylo v Anglii identifikováno méně než 1% rezistentních kmenů *S. aureus*, v roce 1946 už jejich počet vzrostl na 60%. Rovněž uvedení streptomycinu, tetracyklinu, chloramfenikolu a erytromycinu jako léčby infekcí způsobených penicilin-rezistentními stafylokoky, bylo téměř bezprostředně následováno objevením se rezistentních kmenů *S. aureus* k těmto antibiotikům.

Nemalou měrou přispívalo i nedostatečně regulované používání antibiotik v potravinářském průmyslu a zejména ve veterinární medicíně a zemědělství. Geny rezistence byly zachyceny i v hnoji hospodářských zvířat.

Geny, které kódují rezistenci, se vyskytovaly v biosféře daleko dříve, než se dostaly do bakterií patogenních pro člověka. S největší pravděpodobností vznikly z genů půdních mikroorganismů, které pro zvýšení své adaptability produkovaly látky vykazující antibiotické vlastnosti.

MOŽNOSTI A OMEZENÍ SNAH V OBLASTI PREVENCE

Nekontrolované, neracionální užívání antibiotik může vést k návratu dříve běžných, již eliminovaných infekčních nemocí a dokonce k opětnému šíření obtížně zvladatelných epidemií. Proto je nezbytné precizně definovat jejich aplikace. **Protože riziko antibiotické rezistence je trvalé, musí se přijmout účinnější opatření k omezení šíření infekcí co zahrnuje zavedení účinnějších hygienických a protiepidemických opatření včetně plošné vakcinační strategie proti infekcím, u kterých jsou k dispozici účinné a bezpečné vakcíny.**

SZO (2015) schválila „Globální akční plán v oblasti antimikrobiální rezistence“ se strategickým cíly:

Zlepšit informovanost a porozumění problematice
antimikrobiální rezistence

Posílit preventivní snahy a výzkum v oblasti
antimikrobiální rezistence

Snížit incidenci infekčních onemocnění

Optimalizovat používání antimikrobiálních
prostředků

Zajistit udržitelné investice pro boj proti
antimikrobiální rezistenci

www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/en/

Z hlediska podpory adaptivní, přirozené imunity stojí za pozornost, že současné tendence/snahy o výchovu dětí v nadměrné čistotě v až „semi-sterilním prostředí“ jsou kontraproduktivní, nejen z hlediska výskytu alergií a problémů s atopiemi, ale také nespecifické odolnosti proti běžným infekcím.

ZÁVĚR:

V současné době představuje antibiotická rezistence **globální hrozbu pro zdraví člověka**.

Novou strategií jak rezistenci omezit je detailní objasnění mechanismů HGT, které jsou především odpovědné za její vznik a šíření.

Slibně se rozvíjející **genové inženýrství hledá** možnosti, jak **geny rezistence z mobilních genetických elementů vystříhnout**, nebo je **nahradit geny neškodnými**, či **snížit propustnost bakteriálních membrán pro geny rezistence**.

Nové technologie genetické manipulace jistě ovlivní konstrukci a vývoj nových, bezpečnějších antibiotik, jejichž modifikované molekuly už nebudou mít schopnost indukovat vznik genů rezistence.

Současná, již citovaná doporučení SZO, nebo hledání nových možností prevence a terapie infekčních chorob, jsou dnes sice nezbytné, ale z hlediska rozvíjejícího se genového inženýrství se v dohledné době mohou jevit jako doplňkové.

**Referát byl vypracován v rámci aktivit
podporovaných grantem RVO61388971
a výzkumným záměrem PROGRES Q29/LF1**

Literatura JE K DISPOZICI U AUTORŮ.

DĚKUJI VÁM ZA POZORNOST

Adresa pro korespondenci:

Prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc.

Ústav hygieny a epidemiologie, 1.LF UK+VFN

120 00 PRAHA 2. Studničkova 7

vladimir.bencko@lf1.cuni.cz