

SALMONELLA'LARDA ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ MEKANİZMALARI

Mine Anđ KÜÇÜKER

İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AB Dalı, İstanbul

Blindiđi gibi bakterilerde antimikrobiyal maddelere direncin ortaya çıkmasının iki önkoşulu vardır: Bunlardan birincisi mikroorganizma popülasyonunda dirençli bireylerin varlığı, ki bu doğal bir durumdur, çünkü hem evrim sürecinde direnç genleri açısından da çeşitlilik söz konusudur, hem de direnç genlerinin ortaya çıkışı zaten mikroorganizmalar arasındaki antagonist ilişkilerin bir sonucudur. Ancak, mikroorganizmalarda direncin etkin bir biçimde artması ortamda selektif baskıların varlığına bağlıdır, ki selektif baskıların varlığı da direncin ortaya çıkmasının ikinci ön koşuludur (1,2).Günümüzde büyük bir sorun, genetik mekanizmalarla bakteriler arasında yayılan direnç gen havuzunun büyümüş olması ve artan antibiyotik kullanımının yarattığı selektif baskı sonucunda dirençli bakteri popülasyonlarının baskın hale gelmekte olmasıdır. Özellikle *Salmonella* cinsi açısından hayvancılıkta ve özellikle de besin hayvancılığında çeşitli nedenlerle antibiyotiklerin yaygın kullanımının direnç artışında ve yaygınlaşmasındaki rolü çok önemlidir. Nitekim, İsviçre gibi hayvancılıkta antibiyotik kullanımının son derece kısıtlı olduğu ülkelerde izole edilen *Salmonella* suşlarında antibiyotiklere direnç oranı, hayvancılıkta antibiyotik kullanımının yaygın olduğu ülkelere belirlenen oranlardan çok daha düşüktür (3,4). *Salmonella*'larda antibiyotiklere direnç gelişimiyle ilgili bazı önemli noktalar vardır: 1.Tüm suşlarda değil, fakat belirli serovarlara ait suşlarda artan oranda direnç var ve bu hayvancılıkla yakından ilişkili. 2.Çoğul dirençte artış var. 3.Kromozoma integre olmuş direnç determinantlarında artış var. 4.Hayvancılıkta kullanılmaya başlanan , yeni lisans almış droglara dirençlilikte artış var(3).

Tüm bakterilerde olduğu gibi *Salmonella*'larda da antibiyotiklere dirençli olmayı sağlayan temel mekanizmaların (antibiyotiğin inaktivasyonu, antibiyotiğin hücre içine girişinin engellenmesi , efflux, hedefin modifikasyonu) gerçekleşmesinin genetik temeli, bilindiği gibi, iki yolla olabilir. Birincisi intrinsik direnç , ikincisi kazanılan direnç. Kazanılan direnç ise ya mutasyonlara bağlıdır veya direnç genlerinin bakteriler arasında transferine. Özellikle direnç genlerinin bakteriler arasında nakledilmesi giderek dirençli bakteri popülasyonlarının ortaya çıkarak yaygınlaşmasının esas nedenidir (2,5).

Antimikrobiyal maddelere direncin bakteriler arasında yayılmasında ya tek tek genlerin nakli veya genetik birimlerin nakli rol oynar. Tek tek genlerin transferinde rol oynayan mekanizmalardan biri olan transformasyona ilişkin bilgilerimiz Gram negatif bakteriler için son derece kısıtlıdır. Bir başka mekanizma, transduksiyon, bakteriyofajlar aracılığıyla gerçekleşir ve , çalışmalar çok kısıtlı olmakla birlikte, *Salmonella*'lar için önemli bir mekanizma olduğu düşünülmektedir (6).

Transferin hücre-hücre ilişkisine bağlı olarak gerçekleştiği konjugasyon ise üzerinde en çok çalışılmış olan gen transfer mekanizmasıdır. *Salmonella*'lar için de direnç genlerinin nakli ve yayılmasında konjugasyon çok önemli bir mekanizmadır. Konjugasyonda verici hücreden alıcıya plazmit geçişi vardır. Direnç genlerini taşıyan plazmitler R-plazmitleri olup konjugatif R -plazmitlerinde direnç genleri dışında

plazmidin transferinden sorumlu RTF (resistance transfer factor) olarak adlandırılan bir bölge daha yer alır. R-plazmitleri incompatibility gruplarına (Inc) ayrılırlar. Inc grup, bir bakteri hücresi içinde birlikte bulunamayan plazmitleri ifade eder. Bugün bilinen 20 kadar Inc grup vardır (2,3,7). Bakterilerde, genel olarak, en etkin plazmit nakli yükselmiş sıcaklıkta gerçekleşir . *Salmonella* cinsi bakterilerde ise sıklıkla yükselmiş sıcaklıkta transferi olmayan, transferi sıcaklığa-bağımlı olan Inc H grubu'nun özel bir önemi vardır. IncH plazmitler, *Salmonella*'ların konakta sıklıkla karşı karşıya kaldıkları sıcaklıkta transfer olmazlar. Bu, *Salmonella*'ların yaşamlarında karşı karşıya kaldıkları iki farklı habitatu yansıtmaktadır, biri infekte konakta yüksek sıcaklıktaki yaşamı, diğeri ise çevre koşullarında düşük sıcaklıktaki yaşam. Bu açıdan *Salmonella*'larda R-plazmitlerinin nakli her iki koşulda da gerçekleşebilmektedir (8).

R-plazmitleri , diğere DNA molekülleri gibi, transpozon veya integronları da taşıyabilirler. Transpozon (Tn) ve integronlar, bir DNA molekülünden diğere, non-homolog bölgelere integre olmak suretiyle transloke olabilen (yer değiştirebilen) DNA elemanlarıdır (2,9). Tn'lar kendi translokasyonlarından sorumlu transpozaz enzimlerini kodlayan genlerini, antibiyotik direnç genlerini ve ayrıca bazı katabolik genleri taşırlar. Transpozisyon en etkili DNA alışveriş yöntemlerinden biri olup alıcı hücrede kimi zaman replikon füzyonu, delesyon veya inversiyon gibi DNA'da çeşitli yeniden düzenlenmelere yol açar (3).

Son yıllarda dikkatler,diğere bakterilerde olduğu gibi ,*Salmonella*'larda da genetik birimlerin transferine, yani mobil gen kasetleri ve integronlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Gen kasetleri, genelde konak hücre DNA'sına integre olmuş gen topluluklarıdır (9,10). Ayrıca, gen kasetleri attI bölgesinde site-spesifik integrasyonla kaset-iliskili rekombinasyon bölgesi (59-baz element) üzerinde integrona da integre olmuş olarak bulunabilirler .Şimdiye dek bilinen gen kasetlerinde kodlanan direnç genleri arasında beta-laktamlara kloramfenikole,trimetoprim,aminoglikozitlere,streptomisine direnç sayılabilir (3,11,12). İntegronlar ise Tn 21 transpozon ailesinin bir parçası olarak veya geniş konak spektrumlu plazmitlerde bulunan DNA bölgeleridir. Bilinen üç grup integrondan, hastalık etkeni suşlar açısından en önemlisi Class I integron'dur. Bu integronda, gen kasetlerindeki genlerin ve site-spesifik integrasyondan sorumlu genlerin ekspresyonunu sağlayan genler ve ayrıca dezenfektan direncinden sorumlu genlerle, özellikle class I integron varlığı için bir gösterege olan sulfonamid direnç geni yer alır.İntegronlar plazmit kökenli olmakla birlikte, özellikle belirli bazı faj tiplerinde olmak üzere, *Salmonella*'larda kromozoma integre olmuş olarak bulunabilirler Kromozoma integrasyon, direnç genlerinin antibiyotiklerin selektif baskısı olmasa bile devamlılıklarının nedenidir (12,13) *Salmonella*'larda streptomisin, kloramfenikol, tetrasiklin, ampisilin, sulfonamid , beta-laktam direnç genleri integrona yer alırlar. Bu genlerin kaynağı bir transpozon, faj veya patojenite adası da olabilir (3,11,12).

Salmonella'larda antibiyotiklere dirençle ilgili olarak tarihsel süreç incelendiğinde, kısaca belirtmek gerekir ki, 1960'larda tek antibiyotiğe ilişkin, düşük oranda dirençli suşlar görülüyor ve bu suşlarda R-plazmitleri nakli önemli rol oynuyor. 1970'lerde transpozisyon ve yeni plazmit yapılarının ortaya çıkmasına yol açan kointegrat oluşumuna bağlı çoğul direnç yaygınlaşmaya başlıyor (14,15). 1980'lerde çoğul dirençli bir *S.dublin* suşuyla yapılan çalışmalar ilk kez plazmit kökenli direnç genlerinin kromozoma integrasyonunu göstermiştir (16). Yine 1980'lerde başlayarak ve 1990'larda hızlanarak, özellikle *S.typhimurium* DT 193,204, 204c ve 104 suşlarında olmak üzere, çoğul dirençli klonal yayılım önem kazanmıştır (10, 17,18,19,20,21).

Özetlemek gerekirse, çalışmalar üç önemli fenomeni ortaya koymuştur: Bunlardan birincisi, *Salmonella*'larda yaygın olan ve Inc H1 grubundan plazmitlerde bulunan direnç genlerinin sıcaklığa-bağımlı transferi; ikincisi ise selektif baskıların etkisiyle plazmit kointegrasyonunun oluşumu ve bunun komplet çoğul direncin naklinde önemli rol oynaması. Kointegrat 230 Mda büyüklüğünde, iki bağımsız plazmitten oluşmaktadır ve hem direnç hem de transfer genlerini taşımaktadır. Üçüncü fenomen ise bazı direnç genlerinin transpozonlarda lokalize olması ve böylelikle transloke olabilmeye yetenekleri.

Çalışmalar direnç genlerinin patojenite adalarının da bir parçası olup olmadığının saptanmasına yönelmiştir. Çünkü, eğer direnç genleri patojenite adalarında bulunuyorlarsa antibiyotik kullanımının yaratacağı selektif baskı sadece direnç için değil virulans için de selektif olacak ve virulan suşların baskın olmasına yol açacaktır.

KAYNAKLAR

1. Krügel H: How microorganisms produce and survive antibiotics? *Biospectrum Sonderausgabe* 1997; 38-41.
2. Salyers A A, Shoumaker N B: More than just plasmids: Newly discovered gene transfer agents and their implications for controlling the spread of resistance. In: Amabile-Cuevas CF, ed. *Antibiotic Resistance: From Molecular Basis to Therapeutic Options*. Springer, 1996; 1-16.
3. Helmuth R: Antibiotic resistance in *Salmonella*. In: Wray C, Wray A, eds. *Salmonella in Domestic Animals*. CABI Publishing, 2000; 89-106.
4. Threlfall E J: Antibiotics and selection of food-borne pathogens. *J Appl Bacteriol*, 1992; 73: 96 S- 102S.
5. Cohen M L: Epidemiology of drug resistance: Implications for a postantimicrobial era. *Science*, 1992; 257: 1050-55.
6. Schicklmaier P, Schmieger H: Frequency of generalized transducing phages in natural isolates of the *Salmonella typhimurium* complex. *Appl Environ Microbiol*, 1995; 61: 1637-40.
7. Kado C I: Origin and evolution of plasmids. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1998; 73: 117-26.
8. Smith HW, Parsell Z, Green P: Thermosensitive antibiotic resistance plasmids in enterobacteria. *J Gen Microbiol*, 1978; 109: 37-47.
9. Hall RM: Mobile gene cassettes and integrons: Capture and spread of genes by site-specific recombination. *Mol Microbiol*, 1995; 14: 593-600.
10. Fluit A C, Schmitz F J: Class I integrons, gene cassettes, mobility and epidemiology. *Eur J Microbiol Infect Dis*, 1999; 18: 761-70.
11. Poiriel L, Guibert M, Bellais S, Naas T, Nordmann P: Integron- and carbapenemase-mediated susceptibility to amoxicillin-clavulanic acid in isolates of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype typhimurium DT 104 from French patients. *Antimicrobial Agents Chemother*, 1999; 43: 1098-104.
12. Daly, Fanning S: Characterization and chromosomal mapping of antimicrobial resistance genes in *Salmonella enterica* serotype typhimurium. *Appl Environ Microbiol*, 2000; 66: 4842-48.
13. Helmuth R, Seidler A: Epidemiology and chromosomal location of genes encoding multiple resistance in *Salmonella dublin*. *J Antimicrobial Agents Chemother*, 1986; Suppl: 179-81.
14. Bulling E, Stephan R, Sebek V: The development of antibiotic resistance among *Salmonella* bacteria of animal origin in the Federal Republic of Germany and West Berlin: 1st communication: A comparison between the years of 1961 and 1970-81. *Zblt Bacteriol Microbiol Hyg I. Abt. Orig*, 1973; 225: 245-56.
15. Helmuth R, Stephan R, Bulling E, van Leeuwen WJ, van Embden JDA, Guinee PAM, Portnoy D A, Falkow S: R-factor cointegrate formation in *S.typhimurium* bacteriophage type 201 strain. *J Bacteriol*, 1981; 146: 444-52.
16. Helmuth R, Seiler A: Epidemiology and chromosomal location of genes encoding multiple resistance in *Salmonella dublin*. *J Antimicrob Chemother*, 1986; Suppl C: 179-81.
17. Threlfall E J, Rowe B, Ferguson J L, Ward L R: Increasing incidence of resistance to gentamicin and related aminoglycosides in *S. typhimurium* DT 204c in England, Wales and Scotland. *Vet Rec*, 1985; 117: 355-57.
18. Threlfall E J, Frost J A, Ward L R, Rowe B: Epidemic in cattle and humans of *S. typhimurium* DT 104 with chromosomally integrated multiple drug resistance. *Vet Rec*, 1994; 134: 577.
19. Briggs C E, Fratamico P M: Molecular characterization of an antibiotic resistance gene cluster of *S.typhimurium* DT 104. *Antimicrobial Agents Chemother*, 1999; 43: 846-49.
20. Vahaboglu H, Dodanlı S, Eroğlu C, Öztürk R, Söyletir G, Yıldırım İ, Avkan V: Characterization of multiple-antibiotic-resistant *Salmonella typhimurium* strains: Molecular epidemiology of PER 1-producing isolates and evidence for nosocomial plasmid exchange by a clone. *J Clin Microbiol*, 1996; 34: 2942-46.
21. Threlfall EJ: Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: Problems and perspectives in food – and water-borne infections. *FEMS Microbiol Rev*, 2002; 26: 141-48.