



پلازمیدها قطعاتی از جنس DNA دورشته‌ای هستند که در گروهی از باکتری‌ها و برخی یوکاریوت‌ها (مثلاً مخمر) وجود دارند. پلازمیدها معمولاً حلقوی هستند، اما در استرپتومایسزها و سویه‌هایی<sup>۱</sup> از باکتری *Borrelia burgdorferi* پلازمیدهای خطی نیز شناسایی شده‌اند. طول پلازمیدها از چند صد جفت باز تا چند صد هزار جفت، متغیر است. به طور معمول هر پلازمید کم‌تر از ۳۰ ژن دارد. این ژن‌ها برای میزبان ضروری نیستند و معمولاً باکتری‌های فاقد پلازمید به طور طبیعی به زندگی خود ادامه می‌دهند. از جمله ژن‌های پلازمیدی می‌توان به ژن‌های رمزگردان باکتری‌کش‌های کلی‌سین<sup>۲</sup> و کلواکسین<sup>۳</sup> (برای رقابت با دیگر باکتری‌ها)، ژن‌های رمزگردان برخی سموم، ژن‌های مؤثر در تولید پیل‌های جنسی و فرایند هم‌یوگی<sup>۴</sup>، ژن‌های دخیل در ایجاد تومور و فرایند تثبیت نیتروژن و ژن‌های ایجادکننده‌ی مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیب‌هایی سمی هم‌چون ارسنیک و جیوه اشاره کرد. با توجه به همانندسازی مستقل پلازمیدها، ممکن است از بعضی از آن‌ها تا ۴۰ کپی در هر سلول وجود داشته باشد.

پلازمیدها انواع مختلف دارند که در جدول زیر به اختصار به آن‌ها اشاره شده است. به پلازمیدهایی که موجب مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شوند، اصطلاحاً پلازمیدها یا فاکتورهای R<sup>۵</sup> می‌گویند. برخی از پلازمیدهای R فقط نسبت به یک دارو ایجاد مقاومت می‌کنند؛ اما برخی دیگر سبب مقاومت هم‌زمان نسبت به چندین دارو می‌شوند. انواعی از این پلازمیدها توانایی انتقال از یک باکتری به باکتری دیگر را نیز دارد؛ بنابراین می‌توانند در جمعیت گسترش یابند.

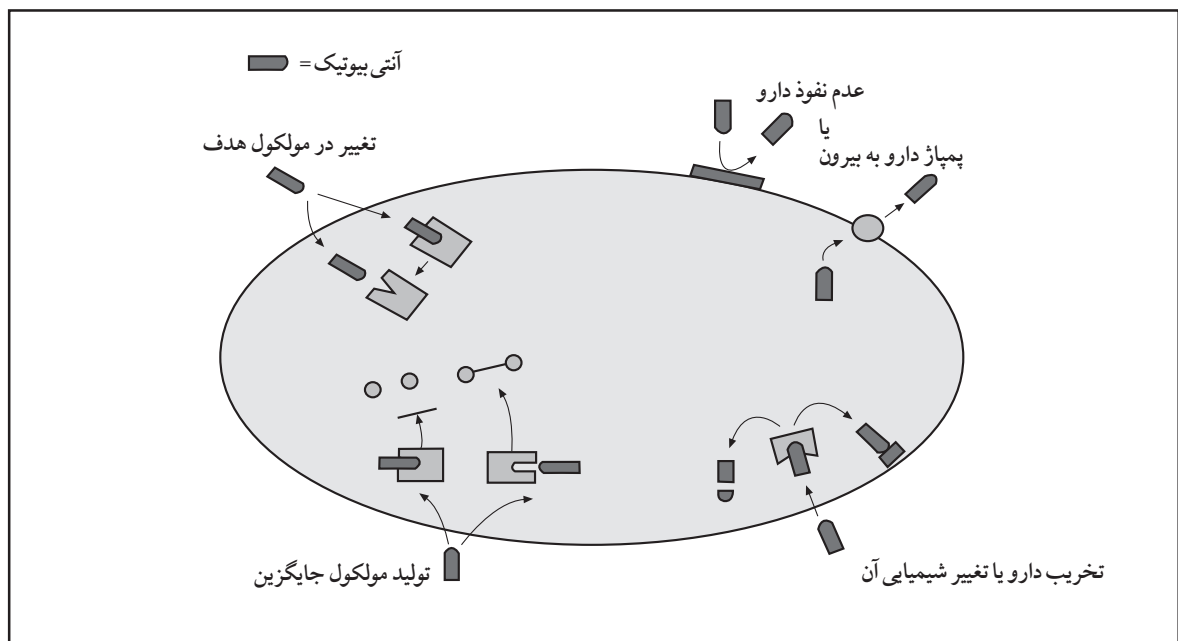
نوع پلازمید	نمونه	اندازه (کیلوباز)	نقش	میزبان
پلازمید R	RP۴	۵۴	ایجاد مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین، تتراسایکلین، کانامایسین، پسدوموناس و تعدادی نئومایسین-تولید پیل‌های جنسی و هم‌یوگی	پسدوموناس و تعدادی باکتری گرم منفی دیگر
	pSJ۲۳a	۳۶	ایجاد مقاومت نسبت به بنی‌سیلین، کانامایسین، جیوه اریترومایسین، استافیلوکوکوس اورئوس نئومایسین، جنتامایسین و ارسنیک	استافیلوکوکوس اورئوس
	R۶	۹۸	ایجاد مقاومت نسبت به نئومایسین، استرپتومایسین، کلرامفنیکل، اشربیشاکلای و پروتئوس کانامایسین، سولفانامیدها و تتراسایکلین	اشربیشاکلای و پروتئوس میرابیلیس
	R۱۰۰	۹۰	ایجاد مقاومت نسبت به استرپتومایسین، کلرامفنیکل، سولفانامیدها، اشربیشاکلای، شیگلا، تتراسایکلین و جیوه	اشربیشاکلای، شیگلا، سالمونلا
عوامل باروری	F factor	۹۵ تا ۱۰۰	تولید پیل‌های جنسی و هم‌یوگی	اشربیشاکلای، سیتروباکتر، سالمونلا
پلازمید Col	ColE۱	۹	تولید باکتری‌کش کلی‌سین E۱	اشربیشاکلای
پلازمیدهای کشنده	Ti	۲۰۰	ایجاد تومور	آگروباکتر تومی فاسنس
	ColVK۳۰	۲	ایجاد مقاومت نسبت به سازوکارهای ایمنی و افزایش جذب آهن از محیط	اشربیشاکلای
پلازمیدهای متابولیک	sym	۷۵	دخالط در هم‌زیستی و تثبیت نیتروژن	ریزوبیوم
	pJP۴	۷۵	تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده‌ی لاکتوز	کلیسیلا، سالمونلا و اشربیشاکلای

## چگونگی ایجاد مقاومت‌های دارویی

یکی از مهم‌ترین مشکلاتی که در ارتباط با درمان بیماری‌ها وجود دارد، گسترش روزافزون باکتری‌هایی است که نسبت به داروها مقاومت نشان می‌دهند، به طوری که امروزه نزدیک به هفتاد درصد از باکتری‌هایی که سبب عفونت می‌شوند، حداقل نسبت به یکی از داروهای معمولی که برای درمان عفونت‌ها به کار می‌روند، مقاوم شده‌اند. این مقاومت‌های دارویی در دهه‌های اخیر سبب مرگ و میرهای فراوانی شده است، مثلاً در سال ۱۹۶۸ سویه‌ای از *Shigella dysenteriae* که نسبت به کلرامفنیکل، تتراسایکلین، استرپتومایسین و سولفانامیدها مقاوم بود، سبب همه‌گیری اسهال خونی در گواتمالا شد. این اپیدمی منجر به آلودگی حداقل صد و دوازده هزار نفر و مرگ دوازده هزار و پانصد نفر شد. ژن‌هایی که سبب مقاومت شیگلا دیسانتری نسبت به این داروها می‌شوند بر روی یک پلازمید قرار

گرفته‌اند. مورد دیگر مربوط به اپیدمی تب تیفوئید در مکزیک است، در سال ۱۹۷۲ سویه‌ای از *Salmonella typhi* که همچون شیگلا دیساتتری نسبت به کلرامفنیکل، تتراسایکلین، استرپتومایسین و سولفانامیدها مقاومت نشان می‌دهد؛ سبب اپیدمی تب تیفوئید در مکزیک شد که در نتیجه آن چهارده هزار نفر مردند.

برخی باکتری‌ها به صورت ذاتی نسبت به بعضی داروها مقاومت نشان می‌دهند، زیرا ممکن است سامانه‌ای برای ورود دارو به درون باکتری وجود نداشته باشد و یا این که باکتری فاقد مولکول هدف برای دارو باشد. در باکتری‌ها، مقاومت اکتسابی نیز به وجود می‌آید. در این حالت ژن‌های ایجادکننده مقاومت، یا در اثر جهش در ژنوم خود باکتری ایجاد شده‌اند و یا این که باکتری این ژن‌ها را در اثر فرایندهای ترانسفورماسیون<sup>۷</sup>، ترانسداکشن<sup>۸</sup> و هم‌یوگی از سایر منابع دریافت می‌کند. بنابراین، ژن‌های ایجادکننده مقاومت، هم می‌توانند روی کروموزوم اصلی وجود داشته باشند و هم روی پلازمیدها، اما اکثر آن‌ها روی پلازمیدها یا فاکتورهای R قرار گرفته‌اند. معمولاً ساز و کارهای ایجادکننده مقاومت در باکتری‌ها را در چهار دسته اصلی قرار می‌دهند. این چهار دسته اصلی عبارت‌اند از: عدم نفوذ دارو یا جلوگیری از تجمع آن در باکتری<sup>۹</sup>؛ تخریب دارو یا تغییر شیمیایی دارو<sup>۹</sup>؛ تغییر در مولکول‌های هدف دارو<sup>۱۰</sup> و استفاده از مسیرهای فرعی جایگزین<sup>۱۱</sup> (شکل زیر).



### عدم نفوذ دارو یا جلوگیری از تجمع آن در باکتری

برای ورود دارو به درون باکتری‌ها به کانال‌های پروتئینی (پُربین‌ها<sup>۱۲</sup>) نیاز است. عدم وجود این کانال‌ها در غشای برخی باکتری‌ها سبب می‌شود که این باکتری‌ها نسبت به گروهی از داروها مقاومت نشان دهند. مثلاً، باکتری *Pseudomonas aeruginosa* فاقد پُربین D<sub>p</sub> است، لذا نسبت به داروی امپی‌نینیم<sup>۱۳</sup> مقاومت نشان می‌دهد. عدم نفوذ دارو می‌تواند به علل دیگری نیز باشد. مثلاً وجود لایه‌ای لیپیدی در مایکوباکتری‌ها که در بیرون از دیواره‌ی پتیدوگلیکانی آن‌ها قرار دارد و مملو از اسیدهای چرب پیچیده‌ی مایکولیک اسید<sup>۱۴</sup> است، سبب ایجاد مقاومت در این باکتری‌ها نسبت به بسیاری از داروها می‌شود. این لایه‌ی لیپیدی نسبت به بسیاری از داروها نفوذ ناپذیر است. در برخی باکتری‌های مقاوم، دارو وارد باکتری می‌شود اما با سرعتی بیش‌تر از ورود آن، توسط پمپ‌های خروجی<sup>۱۵</sup> که در غشای پلاسمایی قرار گرفته‌اند، به بیرون از سلول تلمبه می‌شود و بدین ترتیب غلظت دارو در باکتری به حدی کم می‌شود که بر باکتری تأثیری نمی‌گذارد. تاکنون ژن‌های زیادی شناسایی شده‌اند که چنین پمپ‌هایی را رمزدهی می‌کنند. این پمپ‌ها سبب مقاومت نسبت به تتراسایکلین، اریترومایسین، کلرامفنیکل و جنتامایسین می‌شوند. اکثر این پمپ‌ها، دارو را برخلاف شیب غلظت آن، با یون H<sup>+</sup> مبادله می‌کنند؛ اما برخی دیگر از این پمپ‌ها، مستقیماً با صرف انرژی ATP، داروی وارد شده را به بیرون پمپاژ می‌کنند. اولین پمپ غشایی در باکتری اشریشیاکولای شناسایی شد. ژن رمزگردان این پمپ، یک ژن پلازمیدی است. این پمپ، کمپلکس

تتراسایکلین  $mg^{+2}$  را برخلاف شیب غلظت آن با یون  $H^+$  مبادله می کند. پمپی که در *Corynebacterium striatum* شناسایی شده است، مستقیماً با صرف انرژی ATP تتراسایکلین وارد شده را به بیرون پمپاژ می کند و بدین ترتیب سبب ایجاد مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک می شود. در باکتری هایی که خود تتراسایکلین تولید می کنند پمپی غشایی وجود دارد که تتراسایکلین وارد شده را به بیرون پمپاژ می کند. این پمپ برای باکتری نقش محافظتی دارد، زیرا مانع از تأثیر این آنتی بیوتیک بر سلول تولیدکننده آن می شود. ژن رمزگردان این پمپ غشایی، در کروموزوم اصلی قرار گرفته است.

### تخریب دارو یا تغییر شیمیایی آن

در این روش باکتری های مقاوم آنزیم های تولید می کنند که سبب تخریب یا تغییر شیمیایی دارو و بدین ترتیب مقاومت نسبت به آن دارو می شوند. برای مثال، آنزیم  $\beta$ -لاکتاماز<sup>۱۶</sup> می تواند حلقه  $\beta$ -لاکتام را در مولکول پنی سیلین بشکند و این آنتی بیوتیک را خنثی کند. تاکنون بیش از ۲۰۰ نوع آنزیم  $\beta$ -لاکتاماز در باکتری های گرم منفی و گرم مثبت شناسایی شده است که بیش تر آن ها سبب ایجاد مقاومت نسبت به پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها می شوند. اما برخی همچون آنزیم های پنی سلیناز در استافیلوکوکوس اورئوس و سفالوسپوریناز در انتروباکترها<sup>۱۸</sup> اختصاصی تر عمل می کنند. ژن رمزگردان  $\beta$ -لاکتاماز در سویه هایی از اشریشیا کلائی و هموفیلوس آنفلوآنزا روی پلازمید و در گونه هایی از انتروباکتر، سیتروباکتر و پسودوموناس روی کروموزوم اصلی قرار دارند.

تغییر شیمیایی داروها نیز ممکن است سبب غیرفعال شدن آن ها شود، این غیرفعال سازی ممکن است با افزودن گروه هایی همچون گروه فسفات و گروه استیل به برخی داروها صورت گیرد. برای مثال، برخی از سویه های هموفیلوس آنفلوآنزا، آنزیم کلرامفنیکل ترانس استیلاز تولید می کنند. این آنزیم سبب استیلاسیون گروه های هیدروکسیل در ساختار کلرامفنیکل می شود. کلرامفنیکل استیله شده نمی تواند به خوبی به زیر واحد بزرگ ریبوزوم متصل شود و بدین ترتیب این باکتری ها نسبت به کلرامفنیکل مقاومت نشان می دهند. فسفوریلایسیون و استیلاسیون آنتی بیوتیک های آمینوگلیکوزیدی (جتتامایسین، استرپتومایسین، کانامایسین و نئومایسین) نیز سبب غیرفعال شدن آن ها می شود. در باکترئیدهای بی هوازی<sup>۱۸</sup> ژن tet(x) نوعی آنزیم اکسیدوردکتاز را رمزدهی می کند که با مصرف NADPH سبب تغییر شیمیایی در تتراسایکلین می شود و آن را خنثی می کند.

### تغییر در مولکول های هدف دارو

با توجه به این که داروها اختصاصی عمل می کنند، یعنی بر مولکول های خاصی اثر می گذارند، با تغییر در مولکول های هدف آن ها، تأثیر دارو کم یا خنثی می شود. مثلاً، آنتی بیوتیک اریترومایسین با اتصال به مولکول ۲۳srRNA در زیر واحد بزرگ ریبوزوم، سبب مهار فرایند پروتئین سازی می شود. تقریباً اغلب سویه های استافیلوکوکوس اورئوس دارای آنزیم rRNA متیلاز هستند که توسط ژن های پلازمیدی erm(A)، erm(B)، erm(C) و erm(F) رمزدهی می شوند. این آنزیم سبب متیلاسیون دو باز آدنین در مولکول ۲۳srRNA می شود که نتیجه ی آن کاهش اتصال اریترومایسین به ریبوزوم ها و ایجاد مقاومت نسبت به این دارو است.

مثال دیگر، مقاومت مایکوباکتریوم توبوکولوسیز نسبت به داروی ریفامپین<sup>۱۹</sup> است. این دارو با اتصال به آنزیم RNA پلی مرز، مرحله ی شروع فرایند رونویسی را مهار می کند. تغییر یک آمینواسید در زیر واحد بتای این آنزیم، سبب ایجاد مقاومت نسبت به این دارو می شود؛ زیرا ریفامپین نمی تواند به RNA پلی مرز جهش یافته متصل شود.

تغییر در مولکول هدف، سبب ایجاد مقاومت نسبت به سولفانامیدها نیز می شود. باکتری ها از پارا آمینوبنزوئیک اسید برای سنتز اسیدفولیک استفاده می کنند. آنزیم تتراهیدروپتروئیک اسید سنتتاز<sup>۲۰</sup> در این مسیر دخالت دارد. سولفانامیدها به علت شباهت ساختاری به پارا آمینوبنزوئیک اسید، سبب مهار این آنزیم می شوند. در سویه هایی از استافیلوکوکوس و پسودوموناس، جهش نقطه ای در ژن رمزگردان این آنزیم که روی یک پلازمید قرار دارد، سبب می شود که آنزیم تولید شده تمایلی به سولفانامیدها نداشته باشد. در نتیجه این باکتری ها نسبت به این دارو مقاومت نشان می دهند.

در گروهی از باکتری های مقاوم به تتراسایکلین، پروتئین هایی موسوم به پروتئین های محافظ ریبوزوم<sup>۲۱</sup> تولید می شود، پروتئین های Tet(M) و Tet(O) از جمله این پروتئین ها هستند. این پروتئین ها به ریبوزوم متصل می شوند و با مصرف GTP، سبب تغییر شکل فضایی آن ها می شوند. این تغییر شکل فضایی به گونه ای است که تأثیری بر پروتئین سازی ریبوزوم ها نمی گذارد، اما مانع از اتصال تتراسایکلین به ریبوزوم ها می شود و بدین ترتیب نسبت به تتراسایکلین مقاومت ایجاد می شود.

## استفاده از مسیرهای فرعی جایگزین

در این روش باکتری‌ها علاوه بر تولید مولکول‌های هدف حساس به دارو، مولکول‌های مشابه دیگری نیز می‌سازند که نسبت به دارو مقاومت نشان می‌دهند. در واقع باکتری با ایجاد یک مسیر فرعی جانشینی مسیر مهار شده را اصطلاحاً دور می‌زند. به عنوان مثال، پنی سیلین با اتصال به چندین پروتئین لازم برای سنتز دیواره‌ی پپتیدوگلیکانی (PBP)<sup>۲۲</sup>، دیواره‌سازی را متوقف می‌کند. در سویه‌هایی از استافیلوکوکوس اورئوس، علاوه بر پروتئین‌های اصلی، پروتئین‌های جایگزینی (PBP $\alpha$ ) نیز ساخته می‌شوند که پنی سیلین توانایی اتصال به آن‌ها را ندارد در نتیجه این سویه‌ها نسبت به پنی سیلین مقاوم می‌شوند.

مثال دیگر مربوط به مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک وانکومایسین<sup>۲۳</sup> است. این آنتی بیوتیک سبب توقف دیواره‌سازی در باکتری‌ها می‌شود. مولکول هدف برای این دارو، پیش‌سازهایی از دیواره‌ی سلولی است که قسمت انتهایی بخش پنتاپتیدی آن‌ها، D-آلانین-D-آلانین باشد. دارو با اتصال به این قسمت انتهایی، سبب توقف دیواره‌سازی می‌شود. اما برخی از اتروکوکسی‌ها<sup>۲۴</sup> با دریافت مجموعه‌ی ژنی *vanA*، پیش‌سازهای جایگزینی می‌سازند که قسمت انتهایی بخش پنتاپتیدی آن‌ها D-آلانین-D-لاکتات است. وانکومایسین توانایی اتصال به این قسمت انتهایی را ندارد، بنابراین چنین باکتری‌هایی نسبت به این دارو مقاومت نشان می‌دهند.

برخی باکتری‌های مقاوم به سولفانامیدها، به جای سنتز فولیک اسید، آن را به صورت آماده از محیط دریافت می‌کنند. برخی دیگر از سویه‌های مقاوم، میزان تولید اسید فولیک را به شدت افزایش می‌دهند تا با اثر مهارتی سولفانامیدها مقابله کنند.

### زیرنویس

1996.

4. Keith Poole. Efflux-mediated antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2005, 56(1): 20-51.

5. Patrizia Spigaglia, Fabrizio Barbanti, and Paola Mastrantonio. Horizontal Transfer of Erythromycin Resistance from *Clostridium difficile* to *Butyrivibrio fibrisolvens*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, December 2005, p. 5142-5145, Vol. 49, No. 12.

6. Peter M Hawkey. The origins and molecular basis of antibiotic resistance. *BMJ* 1998; 317: 657-660.

7. Mayumi Matsuoka and et al. New *erm* Gene in *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002 January; 46(1): 211-215.

8. P M Bennett. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology* (2008) 153, S347-S357.

9. Ian Chopra and Marilyn Roberts. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, June 2001, p. 232-260, Vol. 65, No. 2.

10. Catharine A. Trieber and Diane E. Taylor. Mutations in the 16S rRNA Genes of *Helicobacter pylori* Mediate Resistance to Tetracycline. *Journal of Bacteriology*, April 2002, p. 2131-2140, Vol. 184, No. 8.

11. Todars online textbook of bacteriology by Kenneth todar, 2008.

12. Radha Iyer and et al. Linear and Circular Plasmid Content in *Borrelia burgdorferi* Clinical Isolates. *Infection and Immunity*, July 2003, p. 3699-3706, Vol. 71, No. 7.

1. Strain
2. Colicin
3. Cloacin
4. Conjugation
5. Resistance Factors or plasmids
6. Transformation
7. Transduction
8. Preventing from entering or pumping out
9. Enzymatic inactivation or modification
10. Alterations target site
11. Alternate pathway or bypass mechanism
12. Porin
13. Imipenem
14. Mycolic acid
15. Efflux pump
16. b-lactamase
17. Enterobacter
18. Anaerobic Bacteroides
19. Rifampin
20. Tetrahydropterotic acid synthetase
21. Ribosomal protection proteins
22. Penicillin binding proteins
23. Vancomycin
24. Enterococci

### منابع

1. Prescott Lansing M and et al. *Microbiology*. fifth edition. McGraw-Hill Companies. 2002.
2. Gui-Xin He, Teruo Kuroda and et al. An H<sup>+</sup>-Coupled Multidrug Efflux Pump, PmpM, a Member of the MATE Family of Transporters, from *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, January 2004, p. 262-265, Vol. 186, No. 1.
3. Samuel baron. *Medical Microbiology*. fifth edition.