

# Mechanizmy oporności drobnoustrojów rodzaju *Campylobacter* wobec wybranych chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych

ANNA WOŹNIAK, ALINA WIELICZKO

Katedra Epizootiologii i Administracji Weterynaryjnej z Kliniką Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

Woźniak A., Wieliczko A.

## Mechanisms affecting resistance micro-organisms like *Campylobacter* spp. toward selected chemotherapeutic antimicrobials

### Summary

Increasing resistance to antimicrobial compounds by the strains of *Campylobacter* spp. isolated from poultry has important implications for public health. The common use of antibiotics on poultry farms favors the occurrence and spread of resistance to this pathogen. As a result, humans who have not been subject to standard clinical treatment become more prone to diarrhea caused by *Campylobacter* strains.

This paper describes the mechanisms affecting the resistance of *Campylobacter* spp. to selected antimicrobials (fluoroquinolones, tetracyclines, macrolides, aminoglycosides) both on poultry farms and in human individuals/consumers of poultry meat products.

**Keywords:** campylobacteriosis, antimicrobial resistance

*Campylobacter* spp. jest najczęstszą przyczyną zakażeń i zatruc pokarmowych u ludzi. Bakterie z rodzaju *Campylobacter*, obok *Salmonella* i *Escherichia coli* (szczyepy enterokrwotoczne) zaliczane są do grupy „food-borne zoonotic pathogens” (32). Średnio aż 80% przypadków kampylobakteriozy u ludzi wywołanych jest przez spożycie skażonego pałeczkami *Campylobacter* spp. mięsa drobiowego. Dawka zakaźna dla człowieka jest bardzo niska i wynosi 500-800 jtk, podczas gdy w 1 g treści jelit kurcząt rzeźnych może znajdować się do  $10^6$  komórek *Campylobacter* spp. (17). Do objawów kampylobakteriozy u ludzi, powodowanej najczęściej przez *C. jejuni*, należą zaburzenia żołądkowo-jelitowe (*gastroenteritis*) manifestujące się wodnistą i/lub krwawą biegunką, bólami brzucha, nudnościami, wymiotami. Zakażenia na tle *Campylobacter* spp. najczęściej ustępują samoistnie, w niektórych przypadkach, bardziej zaawansowanych, dochodzić może do powikłań w postaci syndromu Guillain-Barre (ostra, zapalna choroba demielinizacyjna o podłożu autoimmunologicznym), syndromu Miller Fisher (atak-sja, arefleksja, oftalmoplegia) czy reaktywnego *arthritis*. W leczeniu biegunek u ludzi wywołanych przez *Campylobacter* spp. stosuje się najczęściej erytromycynę (makrolidy). Ciprofloksacyna (fluorochinolony), ze względu na szerokie spektrum swojego działania,

częściej stosowana jest w leczeniu biegunek o niezna-nej etiologii.

Wieloletnie stosowanie chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych w przemyśle drobiarskim wywarło duży wpływ na kształtowanie się oporności różnych szczepów bakterii, w tym *Campylobacter* spp. Sytuacja ta stwarza problem w doborze efektywnej terapii antybakteryjnej zarówno u zwierząt, jak i u ludzi. Szczyepy odporne mogą być transmitowane poprzez żywność pochodzenia zwierzęcego na ludzi. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 11 marca 2005 roku „w sprawie rejestrów zakażeń zakładowych oraz raportów o występowaniu tych zakażeń” zalicza *Campylobacter jejuni* do grupy drobnoustrojów chorobotwórczych o szczególnej zjadliwości lub oporności i oporności wielolekowej (27). W Holandii każdego roku stwierdza się 80 000 przypadków kampylobakteriozy u ludzi, z czego 18 000 pacjentów zgłasza się do lekarza, 600 pacjentów wymaga hospitalizacji, a około 30 umiera (32).

Zakażenia na tle *Campylobacter* spp. są również powszechnym zjawiskiem w Polsce. Badania Wardak i wsp. (33) prowadzone na kolekcji szczepów wyizolowanych w latach 2005-2006 od chorych z biegunką dowiodły, że *Campylobacter* spp. jest jedną z najczęstszych przyczyn infekcji przewodu pokarmowego (41%

przypadków). Na uwagę zasługuje fakt, że aż 59% szczepów *Campylobacter* spp. pochodziło od dzieci w wieku poniżej 2. roku życia. Problemy diagnostyczne związane z hodowlą tych drobnoustrojów powodują, że odsetek wyizolowanych szczepów od ludzi z podejrzeniem kampylobakteriozy jest nadal bardzo niski.

### Oporność i jej rodzaje

Terminem „oporność”, wg HMSO (Her Majesty's Stationery Office), określa się zjawisko „zdolności drobnoustroju do przeciwstawiania się chemioterapeutykowi”. Z pojęciem oporności stykamy się w kilku aspektach.

Wyróżniamy oporność naturalną, indukowaną oraz nabytą. Pierwsza z nich wynika z naturalnych, genetycznie uwarunkowanych właściwości fenotypowych bakterii np. szerokości kanałów proteinowych w błonie komórkowej. Wielkość tych kanałów decyduje o tym, czy dana cząstka antybiotyku przedostanie się do wnętrza komórki, czy zostanie odrzucona. Oporność indukowana nie występuje stale, ale powstaje w obecności konkretnej substancji czynnej. Bakterie „aktywują” gen odpowiedzialny za syntezę enzymu doprowadzającego do inaktywacji chemioterapeutyku (3, 15, 25).

Zjawisko oporności nabytej wiąże się z wystąpieniem jednej lub kilku mutacji punktowych w genach chromosomalnych lub plazmidowych oraz z transferem horyzontalnym i wertykalnym genów między szczepami (11). Przekazywanie materiału genetycznego między komórkami bakteryjnymi występuje zarówno u drobnoustrojów patogennych dla człowieka/zwierząt, jak i pośród bakterii saprofitycznych (2).

Oporność bakterii na chemioterapeutyki może być jedno- (skierowana na jedną grupę chemioterapeutyków) oraz wielokierunkowa (skierowana na kilka grup). Oporność krzyżowa zdarza się pomiędzy chemioterapeutykami należącymi do tej samej grupy chemicznej (antybiotyki  $\beta$ -laktamowe, aminoglikozydy) lub między chemioterapeutykami należącymi do różnych grup chemicznych, gdy miejsca wychwytu chemioterapeutyków znajdują się blisko siebie (np. linkosamidy i makrolidy).

U wielu organizmów bakteryjnych, w tym *Campylobacter* spp., dochodzi do selekcji mutantów opornych na stosowane chemioterapeutyki przeciwbakteryjne. Poziom oporności oraz czas, w jakim ona powstaje, zależą od samego czynnika infekcyjnego oraz stosowanego leku. Poza tym nieprzestrzeganie powszechnie obowiązujących zasad chemioterapii, jak: stosowanie dawki podprogowej (subterapeutycznej), zbyt krótki okres chemioterapii, użycie antybiotyków jako stymulatorów wzrostu doprowadza do selekcji opornych szczepów. Ciągłe lub powtarzające się stosowanie leków antibakteryjnych sprzyja nie tylko powstawaniu, ale także wzmocnieniu oporności u bakterii (30). W Polsce do 2005 roku niektóre antybiotyki

(np. bacytracyna, tylozyna, spiramycyna) wykorzystywane były w produkcji zwierzęcej jako promotory wzrostu. Praktyka ta pozostawiła po sobie niepożądane skutki w postaci nabycia oporności wśród takich bakterii, jak: *Salmonella* sp., *Campylobacter* spp. czy *Enterococcus* sp. Drobnoustroje te stanowią potencjalne źródło zakażenia dla człowieka (food-borne pathogens) i są coraz częściej przyczyną trudno leczących się biegunek u ludzi. Od 1 stycznia 2006 roku, zgodnie z Rozporządzeniem (WE) 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 sierpnia 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt, stosowanie antybiotyków stymulatorów wzrostu (AWS) jako dodatków paszowych w przemyśle drobiarskim jest w Polsce zakazane (28). Substancje antybiotyczne mogą być stosowane w produkcji zwierzęcej jedynie pod kontrolą lekarza weterynarii, np. w postaci pasz leczniczych (medicated feedingstuffs). Kwestie formalno-prawne związane z produkcją i stosowaniem pasz leczniczych reguluje ustawa o paszach z dnia 22 lipca 2006 r. oraz rozporządzenia wykonawcze do tej ustawy (31).

### Oporność na fluorochinolony

Fluorochinolony to przykład chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych często stosowanych w medycynie weterynaryjnej ze względu na swoje szerokie spektrum działania względem tlenowych bakterii Gram-ujemnych oraz, w mniejszym stopniu, bakterii Gram-dodatnich i mykoplazm. Mechanizm działania fluorochinolonów polega na wiązaniu się z podjednostką A gyrazy DNA, enzymu odpowiedzialnego za prawidłowe zwijanie się nici DNA, co blokuje proces replikacji bakteryjnego DNA i doprowadza do śmierci komórki. Narastająca oporność na fluorochinolony jest wynikiem mutacji punktowych w regionie QRDR (Quinolone Resistance-Determining Region) w genie *gyrA*, kodującym podjednostkę enzymu gyrazy DNA – podtyp II topoizomerazy. Najczęściej spotykaną mutacją warunkującą oporność na fluorochinolony jest substytucja nukleotydów w kodonie 86 (Thr-86→Ile), czego wynikiem jest zamiana treoniny w izoleucynę w powstającym białku. Za powstawanie oporności odpowiedzialne są również inne mutacje (substytucje), np. zastąpienie w kodonie 86 treoniny lizyną (Thr-86→Lys) lub alaniną (Thr-86→Ala) czy zastąpienie w kodonie 70 alaniny treoniną (Ala-70→Thr). Rzadziej spotykane są mutacje w kodonie 90 (Asp-90→Asn) czy w kodonie 104 (Pro-104→Ser), a ich rola w procesie narastania oporności nadal nie jest do końca wyjaśniona (26). Luo i wsp. (22) w swoich badaniach wykazała, że mutacje w genie *gyrA*, w kodonie 90 (Asp-90→Asn) lub kodonie 86 (Thr-86→Lys) odpowiedzialne są za pośredni stopień oporności szczepów *Campylobacter* spp.

Istotną rolę w kształtowaniu się opornych na fluorochinolony szczepów odgrywają pompy usuwające niekorzystną substancję z wnętrza komórki – efflux

pumps. Efflux pumps to system pomp zlokalizowanych w błonie komórkowej *Campylobacter* spp. umożliwiający wyrzucanie niekorzystnych dla bakterii substancji na zewnątrz komórki. System pomp odpowiedzialnych za oporność na wiele chemioterapeutyków nosi nazwę CmeABC i jest kodowany w chromosomalnym DNA (19). Składa się on z: białek transportujących (CmeB), białek zbliżających do siebie błonę periplazmatyczną i zewnętrzną (CmeA) oraz białkowego czynnika zewnątrzłonowego (CmeC). Wszystkie te składowe należą do rodziny Resistance-Nodulation-cell Division (RND). CmeABC jest stale obecny w szczepach środowiskowych *Campylobacter* spp. i wykazuje szerokie spektrum w stosunku do substancji usuwanych z wnętrza komórki. Należą do nich: antybiotyki, chemioterapeutyki (szczególnie fluorochinolony), metale ciężkie, detergenty, sole żółciowe czy barwniki. Sole żółciowe, jak wynika z badań Lin i wsp. (18), mogą nasilać ekspresję CmeABC, dzięki czemu szczepy *C. jejuni* łatwiej dokonują kolonizacji jelita oraz obniżają wrażliwość *Campylobacter* spp. na chemioterapeutyki. Poza CmeABC, szczepy *C. jejuni* wykazują obecność dodatkowego systemu pomp o nazwie CmeDEF. CmeD stanowi białko kanału błony zewnętrznej komórki, CmeE to białko związane z błoną periplazmatyczną, a CmeF to transporter wewnątrzłonowy. Badania przeprowadzone przez Akiba i wsp. (1) dowiodły równorzędnej roli CmeABC i Cme DEF w procesie usuwania chemioterapeutyków z wnętrza komórki.

### Oporność na tetracykliny

Antybiotyki z tej grupy wykazują szerokie spektrum działania antibakteryjnego, które obejmuje bakterie Gram-dodatnie, Gram-ujemne, riketsje, chlamydofile, mykoplazmy. Tetracykliny hamują wzrost bakterii, są to antybiotyki bakteriostatyczne. Poprzez wiązanie się z podjednostką 30S rybosomu i blokowanie przyłączenia kodonu inicjującego fMet-tRNA do miejsca P rybosomu doprowadzają do zakłócenia syntezy białek. Mówiąc o oporności bakterii na antybiotyki tetracyklinowe należy uwzględnić oporność niespecyficzną oraz specyficzną. Pierwsza związana jest z ograniczeniem transportu antybiotyku przez kanały zlokalizowane w błonie zewnętrznej, druga z osłabieniem wiązania antybiotyku z rybosomem. Gen tetO, odpowiedzialny za narastanie oporności zlokalizowany jest w plazmidowym (plazmidy koniugacyjne) lub chromosomalnym DNA bakterii (9). Produkt tego genu – białko TetO powoduje obniżenie zdolności wiązania się tetracyklin z podjednostką 30S rybosomu, czego wynikiem jest brak inhibicji syntezy łańcucha polipeptydowego w komórce bakteryjnej.

Poza wymienionymi rodzajami oporności na tetracykliny ważną rolę w jej powstawaniu odgrywają białka należące do grupy MFS (Major Facilitator Superfamily). Ich zadaniem jest czynne usuwanie tetracyklin z wnętrza komórki, co obniża ich stężenie wew-

nętrz komórki i wpływa ochronnie na rybosomy. Białka usuwające tetracykliny z wnętrza komórki wykazują podobną strukturę aminokwasową do białek wchodzących w skład pomp odpowiedzialnych za oporność na wiele chemioterapeutyków (np. na fluorochinolony, chloramfenikol) (4).

### Oporność na makrolidy

W ostatnich latach zainteresowanie antybiotykami z grupy makrolidów (azytromycyna, klarytromycyna) w medycynie weterynaryjnej znacznie wzrosło. Spowodowane jest to wysokim stopniem ich skuteczności oraz niskim poziomem efektów ubocznych. Zakresem działania bakteriostatycznego makrolidy obejmują większość bakterii Gram-dodatnich, nieliczne bakterie Gram-ujemne i mykoplazmy. Antybiotyki te hamują syntezę bakteryjnych białek poprzez wiązanie się z podjednostką 50S rybosomu, w obrębie cząsteczki 23S rRNA. Oporność wobec makrolidów pojawia się najczęściej w wyniku zmiany struktury bakteryjnego rybosomu lub w wyniku osłabienia powinowactwa podjednostki 50S rybosomu do antybiotyku.

Oporność szczepów *Campylobacter* spp. na makrolidy jest efektem mutacji w domenie V, w genie 23S rRNA, w pozycji 2075 (A→G) oraz 2074 (A→C) (homologiczne miejsca znajdują się w przypadku *E. coli* w pozycji 2058 i 2059). W pozycji 2074 dochodzi do transwersji adeniny cytozyną, natomiast w pozycji 2075 do tranzykcji adeniny w guaninę. Mutacje te powodują zmianę strukturalną bakteryjnego rybosomu, przez co nie jest on w stanie wiązać się z antybiotykem (8). Jak wykazały badania Kurincic i wsp. (16), wśród szczepów *Campylobacter* spp. można wyodrębnić szczepy o wysokiej (HLR – High Level Resistance) oraz niskiej (LLR – Low Level Resistance) oporności na makrolidy. Wszystkie szczepy HLR wykazują mutację w pozycji 2075.

### Oporność na aminoglikozydy

Drobnoustroje z rodzaju *Campylobacter* wykazują niski odsetek szczepów opornych względem antybiotyków aminoglikozydowych (np. gentamycyna, streptomycyna). Antybiotyki te odznaczają się szerokim spektrum działania względem Gram-ujemnych pałeczek jelitowych (*Salmonella* sp., *E. coli*, *Campylobacter* spp.), mniejszą aktywność wykazują wobec *Staphylococcus* sp. czy *Mycobacterium* sp. Ich aktywność bakteriobójcza wiąże się z możliwością łączenia się z podjednostką 30S rybosomu, co doprowadza do syntezy białek błonowych o zmienionej konformacji przestrzennej i śmierci komórki. Przyczyna powstawania oporności na aminoglikozydy leży najczęściej w inaktywacji enzymatycznej antybiotyku. Geny kodujące białka enzymatyczne zlokalizowane są na plazmidach lub w chromosomalnym DNA. Enzymy inaktywujące aminoglikozydy są syntetyzowane w cytoplazmie komórki, a następnie transportowane do przestrzeni periplazmatycznej. W literaturze znane są geny strukturalne

ralne aacA4, aphA-3 czy aphA-7 odpowiedzialne za syntezę enzymów unieczyniających aminoglikozydy (7). Pośród szczepów *Campylobacter* najbardziej rozpowszechniona jest fosfotransferaza typu APH(3')-VII odpowiedzialna za oporność drobnoustrojów wobec kanamycyny i neomycyny (23).

### **Problem lekooporności szczepów *Campylobacter* spp. izolowanych od drobiu w różnych krajach świata**

Wiele krajów w obawie przed narastającym problemem lekooporności szczepów *Campylobacter* spp. podjęło badania monitoringowe, których celem była analiza tego zjawiska w skali własnego kraju. I tak w latach 2000-2001 w Irlandii badania przeprowadzone przez Oza i wsp. (24) wykazały, że odsetek szczepów *Campylobacter jejuni* izolowanych od drobiu, opornych na erytromycynę i gentamycynę wynosił < 1%, podczas gdy odsetek szczepów opornych na kwas nalidyksowy i tetracyklinę wynosił, odpowiednio, 10% i 13%. W przypadku szczepów *C. coli* 8,3% izolatów wykazywało oporność na tetracykliny, a tylko 4,2% na kwas nalidyksowy.

W 2005 r. w Stanach Zjednoczonych zostało przeprowadzone przez Luangtongkum i wsp. (20) doświadczenie, które potwierdziło wpływ stosowania chemioterapeutyków na narastającą oporność szczepów *Campylobacter* spp. Analizowano szczepy uzyskane od drobiu (indyki, brojlery kurze) z fermy, gdzie antybiotyki były stosowane (ferma A) i z fermy, gdzie ich nie używano w całym cyklu produkcyjnym (ferma B). Odsetek szczepów *Campylobacter* spp. opornych na fluorochinolony, wyizolowanych z fermy A wynosił, odpowiednio, dla brojlerów kurzych i indyckich 46% i 67%, podczas gdy odsetek szczepów opornych wobec fluorochinolonów uzyskanych od drobiu z fermy B wynosił poniżej 2%. Ponadto odsetek szczepów *C. jejuni* izolowanych z fermy A, opornych wobec tetracykliny wynosił 88,7%, podczas gdy na fermie B kształtował się na poziomie 52,1%. W Niemczech Luber i wsp. (21) przeprowadzili badania porównawcze pod względem oporności na leki antybakteryjne szczepów *Campylobacter* spp. izolowanych od drobiu (brojlery kurze, indyki) w latach 1991 oraz w latach 2001-2002. Badania te dowiodły, że w ciągu 10 lat odsetek szczepów opornych na fluorochinolony oraz tetracykliny wzrósł, a wobec makrolidów zmalał. Odsetek izolatów *Campylobacter* spp. opornych na fluorochinolony, otrzymanych ze stad brojlerów kurzych, wynosił w 1991 r. 27,3%, a w 2001/2002 r. już 45,6%. Podobny wzrost odnotowano w grupie tetracyklin, gdzie w 1991 r. stwierdzono 16,5% szczepów opornych na ten antybiotyk, podczas gdy w 2001/2002 r. wartość ta sięgała 24,3%. Jedynie w grupie makrolidów odnotowano spadek odsetka opornych izolatów z 2,9% w 1991 r. do 1,5% w 2001/2002 r. W Japonii natomiast, z badań przeprowadzonych przez Harada i wsp. (14) wynika, że wśród szczepów *Campylobac-*

*ter jejuni* izolowanych od brojlerów kurzych aż 37,8% było opornych na tetracykliny, zaś w przypadku enrofloksacyny wartość ta osiągała poziom 10,8%. Podobne wyniki uzyskano prowadząc badania w stadzie kur niosek, gdzie obok *C. jejuni* izolowano również *C. coli*. Procent szczepów *C. jejuni* opornych na tetracykliny wynosił 36,2%, zaś na enrofloksacynę 10,2%. W przypadku *C. coli* wartości te przedstawiały się następująco: 27,3% – szczepy oporne na tetracykliny i 18,2% – szczepy oporne na enrofloksacynę (14).

### **Oporność szczepów *Campylobacter* spp. zagrożeniem dla zdrowia konsumenta**

Niewłaściwie prowadzona terapia antybakteryjna w stadach drobiu skutkuje nie tylko wzrastającym odsetkiem opornych szczepów, ale pośrednio niesie również ze sobą zagrożenie dla zdrowia człowieka. Z podawaniem chemioterapeutyków u zwierząt wiąże się problem minimalnych pozostałości tych substancji w produktach pochodzenia zwierzęcego. Śladowe ilości chemioterapeutyków obecne w mięsie, jajach i innych produktach mogą w istotny sposób wpływać na rozwój zarówno oporności drobnoustrojów saprofitycznych, jak i chorobotwórczych dla ludzi.

U ludzi w stanach dysfunkcji przewodu pokarmowego na tle *Campylobacter* spp. zalecana jest często, obok erytromycyny, ciprofloksacyna (fluorochinolony). Wzrastająca oporność na enrofloksacynę wśród szczepów *Campylobacter* spp. prowadzi do rozwoju oporności również na ciprofloksacynę (oporność krzyżowa) (6). Transmisja bakterii opornych ze zwierząt na ludzi jest zależna od wielu czynników, jak np.: sposobu utrzymania zwierząt, typu produkcji, metody uboju, obróbki mięsa, sposobu przygotowania posiłków.

Do zakażeń na tle *Campylobacter* spp. u ludzi dochodzi najczęściej poprzez żywność pochodzenia zwierzęcego (np. zanieczyszczone bakteriami, niedogotowane mięso drobiowe, nie pasteryzowane mleko). Oporne na chemioterapeutyki szczepy dostają się do światła przewodu pokarmowego. Dzięki obecności genów flaA, pVir oraz zdolności syntetyzowania enterotoksyn drobnoustroje te mogą kolonizować przewód pokarmowy i powodować *gastroenitris* u ludzi. U drobiu natomiast *Campylobacter* spp. może pozostawać w świetle przewodu pokarmowego, nie dając żadnych objawów klinicznych. Podczas tego okresu oporne bakterie mogą nie tylko przekazywać geny oporności innym bakteriom obecnym w danym środowisku, ale mogą również je przyjmować.

Ryzyko nabywania opornych bakterii od zwierząt jest wyższe u osób, które pozostają w ścisłym kontakcie ze zwierzętami lub produktami zwierzęcymi, np. rolnicy, pracownicy rzeźni, lekarze weterynarii (30). Według badań National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) przeprowadzonych w latach 1997-2001 w Stanach Zjednoczonych (12), odsetek szczepów ludzkich opornych na ciprofloksacynę wynosił w 1997 r. – 13%, w 2001 r. – 19%. Nato-

miast odsetek szczepów opornych na erytromycynę utrzymywał się w okresie 4 lat na stałym poziomie – 2%. Z kolei w przypadku tetracyklin procent szczepów opornych na ten antybiotyk wynosił w 1997 r. 42% i podobnie w 2001 r. 40%. Z badań przeprowadzonych w Finlandii przez Hakanen i wsp. (13) na kolekcji szczepów pochodzących z lat 1995-2000 wynika, że 46% szczepów *C. jejuni* wykazywało oporność na ciprofloksacyne. Identyczne wyniki uzyskano w przypadku tetracykliny, procent opornych na ten antybiotyk szczepów *Campylobacter* spp. wynosił również 46%. Spośród szczepów opornych na ciprofloksacyne odpowiednio 68% i 25% izolatów wykazywało dodatkowo oporność względem tetracykliny i ampicyliny. Autorzy wykazali również u 22% izolatów oporność na 3 lub więcej grup antybiotykowych. Zaskakujące są wyniki opublikowane przez Gomez-Garcez i wsp. (10). Autorzy dowiedli, że w latach 1992-1993, w Hiszpanii odsetek szczepów *C. jejuni* izolowanych od ludzi i opornych na ciprofloksacyne wynosił aż 50%. Z kolei badania Lubber i wsp. (21) przeprowadzone w 2003 r. w Niemczech dowiodły, że w przeciągu 10 lat (1991-2001) oporność szczepów *Campylobacter* spp. izolowanych od ludzi na fluorochinolony, makrolidy i tetracykliny gwałtownie wzrosła. Największe wartości odnotowano w przypadku oporności na ciprofloksacyne oraz tetracykliny, odpowiednio, w 1991 r. wzrost z 4,9% i 19,5% do 45,1% i 37,8% w 2001 r.

W Polsce badania nad opornością szczepów *Campylobacter* spp. wyizolowanych od ludzi opublikowała Rozynek i wsp. (29). Badania lekooporności metodą E-testów oraz z użyciem technik biologii molekularnej obejmowały pułę 103 izolatów zgromadzonych w latach 2003-2005. Aż 59,2% szczepów *Campylobacter* spp. wykazywało oporność wobec ciprofloksacyny, 17,5% było opornych wobec tetracykliny, natomiast tylko 1% charakteryzował się niewrażliwością na erytromycynę.

W związku z narastaniem oporności na chemioterapeutyki szczepów *Campylobacter* spp. wprowadzono w Polsce plan monitorowania tego zjawiska zgodnie z Decyzją Komisji z dnia 19 lipca 2007 r. w sprawie wkładu finansowego Wspólnoty na rzecz badania dotyczącego występowania i oporności przeciwdrobnoustrojowej *Campylobacter* spp. w stadach brojlerów oraz występowania *Campylobacter* spp. i *Salmonella* spp. w tuskach brojlerów, prowadzonego w państwach członkowskich (2007/516/WE) (5). Monitorowaniu antybiotykooporności *Campylobacter* spp. wobec makrolidów (erytromycyna), tetracyklin, fluorochinolonów (ciprofloksacyna), streptomycyny i gentamycyny ma podlegać co najmniej 170 izolatów uzyskanych w ciągu roku od drobiu (kurczęta rzeźne, nioski). Określenie MIC (Minimal Inhibitory Concentration) – najmniejszego stężenia hamującego należy wykonać zgodnie z rekomendacjami Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) w krajowym laboratorium

referencyjnym ds. antybiotykooporności. Poza wymienionym dokumentem dnia 6 grudnia 2007 r. Główny Lekarz Weterynarii ustalił wytyczne dotyczące skoordynowanego programu monitorowania w kierunku występowania i oporności przeciwdrobnoustrojowej *Campylobacter* spp. i *Salmonella* spp. w tuskach brojlerów. Badania nad występowaniem oraz stopniem oporności tych drobnoustrojów wobec stosowanych środków antybakteryjnych mają być prowadzone od 1 stycznia do 31 grudnia 2008 roku. Program ten ma za zadanie dostarczyć informacje, w celu opracowania prawodawstwa wspólnotowego, m.in. dotyczące stosowania środków przeciwbakteryjnych (34).

Reasumując, wobec przedstawionych danych oraz konsekwencji niewłaściwie prowadzonej terapii antybakteryjnej w stadach drobiu należy rozważyć zasadność użycia chemioterapeutyków w każdym przypadku indywidualnie. Często zdarza się, że decyzja o jego zastosowaniu zostaje podjęta zbyt pochopnie. Użycie leków antybakteryjnych u zwierząt powinno być ściśle monitorowane z oceną zagrożeń oraz skutkami terapii. Wiele badań wskazuje na drób, jako źródło szerzącej się oporności drobnoustrojów wobec chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych, szczególnie fluorochinolonów.

## Piśmiennictwo

1. Akiba M., Lin J., Barton Yi-Wen, Zhang Q.: Interaction of CmeABC and CmeDEF in conferring antimicrobial resistance and maintaining cell viability in *Campylobacter jejuni*. J. Antimicrob. Chemother. 2006, 57, 52-60.
2. Bywater R., Deluyker H., Deroover E., de Jong A., Marion H., McConville M., Rowan T., Shryock T., Shuster D., Thomas V., Valle M., Walters J.: A European survey of antimicrobial susceptibility among zoonotic and commensal bacteria isolated from food-producing animals. J. Antimicrob. Chemother. 2004, 54, 744-754.
3. Carter G. R., Wise D. J.: Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology. Iowa State Press A Blackwell Publishing Company, Iowa 2004, 47-58, 75-86.
4. Chopra I., Roberts M.: Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2001, 65, 232-260.
5. Decyzja Komisji 2007/516/WE z dnia 19 lipca 2007 r. w sprawie wkładu finansowego Wspólnoty na rzecz badania dotyczącego występowania i oporności przeciwdrobnoustrojowej *Campylobacter* spp. w stadach brojlerów oraz występowania *Campylobacter* spp. i *Salmonella* spp. w tuskach brojlerów, prowadzonego w państwach członkowskich (Dz. Urz. UE L 190 z 21.07.2007).
6. Engberg J., Aarestrup F. M., Taylor D. E., Gerner-Smidt P., Nachamkin I.: Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. Emerg. Infect. Dis. 2001, 7, 24-34.
7. Fairchild A. S., Smith J. L., Idris U., Lu J., Sanchez S., Purvis L. B., Hofacre C., Lee M. D.: Effects of Orally Administered Tetracycline on the Intestinal Community Structure of Chickens and on tet Determinant Carriage by Commensal Bacteria and *Campylobacter jejuni*. Appl. Environ. Microbiol. 2005, 71, 5865-5872.
8. Gibreel A., Kos V. N., Keelan M., Trieber C. A., Levesque S., Michaud S., Taylor D. E.: Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*: Molecular mechanism and stability of the resistance phenotype. Antimicrob. Agents Chemother. 2005, 49, 2753-2759.
9. Gibreel A., Tracz D. M., Nonaka L., Ngo T. M., Connell S. R., Taylor D. E.: Incidence of antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* isolated in Alberta, Canada, from 1999 to 2002, with special reference to tet(O)-mediated tetracycline resistance. Antimicrob. Agents Chemother. 2004, 48, 3442-3450.
10. Gomez-Garcez J. L., Cogollos R., Alos J. I.: Susceptibilities of fluoroquinolone-resistant strains of *Campylobacter jejuni* to 11 oral antimicrobial agents. Antimicrob. Agents Chemother. 1995, 39, 542-544.
11. Grabowska A., Wyszynska A., Jagusztyn-Krynicka E. K.: Powrót chorób infekcyjnych: *Campylobacter* – nowy groźny ludzki enteropatogen. Mikrob. Med. 2004, 2, 231-238.

12. Gupta A., Nelson J. M., Barrett T. J., Tauxe R. V., Rossiter S. P., Friedman C. R., Joyce K. W., Smith K. E., Jones T. F., Hawkins M. A., Shiferaw B., Beebe J. L., Vugia D. J., Rabatsky-Ehr T., Benson J. A., Root T. P., Angulo F. J.: Antimicrobial resistance among *Campylobacter* strains, United States, 1997-2001. *Emerg. Infect. Dis.* 2004, 10, 1102-1109.
13. Hakanen A. J., Lehtopolku M., Siitonen A., Huovinen P., Kotilainen P.: Multidrug resistance in *Campylobacter jejuni* strains collected from Finnish patients during 1995-2000. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003, 52, 1035-1039.
14. Harada K., Asai T., Kojima A., Sameshima T., Takahashi T.: Characterization of macrolide-resistant *Campylobacter coli* isolates from food-producing animals on farms across Japan during 2004. *J. Vet. Med. Sci.* 2006, 68, 1109-1111.
15. Hof H., Dörries R.: *Medizinische Mikrobiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2005, 287-296.
16. Kurincic M., Botteldoorn N., Herman L., Smole Mozina S.: Mechanism of erythromycin resistance of *Campylobacter* spp. isolated from food, animals and humans. *Int. J. Food Microbiol.* 2007, 120, 186-190.
17. Kwiatek K., Zasadny R., Wojdat E.: Występowanie termotolerancyjnych drobnoustrojów z rodzaju *Campylobacter* na powierzchni tusz zwierząt rzeźnych. *Przegl. Epidemiol.* 2006, 60, 347-352.
18. Lin J., Cagliero C., Guo B., Barton Yi-Wen., Maurel M.-Ch., Payot S., Zhang Q.: Bile salts modulate expression of the CmeABC multidrug efflux pump in *Campylobacter jejuni*. *J. Bacteriol.* 2005, 187, 7417-7424.
19. Lin J., Overbye M. L., Zhang Q.: CmeABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002, 46, 2124-2131.
20. Luangtongkum T., Morishita A. T., Ison A. J., Huang S., McDermott P. F., Zhang Q.: Effect of conventional and organic production practices on the prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. in poultry. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006, 72, 3600-3607.
21. Lubber P., Wagner J., Hahn H., Bartelt E.: Antimicrobial Resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated in 1991 and 2001-2002 from poultry and humans in Berlin, Germany. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003, 47, 3825-3830.
22. Luo N., Sahin O., Lin J., Michel L. O., Zhang Q.: In vivo selection of *Campylobacter* isolates with high levels of fluoroquinolone resistance associated with *gyrA* mutations and the function of the CmeABC efflux pump. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003, 47, 390-394.
23. Markiewicz Z., Kwiatkowski Z. A.: *Bakterie, antybiotyki, lekooporność*. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 2006, 125-133.
24. Oza A. N., McKenna J. P., McDowell S. W. J., Menzies F. D., Neill S. D.: Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* spp. isolated from broiler chickens in Northern Ireland. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003, 52, 220-223.
25. Quinn P. J., Markey B. K., Carter M. E., Donnelly W. J. C., Leonard F. C.: *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Blackwell Science Ltd., Oxford 2002, 28-35.
26. Piddock L. J. V., Ricci V., Pumbwe L., Everett M. J., Griggs D. J.: Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter* species from man and animals: detection of mutations in topoisomerase genes. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003, 51, 19-26.
27. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 11 marca 2005 roku w sprawie rejestrów zakażeń zakładowych oraz raportów o występowaniu tych zakażeń (Dz. U. Nr 54, poz. 484).
28. Rozporządzenie (WE) Nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 sierpnia 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt. (Dz. U. L 268 z 18.10.2003, str. 29).
29. Rożynek E., Dzierżanowska-Fangrat K., Korsak D., Konieczny P., Wardak S., Szych J., Jarosz M., Dzierżanowska D.: Comparison of antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from humans and chicken carcasses in Poland. *J. Food Prot.* 2008, 71, 602-607.
30. Śliżewska K., Biernasiak J., Libudzisz Z.: Probiotyki jako alternatywa dla antybiotyków. *Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej* 2006, 984, 79-91.
31. Ustawa z dnia 22 lipca 2006 roku o paszach (Dz. U. Nr 144, poz. 1045).
32. Wagenaar J. A., Mevius D. J., Havelaar A. H.: *Campylobacter* in primary animal production and control strategies to reduce the burden of human campylobacteriosis. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 2006, 25, 581-594.
33. Wardak S., Duda U., Szych J.: Epidemiological analysis of campylobacteriosis reported by Sanitary Epidemiological Station in Bielsko-Biala, Silesia, in Poland. *Przegl. Epidemiol.* 2007, 61, 417-424.
34. Wytyczne Głównego Lekarza Weterynarii z dnia 6 grudnia 2007 roku dotyczące skoordynowanego programu monitorowania w kierunku występowania i oporności przeciwdrobnoustrojowej *Campylobacter* spp. i *Salmonella* spp. w tuszach brojlerów. (Nr GIW z. IX 401zoo-100/07).

Adres autora: lek. wet. Anna Woźniak, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław; e-mail: ania.wozniak@autograf.pl