

4. Fitzgerald P. R.: J. Protozool. 19, 332, 1972.
5. Kutzer E., Leibetseder J., Frey H., Böhm J., Prets H.: Wien. tierärztl. Mschr. 68, 57, 1981.
6. Lämmier G., Hein B.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 93, 449, 1980.
7. Lebas F., Coudert P., Rouvier R., Rochambeau H.: The rabbit husbandry, health and production. FAO, Rzym, 1986.
8. Licois D., Coudert P.: Recl. Méd. vét. 156, 391, 1980.
9. Löfger H. Ch.: Prakt. Tierarzt 56, 168, 1975.
10. Niedźwiadek S., Ramisz A., Bielański P., Jabłoński K., Bałicka-Laurans A.: Roczn. Nauk zoot. (w druku).
11. Okerman F., Moermans R. J.: Rev. agric. 33, 151, 1980.
12. Peeters J. E., Halen P., Meulemans G.: Br. vet. J. 136, 349, 1979.
13. Peeters J. E., Halen P.: Ann. Rech. vét. 11, 49, 1980.
14. Peeters J. E., Geeroms R., Antoine O., Mammerickx M., Halen P.: Parazitology 83, 293, 1981.
15. Peeters J. E., Geeroms R., Molderez J., Halen P.: Zentbl. VetMed. 29, 207, 1982.
16. Peeters J. E.: Cuni. Sci. 1, 31, 1983.
17. Peeters J. E., Geeroms R., Varewyck H., Bouquet W., Lampo P., Halen P.: Res. vet. Sci. 35, 211, 1983.
18. Sambeth W., Raether W.: Zentbl. VetMed. 27, 446, 1980.
19. Sambeth W.: Proc. II World Rabbit Congress, Barcelona 1980, s. 293.
20. Varga I.: Vet. Parasitol. 11, 69, 1982.
21. Vörös G., Gippert T., Szabo S.: Proc. III World Rabbit Congress, Rzym 1984, s. 430.

Adres autora: prof. dr hab. Alojzy Ramisz, ul. Brodowicza 13a, 31-518 Kraków

PATOLOGIA I TERAPIA

ZBIGNIEW ROLIŃSKI, PIOTR WLAŻ

Stan i perspektywy chemioterapii. II. Lekooporność

Zakład Farmakologii Instytutu Nauk Fizjologicznych
Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Rozwijanie się lekooporności

Naturalna oporność dotyczy wszystkich szczepów drobnoustrojów jednego gatunku, jest cechą stałą i może być stosowana jako cecha taksonomiczna (np. oporność bakterii Gram-ujemnych na makrolidy). Bakterie cechujące się brakiem oporności wobec określonego chemioterapeutyku, określane są jako wrażliwe. Ich wykaz stanowi zakres działania danego antybiotyku.

Mechanizm powstawania oporności drobnoustrojów na chemioterapeutyki można sprowadzić do trzech głównych typów:

1. **OPORNOŚĆ NABYTA** jest zjawiskiem przypadkowym, zachodzącym zazwyczaj w populacji drobnoustrojów wrażliwych. W obecności chemioterapeutyku, bakterie wrażliwe są eliminowane i stopniowo zastępowane przez potomstwo odmiannopornych.

2. **MUTACJA** jest zjawiskiem stosunkowo rzadkim. Częstotliwość jej występowania w populacji bakteryjnej wynosi 10^{-6} do 10^{-9} . Przyjmuje się, że maksymalnie tylko 10% szczepów opornych rozwija się w wyniku mutacji chromosomalnych (8).

Mutacje ze względu na spontaniczność występowania nie są uwarunkowane obecnością antybiotyków, które stanowią tylko czynnik selekcyjny zmutowane drobnoustroje. Jak każdy marker chromosomalny, oporność na drodze mutacji może być przekazywana z bakterii dawcy na bakterię biorcą za pomocą trzech rodzajów przenoszenia informacji genetycznej: transformacji (pobieranie materiału genetycznego występującego w podłożu wzrostowym), koniugacji (bezpośrednie przekazywanie elementu DNA od dawcy do biorcy) i transdukcji (przenoszenie materiału genetycznego poprzez bakteriofaga).

Mutanty wykazują zróżnicowany stopień oporności, od niskich do bardzo wysokich stężeń antybiotyku. Jednak z reguły każdy mutant odznacza się występowaniem wad metabolicznych lub strukturalnych i bakteria zmutowana ulega negatywnej selekcji w środowisku przy nieobecności antybiotyku.

Szybkość powstawania mutacji uwarunkowana jest rodzajem infekcji. Rozwija się bardzo szybko przy infekcjach dróg moczowych (kilkanaście godzin), wolniejsza w przypadku zakażeń posocznicy i płucnych (kilkanaście dni). Dlatego też z klinicznego punktu widzenia oporność w wyniku mutacji chromosomalnej objawia się korzystnym działaniem początkowym określonego antybiotyku, po którym następuje

załamanie skuteczności. Praktyczne znaczenie tej oporności jest małe (od 2—10% badanych przypadków), zwłaszcza, że stosowanie połączeń antybiotyków o różnych mechanizmach działania zmniejsza ryzyko wystąpienia oporności chromosomalnej (5).

3. **PLAZMIDY**. Plazmidy występujące w cytoplazmie bakterii składają się z cząsteczek podwójnego, pozachromosomalnego łańcucha DNA w strukturze zbliżonej do chromosomu. Odgrywają zasadniczą rolę w przenoszeniu oporności. Zbudowane są z dwu części tj. czynnika przenoszącego oporność (RTF) i z genów oporności. Plazmidy mogą zawierać od 50—500 genów, które mogą przenosić oporność na różne leki przeciwbakteryjne (zazwyczaj 3—6 leków), a maksymalnie stwierdzono przenoszenie oporności na 9 chemioterapeutyków (2). Podobnie jak w przypadku mutacji chromosomalnych przenoszenie plazmidów z jednej komórki bakteryjnej na drugą może zachodzić na drodze transformacji, transdukcji i koniugacji. Największe znaczenie w przenoszeniu oporności ma proces koniugacji. Dzięki temu plazmidy mogą się przemieszczać i utrzymywać u bardzo licznych gatunków bakterii nie związanych ściśle ze sobą (tab. 3). To tłumaczy epidemiologiczne rozpowszechnianie niektórych drobnoustrojów wielorakoopornych w środowiskach selekcyjnych, tj. w szpitalach, w przypadku szczepów ludzkich oraz w środowiskach ferm wielkostadnych.

W tab. 1 i 2 zestawiono antybiotyki według typu występowania oporności bakterii.

Oporność drobnoustrojów na chemioterapeutyki może mieć różne tło biochemiczne: a) wytwarzanie enzymów rozkładających antybiotyki (obejmuje to penicyliny, cefalosporyny, aminoglikozydy i chloramfenikol), b) zmiana miejsc receptorowych w komórce bakteryjnej (penicyliny półsyntetyczne, makrolidy, linkomycyna i streptomycyna), c) osłabienie powinowactwa enzymów bakteryjnych do chemioterapeutyków (np. w przypadku trimetoprimu), d) indukcja ułatwionego transportu błonowego dla usunięcia leku z komórki (np. tetracykliny), e) zmiany w transporcie błonowym, ograniczające wnikanie leków do komórki (np. aminoglikozydy), f) wzrost wytwarzania PABA przez drobnoustroje (np. sulfonamidy).

Aktualny stan oporności bakterii patogennych na leki przeciwbakteryjne

Od 1989 r., tj. od czasu raportu Komisji Swanna (1969) nastąpił znaczny wzrost liczby drobnoustrojów patogennych

Tab. 1. Chemioterapeutyki, w stosunku do których drobnoustroje nabywają oporność przez zmiany miejsca działania w wyniku mutacji chromosomalnej (5)

Antybiotyki beta-laktamowe (penicyliny, cefalosporyny)
Aminoglikozydy (streptomycyna, spektynomycyna, neomycyna, kanamycyna, tobramycyna, gentamycyna)
Erytromycyna
Chloramfenikol
Rifampicyna
Kwas fusydowy
Chinolony

Tab. 2. Chemioterapeutyki, w stosunku do których nie wykryto występowania oporności plazmidowej (5)

Polipeptydy (bacytracyna, polimyksyna B, kolistyna)
Nitrofurany
Chinolony (kwas nalidyksowy, flumechina, kwas pipemidowy, kwas oksolinowy)
Wankomycyna, rifampicyna, nowobiocyna.

wielorakoopornych na podstawowe antybiotyki. Fakt ten potwierdza duża ilość danych z piśmiennictwa (3, 9, 13) wskazujących na narastające problemy w chemioterapii w wyniku lekooporności. W połowie lat 80 odnotowano pewien przełom w zjawisku oporności drobnoustrojów. W niektórych krajach, np. we Francji obserwuje się nadal wysoki poziom rozprzestrzeniania się oporności w środowisku ferm na nowe chemioterapeutyki (4, 8).

Szereg badań innych autorów opierających się na monitorowaniu wyników wieloletnich badań nad ustaleniem oporności wskazuje na pewne zahamowanie narastania tego zjawiska. W badaniach amerykańskich, wykonanych na 6 milionach szczepów bakteryjnych pochodzących z 242 szpitali, zebranych w ciągu ostatnich 12 lat, nie stwierdzono żadnych lub prawie żadnych zmian w stopniu lekooporności (7). Podobne obserwacje zostały dokonane w Europie Środkowej, w oparciu o 325 000 szczepów izolowanych od ludzi (6). Interesującą rzeczą w tych badaniach jest fakt, że niektóre gatunki drobnoustrojów wykazywały wzrost wrażliwości na podstawowe antybiotyki (6). Wielokrotne badania nad drobnoustrojami wyizolowanymi od zwierząt w Anglii potwierdzają obserwacje w zakresie stanu lekooporności opisane w doniesieniach z medycyny ludzkiej. Regularne monitorowanie stanu antybiotykooporności szczepów *Salmonella* np. pochodzenia zwierzęcego wykazało brak dalszego narastania zjawiska oporności (tab. 4).

Jak przedstawiają się sprawy oporności w Polsce na podstawie chemioterapeutyki obrazują wyniki badań przedstawiające oporność szczepów *Salmonella* sp. pochodzących od różnych gatunków zwierząt oraz oporność szczepów *E. coli* izolowanych od cieląt (9, 13). W przypadku szczepów *Salmonella* sp. najczęściej wielorakiej oporności występowało u trzody chlewnej i u drobiu. W stosunku do szczepów *Salmonella* sp. izolowanych od trzody chlewnej najmniej aktywnymi chemioterapeutykami (na 10 badanych) okazały się sulfametoksazol (70% szczepów opornych) oraz streptomycyna (42,3% szczepów opornych). Badane szczepy izolowane od drobiu wykazywały znaczną oporność w stosunku do sulfametoksazolu, nitrofurantoiny, oksytetracykliny i streptomycyny (odpowiednio % szczepów opornych: 89,9, 30,8, 20,7, 19,3). Szczepy pochodzące od cieląt i owiec wykazywały niewielki procent oporności w przypadku oksytetracykliny i ampicyliny (7,1 i 7,7). Największą wrażliwością cechowały się szczepy *Salmonella* sp. izolowane od wyżej wymienionych gatunków zwierząt w stosunku do flumechiny (szczepy pochodzące od trzody chlewnej 100%, od cieląt i owiec 100% i od drobiu 86,2%). W przypadku pozostałych

Tab. 3. Rodzaje lub gatunki bakterii, u których opisano występowanie plazmidów opornościowych (5)

Bakterie Gram-dodatnie:
<i>Actinomyces (Streptomyces)</i>
<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Staphylococcus</i> sp.
<i>Streptococcus</i> sp.
Bakterie Gram-ujemne:
Enterobakterie
<i>Pseudomonas</i>
<i>Aeromonas</i>
<i>Vibrio</i>
<i>Haemophilus</i>
<i>Bordetella</i>
<i>Achromobacter</i>
<i>Pasteurella</i> sp.
<i>Yersinia</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>

Tab. 4. Antybiotykooporność szczepów *Salmonella* sp. (wg 10)

Rok	Szczep	Liczba badań	% szczepów w pełni wrażliwych *
1982	<i>S. typhimurium</i>	1705	15,1
	<i>S. dublin</i>	541	20,3
	wszystkie serotypy	4035	23,5
1983	<i>S. typhimurium</i>	2422	17,4
	<i>S. dublin</i>	682	48,7
	wszystkie serotypy	4895	27,6

Objaśnienie: * — pełna wrażliwość na 14 badanych antybiotyków.

antybiotyków % wrażliwości badanych szczepów izolowanych od tych samych gatunków zwierząt wynosił odpowiednio: dla gentamycyny — 80,7, 78,5, 74,1, apramycyny — 92,3, 78,5, 78, ampicyliny — 92,3, 92,8, 82,1 i połączenia sulfametoksazolu z TMP — 80, 83,3, 63,8 (9). Badania szczepów *E. coli* izolowanych od cieląt z klinicznymi objawami biegunki wykazały, że najwyższy procent oporności dotyczył kombinacji sulfametoksazolu i TMP, oksytetracykliny, chloramfenikolu, ampicyliny i streptomycyny, który wynosił odpowiednio 79,3, 57,2, 45,3, 43,5 i 40,4. Najwyższą aktywność w stosunku do badanych szczepów *E. coli* wyrażoną w % wykazywały polimyksyna B (98,6), kolistyna (93,7), flumechina (94), kwas nalidyksowy (85,6) i gentamycyna (74,7).

Należy sądzić, że aktualnie niska efektywność chemioterapii zwierząt w naszym kraju w pierwszym rzędzie spowodowana jest stałym skażeniem środowisk hodowlanych czynnikami chorobotwórczymi, złymi warunkami zoohigienicznymi i katastrofalnie niską jakością pasz, które to czynniki obniżają sprawność układu odpornościowego zwierząt. Jako kolejne przyczyny można dopiero wymienić lekooporność i braki w asortymencie chemioterapeutyków. Należy również wspomnieć o nadal popełnianych błędach w sztuce lekarskiej, dotyczących antybiotykoterapii.

Oporność szczepów odzwierzęcych a zagrożenie dla człowieka

Jeden z wniosków Raportu Swanna (11) postulował, że wielooporne szczepy pałeczek jelitowych pochodzenia zwierzęcego mogą być przenoszone na człowieka i powodować zakażenia nieuleczalne przy użyciu podstawowych antybio-

tyków. Ten punkt widzenia jednak w praktyce w pełni się nie sprawdził, ponieważ większość szczepów pałeczek jelitowych pochodzenia zwierzęcego nie jest zdolna do kolonizacji jelita człowieka (8, 12). Dotyczy to również większości szczepów drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella* (12). Wyjątek stanowi *S. typhimurium*. Już w latach 60 izolowano z epizootycznych zakażeń u cieląt szczep *S. typhimurium* typu 29, oporny na 6 podstawowych antybiotyków. Szczep ten był odpowiedzialny za długotrwałą epizootię u cieląt w Anglii oraz był przyczyną zakażeń u ludzi (1). Niedawno kilka szczepów *S. typhimurium* (lizotypy 193, 204 i 209) poprzez przeniesienie plazmidu była przyczyną epizootii u cieląt z przeniesieniem zakażenia na człowieka (8). Szczepy te odznaczały się wyjątkową agresywnością wobec środowiska jelitowego i mogły kolonizować jelito człowieka, zwłaszcza w przypadkach braku równowagi pomiędzy poszczególnymi składnikami flory jelitowej spowodowanego negatywną selekcją w wyniku stosowania antybiotyków. Istnieją jednak przypuszczenia, że te niezwykle zjadliwe szczepy *S. typhimurium* zostały wyselekcjonowane nie przez stosowanie antybiotyków, lecz przez nieprawidłowy system wychowu cieląt, wytwarzający mało odporną populację zwierząt, wśród której stale dochodzi do kontaktu zwierząt chorych ze zdrowymi (10). Taki system wychowu stwarza korzystne warunki dla rozwoju zjadliwych i inwazyjnych szczepów *S. typhimurium*.

Nie pomniejszając negatywnego wpływu warunków wychowu zwierząt na powstawanie szczepów zjadliwych i opornych, rolę chemioterapeutyków w tym zakresie można sprowadzić głównie do 3 punktów:

- selekcja i ujawnianie bakterii opornych,
- ułatwianie rozwijania opornych plazmidów,
- udział w przełamywaniu bariery immunologicznej i sprzyjanie w ten sposób kolonizacji bakterii w organizmie gospodarza.

Dla zmniejszenia częstotliwości występowania oporności drobnoustrojów na chemioterapeutyki można zalecić następujące postępowanie: 1) nie stosować antybiotyków o szerokim zakresie działania, jeżeli czynnik patogenny jest również wrażliwy na chemioterapeutyk o wąskim zakresie działania; 2) wybór antybiotyku winien być oparty na określeniu wrażliwości drobnoustroju patogennego i rozeznaniu epizootologicznym terenu; 3) wielkość dawki i odstępy pomiędzy kolejnymi podaniami powinny być ściśle przestrzegane; 4) przy chemioterapii skojarzonej, poszczególne składniki powinny być stosowane w pełnej dawce;

COOPER G. L., NICHOLAS R. A., BRACEWELL C. D.: Badania serologiczne i bakteriologiczne kurcząt pochodzących ze stad zakażonych na drodze naturalnej *Salmonella enteritidis*. (Serological and bacteriological investigations of chickens from flocks naturally infected with *Salmonella enteritidis*). Vet. Rec. 125, 567—572, 1989 (23)

Z czterech stad, w których występowała salmonelloza, w 3 przypadkach izolowano *S. enteritidis*, zaś z jednego stada *S. typhimurium*. Z każdego stada izolowano do oddzielnych klatek po 10 ptaków, u których w odstępach tygodniowych określono wysokość miana przeciwciał w surowicy i obecność salmoneli w wymazach z kloaki. Po 4 tygodniach ptaki poddano ubojowi i określono charakter i zasięg zmian anatomo-patologicznych. W wielu przypadkach nie tylko aglutynacja probówkowa oraz szybki test aglutynacji umożliwiały wykrycie zakażenia. Metoda ELISA i test mikroantyglobulinowy okazały się najbardziej czułymi metodami wykrywania przeciwciał, których nie wykrywano w testach aglutynacji. W oparciu o odczyn ELISA i odczyn mikroantyglobulinowy wykazano przeciwciała w wysokich mianach w surowicach ptaków, od których nie udało się izolować salmoneli.

5) do leczenia miejscowego zaleca się antybiotyki, wobec których oporność rozwija się stosunkowo rzadko; 6) w ograniczonym zakresie stosować profilaktycznie leki przeciwbakteryjne, stosować przede wszystkim takie, które zapobiegają kolonizacji określonych drobnoustrojów patogennych (tylko leki o wąskim zakresie działania); 7) zaniechać niepotrzebnego, nieuzasadnionego wyraźnymi wskazaniami lekarskimi stosowania antybiotyków; 8) unikać nadużywania nowych chemioterapeutyków, jeżeli używane wcześniej są nadal skuteczne; 9) w przyszłości dążyć do wyodrębnienia grupy chemioterapeutyków stosowanych wyłącznie w lecznictwie zwierząt. Umożliwiłyby to racjonalną wymianę leków przeciwbakteryjnych w danym rejonie obsługi lekarsko-weterynaryjnej; 10) wszystkie poczynania w kierunku poprawienia efektywności chemioterapii zostaną bezowocne, jeżeli nie ulegną poprawie warunki sanitarne w hodowli i w obrocie zwierzętami.

Należy przyjąć, że w najbliższych latach nie może być mowy o zaprzestaniu stosowania antybiotyków. Jest jednak rzeczą oczywistą, że dzięki racjonalnemu ich stosowaniu w lecznictwie weterynaryjnym i ludzkim można osiągnąć spadek nacisku selekcyjnego wywoływanego przez chemioterapeutyki, a w następstwie ograniczenie zjawiska oporności. W dalszej perspektywie dzięki postępowi w biotechnologii będzie można uzyskać nowe generacje substancji antybiotycznych, wybiórczo niszczące określone rodzaje drobnoustrojów patogennych, bez szkodliwego oddziaływania na makroorganizm gospodarza i środowisko. Do tego czasu chemioterapia przy użyciu tradycyjnych leków będzie stanowiła jedną z podstawowych metod postępowania leczniczego.

Piśmiennictwo

1. Anderson E. S.: Brit. Med. J. 3, 333, 1968.
2. Anon.: The Merck Veterinary Manual. Merck and Co., Inc. Rahway, 1986.
3. Blackburn D. O., Swanson M. R., Schlater L. K.: Vet. Res. 45, 1245, 1984.
4. Chastus-Dancla E., Lafont J. R.: Sci. Vet. Med. Comp. nr 5—6, 323, 1986.
5. Courvaïn P., Goldstein F., Philippot A., Strot J.: L'antibiogramme, MPC — Videom, Paris, 1985.
6. Kresken M., Wiedemann B.: J. Antimicrob. Chemother. 13, supl. C. 235, 1986.
7. Lortan V.: J. Animal Sci. 62, supl. 3, 49, 1986.
8. Richard Y.: Sci. Vet. Med. Comp., nr 5—6, 275, 1988.
9. Roliński Z., Wernicka-Furmaga R., Kowalski C.: Medycyna Wet. 44, 461, 1988.
10. Sojka W. M., Wray C., McLaren I.: Brit. Vet. J. 142, 371, 1986.
11. Swann Report: Her Majesty's Stationery Office, London, 1969.
12. Walton J. R.: Vet. Rec. 122, 249, 1988.
13. Wernicki A., Rzedziński J.: Medycyna Wet. 44, 85, 1988.

Adres autora: prof. dr hab. Zbigniew Roliński, ul. Weterana 10/2, 20-038 Lublin

HARWOOD D. G.: Zakażenie hodowli królików przez *Salmonella typhimurium*. (*Salmonella typhimurium* infection in a commercial rabbitry). Vet. Rec. 125, 554—555, 1989 (22)

Zakażenie królików wywołane przez *Salmonella typhimurium* spotyka się rzadko na terenie Wielkiej Brytanii. W dużej hodowli królików w Południowej Walii liczącej 88 samic, 9 samców i 500 sztuk potomstwa w fazie tuczu padły we wrześniu 1987 r. 22 osobniki. U samic na czoło objawów klinicznych wysuwało się roniecie i śmierć po 1—2 dniach, której towarzyszyło zapalenie macicy. Śmiertelność wśród młodziży wzrosła z 26,7% do 50,8%. U królików w okresie tuczu występowała biegunka. Zarówno z przewodu pokarmowego chorych zwierząt, jak i z poronionych płodów wyosobniono *S. typhimurium* typ fagowy DT 49b. Badania drobiu przebywającego w tym samym pomieszczeniu co króliki w kierunku zakażenia salmonelami dało wynik negatywny. Potencjalnym źródłem zakażenia dla królików było siano. Zastosowanie chlorotetracykliny tylko w minimalnym stopniu obniżyło śmiertelność. *S. typhimurium* izolowano zarówno w trakcie leczenia, jak i po 3 tygodniach po jego zakończeniu.