

Przyczyny szczególnie szybko narastającej antybiotykooporności bakterii oraz przeciwdziałanie zagrożeniu dla zdrowia ludzi ze strony bakterii zoonotycznych

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK

Zakład Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Truszczyński M., Pejsak Z.

Causes of the particularly rapid rise of antibiotic resistance of bacteria and action against the risk for human health originating from zoonotic bacteria

Summary

Mechanisms of antimicrobial resistance are briefly presented, stressing that bacteria from clinical and non-clinical sources are becoming increasingly resistant during the 2 last decades to available antibiotics. Earlier this was the case in Gram-positive bacteria and during the last decade it is occurring faster in relation to Gram-negative bacteria. This is mainly due to mobile genes located on plasmids. The increasing international movement of humans, animals and animal products plays an important role in this global spread. Moreover, information on the emergence of a new antimicrobial antibiotic resistance in India and Pakistan is presented, on the basis of observations regarding Enterobacteriaceae, transferred by humans to the United Kingdom. It is encoded by the recently identified NDM-1 gene. This gene is responsible for the currently intensively spreading multiple drug resistance, posing a great risk to public health. In this situation the role of bacteria occurring in food and companion animals is evaluated as an additional risk to public health, although until now the mentioned gene has not been detected in strains from these sources. However other antibiotic resistance genes from this source can be transferred to bacteria occurring in humans. In connection with this the present European Union's conclusions and recommendations on antimicrobial resistance of bacteria in animal reservoirs addressed to the Veterinary Services of the Member Countries with the intension of minimizing this hazard for human health are discussed.

Keywords: antimicrobial multiple drug resistance, NDM-1 gene, EU - recommendations, Veterinary Services

Szerzenie się antybiotykooporności

Izolowane z przypadków klinicznych i nieklinicznych bakterie, których źródłem są ludzie oraz zwierzęta gospodarskie i towarzyszące człowiekowi, jak też środowisko, stają się w ostatnich latach w liczbie coraz szybciej wzrastającej odporne na aktualnie dostępne antybiotyki. Jak wynika z wieloautorskiej publikacji z sierpnia 2010 (10), przed 10 laty dotyczyło to bakterii Gram-dodatnich, w szczególności metycylinoopornego gronkowca złocistego i wankomycynoopornych szczepów *Enterococcus spp.* Natomiast obecnie coraz szybciej rozpowszechnia się oporność na liczne, w tym nowe, antybiotyki u bakterii Gram-ujemnych (2, 10). Oporność, dodatkowo, ma często charakter wieloraki (multiple drug resistance, MDR), co oznacza, że dana bakteria oporna jest równocześnie na niekiedy dużą liczbę antybiotyków (10).

Mający miejsce proces jest wynikiem przede wszystkim nadmiernego, często w tej mierze nieuzasadnionego, stosowania antybiotyków w szeroko rozumianym leczeniu ludzi i zapobieganiu pooperacyjnemu powikłaniom bakteryjnym.

Użycie antybiotyków w chorobach zwierząt odnosi się zwłaszcza do leczenia: zapaleń płuc, jelit, gruczołu mlekowego, otrzewnej i posocznicy, gdzie podobnie jak wyżej ich nadmiar jest przeciwwskazany. Głównie jednak doustne podawanie dużym grupom zwierząt ssących i drobiu w chowie wielkostatnym antybiotyków w celach metafilaktycznych i leczniczych uważa się za najbardziej istotną przyczynę selekcji zoonotycznych bakterii antybiotykoopornych. Analogiczną rolę odgrywa udział antybiotyków w charakterze stymulatorów wzrostu (asw) w procesie tuczu zwierząt rzeźnych, co mimo zakazów w odniesieniu

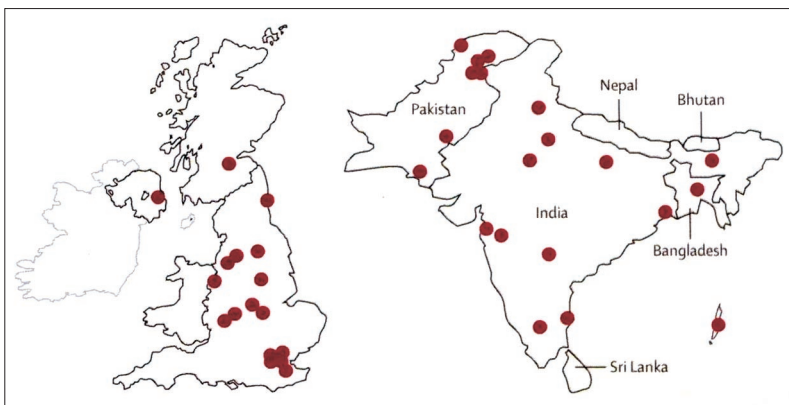
do szeregu krajów, zwłaszcza Unii Europejskiej (UE) od 2006 r., ciągle ma miejsce w innych, w tym w USA.

Do rozprzestrzeniania się w skali globalnej bakterii równocześnie opornych na liczne (na razie w odosobnionych przypadkach prawie wszystkie dostępne antybiotyki, w tym nowej generacji, zwane karbapenemami) przyczyniają się w stopniu znaczącym coraz liczniejsze od kilkunastu lat podróże międzykontynentalne ludzi oraz wzrastający międzynarodowy obrót zwierzętami i ich produktami (6, 10).

Oporność bakterii na antybiotyki (antimicrobial resistance, AMR) może być *a priori* związana z genomem danego gatunku, względnie serowaru bakterii (oporność naturalna), np.

Salmonella Typhimurium na penicylinę, a zmienność w tym zakresie być efektem mutacji. Istotną rolę w procesie ujawniania AMR odgrywa, jako skutek stosowania antybiotyków, selekcja spośród populacji bakterii na nie wrażliwych tych, początkowo nielicznych, które są na nie odporne. W procesie nabywania AMR ważne znaczenie mają, co jest ostatnio podkreślane, kodujące tę cechę mobilne elementy genetyczne (mobile genetic elements, MGE), zwłaszcza związane z bakteryjnymi plazmidami (10). Proces ten odbywa się przy udziale transferu materiału genetycznego (conjugational transfer) (10) między szczepami tej samej jednostki taksonomicznej lub różnych jednostek taksonomicznych. Określany jest jako horyzontalny transfer genów (horizontal gene transfer, HGT) (13). Tego rodzaju geny kodują enzymy istotne w tworzeniu struktur komórki bakteryjnej, warunkujących AMR. Znaczenie w szerzeniu się oporności na antybiotyki mają czynniki zewnętrzne, sprzyjające selekcji bakterii przekazujących i przyjmujących wymienione geny (10).

Ostatnio opisany został nowy gen, określony jako bla_{NDM-1} (10, 16), który pierwotnie występował u licznych szczepów *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli* w Indiach i Pakistanie. Do Europy przewiózł go wcześniej hospitalizowany w New Delhi pacjent, gdzie uległ zasiedleniu przez *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli*, które zawierały wymieniony gen. Stąd inicjały ND, pochodzące od New Delhi. Gen ten, przenoszony horyzontalnie, kodując metalo-beta-laktamazę, warunkuje oporność na prawie wszystkie dostępne obecnie antybiotyki, zwłaszcza antybiotyki beta-laktamowe, fluorochinolony i aminoglikozydy – czyli główne grupy antybiotyków, stosowanych w leczeniu infekcji ludzi i zwierząt, wywołanych przez Gram-ujemne bakterie. Dotyczy to również wspomnianych karbapenemów. Obecne rozmieszczenie *Enterobacteriaceae* z genem bla_{NDM-1}, izolowanych od ludzi, przedstawia ryc. 1 (10). Wskazuje ona, że w wyniku dodatkowych, obok wspomnianego, licznych kontaktów Brytyjczyków z ludnością i środowiskiem tych azjatyckich regionów, zwłaszcza z Indii, w tym w celach



Ryc. 1. Rozmieszczenie genu NDM-1, wytwarzanego przez szczepy *Enterobacteriaceae* w Indiach, Pakistanie, Bangladeszu i Wielkiej Brytanii (10)

medycznych (chirurgia transplantacyjna i plastyczna), nastąpiło szeroko zakrojone przeniesienie do Wielkiej Brytanii szczepów bakteryjnych z genem NDM-1.

Mimo braku danych na temat występowania u zwierząt bakterii, zwłaszcza z rodziny *Enterobacteriaceae*, zawierających wymieniony gen NDM-1, nie można tego wykluczyć. W przypadku pozytywnym zwiększałoby to występowanie u ludzi bakterii opornych na wyżej wymienione antybiotyki. Gdyby nie miało to miejsca, to i tak aktualny rezerwuuar zwierzęcy antybiotykoopornych bakterii stanowi oprócz szpitali, które są ich głównym źródłem, dodatkowe, chociaż jeszcze ilościowo bliżej nieokreślone, zagrożenie dla ludzi, w tym ze strony szczepów zoonotycznych – potencjalnie patogennych dla ludzi i zwierząt (1).

Ocena roli odzwierzęcych bakterii w szerzeniu się antybiotykooporności bakterii występujących u ludzi

Głównym rezerwuarem, z którego następuje zakażenie człowieka zoonotycznymi, antybiotykoopornymi bakteriami, jest przewód pokarmowy zdrowych zwierząt rzeźnych (food animals). Większość infekcji, których źródłem jest żywność (food born infections) wywodzi się z zanieczyszczeń zawierającym bakterie kałem tusz w czasie uboju oraz mleka w czasie udoju, jak też z wtórnych zakażeń produktów żywnościowych w procesie przetwórczym oraz gotowej żywności, do momentu konsumpcji. Dotyczy to szczególnie produktów spożywczych z drobiu, bydła i świń.

Najważniejszymi zoonotycznymi bakteriami, wywołującymi w podobny sposób schorzenia przewodu pokarmowego człowieka w Europie i Ameryce Północnej są gatunki *Campylobacter spp.* i nietyfoidalne serowary *Salmonella spp.* Infekcje ludzi powodowane za pośrednictwem pokarmu przez szczepy *Salmonella* lub *Campylobacter* mają na ogół przebieg łagodny, z wyjątkiem osób o układzie odpornościowym osłabionym inną chorobą lub zaawansowanym wiekiem. Rzadko rozwija się bakteriemia lub zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, co ma rzadziej miejsce w przypadku *Campylobacter* niż *Salmonella*. Lekami

z wyboru odnośnie do salmonelli są chinolony i cefalosporyny, a odnośnie do szczepów *Campylobacter* – makrolidy i chinolony. Obserwuje się, niestety, obecnie częstą, narastającą oporność na wymienione antybiotyki u wchodzących w grę drobnoustrojów.

Inne zoonotyczne bakterie, odporne na antybiotyki to wankomycynooporne enterokoki (VRE), nie wytwarzające cytotoksycznej werotoksyny szczepy *Escherichia coli* i odporne na metycylinę szczepy *Staphylococcus aureus* (MRSA), które też mogą być przenoszone ze zwierząt na człowieka bądź za pośrednictwem zanieczyszczonych kałem tusz i żywności, bądź przez bezpośredni kontakt.

Zalecenia Unii Europejskiej

Wobec przedstawionych aktualnych zagrożeń zdrowia ludzi i zwierząt w związku z obniżającą się skutecznością antybiotyków, Rada Unii Europejskiej przyjęła w 2009 r. opracowaną przez zespół ekspertów opinię i wnioski dotyczące AMR (1). Następnie dane te zaadresowane zostały do Komisji Europejskiej i krajów członkowskich UE. Apelują one o intensyfikację badań monitoringowych w kierunku AMR oraz zwiększenie kontroli odnośnie do stosowania antybiotyków w sektorze weterynarii przy poleceniu racjonalnego ich stosowania w praktyce (prudent use) w celu ograniczania selekcji szczepów antybiotykoopornych. Zawarte w opinii wytyczne odnoszą się do bieżącej oceny AMR u występujących u zwierząt bakterii zoonotycznych, przy koncentracji na infekcjach przenoszonych na ludzi od zwierząt i z żywności (food born diseases) oraz na maksymalnie możliwym ograniczeniu tego ryzyka. Chodzi o dysponowanie na bieżąco aktualnymi danymi o obecnej i przyszłej roli zwierzęcych rezerwuarów bakterii chorobotwórczych i warunkowo chorobotwórczych również dla ludzi, opornych na jeden lub równocześnie wiele antybiotyków (MDR), czego przykłady podano uprzednio, w tym w odniesieniu do genu NDM-1. Ryzyko, o którym mowa, dotyczy również odzwierzęcych bakterii niechorobotwórczych, które podobnie jak potencjalnie chorobotwórcze mogą zawierać geny antybiotykooporności i przekazywać je bakteriom występującym u człowieka, w tym chorobotwórczym (3, 8). Przeciwdziałanie szerzeniu się antybiotykooporności bakterii Rada określa jako pozycję o znaczeniu priorytetowym dla obecnej i przyszłych prezydencji.

W piśmiennictwie istnieją przykłady wyników badań, które wskazują, że podawanie zwierzętom antybiotyków w celach leczniczych powodowało stopniowy wzrost oporności na nie, nie tylko wśród szczepów bakteryjnych występujących u zwierząt, ale też u człowieka (5). Z danych Threlfalla i wsp. (15) wynika, że stosowana od 1993 r. w Wielkiej Brytanii Enrofloksacyna powodowała w okresie od 1993 r. do 1997 r. stopniowy wzrost na ten antybiotyk oporności u *Salmonella* Typhimurium DT 104, izolowanych od drobiu, bydła, świń i ludzi.

W przeciwieństwie do powyższego inne publikacje wskazują, że wyniki dotyczące wzrostu antybiotykooporności u szczepów zwierzęcych nie korelują z rezultatami dotyczącymi antybiotykooporności bakterii występujących u ludzi. Jako jedną z przyczyn tej niezgodności przytacza się „import” z zagranicy, w tym odległej, jak dotyczyło to wcześniej omawianych antybiotykoopornych szczepów bakteryjnych z Indii za pośrednictwem przybywających stamtąd do innego kraju ludzi. Analogiczne sytuacje mogą stwarzać importowane z odległych części świata zwierzęta rzeźne lub towarzyszące człowiekowi, będące nosicielami opornych na antybiotyki bakterii i genów tę oporność kodujących (14, 15).

W związku z powyższym opinia UE zaleca krajom członkowskim podejmowanie badań, które określałyby możliwie dokładniej niż ma to miejsce obecnie, wpływ wymienionych podróży oraz transportów zwierząt i ich produktów, jak też spożywania importowanej żywności na występowanie w danym kraju „nie rodzimych”, zoonotycznych, lekoopornych bakterii chorobotwórczych dla człowieka oraz zasiedlających również przewód pokarmowy krajowego pogłowia zwierząt rzeźnych (1). W tym kontekście konieczne jest zgodnie z opinią przeprowadzenie ilościowej oceny ryzyka (risk assessment), w celu bardziej wiarygodnego niż obecnie wyjaśnienia, w odniesieniu do danego kraju, na ile istnieje współzależność między użyciem antybiotyków w weterynarii a występowaniem opornych na nie szczepów bakteryjnych u ludzi.

Zasadność wspomnianego zakazu UE stosowania asw nie jest tak jednoznacznie oceniana, np. w USA. W kraju tym bowiem około 40% produkcji antybiotyków dla zwierząt używano w paszy jako asw jeszcze w ostatniej dekadzie XX wieku (12). Obecnie ma to również miejsce, w ilości bliżej nieokreślonej, ale znacznej. Na podstawie analizy wyników 276 publikacji (11) wykazano natomiast, że udział zwierzęcego rezerwuaru antybiotykoopornych zoonotycznych bakterii powodujących trudności w antybiotykoterapii chorób bakteryjnych człowieka jest dużo mniejszy niż oczekiwano. Stwierdzono w nawiązaniu do tego w przypadku salmonellozy i kampylobakteriozy człowieka, że wywołujące je antybiotykooporne szczepy bakteryjne rzadko były pochodzenia zwierzęcego. Dodatkowo, w odniesieniu do niechorobotwórczych i chorobotwórczych szczepów *Escherichia coli* wykazano (4), że kolonizacja nimi przewodu pokarmowego człowieka nie stanowi ważnej przyczyny pojawiania się w ludzkiej florze jelitowej antybiotykoopornych szczepów tego gatunku. Informowano, że oporność na substancje przeciwbakteryjne ważnych patogenów człowieka, jak *Staphylococcus aureus* lub *Enterococcus spp.*, nie ma związku ze stosowaniem antybiotyków u zwierząt lub związek ten jest małego stopnia, natomiast główne przyczyny tego stanu należy widzieć w infekcjach szpitalnych i innych kontaktach międzyludzkich, gdzie w grę nie wchodzi szczepy odzwie-

rzęce (11, 12). W innych publikacjach okazało się, że tylko nieliczne antybiotykooporne szczepy *Enterococcus faecium*, chorobotwórcze dla człowieka, pochodzą od zwierząt rzeźnych (7, 9). Dodatkowo, w kontekście rozważania słuszności zakazu stosowania asw należy pamiętać, że zasiedlanie przewodu pokarmowego człowieka enterokokami pochodzącymi od zwierząt (w tym antybiotykoopornymi) nie jest zjawiskiem trwałym i maksymalnie wynosi kilkanaście dni od zakażenia. To samo dotyczy patogennych szczepów *E. coli*, wywołujących zapalenie pęcherza moczowego u kobiet pracujących w rzeźniach drobiu. Podobne wyniki uzyskano w odniesieniu do pochodzących od zwierząt pałeczek *Salmonella* i *Campylobacter*, które wcześniej były eliminowane z flory bakteryjnej ludzi (11).

Przedstawione dane nie podważają jednak faktu, iż geny kodujące antybiotykooporność szczepów zwierzęcych mogą być przekazywane szczepom dotąd wrażliwym na antybiotyki, normalnie występującym u ludzi, a im tego rodzaju antybiotykoopornych bakterii jest więcej, tym zagrożenie jest wyższe. Oprócz tego niewątpliwie używanie w leczeniu i tuczu u zwierząt antybiotyków obniża skuteczność antybiotykoterapii w odniesieniu do potrzeb zwalczania bakteryjnych chorób zwierząt. Co najmniej zatem ta ważna gospodarczo przyczyna (przy nie wykluczeniu zagrożenia ze strony antybiotykoopornych szczepów odzwierzęcych spadku skuteczności antybiotykoterapii u ludzi) stanowi podstawę do uznania słuszności obecnego stanowiska UE co do zakazu używania asw oraz racjonalnego stosowania antybiotyków w leczeniu chorób bakteryjnych zwierząt.

W nawiązaniu do powyższego, jako środki zastępcze lub ograniczające stosowanie w weterynarii antybiotyków, opinia UE zaleca opracowywanie i wdrażanie nowych strategii zwalczania chorób bakteryjnych, które ograniczałyby antybiotykoterapię i tym samym przeciwdziałały rozprzestrzenianiu się w populacjach zwierząt, a od nich wśród ludzi, bakterii antybiotkoopornych. W nawiązaniu do tego zainicjowano ze strony służb weterynaryjnych i laboratoriów badawczych państw członkowskich UE stosowne działania. W Polsce w tych ramach wdrożono: Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 1177/2006 z dnia 1 sierpnia 2006 r. w sprawie wykonania rozporządzenia (WE) nr 2160/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady w odniesieniu do wymogów dotyczących stosowania szczególnych metod kontroli w ramach krajowych programów zwalczania salmonelli u drobiu oraz Decyzję Komisji z dnia 12 czerwca 2007 r. w sprawie zharmonizowanego monitorowania oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe w przypadku *Salmonella* u drobiu i świń.

Opinia UE zachęca też do zwiększenia udziału dotychczasowych metod, jak np. szczepień profilaktycznych, co łączy się z opracowywaniem technologii produkcji skuteczniejszych szczepionek, zwłaszcza prze-

ciw infekcjom wywołanym przez salmonelle u zwierząt, które nie tylko przeciwdziałałyby objawom klinicznym, ale również utrzymującemu się nosicielstwu i siewstwu. Oczywiście jest w tym aspekcie też maksymalne zachowanie zasad higieny w czasie chowu i uboju zwierząt z wykluczeniem zanieczyszczania kałem tusz oraz w przetwórstwie i całym łańcuchu żywnościowym, do momentu konsumpcji, w celu uniknięcia wtórnych zakażeń żywności przez bakterie zoonotyczne pochodzenia zwierzęcego.

Piśmiennictwo

1. Anon.: Joint Opinion on antimicrobial resistance (AMR) focused on zoonotic infections. EFSA Journal 2009, 7, 1372.
2. Baiden F., Owusu-Agyei S., Webster J., Chandramohan D.: The need for new antibiotics. Lancet 2010, 375, 637-638.
3. DuPont H. L.: The growing threat of foodborne bacterial enteropathogens of animal origin. Clin. Infect. Dis. 2007, 45, 1353-1361.
4. Dupont J., Fraiese A., Wise R.: Use of antimicrobial agents in animal feeds: implications for human health. Rev. Inf. Dis. 1987, 9, 447-460.
5. Guardabassi L., Jansen L. B., Kruse H. Ed.: Guide to Antimicrobial use in Animals. Blackwell Publishing 2008, 1-223.
6. Hawkey P. M., Jones A. M.: The changing epidemiology of resistance. J. Antimicrob. Chemother. 2009, 64, 3-10.
7. Jensen L. B., Arens P., Dons L.: Transient intestinal carriage after ingestion of antibiotic resistant *Enterococcus faecium* from chicken and pork. New England J. Med. 2001, 345, 1161-1166.
8. Jong A. de, Bywater R., Butty P., Deroover E., Godinho K., Klein U., Marion H., Simjee S., Smets K., Thomas V., Valle M., Wheadon A.: A pan-European survey of antimicrobial susceptibility towards human-use antimicrobial drugs among zoonotic and commensal enteric bacteria isolated from healthy food-producing animals. J. Antimicrob. Chemother 2009, 63, 733-744.
9. Klare J., Badstuber D., Konstabel C.: Decreased incidence of VanA-type vancomycin-resistant enterococci isolated from poultry meat and from fecal samples of humans in the community after discontinuation of avoparcin usage in animal husbandry. Microb. Drug Res. 1999, 5, 45-51.
10. Kumarasamy K. K., Teleman M. A., Walsh T. R., Bawaria J., Butt F., Balakrishnan R., Chaudhary U., Doumith M., Giske C. G., Irfan S., Krishnan P., Kumar A. V., Maharjan S., Mushtaq S., Noorie T., Paterson D. L., Pearson A., Perry C., Pike R., Rao B., Ray U., Sarma J. B., Sharma M., Sheridan E., Thirunarayan M. A., Turton J., Upadhyay S., Warner M., Welfare W., Livermore D. M., Woodford N.: Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. The Lancet Infectious Diseases 2010, 10, 597-602.
11. Philips J., Casewell M., Cox T., de Groot B., Fries Ch., Jones R., Nightingale Ch., Preston R., Waddell J.: Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of Publisher data. J. Antimicrob. Chemotherapy 2004, 53, 28-52.
12. Prescott J. F.: Antibiotics: miracle drugs or pig food? Can. Vet. J. 1997, 38, 763-766.
13. Szuplewska M., Dziewit L., Baj J., Bartosik D.: Identyfikacja i charakterystyka ruchomych elementów genetycznych bakterii z rodzaju *Paracoccus*. Mikrobiologia 100 lat po Robercie Kochu, PTN Warszawa 2010, 12-14.
14. Threlfall E. J., Day M., de Pinna E., Charlett A., Goodyear K. L.: Assessment of factors contributing to changes in the incidence of antimicrobial drug resistance in *Salmonella enterica* serotypes Enteritidis and Typhimurium from humans in England and Wales in 2000, 2002 and 2004. Int. J. Antimicrob. Agents 2006, 28, 389-395.
15. Threlfall E. J., Ward L. R., Frost J. A., Cheasty T., Willshaw G. A.: The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria in the United Kingdom. AUPA Newsletter 1999, 17, 1-7.
16. Yong D., Teleman M. A., Giske C. G., Cho H. S., Sundman K., Lee K., Walsh T. R.: Characterization of a New metallo- β -lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. Antimicrob. Agents. Chemother. 2009, 53, 5046-5054.

Adres autora: prof. dr hab. Marian Truszczyński, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: mtruszc@piwet.pulawy.pl