Lekooporność drobnoustrojów: przyczyny, konsekwencje oraz wyzwania diagnostyczne i terapeutyczne we współczesnej medycynie

ANETA NOWAKIEWICZ¹, PRZEMYSŁAW ZIĘBA², SEBASTIAN GNAT¹,
ALEKSANDRA TROŚCIAŃCZYK¹, MARCELINA OSIŃSKA¹, DOMINIK ŁAGOWSKI¹,
MICHAŁ GONDEK³, PRZEMYSŁAW KNYSZ³, NATALIA SZYSIAK⁴

¹Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej, Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych,

³Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia,

⁴Zakład Patofizjologii, Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych,

Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

²Zakład Higieny Weterynaryjnej, Droga Męczenników Majdanka 50, 20-325 Lublin

Otrzymano 15.08.2021

Zaakceptowano 15.09.2021

Nowakiewicz A., Zięba P., Gnat S., Trościańczyk A., Osińska M.,
Łagowski D., Gondek M., Knysz P., Szysiak N.

Antimicrobial resistance: causes, consequences, diagnostic and therapeutic challenges in modern medicine

Summary

The drug resistance of microorganisms has been a serious threat to public health for several decades. The growing problem of opportunistic infections in recent years and the wide access to antimicrobial drugs in both human and animal medicine determine and drive the complex mechanism related to the spread of antimicrobial resistance. Nevertheless, this phenomenon does not result only from certain practices related to the intensification of livestock production in recent years, which is often indicated as the main cause. Understanding the mechanisms and consequences of drug resistance requires not only the assessment of its contemporary causes, but also a retrospective look and an analysis why modern medicine, despite its extensive research capabilities and profound knowledge, continues to struggle with the problem of microbial insensitivity to most antimicrobials available today. This problem should be considered in the very broad context of the doctrine of "One Health", which includes the dependence in the interconnected system of human–animal–environment.

Keywords: drug resistance, free-living animals, environment, indicator microorganisms

Krótki zarys historyczny pojawienia się lekooporności

Niemalże równolegle z odkryciem pierwszego leku przeciwdrobnoustrojowego ponad 80 lat temu, po raz pierwszy zaobserwowano również zjawisko lekooporności wśród drobnoustrojów zarówno komensalnych jak i patogennych, odpowiedzialnych za infekcje u człowieka i zwierząt. Współczesne problemy związane z drastycznie narastającą opornością drobnoustrojów na antybiotyki, chemioterapeutyki i środki dezynfekcyjne wywodzą się z co najmniej kilku źródeł, a ich początki sięgają lat czterdziestych ubiegłego wieku, kiedy to obok wysokiej skuteczności antybiotyków w zwalczaniu infekcji bakteryjnych u człowieka i zwierząt zaobserwowano również „dobroczynny” z ekonomicznego punktu widzenia,

wpływ antybiotyków stosowanych jako promotory wzrostu w produkcji zwierzęcej (16). Pozamedyczne stosowanie antybiotyków obejmowało również ich użycie w preparatach stosowanych jako opryski roślin i środkach zapobiegających psuciu się żywności, co z kolei napędzało w dynamiczny sposób dalsze rozprzestrzenianie się oporności wśród drobnoustrojów środowiskowych (5). Dodatkowo presja ekonomiczna po II wojnie światowej spowodowała, że jedynym celem stała się produkcja jak największej ilości żywności przy jak najniższych nakładach finansowych czemu bezsprzecznie sprzyjało wykorzystanie antybiotyków jako promotorów wzrostu. W latach pięćdziesiątych pojawiły się pierwsze doniesienia naukowe dotyczące możliwości wymiany, a tym samym rozprzestrzeniania się mechanizmów oporności pomiędzy bakteriami, zwanych obecnie horyzontalną wymianą genów

(HGT – horizontal gene transfer) (6). Udział antybiotyków stał się na tyle istotny, że ich zużycie w celach niemedycznych przez największego, ówczesnego światowego producenta (Stany Zjednoczone) wzrosło ponad trzydziestokrotnie w latach siedemdziesiątych ubiegłego wieku, a „galopujący” wyścig ekonomiczny napędzany dodatkowo sytuacją nieustannego napięcia politycznego i ekonomicznego po obu stronach „żelaznej kurtyny” przesłonił konieczność podjęcia jakichkolwiek działań mających na celu ograniczenie negatywnych skutków, które już ówcześni naukowcy określali jako możliwość powrotu do ery przedantybiotykowej (16). W trakcie pozornie triumfalnego pochodu antybiotyków przez dziesięciolecia związki te postrzegane były tylko i wyłącznie z dobrej strony, a pewnym minimalnym tylko ograniczeniem ich stosowania były obawy konsumentów związane z pozostałościami antybiotyków w żywności. Jednocześnie, substancje te zaczęto oceniać jako potencjalnie toksyczne i karcinogenne dla ludzi. W latach pięćdziesiątych tzw. „konsumenci ekologiczni” stanowili jednak niewielki udział w zapotrzebowaniu rynkowym na żywność, dlatego ograniczono stosowanie niektórych tylko antybiotyków, np. tych pełniących funkcję konserwantów żywności (17).

Główne działania naprawcze związane z ograniczaniem stosowania substancji antybakteryjnych

Lata osiemdziesiąte przyniosły pewien przełom w postrzeganiu nieograniczonego stosowania antybiotyków w szeroko pojętej działalności gospodarczej człowieka. W okresie tym uwidoczniło się bowiem potencjalnie szkodliwe efekty działania antybiotyków dla zdrowia człowieka. Pionierami w tej kwestii okazały się kraje skandynawskie, które jako pierwsze podjęły działania ograniczające stosowanie antybiotyków u zwierząt jako promotorów wzrostu poprzez całkowity lub częściowy zakaz ich stosowania (3, 20). Ponadto zaczęto propagować profilaktykę, np. zmianę warunków chowu zwierząt oraz intensyfikację szczepień zamiast powszechnego stosowania antybiotyków. Sztandarowym przykładem badań, które stanowiły poparcie dla konieczności ograniczenia antybiotyków w produkcji zwierzęcej, było wykrycie i potwierdzenie krzyżowej oporności awoparcyny (antybiotyku stosowanego jako promotor wzrostu u zwierząt) oraz wankomycyny stosowanej jako lek „ostatniej szansy” w leczeniu wielolekoopornych infekcji spowodowanych *Staphylococcus aureus* u człowieka. Wieloletnie badania przeprowadzone w Danii bezpośrednio po zakazie stosowania awoparcyny w 1995 r. i wirginiamycyny w 1998 r. wykazały gwałtowny spadek udziału wankomycynoopornych komensalicznych szczepów *Enterococcus faecium* izolowanych z bioty jelitowej zwierząt hodowlanych, z ponad 70 do kilku procent, zaledwie po pięciu latach od wprowadzenia zakazu (1). Stopniowo kraje skandynawskie zaczęły

wywierać coraz silniejszą presję na pozostałe kraje Europy, co ostatecznie spowodowało, iż z dniem 1 stycznia 2006 r. wprowadzono w Unii Europejskiej zakaz stosowania monenzyny, salinomycyny, awilamycyny i flawofosfolipolu jako promotorów wzrostu u zwierząt (4, <https://amr-review.org/Publications.html> 2014). Podobne działania zostały również zaimplementowane w USA, gdzie w 2017 r. wycofano z użycia, jako promotory wzrostu, antybiotyki istotne z klinicznego punktu widzenia (CIA – clinically important antimicrobials). Wiele innych krajów europejskich wprowadziło również własne, dodatkowe rozwiązania mające na celu monitorowanie zarówno użycia leków, jak i rozwoju lekooporności, m.in. poprzez porównawczy monitoring stosowania leków w poszczególnych farmach, ścisłą kontrolę liczby recept wystawianych na sprzedaż antybiotyków czy też polepszenie koordynacji opieki weterynaryjnej, poprzez przypisanie opieki nad określoną farmą do pojedynczego lekarza weterynarii (24).

Polska jako jeden z krajów Unii Europejskiej (UE) podlega regulacjom wspólnotowym. W UE nad oceną zużycia substancji antybakteryjnych, szacowaniem ryzyka rozwoju oporności drobnoustrojów, a także tworzeniem programów mających na celu redukcję oporności, oprócz parlamentu pracują trzy europejskie agencje: European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), European Food Safety Authority (EFSA) oraz European Medicines Agency (EMA). Od wielu lat realizowane są działania monitoringowe oraz przygotowywane są roczne raporty dotyczące poziomu antybiotykoodporności bakterii zoonotycznych i wskaźnikowych. Procedury monitoringu prowadzone są zgodnie ze zharmonizowanym protokołem dla wszystkich krajów wspólnoty, a dane publikowane są corocznie, począwszy od 2004 r. W kwietniu 2010 r. wystartował również projekt EMA określony jako The European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption (ESVAC) i mający na celu zbieranie danych odnośnie substancji antybiotykooopornych stosowanych u zwierząt w krajach UE. Dane te wspomagają ocenę ryzyka związanego z kierunkiem i rodzajem rozprzestrzeniania się oporności mikroorganizmów.

Pomimo działań podejmowanych przez większość krajów europejskich oraz USA, trendy ogólnoświatowe oraz raporty EMA dotyczące sprzedaży leków wskazują, iż globalny poziom sprzedaży antybiotyków wykorzystywanych w produkcji zwierzęcej wzrasta (www.ema.europa.eu). Granica pomiędzy stosowaniem leków w charakterze promotorów wzrostu, w profilaktyce, w metafilaktyce i terapii, szczególnie u zwierząt hodowlanych, jest bardzo wąska (https://www.pewtrusts.org/~media/assets/2017/07/alternatives_to_antibiotics_in_animal_agriculture.pdf). Wykazano, że jedynie 1/3 antybiotyków stosowanych w tej grupie zwierząt jest wykorzystywana do celów terapeutycznych, zaś pozostała część w celach profi-

laktycznych (zapobieganie chorobom) lub jako promotory wzrostu (<https://amr-review.org/Publications.html> 2014). Szczególnie jest to widoczne w krajach, w których produkcja zwierzęca jest stale intensyfikowana, a sprzedaż antybiotyków gwałtownie wzrasta. Przewiduje się, że do 2030 r. światowe zużycie antybiotyków wzrośnie o co najmniej 67%, a w krajach BRICS (tzw. grupa BRICS: Brazylia, Rosja, Indie, Chiny oraz kraje Afryki Południowej) nawet o 99% (<https://amr-review.org/Publications.html> 2014).

Ponieważ lekooporność drobnoustrojów to obecnie problem ogólnoświatowy, w jej zwalczanie zaangażowała się również Światowa Organizacja Zdrowia (WHO). Według szacunków WHO zjawisko antybiotykooporności stanowi obecnie jedno z najpoważniejszych, globalnych zagrożeń zdrowia publicznego. W rezultacie, w latach 2016-2019 powołano grupę roboczą „Interagency Coordination Group (IACG) on Antimicrobial Resistance”, która zgromadziła partnerów z państw należących do ONZ, organizacje międzynarodowe oraz ekspertów w zakresie zdrowia ludzi, zwierząt i roślin, a także sektora żywności i pasz oraz rozwoju handlu i zanieczyszczeń środowiska. Efektem prac tej grupy był opublikowany w 2019 r. raport pod tytułem „No time to wait” (https://www.who.int/docs/default-source/documents/no-time-to-wait-securing-the-future-from-drug-resistant-infections-en.pdf?sfvrsn=5b424d7_6), określający główne cele oraz przewidywania dotyczące rozwoju oporności drobnoustrojów oraz śmiertelności związanej z leczeniem infekcji powodowanych przez mikroorganizmy wielolekooporne (MDR – multidrug resistant). IACG, według szacunkowych danych, wykazało, iż do 2050 r. 10 milionów ludzi umrze na skutek infekcji powodowanych przez drobnoustroje wielolekooporne jeśli nie zostaną podjęte konkretne działania w związku z ograniczeniem stosowania antybiotyków. Ponadto, IACG zarekomendowała m.in. zdecydowane przyspieszenie działań mających na celu opracowanie i wdrożenie krajowych planów dotyczących zwalczania oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe (projekt pod nazwą One Health National Antimicrobial Resistance Action Plans), konsekwentne wycofywanie antybiotyków stosowanych jako promotory wzrostu, w tym natychmiastowe zaprzestanie stosowania u zwierząt substancji uznanych przez WHO jako krytycznie istotne w medycynie człowieka (<https://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/en>). Wytyczne odnośnie do planów dotyczących zwalczania lekooporności zostały po raz pierwszy wdrożone w 2017 r. przez kraje UE (https://ec.europa.eu/health/antimicrobial-resistance/eu-action-on-antimicrobial-resistance_en), gdzie uwzględniły one konieczność wprowadzenia konkretnych rozwiązań, m.in. pomocy państwom członkowskim w opracowywaniu, wdrażaniu i monitorowaniu ich własnych krajowych planów działania w kontekście „One Health” i w zakresie oporności mikroorgani-

zmów na środki przeciwdrobnoustrojowe. Ponadto projekt ten przewidywał konieczność badań, rozwoju i innowacji celem wypełnienia obecnych luk w wiedzy, dostarczenia nowatorskich rozwiązań i narzędzi do zapobiegania chorobom zakaźnym i ich leczenia, jak również poprawę diagnostyki w celu kontrolowania rozprzestrzeniania się oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe.

Bezpośrednim efektem wyżej wymienionych działań było ustanowienie przez Parlament Europejski i Radę Rozporządzenia 2019/6, które wprowadza od 2022 r. zakaz stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych w profilaktyce (bezpośrednio i w paszach), ogranicza ich wskazania do stosowania w metafilaktyce, określa wskazania i sposób eliminacji w produkcji zwierzęcej leków stosowanych wyłącznie w medycynie człowieka, wprowadza obowiązek monitorowania sprzedaży i zużycia środków przeciwdrobnoustrojowych oraz zakazuje stosowania antybiotyków jako promotorów wzrostu w produktach pochodzących spoza obszaru UE (32).

Ograniczenie stosowania substancji antybakteryjnych u zwierząt hodowlanych jest również jednym z założeń holistycznej strategii „od pola do stołu” (from farm to fork), która jest centralnym elementem Europejskiego Zielonego Ładu, a którego głównym założeniem jest uczynienie systemów żywnościowych bardziej sprawiedliwymi, zdrowymi i przyjaznymi dla środowiska (8). Strategia ta ma również na celu wprowadzenie zasad zrównoważonego systemu produkcji żywności, który powinien: mieć neutralny lub pozytywny wpływ na środowisko, pomagając m.in. złagodzić zmiany klimatyczne, dostosować się do ich skutków i odwrócić utratę różnorodności biologicznej, a także zapewnić bezpieczeństwo żywnościowe i pozytywnie wpływać na zdrowie publiczne. Cele te mają zostać osiągnięte m.in. poprzez redukcję do 2030 r. o co najmniej 50% sprzedaży substancji antybakteryjnych wykorzystywanych w hodowli zwierząt rzeźnych i akwakulturze (https://ec.europa.eu/food/horizontal-topics/farm-fork-strategy_pl).

Najważniejsze źródła i rezerwuary lekoopornych drobnoustrojów

Pomimo licznych badań oraz działań nakierowanych głównie na ograniczenie stosowania antybiotyków w produkcji zwierzęcej, hodowla zwierząt stanowiących źródło żywności nie stanowi jedynej przyczyny zagrożenia zdrowia publicznego związanej z antybiotykoopornością drobnoustrojów. Pewnym uderzającym elementem wszystkich dotychczas podejmowanych działań jest zwracanie uwagi właśnie na to ogniwo. Chociaż One Health Action Plan – dokument z 2017 r. (https://ec.europa.eu/health/antimicrobial-resistance/eu-action-on-antimicrobial-resistance_en) w jednym ze swych rozdziałów zwraca uwagę, iż środowisko jest coraz częściej uznawane za czynnik przyczyniający się do rozwoju i rozprzestrzeniania się oporności

na środki przeciwdrobnoustrojowe u ludzi i zwierząt, w szczególności w obszarach wysokiego ryzyka (odpady komunalne i produkcyjne), to nadal potrzebne są mocne dowody, aby przekonać osoby decyzyjne do podjęcia wiążących działań zapobiegających temu zjawisku. Autorzy dokumentu przyznają również, iż istnieje poważny niedosyt wiedzy na temat uwalniania i rozprzestrzeniania się lekoopornych mikroorganizmów w środowisku oraz zagrożeń, jakie zjawisko to stwarza dla zdrowia ludzi i zwierząt.

Pośród wielu wymienionych działań, m.in. oceny uwalniania środków przeciwdrobnoustrojowych do środowiska w obszarach ryzyka, konieczności opracowania nowych technologii umożliwiających wydajną i szybką degradację środków przeciwdrobnoustrojowych w środowisku, uwagę zwrócono również na rozwój zharmonizowanego programu monitorowania środków przeciwdrobnoustrojowych i lekoopornych drobnoustrojów w środowisku. Jeśli bowiem tego typu dane zostałyby uzyskane, stanowiłoby to podstawę do opracowania metodologii oceny ryzyka zagrożeń dla zdrowia ludzi i zwierząt. Jest to również o tyle uzasadnione, iż w przypadku zwierząt hodowlanych oraz środowiska szpitalnego działania takie realizowane są już od wielu lat, a dane z badań monitoringowych prezentowane są corocznie w formie raportu (9), obejmującego informacje dotyczące oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe bakterii zoonotycznych i wskaźnikowych, w tym *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *E. coli* oraz metycylionopornych szczepów *Staphylococcus aureus* (MRSA). Monitoring realizowany zgodnie z określonymi wytycznymi w wielu krajach jednocześnie umożliwia pełną analizę danych porównawczych i określenie trendów związanych z kierunkiem, rodzajem i poziomem lekooporności drobnoustrojów. To z kolei sankcjonuje i umożliwia podjęcie realnych działań przez odpowiedzialne instytucje.

W podobny sposób realizowany jest monitoring izolatów pochodzących od człowieka z inwazyjnych przypadków infekcji. Dane z kilkunastu krajów europejskich są przesyłane do EARS-Net (The European Antimicrobial Resistance Surveillance Network – europejski system nadzoru nad opornością na środki przeciwdrobnoustrojowe) i corocznie raportowane (ECDC surveillance). W tym przypadku analizowane są również określone gatunki mikroorganizmów chorobotwórczych (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* sp., *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*) o określonym fenotypie oporności, wytypowanym w oparciu o listę drobnoustrojów opracowaną i opublikowaną przez WHO (<https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>). Lista taka została po raz pierwszy stworzona w 2017 r. i obejmuje najważniejsze drobnoustroje lekooporne w kontekście globalnym, dla których istnieje

pilna potrzeba opracowania nowych metod leczenia. Drobnoustroje zostały zaklasyfikowane do trzech grup, tj. jako krytyczne oraz o wysokim i średnim priorytecie; do grupy pierwszej przyporządkowano m.in. bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* (w tym *E. coli*) odporne na karbapenemy oraz cefalosporyny trzeciej generacji, a do drugiej wankomycynooporne bakterie z rodzaju *Enterococcus*.

Obok zbiorczych raportów, w których dane pochodzą z kilkunastu krajów Europy, większość krajów UE przygotowuje również własne raporty krajowe, stanowiące zbiór danych dotyczących wytypowanych grup drobnoustrojów o określonym fenotypie oporności. W tym kontekście już od kilku lat ze względu na stabilną sytuację związaną z występowaniem oporności na glikopeptydy, zbiorcze raporty EFSA pomijają analizę lekoopornych szczepów z rodzaju *Enterococcus* (głównie *E. faecium* i *E. faecalis*) izolowanych od zwierząt, niemniej niektóre kraje (głównie skandynawskie) w dalszym ciągu prowadzą monitoring tych drobnoustrojów, również w produktach pochodzenia zwierzęcego (SVARM, DANMAP).

Należy jednak zauważyć, że w przypadku badań monitoringowych ze względu na relatywnie ich szeroki zakres, z jednej strony umożliwiający analizę porównawczą dużej, reprezentatywnej puli próbek, z drugiej zaś duży koszt, badania takie ograniczają się jedynie do analizy oporności na poziomie fenotypu. Lukę zaś związaną z analizą mechanizmów lekooporności na poziomie molekularnym wypełnia ogromna liczba prac i doniesień naukowych, które zaczęły regularnie pojawiać się już pod koniec lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku. Dzięki połączeniu wyników monitoringu oraz kompleksowych analiz genetycznych podstaw przenoszenia i rozprzestrzeniania się określonych mechanizmów odpowiedzialnych za powstawanie fenotypowej niewrażliwości mikroorganizmów, istnieje możliwość przewidzenia kierunku rozwoju oporności drobnoustrojów. Dobrym przykładem takiej analizy jest wykazanie w ostatnich kilkunastu latach lawinowo narastającej oporności nabytej na poszerzone spektrum antybiotyków β -laktamowych, w tym na trzecią generację cefalosporyn i karbapenemów, oporności na fluorochinolony (PMQR, plasmid mediated quinolone resistance) oraz oporności na kolistynę, wśród istotnych z klinicznego punktu widzenia, pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*, np. *E. coli* czy *Klebsiella* spp., izolowanych od zwierząt. Obecność tego typu mechanizmów oporności, szybko i łatwo rozprzestrzeniających się na drodze horyzontalnej wymiany genów niesie ze sobą ryzyko pojawienia się wysoce opornych szczepów drobnoustrojów, tzw. szczepów szpitalnych, stanowiących szczególnie w dobie obecnych zagrożeń chorobami wirusowymi, istotne ryzyko występowania niepoddających się leczeniu koinfekcji. Z drugiej zaś strony możliwość wymiany genów oporności pomiędzy gatunkami komensalicznymi i gatunkami

patogennymi, stanowi również istotne zagrożenie dla zdrowia publicznego.

Podstawowe mechanizmy determinujące lekooporność w relacji człowiek–zwierzę–środowisko

Dotychczasowa, kilkudziesięcioletnia analiza drobnoustrojów zarówno wskaźnikowych, jak i chorobotwórczych, pochodzących z różnych źródeł (człowiek, zwierzę, próby środowiskowe) i grup gospodarzy (człowiek, zwierzęta gospodarskie, zwierzęta towarzyszące, zwierzęta egzotyczne, wolno żyjące, w tym grupy poddawane i niepoddawane celowanej terapii, zatem uwzględniające presję selekcyjną), wykazała, iż bez względu na źródło szczepu, mechanizmy determinujące oporność danego gatunku drobnoustroju na określoną grupę leków są takie same. Co więcej, w przypadku niektórych mechanizmów wykazano, iż w wyniku wymiany horyzontalnej pomiędzy różnymi taksonami, niekiedy odległymi filogenetycznie, te same geny oporności ewolucyjnie zaczynają pojawiać się w podobnie wysokim odsetku u więcej niż jednego gatunku, a nawet rodzaju drobnoustroju. Dodatkowym efektem promującym to zjawisko jest oporność krzyżowa dotycząca większości grup leków, co w konsekwencji powoduje, iż jeden mechanizm może wywołać niewrażliwość nawet na lek, który dotychczas nigdy nie był stosowany u danej grupy docelowej. Przykładowo, badania lekowrażliwości szczepów *E. faecalis* izolowanych od świń i drobiu wykazały relatywnie wysoki odsetek oporności na ciprofloksacynę mimo iż nigdy nie była ona stosowana u tych grup zwierząt (substancja stosowana wyłącznie w medycynie człowieka). Równoległa analiza lekowrażliwości tych samych szczepów na enrofloksacynę (substancja stosowana wyłącznie w leczeniu zwierząt) wykazała identyczny zakres niewrażliwości na obie te substancje należące do grupy fluorochinolonów (28, 29). Aby zahamować tego typu zjawiska, w 2017 r., WHO stworzyła narzędzie zwane AWaRe (nazwa pochodzi od pierwszych liter kategorii leków w języku angielskim, tj. Access, Watch, Reserve) (https://www.who.int/medicines/news/2019/WHO_releases2019AWaRe_classification_antibiotics/en/), mające na celu ograniczenie stosowania leków związanych z najwyższym ryzykiem wystąpienia oporności. Narzędzie to zdefiniowało możliwości korzystania z leków zarówno w medycynie ludzkiej, jak i weterynarii w skali trzystopniowej: 1 – antybiotyki, które działają przeciwko szerokiemu zakresowi powszechnie występujących patogenów, a jednocześnie wykazują niższy potencjał oporności niż antybiotyki z innych grup, 2 – antybiotyki, których podaż należy rozważyć i nie stosować jako leki pierwszego rzutu, oraz 3 – leki zarezerwowane tylko do leczenia ciężkich przypadków infekcji wywołanych przez wielolekooporne drobnoustroje. Celem podjętych w ten sposób działań jest spowodowanie, aby do 2023 r. 60% sto-

sowanych substancji przeciwbakteryjnych należało do grupy pierwszej. Dlatego do najważniejszych założeń programu należy monitorowanie użycia poszczególnych substancji w medycynie człowieka i weterynarii w aspekcie kategoryzacji poszczególnych leków, uwzględnienie w krajowych i lokalnych przepisach kategoryzacji leków oraz włączenie w programy dydaktyczne i szkoleniowe dedykowane pracownikom medycznym i weterynaryjnym zasad kategoryzacji leków zalecanej przez WHO.

Lekooporność wśród drobnoustrojów izolowanych zarówno od człowieka, jak i od zwierząt nierozdzielnie wiąże się z obecnością tych samych drobnoustrojów w środowisku. Badania prowadzone przez różne ośrodki naukowe wykazały obecność zarówno pozostałości leków w środowisku (długotrwałe zjawisko utrzymywania się leków wydalanych przez zwierzęta wraz z moczem i kałem), jak również obecność lekoopornych drobnoustrojów w tym samym materiale odzwierzęcym oraz w ściekach pochodzących z jednostek opieki zdrowotnej (szpitale) (18, 22). Obecność substancji przeciwbakteryjnych w niższych koncentracjach (poniżej minimalnej wartości hamującej [MIC] w środowisku) zdecydowanie promuje horyzontalną wymianę mechanizmów oporności aktywowaną presją selekcyjną (21), ostatecznie zwiększając pulę lekoopornych drobnoustrojów. Drugim potencjalnym źródłem lekooporności w środowisku jest niewłaściwa utylizacja nawozów wytwarzanych podczas hodowli zwierząt. Biorąc pod uwagę, iż w przypadku niektórych krajów aż 80% sprzedanych leków przeznaczonych jest do użytku weterynaryjnego, a stężenie leków w przeliczeniu na biomasę ludzi i zwierząt jest dwukrotnie wyższe dla tej ostatniej grupy, należy przypuszczać, iż ogromna ilość leków przeciwbakteryjnych oraz potencjalnie wielolekoopornych patogenów pojawia się w środowisku na skutek aktywności gospodarczej związanej z produkcją zwierzęcą (18). Ponadto, szpitale mogą również stanowić źródło zanieczyszczeń środowiska, szczególnie biorąc pod uwagę, iż są to miejsca, w których ze względu na zużycie antybiotyków pojawia się presja selekcyjna oraz występuje stałe wprowadzanie „nowych” klonów do środowiska wraz z kolejnymi pacjentami, dzięki czemu tworzą się doskonałe warunki do powstawania nowych form oporności i pojawiania się kolejnych mozaikowych lekoopornych profili wśród drobnoustrojów. Jednak nawet jeśli rola szpitali i innych jednostek opieki zdrowotnej w tworzeniu, koncentracji i rozpowszechnianiu genów oporności wydaje się oczywista, ogólny ich udział jako źródeł oporności środowiskowej jest w rzeczywistości niewielki. Wynika to z faktu, iż wkład szpitali w tworzenie całkowitej ilości ścieków jest stosunkowo niski w porównaniu z ogólną populacją (~1%) (19), chociaż szacunki dotyczące udziału szpitali w generowaniu odporności środowiskowej są zróżnicowane i w zależności od określonych gatunków i fenotypów lekoopornych drobnoustrojów, w nie-

których przypadkach mogą sięgać nawet 33% (15). Szpitale zapewniają również stosunkowo kontrolowane środowiska, a ewolucję oporności drobnoustrojów można łatwo śledzić (monitoringi infekcji szpitalnych), a następnie podejmować odpowiednie działania w celu jej ograniczenia. W przeciwieństwie do tego, stosowanie antybiotyków w populacji ogólnej w dużej mierze przebiega bez nadzoru. Badania przeprowadzone przez CDC (Centers for Disease Control and Prevention) w 2017 r. w USA wykazały, że niewłaściwe stosowanie antybiotyków, w tym niepotrzebne stosowanie i niewłaściwy ich dobór, dawkowanie i czas trwania kuracji, może obejmować aż 50% całkowitego ambulatoryjnego stosowania leków przeciwbakteryjnych (34). Co więcej, wykazano, że co najmniej 30% antybiotyków przepisywanych w warunkach ambulatoryjnych było nieuzasadnione, ponieważ w określonej sytuacji nie było medycznego wskazania do ich użycia (11). Nawet przy prawidłowym stosowaniu należy jednak mieć na uwadze, że około 70% środków antybakteryjnych przechodzi w niezmiennionej postaci do układu pokarmowego człowieka lub jest wydalone z moczem (19). Wszystkie te leki, w połączeniu z wielolekoopornymi drobnoustrojami i zbiorem genów zaangażowanych w tworzenie oporności (resistome), są łączone w ściekach komunalnych, których ilość zdecydowanie przeważa nad ściekami szpitalnymi, a to z kolei każe przypuszczać, że większość lekooporności pochodzi z populacji ogólnej. Ścieki stanowią szczególnie bogate w składniki odżywcze środowisko, sprzyjające kumulacji drobnoustrojów. Pomimo zastosowania różnych procesów biologicznych i fizykochemicznych do ich biodegradacji i zmniejszenia całkowitej liczby patogenów w trakcie stosowania poszczególnych procesów, silna presja selekcyjna może zwiększyć udział co prawda mniejszej liczby patogenów, ale wysoce opornych (31). Procedury wykorzystywane w trakcie oczyszczania nie są również w stanie zredukować obecności genów oporności (2), zatem finalnie mogą one pojawiać się w środowisku i w wyniku procesów transformacji, być następnie inkorporowane do kolejnych komórek bakteryjnych. Z tych powodów ścieki i systemy oczyszczania często są określane jako tzw. „hotspoty” zmian ewolucyjnych drobnoustrojów, szczególnie w aspekcie nabywania, wymiany czy pojawiania się nowych mechanizmów oporności na antybiotyki (31).

Biologiczne „hotspoty”, takie jak oczyszczalnie czy farmy zwierząt stanowiące źródła nawozów pochodzenia zwierzęcego, stanowią punkt wyjściowy do dalszego rozprzestrzeniania się zarówno wielolekoopornych patogenów, genów oporności, a także pozostałości leków. Te ostatnie, znajdując się w dawkach podprogowych w środowisku, nasilają presję selekcyjną w stosunku do drobnoustrojów środowiskowych, a tym samym napędzają dodatkowo zjawisko oporności. Proces dalszego rozprzestrzeniania drobnoustrojów lub genów odbywa się przy udziale różnego rodzaju

wektorów, w tym za najbardziej wydajne uważa się wody powierzchniowe (33). Szczególnie wody rzek stanowią drogę transportu zarówno dla lekoopornych drobnoustrojów (7), jak i genów oporności (18, 33). Ponadto, również mikroaerozol, szczególnie na obszarach wysoce zanieczyszczonych (oczyszczalnie ścieków, wielkotowarowe hodowle zwierząt) może mieć udział w rozprzestrzenianiu się lekooporności w środowisku (23).

Za swego rodzaju wektory, a nawet rezerwuary uważane są również wolno żyjące zwierzęta kręgowce i bezkręgowce. W przypadku zwierząt bezkręgowych najlepiej przebadanym rezerwuarem są muchy (najczęściej *Musca domestica*) oraz karaluchy ze względu na fakt, iż są to insekty bytujące w najbliższym otoczeniu człowieka i zwierząt hodowlanych (domostwa oraz farmy). W co najmniej kilkunastu opracowaniach wykazano, iż muchy odławiane na terenie farm bydła, świń czy fermach drobiu są nosicielami takich patogenów, jak oporne na cefalosporyny, karbapenemy lub kolistynę szczepy *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., metycylinyoporne szczepy *Staphylococcus aureus* czy wankomycynoporne szczepy *Enterococcus faecium* (30). Muchy mogą aktywnie przenosić drobnoustroje na relatywnie duże odległości (nawet do 5-7 km) w sposób mechaniczny (na odnóżach) albo w przewodzie pokarmowym w wyniku spożycia, np. kału zwierząt, w którym znajdują się lekooporne drobnoustroje (12). Badania Wang i wsp. (36) wykazały obecność tych samych genotypów kolistynoopornych szczepów *E. coli* zarówno w przewodzie pokarmowym owadów, jak i farmerów zajmujących się hodowlą drobiu na tej samej fermie, co świadczy o możliwości rozprzestrzeniania się resistomu również przy udziale bezkręgowców. W przypadku karaczanów jako wektorów badania prowadzono najczęściej odławiając owady na terenie centrów medycznych (szpitale) (*Blattella germanica* oraz *Periplaneta americana*) (10), wykrywając wielolekooporne drobnoustroje z rodzaju *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*. Znacznie rzadziej badane są natomiast inne bezkręgowce, jak np. mrówki czy pszczoły (13). W świetle doniesień z ostatnich lat, zwierzęta wolno żyjące wydają się najbardziej interesującą grupą pod względem obecności zarówno patogenów zoonotycznych, jak i specyficznych typów drobnoustrojów lekoopornych. Badania prowadzone w tej niezwykle zróżnicowanej grupie dostarczają coraz więcej danych potwierdzających istotny udział zwierząt nieudomowionych w zjawisku rozprzestrzeniania się lekooporności w środowisku. Ze względu na fakt, iż znakomita większość gatunków zwierząt nie jest poddawana celowanej terapii, wyniki badań poziomu lekooporności mikrobioty zwierząt wolno żyjących zdają się stanowić doskonałe odzwierciedlenie realnego poziomu lekooporności w środowisku (35). Badanie zwierząt wolno żyjących, będących rezerwuarem dla antybiotykoopornych drobnoustrojów, posiada jednak wiele ograniczeń. Przede wszystkim największym pro-

blemem jest dobór odpowiedniej puli reprezentatywnych prób, co wiąże się z ograniczonym dostępem do poszczególnych gatunków zwierząt wolno żyjących. Większość gatunków wolno żyjących zwierząt objęta jest bowiem ochroną prawną i celowa immobilizacja, ich odławianie lub zabijanie celem tylko i wyłącznie pozyskania prób jest niedozwolone. Pozyskiwanie zatem tego typu prób możliwe jest najczęściej jedynie przy okazji przeprowadzania innych czynności (badania telemetryczne, badania lekarsko-weterynaryjne, obligatoryjne badania urzędowe w kierunku innych chorób) za zgodą stosownych władz. W związku z tym w większości ośrodków naukowych przeprowadzono niewiele badań z wykorzystaniem reprezentatywnej puli prób, a większość publikacji powstała w oparciu o dane o charakterze dysjunktywnym. Swoistą alternatywą jest kolekcjonowanie zbiorczych prób ze środowiska (np. odchody zwierząt), niemniej jednak takie badania również obarczone są dużym ryzykiem błędu ze względu na wpływ czynników środowiskowych oraz brak możliwości dokładnego oszacowania badanej liczby zwierząt.

Duże zróżnicowanie wyników badań nad lekoopornością drobnoustrojów izolowanych od zwierząt wolno żyjących wynika z ogromnej różnorodności gatunków, a tym samym zróżnicowanej diety, cyklu życiowego czy behawioru, który z kolei nierozzerwalnie wiąże się ze stopniem synantropizacji poszczególnych gatunków zwierząt. Szerokie badania przeprowadzone przez nasz zespół wykazały, że gatunki związane z siedzibami człowieka (nietoperze) (25, 27) i gatunki drapieżne (jenoty, lisy, kuny), których dieta ze względu na różnorodność niższych pięter piramidy pokarmowej niejako kumuluje drobnoustroje lekooporne (26), są niemal w 50% skolonizowane przez wielolekooporne szczepy gatunków wskaźnikowych *Escherichia coli* lub *Enterococcus* spp. Taki wynik bezwzględnie wskazuje na wysoki stopień kontaminacji środowiska i potwierdza konieczność kontynuacji badań na szerszą skalę lub włączenie wybranych gatunków zwierząt wolno żyjących w cykl obligatoryjnego monitoringu w aspekcie wykrywania drobnoustrojów lekoopornych.

Konkludując, lekooporność drobnoustrojów i związane z tym trudności terapeutyczne prawdopodobnie będą w dalszym ciągu stanowić jedno z najważniejszych wyzwań zarówno w medycynie ludzkiej, jak i zwierząt. Niemniej należy również pamiętać o złożonej roli ekologicznej, jaką antybiotyki odgrywają i odgrywały od setek lat w ekosystemach środowiskowych. Oporność wśród drobnoustrojów nie jest w rzeczywistości zjawiskiem nowym, co potwierdza szereg badań zrealizowanych w środowiskach dziewiczych pod względem aktywności człowieka. Z reguły zarówno funkcjonalne geny oporności, jak i wirulencji są łatwo wykrywane w takich środowiskach, ponieważ drobnoustroje wykorzystują ich ekspresję do zwiększenia swojej konkurencyjności w danej niszy ekologicznej (14). Wraz ze zwiększeniem ilości stosowanych sub-

stancji antybakteryjnych zauważalny jest silnie odczuwalny wzrost istotnych z klinicznego punktu widzenia drobnoustrojów wielolekoopornych, jak również wzrost częstości występowania identycznych genów oporności, zarówno w próbkach środowiskowych, jak i klinicznych. Zjawisko lekooporności zdecydowanie wpisuje się w doktrynę „Jedno zdrowie” i wyraźnie wskazuje że człowiek–zwierzę–środowisko stanowią wzajemnie powiązany system cyrkulacji lekooporności mikroorganizmów.

Piśmiennictwo

1. Aarestrup F. M., Seyfarth A. M., Emborg H.-D., Pedersen K., Hendriksen R. S., Bager F.: Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001, 45, (7), 2054-2059.
2. Bürgmann H., Frigon D., Gaze W. H., Manaia C. M., Pruden A., Singer A. C., Smets B. F., Zhang T.: Water and sanitation: An essential battlefield in the war on antimicrobial resistance. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2018, 94, fty101.
3. Casewell M., Friis C., Marco E., McMullin P., Phillips J.: The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003, 52, 159-161.
4. Castanon J. I. R.: History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Sci.* 2007, 86, 2466-2471.
5. Culver K., Castle D.: Editors' introduction, [w:] Culver K. (red.): *Aquaculture, innovation and social transformation*, Springer 2018, 1-20.
6. Davies J., Davies D.: Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. Mol. Biol. R.* 2010, 74, 417-433.
7. Dhawde R., Macaden R., Saranath D., Nilgiriwala K., Ghadge A., Birdi T.: Antibiotic resistance characterization of environmental *E. coli* isolated from river Mula-Mutha, Pune District, India. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2018, 15, 1247.
8. EMA Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP), EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Murphy D., Ricci A., Auce Z., Beechinor J. G., Bergendahl H., Breathnach R., Bureš J., Da Silva J. P. D., Hederová J., Hekman P., Ibrahim C., Kozhuharov E., Kulcsár G., Lander Persson E., Lenhardsson J. M., Mačiulskis P., Malemis I., Markus-Cizelj L., Michaelidou-Patsia A., Nevalainen M., Pasquali P., Rouby J.-C., Schefferlie J., Schlumbohm W., Schmit M., Spiteri S., Srčić S., Taban L., Tiirats T., Urbain B., Vestergaard E.-M., Wachnik-Święcicka A., Weeks J., Zemann B., Allende A., Bolton D., Chemaly M., Salvador Fernandez Escamez P., Girones R., Herman L., Koutsoumanis K., Lindqvist R., Nørrung B., Robertson L., Ru G., Sanaa M., Simmons M., Skandamis P., Snary E., Speybroeck N., Ter Kuile B., Wahlström H., Baptiste K., Catry B., Cocconcilli P. S., Davies R., Ducrot C., Friis C., Jungersen G., More S., Muñoz Madero C., Sanders P., Bos M., Kunsagi Z., Torren Edo J., Brozzi R., Candiani D., Guerra B., Liebana E., Stella P., Threlfall J., Jukes H.: EMA and EFSA Joint Scientific Opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on food safety (RONAFA). *EFSA J.* 2017, 15, 245.
9. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control: The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017/2018. *EFSA J.* 2020, 18, 6007.
10. Fakoorziba M. R., Shahriari-Namadi M., Moemenbellah-Fard M. D., Hatam G. R., Azizi K., Amin M., Motevasel M.: Antibiotics susceptibility patterns of bacteria isolated from American and German cockroaches as potential vectors of microbial pathogens in hospitals. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 2014, 4 (Suppl 2), S790-S794.
11. Fleming-Dutra K. E., Hersh A. L., Shapiro D. J., Bartoces M., Enns E. A., File T. M., Finkelstein J. A., Gerber J. S., Hyun D. Y., Linder J. A., Lynfield R., Margolis D. J., May L. S., Merenstein D., Metlay J. P., Newland J. G., Piccirillo J. F., Roberts R. M., Sanchez G. V., Suda K. J., Thomas A., Woo T. M., Zetts R. M., Hicks L. A.: Prevalence of inappropriate antibiotic prescriptions among us ambulatory care visits, 2010-2011. *JAMA* 2016, 315 (17), 1864-1873.
12. Fotadar R.: Vector potential of houseflies (*Musca domestica*) in the transmission of *Vibrio cholerae* in India. *Acta Trop.* 2001, 78, 31-34.
13. Gwenzi W., Chaukura N., Muisa-Zikali N., Teta C., Musvuugwa T., Rzymiski P., Abia A. L. K.: Insects, rodents, and pets as reservoirs, vectors, and sentinels of antimicrobial resistance. *Antibiotics* 2021, 10, 68.

14. Haan T. J., Drown M. D.: Unearthing antibiotic resistance associated with disturbance-induced permafrost thaw in interior Alaska. *Microorganisms* 2021, 9 (1), 116.
15. Hocquet D., Muller A., Bertrand X.: What happens in hospitals does not stay in hospitals: Antibiotic-resistant bacteria in hospital wastewater systems. *J. Hosp. Infect.* 2016, 93, 395-402.
16. Kirchhelle C.: Pharming animals: a global history of antibiotics in food production (1935-2017). Palgrave Commun. 2018, 4, 96.
17. Kirchhelle C.: Swann song British antibiotic regulation in livestock production (1953-2006). *Bull. Hist. Med.* 2018, 92, 317-350.
18. Kraemer S. A., Ramachandran A., Perron G.: Antibiotic pollution in the environment: from microbial ecology to public policy. *Microorganisms* 2019, 7 (6), 180.
19. Kümmerer K.: Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part II. *Chemosphere* 2009, 75, 435-441.
20. Markestad A., Grave K.: Reduction of antibacterial drug use in Norwegian fish farming due to vaccination. *Dev. Biol. Stand.* 1997, 90, 365-369.
21. Martínez J. L.: Effect of antibiotics on bacterial populations: A multi-hierarchical selection process. *F1000Research* 2017, 6, 51.
22. Matjuda D. S., Aiyegoro O. A.: Analysis of bacteriological pollution and the detection of antibiotic resistance genes of prevailing bacteria emanating from pig farm seepage. *Microbiology Open* 2019, 8 (5), e00737.
23. McEachran A. D., Blackwell B. R., Hanson J. D., Wooten K. J., Mayer G. D., Cox S. B., Smith P. N.: Antibiotics, bacteria, and antibiotic resistance genes: Aerial transport from cattle feed yards via particulate matter. *Environ. Health Perspect.* 2015, 123, 337-343.
24. More S. J.: European perspectives on efforts to reduce antimicrobial usage in food animal production. *Irish Vet. J.* 2020, 73, 2.
25. Nowakiewicz A., Zięba P., Gnat S., Osińska M., Łagowski D., Kosior-Korzecka U., Puzio I., Król J.: Analysis of the occurrence and molecular characteristics of drug-resistant strains of *Enterococcus faecalis* isolated from the gastrointestinal tract of insectivorous bat species in Poland: A possible essential impact on the spread of drug resistance? *Environ. Poll.* 2021, vol. 269 Part A, Article number 116099.
26. Nowakiewicz A., Zięba P., Gnat S., Trościańczyk A., Osińska M., Łagowski D., Kosior-Korzecka U., Puzio I.: A significant number of multi-drug resistant *Enterococcus faecalis* in wildlife animals; long-term consequences and new or known reservoirs of resistance? *Sci. of the Total Environ.* 2020, vol. 705, 1-12.
27. Nowakiewicz A., Zięba P., Gnat S., Trościańczyk A., Osińska M., Łagowski D., Kosior-Korzecka U., Puzio I.: Bats as a reservoir of resistant *Escherichia coli*: A methodical view. Can we fully estimate the scale of resistance in the reservoirs of free-living animals? *Res. in Vet. Sci.* 2020, vol. 128, 49-58.
28. Nowakiewicz A., Ziolkowska G., Trościańczyk A., Zięba P., Gnat S.: Determination of resistance and virulence genes in *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* strains isolated from poultry and their genotypic characterization by ADSRRS-fingerprinting. *Poult. Sci.* 2017, 96, 986-996.
29. Nowakiewicz A., Ziolkowska G., Zięba P., Gnat S., Trościańczyk A., Adaszek L.: Characterization of multidrug resistant *E. faecalis* strains from pigs of local origin by ADSRRS-fingerprinting and MALDI-TOF MS; evaluation of the compatibility of methods employed for multidrug resistance analysis. *Plos One* 2017, 12, e0171160.
30. Onwugamba F. C., Fitzgerald J. R., Rochon K., Guardabassi L., Alabie A., Kühnig S., Grobusch M. P., Schaumburg F.: The role of 'filth flies' in the spread of antimicrobial resistance. *Travel Med. Infect. Dis.* 2018, 22, 8-17.
31. Rizzo L., Manaia C., Merlin C., Schwartz T., Dagot C., Ploy M. C., Michael I., Fatta-Kassinos D.: Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. *Sci. Total Environ.* 2013, 447, 345-360.
32. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) Nr 2019/6 z dnia 11 grudnia 2018 r. w sprawie weterynaryjnych produktów leczniczych i uchylające dyrektywę 2001/82/WE.
33. Sabri N. A., Schmitt H., Van der Zaan B., Gerritsen H. W., Zuidema T., Rijnaarts H. H. M., Langenhoff A. A. M.: Prevalence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a wastewater effluent-receiving river in the Netherlands. *J. Environment. Chem. Engineering* 2020, 8, 102245.
34. Shapiro D. J., Hicks L. A., Pavia A. T., Hersh A. L.: Antibiotic prescribing for adults in ambulatory care in the USA, 2007-2009. *J. Antimicrob. Chemother.* 2014, 69 (1), 234-240.
35. Swift B. M. C., Bennett M., Waller K., Dodd C., Murray A., Gomes R. L., Humphreys B., Hobman J. L., Jones M. A., Whitlock S. E., Mitchell L. J., Lennon R. J., Arnold K. E.: Anthropogenic environmental drivers of antimicrobial resistance in wildlife. *Sci. Total Environ.* 2019, 649, 12-20.
36. Wang Y., Zhang R., Li J., Wu Z., Yin W., Schwarz S., Tyrrell J. M., Zheng Y., Wang S., Shen Z., Liu Z., Liu J., Lei L., Li M., Zhang Q., Wu C., Zhang Q., Wu Y., Walsh T. R., Shen J.: Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese poultry production. *Nature Microbiology* 2017, 2, 16260.

Autor korespondencyjny: dr hab. Aneta Nowakiewicz, prof. uczelni, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin; e-mail: aneta.nowakiewicz@up.lublin.pl