

# Antybiotykooporność *Campylobacter* – aspekty epidemiologiczne i zagrożenie zdrowia publicznego<sup>\*)</sup>

KINGA WIECZOREK, IWONA KANIA, JACEK OSEK

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego  
– Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Wieczorek K., Kania I., Osek J.

## Antimicrobial resistance of *Campylobacter* – epidemiological aspects and public health threat

### Summary

*Campylobacter* are the most common bacterial cause of food-borne gastrointestinal infections in humans in developed countries. Macrolides and fluoroquinolones (FQ) are regarded as drugs of choice for the treatment of campylobacteriosis. Moreover, fluoroquinolones such as ciprofloxacin have been used for the first-line treatment of bacterial gastroenteritis in the absence of confirmed microbiological diagnosis. The fluoroquinolone resistance is mainly caused by a single step point mutation in the gyrase *gyrA* gene. The major mechanism conferring the resistance to macrolides consists of an alternation of the target site in domain V of the 23S ribosomal RNA gene. During 2004-2008 European Union Member States provided much information to EFSA on the occurrence of antimicrobial resistance in *Campylobacter* isolated from animals and food. Different resistance levels to antimicrobials was found among the isolates tested. For some antimicrobials, large differences in the occurrence of resistance were observed between the Member States. Some of them reported a high percentage of *Campylobacter* isolates recovered from poultry, pigs and cattle, as well as from meat resistant to fluoroquinolones. This suggests that due to the use of antimicrobial agents, particularly FQ, in food-producing animals, *Campylobacter* spp. developed resistance. Resistant strains could be transferred from animals to man by the food chain and constitute a hazard for public health; not all data, however, support this view. Some authors suggest that although some antibiotics are used in both animals and humans, most of the resistance problems in humans have arisen from human medicine. At any rate, a rational and prudent use of antibiotics in both areas is strongly recommended.

**Keywords:** *Campylobacter*, antibiotics resistance, food producing animals, human health risk

Termotolerancyjne *Campylobacter* są obecnie głównym czynnikiem powodującym zatrucia pokarmowe u ludzi w krajach rozwiniętych ([www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu)). Te Gram-ujemne bakterie bytują w przewodzie pokarmowym wielu zwierząt, szczególnie ptaków dzikich i hodowlanych jako mikroflora towarzysząca. Transmisja *Campylobacter* na ludzi odbywa się zwykle poprzez spożycie żywności pochodzenia zwierzęcego, a w szczególności niedogotowanego mięsa drobiowego, niepasteryzowanego mleka czy innych produktów zanieczyszczonych wtórnie tymi bakteriami w trakcie obróbki ([www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu)). *Campylobacterioza* u ludzi zwykle nie wymaga specjalistycznego leczenia i samoistnie ustępuje po kilku dniach. Jednak w poważniejszych przypadkach, np. u pacjentów z osłabio-

nym system immunologicznym, konieczna jest antybiotykoterapia. Zwykle podaje się makrolidy (w przypadku potwierdzenia laboratoryjnego, że czynnikiem chorobotwórczym jest *Campylobacter*) lub fluorochinolony (przy zatruciach o niepotwierdzonej etiologii na tle *Campylobacter* lub w przypadku wyizolowania od pacjenta szczepów opornych na makrolidy). W leczeniu wykorzystuje się też tetracykliny i gentamycynę, ale rzadziej niż wymienione substancje przeciwbakteryjne. W związku z powyższym konieczne jest monitorowanie antybiotykoooporności bakterii należących do rodzaju *Campylobacter*, a w szczególności *C. jejuni* i *C. coli*, gdyż te dwa gatunki są w 99% przypadków przyczyną zachorowań ludzi ([www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu)). Ważna jest również identyfikacja rodzaju żywności, będącej najczęstszym źródłem *Campylobacter* opornych na antybiotyki lub posiadających geny

<sup>\*)</sup> Praca finansowana ze środków na naukę w latach 2009-2012 jako projekt badawczy N N 308 237636.

umożliwiający wykształcenie tej oporności i udowodnienie roli tych środków spożywczych w rozprzestrzenianiu się oporności przeciwbakteryjnej wśród ludzi.

Obecnie stosunkowo często stwierdza się szczepy *Campylobacter* niewrażliwe na różne grupy antybiotyków, a izolowane z żywności czy od zwierząt, jednak można zauważyć znaczące różnice w odsetku takich izolatów pochodzących z poszczególnych krajów. Mogą one wynikać zarówno z rzeczywistej, odmiennej sytuacji epidemiologicznej, jak i różnic w programach monitoringowych realizowanych w poszczególnych krajach członkowskich Unii Europejskiej, dotyczących m.in. sposobu i miejsca pobierania próbek. W kwietniu i lipcu 2010 r. zostały opublikowane raporty Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA), dotyczące antybiotykooporności wybranych bakterii izolowanych w latach 2004-2007 i 2008 (8, 9). Przedstawiono w nich dane odnoszące się m.in. do izolatów należących do rodzaju *Campylobacter*, a pochodzących z takich źródeł, jak: drób, mięso drobiowe, świnie, bydło. Dane zawarte w tych raportach zostaną omówione poniżej.

Ze względu na wiele nieścisłości dotyczących pojęć związanych z antybiotykoopornością bakterii należy sprecyzować najważniejsze definicje z tego zakresu. Obecnie ilościowe wyniki oporności drobnoustrojów wyraża się najczęściej jako wartość minimalnego stężenia hamującego (MIC – Minimal Inhibitory Concentration), czyli najmniejszego stężenia antybiotyku (wyrażonego w mg/l), które w określonych warunkach *in vitro* uniemożliwia w określonym czasie uzyskanie widocznego wzrostu bakterii. Coraz rzadziej stosuje się natomiast oznaczanie strefy zahamowania wzrostu, której wielkość podaje się milimetrach (metoda krążkowa). W przypadku określania wrażliwości na substancje przeciwbakteryjne *Campylobacter* spp. jedyną metodą dopuszczaną przez Unijne Laboratorium Referencyjne ds. Antybiotykooporności jest technika MIC. W interpretacji wyników stosuje się pojęcie tzw. stężenia granicznego (breakpoint, BP). Jest to określona wartość MIC, na podstawie której badany izolat bakteryjny może być zaliczony do kategorii „wrażliwy” lub „oporny”. Podawanie konkretnych wartości MIC oraz stosowanie ujednoczonych wartości stężeń granicznych (BP) umożliwia porównywanie danych uzyskanych w poszczególnych krajach lub laboratoriach.

W analizowaniu antybiotykooporności drobnoustrojów należy wziąć pod uwagę również mechanizmy i możliwości jej wykształcania się u poszczególnych bakterii. Mikroorganizmy mogą charakteryzować się tzw. opornością wrodzoną, stanowiącą ich cechę gatunkową. Docelowy czynnik przeciwbakteryjny może być nieobecny w strukturze komórkowej danego gatunku drobnoustrojów, ściana komórkowa może być słabo przepuszczalna dla pewnych rodzajów antybiotyków lub bakterie mogą produkować enzymy, które

niszczą stosowane chemioterapeutyki i przez to są klinicznie odporne.

Innym rodzajem niewrażliwości jest tzw. oporność nabyta. Szczepy bakteryjne nabywają ją na skutek mutacji genowych lub poprzez przyjmowanie elementów genetycznych od innych bakterii. Powszechnie przenoszone są np. geny kodujące enzymy modyfikujące strukturę przeciwbakteryjną ściany komórkowej. Jest kilka mechanizmów horyzontalnego transferu genów, czyli zachodzącego pomiędzy osobnikami niespokrewnionymi, które często funkcjonują wspólnie. Jednym z nich jest koniugacja, podczas której liczne plazmidy występujące w komórkach i posiadające wiele różnych genów są przenoszone z bakterii do bakterii. Geny oporności mogą być również przemieszczane na drodze transdukcji (za pomocą fagów) i transformacji (pobieranie DNA ze środowiska). Oprócz plazmidów mobilnymi fragmentami DNA są także transpozony i integrony, które mogą przenosić nawet po kilka genów oporności. Transpozony mają zdolność przemieszczania się w obrębie cząsteczki DNA i integracji z materiałem genetycznym chromosomów lub plazmidów, jednak nie mogą replikować się niezależnie od tych elementów. Integrony natomiast zlokalizowane są w chromosomach, plazmidach oraz transpozonach. Mają zdolność łączenia genów oporności w zespoły (kasety) i ich blokowego przenoszenia do komórki biorcy dzięki obecności enzymu integrazy. Jednak nie mają możliwości samoprzenoszenia i w tym celu przyłączają się np. do plazmidów. Dzięki integronom możliwe jest skumulowanie wielu genów kodujących rozmaite mechanizmy oporności na krótkim odcinku DNA.

Trzecim rodzajem oporności jest tzw. oporność krzyżowa – czynniki przeciwbakteryjne stanowią grupy molekuł o podobnej strukturze i sposobie działania. Niektóre mechanizmy warunkują oporność na większość lub wszystkie substancje przeciwbakteryjne danej grupy. Oporność krzyżowa może również występować między różnymi grupami chemioterapeutyków, jeśli miejsca ich wychwyty znajdują się blisko siebie lub jeśli mechanizm oporności ma niską swoistość. Wyróżnia się także tzw. oporność złożoną, która występuje w sytuacji, gdy dany szczep bakteryjny jest odporny na kilka różnych antybiotyków lub kilka grup czynników przeciwbakteryjnych ([www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/765.htm](http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/765.htm)).

### **Oporność na chinolony i fluorochinolony**

Jedną z najważniejszych grup antybiotyków stosowanych w medycynie ludzkiej są chinolony i fluorochinolony (FQ). Dlatego też obecność szczepów opornych na tę grupę substancji przeciwbakteryjnych u zwierząt może w znaczący sposób utrudniać leczenie bakteryjnych infekcji spowodowanych spożyciem zanieczyszczonej żywności pochodzenia zwierzęcego. Zidentyfikowano kilka mechanizmów oporności *Cam-*

*pylobacter* spp. na fluorochinolony. Do najczęściej występujących zalicza się mutacje punktowe w regionie QRDR (Quinolone Resistance Determining Region) w obrębie genu *gyrA* kodującego enzym gyrazę. Są to substytucje nukleotydów w kodonach: 86, 90 i 70. Zwykle występuje mutacja w kodonie 86 skutkująca zamianą treoniny w izoleucynę i powodująca najwyższy poziom oporności na FQ (7). Czasem spotyka się także mutacje w genach kodujących topoizomerazę IV. W odróżnieniu od innych bakterii Gram-ujemnych, u których wzrost oporności jest związany z gromadzeniem mutacji w kilku genach z regionu QRDR, u *Campylobacter* pojedyncza mutacja punktowa w genie *gyrA* jest w stanie w znaczący sposób zwiększyć oporność na fluorochinolony (11, 22).

Dodatkowym mechanizmem przyczyniającym się do generowania niewrażliwości bakterii na tę, ale także inne grupy antybiotyków i substancji hamujących, są różnego typu pompy molekularne usuwające wiele niekorzystnych substancji z wnętrza komórki bakteryjnej, tzw. efflux pumps. Jeden z takich systemów nosi nazwę CmeABC i jest kodowany przez trzygenowy operon, którego ekspresja jest regulowana przez gen *cmeR*. Udowodniono, że mutanty w obrębie genu *cmeB* charakteryzują się zwiększoną wrażliwością na antybiotyki należące do różnych grup (7, 15, 18). Pumbwe i Piddock (24) sugerują, że system ten może być odpowiedzialny za krzyżową oporność szczepów *Campylobacter* na makrolidy i fluorochinolony. Wszystkie opisane czynniki warunkujące oporność *Campylobacter* na FQ zlokalizowane są na chromosomowym DNA (20).

Oporność na ciprofloksacynę i kwas nalidyksowy wśród szczepów *C. jejuni* izolowanych od drobiu według wymienionych raportów EFSA wahała się, odpowiednio, od 8% do 50% oraz od 4% do 51% (tab. 1). Można stwierdzić, że liczba szczepów opornych na te czynniki przeciwbakteryjne wzrastała na przestrzeni ostatnich lat, a największy odsetek izolatów opornych odnotowano w 2008 r. Zaobserwowano także duże różnice pomiędzy poszczególnymi krajami członkowskimi UE. W państwach skandynawskich odnotowano poniżej 10% szczepów opornych na wymienione chemioterapeutyki, natomiast na Łotwie – 100%. Wyższy odsetek szczepów opornych na chinolony stwierdzono wśród *C. coli* izolowanych od drobiu. W latach 2004-2007 wyniósł on dla ciprofloksacyny 55-64%, dla kwasu nalidyksowego 39-68%, zaś w 2008 r. uzyskał średnio 62% i 61% (tab. 1 i 2).

Niepokojący wydaje się fakt obserwowanej wysokiej oporności wśród szczepów *Campylobacter* izolowanych z mięsa drobiowego. W latach 2004-2007 odsetek takich izolatów wynosił w przypadku *C. jejuni* dla ciprofloksacyny do 39% i kwasu nalidyksowego do 36%, natomiast dla *C. coli* – ciprofloksacyny i kwasu nalidyksowego – po 54%. W 2008 r. do raportu EFSA przekazano tylko wyniki dotyczące *C. jejuni*

– było to 46% izolatów opornych na ciprofloksacynę i 50% na kwas nalidyksowy (tab. 1 i 2).

W przypadku antybiotykooporności szczepów *Campylobacter* izolowanych od świń, w cytowanych raportach są zawarte dane dotyczące jedynie *C. coli*, co może wynikać z faktu, że gatunek ten jest najczęściej izolowany od tych zwierząt. W obrębie tej grupy również odnotowano wysoki odsetek szczepów opornych. W latach 2004-2007 w przypadku ciprofloksacyny stanowiły one 35-46%, a kwasu nalidyksowego 30-47%. W 2008 r. stwierdzono 39% szczepów opornych na oba te antybiotyki.

Nieco niższy poziom oporności na wymienione substancje przeciwbakteryjne zaobserwowano wśród szczepów *C. jejuni* izolowanych od bydła. Kształtował się on w latach 2004-2007 na poziomie 20-35% w przypadku ciprofloksacyny, 23-35% w odniesieniu do kwasu nalidyksowego, a w 2008 r. wyniósł średnio 34% dla obu tych antybiotyków. Jednak już w przypadku *C. coli*, również pochodzących od bydła, był on zdecydowanie wyższy i wahał się w latach 2004-2008 w granicach od 53% do 75% dla ciprofloksacyny i od 53% od 73% dla kwasu nalidyksowego (tab. 1 i 2).

Ocena oporności drobnoustrojów bakteryjnych na różne chamioterapeutyki prowadzona jest w szeregu krajach od wielu lat. Jednym z najstarszych programów monitoringowych jest DANMAP – the Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme. Według tych badań prowadzonych w Danii od 1997 r. odsetek szczepów *Campylobacter* opornych na ciprofloksacynę izolowanych od drobiu i z mięsa drobiowego pochodzącego z Danii utrzymywał się na stałym poziomie (poniżej 20%), natomiast był znacząco wyższy w przypadku importowanego mięsa drobiowego – ok. 50% (27). Z kolei według badań prowadzonych w USA, gdzie w latach 2002-2007 badano szczepy izolowane głównie z mięsa drobiowego dostępnego w handlu, procent szczepów opornych na ciprofloksacynę wzrósł we wspomnianym okresie z 10% do 25,9% w odniesieniu do *C. coli* i pozostał na mniej więcej stałym poziomie w przypadku *C. jejuni* (15,2-17,2%) (32).

Danych z Polski dotyczących antybiotykooporności *Campylobacter* jest niewiele i są one ograniczone do stosunkowo małej liczby przebadanych szczepów. W 2008 r. analizowano łącznie 170 szczepów (105 *C. jejuni* i 65 *C. coli*) pochodzących od drobiu, pozyskanych w ramach monitoringu przeprowadzonego na zlecenie Komisji Europejskiej (30). Stwierdzono, że 82% z nich było opornych na ciprofloksacynę, niezależnie od gatunku *Campylobacter* (tab. 1 i 2). W badaniach własnych, w których określano oporność szczepów izolowanych z mięsa drobiowego dostępnego w handlu detalicznym, uzyskano wyniki na poziomie ok. 80% (29). W obu przypadkach jest to zdecydowanie wyższy odsetek niż średnia europejska. Mniej szczepów opornych (ok. 50% izolatów) stwier-

Tab. 1. Średnie odsetki (wartości minimalne – maksymalne) szczepów *C. jejuni* opornych na wybrane antybiotyki w krajach UE wg danych EFSA

Źródło	Tetracykliny		Erytromycyna		Gentamycyna		Ciprofloksacyna		Kwas nalidyksowy	
	2004-2007	2008	2004-2007	2008	2004-2007	2008	2004-2007	2008	2004-2007	2008
Drób	6-35 (0: FI – 89: ES)	37 (0: SE – 73: IT, MT; 48: PL)	0 (0: AT, DK, FI, FR, NL – 13: DE)	3 (0: AT, CZ, DK, FI, SI, SE, UK – 15: MT; 0: PL)	0-5 (0: AT, CZ, DK, FI, FR, IT, NL – 20: SI)	4 (0: AT, CZ, DK, FR, DE, IT, PT, SE, UK – 23: BE, MT; 0: PL)	8-43 (0: FI – 74: DE)	50 (0: SE – 100: LV; 82: PL)	4-49 (0: FI – 100: ES)	51 (0: SE – 100: LV)
Mięso drobiowe	0-43 (0: DK – 57: FR)	38 (12: DK – 73: PT)	0	6 (0: AT, DK, LV – 8: BE)	0-2 (0: AT, BE, DK – 3: FR)	13 (0: AT, DK, DE, LV, PT – 20: BE)	3-39 (3: DK – 66: AT)	46 (19: DK – 100: LV)	3-36 (3: DK – 66: AT)	50 (17: DE – 100: LV, PT)
Bydło	23-33 (0: DK – 80: ES)	28 (3: DK – 73: ES)	1-3 (0: DK, IT, SE – 7: NL)	1 (0: AT, DK – 6: NL)	0-1 (0: AT, DK, IT – 5: NL)	1 (0: AT, DK, NL – 4: ES)	20-35 (2: DK – 47: ES)	34 (20: DK – 54: ES)	23-35 (2: DK – 47: ES)	34 (20: DK – 56: ES)

Objaśnienia: AT – Austria; BE – Belgia; CZ – Czechy; DE – Niemcy; DK – Dania; ES – Hiszpania; FI – Finlandia; FR – Francja; HU – Węgry; IE – Irlandia; IT – Włochy; LV – Łotwa; NL – Holandia; PL – Polska; PT – Portugalia; SE – Szwecja; SI – Słowenia; UK – Wielka Brytania

Tab. 2. Średnie odsetki (wartości minimalne – maksymalne) szczepów *C. coli* opornych na wybrane antybiotyki w krajach UE wg danych EFSA

Źródło	Tetracykliny		Erytromycyna		Gentamycyna		Ciprofloksacyna		Kwas nalidyksowy	
	2004-2007	2008	2004-2007	2008	2004-2007	2008	2004-2007	2008	2004-2007	2008
Drób*	73-77 (48: NL*** – 90: ES)	53 (12: IE – 96: IT; 54: PL)	13-21 (0: IT, NL – 29: IT)	12 (0: IE, SI, UK – 54: IT; 5: PL)	1-4 (0: AT, DE, IT, NL – 19: SI)	3 (0: AT, FR, IE, PT, SI, UK – 19 BE; 3: PL)	55-64 (35: FR – 100: ES)	62 (17: IE – 97: PT; PL: 82)	39-68 (0: IT – 94: ES)	61 (15: IE – 96: PT)
Mięso drobiowe**	76 (68: AT – 100: BE)	–	5-6 (0: AT – 8: BE, FR)	–	0	–	51-54 (48: BE – 73: AT)	–	37-54 (34: FR – 64: AT)	–
Świnie	64-80 (2: DK – 100: ES)	79 (69 IT – 100 ES)	24-39 (0: IT – 70: ES)	25 (4: HU – 53: ES)	4-8 (0: DE, DK, FR, NL, SE – 26: ES)	4 (0: AT, NL – 15: ES)	35-46 (5: NL – 88: ES)	39 (4: NL – 92: ES)	30-47 (5: DK – 87: ES)	39 (4: NL – 91: ES)
Bydło	59-92 (30: DK – 98: NL)	–	4-16 (0: AT – 18: NL)	–	0-8 (0: AT, DK – 14: ES)	–	53-75 (10: DK – 86: ES)	–	53-73 (20: DK – 86: ES)	–

Objaśnienia: \* – dane za lata 2005-2007; \*\* – dane za lata 2006-2007; \*\*\* oznaczenia krajów jak w tab. 1.

dzili natomiast Krutkiewicz i wsp. (17) oraz Rozynek i wsp. (25). W pierwszym przypadku izolaty te pochodziły od drobiu, psów i świń, w drugim zaś z mięsa drobiowego. Z kolei Bednarski i wsp. (1) przebadali 150 szczepów wyosobnionych od bydła – w większości były to *C. jejuni* (143 izolaty) – i stwierdzili oporność na ciprofloksacynę jedynie u 26 z nich (18,2%).

### Oporność na makrolidy

Makrolidy są kolejną grupą antybiotyków o istotnym znaczeniu w medycynie ludzkiej. Początkowo izolowano odporne szczepy *Campylobacter* tylko od zwierząt, zwykle był to *C. coli* pochodzący od świń i od brojlerów. Najczęściej występujący mechanizm oporności na tę grupę antybiotyków jest związany z mutacją w domenie V genu 23S rRNA, zwykle w po-

zycji 2074 lub 2075, która powoduje zmianę struktury bakteryjnego rybosomu, a tym samym mniejsze powinowactwo całego rybosomu lub jego podjednostki 50S do antybiotyku (7, 12, 21). Mutacje tego rodzaju łączone są z najwyższym poziomem oporności *Campylobacter* na makrolidy. Opisano także inne mutacje, m.in. w genach kodujących rybosomalne białka L4 i L22 (13). Podobnie jak w przypadku oporności na FQ również w tym przypadku mechanizmem wspomagającym jest działanie pomp molekularnych, w szczególności CmeABC (14, 15). Uwodniono, że przypadku izolatów o niskim lub średnim poziomie oporności na makrolidy inaktywacja pomp przywracała wrażliwość bakterii na chemioterapeutyki, a w odniesieniu do szczepów o wysokim poziomie oporności znacząco ją redukowała. Sugeruje to, że systemy pomp funkcjo-

nią synergistycznie z mutacjami punktowymi w białkach rybosomalnych (2, 14).

Średni do wysokiego odsetek szczepów opornych na erytromycynę, która należy do wymienionej grupy antybiotyków, stwierdzono w niektórych państwach członkowskich UE wśród izolatów *C. coli* pochodzących od drobiu i świń. W przypadku drobnoustrojów wyosobnionych od świń wynosił on w latach 2004-2007 od 24% do 39%, a w 2008 r. uzyskał średnio 25% (tab. 2). U drobiu odsetek szczepów opornych *C. coli* wahał się w granicach od 13% do 21% w latach 2004-2007, a w 2008 r. wyniósł 12%. U izolatów pochodzących od bydła stwierdzono natomiast nieco niższy poziom oporności, wahający się od 4% do 16% (tab. 2). Z pozostałych źródeł izolowano już zdecydowanie mniej szczepów opornych: w latach 2004-2008 z mięsa drobiowego – do 6% opornych *C. jejuni* i *C. coli* natomiast od bydła i drobiu po 3% opornych izolatów *C. jejuni* (tab. 1 i 2). Ogólnie, co wynika również z cytowanych wyżej danych UE, można stwierdzić że w przypadku oporności na makrolidy istnieje zależność gatunkowa. *C. jejuni* izolowane od drobiu i bydła wykazują niską i stosunkowo stałą oporność na tę grupę antybiotyków, natomiast wysoki odsetek szczepów opornych (15-80%) stwierdza się w obrębie *C. coli* pochodzących od drobiu i świń (30). Podobna sytuacja ma miejsce także w USA, gdzie w ramach przedstawionych wyżej badań stwierdzono poniżej 10% opornych szczepów *C. coli* i poniżej 1% *C. jejuni* niewrażliwych na erytromycynę (32).

W Polsce, w badaniach własnych, wykazano stosunkowo niedużo szczepów opornych na makrolidy (29). W 2008 r. wyizolowano jedynie 5% *C. coli* opornych na erytromycynę, które były izolowane od drobiu (tab. 1 i 2). Nie stwierdzono natomiast żadnego takiego szczepu pochodzącego z mięsa drobiowego (29). Podobne rezultaty otrzymali też Rozynek i wsp. (25) oraz Krutkiewicz i wsp. (17), badając izolaty wyosobnione od drobiu lub z mięsa drobiowego, oraz Bednarski i wsp. (1), analizując szczepy izolowane od bydła.

### Oporność na tetracykliny

Oporność na tetracykliny związana jest z występowaniem genu tetO, który koduje białko obniżające zdolność wiązania się tych antybiotyków z podjednostką 30S rybosomu, a w następstwie likwiduje inhibicję łańcucha polipeptydowego. U większości szczepów *Campylobacter* gen ten jest zlokalizowany w plazmidzie, tylko u niektórych szczepów stwierdzono jego chromosomalną kopię. Przypuszcza się, że *Campylobacter* mógł nabyć marker tetO w wyniku horyzontalnego transferu genów od takich rodzajów drobnoustrojów, jak: *Streptomyces*, *Streptococcus* czy *Enterococcus* (6). Drugi mechanizm oporności *Campylobacter* na tetracykliny warunkują białka wchodzące w skład grupy MFS (Major Facilitator Superfamily), odpowie-

dzialne za usuwanie tych antybiotyków z komórki bakteryjnej (5). Oporność na tetracykliny jest także, podobnie jak w grupach antybiotyków opisanych wyżej, skorelowana z działaniem pomp molekularnych (14).

Średni odsetek szczepów opornych na tetracyklinę wśród izolatów wyosobnionych od drobiu, według danych zwartych we wspomnianych wyżej raportach EFSA, wahał się w latach 2004-2007 w granicach od 6% do 35% dla *C. jejuni* oraz 73-77% dla *C. coli*, a w 2008 r. wynosił on, odpowiednio, 37% i 53% (tab. 1 i 2). Podobnie kształtowały się dane, jeśli chodzi o szczepy izolowane z mięsa drobiowego: w 2007 r. odsetek szczepów opornych wyniósł, odpowiednio, 37% w przypadku *C. jejuni* oraz 76% w stosunku do *C. coli*. Dane EFSA za 2008 r. objęły jedynie *C. jejuni* i wynosiły 38% izolatów opornych. Oporność na tetracykliny w obrębie szczepów *C. coli* izolowanych od świń kształtowała się na poziomie 64-80% w latach 2004-2008. Odnośnie do *C. jejuni* izolowanych od bydła zaobserwowano 23-33% szczepów opornych na tetracykliny, ze znaczącymi różnicami w poszczególnych krajach (na przykład: Dania – 0%, Hiszpania – do 80%). W obrębie *C. coli* pochodzących od tego samego gatunku zwierząt oporność we wspomnianym okresie na tetracykliny wahała się w granicach od 59% do 92% izolatów.

Według danych Zhao i wsp. (32), w przypadku oporności na tetracykliny daje się zaobserwować odwrotny trend niż w odniesieniu do wrażliwości na makrolidy, tzn. stwierdza się więcej szczepów opornych w obrębie gatunku *C. jejuni* niż *C. coli*. Było to, odpowiednio, 48,6% i 39,9% (dane za rok 2007), jednak różnice te nie są znaczne. Tendencji tej nie daje się jednak zaobserwować w obrębie polskich izolatów. Wśród szczepów wyosobnionych od drobiu w 2008 r. stwierdzono 54% opornych *C. coli* i 48% *C. jejuni* (tab. 1 i 2). W przypadku szczepów izolowanych z mięsa drobiowego było to, odpowiednio, 37% i 70% (29). W badaniach Krutkiewicz i wsp. (17) stwierdzono natomiast 18,8% *C. jejuni* i 25% *C. coli* opornych na ten antybiotyk.

### Inne antybiotyki

Oporności *Campylobacter* na pozostałe antybiotyki poświęca się w publikacjach zdecydowanie mniej uwagi. Do takich grup należą na przykład aminoglikozydy. Brak wrażliwości na tę grupę substancji przeciwbakteryjnych jest wynikiem działania enzymów inaktywujących, kodowanych zazwyczaj przez geny *aacA4*, *aphA-3* i *aphA-7* (10).

Większość krajów raportowała, że oporność *Campylobacter* na gentamycynę wynosiła poniżej 10% badanych izolatów, a w niektórych przypadkach oscylowała w okolicach zera, jednak nie stwierdzono tak dużych dysproporcji, jak w odniesieniu do chinolonów czy tetracyklin. Dla szczepów izolowanych z mięsa drobiowego w latach 2004-2007 wyniosła ona do

2% w przypadku *C. jejuni* i 0% w odniesieniu do *C. coli*, a w 2008 r. dla *C. jejuni* – 13%. W przypadku *C. coli* izolowanych od świń w latach 2004-2008 średni odsetek szczepów opornych na tetracykliny wahał się w granicach 4-8%. Dla izolatów pochodzących od bydła były to wartości w granicach 0-1% dla *C. jejuni* i od 0% do 8% dla *C. coli*. W Polsce wśród szczepów izolowanych od drobiu w 2008 r. w ramach badań monitoringowych (30) stwierdzono jedynie 3% szczepów *C. coli* opornych na gentymycynę i ani jednego *C. jejuni*. Brak szczepów opornych na tetracykliny stwierdzili również Bednarski i wsp. (1), analizując izolaty pochodzące od bydła.

### Obecne zagrożenie dla zdrowia konsumentów i dalsze perspektywy

Wzrastająca liczba szczepów *Campylobacter* opornych na klinicznie ważne antybiotyki jest szczególnie niepokojąca ze względu na zdrowie konsumentów. Śledzenie tego procesu i dróg transmisji oporności komplikuje fakt, że są to bakterie zoonotyczne, mające kontakt ze środkami stosowanymi zarówno w medycynie weterynaryjnej, jak i ludzkiej. Wyżej omówiono oporność szczepów *Campylobacter* izolowanych od zwierząt i z żywności. Natomiast w przypadku oporności szczepów pochodzących od ludzi sytuacja epidemiologiczna wygląda podobnie. Według danych z USA i Kanady, od kilku lat stwierdza się wzrastający odsetek szczepów opornych na FQ i obecnie wynosi on ok. 30% w odniesieniu do ciprofloksacyny. Z drugiej strony, w latach 1989-1990 nie stwierdzono w ogóle szczepów *Campylobacter* izolowanych od ludzi opornych na ten antybiotyk (4, 20, 32). W przypadku makrolidów również obserwuje się tendencję wzrostową, chociaż już nie tak dynamiczną, np. w 2008 r. stwierdzono 11% szczepów *C. coli* i 2,3% *C. jejuni* opornych na erytromycynę. Dla tetracyklin odsetek izolatów opornych wynosił, odpowiednio, 40% i 44% (4). W badaniach prowadzonych w latach 2000-2007 w Polsce, podczas których oceniano antybiotykooporność szczepów *Campylobacter* izolowanych od dzieci z biegunką stwierdzono, że 118 (55,7%) *C. jejuni* i 20 (51,3%) *C. coli* było opornych na przynajmniej jeden z badanych antybiotyków. Najwięcej szczepów wykazywało oporność na ciprofloksacynę, tzn. 50% niezależnie od gatunku *Campylobacter*, mniej natomiast na tetracykliny (ok. 18% izolatów), również bez znaczących różnic pomiędzy gatunkami tych bakterii. Wszystkie testowane *C. coli* były wrażliwe na erytromycynę, wśród *C. jejuni* znaleziono zaledwie jeden taki szczep. Ponadto odnotowano, we wspomnianym wyżej okresie, znaczący wzrost liczby szczepów wieloopornych, szczególnie w odniesieniu do dwóch grup antybiotyków – fluorochinolonów i tetracyklin (26).

Ocena perspektywy narastania antybiotykooporności u szczepów *Campylobacter*, szczególnie na makroli-

dy i fluorochinolony, wymaga wzięcia pod uwagę kilku aspektów. Jednym z nich jest częstotliwość mutacji spontanicznych i przeżywalność mutantów w środowisku. Mutacja na FQ pojawia się ze wskaźnikiem  $10^{-6}$ - $10^{-8}$  komórki na pokolenie (31). W przypadku liczby bakterii większej niż  $10^6$  i ekspozycji na FQ mutanty pojawiają się nieuchronnie. Zostało to udowodnione w badaniach zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Szczepy oporne pojawiały się bardzo szybko, nawet w ciągu 24 godzin. Izolowano je z kału drobiu zakażonego wrażliwymi szczepami *Campylobacter*, któremu podawano enrofloksacynę. Należy podkreślić, że szczepy niewrażliwe ostatecznie całkowicie kolonizowały przewód pokarmowy ptaków. W związku z tym leczenie drobiu zakażonego *Campylobacter* antybiotykami z tej grupy nie tylko nie eliminuje tych bakterii, ale powoduje przekształcenie się populacji wrażliwej, bytującej w przewodzie pokarmowym na oporną na ten rodzaj antybiotyków. Częstotliwość mutacji w odniesieniu do makrolidów jest zdecydowanie inna i wynosi ok.  $10^{-10}$  komórki na pokolenie, czyli jest ok. 10 000 razy mniejsza niż w przypadku FQ. Ponadto szczepy nabywające oporność w wyniku pojedynczej mutacji punktowej wykazują niski do średniego poziomu oporności i mają tendencje do zanikania w środowisku pozbawionym makrolidów. Dopiero długotrwała ekspozycja na makrolidy lub stopniowe zwiększanie stężenia antybiotyku generuje mutacje w regionie 23S rRNA, które są związane z wyższym poziomem oporności (3, 19).

Kolejnym aspektem przy ocenie narastania oporności na antybiotyki wśród szczepów *Campylobacter* jest stosowanie tych środków w medycynie weterynaryjnej w celach leczniczych i profilaktycznych oraz tzw. antybiotykowych stymulatorów wzrostu – asw, które są jednak w UE zakazane od 2006 r. (28). Im częściej dana substancja jest stosowana u zwierząt, niezależnie od przyczyny, tym większe prawdopodobieństwo, że powstaną szczepy oporne i za pośrednictwem np. żywności dostaną się do konsumentów. Dodatkowo, mogą one również przekazać geny oporności innym bakteriom chorobotwórczym dla ludzi. Z drugiej jednak strony, nie należy przeceniać wpływu stosowania substancji przeciwbakteryjnych u zwierząt na rozprzestrzenianie się szczepów opornych u ludzi. Według niektórych autorów (23) decydujące jest intensywne stosowanie antybiotyków u ludzi, szczególnie u pacjentów hospitalizowanych.

Biorąc pod uwagę wzrastający odsetek szczepów opornych na najważniejsze grupy antybiotyków, które są izolowane od zwierząt, z żywności i od ludzi oraz łatwe nabywanie oporności przez bakterie należące do rodzaju *Campylobacter*, szczególnie na FQ, należy stwierdzić, że problem ten będzie w najbliższej przyszłości narastał. Może to doprowadzić m.in. do utraty terapeutycznego działania FQ w leczeniu kamylobakteriozy u ludzi. Makrolidy pozostają obecnie najbar-

dziej efektywne w leczeniu tej choroby, ale wzrastająca i w tym przypadku oporność narzuca konieczność bardzo rozważnego stosowania tych, jak również innych substancji przeciwbakteryjnych, w medycynie ludzkiej i weterynaryjnej.

### Piśmiennictwo

1. *Bednarski M., Wieliczko A.*: Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter* spp. isolated from cattle in Poland. *Pol. J. Vet. Sci.* 2010, 13, 189-191.
2. *Cagliero C., Mouline C., Cloeckaert A., Payot S.*: Synergy between efflux pump CmeABC and modifications in ribosomal proteins L4 and L22 in conferring macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006, 50, 3893-3896.
3. *Caldwell D. B., Wang Y., Lin J.*: Development, stability, and molecular mechanisms of macrolide resistance in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2008, 52, 3947-3954.
4. CDC 2009. National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS): Enteric Bacteria. Human Isolates Final Report. US Department of Health and Human Services.
5. *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.
6. *Dasti J. I., Gross U., Pohl S., Lugert R., Weig M., Schmidt-Ott R.*: Role of the plasmid-encoded tet(O) gene in tetracycline-resistant clinical isolates of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J. Med. Microbiol.* 2007, 56, 833-837.
7. *Engberg J., Aarestrup F. M., Taylor D. E., Gerner-Smidt P., Nachamkin I.*: Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg. Infect. Dis.* 2001, 7, 24-34.
8. European Food Safety Authority (EFSA): The Community Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from animals and food in the European Union in 2004-2007. *EFSA Journal* 2010.
9. European Food Safety Authority (EFSA): The Community Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from animals and food in the European Union in 2008. *EFSA Journal* 2010.
10. *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.
11. *Ge B., McDermott P. F., White D. G., Meng J.*: Role of efflux pumps and topoisomerase mutations in fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005, 49, 3347-3354.
12. *Gibrel 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.
13. *Gibrel A., Taylor D. E.*: Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2006, 58, 243-255.
14. *Gibrel A., Wetsch N. M., Taylor D. E.*: Contribution of the CmeABC efflux pump to macrolide and tetracycline resistance in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007, 51, 3212-3216.
15. *Guo B., Lin J., Reynolds D. L., Zhang Q.*: Contribution of the multidrug efflux transporter CmeABC to antibiotic resistance in different *Campylobacter* species. *Foodborne Pathog. Dis.* 2010, 7, 77-83.
16. *Hees B. C. Van, Veldman-Ariesen M. J., de Jongh B. M., Tersmette M., van Pelt W.*: Regional and seasonal differences in incidence and antibiotic resistance of *Campylobacter* from a nationwide surveillance study in The Netherlands: an overview of 2000-2004. *Clin. Microbiol. Infect.* 2007, 13, 305-310.
17. *Krutkiewicz A., Salamazyńska-Guz A., Rzewuska M., Klimuszko D., Binek M.*: Resistance to antimicrobial agents of *Campylobacter* spp. strains isolated from animals in Poland. *Pol. J. Vet. Sci.* 2009, 12, 465-472.
18. *Lin J., Michel L. O., Zhang Q.*: CmeABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002, 46, 2124-2131.
19. *Lin J., Yan M., Sahin O., Pereira S., Chang Y. J., Zhang Q.*: Effect of macrolide usage on emergence of erythromycin-resistant *Campylobacter* isolates in chickens. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007, 51, 1678-1686.
20. *Luangtongkum T., Jeon B., Han J., Plummer P., Logue C. M., Zhang Q.*: Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence. *Future Microbiol.* 2009, 4, 189-200.
21. *Mamelli L., Prouzet-Mauléon V., Pagès J. M., Mégraud F., Bolla J. M.*: Molecular basis of macrolide resistance in *Campylobacter*: role of efflux pumps and target mutations. *J. Antimicrob. Chemother.* 2005, 56, 491-497.
22. *Payot S., Bolla J. M., Corcoran D., Fanning S., Mégraud F., Zhang Q.*: Mechanisms of fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter* spp. *Microbes Infect.* 2006, 8, 1967-1971.
23. *Phillips I., Casewell M., Cox T., De Groot B., Friis C., Jones R., Nightingale C., Preston R., Waddell J.*: Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J. Antimicrob. Chemother.* 2004, 53, 28-52.
24. *Pumbwe L., Piddock L. J.*: Identification and molecular characterisation of CmeB, a *Campylobacter jejuni* multidrug efflux pump. *FEMS Microbiol. Lett.* 2002, 206, 185-189.
25. *Rozynek E., Dzierzanowska-Fangrat K., Korsak D., Konieczny P., Wardak S., Szych J., Jarosz M., Dzierzanowska 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.
26. *Rozynek E., Dzierzanowska-Fangrat K., Szczepańska B., Wardak S., Szych J., Konieczny P., Albrecht P., Dzierzanowska D.*: Trends in antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* isolates in Poland (2000-2007). *Pol. J. Microbiol.* 2009, 58, 111-115.
27. *Skjot-Rasmussen L., Ethelberg S., Emborg H. D., Agersø Y., Larsen L. S., Nordentoft S., Olsen S. S., Ejlersen T., Holt H., Nielsen E. M., Hammerum A. M.*: Trends in occurrence of antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* isolates from broiler chickens, broiler chicken meat, and human domestically acquired cases and travel associated cases in Denmark. *Int. J. Food Microbiol.* 2009, 31, 277-279.
28. *Truszczyński M., Pejsak Z.*: Wpływ stosowania u zwierząt antybiotyków na lekooporność bakterii chorobotwórczych dla człowieka. *Medycyna Wet.* 2006, 62, 1339-1343.
29. *Wieczorek K.*: Antimicrobial resistance and virulence markers of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from retail poultry meat in Poland. *Bull. Vet. Inst. Puławy* 2010, 54, 563-569.
30. *Wieczorek K., Wasyl D., Hoszowski A., Osek J.*: Występowanie *Campylobacter* spp. w stadach brojlerów oraz *Campylobacter* spp. i *Salmonella* spp. w tuszach brojlerów w Polsce. Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy 2009, 1-51.
31. *Yan M., Sahin O., Lin J., Zhang Q.*: Role of the CmeABC efflux pump in the emergence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* under selection pressure. *J. Antimicrob. Chemother.* 2006, 58, 1154-1159.
32. *Zhao S., Young S. R., Tong E., Abbott J. W., Womack N., Friedman S. L., McDermott P. F.*: Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* Isolates from Retail Meat in the United States between 2002 and 2007. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010, 76, 7949-7956.

Adres autora: prof. dr hab. Jacek Osek, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: josek@piwet.pulawy.pl