

Profile antybiotykowrażliwości bakterii z rzędu *Enterobacterales* wyizolowanych od ptaków

Kutkowska Jolanta, Turska-Szewczuk Anna, Kurzylewska Maria, Romanowska Joanna, Pomarańska Aleksandra, Laban Magdalena, Urbanik-Sypniewska Teresa
Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Instytut Nauk Biologicznych, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej,
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin; e-mail: jolanta.kutkowska@poczta.umcs.lublin.pl



Wstęp

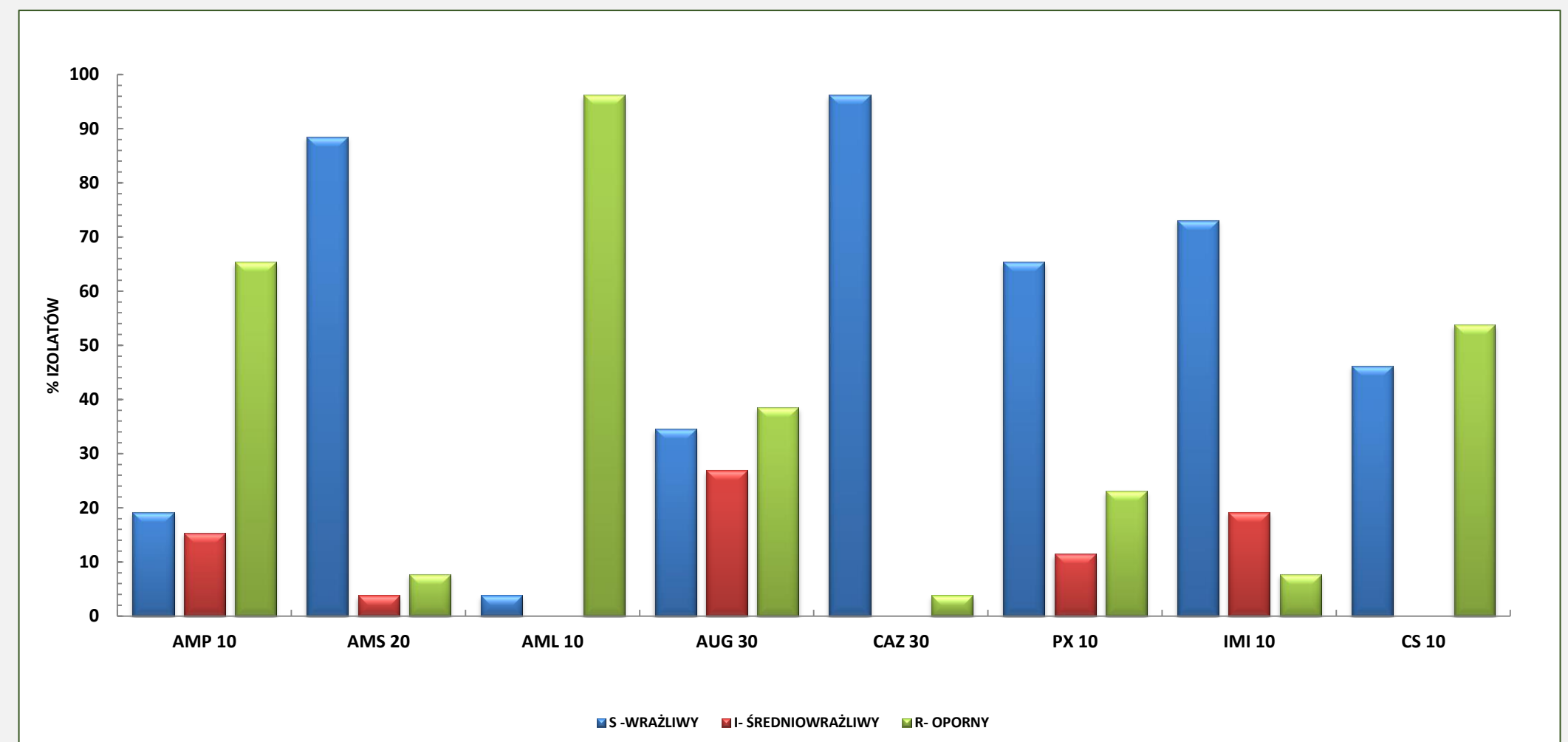
Rosnąca ilość patogenów opornych na antybiotyki jest jednym z głównych zagrożeń w ochronie zdrowia. Rezerwuarem i wektorami rozprzestrzeniania się antybiotkoopornych patogenów mogą być dzikie ptaki. Genomy bakterii środowiskowych stanowią swoisty rezerwuuar genów warunkujących oporność na antybiotyki. Proces rozprzestrzeniania oporności wśród patogenów jest przypisywany nadużywaniu i niewłaściwemu wykorzystaniu antybiotyków w medycynie, weterynarii i rolnictwie, a w konsekwencji selekcji antybiotkoopornych szczepów. Oporność na dany antybiotyk może być warunkowana poprzez kilka różnych mechanizmów, niektóre z nich mogą nadawać oporność na wiele leków określaną jako wielolekooporność. Do najczęściej stosowanych w leczeniu należą antybiotyki β-laktamowe, do których należą penicyliny, cefalosporyny, karbapenemy i monobaktamy. Oporność na tę grupę antybiotyków jest warunkowana różnymi mechanizmami z których najważniejsze znaczenie dla oporności ma wytwarzanie β-laktamaz.

Materiały i metody

Celem pracy było określenie wrażliwości na antybiotyki i poznanie mechanizmów oporności metodami fenotypowymi i genotypowymi bakterii wyizolowanych od ptaków dziko żyjących. Badania przeprowadzono na 26 szczepach bakterii z rzędu *Enterobacterales* wyizolowanych z odchodów ptaków i wymazów z kloaki.

Wrażliwość na antybiotyki oznaczano metodą krążkowo-dyfuzyjną wg Kirby-Bauera, a minimalne stężenie hamujące (MIC) metodą mikrorozcieńczeń w bulionie, zgodnie z zaleceniami Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Wzrost na agarze z kolistyną nakropiono 10 µl hodowli na podłożu Muller-Hinton Agar zawierający 3 µg/ml siarczianu kolistyny.

Produkcję β-laktamazy o rozszerzonym spektrum działania (ESBL) i wykrywanie cefalosporynaz AmpC sprawdzono z użyciem zestawów D63C, D68C i D69C, a produkcję karbapenemaz D73C (MastGroup Ltd).



RYSUNEK 1. Odsetek izolatów opornych na wybrane antybiotyki

Wyniki

Wśród wyizolowanych szczepów dominowały *Escherichia coli* i *Enterobacter* sp. (*E. aerogenes*, *E. cloacae*, *E. gergoviae*, *E. asburiae*); ponadto występowały: *Hafnia alvei*, *Cronobacter sakazakii*, *Klebsiella ozaenae* i *K. oxytoca*, *Serratia fonticola* i *S. urealytica*, *Salmonella enterica* spp., *Proteus vulgaris*, *Kluyvera cryocrescens*, *Moellerella wisconsensis*, *Providencia alcalifaciens*.

Wykazano oporność badanych izolatów na antybiotyki β-laktamowe - 96% na amoksycylinę i 65% opornych na ampicylinę; część z nich była również oporna na ich połączenie z inhibitorami β-laktamaz - 38% amoksycyliny z kw. klawulanowym, a 8% ampicyliny z sulbaktamem.

Wartości MIC augmentinu wahały się od 32 µg/ml *H. alvei*, *Serratia fonticola* i *M. wisconsensis*; przez 64 µg/ml *K. ozaenae* i *K. cryocrescens* do ≥ 256 µg/ml *P. alcalifaciens* oraz izolatów *Enterobacter* i *Cronobacter*. Ampicylina z sulbaktamem hamowała wzrost *K. cryocrescens* i *P. alcalifaciens* w stężeniu 16 µg/ml, a *E. aerogenes* 64 µg/ml.

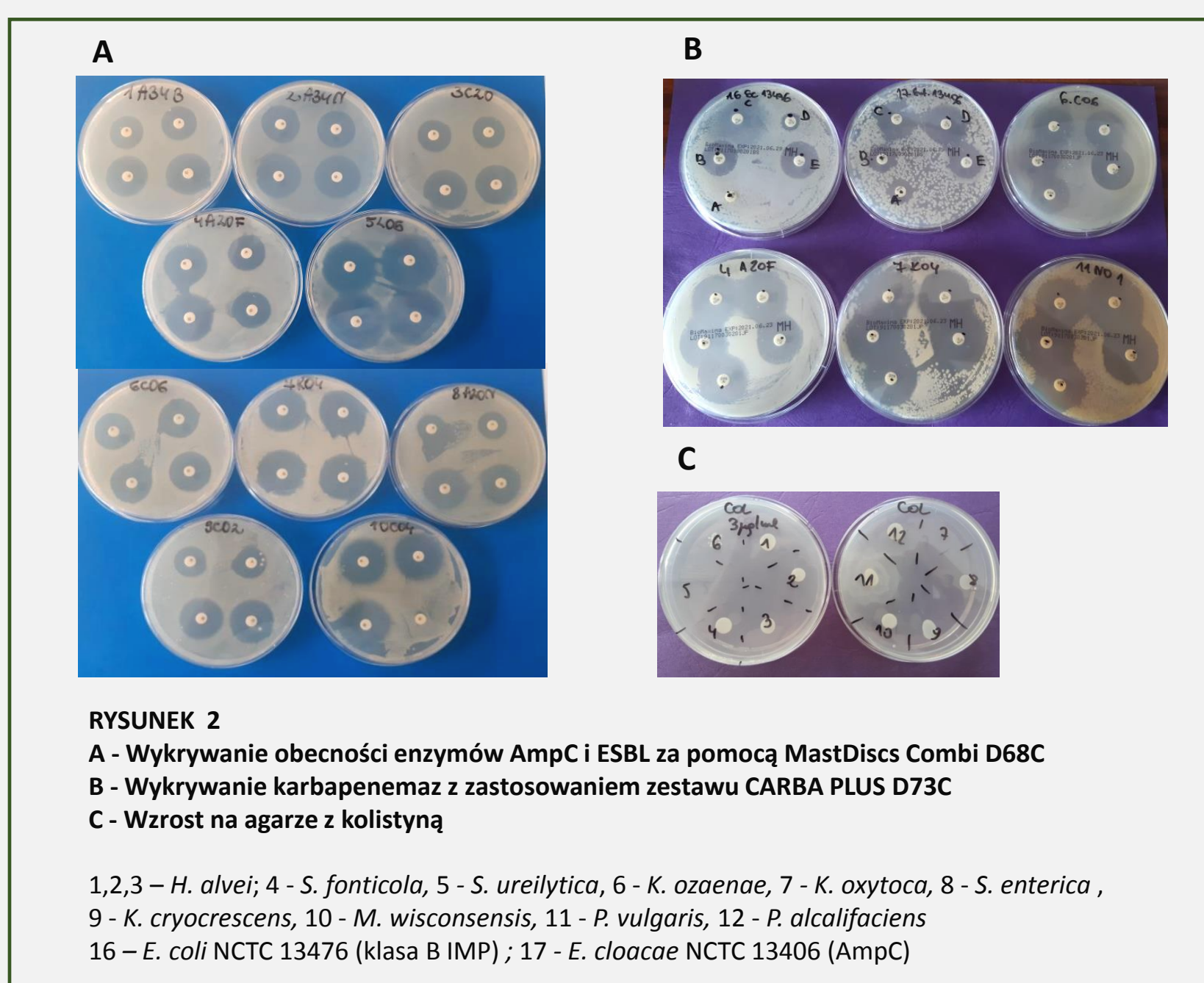
Jedna czwarta szczepów była średniowrażliwa na cefalosporyny III generacji tylko jeden szczep oporny na ceftazydym, wszystkie wrażliwe na cefepim.

Wszystkie wrażliwe na azteronam i meropenem, 2 oporne na imipenem i 5 średniowrażliwych. Spośród szczepów określonych jako oporne na imipenem metodą dyfuzyjną - krążkową wartości MIC wynosiły 2 i 4 µg/ml odpowiednio dla *S. fonticola* i *P. vulgaris*. Wykonane testy fenotypowe z zastosowaniem zestawu D73C nie potwierdziły produkcji karbapenemaz.

Ponad połowa izolatów wykazywała oporność na kolistynę. Wartości MIC dla szczepów opornych wynosiły od 2-8 µg/ml (*Hafnia*, *Kluyvera*, *Enterobacter*, *Cronobacter*), 64 µg/ml *Salmonella*, do >128 µg/ml dla szczepów *Moellerella*, *Proteus*, *Providencia*.

Zastosowanie metody krążków kombinowanych zawierających cefpodoksym i jego połączenie z inhibitorami i/lub aktywatorami β-laktamaz pozwoliło na określenie fenotypu produkowanych enzymów. Dla 12 szczepów wskazano występowanie oporności typu AmpC, 2 izolaty (*S. fonticola*, *M. wisconsensis*) produkował zarówno ESBL, jak i AmpC.

Część szczepów była średniowrażliwa na antybiotyki aminoglikozydowe i pochodne tetracykliny. Wszystkie izolaty charakteryzowały się wrażliwością na chionolony, tetracyklinę i chloramfenikol.



ANTYBIOTYK	IZOLAT															Izolaty oporne (%)																							
	<i>Hafnia</i> (n=3)			<i>Serratia</i> (n=2)			<i>Klebsiella</i> (n=2)			<i>Salmonella</i> (n=1)			<i>Kluyvera</i> (n=1)				<i>Moellerella</i> (n=1)			<i>Proteus</i> (n=1)			<i>Providencia</i> (n=1)			<i>Escherichia</i> (n=7)			<i>Enterobacter</i> (n=5)			<i>Cronobacter</i> (n=2)							
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Penicyliny																																							
AMP 10	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	17 (65)		
AMS 20	3			2			2			1			1			1			1			1			1			7	1	6	3	2	1	1	1	2	2 (8)		
AML 10				3	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	5	5	5	2	2	2	2	2	26 (96)		
AUG 30	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	3	5	2	2	2	2	2	2	10 (38)		
Cefalosporyny																																							
CAZ 30	3			2			2			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	5	2	2	2	2	1	1	1	1 (3,8)		
FEP 30	3			2			2			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	5	2	2	2	2	2	2	2	0		
PX 10	2	1	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	7	2	3	2	2	2	2	2	5 (19,2)		
Monobaktamy																																							
ATM 30	3			2			2			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	5	2	2	2	2	0	0	0	0		
Karbapenemy																																							
IMI 10	3			1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	5	2	2	2	2	2	2	2	2 (8)		
MRP 10	3			2			2			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	5	2	2	2	2	0	0	0	0		
Aminoglikozydy																																							
CN 10	3			2			2			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	5	2	2	2	2	0	0	0	0		
S 10	3			2			2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	5	2	1	1	1	0	0	0	0		
N 30	3			2			2			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	3	2	1	1	1	0	0	0	0		
AK 30	3			2			2			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	2	3	2	2	2	0	0	0	0		
Tetracykliny																																							
TE 30	3			2			2			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	5	2	2	2	2	0	0	0	0		
T 30	3	3	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	7	5	5	2	2	2	2	2	0		
TGC 15	3			2			2			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	3	2	2	2	2	0	0	0	0		
Fluorochinolony																																							
CIP 5	3			2			2			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	5	2	2	2	2	0	0	0	0		
MOX 5	3			2			2			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	5	2	2	2	2	0	0	0	0		
Amfenikole																																							
C30	3			2			2			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	5	2	2	2	2	0	0	0	0		
Polipeptydy																																							
CS 10	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	3	1	4	2	2	2	2	2	14 (54)		

Wnioski

Bakterie z rzędu *Enterobacterales*, w tym szczepy oporne na antybiotyki obecne w odchodach ptaków dziko żyjących należy uwzględnić jako jedno ze źródeł zagrożeń epidemiologicznych w obszarach zamieszkałych przez ludzi.

TABELA

Profil antybiotykowrażliwości szczepów wyizolowanych od ptaków
S - WRAZLIWY, I - ŚREDNIOWRAZLIWY, R - OPORNY
AMP 10 AMPICYLINA; AMS 20 AMPICYLINA/SULBAKTAM (10/10); AML 10 AMOKSYCYLINA, AUG 30 AMOKSYCYLINA/KW. KLAWULANOWY (20/10)
CAZ 30 CEFTAZYDYM; FEP 30 CEFEPIM; PX 10 CEFPODOKSYM; ATM 30 AZTERONAM; IMI 10 IMIPENEM; MRP 10 MEROPENEM;
CN 10 GENTAMYCyna, S 10 STREPTOMYCyna; N 30 NEOMYCyna, AK 30 AMIKACYNA; TE 30 TETRACYKLINA, T 30 OKSYTETRACYKLINA; TGC 15 TYGECYLINA;
CIP 5 CIPROFLOKSACYNA; MOX 5 MOKSYFLOKSACYNA; C 30 CHLORAMFENIKOL, CS 10 KOLISTYNA