

*Łukasz Mąka, Halina Ścieżyńska, Anna Grochowska, Kamila Pawłowska,
Bożena Windyga, Kazimierz Karłowski*

WRAŻLIWOŚĆ PAŁECZEK *SALMONELLA* WYIZOLOWANYCH Z ŻYWNOŚCI Z TERENU POLSKI NA WYBRANE CHEMIOTERAPEUTYKI

Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku
Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: doc. dr hab. K. Karłowski

*Określono wrażliwość 159 szczepów *Salmonella* wyizolowanych z żywności na terenie Polski w latach 2004–2007. Zbadano zależność między źródłem izolacji pałeczek *Salmonella*, ich serotypem a opornością. Wielooporność częściej występuje u *S. Typhimurium*, *S. Virchow*, *S. Derby* niż u *S. Enteritidis*. Tylko dwa antybiotyki (cefotaksym i ceftriakson) okazały się skuteczne wobec wszystkich badanych szczepów. Najczęściej występująca oporność dotyczyła kwasu nalidyskowego. Najwięcej szczepów opornych izolowano z wyrobów drobiowych oraz jaj.*

Hasła kluczowe: *Salmonella*, wrażliwość na chemioterapeutyki, oporność, antybio-tykooporność.

Key words: *Salmonella*, antimicrobial susceptibility, resistance, antimicrobial resistance.

Stosowanie antybiotyków w przemyśle spożywczym oraz nadużywanie ich w leczeniu przyczyniło się do wzrostu częstotliwości występowania bakterii posiadających geny oporności na antybiotyki. Zanieczyszczenie żywności takimi bakteriami stanowi poważny problem w sektorze zdrowia publicznego, ponieważ czynniki oporności mogą być przenoszone na inne bakterie, w tym chorobotwórcze, co w przypadku ewentualnej infekcji człowieka znacznie utrudnia leczenie (1).

Pomimo tego, że od stycznia 2006 roku stosowanie antybiotyków, innych niż kokcydiostatyków, jako dodatków do pasz zostało zabronione w krajach Unii Europejskiej, problem występowania oporności na antybiotyki u bakterii wciąż pozostaje aktualny (2, 3, 4).

Bakteriami chorobotwórczymi, najczęściej wywołującymi zatrucia pokarmowe w Polsce są pałeczki *Salmonella*. Uważa się, że są one główną przyczyną duru brzuszego i nieżytu żołądkowo-jelitowego. Każdego roku *Salmonella* wywołuje choroby u milionów ludzi, zarówno w krajach rozwijających się, jak i uprzemysłowionych. W Polsce w 2009 r. stwierdzono 8964 salmoneloz (5). Infekcje wywołane opornymi pałeczkami *Salmonella* powodują wzrost zachorowalności i śmiertelności (6). W kraju od 2003 r. utrzymuje się bardzo wysoki, ponad 70% odsetek hospitalizowanych osób zakażonych odzwierzęcymi pałeczkami *Salmonella*, w roku 2007

był on znacznie mniejszy – 34% (7). Głównym rezerwuarem tych bakterii jest żywność. Dane z piśmiennictwa wskazują na liczne antybiotykooporne pałeczki *Salmonella* pochodzące z żywności jako przyczynę zachorowań. W 1983 r. w USA szczep *Salmonella* Newport posiadający oporność na ampicylinę i tetracyklinę spowodował infekcję u kilkunastu osób (8). W połowie lat 80 pojawił się oporny na wiele antybiotyków serotyp *S. Typhimurium* DT-104 (9). Jego obecność stwierdzono w Danii, Holandii i Wielkiej Brytanii. W 1998 r. w Wielkiej Brytanii, wielooporne pałeczki *S. Typhimurium* DT 104, których źródłem było mleko, spowodowały zatrucie ponad 200 osób (10).

Celem pracy było określenie wrażliwości na chemioterapeutyki pałeczek *Salmonella* wyizolowanych z żywności w ramach urzędowej kontroli żywności i z zatruc pokarmowych przez laboratoria Państwowej Inspekcji Sanitarnej.

MATERIAŁ I METODY

Badaniom poddano 159 szczepów pałeczek *Salmonella* w latach 2004–2007.

Zdecydowaną większość stanowiły szczepy *Salmonella* Enteritidis – 103 szczepy. Testom wrażliwości na antybiotyki poddano również szczepy *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, *S. Newport*, *S. Virchow*, *S. Mbandaka*, *S. Agona*, *S. Hadar*, *S. Saintpaul*, *S. Seftenberg*, *S. Dublin*, *S. Hato*, *S. Minnesota*, *S. Kentucky*.

Najwięcej szczepów wyizolowano z wyrobów ciastkarskich – 43 (27%), 30 szczepów (18,9%) pochodziło z wyrobów drobiowych, 19 (11,9%) z wyrobów garmażeryjnych a 12 szczepów (7,5%) z jaj (skorupka i zawartość jaja). Źródłem pałeczek *Salmonella* były także makarony, przyprawy, mięso wieprzowe, lody, ryby, suszone morele, dżemy, śmietana, kasze i inne. Przyczyną zatruc pokarmowych były 22 szczepy (13,8%).

Laboratoria stacji sanitarno-epidemiologicznych izolowały szczepy *Salmonella* zgodnie z normą PN-EN ISO 6579:2003 „Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania *Salmonella* spp.”.

Wrażliwość szczepów na chemioterapeutyki oznaczano za pomocą metody krążko-dyfuzyjnej zgodnie z zaleceniami Instytutu Standardów Klinicznych i Laboratoryjnych (Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI, dawniej NCCLS). Stosowano krążki firmy Oxoid z następującymi chemioterapeutykami: amoksycylina/kwas klawulanowy, ampicylina, aztreonam, cefotaksym, ceftazydim, ceftriaksone, chloramfenikol, ciprofloksacyna, gentamycyna, kanamycyna, kwas nalidyksowy, streptomycyna, sulfametoksazol/trimetoprim, sulfonamidy, tetracyklina, trimetoprim.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki badań dotyczących oporności na chemioterapeutyki izolowanych z żywności szczepów *Salmonella* przedstawiono w tab. I i II.

Wśród 159 szczepów, 38 (23,9%) wykazywało oporność na co najmniej jeden chemioterapeutyk, a 42 szczepy (24%) przejawiały zmniejszoną wrażliwość wobec co najmniej jednego chemioterapeutyku.

Tabela I. Oporność na chemioterapeutyki różnych serotypów *Salmonella*
 Table I. Antimicrobial resistance of different *Salmonella* serotypes

Serotyp	Liczba szczepów	Wrażliwe na wszystkie chemioterapeutyki*	Szczep całkowicie wrażliwe	Przejawiające zmniejszoną wrażliwość na liczbę chemioterapeutyków:						Szczepo odporne na liczbę chemioterapeutyków:				
				1	2	3	1	2	3	4	≥ 5			
S. Enteritidis	103	88	63	14	6	5	14	0	0	1	0	0	0	
S. Agona	3	2	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
S. Dublin	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
S. Hadar	3	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	
S. Hato	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
S. Infantis	14	13	10	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
S. Kentucky	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (12)**	
S. Mbandaka	6	6	1	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
S. Minnesota	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
S. Newport	7	5	3	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	
S. Saintpaul	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (5,6)**	
S. Seftenberg	2	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
S. Typhimurium	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8 (6,7)**	
S. Virchow	7	2	0	1	1	0	4	1	0	0	0	0	0	
Razem	159	121	79	26	11	5	22	3	0	2	0	0	11	
Odsetek:		76,1%	49,7%	16,4%	6,9%	3,1%	13,8%	1,9%	0%	1,3%	0	0	6,9%	

* – 16 chemioterapeutyków; ** – w nawiasie podano liczbę chemioterapeutyków, na które badane szczepo wykazywały oporność.

Tabela II. Oporność różnych serotypów *Salmonella* na poszczególne chemioterapeutykiTable II. Resistance of different *Salmonella* serotypes on specific drugs

Serotyp	Liczba szcze- pów	AMC 30	AMP 10	ATM 30	CTX 30	CAZ 30	CRO 30	C 30	CIP 5	CN 10	K 30	NA 30	S 10	SXT 25	S3 300	TE 30	W 5
S. Enteritidis	103	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	12	0	0	2	1	0
S. Agona	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. Dublin	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. Hadar	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	2	0
S. Hato	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. Infantis	14	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
S. Kentucky	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S. Mbandaka	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. Minnesota	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. Newport	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
S. Saintpaul	2	1	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	0
S. Seftenberg	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. Typhimurium	8	3	8	0	0	0	0	8	0	0	0	8	8	0	8	8	0
S. Virchow	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0
razem	159	6	12	2	0	1	0	10	1	3	3	31	13	1	13	13	1
odsetek:		3,77%	7,55%	1,26%	0%	0,63%	0%	6,3%	0,63%	1,89%	1,89%	19,5%	8,18%	0,63%	8,18%	8,18%	0,63%

AMC30 – amoksycylina/kw. klawulanowy (80 µg), AMP10 – ampicylina (10 µg), ATM30 – aztreonam (30 µg), CTX30 – cefotaksym (30 µg), CAZ30 – ceftazydim (10 µg), CRO30 – ceftriakson (20 µg), C30 – chloramfenikol (30 µg), CIP5 – ciprofloksacyna (5 µg), CN10 – gentamycyna (10 µg), K30 – kanamycyna (10 µg), NA30 – kwas nalidixowy (30 µg), S10 – streptomycyna (10 µg), SXT25 – sulfametoksazol/trimetoprim (5 µg), S3 300 – sulfonamidy (30 µg), TE30 – tetracyklina (30 µg), W5 – trimetoprim (25 µg).

Oporność na jeden chemioterapeutyk wykazały 22 szczepy (13,8%), na dwa chemioterapeutyki – 3 szczepy (1,9%), a na 4 lub więcej – 13 szczepów (8,2%).

Pośród 103 szczepów *S. Enteritidis* oporność na chemioterapeutyki wykazało 15 badanych szczepów (14,6% szczepów należących do tego serotypu), z czego jeden był oporny na 4 chemioterapeutyki. Oporność na kw. nalidyksowy wykazywało 12 (11,7%) szczepów *S. Enteritidis*. Stwierdzono, że 7 (31,8%) szczepów pochodzących z zatruc pokarmowych było opornych na chemioterapeutyki, w tym jeden na 4 chemioterapeutyki.

Wszystkie zbadane szczepy *S. Typhimurium* (7) wykazywały wielooporność na 5 lub 6 chemioterapeutyków.

Uzyskane wyniki są zgodne z danymi z piśmiennictwa. *Threlfall* i współpr. oraz *Varma* i współpr. wykazali, że oporność *Salmonella* na antybiotyki jest związana z serotypem. Wielooporność występuje częściej u *S. Typhimurium*, *S. Virchow*, *S. Derby*, *S. Newport* czy *S. Hadar* (11, 12). Z żywności najczęściej izolowane są pałeczki *S. Enteritidis*, które rzadziej wykazują wielooporność.

Szczepem opornym na największą liczbę chemioterapeutyków okazał się *S. Kentucky*, wyizolowany z ziół, wobec którego 12 antybiotyków było nieskutecznych.

Pośród 16 stosowanych w badaniach chemioterapeutyków, tylko 2 (cefotaksym i ceftriakson) były skuteczne wobec wszystkich szczepów.

Najwięcej, 31 (19,5%) zbadanych szczepów, przejawiało oporność na kwas nalidyksowy. Oporność bakterii na kwas nalidyksowy, podobnie, jak na fluorochinolony nowszej generacji, jest wynikiem punktowych mutacji chromosomowych. W drugiej połowie lat dziewięćdziesiątych opisano „pompy” MDR (Multi Drug Resistance), które usuwają chinoliny z komórki bakteryjnej. Coraz częściej odnotowywane są przypadki ich funkcjonowania u bakterii gramujemnych, m.in. *S. Typhimurium*.

Ponadto 13 szczepów (8,18%) wykazywało oporność na streptomycynę, sulfonamidy lub tetracyklinę.

Sprawdzono także zależność pomiędzy pochodzeniem szczepów *Salmonella* a ich opornością. 39,5% szczepów, które wykazywały oporność na co najmniej jeden chemioterapeutyk, pochodziło z wyrobów drobiowych, a 13,2% z jaj. Z zatruc pokarmowych pochodziło 21% szczepów opornych na chemioterapeutyki.

Najczęstszym czynnikiem etiologicznym zatruc pokarmowych jest *S. Enteritidis*. Udział zachorowań wywołanych tym typem serologicznym w ogólnej liczbie zachorowań na salmonelozę w Polsce w 2007 r. wyniósł 81,2% (13). Z wyizolowanych przez stacje sanitarno-epidemiologiczne 22 szczepów, które były przyczyną zachorowań, 20 należało do tego serotypu. 7 szczepów (31,8%) wykazywało oporność na chemioterapeutyki.

WNIOSKI

1. Wielooporność częściej występuje u takich serotypów jak *S. Typhimurium*, *S. Virchow*, *S. Derby*, *S. Newport* czy *S. Hadar* niż u *S. Enteritidis*.

2. Wśród stosowanych chemioterapeutyków tylko cefotaksym i ceftriakson były skuteczne wobec wszystkich badanych szczepów. Najmniej skuteczny okazał się kwas nalidyksowy.

3. Najwięcej szczepów opornych pochodziło z wyrobów drobiowych, jaj a także z zatruc pokarmowych.

L. Mąka, H. Ścieżyńska, A. Grochowska, K. Pawłowska,
B. Windyga, K. Karłowski

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF SALMONELLA STRAINS
ISOLATED FROM FOOD IN POLAND

Summary

One hundred fifty nine *Salmonella* strains isolated from food in Poland in 2004-2007 were tested. The aim was to assess their susceptibility to various medicines. Dependence between the source, *Salmonella* serotype, and the resistance was investigated. Multiresistance is more frequent in *S. Typhimurium*, *S. Virchow*, *S. Derby* than in *S. Enteritidis*. Only two antibiotics were found to be effective in treatment of all tested strains. Most frequent was the resistance to nalidixic acid. Most of the resistant strains were isolated from poultry products and eggs.

PIŚMIENNICTWO

1. *Shmidt K., Tirado C.*: WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe. Seventh Report 1993-1998. Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine (FAO/WHO Collaborating Centre for Research and Training in Food Hygiene and Zoonoses), Berlin, 2001. – 2. *Davis M.A., Hancock D.D., Besser T.E., Rice D.H., Gay J.M., Gay C., Gearhart L., Di Giacomo R.*: Changes in antimicrobial resistance among *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates from humans and cattle in the Northwestern United States. 1982-1997. *Emerg. Infect. Dis.*, 1999; 5:802-806. – 3. *Sadkowska-Todys M., Czarkowski M.P.*: Salmonelozy w Polsce w 2007 roku. *Przegl. Epidemiol.* 2009; 63: 229-235. – 4. *Threlfall E.J., Ward L.R., Skinner J.A., Graham A.*: Antimicrobial drug resistance in non-typhoidal salmonellas from humans in England and Wales in 1998. Decrease in multiple resistance in *Salmonella enterica* serotypes Typhimurium, Virchow and Hadar. *Microbial Drug Resistance* 2000; 6: 319-325. – 5. *Hendriksen R., Karlsmosoe S., Krause M., Aarestrup F.*: The External Quality Assurance System of the WHO Global Salm-Surv, Year 2007” August, 2008. – 6. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. – 7. *Holmberg S.D., Osterholm M.T., Singer K.A., Cohen M.L.*: Drug-resistant *Salmonella* from animals fed antimicrobials. *N. Engl. J. Med.*, 1984; 311:617-622. – 8. *Threlfall E.J., Ward L.R., Frost J.A., Willshaw G.A.*: The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 2000; 62: 1-5. – 9. *Walker R.A., Lawson A.J., Lindsay E.A., Ward L.R., Wright P.A., Bolton F.J., Wareing D.R., Corkish J.D., Davies R.H., Threlfall E.J.*: Decreased susceptibility to ciprofloxacin in outbreak-associated multiresistant *Salmonella* Typhimurium DT104. *Vet.Rec.* 2000; 147: 395-396. – 10. *Baummann A., Sadkowska-Todys M.*: Zatrucia i zakażenia pokarmowe w Polsce w 2007 roku. *Przegl. Epidemiol.*, 2009; 63: 213-220.
11. *Varma J.K., Marcus R., Stenzel S.A., Hanna S.S., Gettner S., Anderson B.J., Hayes T., Shiferaw B., Crume T.L., Joyce K., Fullerton K.E., Voetsch A.C., Angulo F.J.*: Highly resistant *Salmonella* Newport-MDRampC transmitted through the domestic US food supply: A FoodNet case-control study of sporadic *Salmonella* Newport infections, 2002-2003. *J.Infect.Dis* 2006; 194: 222-230. – 12. *Markiewicz Z., Kwiatkowski Z.A.*: Bakterie, antybiotyki, lekooporność. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008. – 13. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from the European Food Safety Authority on foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard. *The EFSA Journal* 2008; 765: 1-87.