

УДК 615. 33. 065: 616. 34

Левківський Д. М., доцент, **Маслянюк Р. П.**, д.вет.н., професор,
Флюнт Р. Б., доцент, **Романович М.С.**, ст. викл. ©

*Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького*

СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА СТІЙКІСТЬ БАКТЕРІЙ ДО АНТИБІОТИКІВ

У статті наведено результати вивчення стійкості збудників бактеріальних інфекцій до антибіотиків.

Ключові слова: бактерії, інфекційні хвороби, антибіотики, резистентність.

Окремі штами *K. hamra*, які викликають інфекційні хвороби сечостатевого органу у людини виявлено у к-ку корів. Дослідження показали, що ці мікроорганізми є стійкими до багатьох антибіотиків, що негативно впливає на лікування та продовження термінів реабілітації.

До недавнього часу дослідників цікавило питання лише про стійкість організму до одного антибіотика, який застосовується в експерименті. Сьогодні відомо, що бактерія може проявляти стійкість до двох і більше антибіотиків. Відкриття генних касет, або інтегронів, які містять генетичну інформацію про стійкість бактерій чи їх токсичних складових до декількох різних антибіотиків, змусило дослідників переглянути свої знання про ступінь стійкості бактерій до антибіотиків.

Бактерії з підвищеною стійкістю до антибіотиків були виявлені на об'єктах, де застосовуються антибактеріальні речовини: в лікарнях, медичних лабораторіях, обладнаннях для обробки питної води [7,8,18]. Також стійкі до антибіотиків бактерії були виявлені також в природних умовах: у водоймах, ґрунті, кормах [14].

Гени стійкості властиві не лише бактеріям, які викликають захворювання (сальмонели, пастерели, кампілобактерії та актинобактерії), але й коменсальним збудникам (Ешеріхії, ентерококи та бактероїди). Ступінь стійкості бактерій до антибіотиків змінюється залежно від оточуючого середовища [15,19]. Є дані, що гени, які відповідають за стійкість до антибіотиків, утворюються в бактеріях, в яких продукуються ці антибіотики з метою запобігання процесів самознищення [5].

За даними [3,31], існує зв'язок між застосуванням антибіотиків і стійкістю організму до них. Лікування одним препаратом звичайно веде до стійкості проти нього, однак перехрестна стійкість до інших антибіотиків, які у морфофункціональному відношенні не подібні на застосований раніше, також може проявитися [16,25]. Так, несподівано, при застосуванні пеніциліну золотистий стафілокок почав виробляти пеніциліназу. Коли замість пеніциліна застосували метицилін то стафілокок досить швидко став стійким і проти нього.

Подібна схема встановлена і при застосуванні ванкомицину [31]. Проте, можна припускати, що стійкі до антибіотиків гени бактерій не змінюються, якщо збудник не піддається дії антибіотиків [25].

Особливої уваги заслуговують зоонози- інфекційні хвороби, які передаються людині від тварин [1]. У розвинених країнах зооноз зустрічається часто та вважається харчовою інфекцією, яка провокується видами *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria* і ін. Шлунково- кишковий тракт тварин є первинним резервуаром збудників зоонозів. Багато кишкових інфекцій є результатом фекального забруднення під час забою або обробки забитої туші [2].

Ріст стійкості зоонотичних бактерій до антибіотиків часто приводить до розвитку захворювань людини внаслідок можливого розвитку антибактеріальної стійкості у останніх [2]. Потенціальна важливість цього моменту для здоров'я людини була показана спалахами кінолоно-стійкого збудника сальмонельозу *S.Typhimurium* ДТ104 і флюорокінолоно-стійкого *S.Jejuni*, коли не вдалося вилікувати пацієнтів [6].

Інший спалах відбувся внаслідок стійкої до тетрацикліну сальмонел, коли було зареєстровано 18 випадків захворювань сальмонельозом в стадах корів на Заході США, які одержували тетрациклін разом з кормом [10].

Шлунково- кишковий тракт – найбільш сприятливе середовище для обміну генетичною інформацією [29]. Окремі ізоляти сальмонел і ешерихій, стійкі до апраміцину, зайвий раз доводили, що може передаватися від тварин до людини, якщо даний антибіотик не застосовується для лікування людини [12,32]. В окремих країнах Європи стійкі до флюорокінолону штами *S. Jejuni* були ізольовані в організмі людини після застосування енрофлосацина для птиці [13]. Подібна ситуація спостерігалася з організмом, стійким до стрептоміцину *E. coli*, коли цей антибіотик застосовували, як стимулятор росту для свиней, але не використовували в медицині. Стійкість до стрептоміцину виявлялася не лише у свиней, але й у робітників ферми, їх родичів і людей найближчих поселень [16]. Епідемія стійких сальмонел в окремих регіонах США перекинулася на телят молочних ферм [17]. 18 людей захворіли на Заході США, коли серед стада корів у Південній Дакоті була розповсюджена стійка до багатьох препаратів штами сальмонел [10]. Окремі спалахи *S.typhimurium* в Арізоні та в Канаді були викликані стійкою до багатьох антибіотиків бактерій, які знаходились у сирому молоці [4,28]. У Каліфорнії було заражено 45 пацієнтів сальмонелами після споживання яловичини з окремих молочних ферм [20].

Потенціальним джерелом зараження телят ветеринарні спеціалісти вважають насичені різними медикаментами замітники молока [21]. Автори замітили, що серед телят більш стійкі до антибіотиків зустрічаються частіше, ніж серед дорослої худоба, тому що молодим тваринам частіше дають препарати для попередження бактеріальних інфекцій. Крім цього було вивчено, як стійкість до антибіотиків передається від корів телятам. Стійкі проти антибіотиків мікроорганізми були виявлені у телят, яким згодовували молоко корів хворих на мастит [33]. В організмі телят була виявлена бактерія, стійка до

стрептоміцину. У телят, яким згодовували замітники молока без антибіотиків, вірусів, стійких до антибіотиків не виявили.

В інших досліджах показано, що такі мікроорганізми у телят всеж таки присутні. Так, в досліджах [9] було ізольовано *E. coli* стійку до сульфонамиду (сполука триметоприму та сульфаметоксазолу), із фекалій телят, з ознаками гострої діареї. Усі ізоляти виявилися стійкими до тетрацикліну, більшість до неоміцину та пеніциліну.

При наявності ризику розвитку стійкості до антибіотиків у тварин, яким дають протимікробні засоби, важливо враховувати і інші шляхи розвитку цієї стійкості [19]. Так, наприклад, фекальні відходи тваринного походження, що застосовуються як добрива, перетворюються у компости і зберігаються в гуртах (копицях). Бактерії, стійкі до антибіотиків, таким чином від тварин надходять у підземні води, рідники, тощо і можуть повертатися знову тваринам [25].

Розвиток стійкості до декількох різних антибіотиків є результатом горизонтальної або латеральної передачі генів. Цей процес, при якому ДНК може переходити від одної бактерії до іншої. На сьогодні визначено три механізми горизонтальної передачі генів: власне передача, трансформація і кон'югація. Процес передачі включає обмін ДНК між спорідненими бактеріями (наприклад, між двома різними псевдо монадами). Трансформація полягає в тому, що вільна ДНК переходить у клітину із оточуючого середовища. Цей процес залежить від близькості кореляції бактерії і вільної ДНК, від можливості клітини прийняти звільнену ДНК і з'єднати її з інформацією своєї власної ДНК.

Третій, очевидно, найбільш важливий механізм горизонтальної передачі генів – кон'югація. Це процес, під час якого бактерія Gram (-) обмінюється ДНК [31]. Кон'югація вимагає близького контакту клітин для передачі рушійних елементів із донорської клітини до приймачої клітини [27]. Кон'югація між бактеріями Gram (-) і Gram (+) була описана на прикладі інтергенетичної із *E. coli* в тип *Streptomices* [22].

Рушійні елементи – це плазмиди та кон'югативні Tn- елементи, які є вирішальними кон'югативними елементами. Плазмиди – це елементи з додатковими хромосомами в ДНК, які копіюються незалежно від хромосоми бактеріальної клітини. Плазмиди звичайно невеликі розміром, округлі, двониткові молекули, які виявляються у багатьох видах бактерій. Гени плазмідів не вважаються необхідними, проте вони створюють бактеріям певні вигідні умови. Розмір плазмід коливається від 1 Кв до 2000 Кв. Плазмиди стійкості, або «R – плазмиди» формують код для ферментів, які інактивують антибіотики, попереджають поглинання антибіотиком і виштовхують даний антибіотик [20]. Стійкі до антибіотиків ниткоподібні плазмиди присутні практично у всіх бактеріях і широко розповсюджені в природі. У бактерій G (-) ця стійкість виявляється переважно до антибіотиків [24]. Кон'югація переміщення плазмідів однакова у ентеробактерій, *Pseudomonas* і інших анаеробних бактеріях [24]. Бактерії Gram (-), які часто викликають інфекції, завжди стійкі до більшості антибіотиків, що і ускладнює боротьбу з подібними інфекціями. Такі бактерії стійкі до багатьох антибіотиків нового покоління в

результаті кількість випадків летального наслідку пацієнтів зростає. Недавно новий клас рушійних генетичних елементів, які викликаються інтегронами було виявлено у багатьох бактеріях Gram (-). Ці інтегрони представляють собою горизонтально переданих генів, зв'язаних з транспозонами чи кон'югативними плазмідами, які прискорюють розповсюдження навіть при наявності антибіотика.

За даними [18] більшість відомих сьогодні плазмідів дуже подібні з тими, які були відкриті ще до початку ери антибіотиків, хіба ці плазмідів не мали стійких до антибіотиків генів. Першою плазмід дою у кишкової паличці – F-плазмід (фактора фертильності) була виявлена в роботі [30]. F-плазмід є одинокою плазмід дою в ентеробактеріях, яка проліферує у кишечнику тварин [30]. Ця екосистема представляє стабільні умови та дозволяє F-плазміді розвивати апарат переміщення генів з більшою складністю, тоді як «безпорядочні» плазмідів типу Inc NPW і Q у більш нестабільних умовах можуть розвинути простіший, менш специфічний і менш ефективний, але більш рухливий кон'югативний апарат [26].

Література

1. Acha P. W. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals / P. W. Acha, B. Szyfres // Pan Amer. Sanitary Bwreom. Washington.-1994.
2. Aarestrup F. M. The effect of antibiotic unsage in food animals on the development of antimicrobial resistance of importance for human in Campylobacter and Eschrichia coli / F. M. Aarestrup, H. C. Wegner // Microb. Infect.-1999.-v. i.; P.639-644.
3. Barquero F. Antibiotic – selective environments / F. Barquero, M. C. Negri, M. I. Marosini // Clin. Dis.- 1998.-v.27.-P.95-911.
4. Bezanson G. S. Nosocomial oktbreak caused bu antibiotic – resistant strain of S. typhimurium acquired fron dairu cattle / G. S. Bezanson, R. Khakhria, E. Bollegraf // Can. Med.Assoc. J.-1983.-v.128.
5. Davies J. Another look at antibiotic resistance / J. Davies // P. 426-427. J. Gen. Microbiol.-1992.-v.138.-P.1553-1559.
6. Endtz H. P. Quinolone resistance in campylobacter isolated from man and poultrg following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine / H. P. Endtz, J. Ruisg, B. Van Clingenen et al.// J. Anti. Chemo.-1991.-v.27.-P.199-208.
7. Fontaine T. D. Transferable drug resistance associated with coliforms isolated from hospital and domestic sewage / T. D. Fontaine, A. W. Hoqdley // Health Lab. Sci.-1976.-v.13.-P.238-245.
8. Gauthier M. J. Gene transfer in marine environment / M. J. Ganthier, V. A. Breittmayer // Bact. Genet. Nat. Environ.-London.-1990.-P.100-110.
9. Hariharan H. J. Registance to trimethoprimsulphametoxazole of E. coli is olated from pigs and calves / H. J. Hariharan, J. W. Bryenton // Can. Vet. J.-1989.-v.30.-P.348-349.
10. Holmberg S. D. Animal – to man transmission of antibacterial resistant Salmonella : investigatiin of U. S. outbreaks 1971-1983 / S. D. Holmberg, J. R. Wells, M. I. Cohen // Science.- 1984.-v.225.-P.833.

11. Hummel R. Spread of plasmid – mediated nonrseothricin resistance due to antibiotic use in animal husbandry / R. Hummel, H. Tschape, W. Witte // *J. Basic Microbiol.*- 1986.-v.26.-P.461-466.
12. Hunter J. E. Human isolates of apramisin resistant E. coli which contain the genes for the AAC / J. E. Hunter, C. A. Hart // *Epidem. Infect.*-1993.-v.110.-P.253-259.
13. Jacobs – Rejstma W. F. The induction of quinolone resistant *Campylobacter* bacteria in broilers by quinolone treatment / W. F. Jacobs – Rejstma, C. A. Can // *Lett. Appl. Microbiol.*-1994.-v.19.-P.228-231.
14. Levy S. B. The antibiotic paradox / S. B. Levy // Plenum Press, New York, NY. USA.-1992.
15. Levi S. B. Antibiotic resistance an ecological imbalance / S. B. Levy // England, Ciba Foundation Symposium.-1997.-P.1-14.
16. Lewis K. Multidrug resistance pump in bacteria variation on a theme / K. Lewis // *Trends Biochem Sci.*-1994.-v.19.-P.119-123.
17. Lyons R. W. An epidemic of resistant salmonella in a nursery / R. W. Lyons, C. L. Samples, H. S. De – Silva et al. // *J. Amer. Med. Assoc.*-1980.-v.243.-P.546-549.
18. Mach P. A. R-plasmid transfer in a wastewater treatment plant / P. A. Mach, D. J. Grimes // *Appl. Environ. Microbiol.*-1982.-v.44.P.1395-1403.
19. Mc. Ewen S. A. Antimicrobial use and resistance in animals / S. A. Mc. Ewen // *Clin. Infect. Dis.*- 2002.-v.34.-P.S 93 – S106.
20. Madigan M. Brock biology of microorganisms / M. Madigan, J. Martinko // Prentice Hall, Upper Saddle River.-2003.-10 th Ed.
21. Martel J. L. Bacterial resistance monitoring in animals / J. L. Martel // *Vet. Microbiol.*-1993.-v.35.-P.321-338.
22. Mazodier P. Intergeneric conjugation between E. coli and streptomyces species / P. Mazodier, R. Petter, C. Thompson // *J. Bacteriol.*-1989.-v.171.-P.3583-3585.
23. Molback K. An outbreak of multidrug resistant, quinolone – resistant *Salmonella enterica* serotype typhimurium DT 104 / K. Molback, D. L. Boggesen // *W. Engl. J. Med.*-1999.-v.341.-P.1420-1425.
24. Nen H. C. The crisis in antibiotic resistance / H. C. Nen // *Science.*-1992.-v.257.-P.1064-1073.
25. Poole K. Bacterial multidrug resistance – emphasis on efflux mechanisms and *Pseudomonas aeruginosa* / K. Poole // *J. Anti. Chem.*-1994.-v.257.-P.1064-1073.
26. Sastre J. I. The carboxyl terminus of protein Tra D adds specificity and efficiency to F – plasmid conjugative transfer / J. I. Sastre, E. Cabezón // *J. Bacteriol.*-1998.-v.180.-P.6039-6042.
27. Schafer A. High – frequency conjugal plasmid transfer from gram – negative E. coli to various gram – negative coryneform bacteria / A. Schafer // *J. Bacteriol.*-1990.-v.172.-P.1663-1666.

28. Tacket C. O. An outbreak of multiple – drug – resistant Salmonella enteritis from raf milk / C. O. Tacket, L. B. Dominguez // J. Amer. Med. Assoc.-1985.-v253.-P.2058-2060.

29. Yan – den Bogaard A. E. Antimicrobial resistance relation to human and animal exposure to antibiotics / A. E. Van – den Bogaard // J. Anti. Chemo.-1997.-v.40.-P.453-454.

30. Watters V. L. Conjugative transfer in the dissemination of beta – lactam and aminoglycoside resistance / V. L. Watters // Fran. Biol.-1999.-v.4.-P.416-439.

31. Woo P. C. Facilitation of horizontal transfer of antimicrobial resistance by transformation of antibiotic – induced cell- wall- deficient bacteria / P. C. Woo, S. K. Han // Med. Hypot.-2003.-v.61 (4), P.503-508.

32. Wray C. Apramisin and gentamicyn resistance in E. coli and Salmonellas isolated from farm animals / C. R. Wray // J. Angiene.-1986.-v.97.-P.445-456.

33. Wray C. Feeding antibiotic – contaminated waste milk to calves – effects on physical performance and antibiotic sensitivity of gut flora / C. Wray // Brit. Vet. J.-1990.-v.146.-P.80-87.

Summary

The article contains results of experimental researches on the resistance of bacterial agents to the antibiotics.

Стаття надійшла до редакції 10.05.2011