

## GYVŪNINĖS KILMĖS *E. COLI* RŪŠIES BAKTERIJŲ FENOTIPINIS ATSPARUMAS ANTIMIKROBINĖMS MEDŽIAGOMS

Modestas Ružauskas<sup>1</sup>, Edita Sužiedėlienė<sup>2</sup>, Vaida Šeputienė<sup>2</sup>, Marius Virgailis<sup>1</sup>, Rita Šiugždinienė<sup>1</sup>, Rimantas Daugelavičius<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Mikrobiologijos ir maisto saugos skyrius, Lietuvos veterinarijos akademijos Veterinarijos institutas, Instituto g. 2, LT-56115, Kaišiadorys; tel. +370 615 15 240; el. paštas: microbio@lvavi.lt*

<sup>2</sup>*Biochemijos ir biofizikos katedra, Gamtos mokslų fakultetas, Vilniaus universitetas,*

*M. K. Čiurlionio g. 21, LT-03101 Vilnius; tel. +370 523 98 244; el. paštas: rimantas.daugelavicius@gf.vu.lt*

**Santrauka.** Darbo tikslas – išskirti *E. coli* rūšies bakterijas iš gyvūninės kilmės šaltinių ir nustatyti jų fenotipinį atsparumą *in vitro* antimikrobinėms medžiagoms. Klinikinė ir patologinė medžiaga iš sergančių ir nugaišusių gyvūnų tyrimams surinkta skirtinguose Lietuvos regionuose tiriant galvijus, kiaules ir naminius paukščius. Atskirai išskirtos indikatorinės *E. coli* iš sveikų gyvūnų. Antimikrobinis atsparumas tirtas antibiotikų diskų metodu pagal Klinikinių ir laboratorinių standartų instituto (CLSI) rekomendacijas. Tyrimams atrinktos 95 *E. coli* padermės, iš kurių 68 buvo išskirtos iš nugaišusių ir sergančių gyvūnų, o 27 – iš sveikų gyvūnų. Nustatyta, kad nė viena tirtoji antimikrobinė medžiaga nebuvo absoliučiai efektyvi *in vitro* prieš visas tirtąsias *E. coli* padermes. Daugiausia atsparių padermių nustatyta teraciklinui, ampicilinui, cefalotinui ir sulfametoksazolio-trimetoprimo kombinacijai. Net trečdalis *E. coli* padermių buvo daugiaatsparios – atsparios bent 5 antimikrobinėms medžiagoms iš 12 tirtų. Iš sveikų gyvūnų išskirtos *E. coli* žymiai dažniau buvo jautresnės, nei išskirtos iš sergančių gyvūnų, todėl, mikrobiologijos laboratorijose tiriant antimikrobinį atsparumą, reikėtų atkreipti ypatingą dėmesį į infekcinio agento išskyrimą, tai yra nustatyti galimą tiriamojo izoliatu vaidmenį ligos etiologijoje.

**Raktažodžiai:** antibiotikai, antimikrobinės medžiagos, antimikrobinis atsparumas, dauginis atsparumas, *E. coli*.

## PHENOTYPIC RESISTANCE OF *ESCHERICHIA COLI* ISOLATED FROM ANIMALS TO ANTIMICROBIALS

Modestas Ružauskas<sup>1</sup>, Edita Sužiedėlienė<sup>2</sup>, Vaida Šeputienė<sup>2</sup>, Marius Virgailis<sup>1</sup>, Rita Šiugždinienė<sup>1</sup>, Rimantas Daugelavičius<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Microbiology and Food Safety, Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary Academy, Instituto g. 2, LT-56115 Kaišiadorys, Lithuania; phone +370 615 15 240; e-mail: microbio@lvavi.lt*

<sup>2</sup>*Department of Biochemistry and Biophysics, Faculty of Natural Sciences of Vilnius University,*

*M. K. Čiurlionio g. 21, LT-03101 Vilnius, Lithuania; phone +370 523 98 244,*

*e-mail: rimantas.daugelavicius@gf.vu.lt.*

**Summary.** The aim of this study to isolate *E. coli* from animal origin and to determine resistance to antimicrobials. Clinical and pathological material from sick and dead animals was collected from different regions of Lithuania. Cattle, pigs and poultry were included in this study. As control *E. coli* isolated from healthy animals was also tested. Disc diffusion method was used for antimicrobial testing according to CLSI standards. Ninety five strains of *E. coli* were tested for antimicrobial resistance. Sixty eight strains were isolated from sick and dead animals and 27 strains were tested as control. It was observed that no one antimicrobial was fully effective against all *E. coli* strains. The highest number of resistant strains had resistance patterns to tetracycline, ampicillin, cephalotin and trimetho/sulpha. Further, one third of tested *E. coli* were multiresistant, i.e. demonstrated resistance to not less than five antimicrobials from twelve tested. Strains that were isolated from sick and dead animals showed higher resistance compared to strains isolated from healthy animals. It should be mentioned that it is very important to select appropriate isolates of clinical importance, when susceptibility testing is performed, because in case of testing non pathogenic strains it could be obtained misleading results.

**Key words:** antibiotics, antimicrobials, antimicrobial resistance, *E. coli*, multiresistance.

**Įvadas.** Nors bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimai Lietuvoje atliekami jau seniai, mikroorganizmų atsparumo situacija šalyje ir kiek situacija yra probleminė nėra gerai žinoma (Ružauskas et al., 2006-2). Iki šiol atlikti bakterijų atsparumo tyrimų duomenys nebuvo sisteminami, o atskirų laboratorijų tyrimų rezultatai dažniausiai pateikti tik tiesiogiai suinteresuotam ūkiui. Nors šia tema šalyje ir paskelbta mokslinių publikacijų, jos yra labai negausios, o rezultatų sklaida neužtikrina

pakankamos informacijos rezultatams apibendrinti.

Skirtingose šalyse bakterijų atsparumas yra labai nevienodas (Bywater et al., 2004) ir priklauso nuo įvairių veiksnių – šalies ekonomikos, geografinės padėties, įstatyminės bazės ir kt. Lietuvoje sparčiai auganti ekonomika ir pereinamasis laikotarpis neabejotinai turėjo ir turi įtakos mikroorganizmų atsparumui. Todėl problema yra pastovi ir reikalauja nuolatinės stebėsenos pagrindais atliekamos analizės. Europos Sąjungoje jau nuo 2001 metų

priimtos rekomendacijos kiekvienoje šalyje atlikti mikroorganizmų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms stebėseną, priimti strateginius sprendimus, siekiant sumažinti atsparumą. Be to, rekomenduota ne tik sudaryti stebėsenos programas, bet ir šviesti šiais klausimais, atlikti mokslinius tyrimus. 2003 metais priimtoje Direktyvoje (2003/99EC) dėl zoonozių stebėsenos numatytas ir privalomas bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimas. Lietuva šioje srityje smarkiai atsiliko nuo kitų Europos, taip pat ir Rytų Europos šalių. Atliekant periodišką antimikrobinė medžiagų atsparumo stebėseną Europoje, Lietuva ir šiandien yra balta dėmė Europos šalių žemėlapyje. Antimikrobinė medžiagų naudojimo strategija planuojama tik tiek, kiek reikia minimaliai užtikrinti ES teisės aktų reikalavimus. Tuo tarpu kaimyninės Skandinavijos šalys labai aktyviai dalyvauja atliekant bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms stebėseną, yra parengę pakankamai griežtus antimikrobinė medžiagų naudojimo reikalavimus (DANMAP, 2004; SVARM, 2004). Šios šalys yra neabejotinos lyderės pagal mažiausią bakterijų atsparumą, todėl galima teigti, kad, imantis reikiamų priemonių, šią aktualią amžiaus problemą galima sumažinti.

Norint sudaryti optimalią bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms šalyje strategiją, pirmiausia reikia išanalizuoti esamą situaciją, specifinius šalies dėsningumus. Norint atitinkamais tyrimais ir antimikrobinė medžiagų naudojimo strategija pasivyti kitas šalis, būtina ne tik sudaryti ir įgyvendinti stebėsenos ar atskiras bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimo programas, bet ir atlikti kur kas išsamesnius tyrimus. Jie neturėtų būti vien fenotipiniai, bet apimti ir naujausius šiuolaikinius molekulinis tyrimų metodus, mat strategiškai svarbu žinoti ne tik esamą situaciją, bet ir iširti šios situacijos susidarymo, vystymosi priežastis bei tendencijas.

**Darbo tikslas** – išskirti iš žemės ūkio paskirties gyvulių ir paukščių *E. coli* rūšies bakterijas ir nustatyti jų fenotipinį atsparumą antimikrobinėms medžiagoms.

**Medžiagos ir metodai.** Bakterijų išskyrimas. Norint išskirti mikroorganizmų padermes jautrumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimams, buvo surinkta klinikinė bei patologinė medžiaga įvairių šalies apskričių, skirtingų gyvūnų rūšių (galvijų, kiaulių ir naminių paukščių) fermose. Dalis medžiagos paimta tiesiogiai gyvulininkystės ūkiuose, kita dalis – pristatyta į LVA Veterinarijos instituto Mikrobiologijos ir maisto saugos skyrių. Mėginiai paimti atskirai iš sergančių ir nugaišusių gyvūnų (parenchiminiai organai, išskyros) bei iš sveikų gyvūnų (mėšlas). Tyrimai atlikti laikantis ES dokumentuose ir Tarptautinio epizootijų biuro rekomenduojamų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimų bei programų sudarymo gairių, taip pat kai kurių mokslininkų rekomendacijų (Aarestrup, 2004). Buvo laikomasi principo tyrimams panaudoti kuo platesnio šalies regiono medžiagą, atrinkti reprezentatyvius pavyzdžius. Jei iš tos pačios fermos buvo išskiriamos tos pačios serologinės grupės *E. coli*, tyrimui naudota ne daugiau kaip 1–2 padermės, bet ne daugiau nei po vieną padermę iš tos pačios gyvūnų grupės (tvarto, pulko).

Lygiagrečiai buvo atliekami tyrimai renkant indikatorines *E. coli*, tai yra bakterijų padermes, išskirtas iš sveikų gyvūnų.

Į laboratoriją tiriamoji medžiaga pristatyta pagal atitinkamus reikalavimus, naudotos transportinės terpės su vienkartiniais mėgintuvėliais ir steriliais tamponėliais medžiagai paimti (Transwab, Jungtinė Karalystė). Renkant patologinę medžiagą į laboratoriją pristatyti parenchiminė organų gabalėliai.

Sėjimai į mitybines terpes atlikti prieš tai medžiagą atskiedus 1:10 buferiniu peptono vandeniu (Oxoid, Jungtinė Karalystė). Mikroorganizmams išskirti naudota bendrojo naudojimo terpė „Tryptic Soy Agar“ (Oxoid, Jungtinė Karalystė) ir selektyvios terpės – „Endo Agar“ (Lab M, Jungtinė Karalystė) bei „MacConkey Agar“ (Oxoid, Jungtinė Karalystė). Mitybinių terpių kontrolė atlikta su kontroline kultūra *E. coli* ATCC 25922 ir kitomis LVA Veterinarijos institute laikomomis referentinėmis bakterijų padermėmis. Patogeninės ešerichijos 18 val. kultivuotos +43°C temperatūroje, kurioje slopinamas komensaliųjų *E. coli* augimas. Indikatorinės padermės augintos +35°C temperatūroje 18 valandų.

Identifikacija. Tipinės užaugusių bakterijų kolonijos atrinktos identifikacijai. Biocheminės savybės tirtos klasikiniais metodais sėjant grynas kultūras į „margąją eilę“ su angliavandeniais mėgintuvėliuose. Identifikuojant remtasi atskirų angliavandenių – gliukozės, laktozės, manitolio, sacharozės, sorbitolio skaldymu, atskirų aminorūgščių – lizino, ornitino, arginino fermentacija, augimu skirtingose mitybinėse terpėse, morfologinėmis savybėmis, atskirų fermentų – katalazės, citochromoksidazės gamyba, dujų – indolio, sieros vandenilio gamyba. Taip pat naudota komercinė bakterijų identifikavimo sistema „Microbact“ (Oxoid). Šiuo atveju identifikacija atlikta kompiuterine programa „Microbact 2000“, o rezultatai patikslinti pagal bakterijų sistematiką.

Serotipavimas. Išskirtos *E. coli* serotipuotos lašo agliutinacijos reakcija naudojant „Bundesinstitut Veterinar-med“ (Vokietija) serumus ir su latekso agliutinacija naudojant „Oxoid“ agliutinacinius serumus.

Atsparumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimai. Atsparumas antimikrobinėms medžiagoms nustatytas kokybiniu Kirby Bauer metodu pagal CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute, JAV) rekomendacijas. Tyrimui naudota vienos serijos kieta terpė „Mueller Hinton Agar II“ (Oxoid). Kaip kontrolinis mikroorganizmas naudota *E. coli* ATCC 25922. Atliekant tyrimą naudotas bakterijų suspensijos optinis matuoklis „Liap 2“ (Latvija), standartinių koncentracijų antibiotikų diskai – ampicilino (10 µg), tetraciklino (30 µg), gentamicino (10 µg), neomicino (10 µg), nalidikso rūgšties (30 µg), ceftiofuro (30 µg), sulfametoksazolio-trimetorpimo (23,75 µg+1,25 µg), florfenikolio (10 µg), ciprofloksacino (5 µg), norfloksacino (10 µg), cefalotino (30 µg), chloramfenikolio (30 µg). Rezultatai vertinti pagal specialias lenteles, kiekvienos antimikrobinės medžiagos atskirai. Vertininta pagal klinikinės ribinės atsparumo reikšmes. Padermės įvertintos kaip jautrios, atsparios ir vidutiniškai jautrios. Vidutiniškai jautrių padermių reikšmė rodo, kad galimas dalinis ar besivystantis atsparumas arba tiriamuoju me-

todu sunku statistiškai teisingai įvertinti padermės jautrumą.

Tiriant dauginį bakterijų atsparumą nustatyta, kiek bakterijų padermių buvo atsparesnės ne mažiau nei keturioms tirtoms antimikrobinėms medžiagoms.

**Tyrimų rezultatai.** Atlikus bakteriologinius tyrimus,

2005–2006 metais išskirta ir identifikuota per 150 *E. coli* izoliatų iš įvairių šalies rajonų. Remiantis ES antimikrobinio atsparumo stebėsenos programų sudarymo ir įgyvendinimo rekomendacijomis, atrinktos reprezentatyvios 95 *E. coli* padermės tolimesniems tyrimams: 68 iš sergančių gyvūnų ir 27 iš sveikų (1 lentelė).

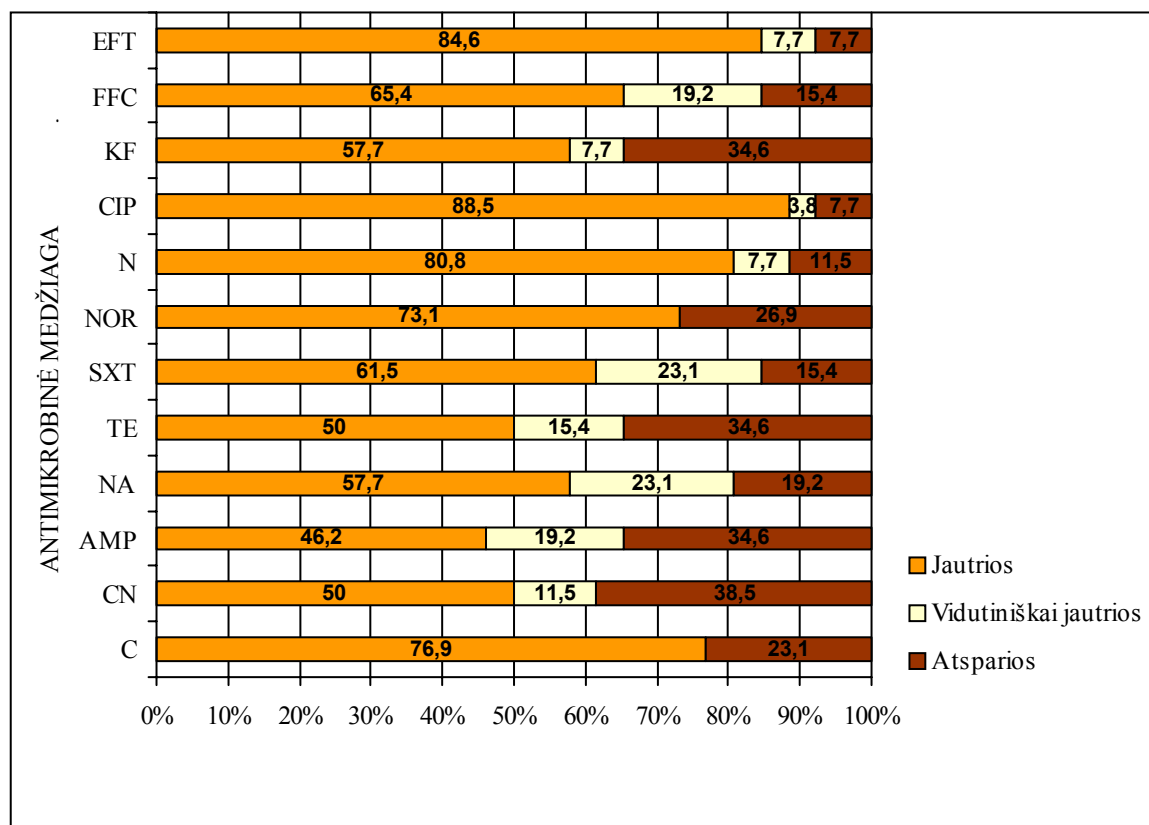
1 lentelė. Išskirtų *E. coli* izoliatų iš skirtingų šaltinių kiekis

Išskyrimo šaltinis	Išskirta izoliatų
<u>Visi sergantys gyvūnai (klinikinė ir pataloginė medžiaga):</u>	<b>68</b>
Galvijai (klinikinė ir pataloginė medžiaga)	26
Kiaulės (klinikinė ir pataloginė medžiaga)	21
Vištos (klinikinė ir pataloginė medžiaga)	21
<u>Visi sveiki gyvūnai:</u>	<b>27</b>
Galvijai	9
Kiaulės	9
Vištos	9

*E. coli* rūšies bakterijų, išskirtų iš sirgusių gyvūnų pataloginės ir klinikinės medžiagos, naujagimiams veršeliams ir paršeliams daugiausia išskirta patogeninės ešerichijos, turinčios adhezyvinius K88 ir K99 antigenus. Taip pat išskirtos įvairios O grupės turinčios *E. coli* –

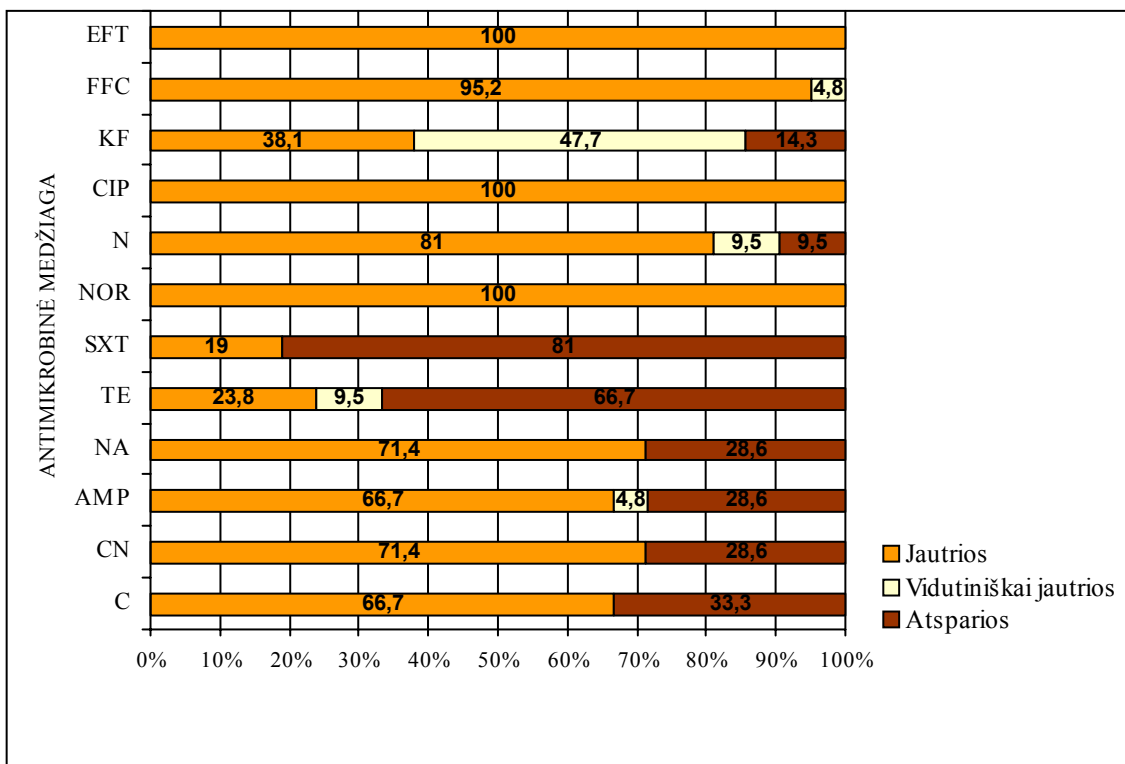
O138, O139, O141, O147.

1–3 pav. pavaizduotas iš sergančių ar nugaišusių skirtingų rūšių gyvūnų išskirtų *E. coli* atsparumas antimikrobinėms medžiagoms.

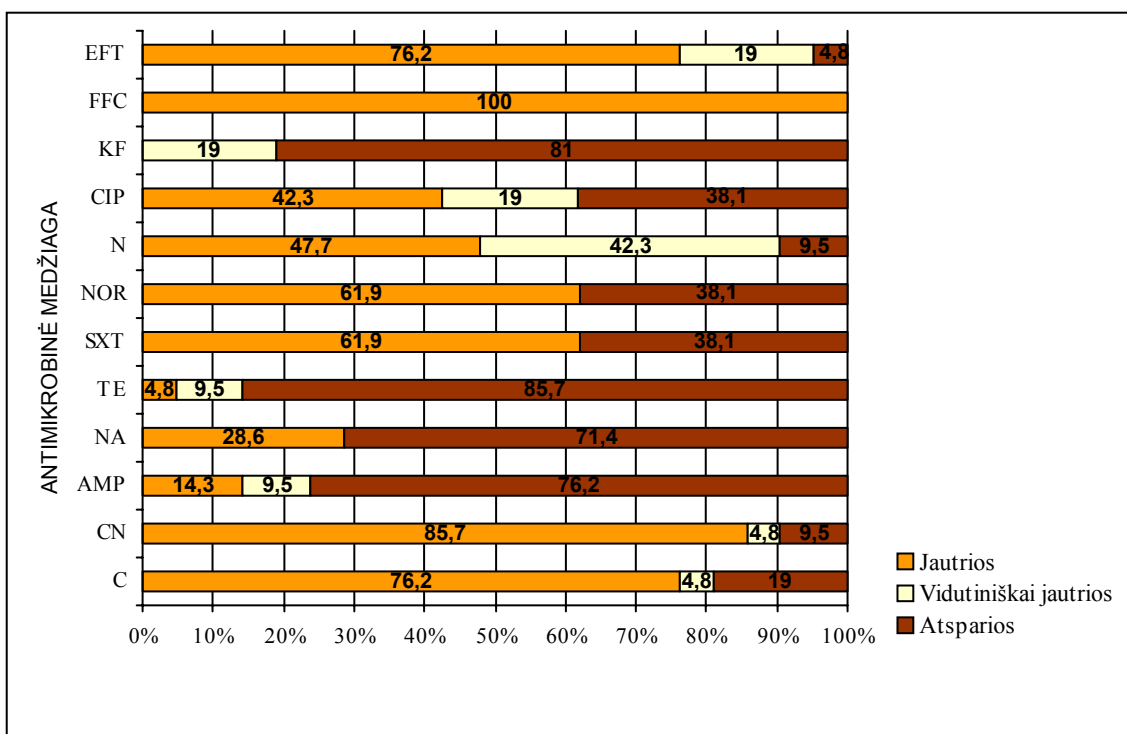


EFT – ceftiofuris, FFC – florfenikolis, KF – cefalotinas, CIP – ciprofloksacinas, N – neomicinas, NOR – norfloksacinas, SXT – sulfametoksazolis/trimetoprimas, TE – tetraciklinas, NA – nalidikso rūgštis, AMP – ampicilinas, CN – gentamicinas, C – chloramfenikolis

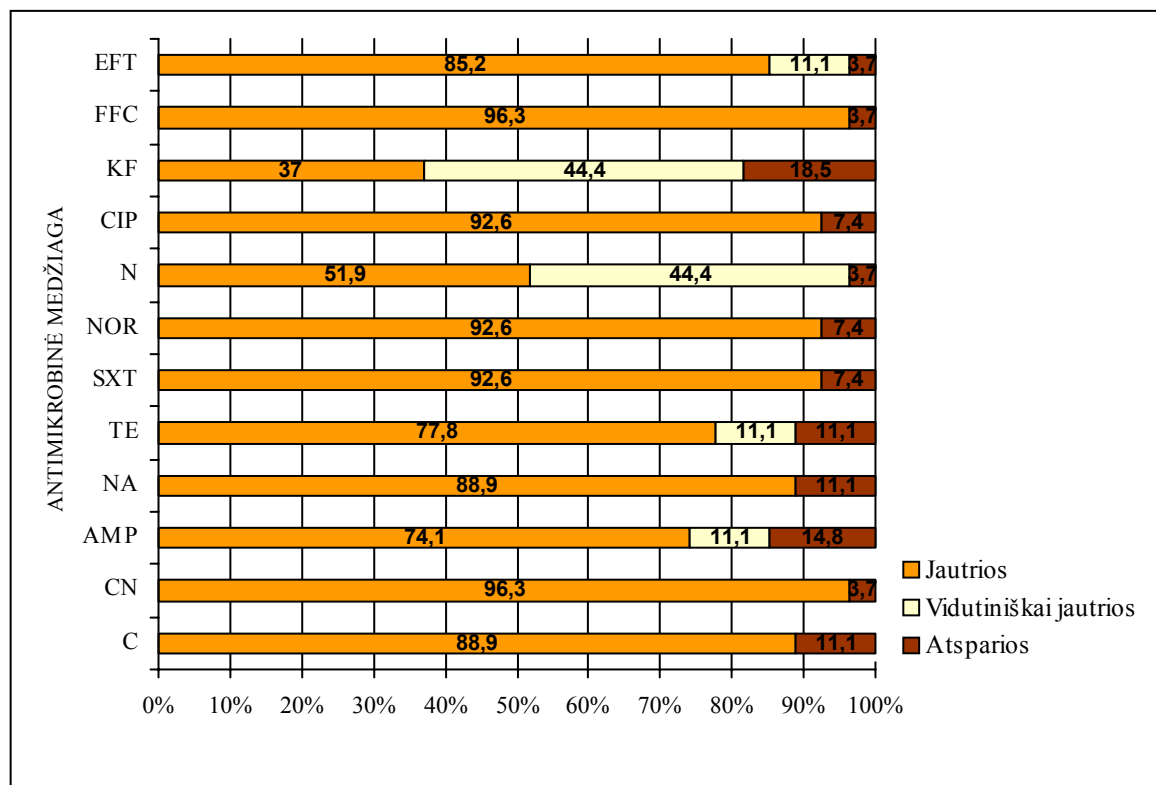
1 pav. *E. coli* padermių, išskirtų iš galvijų pataloginės medžiagos, atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc. (n=26)



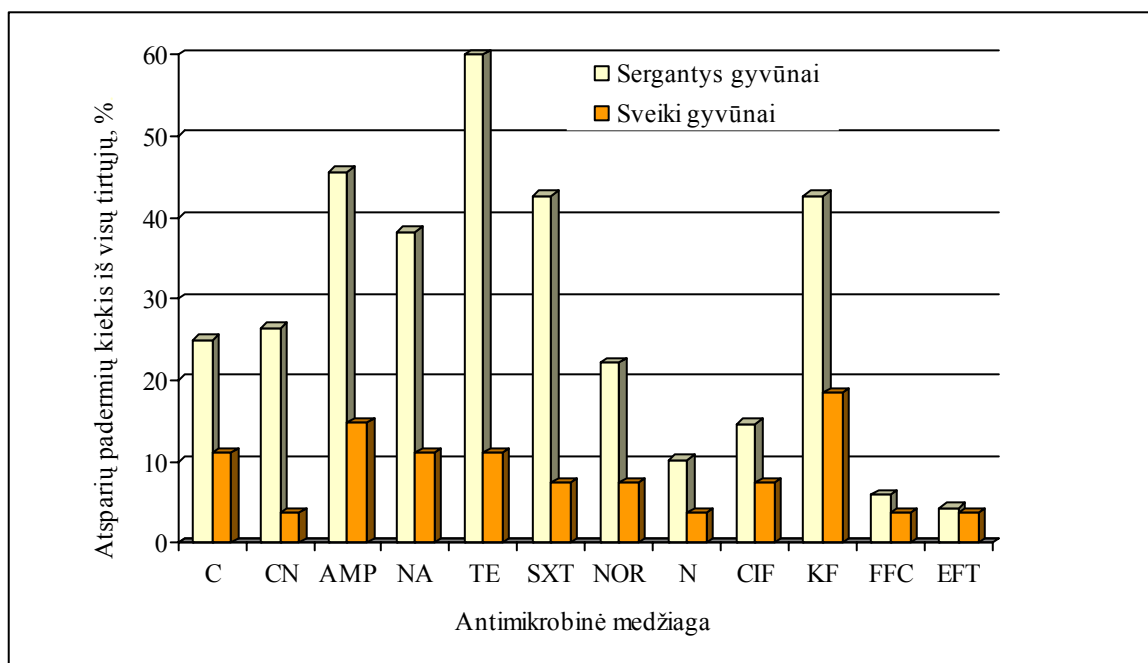
2 pav. *E. coli* padermių, išskirtų iš kiaulių pataloginės medžiagos, atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc. (n=21)



3 pav. *E. coli* padermių, išskirtų iš naminių paukščių pataloginės medžiagos, atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc. (n=21)



4 pav. Visų *E. coli* padermių, išskirtų iš sveikų gyvūnų, atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc. (n=27)



5 pav. *E. coli*, išskirtų iš sergančių (ar nugaišusių) ir sveikų gyvūnų, atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc.

Kaip matyti iš 1 pav., iš galvijų patologinės medžiagos išskirtos *E. coli* pasižymėjo padidėjusiu atsparumu antimikrobinėms medžiagoms. Nė viena tyrimams naudota antimikrobinė medžiaga nebuvo veiksminga prieš visas tirtąsias padermes. Daugiausia padermių buvo atsparios gentamicinui (38,5 proc.), tetraciklinui, cefalotinui ir am-

picilinui (po 34,6 proc.). Mažiausiai atsparių padermių buvo ciprofloksacinui ir ceftiofurui (po 7,7 proc.).

Kaip matyti iš 2 pav., *E. coli*, išskirtų iš kiaulių patologinės medžiagos, atsparumas antimikrobinėms medžiagoms skyrėsi palyginti su padermėmis, išskirtomis iš galvijų. Išskirtos iš kiaulių *E. coli* daugiausia buvo atsparios

sulfametoksazoliui-trimetoprimui (81,0 proc.), tetraciklinui (66,7 proc.) ir chloramfenikoliui (33,3 proc.). Kai kurios medžiagos buvo labai efektyvios – visos padermės buvo jautrios fluorochinolonams norfloksacinui ir ciprofloksacinui bei cefalosporinų grupės antibiotikui ceftiofurui, o florfenikoliui jautrių buvo 95,2 proc. padermių.

Kaip matyti iš 3 pav., *E. coli*, išskirtos iš naminių paukščių patologinės medžiagos, buvo labai atsparios įvairioms antimikrobinėms medžiagoms, ypač tetraciklinams (85,7 proc.), cefalotinui (81 proc.), ampicilinui (76,2 proc.), nalidikso rūgščiai (71,4 proc.). Vienintelė tiriamoji medžiaga – amfenikolių grupės antibiotikas florfenikolis buvo labai veiksmingas: visos tirtos padermės buvo jautrios šiam antibiotikui.

Kaip matyti iš 4 pav., nė viena antimikrobinė medžiaga nebuvo veiksminga visoms tirtoms *E. coli* padermėms, išskirtoms iš sveikų gyvūnų. Daugiausia atsparių padermių nustatyta cefalotinui (18,5 proc.) ir ampicilinui (14,8 proc.). Atsparumas kitoms antimikrobinėms medžiagoms nesiekė 12 proc. Mažiausiai atsparių padermių buvo ceftiofurui, florfenikoliui, neomicinui ir gentamicinui (po 3,7 proc.).

Kaip matyti iš 5 pav., visoms tirtoms antimikrobinėms medžiagoms nustatyta daugiau atsparių padermių iš sirgusių ar nugaišusių gyvūnų negu iš sveikų. Didžiausias padermių, išskirtų iš sveikų gyvūnų, atskiroms antimikrobinėms medžiagoms atsparumas nesiekė 20 proc.. Tuo tarpu padermių, išskirtų iš sirgusių gyvūnų, atsparumas atskiroms antimikrobinėms medžiagoms siekė 60 proc., o daugiau nei 20 proc. padermių buvo atsparios net 8 medžiagoms iš 12 tirtų.

Daugiaatsparių *E. coli* padermių, kurios buvo atsparios ne mažiau kaip keturioms tirtoms medžiagoms, buvo 34 iš 95 tirtųjų (35,8 proc.). 32 padermės iš 95 (33,7 proc.) buvo atsparios ne mažiau nei penkioms tirtoms antimikrobinėms medžiagoms.

**Rezultatų aptarimas.** Palyginti didelis bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms kelia rimtą grėsmę žmonių sveikatai, nes vienos bakterijos gali perduoti atsparumą lemiančius genus kitoms (Acar, Röstel, 2001). Bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms yra daugelio šalių problema.

Tyrimų rezultatai verčia nerimauti dėl palyginti didelio patogeninių gyvūnams *E. coli* rūšies bakterijų atsparumo antimikrobinėms vaistams. Tyrimų rezultatai rodo, kad nė viena antimikrobinė medžiaga nebuvo efektyvi prieš visas iš gyvūnų išskirtas *E. coli* padermes. Daugiausia atsparių padermių nustatyta tetraciklinui (60,3 proc.). Priežastis – su šia veikliąja medžiaga Lietuvoje registruota daugiausia antimikrobinė vaistų, be to, šalies gyvūnams gydyti daugiausia sunaudojama būtent šio antibiotiko. Tetracikliną gerai toleruoja įvairių rūšių gyvūnai. Tai gana seniai atrastas (1947 m.) ir labai plačiai taikomas antibiotikas. Plataus veikimo spektro aminopenicilinai (ampicilinas) taip pat naudoti labai ilgą laiką įvairioms gyvūnų rūšims, įvairioms indikacijoms. Per šį laikotarpį kai kurios bakterijų rūšys prisitaikė prie nepalankaus aplinkos poveikio ir pradėjo gaminti fermentus betalaktamazės, kurios suardo betalaktaminių antibiotikų (ampicilino), laktamo žiedą, ir antibiotiką padaro neaktyvų. Taigi

dėsninga, kad išskirtų ešerichijų atsparumas ampicilinui siekė 45,6 proc. Veikiausiai dėl tos pačios priežasties tirtos bakterijos buvo atsparios ir pirmos kartos cefalosporinų grupės antibiotikui – cefalotinui. Tuo tarpu naujesnės kartos cefalosporinas ceftiofuras buvo vienas efektyviausių tirtų medžiagų. Šiam antibiotikui atsparios tik 4,4 proc. tirtų *E. coli* padermių. Ceftiofurą palyginti neseniai išrado, užpatentavo ir kurį laiką gamino tik viena vaistų kompanija. Vaistas nepigus ir injekcijomis skiriamas pavieniems sergantiems gyvūnams. Tuo galima būtų paaiškinti mažą bakterijų atsparumą šiam antibiotikui. Kita labai veiksminga medžiaga, pradėta naudoti palyginti neseniai, – amfenikolių grupės antibiotikas florfenikolis. Jam atsparios tik 5,9 proc. atsparių *E. coli* padermių. Tuo tarpu anksčiau labai plačiai naudotam tos pačios grupės antibiotikui chloramfenikoliui net ketvirtadalis visų *E. coli* padermių buvo atsparios, nors šį antibiotiką jau 10 metų uždrausta duoti produkcijos gyvūnams.

*E. coli*, išskirtos iš skirtingų gyvūnų, buvo nevienodai atsparios skirtingoms antimikrobinėms medžiagoms. Daugiausia atsparių iš galvijų išskirtų padermių buvo betalaktaminiam antibiotikams, tetraciklinui ir gentamicinui, iš kiaulių – sulfametoksazoliui-trimetoprimui ir tetraciklinams, iš paukščių – betalaktaminiam antibiotikams, tetraciklinui, nalidikso rūgščiai ir fluorochinolonams. Kai kurių medžiagų atsparumas buvo didesnis atskiroms gyvūnų rūšims, pavyzdžiui, paukščių izoliatai buvo mažiau jautrus chinolonams. Tą galima būtų paaiškinti intensyviu fluorochinolonų grupės antimikrobinės medžiagos – enrofloksacino naudojimu paukštynuose. Atsparumas šioms medžiagoms vystosi pakopomis ir, kaip matyti iš rezultatų, išskirti izoliatai, atsparūs ne tik chinolonams, bet ir fluorochinolonams. Enrofloksaciną prieš 5–10 metų kaip pigų pradėjo gaminti daugelis kompanijų, o dėl mažo toksiškumo ir didelio efektyvumo – plačiai naudoti ir Lietuvos gyvulininkystės ūkiuose. Šiandieniniai rezultatai rodo, kad fluorochinolonų efektyvumas Lietuvoje sumažėjo. Tokios pat tendencijos pastebimos ir daugelyje kitų šalių (Bager, 1999; White et al., 2000; Orden et al., 2001; Engberg et al., 2001).

Analizuojant iš sveikų gyvūnų išskirtų bakterijų atsparumo duomenis galima teigti, kad ir sveiki gyvūnai yra atsparių kai kurioms antimikrobinėms medžiagoms, bakterijų nešiotojai. Viena priežastis – nuolatinis arba laikinas gyvūnų kontaktas su antimikrobinėmis medžiagomis, mat Lietuvoje iki 2006 metų į pašarus buvo leidžiama dėti kai kurias antimikrobinės medžiagas kaip priedus. Be to, įvairūs antimikrobiniai vaistai naudojami ne tik gyvūnų gydymui, bet ir profilaktikai. Kita galima priežastis – fermos, kuriose laikomi gyvūnai, yra daugiamečiai pastatai, su savo aplinka, pastoviomis konstrukcijomis ir kitais elementais, kurie sudaro sąlygas atsparių bakterijų padermėms išlikti ilgus metus.

Iš sergančių ir sveikų gyvūnų išskirtų bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms palyginimas rodo, kad iš sergančių gyvūnų dažniau išskiriamos atsparios padermės. Tai gali būti susiję ne tik su antibiotikais konkreitiems gyvūnams gydyti ar gydyti grupiniu būdu, bet ir su pasikeitusia organizmo mikrofloros populiacija.

Daugiaatsparių bakterijų kai kuriais atvejais, ypač ti-

riant patologinę medžiagą, yra daug. Skirtingose Europos šalyse šis rodiklis labai nevienodas ir svyruoja priklausomai nuo valstybės ir gyvūno, iš kurio sukėlėjai išskirti. Pavyzdžiui, iš sveikų naminių paukščių išskirtos *E. coli* keturioms antimikrobinėms medžiagoms buvo atsparios nuo 1,2 proc. atvejų (Norvegijoje) iki 33,3 proc. atvejų (Portugalijoje). Iš naminių paukščių išskirta daugiau daugiaatsparių bakterijų, nei iš galvijų ar kiaulių tiek Lietuvoje, tiek ir kitose ES šalyse (EFSA, 2006). Pastebėta, kad mūsų šalyje iš patologinės medžiagos išskirtos bakterijos kur kas daugiau atsparios, nei išskirtos iš sveikų gyvūnų. Kai kuriais atvejais išskirtos *E. coli* padermės buvo atsparios 7–8 antimikrobinėms medžiagoms, o viena *E. coli* padermė, išskirta iš sveikos vištos, buvo atspari dešimčiai tirtų antimikrobinų medžiagų iš dvylikos.

Norint nustatyti bakterijų atsparumo šalyje priežastis, vertinti esamą situaciją ir pateikti prognozes, reikia žinoti konkrečių sunaudotų šalyje antimikrobinų medžiagų kieki, mat tarp antimikrobinų medžiagų naudojimo ir bakterijų atsparumo yra glaudus ryšys (Monnet, 2005; Tüll, 2005). Tokie duomenys renkami daugelyje šalių, todėl jose galima tiksliau numatyti antimikrobinų medžiagų naudojimo tvarką ir prioritetus. Tuo tarpu Lietuvoje šie duomenys nėra gerai išanalizuoti ir žinomi. Tokių duomenų kaupimas ir analizė turėtų būti vienas pirmųjų strateginių uždavinių, siekiant šalyje racionaliai naudoti antimikrobinės medžiagas.

Bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms situacija šalyje šiuo metu dar nėra gera. Iš sergančių gyvūnų retai išskiriamos padermės, jautrios visoms tiriamoms medžiagoms, netgi priešingai – nemaža dalis padermių (maždaug trečdalis) yra daugiaatsparios. Mūsų tyrimų duomenimis, Lietuvoje geresnė yra salmonelių atsparumo antimikrobinėms medžiagoms situacija palyginti su kitomis šalimis (Ruzauskas et al., 2006-1). Šiuo atveju lemiamas vaidmuo tenka atskirų salmonelių padermių ir serologinių variantų paplitimui šalyje. Vakarų Europoje žinomos daugiaatsparios salmonelių padermės, tokios kaip *S. enterica* var. Typhimurium DT104, Lietuvoje kol kas neaptiktos. Bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms situacija priklauso ir nuo bendros epizootinės situacijos šalyje, kuri šiuo metu yra gera. Visgi manome, kad mūsų krašte turėtų būti daugiau dėmesio skiriama ne tik infekcinių ligų ir jų sukėlėjų prevencijai, bet ir daugiaatsparių sąlyginai patogeninių bakterijų kontrolei, kad tokios padermės į šalį nepatektų.

#### Išvados.

1. Palyginti didelė dalis iš gyvūnų išskirtų bakterijų pasižymėjo dauginiu atsparumu antimikrobinėms medžiagoms – net trečdalis tirtų *E. coli* padermių buvo atsparios bent penkioms antimikrobinėms medžiagoms iš 12 tirtų.

2. Iš sergančių gyvūnų išskirtos *E. coli* dažniau yra atsparios antimikrobinėms vaistams nei išskirtos iš sveikų gyvūnų, todėl laboratorijose atliekant atsparumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimus labai svarbi paties sukėlėjo identifikacija – infekcinio agento išskyrimas. Į tai reikėtų atsižvelgti ir sudarant tarptautines bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimų programas, nes labai svarbu užtikrinti vienodą pradinės medžiagos paėmimo būdą bei atlikti išskirtų bakterijų serologinę (grupinę)

identifikaciją, kad skirtingose šalyse gautus rezultatus galima būtų kuo teisingiau interpretuoti.

3. Siekiant geriau išaiškinti bakterijų atsparumo vystymosi šalyje tendencijas ir dėsningumus, numatyti antimikrobinų medžiagų racionalaus naudojimo taktiką, formuoti antimikrobinų vaistų politiką šalyje, reikalingi tolimesni moksliniai tyrimai bei atsakingų valstybinių institucijų veiksmi vykdant bakterijų atsparumo priežiūrą.

**Padėka.** Dėkojame ši darbą rėmusiam Valstybiniam mokslo ir studijų fondui.

#### Literatūra

1. 2004 Report on Zoonoses, Zoonotic Agents and Antimicrobial Resistance in the EU Anon.: European Food Safety Authority. 2006.
2. Anon.: DANMAP. Consumption of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Bacteria from Food Animals, Foods and Humans in Denmark. Danish Veterinary Laboratory, Copenhagen, Denmark. (2000 – 2004).
3. Anon.: SVARM. Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring. National Veterinary Institute, Uppsala, Sweden. 2001–2004.
4. Aarestrup F. M. Monitoring of antimicrobial resistance among food animals: principles and limitations. *J. Vet. Med.* 2004. T 51. P. 3800–3808.
5. Acar J., Röstel B. Antimicrobial resistance: an overview. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 2001. T 20. P. 797–810.
6. Bager F. Danmap 98 – Consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. Copenhagen, Denmark. Danish Zoonosis Centre. 1999. P. 3.
7. Bywater R., Deluyker H., Deroover E., de Jong A., Marion H., McConville M., Rowan T., Shryock T., Shuster D., Thomas V., Valle M., Walters J. A European survey of antimicrobial susceptibility among zoonotic and commensal bacteria isolated from food-producing animals. *J. Antimicrob. Chemother.* 2004. T. 54. P. 744–754.
8. 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. *Em. Inf. Dis.* 2001. T. 7. P. 24–34.
9. Monnet D. L. Monitoring Antimicrobial Consumption in Denmark and Europe. Seminaras „Kova su antimikrobinu atsparumu Europoje ir perspektyvos Lietuvoje“. Trakai, 2005 m. kovo 18 d.
10. Orden J. A., Ruiz Santa Quiteria J. A., Cid D., Diez R., Martinez S., de la Fuente R. Quinolone resistance in potentially pathogenic and non-pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from healthy ruminants. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001. T. 48. P. 421–424.
11. Ruzauskas M., Daugelavičius R., Šeputienė V., Virgailis M., Sužiedėlienė E., Šiugždiniene R., Zienius D. Antimicrobial resistance of *Salmonella* strains isolated in Lithuania. International Scientific Conference „Animals. Health. Food Hygiene“. November 10, 2006-1. Jelgava. Latvia.
12. Ruzauskas M., Klimienė I., Zienius D. Survey of antimicrobial susceptibility among some pathogenic and commensal bacteria isolated from pigs in Lithuania. *Medycyna Weterynaryjna.* 2006-2. T. 62. P. 397–400.
13. Tüll P. J. WHO-Euro and antimicrobial resistance. Seminaras „Kova su antimikrobinu atsparumu Europoje ir perspektyvos Lietuvoje“. Trakai, 2005 m. kovo 18 d.
14. White D. G., Piddock L. J. V., Maurer J. J., Zhao S., Ricci V., Thayer S. G. Characterization of Fluoroquinolone Resistance among Veterinary Isolates of Avian *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000. T. 44. P. 2897–2899.