

ANNALES  
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA  
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXXI, 14

SECTIO C

1976

Institut Mikrobiologii UMCS  
Zakład Mikrobiologii Ogólnej

Barbara CHILCZUK, Maciej CZYŻEWSKI,  
Anna GOŁĘBIEWSKA, Antoni JAKUBCZAK,  
Helena KURAK, Anna PODKOWA,  
Danuta SUCHOŻEBRSKA, Elżbieta SZOTT,  
Anna TUSTANOWSKA\*

**Badanie lekooporności drobnoustrojów izolowanych z wód studziennych  
okolicy Łęcznej**

Изучение лекарственноустойчивости изолированных из колодезных вод  
микроорганизмов окрестностей Ленчны

Studies on Drug-Resistance of Microorganisms Isolated from Well-Waters  
of Łęczna Environs

Wśród drobnoustrojów izolowanych od chorych ludzi i zwierząt coraz częściej spotyka się organizmy odporne na jeden lub kilka antybiotyków. Stosowanie w terapii danego leku sprzyja szybkiemu selekcjonowaniu form opornych. Spontaniczna mutacja genów chromosomowych zachodzi z częstością  $10^{-6}$ — $10^{-9}$ , lecz przy stosowaniu antybiotyku następuje selekcja mutantów opornych. Zjawisko to było znane od dawna i uwzględniane w terapii. Mutacje chromosomowe i selekcja nie są jedyną przyczyną oporności na leki u bakterii.

W latach pięćdziesiątych w Japonii wyosobniono z materiału pobranego od pacjentów szczepy *Shigella* odporne na kilka antybiotyków, mimo że podczas leczenia stosowano tylko jeden z nich. W krótkim czasie w wielu laboratoriach izolowano szczepy z rodziny *Enterobacteriaceae* odporne na kilka antybiotyków. Przyczyną wielorakiej oporności na leki okazał się czynnik R, należący do grupy pozachromosomalnych elementów genetycz-

\* Praca wykonana przez studentów-członków Studenckiego Koła Naukowego Mikrobiologów UMCS.

nych i składający się z dwóch części: fragmentu RTF determinującego zdolność przekazywania plazmidu z komórki do komórki oraz z fragmentu R odpowiadającego za oporność na leki (1). Lekooporność uwarunkowana jest syntezą enzymów inaktywujących leki (2). Infekcyjne plazmidy R (posiadające geny RTF) mogą łatwo rozprzestrzeniać się w populacji, a „zagęszczeniu” form opornych sprzyja szerokie stosowanie antybiotyków w lecznictwie.

Podjęto badania nad występowaniem wielorakiej oporności na leki wśród drobnoustrojów żyjących w wodach studziennych okolic Łęcznej.

#### MATERIAŁY I METODY

Próby wód studziennych pobierano w miejscowościach: Łęczna, Puchaczów, Ciechanki, Łańcuchów, Nadrybie, Bogdanka, Ludwin, Stara Wieś, Zakrzów. Wyboru studni dokonywano losowo; próbki wody wysiewano w ciągu 2—3 godzin od pobrania.

Podłoża. Używano podłoża Levine'a wybiórczo różnicującego dla *Enterobacteriaceae* o składzie: pepton 10 g, sacharoza 5 g, laktoza 5 g,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  2 g, 1% eozy-na — 30 ml, 0,2% błękit metylenowy — 30 ml, agar 17 g, woda destylowana do 1000 ml. Na tym podłożu nie rosną drobnoustroje gramododatnie. Pałeczki gramujemne fermentujące laktozę rosną w postaci czerwonych kolonii o zielonym, metalicznym połysku (*Escherichia coli* lac+), a nie fermentujące laktozy — w postaci kolonii bezbarwnych (inne *Enterobacteriaceae*). Do hodowli bakterii używano bulionu odżywczego produkcji WWSiS.

Oznaczanie lekooporności. Próbki wody wysiewano metodą płytek lanych. Wśród kolonii lac+ i lac— izolowano czyste kultury w sposób losowy. Po 18 godzinach inkubacji w 37°C hodowle bulionowe wylewano na płytki z agarem odżywczym i nakładano krążki bibułowe nasączone antybiotykami: streptomycyna 100 mcg, chloramfenikol 50 mcg, oksytetracylina 30 mcg, erytromycyna 10 mcg, neomycyna 30 mcg produkcji WWSiS. Po całonocnej inkubacji mierzono strefy zahamowania wzrostu szczepu. Według przyjętych norm szczep określano jako wrażliwy przy strefie od 20 mm wzwyż.

#### WYNIKI I DYSKUSJA

Przebadano wrażliwość 102 szczepów na 5 antybiotyków szeroko stosowanych w lecznictwie, jak: streptomycyna, oksytetracylina, neomycyna, chloramfenikol i erytromycyna (tab. 1). Tylko 3 szczepy (2,9%) okazały się wrażliwe na 5 antybiotyków. Pozostałe szczepy były odporne na 1 lub więcej leków. Na 1 z badanych leków było opornych 51 szczepów (49,9%), w tym aż 48 na erytromycynę. Przyczyną tak częstego występowania oporności na erytromycynę jest prawdopodobnie stosowanie tego antybiotyku przez lekarzy weterynarii w leczeniu chorych zwierząt. Przypuszczenie to oparto na wywiadzie z ludnością. Oporność na 2, 3 lub 4 leki

wykazało 48 szczepów; należy je więc uznać za nosicieli plazmidu wielorakiej oporności.

Tak duży procent zakażenia czynnikiem R nie jest wyjątkowy. Badania z lat 1965—1967 (4) wykazały, że 90% szczepów *Salmonella enteritidis*, spośród 1159 badanych, nosiło czynnik R. Także P i ą t k o w s k i (3) stwierdził, że na 1237 szczepów izolowanych z przypadku biegunek dziecięcych 36% było opornych na 14 leków, 37% — na 13 leków, a żaden z nich nie był wrażliwy na wszystkie badane leki. Nowe determinanty oporności powstają w miarę wprowadzania do leczenia nowych antybiotyków.

Przed r. 1955 infekcja oporności na antybiotyki była rzadka. W r. 1965 badacze angielscy donieśli o nowej determinancie oporności na ampicylinę, w r. 1966 stwierdzono występowanie czynnika warunkującego oporność na syntetyczny lek przeciwbakteryjny — furazolidon. Powstawanie oporności na leki wprowadzone do leczenia i szybkie przenoszenie się

Tab. 1. Modele oporności na leki szczepów wyizolowanych z wód studziennych w okolicach Łęcznej  
Models of resistance to the drugs of strains isolated from well-waters in the environs of Łęczna

Liczba szczepów Number of strains	%	Modele oporności na leki Models of resistance to drugs				
		Sm	Tr	Nm	Cm	Ero
2	1,9	S	R	R	R	R
3	2,9	R	R	R	S	R
1	1,0	R	S	S	R	R
7	6,9	S	R	R	S	R
1	1,0	S	R	S	R	R
1	1,0	S	S	R	R	R
1	1,0	R	R	S	S	R
1	1,0	S	R	S	R	R
19	18,7	S	S	R	S	R
6	5,9	S	R	S	S	R
4	3,9	S	S	S	R	R
1	1,0	S	R	R	S	S
1	1,0	R	S	S	S	R
48	47,0	S	S	S	S	R
1	1,0	S	R	S	S	S
2	1,9	S	S	S	R	S
3	2,9	S	S	S	S	S
102	100,0					

Oznaczenia: Sm — streptomycyna, Cm — chloramfenikol, Tr — oksytetracylina, Ero — erytromycyna, Nm — neomycyna, R — oporny, S — wrażliwy.

Denotations: Sm — streptomycin, Cm — chloramphenicol, Tr — oxytetracin, Ero — erythromycin, Nm — neomycin, R — resistant, S — sensitive.

oporności z komórki do komórki stanowią duże niebezpieczeństwo, gdyż nosicielami czynnika R mogą być między innymi bakterie patogenne dla ludzi i zwierząt, jak *Salmonella* i *Shigella*. Oporność może być przenoszona do bakterii chorobotwórczych z bakterii niepatogennych, stanowiących florę przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt. Wyniki przedstawione w tabeli wskazują na powszechne występowanie lekooporności u bakterii gramujemnych izolowanych z terenu słabo zaludnionego. W większych skupiskach ludności możliwość rozprzestrzeniania się oporności na leki wzrasta. Bakterie niepatogenne, stanowiące florę przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt, mogą także przekazywać czynnik oporności na leki do bakterii chorobotwórczych.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Clowes R. C.: Molecular Structure of Bacterial Plasmids. *Bact. Rev.* **36**, 361—405 (1972).
2. Clowes R. C.: The Molecule of Infectious Drug Resistance. *Scientific American*, April, 19—27 (1973).
3. Piątkowski K., Kurańska I.: Epidemiologiczne właściwości szczepów *Salmonella enteritidis*. I. Obraz lekooporności. *Med. Dośw. i Mikrobiol.* **26**, 217—224 (1974).
4. Pietkiewicz K., Maciarczyk M.: Bakteriocyyny a czynnik lekooporności u *Salmonella enteritidis*. *Med. Dośw. i Mikrobiol.* **22**, 291—296 (1970).

#### РЕЗЮМЕ

Определялась лекарственноустойчивость бактерий из рода *Enterobacteriaceae*, выступающих в колодезных водах окрестностей Лęczна. Из 102 клонов 99 были устойчивы к одному или нескольким антибиотикам (стрептомицин, хлорамфенил, окситетрацин, эритромицин, неомицин). Большая часть клонов была устойчива к эритромицину (92,2%), меньшая (5,9%) — к стрептомицину. 47,2% всех исследованных клонов устойчиво к двум или больше антибиотикам.

#### SUMMARY

Determinations were made of drug-resistance of bacteria from *Enterobacteriaceae* family, in well-waters in the environs of Łęczna. 99 out of 102 clones tested were resistant to one or several of the investigated antibiotics (streptomycin, chloramphenicol, oxytetracycline, erythromycin, neomycin). The largest number of clones were resistant to erythromycin (92,2%), the least number (5,9%) — to streptomycin. 47,2% of the clones examined were resistant to two or more antibiotics.