

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 49, No 2 (1998)



Resistance test of avian salmonella strains in antibacterial drugs

P. IORDANIDIS (Π. ΙΟΡΔΑΝΙΔΗΣ), I. GEORGOPOULOU (Ι. ΓΕΩΡΓΟΠΟΥΛΟΥ)

doi: [10.12681/jhvms.15762](https://doi.org/10.12681/jhvms.15762)

Copyright © 2018, P IORDANIDIS, I GEORGOPOULOU



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

To cite this article:

IORDANIDIS (Π. ΙΟΡΔΑΝΙΔΗΣ) P., & GEORGOPOULOU (Ι. ΓΕΩΡΓΟΠΟΥΛΟΥ) I. (2018). Resistance test of avian salmonella strains in antibacterial drugs. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 49(2), 134–136. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15762>

Έλεγχος της ανθεκτικότητας στελεχών σαλμονελλών των πτηνών σε αντιμικροβιακά φάρμακα

Π. Ιορδανίδης¹, Ι. Γεωργοπούλου¹

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η *in vitro* ανθεκτικότητα 241 στελεχών σαλμονελλών σε 9 αντιβακτηριακές ουσίες. Οι σαλμονέλλες απομονώθηκαν από διάφορα είδη πτηνών κατά τη χρονική περίοδο 1990-1994. Η ανθεκτικότητα των στελεχών αυτών καθορίστηκε με την τεχνική *Kirbi-Bauer disc diffusion method*. Η ανθεκτικότητα στην *oxytetracycline*, *furazolidone* και *trimethoprim* κυμαινόταν από 6 μέχρι 50% και το υψηλότερο ποσοστό 50% διαπιστώθηκε στην *oxytetracycline*. Υψηλό ποσοστό ανθεκτικότητας (56-80%) παρουσιάστηκε στη *spectinomycin*. Ανάλογη εικόνα εμφανίστηκε και στην *amoxicillin*, με χαμηλότερο ποσοστό (~ 50%), και με πτώση του ποσοστού στο 15% για τα στελέχη του 1992. Στις κινολόνες *enrofloxacin* και *flumequin* ανθεκτικά στελέχη εμφανίστηκαν σε ποσοστό γύρω στο 25% μόνο κατά τα έτη 1991 και 1992. Όλα τα στελέχη των άλλων ειδών ήταν ευαίσθητα. Μικρή ανθεκτικότητα (11%) με φθίνουσα πορεία στο 3% για τα στελέχη του τελευταίου έτους της έρευνας παρουσιάστηκε στη *neomycin*. Τέλος, στη *chloramphenicol* το ποσοστό παρέμεινε κάτω του 10%.

ABSTRACT. Iordanidis P¹, Georgopoulou I¹. Resistance test of avian salmonella strains in antibacterial drugs. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society 1998, 49(2):134-136*. In the present paper *in vitro* resistance of 241 salmonella isolates to 9 antibacterial drugs was studied. Salmonella strains were isolated from various avian species during the period 1990-1994. The resistance of these isolates was determined by using the Kirbi Bauer disc diffusion method. Resistance to oxytetracycline, furazolidone and trimethoprim ranged from 6 to 50% and the highest percentage (50%) was noted to oxytetracycline. Resistance to spectinomycin reached the highest levels (56-80%). Similar results were noted by using amoxicillin, to which resistance was relatively lower (~ 50%) with a slight decrease to 15% concerning the year 1992 isolates. Resistance to enrofloxacin and flumequin was at 25% approximately, only for strains isolated during 1991 and

1992. All remaining isolates were sensitive. Low resistance (11%) declining to 3% during the last year of our investigation was noted when neomycin was used. Finally, resistance to chloramphenicol remained below 10%.

Λέξεις ευρητηρίας: Σαλμονέλλα, ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η συχνότητα απομονώσεως στα ζώα βακτηρίων ανθεκτικών στα διάφορα φάρμακα συνεχώς αυξάνει. Το γεγονός αυτό είναι πολύ ανησυχητικό, επειδή αφ' ενός μεν η θεραπευτική ικανότητα των διαφόρων φαρμακευτικών ουσιών περιορίζεται, αφ' ετέρου δε επειδή έχει διαπιστωθεί η δυνατότητα μεταβιβάσεως των ανθεκτικών αυτών βακτηρίων στον άνθρωπο και η πρόκληση σοβαρών ασθενειών^{1,2,3}.

Σημαντικός παράγοντας στην πράξη για τη δημιουργία ανθεκτικών στελεχών μικροβίων θεωρείται η χρησιμοποίηση κατάχρηση αντιβιοτικών. Η αποκτηθείσα ανοχή ενός μικροβίου σε διάφορα αντιβιοτικά μπορεί να μεταβιβάζεται σε άλλους μικροοργανισμούς είτε του ίδιου είδους είτε άλλων ειδών (π.χ. *E. coli-Salmonella*), με αποτέλεσμα να γίνονται και αυτοί ανθεκτικοί^{1,4}. Ο κυριότερος τρόπος μεταβιβάσεως της ανοχής είναι η ανταλλαγή γενετικού υλικού μεταξύ των μικροοργανισμών που γίνεται κυρίως με τη σύζευξη⁵ και αφορά τη μεταφορά πλασμιδίων. Ο τρόπος αυτός *in vitro* συμβαίνει με μεγάλη συχνότητα³. Το ίδιο συμβαίνει και *in vivo*, μολονότι υπάρχουν αρκετές διαφορίες. Ένας περιοριστικός παράγοντας για την *in vivo* μεταφορά φαίνεται να είναι η θερμοκρασία (θερμοευαίσθητα πλασμίδια)^{1,3}. Σε πολλές μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι η μεταβίβαση των πλασμιδίων συμβαίνει στους 28 °C όχι όμως και στους 37 °C¹. Έτσι μπορεί η μεταβίβαση να μη γίνεται στο έντερο ενός οργανισμού, γίνεται όμως στο περιβάλλον στα απεκκριθέντα κόπρανα. Στη συνέχεια με την κατανάλωση των κοπράνων αυτών εισέρχονται οι μικροοργανισμοί δέκτες πλασμιδίων στον οργανισμό και εγκαθίστανται στο έντερο. Παρά ταύτα υπάρχουν μελέτες όπου διαπιστώνεται, ότι η *in vivo* μεταβίβαση των πλασμι-

¹ Κλινική Παθολογίας των Πτηνών, Τμήμα Κτηνιατρικής Α.Π.Θ. Clinic of Poultry Diseases, Veterinary Faculty, Aristotelian University of Thessaloniki

δίων αντοχής γίνεται ανεξάρτητα της θερμοκρασίας (θερμοανθεκτικά πλασμίδια)¹.

Στην *in vivo* μεταβίβαση της αντοχής αποδίδεται η δυνατότητα των μικροοργανισμών της φυσιολογικής χλωρίδος ενός ζώου, που απέκτησαν ανθεκτικότητα λόγω χρήσεως αντιβιοτικών, να τη μεταβιβάζουν σε παθογόνους μικροοργανισμούς που εισήλθαν στον οργανισμό του ζώου τυχαία¹.

Στα πτηνά το φαινόμενο της παρουσίας ανθεκτικών στελεχών συναντάται κυρίως στις μολύνσεις από *E. coli* και ακολουθούν οι μολύνσεις από σαλμονέλλες. Η προσθήκη αντιβιοτικών στην τροφή υπό μορφή αυξητικών παραγόντων, καθώς και η χορήγησή τους για θεραπευτικούς σκοπούς, καθιστούν ανθεκτικά πολλά στελέχη της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου καθώς και πολλά παθογόνα στελέχη των πτηνών της συστηματικής πτηνοτροφίας^{4,6}. Ειδικότερα, σε μελέτες για την *E. coli* έχει διαπιστωθεί ότι δεν παίζει σπουδαίο ρόλο η χαμηλή ή υψηλή δόση του χορηγούμενου αντιβιοτικού αλλά η συνεχής χορήγησή του². Αντίθετα, η διακοπή χορήγησης ευνοεί την εξαφάνιση των ανθεκτικών στελεχών και την αντικατάστασή τους από την προϋπάρχουσα χλωρίδα^{2,5,7}.

Στην εργασία αυτή μελετήσαμε την *in vitro* ανθεκτικότητα, σε μια σειρά από φαρμακευτικές ουσίες, των σαλμονελλών που απομονώθηκαν στην κλινική μας κατά την πενταετία 1990-94. Ειδικότερα θελήσαμε να παρατηρήσουμε τη διακύμανση της ευαισθησίας των σαλμονελλών στα φάρμακα κατά τη χρονική αυτή περίοδο.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Εξετάστηκαν συνολικά 241 στελέχη σαλμονελλών που απομονώθηκαν από πτηνά, τα οποία προσκομίστηκαν στην κλινική μας κατά το χρονικό διάστημα 1990-1994.

Η ευαισθησία των στελεχών στις διάφορες φαρμακευτικές ουσίες διαπιστώθηκε με τη μέθοδο Kirby Bauer disc diffusion method⁸. Οι αντιμικροβιακές ουσίες που δοκιμάστηκαν ήταν:

Nitrofurantoin	F300	(300 µg)	Oxoid
Neomycin	N30	(30µg)	"
Amoxicillin	AML10	(10 µg)	"
Sulfa/trimethoprim	SXT25	(25 µg)	"
Spectinomycin	SH10	(10 µg)	"
Chloramphenicol	C30	(30 µg)	"
Oxytetracycline	T30	(30 µg)	"
Enrofloxacin	ENR5	(5 µg)	Bayer
Flumequine	UB30	(30 µg)	Pasteur

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το ποσοστό των ανθεκτικών στελεχών σαλμονελλών σε μια σειρά από αντιμικροβιακές ουσίες *in vitro*, για το χρονικό διάστημα 1990-94, δίνεται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Δοκιμή ευαισθησίας *in vitro*: ποσοστό (%) ανθεκτικών στελεχών σαλμονελλών

	1990	1991	1992	1993	1994
Oxytetracycline	11,3	41,1	50	15	9
Furazolidone	13,6	35,3	30	21	12
Sulf/trimethoprim	9	30	25	6	6
Amoxicillin	45,5	49	15	48	51
Spectinomycin	56,8	80	76,3	78	78
Neomycin	0	11,7	7,5	6	3
Chloramphenicol	0	6	5	6	8
Flumequin	0	26,6	24,1	0	0
Enrofloxacin	0	17,6	25	0	0

Tetracycline. Το ποσοστό των ανθεκτικών στελεχών αφού παρουσίασε άνοδο τα τρία πρώτα έτη φθάνοντας το 50%, στη συνέχεια εμφάνισε κάμψη.

Furazolidone. Σημαντική άνοδος (35,3%) των ανθεκτικών στελεχών παρουσιάστηκε στα στελέχη του έτους 1991, ενώ στη συνέχεια παρατηρήθηκε πτώση φθάνοντας στο 12% για το 1994.

Trimethoprim/Sulphamethoxazole. Η εικόνα που εμφάνισαν τα ανθεκτικά στελέχη ήταν ανάλογη περίπου με της *furazolidone* με χαμηλότερα όμως ποσοστά.

Μολονότι ο μηχανισμός δημιουργίας ανθεκτικών στελεχών είναι πολύπλοκος, θα προσπαθήσουμε στην εργασία αυτή να εξηγήσουμε την ανθεκτικότητα, ενοχοποιώντας ένα μόνο παράγοντα, ίσως τον πιο βασικό, τη χορήγηση αντιβιοτικών. Η αύξηση του ποσοστού των ανθεκτικών στελεχών στα παραπάνω φάρμακα μπορεί να αποδοθεί στο ότι οι τρεις ουσίες χρησιμοποιήθηκαν ευρέως εδώ και πολλά χρόνια για την καταπολέμηση διαφόρων μικροβίων αλλά ιδιαίτερα και κατά των σαλμονελλών. Η *tetracycline* μάλιστα χρησιμοποιήθηκε και ως αυξητικός παράγοντας. Η παρατεταμένη χρήση τους φαίνεται ότι προκάλεσε επιλεκτική πίεση προς όφελος των ανθεκτικών στελεχών. Η μείωση του ποσοστού των ανθεκτικών στελεχών στη συνέχεια θα μπορούσε να αποδοθεί στη μειωμένη κατανάλωση των ουσιών αυτών λόγω χρήσεως νέων ουσιών. Ιδιαίτερα για τη *furazolidone* ίσως συνετέλεσε και η διαόμου απαγόρευση της, και αυτό επειδή η διακοπή της χορήγησης μιας ουσίας ευνοεί τη μετατροπή ανθεκτικών στελεχών σε ευαίσθητα. Αυτό έχει αποδειχθεί για τη *Neomycin*, φαίνεται όμως ότι ισχύει και για άλλα αντιβιοτικά⁷.

Amoxicillin. Το ποσοστό των ανθεκτικών στελεχών στο αντιβιοτικό αυτό κυμάνθηκε γύρω στο 50% με σημαντική πτώση στο 15% για το έτος 1992. Δεν μπορεί να δοθεί κάποια εξήγηση για τη συμπεριφορά του αντιβιοτικού αυτού.

Spectinomycin. Η ουσία αυτή παρουσίασε υψηλό ποσοστό ανθεκτικών στελεχών για όλα τα έτη. Παρά το γεγονός, ότι η ουσία αυτή τα τελευταία έτη δε χρησιμοποιήθηκε πολύ στη συστηματική πτηνοτροφία, η δημιουργία ανθεκτικών στελεχών μπορεί να αποδοθεί στη μεταβίβαση

Πίνακας 2. Σύγκριση ποσοστών (%) ανθεκτικών στελεχών Κλινική Παθολογ. Πτηνών / Εργαστηρ. Doorn Ολλανδίας*

	1990	1991	1992	1993
Oxytetracycline	11/21	41/36	50/31	15/9
Furazolidone	13/2	35/15	30/9	21/31
Sulf/Trimethoprim	9/10	30/12	25/4	6/2
Spectinomycin	57/8	80/9	76/15	78/1
Neomycin	0/0	12/0	7/0	6/0,3
Chloramphenicol	0/7	6/2	5/5	6/2
Flumequin	0/0	27/4	24/2	0/4
Enrofloxacin	0/0	18/0	25/1	0/0

*E. Goren Missed World Poultry 1994, 10:53

πλασμιδίων ανοχής από άλλες πηγές (άνθρωπος-ζώα).

Neomycin. Είναι από τα αντιβιοτικά με μικρό ποσοστό ανθεκτικών στελεχών και με πορεία φθίνουσα του ποσοστού αυτού. Το μεγαλύτερο ποσοστό (11,1%) παρουσιάστηκε στο δεύτερο έτος, ενώ στη συνέχεια παρατηρήθηκε πτώση που έφθασε τελικά στο 3%. Το φαινόμενο αυτό, όπως προαναφέρθηκε, πρέπει να οφείλεται στην ιδιότητα της *neomycin* να μετατρέπεται ανθεκτικά στελέχη σε ευαίσθητα με τη διακοπή της χορήγησής της. Το μικρό ποσοστό των ανθεκτικών στελεχών θα μπορούσε να συνδυαστεί και με την περιορισμένη χρήση της ουσίας αυτής στην καταπολέμηση των σαλμονελλών.

Chloramphenicol. Το αντιβιοτικό αυτό, παρά την ευρεία χρήση του κατά την τελευταία δεκαετία, παρουσίασε χαμηλά ποσοστά ανθεκτικών στελεχών. Στο γεγονός αυτό ίσως να βοήθησε και η δια νόμου απαγόρευση της χρήσης της κατά τα τελευταία έτη.

Quinolon. Οι ουσίες αυτές εξακολουθούν να παραμένουν δραστικές παρά την εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών κατά τα έτη 1991-1992. Η εμφάνιση των στελεχών αυτών μπορεί να αποδοθεί στην αλόγιστη χρήση που έγινε κατά τα προηγούμενα έτη.

Γενικά τα ποσοστά της μελέτης μας συγκρινόμενα με εκείνα άλλων χωρών εμφανίζονται υψηλότερα⁹ (Πίνακας 2). Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στην αλόγιστη και ανεξέλεγκτη κατανάλωση φαρμακευτικών ουσιών που γίνεται στη χώρα μας.

Τέλος, όπως φαίνεται από τον πίνακα, τα ποσοστά για τα περισσότερα από τα αντιβιοτικά είναι αυξημένα για τις σαλμονέλλες των ετών 1991 και 1992. Εκτός από τους λόγους που αναφέρθηκαν, στην αύξηση αυτή θα μπορούσαμε να προσθέσουμε ακόμη και την έξαρση των κρουσμάτων σαλμονελλώσεως κατά τα έτη αυτά.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής δείχνουν, ότι κατά τα έτη 1990-1994 έχουν παρατηρηθεί μεταβολές στη δραστηριότητα των αντιμικροβιακών ουσιών έναντι των σαλμο-

νελλών, οι οποίες φυσικά έχουν ξεκινήσει από τα προηγούμενα έτη. Παρά το γεγονός, ότι οι δοκιμές *in vitro* για τον καθορισμό της ευαισθησίας ενός μικροβίου στα αντιβιοτικά δεν ταυτίζεται απολύτως πάντοτε με την *in vivo* ευαισθησία στο ίδιο αντιβιοτικό, πολύ ανησυχητικό στοιχείο ήταν το αυξημένο ποσοστό ανθεκτικών στελεχών τα έτη 1991 και 1992 ακόμη και για φαρμακευτικές ουσίες σχετικά νέες (κινολόνες). Η δημιουργία γενικά ανθεκτικών στελεχών έχει ως συνέπεια τον περιορισμό της χρήσης ουσιών αποτελεσματικών έναντι των σαλμονελλών αλλά και άλλων μικροβίων. Η μείωση του ποσοστού των ανθεκτικών στελεχών για τις περισσότερες δοκιμασθείσες ουσίες κατά τα επόμενα έτη της έρευνας, έστω και σε μικρό βαθμό, είναι αισιόδοξο στοιχείο και φαίνεται να συνδέεται άμεσα με τον περιορισμό της χρήσης των αντιβιοτικών.

Στηριζόμενοι στο γεγονός, ότι η δημιουργία ανθεκτικών στελεχών έχει άμεση σχέση με τη χρήση φαρμακευτικών ουσιών τονίζουμε την αναγκαιότητα περιορισμού της χρήσης των ουσιών αυτών μόνο στα περιστατικά στα οποία ενδείκνυνται και αν είναι δυνατόν ύστερα από δοκιμή ευαισθησίας (αντιβιογράμμα). Ακόμη η χρήση για προληπτικούς σκοπούς να γίνεται με μεγάλη φειδώ. Τέλος, στα πτηνοτροφεία πρέπει να εφαρμόζονται αυστηρά υγειονομικά μέτρα, ώστε να περιοριστεί η συχνότητα μόλυνσης των πτηνών και η διασπορά των ανθεκτικών αυτών στελεχών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Gast RK, Stephens JF. In Vivo Transfer of Antibiotic Resistance to a Strain of *Salmonella arizonae*. Poultry Sci 1986, 65:270-279.
- Scioli C, Esposito S, Anzilotti G, Pavone A, Pennucci C. Transferable Drug Resistance in *Escherichia coli* Isolated from Antibiotic-Fed Chickens. Poultry Sci 1983, 382-384.
- Gast RK, Stephens JF. Incidence and In Vitro Acquisition of Transferable Drug Resistance in *Salmonella arizonae*. Poultry Sci 1985, 64:882-890.
- Gast RK, Stephens JF. Effects of Kanamycin Administration to Poultry on the Proliferation of Drug-Resistant *Salmonella*. Poultry Sci 1988, 67:689-698.
- Harry EG. Antibiotic Therapy. In: Companion Bird Medicine, 1st ed, Iowa State University Press, 1987:204-213.
- Stabler SL, Fagerberg DJ, Quarles CL. Effects of oral and injectable tetracyclines on bacterial drug resistance in feedlot cattle. Am J Vet Res 1982, 43:1763-1766.
- Cornell CP. Comparative utility of Neomycin and Nitrofurans. World Pultry 1995, 11:52-53.
- Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. Antimicrobial Agents. In: Clinical Veterinary Microbiology, London Wolfe Publishing Ltd, 1994:95-102.
- Goren E. Bacterial Drug Resistance is still a major problem. World Poultry 1994, 10:53.