

OCENA LEKOWRAŻLIWOŚCI I PODOBIENSTWA GENETYCZNEGO SZCZEPÓW *CAMPYLOBACTER JEJUNI* I *CAMPYLOBACTER COLI* IZOLOWANYCH Z MATERIAŁU KLINICZNEGO I ŹRÓDEŁ ŚRODOWISKOWYCH

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND GENETIC SIMILARITY AMONG *CAMPYLOBACTER COLI* AND *CAMPYLOBACTER JEJUNI* STRAINS ISOLATED FROM CLINICAL MATERIAL AND ENVIRONMENTAL SOURCES

Bernadeta Szczepańska¹, Agnieszka Mikucka², Małgorzata Andrzejewska¹, Dorota Śpica¹, Eugenia Gospodarek², Jacek J. Klawe¹

¹ Katedra i Zakład Higieny i Epidemiologii. Kierownik: dr hab. n. med. Jacek J. Klawe, prof. UMK

² Katedra i Zakład Mikrobiologii. Kierownik: dr hab. Eugenia Gospodarek, prof. UMK
Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Streszczenie

Celem pracy była ocena lekowrażliwości i podobieństwa genetycznego szczepów *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* izolowanych z różnych źródeł w latach 2008–2009.

Materiał i metody: Badaniem objęto 100 szczepów *Campylobacter* spp.: 48 szczepów pochodziło z mięsa drobiowego, 20 – z kału dzieci, 19 – z wody i 13 – z gnojowicy. Wartość MIC erytromycyny, azytromycyny, ciprofloksacyny i tetracykliny oceniono metodą Etestów. Do rozdziału DNA chromosomalnego wykorzystano technikę PFGE, po cięciu enzymem restrykcyjnym *Sma*I.

Wyniki: Wszystkie badane szczepy były wrażliwe na makrolidy, 52,0% na tetracyklinę (36,0% w 2008 r. i 68,0% w 2009 r.) i 21,0% na ciprofloksacynę (16,0% w 2008 r. i 26,0% w 2009 r.). Wartość MIC₅₀ erytromycyny dla badanych szczepów wynosiła 0,25 mcg/ml, MIC₉₀ 0,75

mcg/ml, azytromycyny odpowiednio 0,047 mcg/ml i 0,19 mcg/ml. Wartości MIC₅₀ i MIC₉₀ ciprofloksacyny kształtowały się na poziomie 32 mcg/ml, a tetracykliny odpowiednio 0,5 i 256 mcg/ml. Wśród szczepów o takim samym pochodzeniu stwierdzono szczepy reprezentujące identyczne i podobne wzory DNA chromosomalnego. Pojedyncze szczepy *Campylobacter* spp. izolowane z różnych źródeł również reprezentowały ten sam wzór DNA chromosomalnego.

Wnioski: Najniższe wartości MIC₅₀ i MIC₉₀ uzyskano dla azytromycyny. W 2009 roku stwierdzono wzrost odsetka szczepów wrażliwych na ciprofloksacynę i tetracyklinę w porównaniu z wynikami uzyskanymi w 2008 roku. W określonym środowisku prawdopodobnie utrzymują się szczepy identyczne i blisko spokrewnione.

Słowa kluczowe: *Campylobacter* spp., lekowrażliwość, podobieństwo genetyczne

Nadesłano: 09.10.2009

Zatwierdzono do druku: 13.04.2010

Summary

The aim of the work was to determine susceptibility to drugs and the genetic similarity among the *C. jejuni* and *C. coli* strains that were isolated from different sources in 2008–2009.

Materials and methods: 100 *Campylobacter* strains were analysed: 48 strains were collected from poultry, 20 from children stools, 19 from water samples and 13 from liquid manure. MIC value for erythromycin, azithromycin, ciprofloxacin, and tetracycline were determined with the E-test method. The chromosomal DNA was separated by PFGE, after digestion with restriction enzyme *SmaI*.

Results: All the analyzed strains were susceptible to macrolides, 52.0% of them to tetracycline (36.0% in 2008 and 68.0% in 2009), and 21.0 % to ciprofloxacin (16.0 % in 2008 and 26.0 % in 2009). The MIC₅₀ value obtained

for erythromycin among the analyzed strains was 0.25 mcg/ml and MIC₉₀ 0.75 mcg/ml, for azithromycin respectively 0.047 mcg/ml and 0.19 mcg/ml. MIC₅₀ and MIC₉₀ values for ciprofloxacin were 32 mcg/ml and for tetracycline 0.5 and 256 mcg/ml respectively. Among the strains of the same origin identical and similar chromosomal DNA patterns were observed. Particular *Campylobacter* strains that were isolated from different samples also presented the same chromosomal DNA pattern.

Conclusions: The lowest MIC values were obtained for azithromycin. An increase in the percentage of strains susceptible to ciprofloxacin and tetracycline was observed in 2009 compared to the results obtained in 2008. In a given environment probably identical and closely related strains survive.

Key words: *Campylobacter* spp., antimicrobial resistance, genetic similarity

Wstęp

Kampylobakterioza u ludzi jest chorobą wywołaną głównie przez bakterie z gatunku *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli*. Do zakażenia najczęściej dochodzi drogą pokarmową, po spożyciu żywności pochodzenia zwierzęcego (mięso drobiowe, wieprzowe) poddanej niewłaściwej obróbce termicznej lub produktów spożywczych zanieczyszczonych wtórnie tymi bakteriami, w wyniku nieprzestrzegania zasad higieny podczas ich przygotowywania. Pałeczki te mogą pochodzić również z niepasteryzowanego mleka i jego przetworów, owoców morza, a także wody używanej w celach konsumpcyjnych. Potwierdzono również przypadki zakażeń u ludzi po kąpielach w naturalnych zbiornikach wodnych [1]. Różnorodność potencjalnych źródeł zakażenia sprawia, że w wielu przypadkach nie udaje się ich jednoznacznie określić.

W 2006 roku zarejestrowano łącznie 175.561 przypadków kampylobakteriozy w 21 państwach członkowskich Unii Europejskiej, przy czym, kraje sąsiadujące z Polską: Niemcy, Czechy, Słowacja i Litwa zgłosiły odpowiednio 52.035, 22.571, 2718 i 624 potwierdzonych zakażeń [2]. W Polsce zgłoszono tylko 156 przypadków zakażeń wywołanych przez *Campylobacter* spp. Pomimo faktu, że obserwowano wzrost liczby zgłoszonych przypadków zakażeń między 2005, a 2006 rokiem – z 47 do 156 – jesteśmy bardzo dalecy od oszacowania rzeczywistej liczby przypadków i częstości występowania kampylobakteriozy w naszym kraju [3]. Ze względu na specjalne wymagania hodowlane tych bakterii, postępowania diagnostycznego w Polsce podejmują się tylko nieliczne, wyspecjalizowane laboratoria. Powyższy fakt może być przyczyną niskiej wykrywalności tych bakterii w zakażonym materiale.

Poważny problem medyczny i ekonomiczny stanowi narastająca oporność szczepów *Campylobacter* spp. na antybiotyki, co spowodowane jest niewłaściwym ich stosowaniem w leczeniu chorób u ludzi i zwierząt [4].

Celem pracy była ocena lekowrażliwości i podobieństwa genetycznego szczepów *C. jejuni* i *C. coli* izolowanych z różnych źródeł w latach 2008–2009.

Materiał i metody

Badaniem objęto 100 szczepów *Campylobacter* spp. izolowanych w okresie od stycznia 2008 roku do czerwca 2009 roku, z materiału klinicznego i źródeł środowiskowych. Szczepy *C. jejuni* stanowiły 39,0% badanych szczepów, *C. coli* – 56,0% i *C. coli/C. jejuni* – 5,0%. Czterdzieści osiem badanych szczepów pochodziło z mięsa drobiowego znajdującego się w sprzedaży na terenie województwa kujawsko-pomorskiego, 20 – z kału dzieci z biegunkami leczonych w Wojewódzkim Szpitalu Obserwacyjno-Zakaźnym w Bydgoszczy. 19 badanych szczepów pochodziło z wody ze zbiorników rekreacyjnych, kąpielisk oraz z rzek Wisły i Brdy. Z gnojowicy wyhodowano 13 szczepów *Campylobacter* spp.

Metody izolacji. Do izolacji *Campylobacter* spp. z wody zastosowano metodę filtracji przy użyciu podłoży wybiórczych: Bolton bulion, Preston agar, podłoże CCDA (Oxoid) [5]. Izolację bakterii z żywności prowadzono zgodnie z normą ISO 10 272 [6]. Do hodowli pałeczek *Campylobacter* spp. z kału dzieci z biegunką użyto podłoży wybiórczych: modyfikowany Preston agar (Oxoid) i CCDA agar (Oxoid) [7]. Hodowle na podłożu Prestona inkubowano w temperaturze 42° C, na podłożu CCDA – w temperaturze 37° C przez 48 godzin w warunkach mi-

kroaerofilnych przy użyciu zestawu GenBox Micro-aer (BioMérieux).

Identyfikację do gatunku przeprowadzano w oparciu o morfologię komórki i kolonii, wyniki reakcji biochemicznych zawartych w testach API Campy (bioMérieux) oraz technikę PCR z zastosowaniem gatunkowo specyficznych starterów: HipOR2 i HipOF2 dla *C. jejuni* oraz CC1 i CC2 dla *C. coli* [7, 8, 9].

MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*, minimalne stężenie hamujące) dla wybranych antybiotyków (erytromycyna, azytromycyna, ciprofloksacylina, tetracyklina) określano metodą Etestów (AB-Biodisk) na podłożu Mueller-Hinton agar z 5% krwią baranią zgodnie z zaleceniami producenta Etestów. Wyniki interpretowano zgodnie z zaleceniami CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Szczepy uznano za odporne, jeżeli wartość MIC wynosiła dla erytromycyny ≥ 32 mg/l, dla azytromycyny – ≥ 32 mg/l, dla ciprofloksacyliny – ≥ 4 mg/l oraz dla tetracykliny ≥ 16 mg/l.

Do rozdziału DNA chromosomalnego wykorzystano technikę PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*), po cięciu enzymem restrykcyjnym *SmaI* [11].

Wyniki interpretowano przy użyciu programu Molecular Analyst Fingerprinting (Bio-Rad). Za identyczne uznano szczepy wykazujące 94% podobieństwa genetycznego, za blisko spokrewnione wykazujące 86–92% podobieństwa genetycznego [12].

Wyniki badań

Zgodnie z danymi zestawionymi w tabeli I, wszystkie badane szczepy *Campylobacter* spp. były wrażliwe na makrolidy – erytromycynę i azytromycynę. Ogółem 52,0% szczepów wykazywało wrażliwość na tetracyklinę, przy czym w 2008 roku odsetek ten wynosił 36,0%, a w 2009 roku – 68,0%. Wśród badanych szczepów *C. jejuni* oraz *C. coli* odsetek szczepów wrażliwych na ciprofloksacylinę wynosił 21,0% (16,0% w 2008 roku i 26,0% w 2009 roku). Wartość MIC₅₀ erytromycyny dla badanych szczepów wynosiła 0,25 mcg/ml, MIC₉₀ – 0,75 mcg/ml, a dla azytromycyny odpowiednio: 0,047 mcg/ml i 0,19 mcg/ml. Dla ciprofloksacyliny wartości MIC₅₀ i MIC₉₀ wynosiły – 32 mcg/ml. Wartości MIC₅₀ i MIC₉₀ tetracykliny kształtowały się na poziomie odpowiednio: 0,5 mcg/ml i 256 mcg/ml.

Tabela I. Wrażliwość szczepów *Campylobacter* spp. na wybrane antybiotyki w latach 2008–2009

Table I. *Campylobacter* strains susceptibility to antibiotics in 2008–2009

Antybiotyk	2008 rok (n = 50)				2009 rok (n = 50)				Lata 2008–2009a (n = 100)			
	% W	% O	MIC ₅₀	MIC ₉₀	% W	% O	MIC ₅₀	MIC ₉₀	% W	% O	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Erytromycyna	100,0	0,0	0,5	1,0	100,0	0,0	0,19	0,38	100,0	0,0	0,25	0,75
Azytromycyna	100,0	0,0	0,064	0,25	100,0	0,0	0,047	0,064	100,0	0,0	0,047	0,19
Ciprofloksacylina	16,0	84,0	> 32	> 32	26,0	74,0	8,0	> 32	21,0	79,0	> 32	> 32
Tetracyklina	36,0	64,0	> 256	> 256	68,0	32,0	0,125	> 256	52,0	48,0	0,5	> 256

W – szczepy wrażliwe; O – szczepy odporne; MIC₅₀ – najmniejsze stężenie hamujące wzrost bakterii 50% badanych szczepów; MIC₉₀ – najmniejsze stężenie hamujące wzrost bakterii 90% badanych szczepów

W – susceptible, O – resistant; MIC₅₀ – the lowest level of concentration impeding growth of 50% of analyzed strains; MIC₉₀ – the lowest level of concentration impeding growth of 90% of analyzed strains

Analizując wrażliwość na antybiotyki z uwzględnieniem źródeł izolacji, nie stwierdzono różnic w wartościach odczytywanych parametrów (tabela II). Jedynie wśród szczepów izolowanych z wody odnotowano najniższe wartości MIC i najwyższy odsetek szczepów wrażliwych na badane antybiotyki.

Wśród szczepów *C. coli* stwierdzono wyższy odsetek szczepów wrażliwych na ciprofloksacylinę i tetracyklinę niż wśród szczepów *C. jejuni* (tabela III). Wartość MIC₅₀ ciprofloksacyliny i tetracykliny dla badanych szczepów *C. coli* były niższe niż dla szczepów *C. jejuni* i wynosiły odpowiednio: 8,0 mcg/ml i 0,3 mcg/ml.

Jak wynika z ryciny 1, wśród szczepów o takim samym pochodzeniu stwierdzono szczepy reprezentujące identyczne wzory DNA chromosomalnego (gnojowica – szczepy nr 75 i 76, 78 i 79; kurczaki – szczepy nr 83–94) i podobne wzory DNA chromosomalnego (woda – szczepy nr 52 i 53). Pojedyncze szczepy *Campylobacter* spp. izolowane z różnych źródeł również reprezentowały ten sam wzór DNA chromosomalnego.

Nie wykazano >90% podobieństwa genetycznego między szczepami izolowanymi w 2008 i 2009 roku.

Tabela II. Wrażliwość szczepów *Campylobacter* spp. na antybiotyki według źródeł izolacji
Table II. *Campylobacter* strains susceptibility to antibiotics according to isolation sources

Antybiotyk	Mięso drobiowe (n = 48)				Kał (n = 20)			
	% W	% O	MIC ₅₀	MIC ₉₀	% W	% O	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Erytromycyna	100,0	0,0	0,25	0,75	100,0	0,0	0,38	0,75
Azytromycyna	100,0	0,0	0,047	0,125	100,0	0,0	0,064	0,19
Ciprofloksacyna	18,8	81,2	8	> 32	15,0	85,0	> 32	> 32
Tetracyklina	62,5	37,5	0,125	> 256	50,0	50,0	0,5	> 256

Antybiotyk	Mięso drobiowe (n = 48)				Kał (n = 20)			
	% W	% O	MIC ₅₀	MIC ₉₀	% W	% O	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Erytromycyna	100,0	0,0	0,19	0,5	100,0	0,0	0,25	0,25
Azytromycyna	100,0	0,0	0,047	0,064	100,0	0,0	0,047	0,064
Ciprofloksacyna	47,7	52,3	0,094	> 32	0,0	100,0	> 32	> 32
Tetracyklina	57,9	42,1	0,064	> 256	7,7	92,3	> 256	> 256

W – szczepy wrażliwe; O – szczepy odporne; MIC₅₀ – najmniejsze stężenie hamujące wzrost bakterii 50% badanych szczepów; MIC₉₀ – najmniejsze stężenie hamujące wzrost bakterii 90% badanych szczepów

W – susceptible, O – resistant; MIC₅₀ – the lowest level of concentration impeding growth of 50% of analyzed strains; MIC₉₀ – the lowest level of concentration impeding growth of 90% of analyzed strains

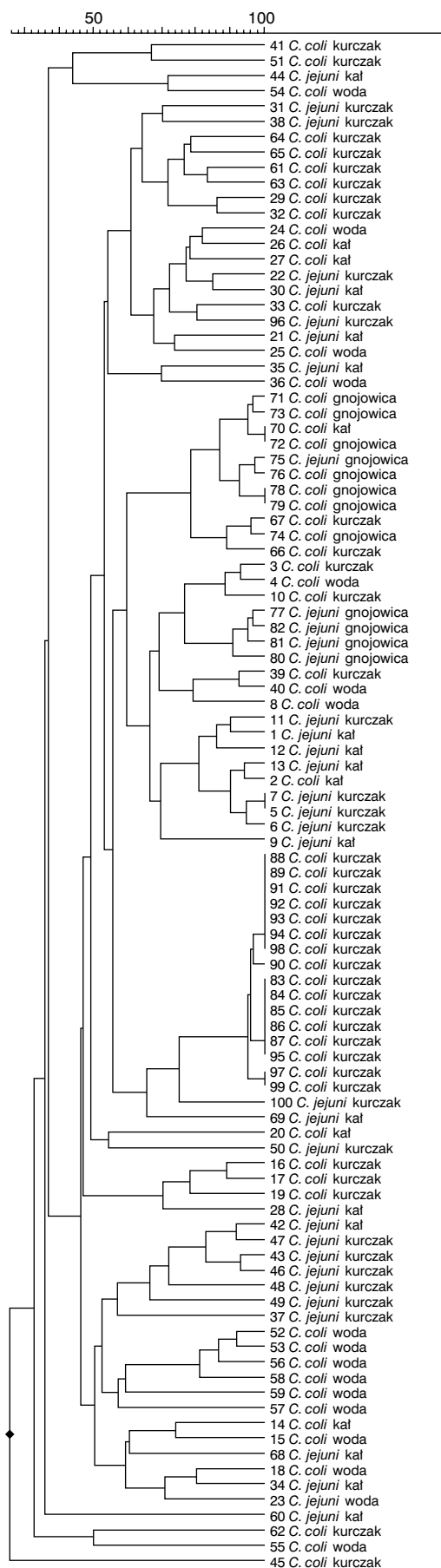
Tabela III. Wrażliwość szczepów *C. jejuni* i *C. coli* na wybrane antybiotyki
Table III. *C. jejuni* i *C. coli* strains susceptibility to antibiotics

Antybiotyk	<i>C. jejuni</i> (n = 40)		
	% W	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Erytromycyna	100,0	0,25	0,75
Azytromycyna	100,0	0,047	0,19
Ciprofloksacyna	12,5	> 32	> 32
Tetracyklina	45,0	> 256	> 256

Antybiotyk	<i>C. coli</i> (n = 60)		
	% W	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Erytromycyna	100,0	0,25	0,1
Azytromycyna	100,0	0,047	0,19
Ciprofloksacyna	26,6	8,0	> 32
Tetracyklina	56,6	0,321	> 256

W – szczepy wrażliwe; MIC₅₀ – najmniejsze stężenie hamujące wzrost bakterii 50% badanych szczepów; MIC₉₀ – najmniejsze stężenie hamujące wzrost bakterii 90% badanych szczepów

W – susceptible, MIC₅₀ – the lowest level of concentration impeding growth of 50% of analyzed strains; MIC₉₀ – the lowest level of concentration impeding growth of 90% of analyzed strains



Rycina 1. Dendrogram wzorów DNA chromosomalnego szczepów *C. jejuni* i *C. coli* izolowanych z kału, kurczaków, wody i gnojowicy.

Szczepy od 1–50 izolowane w 2008 roku, 51–100 – w 2009 roku

Figure 1. Dendrogram of chromosomal DNA profiles of *C. jejuni* and *C. coli* strains that were isolated from stool, poultry, water and liquid manure.

Strains No. 1–50 were isolated in 2008, strains No. 51–100 in 2009

Dyskusja

Rosnące zużycie antybiotyków w profilaktyce i leczeniu zakażeń ludzi i zwierząt powoduje rozprzestrzenianie się w środowisku szczepów *Campylobacter* spp. opornych na stosowane leki [4, 13]. W ostatnich latach na świecie notuje się wzrost odsetka szczepów opornych na antybiotyki z grupy makrolidów. Szczególnie niepokojącym jest zjawisko narastania oporności na erytromycynę, która jest lekiem z wyboru w przypadkach ostrych zakażeń pokarmowych wywołanych przez pałeczki *Campylobacter* spp. oraz azytromycynę – makrolid nowej generacji, również sugerowany do leczenia tych zakażeń [13, 14]. W badaniach własnych nie stwierdzono szczepów *C. jejuni* i *C. coli* opornych na erytromycynę i azytromycynę, wśród izolowanych z kału dzieci oraz źródeł środowiskowych. Dla azytromycyny uzyskano najniższe wartości MIC₅₀ i MIC₉₀, odpowiednio 0,047 mcg/ml i 0,19 mcg/ml. Jednak wyniki dotyczące oporności na erytromycynę i azytromycynę różnią się w poszczególnych krajach i dla poszczególnych gatunków w zależności od źródeł izolacji (0–17% szczepów *C. jejuni* i 0–68% szczepów *C. coli*) [2, 13, 14]. W Irlandii Północnej ponad 11,0% szczepów izolowanych od ludzi wykazywało oporność na erytromycynę, natomiast wśród szczepów izolowanych od drobiu – 15,3% [15]. Wyniki badań przeprowadzonych we Włoszech wskazują, że oporność na erytromycynę wśród szczepów *C. coli* izolowanych od ludzi kształtowała się na poziomie 68,0% [14].

Jak wynika z tabeli I, 50% izolowanych szczepów *Campylobacter* spp. wykazywała oporność na tetracyklinę, przy czym w 2008 roku ponad 60%. W 2009 roku odnotowano spadek odsetka szczepów opornych na tetracyklinę (30% szczepów). Wzrost odsetka szczepów wrażliwych na tetracyklinę może wynikać z racjonalnego ich stosowania i faktu, że w ostatniej dekadzie stosowanie tych antybiotyków ograniczono tylko do uzasadnionych przypadków. Najwyższy odsetek szczepów opornych na tetracyklinę stwierdzono wśród szczepów izolowanych

z gnojowicy oraz z kału dzieci (tabela II). W regionie bielsko-bialskim w latach 2005–2006 odsetek szczepów *C. jejuni* opornych na tetracyklinę izolowanych z kału wynosił 15,0%, natomiast szczepów *C. coli* – 12,5% [13]. W badaniach własnych odsetek tych szczepów był wyższy (tabela III). Szczepy *Campylobacter* spp. izolowane w innych krajach wykazują zróżnicowaną wrażliwość na tetracyklinę. W Hiszpanii odsetek szczepów tetracyklino-opornych izolowanych z kału sięga 72,0%, a w Niemczech – 38,0% [14].

W wyniku przeprowadzonych badań w latach 2008–2009 stwierdzono wysoki odsetek szczepów *Campylobacter* spp. opornych na ciprofloksacynę (79,0%); w 2008 roku odsetek ten wynosił 84,0%, a w 2009 roku – 74,0%. Wszystkie szczepy izolowane z gnojowicy wykazywały oporność na ciprofloksacynę. Dla szczepów pochodzących z kału chorych dzieci odsetek ten wynosił 85,0%, a dla szczepów izolowanych z mięsa kurcząt – 81,2%. Ponieważ fluorochinolony nie są stosowane w leczeniu zakażeń u dzieci i młodzieży, można przypuszczać, że tak wysoki odsetek szczepów opornych na ciprofloksacynę wiąże się z nadużywaniem tych chemioterapeutyków w medycynie weterynaryjnej, m. in. Stosowane są jako „antybiotykowe stymulatory wzrostu”. W piśmiennictwie pojawia się wiele doniesień na temat transmisji lekoopornych szczepów *Campylobacter* spp. ze zwierząt hodowlanych, szczególnie z drobiu na ludzi poprzez zanieczyszczoną żywność i wodę [13, 15, 17, 18]. Z badań przeprowadzonych w różnych regionach Polski wynika, że odsetek szczepów opornych na ciprofloksacynę wynosił 50–59% [4, 13]. W wielu krajach (Tajwan, Hiszpania, Korea) odsetek szczepów o tych właściwościach przekroczył w ostatnich latach 80% [14, 15].

Wśród badanych szczepów o takim samym pochodzeniu wykazano szczepy reprezentujące identyczne wzory DNA chromosomalnego. Identyczne wzory DNA chromosomalnego stwierdzono wśród szczepów *C. coli* izolowanych w 2009 roku z mięsa drobiowego znajdującego się w sprzedaży na terenie województwa kujawsko-pomorskiego (szczepy nr 83–94). Może świadczyć to o pochodzeniu drobiu z tej samej hodowli, w której doszło do zakażenia kurcząt tym samym szczepem *C. coli* lub o wtórnym zanieczyszczeniu mięsa drobiowego w czasie uboju i dystrybucji gotowych produktów [19]. Identyczne wzory DNA chromosomalnego stwierdzono także wśród szczepów izolowanych z gnojowicy, np. *C. jejuni* (szczepy nr 75 i 76) lub *C. coli* (szczepy nr 78 i 79).

Pojedyncze szczepy *Campylobacter* spp. izolowane z różnych źródeł również reprezentowały ten sam wzór DNA chromosomalnego. Najwięcej takich szczepów było wśród izolatów z gnojowicy i kurcza-

ków. Ponieważ izolaty o identycznym wzorze restrykcyjnym uważa się za jeden szczep, zatem obecność takiego samego szczepu w dwóch różnych środowiskach można interpretować w dwojaki sposób: 1) nastąpiła transmisja szczepu pomiędzy fermą kurcząt, a gnojowicą (co wydaje się prawdopodobne i wymaga dalszych badań w celu potwierdzenia), 2) należy potwierdzić podobieństwo szczepów wykonując genotypowanie przy użyciu drugiej endonukleazy, np. KpnI oraz innej metody oceny podobieństwa genetycznego, np. RAPD [20].

Nie wykazano >90% podobieństwa między szczepami izolowanymi 2008 i 2009 w roku.

Wnioski

1. Dla badanych szczepów *Campylobacter* spp. najniższe wartości MIC₅₀ i MIC₉₀ uzyskano dla azytromycyny.
2. Wśród szczepów *C. coli* stwierdzono wyższy odsetek szczepów wrażliwych na ciprofloksacynę i tetracyklinę niż wśród szczepów *C. jejuni*.
3. Wartość MIC₅₀ ciprofloksacyny dla badanych szczepów *C. coli* była niższa niż dla szczepów *C. jejuni*.
4. W 2009 roku stwierdzono wzrost odsetka szczepów wrażliwych na ciprofloksacynę i tetracyklinę w porównaniu z wynikami uzyskanymi w 2008 roku.
5. W określonym środowisku i materiale klinicznym prawdopodobnie utrzymują się szczepy identyczne i blisko spokrewnione.

Wykaz piśmiennictwa

1. Osek J.: Czynniki zakaźne w żywności pochodzenia zwierzęcego. Postęp Nauk Rolniczych, 2008, 2, 17-26
2. EFSA.2006. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial resistance and Foodborne outbreaks in the European Union in 2006. Available from: http://www.efsa.europa.eu/EFSA/DocumentSet/Zoon_report_2006_en.pdf
3. Sadkowska-Todys M., Wardak S.: Kamylobakterioza. Przegl. Epidemiol. 2008, 62, 295-9
4. Rozynek E., Dzierżanowska-Fangrat K., Szczepańska B., Wardak S., Szych J., Konieczny P., Albrecht P., Dzierżanowska D.: Trends in antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* isolates in Poland (2000-2007). Polish J. Microbiol. 2009, 58, 2, 111-115
5. Health Protection Agency 2007. Detection of *Campylobacter* species in water. National Standard Method W8 Issue 3. http://www.hpa-standardmethods.org.uk/pdf_sops.asp
6. PN-ISO 10272. "Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania termotolerancyjnych bakterii z rodzaju *Campylobacter*". 2002
7. Rozynek E., K. Dzierżanowska-Fangrat, P. Józwiak, J. Popowski, D. Korsak and D. Dzierżanowska. Prevalence of potential virulence markers in Polish *Campylobacter jejuni* and

- Campylobacter coli isolates obtained from hospitalized children and from chicken carcasses. J. Med. Microbiol. 2005, 54, 615-619.
8. On, S. L., Jordan, P. J. Evaluation of 11 PCR assays for species-level identification of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli. J Clin Microbiol. 2003, 41, 330-336
 9. Linton D., A.J. Lawson, R.J. Owen and J. Stanley. PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli direct from diarrheic samples. J. Clin. Microbiol. 1997, 35, 2568-2572
 10. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline, 2006
 11. Ribot E., Fitzgerald C., Kubota K., Swaminathan B., Barrett T.J. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of Campylobacter jejuni. J. Clin. Microbiol, 2001, 39, 5, 1889-1894
 12. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B.: Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J. Clin. Microbiol. 1995, 2233-9
 13. Wardak S., Szych J., Duda U.: Wrażliwość na antybiotyki I chemioterapeutyki szczepów pałeczek Campylobacter sp. izolowanych od ludzi w latach 2005-2006 w regionie bielskobialskim. Med. Dośw. Mikrobiol. 2007, 59, 43-49.
 14. Prats g., Mirelis B., Llovet T.: Antibiotic resistance trends in enteropathogenic bacteria isolated in 1985 – 1987 and 1995 – 1998 in Barcelona. Antimicrob Agents Chemothre 2000, 44,1140 – 5.
 15. Engberg J., Aarestrup F., Taylor D., Gerner-Smidt P., Nachamkin I.: Quinolone and macrolide resistance in Campylobacter jejuni and C. coli: Resistance mechanisms and trends in human isolates. Emerg. Infect. Dis. 2001, 1, 7, 24-34
 16. Rao D., Rao R. i wsp.: Increased erythromycin resistance in clinicalin Northern Ireland – an update. J. Antimicrob. Chemother. 2005, 55, 395-396
 17. Threlfall E.J., L.R. Ward, J.A. Frost and G.A. Willshaw.: The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria. Int. J. Food Microbiol. 2000, 62, 1-5
 18. Sheppard SK, Dallas JF, Strachan NJC, et al. Campylobacter genotyping to determine the source of human infection. Clin. Infect. Dis. 2009, 48,1072?1078.
 19. Szczepańska, J. J. Klawe, M. Szady-Grad, A. Jurgoński, M. Andrzejewska: Występowanie bakterii z rodzaju Campylobacter u drobiu w trakcie procesu ubojowego. Probl Hig i Epidemiol. 2007, 88, 1, 78-83
 20. Thakur S, White DG, McDermott PF, et al. Genotyping of Campylobacter coli isolated from humans and retail meats using multilocus sequence typing and pulsed-field gel electrophoresis. J. Appl. Microbiol. 2009, 106, 1722?1733

Praca sfinansowana przez Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu w ramach grantu UMK 25/2008

Adres do korespondencji:

*dr n. med. Bernadeta Szczepańska
Katedra i Zakład Higieny i Epidemiologii
Curie-Skłodowskiej 9
85-094 Bydgoszcz
tel. 052 585-36-16 (61), fax. 052 585-35-89
email: b.szczepanska@cm.umk.pl*