

7. STRESZCZENIE

Tetracykliny są powszechnie stosowanymi antybiotykami, o szerokim spektrum działania przeciwbakteryjnego. Ze względu na dużą uniwersalność, są często stosowane w leczeniu zwierząt. Nadmierne używanie tetracyklin doprowadziło do wytworzenia wśród bakterii mechanizmów oporności na te antybiotyki. Wyróżniamy 3 główne mechanizmy oporności na tetracykliny: aktywne usuwanie leku z komórki (aktywny efluks), ochronę rybosomu przed działaniem antybiotyku oraz chemiczną inaktywację tetracykliny. Każdy z tych mechanizmów jest kodowany przez geny oporności na tetracykliny (*tet*). Geny te, gdy występują na plazmidach, mogą się rozprzestrzeniać pomiędzy bakteriami w wyniku horyzontalnego transferu genów. Ponieważ tetracykliny są jednymi z najczęściej stosowanych antybiotyków w akwakulturze, oporność na nie może być powszechna wśród bakterii chorobotwórczych dla ryb.

W świetle powyższych informacji, podjęto badania mające na celu określenie wrażliwości bakterii chorobotwórczych dla ryb na antybiotyki tetracyklinowe oraz ustalenie, które geny oporności na tetracykliny występują wśród badanych szczepów. Celem badań było również oznaczenie wrażliwości badanych szczepów na antybiotyki i chemioterapeutyki należące do innych grup oraz środki dezynfekcyjne stosowane w akwarystyce.

Badanie przeprowadzono na 240 szczepach należących do rodzajów: *Aeromonas* (n = 150), *Shewanella* (n = 30), *Citrobacter* (n = 23), *Acinetobacter* (n = 15), *Plesiomonas* (n = 9), *Pseudomonas* (n = 8) i *Vibrio* (n = 4) izolowanych od chorych ryb akwariowych. Identyfikację gatunkową szczepów przeprowadzono wykorzystując spektrometrię mas MALDI-TOF.

Za pomocą reakcji PCR sprawdzono częstotliwość występowania sześciu genów *tet* (*tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE* i *tetM*) w genomowym i plazmidowym materiale genetycznym bakterii. Następnie określono wartości minimalnych stężeń hamujących (MIC) tetracykliny, oksytetracykliny, chlortetracykliny, doksycykliny i tygecykliny dla badanych szczepów. Wartości MIC wyznaczono również dla: zieleni malachitowej, siarczanu miedzi, błkitu metylenowego, nadmanganianu potasu, formaliny, nadwęglanu sodu, preparatu CMF, Virkonu, kwasu nadoctowego oraz nadtlenu wodoru. Tygecyklinę oraz środki dezynfekcyjne zastosowano tylko w przypadku szczepów opornych

na tetracykliny I i II generacji. Ostatnim etapem było określenie wrażliwości wszystkich szczepów na amikacynę, cefotaksym, chloramfenikol, ciprofloksacynę, enroflokacynę, florfenikol, flumechinę i gentamycynę metodą dyfuzyjno-krążkową.

W wyniku reakcji PCR stwierdzono, że najczęściej występującymi genami oporności spośród badanych, były geny *tetA* i *tetE*, ich obecność stwierdzono u 36,7% szczepów. Pozostałe geny oporności identyfikowano z następującą częstotliwością: *tetD* – 29,2%, *tetM* – 11,2%, *tetC* – 10,0% i *tetB* – 4,2%. Geny oporności były obecne zarówno w DNA genomowym, jak i plazmidowym.

W wyniku przeprowadzonych testów MIC stwierdzono, że 66,7% szczepów wykazało oporność na tetracyklinę, 67,1% na oksytetracyklinę, 42,5% na chlortetracyklinę i 32,1% na doksycyklinę. Wobec tygecykliny nie odnotowano szczepów opornych.

W wyniku przeprowadzonych testów MIC stwierdzono wrażliwość badanych szczepów na wszystkie zastosowane środki dezynfekcyjne.

Na podstawie pomiaru stref zahamowania wzrostu bakterii, stwierdzono największą wrażliwość na aminoglikozydy II generacji: amikacynę i gentamycynę. Szczepy wrażliwe dominowały także w przypadku chloramfenikolu, florfenikolu i cefotaksymu. Najmniej skuteczne okazały się fluorochinolony: flumechina, ciprofloksacyna i enroflokacyna.