

ZYGMUNT PEJSAK, KAZIMIERZ TARASIUK, JERZY MOLENDAA*

Lekowrażliwość bakterii wyizolowanych z chorobotwórczo zmienionych płuc świń

Zakład Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

*Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Rodakowskiego 6, 50-966 Wrocław

Pejsak Z., Tarasiuk K., Molenda J.

Drug sensitivity of bacteria isolated from pathologically changed lungs of pigs

Summary

The antibiotic sensitivity of bacteria isolated – during 1994-1996 – from lungs was determined for: 136 strains of *Actinobacillus pleuropneumoniae*; 302 strains of *Pasteurella multocida*; 237 strains of *Streptococcus suis*; 228 strains of *Salmonella* sp., as well as 723 strains of *E. coli* to tetracycline, oxytetracycline, benzylpenicillin, amoxycillin, streptomycin, tylosin, lincospectin, tiamulin and enrofloxacin. Biological materials used for analysis were collected from different regions of Poland.

The results of the study indicated that more than 95% of *A. pleuropneumoniae* isolates were sensitive or moderately sensitive to tiamuline and amoxycyline. More than 30% of these isolates were resistant to streptomycin and tylosine.

Over 90% of *P. multocida* isolates were sensitive to amoxycyline, lincospectine, enrofloxacin, penicilline, tetracycline and tiamuline. Approximately 20% of *Pm* were resistant to streptomycine and tylosine. The analysis showed a relatively high level of resistance among *S. suis* isolates to tested antibiotics. More than 30% of these bacteria were resistant to oxytetracycline, streptomycine, lincospectine, tetracycline and tiamulin. A relatively low percentage of *S. suis* strains were resistant to amoxycyline, penicillin and enrofloxacin.

A high, increasing level, of resistance to routinely used chemotherapeutics was observed among isolates of *Salmonella* sp. More than 50% of these strains were resistant to streptomycine, oxytetracycline, tetracycline and tylosine; more than 30% of *Salmonellae* were resistant to tiamuline. All isolated strains of that genus were sensitive to enrofloxacin.

A very high level of resistance was observed among *E. coli* isolates. More than 60% of isolates were resistant to oxytetracycline, tetracycline, streptomycin and tylosine. A relatively high percentage of *E. coli* isolates were sensitive to enrofloxacin (84,8%) and lincospectine (77,5%).

Increased resistance to different chemotherapeutics was observed among *Salmonella* sp., *Streptococcus* sp. and *E. coli* strains.

Udział wielu czynników natury zakaźnej i pasożytniczej w etiopatogenezie schorzeń układu oddechowego świń stwarza niejednokrotnie trudności w ustaleniu najważniejszej przyczyny choroby. Dlatego też mimo dysponowania bardzo dobrymi szczepionkami, w niektórych sytuacjach stosowanie chemioterapeutyków jest obok poprawy warunków środowiskowych, jedyną uzasadnioną ekonomicznie drogą postępowania lekarsko-weterynaryjnego.

Niestety, proces opracowywania nowych generacji antybiotyków jest niezwykle trudny i kosztowny, w związku z czym coraz rzadziej wprowadzane są do stosowania w medycynie chemioterapeutyki nowe. Z drugiej strony obserwuje się dość szybkie narastanie genetycznie uwarunkowanej lekooporności wśród flory bakteryjnej środowiska hodowlanego (4, 10).

Rezultatem powyższego jest potęgująca się trudność wyboru antybiotyku, którego efektywność w danym środowisku będzie optymalna. Problem ten

wzrasta wraz z intensyfikacją produkcji zwierzęcej oraz nadużywaniem antybiotyków, w tym stosowaniem ich jako dodatku do pasz. Istotną przyczyną zmniejszania się lekowrażliwości bakterii są błędy w niełatwej sztuce doboru i stosowania leków, w tym niedoceniecie konieczności okresowego monitorowania *in vitro* antybiotykooporności bakterii izolowanych od zwierząt z określonego gospodarstwa, regionu czy kraju. Analiza wyników tego typu badań umożliwia uzyskanie informacji co do rozprzestrzenienia się bakterii opornych na dany antybiotyk w określonej populacji zwierząt.

Celem pracy była analiza wyników badań lekooporności bakterii izolowanych w latach 1994-1996 z chorobowo zmienionych płuc świń pochodzących z różnych regionów kraju.

Materiał i metody

Szczepy bakteryjne. Do badań użyto 136 szczepów *Actinobacillus pleuropneumoniae*, 302 szczepy *Pa-*

steurella multocida, 723 szczepy *E. coli*, 237 szczepów *Streptococcus sp.* oraz 228 szczepów *Salmonella sp.* izolowanych z tkanki płucnej świń padłych z klinicznymi objawami chorobowymi ze strony układu oddechowego.

Chemioterapeutyki. W analizie lekooporności badanych drobnoustrojów uwzględniono następujące chemioterapeutyki: tetracyklina, oksytetracyklina, penicylina, amoksycylina, streptomycyna, tylozyna, linkospektyna, tiamulina i enrofloksacyna.

Postępowanie. Izolacji wymienionych wyżej bakterii dokonywano z tkanki płucnej według uznanych i stosowanych powszechnie metod mikrobiologicznych. Wrażliwość *in vitro* wyosobnionych drobnoustrojów badano metodą krążkowo-dyfuzyjną na podłożu Müller-Hinton na według instrukcji producentów poszczególnych krążków z odpowiednimi chemioterapeutykami.

Dynamikę wzrostu lekooporności szczepów ustalono opierając się na pracy Rolińskiego i wsp. (17), w modyfikacji własnej, w skali wyrażonej przyrostem odsetka szczepów opornych i średnio wrażliwych.

Dynamikę wzrostu lekooporności określono jako: minimalną (–) w przypadku gdy przyrost odsetka szczepów opornych i średnio wrażliwych nie przekroczył 5%; nieznaczną (+–) gdy odsetek szczepów lekoopornych wzrósł do 10%; niską (+) – do 15% przyrostu szczepów lekoopornych; znaczną (++) – do 25% przyrostu szczepów lekoopornych; wysoką (+++) – powyżej 50% przyrostu szczepów lekoopornych.

Wyniki i omówienie

Wrażliwość badanych szczepów bakteryjnych na chemioterapeutyki przedstawiono w tab. 1 oraz na ryc. 1, 2, 3, 4 i 5.

Nie przypadkowo analizę lekooporności bakterii, izolowanych z płuc padłych z objawami ze strony układu oddechowego świń, rozpoczęto od drobnoustrojów z gatunku *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App). Wyniki badań prowadzonych w PIWet oraz w ZHW Wrocław wskazują bowiem, że bakterie te są aktualnie najczęstszą przyczyną nagłych zachorowań i padnięć warchlaków oraz tuczników z objawami chorobowymi ze strony układu oddechowego. Zjawisko to szczególnie często obserwuje się w chlewniach średnio- i wielkotowarowych. Jest interesujące, że na razie drobnoustroje te są wrażliwe na większość stosowanych chemioterapeutyków (13).

Sz szczególnie przydatne w leczeniu pleuropneumonii świń – wywołanej przez App – wydają się być: tiamulina – 96,8% szczepów wrażliwych oraz amoksycylina 95,5% i linkospektyna 94,5% szczepów wrażliwych. Uzyskane w omawianym zakresie wyniki są zgodne z rezultatami przedstawionymi przez zajmujących się tym zagadnieniem autorów zachodnioeuropejskich (3, 5, 6, 11, 19, 21). Wysoce celowe jest też stosowanie penicyliny. W ciągu 3 lat badań nie wyizolowano ani jednego szczepu opornego na ten antybiotyk.

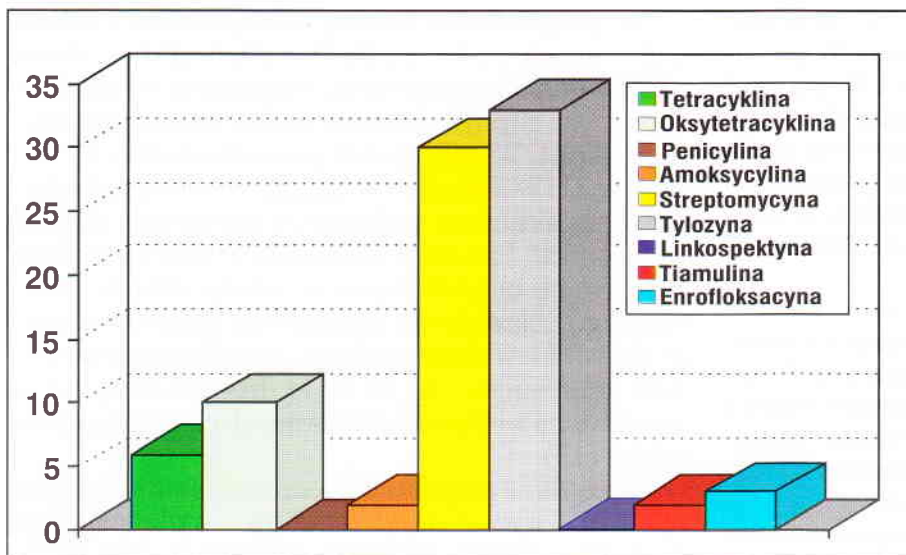
Można sądzić, że mało przydatne w terapii czy też chemioprophylaktyce pleuropneumonii świń są antybiotyki aminoglikozydowe – streptomycyna oraz tylozyna – ponad 30% izolowanych szczepów App było opornych na te leki.

Tetracyklina i oksytetracyklina są od wielu lat tradycyjnie stosowanymi antybiotykami w chorobach

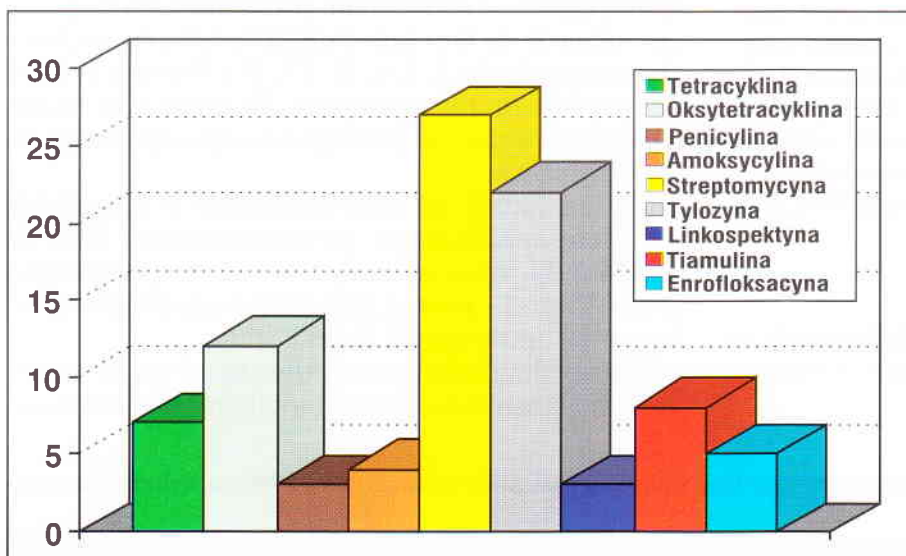
Tab. 1. Dynamika wzrostu lekooporności drobnoustrojów izolowanych z płuc świń w latach 1994-1996 na wybrane chemioterapeutyki

Chemioterapeutyk	Badane szczepy bakteryjne				
	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>Escherichia coli</i>
Tetracyklina	+–	–	+–	+++	+
Oksytetracyklina	+	–	+–	+++	–
Penicylina	–	–	+–	n.b.	n.b.
Amoksycylina	–	–	–	–	–
Streptomycyna	–	–	–	+++	+++
Tylozyna	–	–	–	+–	++
Linkospektyna	–	–	++	–	–
Tiamulina	–	+–	+	+	–
Enrofloksacyna	–	–	–	–	–

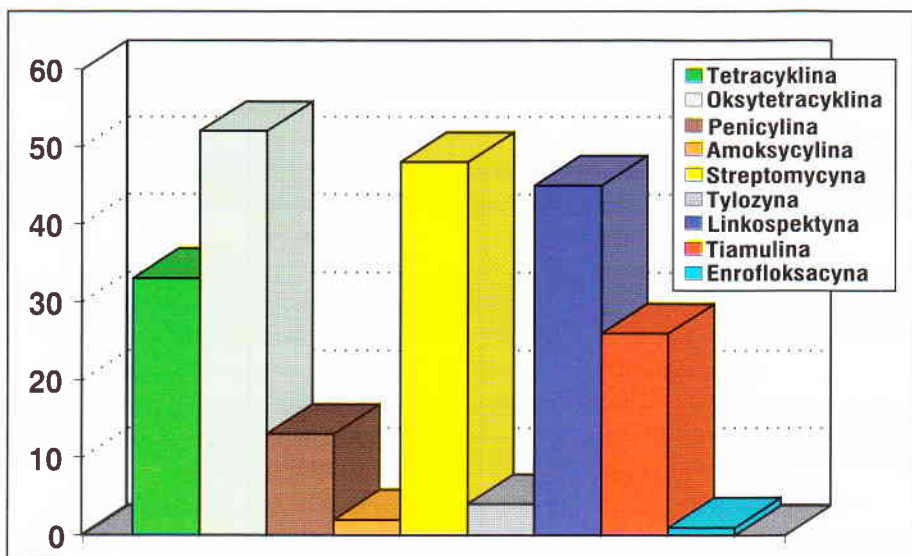
Objaśnienia: dynamika lekooporności: – minimalna, +– nieznaczna, + niska, ++ znaczna, +++ wysoka, n.b. nie badano.



Ryc. 1. Oporność szczepów *Actinobacillus pleuropneumoniae* wyizolowanych z płuc świń w latach 1994-1996 na wybrane chemioterapeutyki



Ryc. 2. Oporność szczepów *Pasteurella multocida* wyizolowanych z płuc świń w latach 1994-1996 na wybrane chemioterapeutyki



Ryc. 3. Oporność szczepów *Streptococcus sp.* wyizolowanych z płuc świń w latach 1994-1996 na wybrane chemioterapeutyki

bakteryjnych świń, co może częściowo wyjaśnić stosunkowo duży odsetek szczepów opornych na te leki. W piśmiennictwie jest wiele danych, świadczących zarówno o wysokiej aktywności obu tych antybiotyków jak również o dużym odsetku szczepów opornych na wymienione chemioterapeutyki (6, 11, 18, 21).

Najczęściej i stosunkowo najłatwiej izolowanym drobnoustrojem z tkanki płucnej jest *Pasteurella multocida* (Pm). Analizując antybiotykowrażliwość szczepów Pm izolowanych od świń (ryc. 2) zauważyć można, że ponad 90% izolatów wrażliwych było na amoksyacylinę. Ten sam antybiotyk został wskazany jako lek z wyboru przy zakażeniach pasterelami m.in. przez Azad i wsp. (1). W grupie preparatów w przypadku, których odsetek szczepów wrażliwych przekroczył 90% znalazły się ponadto: linkospektyna, enrofloksacyzna, penicylina, tetracyklina i tiamulina. Ponad 20% izolowanych pasterel było opornych na streptomycynę i tylozynę. Wśród dużej grupy szczepów Pm stwierdzono znaczny odsetek izolatów średnio wrażliwych. Wskazuje to na konieczność stosowania w terapii najwyższych, zalecanych przez producenta dawek leków.

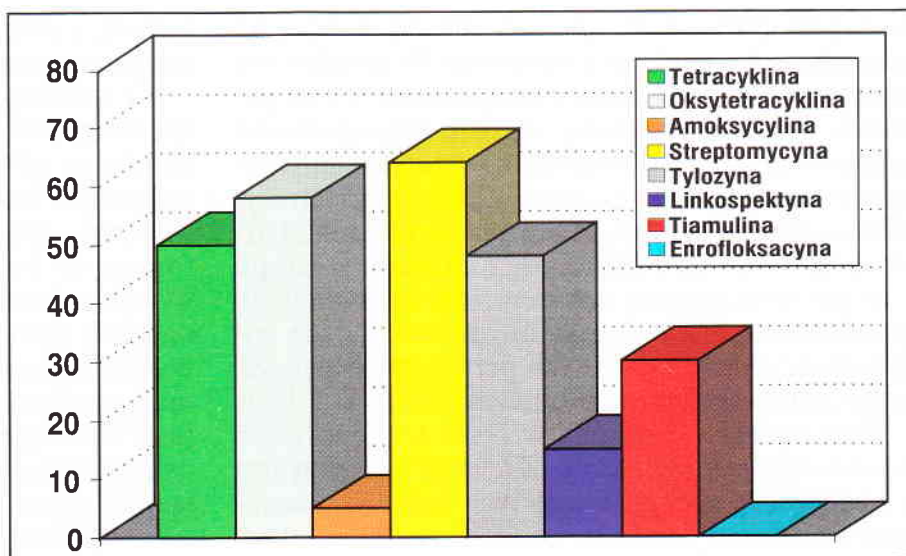
Stosunkowo wysoką lekooporność na badane chemioterapeutyki zarejestrowano wśród paciorkowców. Ponad 30% izolowanych z płuc szczepów *Streptococcus sp.* opornych było na oksytetracyklinę, streptomycynę, linkospektynę, tetracyklinę oraz tiamulinę (ryc. 3). Wysoka lekooporność paciorkowców na streptomycynę wykazana została już wcześniej m.in. przez Pejsaka i Tarasiuka (16). Warto zauważyć, że Jayaro i Oliver (9), analizując molekularne przyczyny lekooporności paciorkowców na tę grupę antybiotyków najprawdopodobniej jest determinowana przez plazmidy czy innego typu transposony. Najniższy odsetek omawianych bakterii był lekooporny na enrofloksacynę i amok-

sycylinę. Jednocześnie najwięcej (91,1%) izolowanych szczepów *Streptococcus sp.* wrażliwych było na amoksycylinę i penicylinę (83,1%), powyższa prawidłowość została stwierdzona m.in. przez Taylora (22). Można więc sądzić, że amoksycylina, penicylina oraz enrofloksacyna są lekami z wyboru w leczeniu zakażeń paciorkowcami.

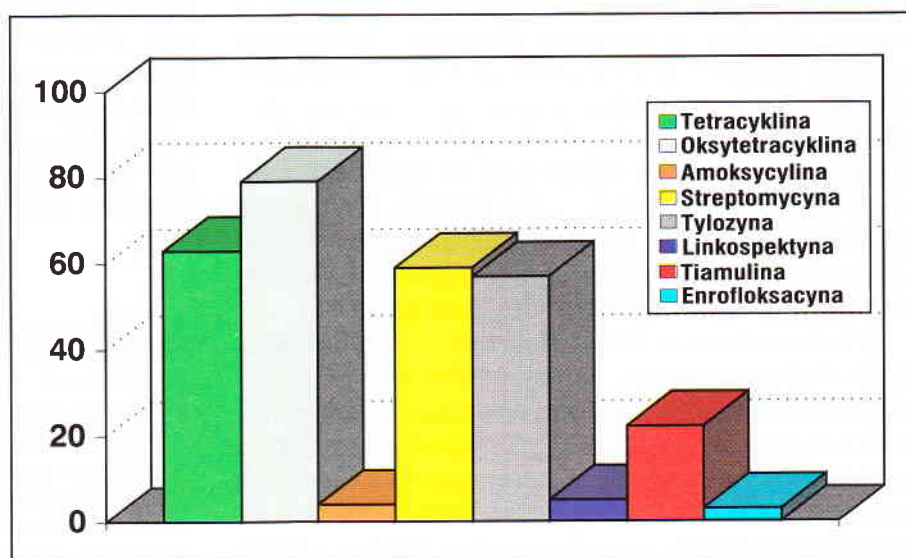
Niekorzystną sytuację w zakresie lekooporności, zarejestrowano w trakcie badania szczepów *Salmonella sp.* izolowanych z płuc (ryc. 4). W tym przypadku w odniesieniu aż do czterech testowanych antybiotyków (streptomycyna, oksytetracyklina, tetracyklina, tylozyna) odsetek bakterii lekoopornych przekroczył 50%. Ponad 30% izolowanych salmonel opornych było na tiamulinę. Zjawisko narastania oporności drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella* na stosowane powszechnie chemioterapeutyki sygnalizowane jest od wielu lat przez innych autorów (7, 12). Nie ma żadnych wątpliwości co do tego, że w okresie ostatnich trzech lat, a także aktualnie, lekiem z wyboru w terapii zakażeń salmonelami w populacji świń jest enrofloksacyna (15). W drugiej kolejności należałoby wymienić amoksycylinę.

Na fakt korzystnych właściwości farmakokinetycznych enrofloksacyny w terapii zakażeń salmonelami zwrócili uwagę m.in. Scheer i wsp. (20). Warto zauważyć, że mechanizm działania tego preparatu różni się od sposobu funkcjonowania innych chemioterapeutyków. W tym przypadku przyczyną blokowania możliwości namnażania się bakterii jest uszkodzenie, przez enrofloksacynę genomu komórki bakteryjnej poprzez blokadę działania enzymu gyrazy, która jest niezbędna w procesach replikacji komórkowego DNA bakterii.

Jakkolwiek liczba izolowanych z płuc świń, szczepów *E. coli* była najwyższa to w żadnym wypadku nie oznacza to, że bakterie te są najczęstszą przyczyną chorób układu oddechowego świń. Drobnoustroje te należy traktować jako zakażenie wtórne, do którego dochodzi na skutek septicemii mającej miejsce w agonii zwierzęcia lub zanieczyszczenia materiału diagnostycznego w trakcie jego pobierania i transportu do laboratorium. Wykazano (ryc. 5),



Ryc. 4. Oporność szczepów *Salmonella sp.* wyizolowanych z płuc świń w latach 1994-1996 na wybrane chemioterapeutyki



Ryc. 5. Oporność szczepów *E. coli* wyizolowanych z płuc świń w latach 1994-1996 na wybrane chemioterapeutyki

że ponad 60% izolowanych z płuc pałeczek okrężnicy opornych było na oksytetracyklinę, tetracyklinę, streptomycynę oraz tylozynę. Wcześniejsze badania własne (14) wskazywały na dużą lekooporność szczepów *E. coli* na tetracyklinę i streptomycynę. Stosunkowo duży odsetek *E. coli* wrażliwy był na enrofloksacynę (84,8%), i linkospektynę (77,5%).

Przedstawiając zagadnienie dynamiki wzrostu lekooporności poszczególnych rodzajów bakterii na badane chemioterapeutyki (tab. 1) należy zastrzec, że prezentowane rezultaty winny być traktowane jako wstępne i fragmentaryczne, co wiąże się z czasokresem badań – tylko trzy lata – oraz stosunkowo niedużą jak na ten typ obserwacji liczbę użytych szczepów bakteryjnych. Zdając sobie sprawę z powyższych uwarunkowań, warto zwrócić uwagę na szczególnie dużą dynamikę wzrostu lekooporności

szczepów *Salmonella sp.*, a w dalszej kolejności paciorkowców i pałeczek okrężnicy. W zasadzie nie obserwowano narastania lekooporności wśród pasterel. Wysoką dynamikę wzrostu lekooporności rejestrowano przede wszystkim w grupach antybiotyków starej generacji – tetracyklina, chlortetracyklina i streptomycyna. Wskazuje to na coraz bardziej ograniczoną przydatność tych leków w terapii i chemioprophylaktyce zakażeń świń salmonelami, paciorkowcami i pałeczkami okrężnicy oraz konieczność stosowania w tych przypadkach najwyższych, zalecanych przez producentów dawek leków.

Fakt wysokiej dynamiki wzrostu lekooporności wśród salmonel i pałeczek okrężnicy związany jest z obecnością w cytoplazmie tych bakterii plazmidów transferowych, które charakteryzują się autonomiczną replikacją, zdolnością do rekombinacji i mutacji i mogą determinować oporność na jeden lub kilka antybiotyków. Niektóre z genów wchodzących w skład plazmidów transferowych zawierają w swoim składzie dodatkowy element – resistance transfer factor – czynnik przekazywania oporności, który warunkuje przekazywanie oporności innym – wrażliwym na określony antybiotyk komórkom bakterijnym. Proces ten odbywa się na drodze koniugacji (10). Warto zdawać sobie sprawę, że opisane zjawisko spotykane jest szczególnie często wśród szczepów rodziny *Enterobacteriaceae* do której należą m.in. salmonelle i pałeczki okrężnicy.

Przedstawiając rezultaty lekooporności izolowanych drobnoustrojów, należy podkreślić, że badania zostały przeprowadzone w warunkach *in vitro*. Fakt ten winien być zawsze brany pod uwagę przez praktykujących lekarzy weterynarii. Wielu z nich uznaje wyniki badań antybiotykowrażliwości *in vitro* jednoznacznie, nie zdając sobie sprawy z faktu wielu uwarunkowań, które mogą wpływać na to, że rezultaty *in vivo* nie zawsze pokrywają się z wynikami wskazywanego przez laboratorium kierunku antybiotykoterapii.

Nie rozważając ważnej w tym miejscu różnicy w zakresie pojęć „wrażliwość” i „oporność” (23), należy zwrócić uwagę na zależne od człowieka przyczyny nie pokrywania się wyników *in vitro* i *in vivo*. Przede wszystkim warto zdawać sobie sprawę z faktu, że określanie lekooporności nie jest badaniem tak prostym jak to się może wydawać i winno być przeprowadzane jedynie w bardzo dobrze wyposażonych laboratoriach najlepiej, przez specjalistów, których określamy mianem – mikrobiolodzy kliniczni. Dla prawidłowego badania oraz właściwej interpretacji wyników konieczna jest dobra współpraca między mikrobiologiem, mikrobiologiem klinicznym i klinicystą, którym w omawianym przypadku jest praktykujący lekarz weterynarii. Konieczne jest ponadto przynajmniej okresowe monitorowanie współzależności między wynikami wskazań labora-

torium, a efektami klinicznymi „zalecanego” przez nie postępowania.

Na korelację między wynikami badania antybiotykowrażliwości *in vitro* a efektywnością wskazanego leku *in vivo* może też mieć wpływ prawidłowość wykonania badań bakteriologicznych. Warto zdawać sobie sprawę z faktu, że dla wykrycia wielu patogennych bakterii konieczne jest dysponowanie wysoce selektywnymi podłożami bakteryjnymi, a niekiedy nawet liniami komórkowymi. Laboratoria niedoinwestowane i „słabe” niejednokrotnie nie mają możliwości wykrycia specyficznej, patogennej flory bakteryjnej wywołującej chorobę i badają antybiotykowrażliwość bakterii, powszechnie występujących, często przypadkowo wyizolowanych, które niekoniecznie są zasadniczą przyczyną zachorowań. Analiza lekooporności tych drobnoustrojów jest mało przydatna z punktu widzenia lekarza praktyka, który oczekuje miarodajnych wyników badań mikrobiologicznych. Powyższe uwidacznia konieczność dbania o jak najwyższy poziom pracowni bakteriologicznych, z drugiej zaś strony wskazuje, że tylko korzystanie z usług uznanych laboratoriów kierowanych przez specjalistów stwarza szansę, by wyniki badań *in vitro* znajdowały swoje odzwierciedlenie w rezultatach *in vivo*.

Piśmiennictwo

1. Azad A., Coote J., Parton R.: J. Gen. Microbiol. 138, 1185, 1992.
2. Blackburn B. D., Schlater L. K.: Am. J. Vet. Res. 45, 1245, 1984.
3. Christensen F.: Proc. IPVS Congress, Bangkok, Thailand, 1994, s. 322.
4. Ciosek D., Osek J.: Medycyna Wet. 40, 335, 1984.
5. Gutierrez C., Piriz S., Vadillo S., Ferri E.: Am. J. Vet. Res. 54, 546, 1993.
6. Hommez J., Devriese L., Cassimon P., Castryk F.: Vlaams Diergeneesk. Tijdschr. 57, 46, 1988.
7. Hsu F. S., Chuech L.: Chinese J. Microbiol. Immunol. 16, 283, 1983.
8. Inoue A., Yamamoto K., Hirano N.: Jpn. J. Vet. Sci. 46, 175, 1984.
9. Jayaro B., Oliver S.: J. Dairy Sci. 75, 991, 1992.
10. Kondracki M.: Wpływ skojarzonego stosowania chemioterapeutyków na oporność i biocenozę wybranych bakterii przewodu pokarmowego młodych zwierząt. Praca habil., Inst. Weterynarii, Puławy 1982.
11. Libal M., Gates C. E.: J. Am. Vet. Med. Assoc. 180, 398, 1982.
12. Lintermans P., Pohhl P.: Ann Rech. Vet. 14, 412, 1983.
13. Nicolet J.: Actinobacillus pleuropneumoniae, w: Diseases of Swine, red. A. D. Leman, The Iowa State University Press, Ames, Iowa U.S.A., 1992.
14. Pejsak Z., Tarasiuk K., Giedroń A., Rudy A., Czajkowska A.: Medycyna Wet. 42, 100, 1986.
15. Pejsak Z., Tarasiuk K., Hoszowski A.: Medycyna Wet. 46, 381, 1990.
16. Pejsak Z., Tarasiuk K., Sadoch L.: Medycyna Wet. 45, 525, 1989.
17. Roliński Z., Wlazł P., Kowalski C., Pacholczyk S.: Medycyna Wet. 50, 65, 1994.
18. Sanford A. E., Josephson K. S.: Can. J. Comp. Med. 45, 2, 1981.
19. Shimizu M., Kuninori K., Sakano T.: Jpn. J. Vet. Sci. 44, 359, 1982.
20. Scheer M., Bauditz R., Linke H.: Proc. IPVS Congr. Barcelona, 1996, s. 458.
21. Stipkovits L., Miller D. J.: Proc. IPVS Congress, Bangkok, Thailand, 1994, s. 181.
22. Taylor D. J.: Pig Diseases. The Burlington Press. Cambridge, 1990.
23. Woolcock J. B., Mutimer M. D.: Vet. Rec. 113, 125, 1983.