

JAN CHWALIBÓG, TERESA KOZŁOWSKA, KRYSZYNA LISOWSKA

Porównawcza ocena oporności na antybiotyki niektórych chorobotwórczych dla zwierząt szczepów bakteryjnych wyizolowanych w latach 1961/62 i 1966/67

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Gorzowie Wlkp.
Kierownik: dr J. CHWALIBÓG — samodzielny pracownik naukowo-badawczy

Oznaczanie stopnia wrażliwości, na antybiotyki, chorobotwórczych szczepów bakteryjnych, od kilku lat weszło w zakres rutynowych usług Zakładów Higieny Weterynaryjnej dla terenu. Fachowe piśmiennictwo lat ostatnich, tak krajowe jak zagraniczne, przynosi wiele publikacji na ten temat.

Przedłożona praca jest kontynuowaniem badań, wykonanych w tutejszym Zakładzie w latach 1961/62 (Chwalibóg 3, 4) i założeniem jej było sprawdzenie czy w czasie, który upłynął między dwoma seriami badań, nie zaszły uchwytne zmiany we wrażliwości na antybiotyki u najczęściej izolowanych, chorobotwórczych szczepów bakteryjnych.

Material i metody

Badaniu poddano szczepy bakteryjne izolowane w okresie od 1.I.1966 do 30.IX.1967 r. Stopień wrażliwości na antybiotyki szczepów bakteryjnych określono, najczęściej stosowaną, metodą krążkową. Krążki produkcji Warszawskiej Wytwórni Surowic i Szczepionek, metodyka badania ściśle dostosowana do wskazań wytwórni. Ponadto, w drodze ankiety, zebrano opinie terenowych lekarzy weterynaryjnych co do skuteczności najczęściej stosowanych antybiotyków i porównano wyniki terenowe z oznaczeniami *in vitro*.

Wyniki

Rodzaje przebadanych szczepów oraz gatunki zwierząt, z których zostały izolowane podaje tabela 1.

Tab. 1. Wykaz ilościowy zbadanych szczepów bakteryjnych oraz zwierząt, z których zostały izolowane

Zwierzęta	Izolowane szczepy									RAZEM	
	Pat. okrężnicy	Salmonelle	Pasterelle	Paciorkowce	Bronkowce	Miosk. różycy	Dwoinki	Maczugowce	Pateczkaropy błękitnej		Listeria
Bydło	27	4	1	3	3			3	1		42
Swinie	50	45	43		2	20			3		163
Owce	1		3	3	1		1	1	1	1	12
Futerkowe	3	3	1	2					1		10
Drób	2	1	1		1						5
RAZEM	83	53	49	8	7	20	1	4	6	1	232

W tabeli 2 przedstawiono porównawczo, w wartościach procentowych, wyniki uzyskane w obu seriach badań.

Z porównania, uzyskanych w obu seriach badań wartości określających wrażliwość ba-

danych szczepów bakteryjnych na użyte antybiotyki, wynika że:

1. *E. coli* wykazują prawie identyczne wartości w stosunku do chloramycetyny. W oznaczeniach z 1966/67 stwierdzono obniżenie procentu szczepów wrażliwych, zwiększenie średnio i słabo wrażliwych oraz pojawienie się szczepów opornych, w stosunku do streptomycyny.

Ponadto zaobserwowano zmniejszenie się wrażliwości na tetracykliny.

2. Notowano obniżenie odsetka szczepów *S. typhimurium* wrażliwych na streptomycynę i chloramycetynę na korzyść średnio i słabo wrażliwych. Odwrotne zjawisko spostrzegano w stosunku do tetracykliny. Nie stwierdzono szczepów opornych, a wzrósł poważnie procent szczepów wrażliwych i średnio wrażliwych.

3. Szczepy *S. choleraesuis* w stosunku do tetracyklin wykazały podobne wartości. Wystąpiły pewne przesunięcia w kierunku większej wrażliwości na streptomycynę i chloramycetynę.

4. Wrażliwość na antybiotyki pałeczek *Pasteurella multocida*, w obu seriach badań, utrzymywała się na bardzo zbliżonym poziomie.

5. Podobne wyniki otrzymano przy oznaczeniach dla *Erysipelothrix insidiosus* z tym, że w latach 1966/67 stwierdzono pojawienie się szczepów opornych na chloramycetynę i terramycynę.

6. Pałeczki *Pseudomonas aeruginosa* wykazały nadal wrażliwość jedynie na streptomycynę.

Dane dotyczące stosowania antybiotyków w leczeniu i osiągniętych dzięki nim efektów, uzyskane z 11 ankiet, pozwalają przyjąć, iż stosowane na tutejszym terenie antybiotyki można uszeregować następująco:

1) do ogólnie używanych, przez wszystkich ankietowanych lekarzy weterynaryjnych antybiotyków, należą: penicylina, streptomycyna, chloramycetyna i terramycyna,

2) niektórzy stosują aureomycynę, tetracyklinę, a tylko nieliczni debecylinę, tarchocynę i kolicynę.

Badania porównawcze dotyczące wrażliwości *in vitro* i skuteczności leczniczej *in vivo* przeprowadzono tylko dla ogólnie stosowanych antybiotyków. Tu należy zaznaczyć, że w przeważającej większości wypadków, leka-

Tab. 2. Porównanie wyników z lat 1961/62 i 1966/67.

Szczepy bakteryjne			Antybiotyki stopień wrażliwości podany w %																			
			Penicylina				Streptomycyna				Terramycyna				Tetracyklina							
			+++	++	+	0	+++	++	+	0	+++	++	+	0	+++	++	+	0				
E. coli	28	1961/2	-	-	-	100.0	40.9	50.0	9.1	0	27.2	50.0	4.5	18.3	-	9.1	36.4	54.5	-	4.5	40.9	54.5
	83	1966/7	-	-	-	100.0	8.3	70.2	14.3	7.2	29.8	51.2	3.6	15.4	-	7.2	2.4	90.4	-	9.6	6.0	84.4
Styphimur.	3	1961/2	nie badano				100.0	-	-	-	100.0	-	-	-	-	-	67.0	33.8	-	-	67.0	33.0
	8	1966/7	-	-	-	100.0	-	50.0	50.0	-	50.0	50.0	-	-	-	50.0	25.0	25.0	-	50.0	50.0	-
Scholeresuis	13	1961/2	nie badano				-	38.4	15.3	46.3	53.8	46.2	-	-	15.4	15.4	30.7	38.5	-	38.5	23.0	38.5
	45	1966/7	-	-	-	100.0	4.2	12.7	68.2	14.9	91.4	8.6	-	-	72.1	27.9	-	70.4	25.1	4.5	-	-
Pasterella multocida	122	1961/2	nie badano				15.9	60.6	20.2	3.1	95.7	4.3	-	-	81.9	14.8	1.0	2.1	71.2	23.4	1.0	4.2
	49	1966/7	83.4	8.1	-	9.5	25.0	41.6	33.4	-	95.8	4.2	-	-	90.4	7.2	-	2.4	88.8	6.7	-	4.5
Erisipelotrix insidiosus	10	1961/2	91.4	4.3	-	4.3	17.4	73.9	8.7	-	30.4	56.5	13.1	-	60.8	39.2	-	-	52.2	47.8	-	-
	20	1966/7	100.0	-	-	-	20.0	70.0	10.0	-	20.0	75.5	-	5.0	63.1	10.5	5.2	21.2	84.2	10.5	5.3	-
Pseudomonas aeruginosa	7	1961/2	-	-	-	100.0	42.8	42.8	14.4	-	-	-	-	100.0	-	-	-	100.0	-	-	-	100.0
	6	1966/7	-	-	-	100.0	16.6	66.6	16.8	-	-	-	-	100.0	-	-	-	100.0	-	-	-	100.0

Legenda: +++ = wrażliwy, ++ = średnio wrażliwy, + = słabo wrażliwy, 0 = oporny

rze opracowujący ankietę, stosowali leczenie sterowane tzn. kierowali się w wyborze antybiotyku uprzednio oznaczoną *in vitro* wrażliwością.

Tab. 3. Porównanie stopnia skuteczności antybiotyków „in vivo” i stopnia wrażliwości „in vitro”

Choroby		Antybiotyki			
		Penicylina	Streptomycyna	Chloromycetyna	Terramycyna
Kolibakterioza	Teren	-	+	+++	++
	Labor.	-	++	++	-
Salmonelloza	Teren	-	+	+++	+
	Labor.	-	++	+++	+++
Pastere-loza	Teren	+	+	+++	+
	Labor.	+++	++	+++	+++
Różycy	Teren	+++	++	brak danych	++
	Labor.	+++	++	++	+++
Zakażenia paciorkow.	Teren	+++	+	+	+++
	Labor.	++	-	++	+

Legenda: +++ = wrażliwy, ++ = średnio wrażliwy, + = słabo wrażliwy, - = niewrażliwy.

W badaniach laboratoryjnych podano stopień wrażliwości stwierdzony u największej ilości zbadanych szczepów. Wrażliwość = skuteczność.

Wynika z niej, iż jedynie w stosunku do chloromycetyny oceny skuteczności terenowej i wrażliwości oznaczonej laboratoryjnie, są prawie identyczne. Zbliżone wartości wykazują penicylina i streptomycyna. Najbardziej zróżnicowane wyniki otrzymano przy terramycynie. Poza tym z nadesłanych ankiet wynioskować można było, że penicylina daje obecnie słabsze wyniki albo nawet zawodzi przy leczeniu różycy, a przy kolibakteriozie i enzootycznej bronchopneumonii cieląt najbardziej skuteczna jest chloromycetyna (10, 12).

Omówienie

Według Sonnecka (13) oporność bakterii na antybiotyki podzielić można na a) wrodzoną — naturalną jak np. pałeczek gram-ujemnych na penicylinę, b) nabytą, pojawiającą się w trakcie kontaktu zarazka z antybiotykiem *in vivo* lub *in vitro*. Pierwsza ma charakter stały i polega na wytwarzaniu przez bakterie fermentów skierowanych przeciw pewnym antybiotekom. Predysponującym momentem może tu być zbyt niskie dawkowanie antybiotyku. Oporność powstała *in vitro* jest mniej trwała i ma inne podłoże.

Truszczyński (15) omawiając sposoby i przyczyny pojawiania się szczepów bakteryjnych opornych na antybiotyki, podkreśla rolę, obok zmienności typu selekcyjnego, tak zwanej „zakaźnej oporności”, opisaną przez badaczy japońskich, a polegającą na przekazywaniu cechy oporności przez chromatynowe epizomy z jednej komórki bakteryjnej na drugą nawet różną gatunkowo czy rodzajowo. Ten rodzaj nabytej oporności może wywrzeć w przyszłości poważny wpływ na wyniki leczenia antybiotykami.

Doniesienia krajowych badaczy (5, 6, 8, 15) dotyczące oznaczania wrażliwości na antybiotyki uwzględnionych w niniejszej pracy szczepów bakteryjnych, przede wszystkim pałeczki okrężnicy, salmoneli, włośkowców różycy i pastereli, w większości pokrywają się z naszymi wynikami.

Wyraźne różnice występują w doniesieniach Malik (9) i Tarkiewicza (14) przy badaniu wrażliwości szczepów *E. coli*, wyosobnionych z przypadków mastitis na tetracykliny, które w ich badaniach wykazywały wrażliwość na te antybiotyki (od +++ do +), natomiast w badaniach własnych większość szczepów była na nie oporna. Tu należy podkreślić, że przeważająca ilość badanych w tutejszej pracowni szczepów *E. coli* izolowana była z padłych świń pochodzących głównie z tuczarni przemysłowych gdzie często stosuje się mieszanki paszowe z antybiotykami oraz używa antybiotyków w lecznictwie. Hemsley (7) stwierdził

wzrost oporności na tetracykliny szczepów *E. coli* izolowanych od broilerów karmionych mieszankami z dodatkiem antybiotyków. Podobne obserwacje poczynili Czarnowski i Chyliński (5), którzy stwierdzili stałe wzrastanie ilości szczepów bakteryjnych opornych na antybiotyki. Na podkreślenie zasługują również różnice we wrażliwości na antybiotyki pałeczek *Pseudomonas aeruginosa*. W badaniach własnych wykazano ich oporność na wszystkie użyte antybiotyki z wyjątkiem streptomycyny. Wojciechowska i wsp. (17) stwierdzili dość szeroki wachlarz wrażliwości tych szczepów na 6 antybiotyków (penicylina, streptomycyna, chloromycetyna, aureomycyna, terramycyna, erytromycyna).

Czarnowski i Chyliński (5) stwierdzili wrażliwość badanego przez siebie szczepu na wszystkie użyte antybiotyki.

Prawidłowość wyniku badania wrażliwości szczepów bakteryjnych na antybiotyki zależy od wielu czynników. Przy badaniach metodą krążkową, według Winklea (16) należy mieć na uwadze: pH i skład podłoża, tworzenie penicyliny, wielkość inoculum oraz czas i temperaturę inkubacji.

Anusz (1) podkreśla rolę wielkości inoculum mającego decydujący wpływ na wielkość strefy zahamowania wzrostu, oraz czasu inkubacji, który powinien być dostosowany do szybkości wzrostu na podłożu badanych bakterii. Wrażliwość szczepów bakteryjnych na antybiotyki określana *in vitro* nie zawsze pokrywa się z ich skutecznością stwierdzaną w lecznictwie. Przyczyny tego braku korelacji są liczne i skomplikowane. Między innymi wymienić tu można pojawianie się szczepów opornych na antybiotyki. Zmiany wystąpić mogą również w czasie izolacji i dalszych badań szczepu Anusz (2). Ten sam autor, jako przykład braku omawianej korelacji, przytacza zachowanie się wobec antybiotyków pałeczek *S. typhi*. *In vitro* wykazują one wrażliwość na wiele antybiotyków, *in vivo* natomiast lekiem z wyboru okazała się jedynie chloromycetyna. Obserwacje te pokrywają się z wynikami własnymi z porównania wrażliwości *in vitro* i skuteczności *in vivo* antybiotyków w stosunku do badanych szczepów *Salmonella* (tab. 3).

Skuteczność antybiotyku u leczonego zwierzęcia zależy ponadto od odpowiedniego dozowania preparatu, czasu działania, sposobu i miejsca podania, oraz stanu odpornościowego zwierzęcia. Przy porównawczej ocenie wyników laboratoryjnych i terenowych co do skuteczności danego antybiotyku musi się również mieć na uwadze, że laboratorium swą ocenę opiera na badaniach wyizolowanego szczepu w formie czystej, natomiast klinicysta może mieć do czynienia z mieszaną, chorobotwórczą florą bakteryjną o różnej wrażliwości na anty-

biotyki. Nie można też wykluczyć możliwości mylnego rozpoznania klinicznego. Praktyczne korzyści z oznaczania wrażliwości na antybiotyki chorobotwórczych szczepów bakteryjnych, odnosi terenowa służba weterynaryjna przeważnie w przypadkach enzootycznie przebiegających chorób i to w gospodarstwach wielko-stadnych. Przypadki indywidualnego stosowania tej metody badawczej są rzadkie i możliwe do wykonania przy chorobach przebiegających podostro i chronicznie. Otrzymany z placówki laboratoryjnej antybiotyrogram musi zostać oceniony przez terenowego lekarza weterynarii bardzo krytycznie, z uwzględnieniem zalet i wad antybiotyków wskazanych do zastosowania, praktycznych możliwości przeprowadzenia całej kuracji oraz momentów ekonomicznych związanych z kosztami preparatu w porównaniu z wartością zwierzęcia.

Wnioski

1. Stwierdzono wyraźne przesunięcia wrażliwości na tetracykliny. Zaobserwowano u *E. coli* wzrost szczepów opornych, a u *Salmonella* ich spadek. Inne, najczęściej izolowane szczepy bakteryjne, w obu seriach badań wykazały bardzo zbliżone wartości.
2. Chloromycetyna okazała się antybiotykiem wykazującym największą zbieżność wyników uzyskiwanych *in vitro* i *in vivo*.

Piśmiennictwo

1. Anusz Z.: Medycyna Wet. 18, 334, 1962.
2. Anusz Z., Graniński A., Narebski J.: Przegląd Epid. 14, 267, 1960.
3. Chwalibóg J.: Medycyna Wet. 18, 728, 1962.
4. Chwalibóg J., Zachaczeński J.: Biuletyn II Zjazdu PTNW, 1962.
5. Czarnowski A., Chyliński G.: Biuletyn III Zjazdu PTNW, 1966.
6. Damm A.: Medycyna Wet. 22, 422, 1966.
7. Hemsley R., Barnum D., Ingram D.: Medycyna Wet. streszcz. 695, 1967.
8. Kondracki M.: Medycyna Wet.: 23, 355, 1967.
9. Malik K.: Medycyna Wet. 19, 511, 1963.
10. Owadiuk Z.: Ankieta, 1967.
11. Scheuring W.: Ankieta, 1967.
12. Sobolski M.: Ankieta, 1967.
13. Sonneck A.: Tierärztl. Umschau, 21, 264, 1967.
14. Tarkiewicz S., Synowiedzki Z.: Biuletyn III Zjazdu PTNW, 1966.
15. Truszczyński M., Borkowska B., Ciosek D.: Medycyna Wet. 22, 264, 1966.
16. Winkle S.: Mikrobiolog. und serolog. Diagnostic. E. Fischer Verlag, Stuttgart, 1955.
17. Wojciechowski M., Suszko K., Rudnicka M.: XIV Zjazd PTM, 1959.

Adres autora: dr Jan Chwalibóg, Gorzów Wlkp., ul. Bohaterów Warszawy 4.

ABLASOW T. G.: Określenie ilości resztkowych fosfamidu w mięsie i mleku. (Opriedielenije ostatocnych koliczestw fosfamida w miasie i molokie). Wietierina-ria (Moskwa) 44, 5, 97—97, 1968.

Opracowano metodę cienkowarstwowej chromatografii fosfamidu w mięsie i mleku na tlenku glinu. Ustalono czułość metody (0,5 mcg fosfamidu) i sposób ekstrakcji fosfamidu z mięsa i mleka.

Stwierdzono, że u krów opryskanych 0,5% roztworem fosfamidu preparat ten wydzielą się w mleku przez 3—6 godzin. Po 2 godzinach występują już tylko jego metabolity.

T. J.