

JACEK KRÓLIŃSKI

Wrażliwość *Pseudomonas aeruginosa* na wybrane terapeutyki in vitro

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej we Wrocławiu

Szerokie zastosowanie w leczeniu antybiotyków, doprowadziło do selekcji i eliminowania ze środowiska szczepów bakteryjnych wrażliwych na te leki, w efekcie czego doszło do rozwoju populacji szczepów antybiotykoopornych. Schorzenia wywołane przez warunkowo chorobotwórczy drobnoustroj *Pseudomonas aeruginosa* leczą się na ogół trudno, co tłumaczone jest znaczną opornością tego zarazka (2) na działanie powszechnie stosowanych w praktyce weterynaryjnej antybiotyków. Celem pracy było określenie wrażliwości tego drobnoustroju in vitro na antybiotyki, sulfonamidy i wybrane chemoterapeutyki.

Materiał i metody

Badane szczepy *Pseudomonas aeruginosa* izolowano z wypłuczyn pochodzących z worka napletkowego buhajów klinicznie zdrowych. Badania wykonano w dwóch częściach:

1. Działanie hamujące rozwój drobnoustrojów przez antybiotyki i sulfonamidy, badano na powszechnie stosowanym podłożu (agar z dodatkiem odwiłknionej krwi baraniej), używając do tego celu krążków antybiotykowych i nasyconych sulfatiazolem produkowanych przez Wytwórnę Surowic i Szczepionek w Warszawie. Do badań używano czyste szczepy *Pseudomonas aeruginosa* uzyskane drogą przesiewów z prób wypłuczyn. Kroplę rozcieńczonej w stosunku 1:10 oraz 1:100 zawiesiny bakteryjnej umieszczano na płytce i rozprowadzano po jej powierzchni. Na posianej płytce umieszczano krążki i całość inkubowano przez okres 24 godzin w 37°C. Wrażliwość szczepu określano na podstawie pomiaru średnicy strefy zahamowania wg instrukcji podanej przez producenta.

2. Z substancji chemoterapeutycznych działających przeciwbakteryjnie zastosowano roztwory: Polleny-Jod M, biolugolu, biovalu, chloraminy, kwasu borowego, nadmanganianu potasu, nitrofurazonu, rivanolu, sterinolu i vagothylu. Wyzolowane szczepy *Pseudomonas aeruginosa* namnażano na bulionie zwykłym przez okres 24 godzin, inkubując je w warunkach tlenowych w 37°C. Po upływie tego czasu pobierano 0,1 ml zawiesiny bakteryjnej do sterylnej probówki i dodawano do niej 0,9 ml określonego stężenia danego środka bakteriobójczego. Zawartość probówki mieszano i po upływie 3, 5, 10, 20 minut pobierano z probówki eszą zawiesinę i przenoszono ją do probówki z bulionem zwykłym. Tak posiane próby inkubowano przy dostępie tlenu w temperaturze 37°C przez okres 24 godzin. Zmętnienie bulionu świadczyło o wzroście *Pseudomonas aeruginosa*, co kontrolowano robiąc posiew na podłożu stałe (agar z dodatkiem odwiłknionej krwi baraniej), materiału z ostatniej probówki, w której było zmętnienie oraz z pierwszej, w której nie zaobserwowano zmętnienia. Wyniki prób kontrolnych odczytywano po 24 godzinach inkubacji.

Wyniki

Wyniki badania wrażliwości *Pseudomonas aeruginosa* na powszechnie stosowane antybiotyki i sulfonamidy przedstawiono w tab. 1.

Tab. 1. Wyniki badania wrażliwości wyizolowanych szczepów *Ps. aeruginosa* na antybiotyki i sulfonamidy

Zastosowano	Rozcieńczenie zawiesiny bakteryjnej	Wrażliwość 50 szczepów na antybiotyki i sulfonamidy			
		+++	++	+	-
Chloramfenikol	1:10	0	6	5	39
	1:100	0	7	9	34
Erytromycyna	1:10	0	0	0	50
	1:100	0	0	0	50
Neomycyna	1:10	0	0	17	33
	1:100	0	0	23	27
Oxytetracycyna	1:10	0	0	0	50
	1:100	0	0	0	50
Penicylina	1:10	0	0	0	50
	1:100	0	0	0	50
Streptomycyna	1:10	12	34	3	1
	1:100	31	14	5	0
Sulfatiazol	1:10	15	34	1	0
	1:100	29	18	3	0

Objaśnienia: +++ = szczep wrażliwy; ++ = szczep średnio wrażliwy; + = szczep słabo wrażliwy; - = szczep oporny.

Świadczą one o małej wrażliwości *Pseudomonas aeruginosa* na antybiotyki. Na podstawie uzyskanych wyników ustalono, że z badanych antybiotyków jedynie streptomycyna hamuje wzrost pałeczki ropy błękitnej. Podobne wyniki uzyskał Patyra (3), który wykazał, że strepto-

Tab. 2. Działanie bakteriobójcze chemoterapeutyków na *Ps. aeruginosa*

Nazwa leku	Stężenie leku w %	Liczba badanych szczepów	% prób w których rozwój <i>Ps. aeruginosa</i> został zahamowany po			
			3 min.	5 min.	10 min.	20 min.
Biolugol	2,0	13	100	100	100	100
Bioval	0,5	12	0	0	0	0
	1,0	12	0	9,4	25	75
Chloramina	0,5	12	25	75	100	100
	1,0	12	75	100	100	100
Jod M Pollena	0,01	10	0	0	0	0
	0,02	10	40	50	70	70
Kwas borowy	1,0	10	0	0	0	0
	2,0	10	0	0	0	0
Nadmanganian potasu	0,05	12	41,7	50	50	58,4
	0,1	12	83,4	100	100	100
Nitrofurazon	0,05	5	0	0	0	0
Rivanol	0,05	12	0	0	0	9,4
	0,1	12	0	0	16,7	33,4
Sterinol	0,1	13	61,6	69,3	69,3	69,3
	0,5	13	69,3	69,3	64,7	92,4
Vagothyl	1,5	12	91,7	100	100	100
	2,0	12	100	100	100	100

mycyna działa hamująco na rozwój *Pseudomonas aeruginosa*. Przeprowadzone badania wykazały również, że podobne działanie wywiera na omawiany drobnoustrój sulfatiazol. Wyniki działania bakteriobójczego chemoterapeutyków były w dużej mierze uzależnione od stężenia roztworów oraz od czasu ich działania. Z danych zawartych w tab. 2 wynika, że najlepsze działanie bakteriobójcze wywierały roztwory 2% biolugolu, 2% vagothylu, 0,1% nadmanganianu potasu oraz 1% chloraminy. Po 5 minutach ekspozycji obserwowano bowiem zahamowanie wzrostu badanych szczepów w 100%. Słabsze działanie bakteriobójcze wywierały 0,1% roztwory sterinolu, 0,02% Polleny—Jod M oraz 1% roztwór biovalu. Po 20 minutach działania wymienionych terapeutyków, brak wzrostu *Pseudomonas aeruginosa* stwierdzano w 70% prób. Roztwór 0,1% rivanolu hamował wzrost jedynie 33,4% badanych szczepów. Nie stwierdzono natomiast działania bakteriobójczego na wyizolowane szczepy 2% roztworu kwasu bor-

nego oraz 0,05% roztworu nitrofurazonu. Podobnie negatywne wyniki w odniesieniu do nitrofurazonu uzyskał Anusz (1).

Wnioski

1. Badane szczepy *Pseudomonas aeruginosa* były wrażliwe na streptomycynę oraz na sulfatiazol. Na pozostałe antybiotyki drobnoustrój ten był słabo wrażliwy lub odporny.

2. Z badanych chemoterapeutyków najsilniejsze działanie bakteriobójcze na wyizolowane szczepy *Pseudomonas aeruginosa* wywierały roztwory: 2% biolugolu, 2% vagothylu, 0,1% nadmanganianu potasu oraz 1% chloraminy.

Piśmiennictwo

1. Anusz Z.: *Medycyna Wet.* 19, 514, 1963.
2. Kozłowski S.: *Medycyna Wet.* 27, 234, 1971.
3. Patyra W., Dąbrowski T., Kucharski B.: *Medycyna Wet.* 25, 167, 1969.

Adres autora: lek. wet. Jacek Króliński, ul. Komuny Pańskiej 63a/6, 50-452 Wrocław.

BOLESŁAW PAWLIK

Badania nad pojawianiem się i rolą przeciwciał anty-*Aspergillus fumigatus* u myszy białych

Z Zakładu Mykologii Instytutu Mikrobiologii AM w Krakowie

Szerokie rozpowszechnienie grzybów z rodzaju *Aspergillus* w przyrodzie (9, 10, 12) oraz częste stwierdzanie przeciwciał anty-*Aspergillus fumigatus* u znacznego odsetka zdrowych ludzi i zwierząt (5, 6, 7) wskazuje, że do pojawiania się tych przeciwciał dochodzi stosunkowo łatwo w wyniku zetknięcia się organizmu z konidiami *A. fumigatus*.

Celem pracy były badania nad pojawianiem się przeciwciał anty-*Aspergillus* wykrywanych odczynem flokulacyjnym u myszy białych uodpornianych różnymi metodami, a następnie próba oceny znaczenia stwierdzanych przeciwciał w odporności na zakażenie grzybami z rodzaju *Aspergillus*.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na materiale obejmującym 160 zdrowych myszy białych o wadze 20–30 g. Przed rozpoczęciem eksperymentu kontrolowano u zwierząt poziom przeciwciał. Z surowicami wszystkich dobranych do późniejszych badań myszy otrzymano wyniki ujemne odczynu flokulacyjnego z antygenem *A. fumigatus* (OF-A. *fumigatus*). Odczyn ten zastosowany w badaniach do wykrywania przeciwciał anty-*Aspergillus* wykonywano według metodyki podanej przez Doleżalą i Doleżalową (5, 6).

Do badań użyto 10 szczepów *A. fumigatus* izolowanych z przypadków chorobowych (AJ-16/72, BW-19/72,

SH-27/72, BW-28/72, HA-38/72, KK-43/72, SJ-58/72, ŻJ-59/72, JS-60/72, PE-79/72).

Badania wykonano w dwóch etapach:

I etap — badania nad pojawianiem się przeciwciał anty-*Aspergillus fumigatus* u myszy białych.

Zastosowano trzy drogi wprowadzania spor *A. fumigatus* do organizmu myszy; dootrzewnową — typowo laboratoryjną oraz donosową i pokarmową — zbliżone do spotykanych w przyrodzie.

Używano zawiesiny zawierającej 50 konidiów w polu widzenia mikroskopu przy powiększeniu 600×. Dootrzewnowo i donosowo zawiesinę konidiów w płynie fizjologicznym wprowadzano 3-krotnie w odstępach 3 dniowych w ilości 0,05 ml. Przy zakażeniu drogą pokarmową zawiesinę spor w wodzie podawano myszom do picia przez okres 10 dni.

Po 28 dniach od rozpoczęcia eksperymentu pobierano krew z serca od zwierząt znajdujących się w narkozie. Poziom przeciwciał kontrolowano przy pomocy OF-A. *fumigatus*.

II etap — badania nad rolą ochronną przeciwciał anty-*Aspergillus fumigatus*.

Grupę doświadczalną stanowiły myszy białe, u których w wyniku podania spor *A. fumigatus* stwierdzano przeciwciała anty-*Aspergillus*. W grupach kontrolnych użyto zwierząt nieuodpornionych z ujemnym OF-A. *fumigatus*.

Do zakażenia używano zawiesiny 200 konidiów w polu widzenia mikroskopu przy powiększeniu 600×. Zawiesinę podawano zwierzętom donosowo w jednorazowej dawce 0,1 ml.

Ze względu na różną podatność na zakażenie *A. fumigatus* związaną z osobniczą odpornością stwierdza-