

KAZIMIERZ BUKOWSKI, EWA SITARSKA

Cechy wrażliwości na Detreomycynę szczepów *E.coli* izolowanych z różnych przypadków kolibakteriozy prosiąt

Katedra Fizjopatologii Wydziału Weterynarii SGGW
w Warszawie

Kierownik: doc. dr J. MAZURCZAK

Badanie wrażliwości drobnoustrojów na antybiotyki-chemioterapeutyki wynika z potrzeby posiadania w leczeniu skutecznej broni w zwalczaniu chorób zakaźnych.

Z punktu widzenia zastosowania określonego antybiotyku pożądanym jest, ażeby oporność pojawiała się jak najpóźniej, a wpływ tego antybiotyku miał jak najszerszy zasięg działania na florę bakteryjną.

Z dotychczasowych doniesień wielu autorów (1, 2, 4, 5, 7, 9) wynika, że chloramfenikol (polska — Detreomycyna) jest obecnie stosowany jako preparat z wyboru w leczeniu kolibakteriozy zwierząt domowych. Wśród izolowanych z różnych przypadków kolibakteriozy szczepów *E. coli* występują również odporne. Wg Dobrzańskiego (4) oporność oznacza obniżoną, w mniejszym stopniu lub większym, wrażliwość komórek bakteryjnych w porównaniu z wrażliwością komórek lub populacji komórek rodzicielskich drobnoustroju. Brock i wsp. (1) oraz Merkel i wsp. (10) wzrost oporności na chloramfenikol u *E. coli* przypisują utracie antygeny rzęskowego. Natomiast Kondracki (5), Koichi i wsp. (6), Tereszczuk i wsp. (12) w swoich publikacjach podają, że nie zaobserwowali korelacji pomiędzy budową antygenową, a wrażliwością *E. coli* na Detreomycynę jednak badania ich dotyczyły różnic we wrażliwości pomiędzy serotypami *E. coli* na ten antybiotyk. Innym zagadnieniem jest pojawienie się form opornych na antybiotyk. Mogą one powstawać samorzutnie lub pod wpływem indukcji długotrwałym lub jednorazowym podaniu antybiotyku. Charakter oporności może być uzależniony od wzrostu koncentracji metabolitu konkurującego z antybiotykiem lub enzymu rozkładającego lek, od zmiany zapotrzebowania na produkty zablokowanego systemu enzymatycznego, od zmniejszonej przepuszczalności komórki w stosunku do inhibitora. Jednak antybiotyki działają nie tylko na same komórki bakteryjne, ale działają również na endo i egzotoksyny np. lewomycetyna wykazuje antytoksyczne działanie, zarówno w stosunku do endotoksyny z bakterii opornych na ten antybiotyk, jak i wrażliwych. Przy próbach wyjaśnienia terapeutycznego działania antybiotyku przy zatruciach endotoksynami należy brać także takie możliwości jak wiązanie endotoksyny z antybiotykiem w organizmie zwierzęcym, oddziały-

Katedra Mikrobiologii Wydziału Weterynarii SGGW
w Warszawie

Kierownik: prof. dr J. BRILL

wanie poprzez obniżenie wrażliwości organizmu na endotoksynę oraz zniszczenie czy zmniejszenie patogennej lub nawet saprofitycznej flory bakteryjnej, która jest zdolna wywołać bakteriemie przy intoksykacji endotoksyną. W przypadkach zatruc zwierząt toksyną gronkowcową i błoniczą, po zastosowaniu niektórych antybiotyków przeżywanie zwierząt doświadczalnych dochodziło do 100%. W przypadku podania toksyny tężcowej do 82%. Na podstawie tych doświadczeń stwierdzono, że antybiotyki mają właściwości zmniejszania efektów hemolitycznych, nekrotycznych i letalnych toksyny (11). Biorąc przytoczone dane postanowiono przeanalizować wpływ Detreomycyny *in vivo* i *in vitro* na częstotliwość pojawiania się beta-hemolitycznych *E. coli* w trakcie leczenia, powstawania oporności na Detreomycynę w trakcie leczenia oraz występowania różnego stopnia oporności u szczepów opornych.

Materiał i metody

Przedmiotem badań były szczepy *E. coli* izolowane z materiału od chorych na różne formy kolibakteriozy prosiąt. Zwierzęta badano bakteriologicznie przed podaniem Detreomycyny, w trakcie leczenia i po leczeniu. Wymazy pobierano z odbytnicy posiewano na agar z krwią barania, na podłożu Levina. Następnego dnia izolowano hemolityczne kolonie na agar z krwią i na krótki szereg izolacyjny służący do różnicowania biochemicznego przedstawicieli rodziny *Enterobacteriaceae*. Szczepy, które nie dawały hemolizy, a na podłożu Levina wykazywały cechy *E. coli* posiewano również na szereg izolacyjny. Miało to znaczenie w szczególności po wyleczeniu, kiedy szczepy beta-hemolityczne ustępowały miejsca szczepom *E. coli* niehemolitycznym. Wszystkie szczepy *E. coli* beta-hemolityczne jak nie hemolityczne były poddawane badaniu na wrażliwość w stosunku do Detreomycyny metodą krążkową. W przypadku szczepów opornych dla ustalenia stopnia wrażliwości stosowano metodę seryjnych rozcieńczeń.

Wyniki i omówienie

W posiewach na agarze z krwią wykonanych przed leczeniem w 80% przypadków stwierdzono prawie zawsze wzrost czystej kultury beta-hemolitycznych *E. coli*. Od momentu zastosowania Detreomycyny w leczeniu z reguły można było wykazać tylko w pojedynczych przypadkach kolonie beta-hemolityczne oraz mieszaną florę bakteryjną. Często pojawiały się szczepy *E. coli* niehemolityczne. Występowanie beta-hemolitycznych *E. coli* zmniejszało się

do około 30%. Można to przypisać korzystnemu wpływowi antybiotyku — Detreomycyny.

Dla określenia częstotliwości pojawiania się oporności na stosowany preparat wybrano grupę 25 zwierząt od których przed leczeniem i po leczeniu izolowano beta-hemolityczne *E. coli*.

Wyniki tego badania przedstawia tab. 1.

Tab. 1. Różnice stopnia wrażliwości beta hemolitycznych *E. coli* na Detreomycynę, przed i po leczeniu

Przed leczeniem		Po leczeniu	
stopień wrażliwości	ilość szczepów	stopień wrażliwości	ilość szczepów
+++++	3	+++++	0
++++	5	++++	3
+++	3	+++	5
++	1	++	1
+	13	+	16
Razem:	25		25

Z zamieszczonych w tab. 1 danych wynika, że po przeprowadzeniu leczenia ilość opornych szczepów zwiększyła się o 12%. Jest to wzrost nieznaczny nie wpływający ujemnie na ocenę zastosowanego preparatu w badaniach. Na uwagę zasługuje duży odsetek opornych *E. coli* wyizolowanych przed leczeniem bo aż 50%. Mimo tak dużego odsetku szczepów opornych wynik leczenia był pozytywny. Zarysowuje się tu pozorna tylko sprzeczność między badaniami *in vitro* i *in vivo*, gdyż w badaniu *in vitro* uwzględnia się tylko wrażliwość szczepów, bez oceny wpływu antybiotyków na endo i egzotoksyny. Natomiast *in vivo* mamy do czynienia z oddziaływaniem antybiotyku zarówno na komórki bakteryjne jak i na toksyny produkowane przez drobnoustroje co jest zgodne z danymi Obojskiej i wsp. (11).

Do określenia stopnia oporności użyto 39 szczepów uznanych wg metody krążkowej za odporne. Pochodziły one z różnych przypadków, a między innymi ze zwierząt padłych nim przystąpiono do leczenia. Wyniki przedstawia tab. 2.

Tab. 2. Określenie stopnia oporności szczepów beta-hemolitycznych *E. coli*

Ilość badanych szczepów	Stężenie chloromycetyny w mcg/ml
3 (7,6%)	90—98
8 (20,5%)	100
11 (28,2%)	350
17 (43,5%)	1000
Razem: 39	

Z danych zamieszczonych w tab. 2 wynika, że szczepy uznane za odporne różnią się jednak między sobą opornością na Detreomycynę w szerokim zakresie od 90—1000 mcg/ml.

Wnioski

1. U prosiat leczonych Detreomycyną stwierdzono nieznaczne zwiększenie liczby szczepów *E. coli* opornych na ten antybiotyk.

2. Przed leczeniem stwierdzono bardzo wrażliwe i wrażliwe szczepy, po leczeniu stwierdzono średnio wrażliwe i słabo wrażliwe szczepy.

3. Stopień wrażliwości szczepów uznanych za odporne znacznie się różnił. Rozpiętość dawek antybiotyku dla tych szczepów mieściła się w zakresie od 90 mcg/ml do 1000 mcg/ml i więcej.

4. Wobec krótkiego stosunkowo czasu stosowania Detreomycyny nie wydaje się istotne dla wyników leczenia zwiększenie stopnia oporności *E. coli* na ten lek. Potwierdzeniem tego jest uzyskanie pozytywnych wyników leczenia w przypadku wykrywania opornych na Detreomycynę szczepów *E. coli* (u 28 sztuk z 44 leczonych przypadków) co zostało przedstawione w pierwszej części pracy (3).

Piśmiennictwo

1. Brock T. D.: Scion., 136, 316, 1962.
2. Bukowska B., Serafińska D., Ziętkiewicz W.: Pol. Tyg. Lek. 22, 14, 504, 1967.
3. Deres Z., Bukowski K., Sitarska E.: Medycyna Wet. 26, 277, 1970.
4. Dobrzański W. T.: Post. Hig. Med. Dośw. 13, 677, 1959.
5. Kondracki M.: Medycyna Wet. 25, 276, 1969.
6. Koichi T., Shiro M.: Jap. J. Vet. Res. 16, 213, 1968.
7. Kragujevic: Scalp., 24, 3, 1966.
8. Linde K., Koch H.: Lindner Zentralb. Bakt. Parasit. Infekt. Hig. I Orig. 209, 129, 1968.
9. Madejski J.: Medycyna Wet. 25, 68, 1969.
10. Merkel J. R., Steers E.: J. Bacteriol. 66, 383, 1953.
11. Obojska K., Ostrowska E.: Post. Mikrob. T. IV., 3, 311, 1965.
12. Tereszczuk S., Gronek W.: Med. Wet. 25, 410, 1969.

Adres autora: Kazimierz Bukowski, Warszawa, ul. Grochowska 272.

PINI A., LUNDT L. J., DAVIES F. G.: Wykrywanie wirusa gorączki doliny Rift w narządach sztucznie zakażonych zwierząt w oparciu o metodę fluorescencji. (Detection of Rift Valley Fever virus by the fluorescent antibody technique in organs of experimentally infected animals). Res. Vet. Sci., 11, 82—85, 1970 (1).

W oparciu o metodę immunofluorescencji pośredniej wykryto antygen wirusowy w narządach wewnętrznych myszek i owiec zakażonych sztucznie pantropowym lub neurotropowym szczepem wirusa gorączki doliny Rift (RVF). Myszkę 4—8 tyg. zakażano do otrzewnowo lub domózgowo szczepem SNS lub JB8 w ilości 50 tys. MLD₅₀, zaś myszkę 8 tyg. zakażano do otrzewnowo szczepem Kabete. Do podskórnego zakażenia jednorocznych owiec zastosowano 1% zawiesinę mięśnia serca chomików, które padły na skutek naturalnego zakażenia szczepem Vyk. W odczynie immunofluorescencji zastosowano konjugatę dla globuliny owczej, ludzkiej i króliczej. Z narządami zakażonych myszek odczyn immunofluorescencji wypadły srobie przy użyciu konjugatów dla globuliny trzech badanych gatunków zwierząt, zaś z narządami wewnętrznymi owiec jedynie przy użyciu konjugaty dla globuliny królików. Nie stwierdzono spadku intensywności odczynu immunofluorescencji po przechowywaniu tkanek przez 13 dni w temp. 4°C w zbuforowanym roztworze glicerolu o pH 7,4. U myszek zakażonych wirusem pantropowym antygen wirusowy występował w śledzionie, trzustce, pęcherzu moczowym i mięśniu serca. U owiec antygen wirusowy wykrywano w wątrobie już po 24 godz. po zakażeniu.

Z. G.