



KAZIMIERZ TARASIUK, ZYGMUNT PEJSAK

## Ocena przydatności metod fenotypowych w monitorowaniu zakażeń świń różnymi szczepami *Actinobacillus pleuropneumoniae*

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

Tarasiuk K., Pejsak Z.

### The usefulness of phenotypic techniques for epidemiological typing *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains isolated from pigs

#### Summary

In this study, methods like serotyping, biochemical schemes and antibiotic susceptibility were used to analyse 70 isolates of *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App). Serological identification of App strains was performed using agglutination, precipitation and coagglutination techniques. Fifteen different tests were employed for biochemical analysis. The antibiotic susceptibility pattern was analysed using 17 chemioterapeutics.

The results of the serotyping techniques have shown cross-reactions – especially between serotype 2 and 6 and serotypes 1, 9 and 11. The strongest cross-reactions were observed in the agglutination test. Among 15 biochemical reactions 8 were positive for all investigated isolates. Common features for all serotypes were: NAD-dependence, CAMP reaction, hemolysis, urease production and hydrolysis of glucose, mannitol, xylose and sucrose. The results of antibiotic susceptibility have shown that all App strains are resistant to lincomycin and streptomycin. It should be stressed that an apparent difference between Polish and German strains has been observed in terms of the scope of their sensitivity/resistance to some choosen antibiotics. Generally, no significant differences were found to exist in the antibiotic sensitivity patterns among App strains. To conclude, it should be underlined that conventional methods are useful only to a limited extent as tools for an epidemiological study of App infection in swine.

*Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* (App) jest czynnikiem etiologicznym pleuropneumonii, groźnej choroby układu oddechowego świń, powodującej duże straty ekonomiczne w produkcji trzody chlewnej na całym świecie (7, 33, 38, 46). W Polsce obserwuje się stosunkowo szybkie rozprzestrzenianie się infekcji tym drobnoustrojem, co szczególnie wyraźnie uwidacznia się w wielkotowarowych chlewniach trzody chlewnej (51).

W oparciu o antygen otoczkowy rozróżnia się 12 typów serologicznych App (1, 2, 3, 4, 5a, 5b, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12), których rozprzestrzenienie uzależnione jest od kontynentu, kraju, a nawet gospodarstwa (32). W ramach serotypu 5 rozróżnia się podtyp 5a i 5b (35, 36). Z punktu widzenia patogenności, App można podzielić na serotypy wysoce zjadliwe, do których należy serotyp 1, 5, 9 i 11 oraz grupę szczepów mniej chorobotwórczych, utworzoną przez pozostałe serotypy (4, 23, 27). W przypadku niektórych z nich występują

reakcje krzyżowe, jak to ma miejsce między serotypami 1, 9 i 11; 4 i 7 lub serotypami 3, 6 i 9 App (27, 30, 37-39). W Polsce dotychczas stwierdzono występowanie następujących serotypów App: 1, 2, 4, 5, 6 i 9, przy czym dominującymi są serotypy 2, 4, 6 i 9 (51).

Metody stosowane w klasyfikacji bakterii, w tym i App, można podzielić na fenotypowe i genotypowe. Pierwsze określają antygeny bakteryjne lub właściwości biochemiczne, umożliwiając identyfikację serotypu lub odmiany biochemicznej. Drugie koncentrują się na analizie elementów genetycznych DNA chromosomalnego i pozachromosomalnego. Do metod fenotypowych zaliczamy m.in. serotypowanie, określenie właściwości biochemicznych oraz analizę antybiotykoqramów.

Monitorowanie rozprzestrzeniania się zakażeń świń na tle App prowadzone jest przede wszystkim za pomocą badań serologicznych. Spośród metod serologicznych najczęściej stosuje się aglutynację szkieł-

kową, koagulację, fluorescencję pośrednią, hemaglutynację pośrednią oraz immunodyszufę w żelu (18, 29, 39, 43, 44). W związku z tym, że znanych jest 12 typów serologicznych App, z których tylko nieliczne występują na danym terytorium, serotypowanie nie zawsze jest w stanie dostarczyć szczegółowych informacji epidemiologicznych (33, 37, 43). Dodatkowo większość izolatów App należących do serotypu 3, 6 i 8, jak również szczepy bakteryjne należące do serotypu 1, 9 i 11 reagują krzyżowo w testach serologicznych i mogą być zróżnicowane dopiero po szczegółowej i pracochłonnej analizie antygenowej (27, 35, 37, 39). Badaniem uzupełniającym serotypowania są m.in. analiza biochemiczna oraz porównanie antybiogramów izolatów App (9, 48). W niektórych okolicznościach wymienione metody są pomocne w badaniach epidemiologicznych, zmierzających do śledzenia dróg szerzenia się infekcji i w konsekwencji zwalczania pleuropneumonii świń (48).

Wątpliwości, które napotkano wykorzystując metody fenotypowe w monitorowaniu zakażeń świń App skłoniły autorów do podjęcia badań, których celem była weryfikacja przydatności wymienionych wyżej metod w charakteryzowaniu szczepów terenowych App.

## Material i metody

### Serotypowanie

**Zwierzęta.** Do badań użyto 26 królików o masie ciała 2-2,5 kg, podzielonych na 13 równych grup, w zależności od użytego do ich immunizacji serotypu App.

**Szczepy bakteryjne.** Trzydzieści szczepów referencyjnych App (3)\* o serotypach (Shope 4074 (1), S1536 (2), S1421 (3), M62 (4), K17 (5a), L20 (5b), Femo (6), WF83 (7), 405 (8), CVI13261 (9), B009 (10), 56153 (11), 1096 użyto do immunizacji królików. Sześćdziesiąt jeden izolatów terenowych App poddano badaniom serologicznym w celu określenia ich przynależności serotypowej.

Przygotowanie antygenów App do immunizacji królików: – sześciogodzinną hodowlę App poszczególnych serotypów, na podłożu PPLO (pleuropneumonia like organisms), splukiwano 1,5 ml płynu fizjologicznego z dodatkiem 1% formaliny i inkubowano przez noc w temperaturze pokojowej;

– gęstość optyczną (OD) zawiesiny bakteryjnej określano przy użyciu spektrofotometru (Spekol 11, Carl Zeiss Jena) przy długości fali 540 nm;

– 0,5 ml tak przygotowanej zawiesiny bakteryjnej mieszano z 0,5 ml niekompletnego adiuwantu Freund'a.

W ten sposób otrzymano dla poszczególnych 13 serotypów App antygen używano do pierwszej immunizacji królików, podając go domięśniowo w dwa różne miejsca (po 0,5 ml w jedno miejsce). Następne – sześciokrotne – dożylne (i.v.) immunizacje królików poszczególnymi serotypami App prowadzono wg schematu: I i.v. szczepienie w dniu 0, II – 14 dni później i każde kolejne szczepienie w surowicach immunizowanych królików przy użyciu aglu-

tynacji z 2-merkaptanoetanołem, zwierzęta po uśpieniu wykrwawiano, po 7 dniach od ostatniego uodporniania. Użyte surowice użyto do wykonywania testów serologicznych w celu określenia przynależności serotypowej szczepów terenowych App.

Do serotypowania izolatów terenowych App zastosowano następujące, ogólnie znane testy: aglutynacji szkiełkowej, precypitacji szkiełkowej oraz koagulacji z użyciem w różny sposób przygotowanych antygenów (12, 26, 28, 29, 43).

### Określenie właściwości biochemicznych

**Szczepy bakteryjne.** Do badań użyto ogółem 70 szczepów App. Spośród nich siedemnaście, w tym dziewięć z Niemiec\*\*, należało do serotypu 2, siedem do serotypu 4, dwadzieścia jeden reprezentowało serotyp 6 i dwadzieścia pięć izolatów było zaklasyfikowanych do serotypu 9. Dodatkowo użyto odpowiednie szczepy referencyjne, należące do poszczególnych serotypów App tj. 2, 4, 6 i 9.

**Postępowanie.** Zależność szczepów App od czynnika wzrostowego V oceniano na agarze z krwią barania, posiewając w jednej linii *Staphylococcus epidermidis*. Zdolność uzupełniania częściowej hemolizy krwinek czerwonych, tzw. próba CAMP, testowano na podłożu agarowym z dodatkiem 5% krwi baraniej, posiewając liniowo szczep App oraz prostopadle do niego beta-toksynotwórczy szczep *Staphylococcus aureus* (21). Wytwarzanie katalazy ustalano mieszając na szkiełku podstawowym kroplę 30% wody utlenionej z kroplą hodowli bakteryjnej. Określenie produkcji ureazy przeprowadzono według metody, przedstawionej w Manual of BBL (25). Zdolność rozkładu cukrów z wytworzeniem kwasu określono zgodnie z metodyką Kiliana (21), w modyfikacji własnej. W sumie badanie to przeprowadzono używając 10 cukrów w hodowli płynnej z 2% roztworem czerwieni fenolowej jako wskaźnikiem i 10 µg/ml NAD. Badaniu poddano następujące cukry: arabinozę, rafinozę, glicerol, dulcytol, adonitol, mannitol, glukozę, sacharozę, ksylozę i laktozę. Hodowlę bakteryjną poszczególnych szczepów App będącą przedmiotem testu, przygotowywano na podłożu PPLO, które inkubowano w 37°C przez 16-18 godz., a następnie każdą płytkę splukiwano 10 ml jałowego płynu fizjologicznego w celu uzyskania zawiesiny bakteryjnej o odpowiedniej gęstości; 0,1 ml tej mieszaniny używano do inokulacji każdej próbki z odpowiednim węglowodanem. Dla potwierdzenia miarodajności badań wszystkie testy wykonywano dwukrotnie.

### Analiza lekooporności

**Postępowanie.** Lekooporność poszczególnych, wymienionych uprzednio 70 szczepów App określono metodą krążkowo-dyfuzyjną na podłożu Müllera-Hintona z użyciem 17 następujących chemioterapeutyków: penicyliny (10 j.m.), ampicyliny (10 µg), apramycyny (15 µg), amoksycyliny/kwasu klawulonowego (20/10 µg), streptomycyny (10 µg), sulfonamidy (300 µg), trimetoprimu (5 µg), tetracykliny (30 µg), oksytetracykliny (30 µg), neomycyny (30 µg), linkomycyny (19 µg), spektynomycyny (200 µg), linkospektyny (15+200 µg), enrofloksacyliny (10 µg), furazolidonu (50 µg), tiamuliny (30 µg) i cefalotyny (30 µg). Interpretacji wyników, na podstawie strefy zaha-

\* Szczepy referencyjne App otrzymano, dzięki uprzejmości Prof. J. Nicolet, z Zakładu Bakteriologii Uniwersytetu w Bernie, Szwajcaria

\*\* Szczepy bakteryjne otrzymano, dzięki uprzejmości Prof. H. J. Selbitza, z Impfstoffwerk Dessau, Niemcy

Tab. 1. Wyniki serotypowania 61 szczepów *Actinobacillus pleuropneumoniae* przy użyciu trzech różnych metod

Serotyp	Liczba szczepów	Aglutynacja szkiełkowa			Precypitacja szkiełkowa			Koagulacja		
		F	P	G	F	P	G	F	P	G
2	8	8 (5)*	8 (2)	8	8 (3)*	8	8	8	8	8
4	7	7 (1)*	7 (1)*	7	7	7	7	7	7	7
6	21	21 (15)*	21 (12)*	21 (10)*	21 (7)*	21	21	21	21	21
9	25	25 (21)*	25 (21)*	25 (21)*	25 (8)*	25	25	25	25	25

Objaśnienia: \* – liczba szczepów danego serotypu, wykazujących reakcje krzyżowe z więcej niż jedną surowicą, F – antygen formalinizowany, P – antygen podgrzewany w 56°C, G – antygen gotowany w 100°C.

mowania wzrostu, dokonywano zgodnie z zaleceniami producentów krążków (Difco, Rosco, Farmaceutical).

### Wyniki i omówienie

Zebrane w tab. 1 wyniki badania serologicznego szczepów terenowych App, uzależnione są z jednej strony od rodzaju zastosowanego odczynu, z drugiej zaś od sposobu przygotowania antygeny do wykonania poszczególnych testów serologicznych. Z przedstawionych danych wynika, że rezultaty uzyskane w wyniku precypitacji szkiełkowej są podobne do zarejestrowanych w teście koagulacji.

W odczynie precypitacji szkiełkowej obserwowano jedynie słabego stopnia reakcje krzyżowe między serotypem 2 a surowicą dodatnią dla serotypu 6, między serotypem 6 a surowicą anty-serotyp 2 oraz między serotypem 9 a surowicami dodatnimi dla serotypów 1 i 11. Występowanie reakcji krzyżowych notowano tylko wtedy, gdy do wymienionych testów serologicznych używano antygeny formalinizowanego.

W teście koagulacji nie stwierdzano reakcji krzyżowych między badanymi izolatami.

Silnego stopnia reakcje krzyżowe obserwowano natomiast w odczynie aglutynacji szkiełkowej i to niezależnie od typu użytego antygeny. Dwadzieścia jeden spośród 25 szczepów należących do serotypu 9 reagowało w tym odczynie z surowicą anty-serotyp 1 i 11. W grupie izolatów zaliczonych do serotypu 6, w przypadku użycia antygeny formalinizowanego, piętnaście spośród 21 szczepów wykazywało reakcje krzyżowe z surowicą dodatnią dla serotypu 2; z antygenem podgrzewanym w 56°C – dwanaście izolatów, a z antygenem gotowanym w 100°C – dziesięć szczepów reagowało krzyżowo z wymienioną surowicą dodatnią. Pięć spośród 8 szczepów zaklasyfikowanych do serotypu 2, reagowało krzyżowo z surowicą anty-serotyp 6, gdy używany antygen był formalinizowany, a tylko 2 szczepy, w przypadku antygeny podgrzewanego w 56°C. Jedynie jeden na 7 szczepów należących do serotypu 4 reagował krzyżowo, i to słabo, z surowicą dodatnią dla serotypu 7. W badaniach wla-

nych nie stwierdzono reakcji krzyżowych w przypadku izolatów należących do serotypu 6 a surowicą dodatnią dla serotypów 3 i 8, pomimo znanego pokrewieństwa antygenowego między nimi (27).

Występowanie reakcji krzyżowych, zwłaszcza obserwowanych w teście aglutynacji szkiełkowej, w dużym stopniu limituje przydatność tej metody w rutynowym serotypowaniu szczepów terenowych App (26). W przypadku niektórych serotypów są one sporadyczne, podczas gdy w przypadku takich jak serotyp 6 i 9 reakcje krzyżowe są bardzo częste. Najczęściej obserwuje się reakcje krzyżowe między serotypem 3-6-8 oraz serotypem 1-9-11 (17, 19, 27, 28, 30, 31, 34). Występowanie pokrewieństwa antygenowego pomiędzy wyżej wymienionymi serotypami jest powodowane obecnością wspólnych epitopów, związanych najprawdopodobniej z powierzchniowymi antygenami ściany komórkowej (30). Pery i wsp. (41) stwierdzili, że antygeny otoczkowych polisacharydów poszczególnych serotypów App są typowo-specyficzne i wyrazili opinię, że występowanie reakcji krzyżowych pomiędzy różnymi serotypami jest powodowane obecnością wspólnych epitopów związanych z antygenami somatycznymi.

Wyniki analizy biochemicznej szczepów referencyjnych oraz terenowych zebrano w tab. 2. Spośród 15 przeprowadzonych testów biochemicznych 8 dało reakcję dodatnią ze wszystkimi badanymi szczepami App. Są to: zależność od czynnika V, produkcja ureazy, dodatnia reakcja CAMP, zdolność hemolizy, rozkład mannitolu, glukozy, sacharozy i ksylozy. W pozostałych 7 testach uzyskano wynik ujemny. Były to: brak wytwarzania katalazy oraz niezdolność rozkładu arabinozy, rafinozy, glicerolu, dulcytolu, adonitolu oraz laktozy. Badania innych autorów (2, 20, 40) wykazały, że próba na katalazę oraz zakwaszanie laktozy były zmienne, stąd ich przydatność w badaniach epidemiologicznych była niewielka. Uzyskane w badaniach własnych wyniki ujemne dla wszystkich badanych izolatów terenowych, w zakresie fermentacji glicerolu, laktozy i rafinozy różniły się od rezultatów otrzymana-

Tab. 2. Charakterystyka biochemiczna 70 izolatów *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Cecha biochemiczna	Serotyp								
	2	R	2	R	4	R	6	R	9
	n = 8		n = 9*		n = 7		n = 21		n = 25
Hemoliza	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NAD-zależność	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CAMP	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaza	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ureaza	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rozkład:									
arabinozy	-	-	-	-	-	-	-	-	-
rafinozy	-	-	-	-	-	-	-	-	-
glicerolu	-	-	-	-	-	-	-	-	-
dulcytolu	-	-	-	-	-	-	-	-	-
adonitolu	-	-	-	-	-	-	-	-	-
laktozy	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mannitolu	+	+	+	+	+	+	+	+	+
glukozy	+	+	+	+	+	+	+	+	+
sacharozy	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ksylozy	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Objaśnienia: \* – szczepy wyizolowane w Niemczech; R – szczepy referencyjne odpowiednich serotypów App.

nych przez Siroisa i Higginsa (48). Wymienieni autorzy na podstawie zdolności rozkładu glicerolu, laktozy i rafinozy z wytworzeniem gazu, zaproponowali utworzenie wzorca biochemicznego, który pozwolił na utworzenie 6 grup fenotypowych w ramach izolatów należących do serotypu 1 i 5 App. Wszystkie z użytych w badaniach własnych testy biochemiczne, nie wykazywały żadnych właściwości różnicujących i to zarówno pomiędzy szczepami należącymi do tego samego serotypu, jak też między różnymi serotypami App. Podobne wyniki uzyskali Kilian (21), Kilian i wsp. (20) oraz Pohl i wsp. (42), co może sugerować wysoką homologię szczepów należących do tego gatunku. Biorąc powyższe pod uwagę wydaje się, że analiza właściwości biochemicznych szczepów terenowych App jest mało użyteczna i przydatna w badaniach epidemiologicznych zakażeń świń wywoływanych przez wym. gatunek bakterii.

Dane dotyczące lekooporności na użyte w badaniach antybiotyki, przedstawiono w tab. 3. Wskazują one, że największy odsetek szczepów wrażliwych i śred-

nio wrażliwych, wynoszący od 50% dla serotypu 2 do 100% dla serotypów 4, 6 i 9, uzyskano w przypadku amoksycyliny/kwasu klawulonowego, tetracykliny i oksytetracykliny, spektynomycyny, linkospektyny, enrofloksacyny, furazolidonu, tiamuliny i cefalotyny. Na uwagę zasługuje fakt, że 100% izolatów należących do serotypu 2, pochodzących z Niemiec, było wrażliwych na amoksycylinę/kwas klawulonowy. Spośród izolatów krajowych, reprezentujących ten sam serotyp, tylko 50% charakteryzowało się wrażliwością na wymienione antybiotyki. Mniej szczepów należących do poszczególnych serotypów – od 22% (serotyp 2 pochodzenia niemieckiego) do 86% (serotyp 4) było wrażliwych na ampicylinę. Bardzo dużą zmienność w zakresie wrażliwości izolatów App na poszczególne preparaty, wynoszącą od 0 do 86% stwierdzono w przypadku penicyliny, apramycyny, streptomycyny, sulfonamidów i neomycyny. Z epidemiologicznego punktu widzenia na szczególne podkreślenie zasługuje fakt całkowitej oporności izolatów App, serotyp 2, wyizolowanych w Niemczech na apramycynę, neomycynę i

Tab. 3. Wrażliwość na chemioterapeutyki 70 izolatów *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Chemioterapeutyk	Odsetek szczepów wrażliwych (średnio wrażliwych)				
	serotyp				
	2 n = 8	2 n = 9*	4 n = 7	6 n = 21	9 n = 25
Penicylina	63 (25)	0 (78)	29 (71)	60 (40)	28 (40)
Ampicylina	75 (25)	22 (67)	86 (14)	33 (52)	40 (16)
Apramycyna	25 (25)	0	57 (29)	24 (24)	40 (32)
Amoksylicyna + kwas klawulonowy	50 (50)	100	100	100	100
Neomycyna	50 (50)	0	86 (0)	62 (38)	68 (20)
Streptomycyna	0	0	0	62 (24)	12 (32)
Sulfonamidy	50 (50)	0	0 (29)	62 (24)	40 (0)
Trimetoprim	50 (50)	33 (67)	100	86 (0)	48 (12)
Tetracyklina	50 (50)	55 (45)	57 (29)	100	72 (28)
Oksytetracyklina	75 (25)	67 (0)	71 (0)	100	72 (28)
Linkomycyna	0	0	0	0	0
Spektynomycyna	75 (25)	78 (22)	100	81 (19)	100
Linkospektyna	50 (50)	78 (22)	100	62 (38)	92 (8)
Enrofloksacyna	100	67 (33)	100	86 (14)	100
Furazolidon	100	100	71 (29)	100	100
Tiamulina	100	56 (44)	86 (14)	76 (24)	84 (16)
Cefalotylna	100	89 (11)	100	100	100

Objaśnienie: \* – szczepy wyizolowane w Niemczech.

sulfonamidy, w odróżnieniu od szczepów krajowych App, reprezentujących ten sam serotyp, które były wrażliwe, choć w różnym stopniu, na wymienione preparaty. Izolaty pochodzenia niemieckiego odporne też były na neomycynę i linkomycynę, a aż 78% szczepów wykazywało jedynie średniego stopnia wrażliwość na penicylinę. Całkowitą opornością na sulfonamidy charakteryzowały się szczepy krajowe, reprezentujące serotyp 4 App. Oporność na linkomycynę wykazywały wszystkie badane izolaty, niezależnie od ich przynależności serotypowej i pochodzenia. Słabą aktywność linkomycyny w stosunku do App potwierdzili *in vitro* Eaves i wsp. (6) oraz Schultz i Ross (45). Małą aktywnością przeciwbakteryjną charakteryzowała się również streptomycyna, na którą odporne były wszyst-

kie szczepy App należące do serotypu 2 i 4, natomiast tylko 12% izolatów reprezentujących serotyp 9 było wrażliwych na ten antybiotyk. Dostępną skuteczność tego preparatu wykazano także w stosunku do szczepów należących do serotypu 6.

Generalnie, poza wykazaną opornością badanych szczepów App na niektóre antybiotyki (linkomycyna, streptomycyna) oraz wyraźnymi różnicami w zakresie wrażliwości/oporności na niektóre chemioterapeutyki izolatów polskich i niemieckich reprezentujących serotyp 2, nie stwierdzono większych różnic we wzorcach wrażliwości badanych szczepów App na oceniane leki przeciwbakteryjne.

Opracowanie wzorca antybiooporności krajowych izolatów *Actinobacillus pleuropneumoniae* jest ważne z dwóch powodów, po pierwsze – znana jest oporność wśród szczepów App na ampicylinę, streptomycynę i sulfonamidy, co najprawdopodobniej związane jest z obecnością plazmidów (8, 10, 14). Po drugie – problem pleuropneumonii świń, w ostatnim czasie, narasta w krajowych gospodarstwach trzody chlewnej. Oceniane w badaniach własnych, penicylina i jej pochodne wykazały zmienną aktywność w stosunku do App. Najbardziej efektywnym preparatem w tej grupie jest amoksylicyna/kwas klawulonowy. Biorąc to pod uwagę wym. antybiotyków np. w postaci preparatu Amoksiklav wydaje

się być lekiem z wyboru w leczeniu pleuropneumonii świń.

Dużą zmienność w zakresie lekowrażliwości badanych szczepów App wykazano na antybiotyki aminoglikozydowe (streptomycyna, neomycyna). Wszystkie izolaty reprezentujące serotyp 2 i 4 były odporne na streptomycynę, podczas gdy 12% szczepów należących do serotypu 9 oraz 62% do serotypu 6 było w pełni wrażliwych na ten antybiotyk. Wrażliwość na neomycynę wahała się od 50% (serotyp 2) do 86% (serotyp 4) badanych szczepów. Należy podkreślić, że wszystkie izolaty pochodzenia niemieckiego były odporne na wspomniany preparat.

Tetracyklina i oksytetracyklina są tradycyjnie stosowanymi antybiotykami w chorobach bakteryjnych

świń, co może częściowo wyjaśnić stopień oporności App na te leki, stwierdzonej w badaniach własnych. W piśmiennictwie jest wiele danych świadczących, zarówno o wysokiej aktywności obu tych antybiotyków, jak również o dużym odsetku szczepów App opornych na wymienione preparaty (9, 11, 16, 24, 47).

W zakresie wrażliwości badanych szczepów App na sulfonamidy stwierdzono, że odsetek izolatów wrażliwych był zmienny i wynosił od 0% (serotyp 2 i 4) do 62% (serotyp 6). Nie wykazano wśród analizowanych szczepów występowania oporności na trimetoprim, a odsetek izolatów wrażliwych wahał się od 33% (serotyp 2) do 100% (serotyp 4).

W ciągu ostatnich kilku lat przeprowadzono wiele badań *in vitro* i *in vivo* (1, 13, 15, 22, 49) nad oceną aktywności chinolonów w stosunku do App. Wyniki badań własnych wykazały wysoką efektywność enrofloksacyny *in vitro* w tym zakresie i tym samym potwierdziły obserwacje uzyskane przez cytowanych autorów. Biorąc to pod uwagę można uznać, że enrofloksacyna jest *a priori* bardzo skutecznym preparatem w leczeniu pleuropneumonii świń.

Wysoką skuteczność *in vitro* w stosunku do App uzyskano w przypadku linkospektyny i spektynomycyny, a zerową dla linkomycyny. Podobne wyniki otrzymano Hommez i wsp. (11).

Tiamulina jest jednym z leków szeroko proponowanych do stosowania w terapii pleuropneumonii świń. Wyniki własnych badań *in vitro*, świadczące o wysokiej aktywności tiamuliny w stosunku do App są zgodne z rezultatami uzyskanymi w badaniach *in vivo* (5, 9). Jeszcze lepsze efekty terapeutyczne uzyskuje się po skojarzeniu tiamuliny z oksytetracykliną lub enrofloksacyną (50).

Reasumując należy stwierdzić, że nie zaobserwowano jednoznacznych różnic w zakresie wrażliwości poszczególnych serotypów App na użyte w badaniach chemioterapeutyki. Stwierdzono natomiast wyraźne różnice we wzorcu antybiotykooporności pomiędzy szczepami App reprezentującymi serotyp 2, pochodzącymi z Polski i Niemiec. Oporność izolatów niemieckich na apramycynę, neomycynę i sulfonamidy umożliwia ich odróżnienie od szczepów polskich, co ważne jest z epidemiologicznego punktu widzenia.

## Wnioski

1. Serotypowanie jest metodą mało przydatną w ocenie struktury populacyjnej krajowych szczepów App.

2. Analiza właściwości biochemicznych izolatów App nie może być zalecana do stosowania w badaniach epidemiologicznych ze względu na znaczne rozbieżności w zakresie uzyskiwanych rezultatów.

3. Z powodu braku istotnych różnic w zakresie antybiotykooporności poszczególnych serotypów App, analiza antybiotykooporności jest mało użytecznym markerem w badaniach nad szerzeniem się zakażeń App.

4. Metody fenotypowe mają ograniczone zastosowanie w monitorowaniu dróg szerzenia się zakażeń świń szczepami App.

## Piśmiennictwo

1. Barigazzi G., Candotti P., Foni E., Martinelli L., Raffo A.: Proc. IPVS Congress, Bologna, Italy, 1996, s. 207.
2. Biberstein E. L., Gunnarsson A., Hurvell B.: Am. J. Vet. Res. 38, 7, 1977.
3. Blumberg H. M., Kiehlbauch J. A., Wachsmuth I. K.: J. Clin. Microbiol. 29, 2368, 1991.
4. Brandreth S. R., Smith J. M.: Res. Vet. Sci. 42, 187, 1987.
5. Christensen F.: Proc. IPVS Congress, Bangkok, Thailand, 1994, s. 339.
6. Eaves L., Blackwell P. J., Fegan M.: Austr. Vet. J. 66, 1, 1988.
7. Fenwick B., Henry S.: J. Am. vet. med. Assoc. 204, 1334, 1994.
8. Gilbride K. A., Rosendal S., Brunton J. L.: Can. J. Vet. Res. 53, 38, 1989.
9. Gutierrez C., Piriz S., Vadillo S., Ferri E.: Am. J. Vet. Res. 54, 546, 1993.
10. Hirsh D. C., Martin L. D., Libal M. C.: Am. J. Vet. Res. 43, 269, 1982.
11. Hommez J., Devriese L., Cassimon P., Castryck F.: Vlaams Diegenesk. Tijdschr. 57, 46, 1988.
12. Hommez J., Devriese L. A., Castryck F., Cassimon P.: Vet. Microbiol. 24, 123, 1990.
13. Hornedo A. S., Rayo R., Rojas V.: Veterinaria 19, 85, 1988.
14. Huether M. J., Fedorka-Cray P. J., Pfannenstiel M. A.: FEMS Microbiol. Lett. 48, 179, 1987.
15. Ikoma H.: Proc. IPVS Congress, Bangkok, Thailand, 1994, s. 178.
16. Inoue A., Yamamoto K., Hirano N.: Jpn. J. Vet. Sci. 46, 175, 1984.
17. Inzana P. J., Todd J., Koch C., Nicolet J.: Vet. Microbiol. 31, 351, 1992.
18. Jansen R., Briaire J., Smith H., Kamp E., Gielkens A., Smiths M.: Infect. Immun. 63, 27, 1995.
19. Kamp E. M., Pompa J. K., VanLeengoed L. A.: Vet. Microbiol. 13, 249, 1987.
20. Kilian M., Nicolet J., Biberstein E. L.: Int. J. Syst. Bacteriol. 28, 20, 1978.
21. Kilian M.: Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. 84, 339, 1976.
22. Kobish M., Vannier P., Delaporte S.: Proc. IPVS Congress, Lousanne, 1980, s. 16.
23. Komal J. P., Mittal K. R.: Vet. Microbiol. 25, 229, 1990.
24. Libal M., Gates C. E.: J. Am. vet. med. Assoc. 180, 398, 1982.
25. Manual of BBL. Products and Laboratory Procedures. Sixth Edition, (red.) D. A. Power, P. J. McCuen, Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, Maryland, 1988.
26. Mittal K. R., Higgins R., Lariviere A.: Am. J. Vet. Res. 48, 219, 1987.
27. Mittal K. R., Higgins R., Lariviere A.: J. Clin. Microbiol. 26, 985, 1988.
28. Mittal K. R., Higgins R., Lariviere S.: Am. J. Vet. Res. 49, 152, 1988.
29. Mittal K. R., Higgins R., Lariviere S.: J. Clin. Microbiol. 18, 1351, 1983.
30. Mittal K. R., Kamp E. M., Kobisch M.: Res. Vet. Sci. 55, 179, 1993.
31. Mittal K. R.: J. Clin. Microbiol. 28, 535, 1990.
32. Moller K., Nielsen R., Andersen L. V., Kilian M.: J. Clin. Microbiol. 30, 623, 1992.
33. Nicolet J.: Actinobacillus pleuropneumoniae, w: Diseases of swine, (red.) A. D. Leman, The Iowa State University Press, Ames, Iowa 1992.
34. Nicolet J.: Can. Vet. J. 29, 578, 1988.
35. Nielsen R.: Acta Vet. Scand. 27, 453, 1986 b.
36. Nielsen R.: Acta Vet. Scand. 27, 49, 1986 a.
37. Nielsen R.: Can. Vet. J. 29, 580, 1988.
38. Nielsen R.: Haemophilus pleuropneumoniae infection in pigs. Praca dokt., State Vet. Serum Lab, Copenhagen, 1982.
39. Nielsen R.: Nord. Vet. Med. 37, 217, 1985.
40. O'Reilly T. S., Rosendal S., Niven N. F.: Can. J. Microbiol. 30, 1229, 1984.
41. Perry M. G., Altman E., Brisson J. R., Begnon L. M., Richards J. C.: Serodiag. Immunotherap. 4, 298, 1990.
42. Pohl A., Bertschinger U., Frederiksen W., Mannheim W.: Int. J. Syst. Bacteriol. 33, 510, 1983.
43. Rapp V. J., Ross F. F., Zimmerman B.: Am. J. Vet. Res. 46, 185, 1985.
44. Rosendal A., Boyd D. A.: J. Clin. Microbiol. 16, 840, 1982.
45. Schultz R. A., Ross R. F.: Vet. Med. Small Anim. Clin. 603, 1983.
46. Sebunya P. N., Saunders J. R.: J. Am. vet. med. Ass. 182, 1331, 1983.
47. Shimizu M., Kuninori K., Sakano T.: Jpn. J. Vet. Sci. 44, 359, 1982.
48. Sirois M., Higgins R.: Vet. Microbiol. 27, 397, 1991.
49. Stephano A., Diaz C., Rojas V.: Proc. IPVS Congress, Rio de Janeiro, 1988, s. 95.
50. Stipkovits L., Miller D. J.: Proc. IPVS Congress, Bangkok, Thailand, 1994, s. 181.
51. Tarasiuk K., Pejsak Z., Pałka E., Błaszczak B.: Medycyna Wet. 47, 348, 1991.

Adres autora: doc. dr hab. Kazimierz Tarasiuk, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy