

Wrażliwość *in vitro* i *in vivo* *Streptococcus suis* na ceftiofur

ARTUR JABŁOŃSKI, MAREK LESIAK*, MARIAN POROWSKI**,
JAROSŁAW WOJCIECHOWSKI***, ANDRZEJ STĘPNICKI****, ZYGMUNT PEJSAK

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

*Pfizer Trading Polska, ul. Rzymowskiego 34, 02-697 Warszawa

**Lecznica dla zwierząt, ul. Kaczyńska 26/3, 62-010 Pobiedziska

***Lecznica dla zwierząt, ul. Drzymały 3, 86-300 Grudziądz

****Lecznica dla zwierząt, ul. Liściasta 1, 97-300 Piotrków Trybunalski

Jabłoński A., Lesiak M., Porowski M., Wojciechowski J., Stępnicki A., Pejsak Z.

In vitro and in vivo susceptibility to ceftiofur of *Streptococcus suis*

Summary

The aim of the study was to determine ceftiofur sensitivity of *Streptococcus suis* isolated from pathologically altered brains and joints of pigs with streptococci compared with the efficacy of treating two diverse forms of *Streptococcus* infections in pigs (neurological and joint infections) with the same antibiotic depending on the severity of the clinical signs. The study was carried out on two farms – “P” and “W”.

The results of the *in vitro* study demonstrated that 98.5% of the 67 *Streptococcus suis* isolates were sensitive to ceftiofur. Only one isolate from the joint was medium sensitive. The efficacy of the treatment (*in vivo* studies) in stage I of both the neurological form (apathy, auricular symptoms) and articular form (lameness, lack of evident swelling or mild swelling of one joint) of streptococcal disease proved to be significantly high on the farms (between 90.3-100%). The efficacy of treating more severe cases was lower and the course treatment was also longer. The proportion of recoveries in the neurological form (increase of body temperature above 41.0°C and in coordination) of streptococcal infections ranged from 66.7% on farm “W” to 72.8% on farm “P”. The results obtained in analogous groups of animals with moderately severe joint infections (lameness and evident swelling of one joint) ranged from 47.7% on farm “W” to 56.4% on farm “P”. The proportion of the recovered animals affected with neurological symptoms of stage III (lateral position, rowing movements) was 44.4% on “P” farm and merely 28.6% on farm “W”. A positive outcome of polyarthritis treatment during the three week observation period was noted in 10.7% of the cases on farm “P” and in only one weaner (4.5%) on farm “W”. Treatment failures of the articular form of streptococcal infections compared to the neurological form were not estimated in terms of losses but rather as chronic inflammations persisting beyond the observation period and requiring further therapeutic procedures or, more frequently, culling of the animals. It may be concluded that ceftiofur is characterized by its significant efficacy in treating clinical symptoms which have been diagnosed early and cured. The *in vivo* studies, where there was an intensification of the disease data, indicated the antibiotic's efficacy and good penetration into joints and cerebrospinal fluid during inflammation. Speed in diagnosing and treating an ongoing *S. suis* infection plays a critical role in the efficacy of the therapy.

Keywords: swine, *Streptococcus suis*, ceftiofur

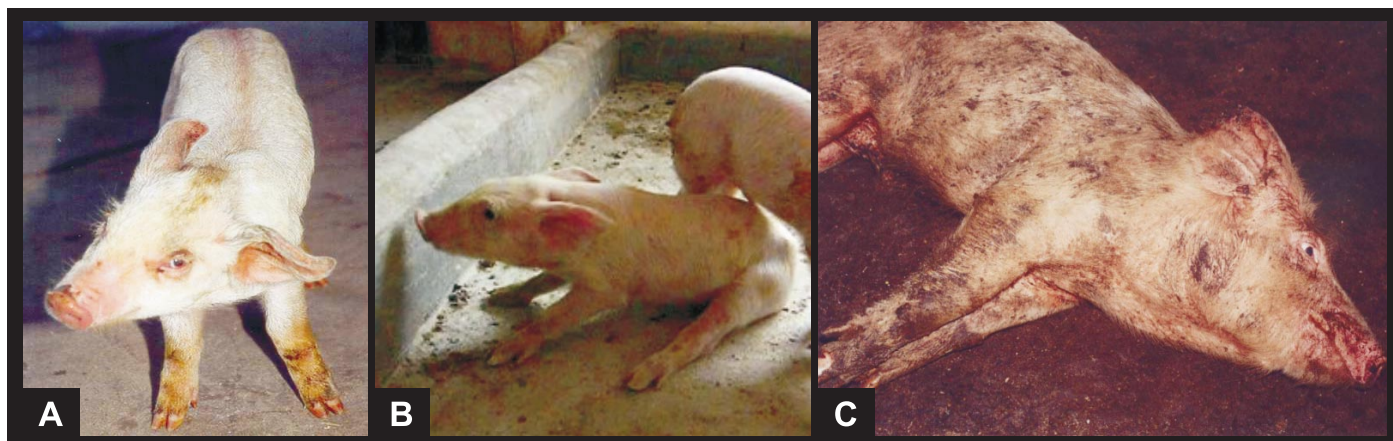
W obrębie gatunku świnia domowa, *Streptococcus suis* (*S. suis*) jest czynnikiem powodującym zakażenia określone terminem streptokokoz. Choroba ta stanowi obecnie ważny globalny problem zdrowotny w hodowli trzody chlewnej. Istotność ekonomiczna choroby wynika przede wszystkim ze znacznego odsetka padnięć zwierząt, zahamowania przyrostów masy ciała, a także konfiskat w rzeźni. Infekcje *S. suis* rozpoznawane są zarówno w chlewniach małych, jak i nowoczesnych fermach wielkotowarowych. Straty na tle tej choroby rejestrowane są głównie u prosiąt ssących i warchlaków. Zdecydowanie rzadziej obserwuje się zachorowania na streptokokozę u tuczników czy też zwierząt stada podstawowego (12, 14).

W patogenezie i rozprzestrzenianiu się zakażeń ważną rolę odgrywają monocyty, wewnątrz których *S. suis* prze-

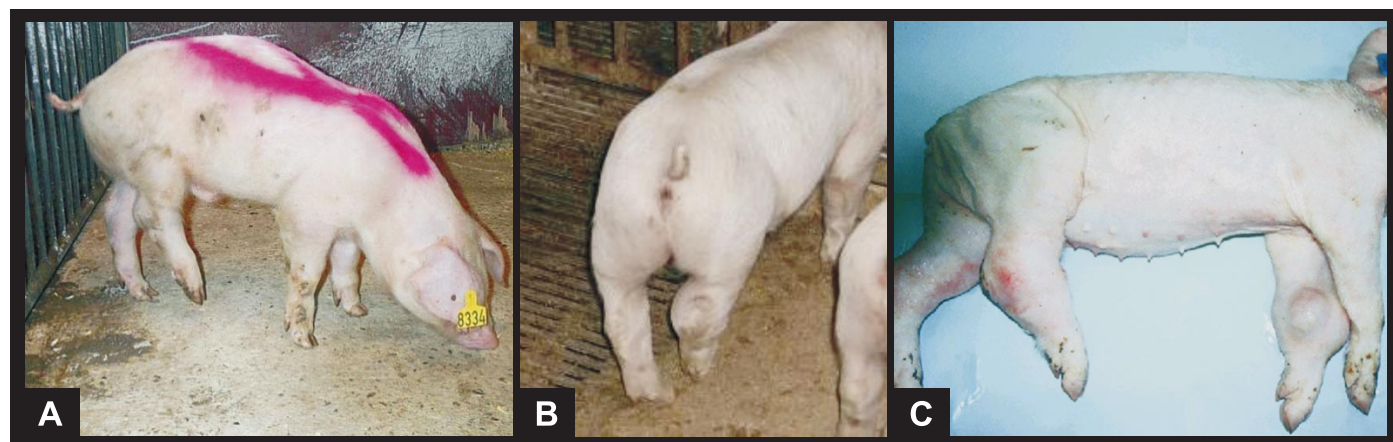
kracza barierę krew-mózg i trafia do płynu mózgowo-rdzeniowego (18). Podobne właściwości anatomiczno-czynnościowe innych jam ciała, np. jam stawowych, sugerują analogiczny patomechanizm formy stawowej czy też zmian w obrębie błon surowiczych.

W przebiegu streptokokozy świń dominującymi z klinicznego punktu widzenia są: postać nerwowa i stawowa (15).

Postać nerwowa ujawnia się w formie zapalenia opon mózgowych i mózgu, które zwykle dotyczy prosiąt ssących i odsadzonych w wieku 4-8 tygodni. Pierwszymi objawami, które mogą sugerować chorobę są: osowienie zwierzęcia, jego odstawanie od grupy, objawy związane z zapaleniem ucha wewnętrznego, takie jak chwiejny chód, skośne utrzymywanie głowy. Następnie rozwijają



Ryc. 1. Stadia zaawansowania nerwowej postaci streptokokozы



Ryc. 2. Stadia zaawansowania stawowej postaci streptokokozы

się objawy ogólne, takie jak podwyższona temperatura do 42°C, słabość tylnych kończyn, drgawki, sztywny chód, zaburzenia koordynacji. W ostatnim stadium postaci nerwowej zwierzę przyjmuje pozycję leżącą i wykonuje ruchy wiosłowe kończyn miednicznych i piersiowych (6).

Postać stawowa streptokokozы manifestuje się występowaniem objawów rozpoczynających się od lekkiej kulawizny z niewielkim obrzękiem zwykle jednego stawu, poprzez obrzęk i kulawiznę jednego lub kilku stawów aż do *arthritis* z zaawansowanymi zmianami kończyn, które zwykle mają charakter przewlekły (7).

Zapalenie błon surowiczych, przy zakażeniu *S. suis*, może objawiać się nagłymi padnięciami zwierząt z objawami sinicy, zwłaszcza gdy dochodzi do zakażenia wsierdzia (11). W terapii prosiąt ze streptokokozą skuteczność kliniczna podawanych chemioterapeutyków jest zróżnicowana i często nie pokrywa się ze wskazaniami antybiogramu.

Celem badań było porównanie aktywności *in vitro* cefotiofuru z jego skutecznością leczniczą po podaniu zwierzętom wykazującym objawy kliniczne.

Materiały i metody

Celem wstępnym badań było określenie antybiotykowrażliwości szczepów *S. suis* izolowanych z mózgu i stawów świń z objawami streptokokozы, padłych lub poddanych eutanazji. Dalszym etapem badań była ocena efektywności terapii dwóch różnych postaci streptokokozы świń (nerwowa, stawowa) z użyciem anty-

biotyku cefotiofuru w zależności od stanu zaawansowania objawów chorobowych.

Gospodarstwa. Gospodarstwo „P” o zamkniętym cyklu produkcyjnym liczy 600 loch stada podstawowego, krzyżówki rasy wielkiej białej polskiej z polską białą zwisłouchą (wbp × pbz). Grupy technologiczne złożone z 30 loch prośnych tworzone są w odstępach 7-dniowych. Prosięta odsadzane są średnio w 28. dniu życia. Rocznie odchowywanych jest około 11 500 tuczników. Zasada „całe pomieszczenie pełne, całe pomieszczenie puste” (cpp-cpp) jest przestrzegana. Objawy nerwowe streptokokozы występują już przed odsadzeniem prosiąt, jednak dominuje postać stawowa, występująca głównie wśród warchlaków.

Ferma „W” jest gospodarstwem o zamkniętym cyklu produkcyjnym, którego stado podstawowe liczy 480 loch rasy wbp × pbz. Grupy technologiczne liczące po 24 maciory, tworzone są w odstępach 7-dniowych. Średni wiek prosiąt odsadzanych od macior wynosi 29 dni. Roczna produkcja tuczników kształtuje się na poziomie 7500 zwierząt. Zasada cpp-cpp nie jest przestrzegana. Ferma od 10 lat zakażona jest wirusem PRRS (PRRSV). Objawy streptokokozы ujawniają się zazwyczaj u 6-7-tygodniowych warchlaków. Najczęściej odnotowuje się postać mózgowo-oponową choroby charakteryzującą się drżączką, paralizem oraz niezdolnością do ruchów.

Preparat. W doświadczeniu zastosowano antybiotyk Naxcel (Pfizer). Substancją czynną preparatu jest cefotiofur zawieszony w nośniku olejowym pochodzenia roślinnego. Forma preparatu zapewnia długotrwałe działanie terapeutyczne w stosunku do niektórych patogenów, w tym *S. suis*, trwające co najmniej 7 dni.

Ocena aktywności *in vitro*. W celu identyfikacji charakterystycznych zmian chorobowych jako zakażeń *S. suis* oraz izolacji bakterii do badań nad antybiotykowrażliwością z chlewni „P” oraz

„W” pobrano materiał biologiczny w postaci zmienionej chorobowo tkanki mózgowej od 10 zwierząt z objawami nerwowymi i zmienione chorobowo stawy od 10 świń. Jałowo pobrany materiał biologiczny posiewano na agar z krwią końską (5%) z dodatkiem hodowli *Staphylococcus epidermidis*. Posiewy inkubowano w atmosferze 7-8% CO₂ przez 24-48 godzin w temperaturze 37°C. Wstępne rozpoznanie przeprowadzano na podstawie morfologii kolonii bakteryjnych, a do dalszej identyfikacji szczepów *S. suis* użyto testów API strep system, za pomocą których określono ich cechy biochemiczne. Wrażliwość *in vitro* na ceftiofur szczepów *S. suis* wyizolowanych z gospodarstw „P” i „W” badano zgodnie z zaleceniami The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), metodą krążkowo-dyfuzyjną na podłożu Müller-Hintona z 5% dodatkiem krwi z użyciem krążków zawierających 30 µg ceftiofuru (Oxoid). W zależności od strefy zahamowania wzrostu bakterii wyizolowane szczepy określano jako odporne, średnio wrażliwe lub wrażliwe (2).

Ocena aktywności *in vivo*. Efektywność terapii ceftiofurem ustalono na podstawie codziennych badań klinicznych świń chorych poddanych leczeniu. Po stwierdzeniu charakterystycznych objawów chorobowych zwierzęta przenoszono do osobnego kojca, kolczykowano i aplikowano antybiotyki. Przyjęto podział na grupę wykazującą objawy ze strony centralnego układu nerwowego (postać nerwowa) oraz grupę ze zmianami zapalnymi stawów (postać stawowa). W obrębie obu grup dokonano podziału chorych świń na trzy podgrupy w zależności od nasilenia objawów chorobowych.

Postać nerwowa: I – apatia, objawy zap. ucha wewnętrznego (ryc. 1A), II – wzrost wewnętrznej ciepłoty ciała (w.c.c.) powyżej 41,0°C, zaburzenia koordynacji ruchu (ryc. 1B), III – pozycja leżąca na boku, ruchy wiosłowe kończyn (ryc. 1C). Postać stawowa obejmowała: I – kulawizna zwierzęcia, brak widocznego obrzęku lub lekki obrzęk stawu (ryc. 2A), II – kulawizna i wyraźny obrzęk jednego stawu (ryc. 2B), III – zaawansowane zmiany zapalne w obrębie kilku stawów (*polyarthrititis*) (ryc. 2C).

Zwierzętom podawano ceftiofur w dawce 5 mg na kg m.c., co odpowiada 1 ml preparatu Naxcel na 20 kg m.c. (dawkowanie oraz sposób przygotowania wg zaleceń producenta). W przypadku, gdy jednorazowe podanie antybiotyku nie przynosiło pożądanego skutku powtarzano aplikację dwu lub trzykrotnie w odstępach tygodniowych.

Efektywność leczenia oceniano na podstawie liczby/odsetka świń, które powróciły do zdrowia w trakcie okresu obserwacji trwającego maksymalnie trzy tygodnie.

Wyniki i omówienie

Badaniem bakteriologicznym wyizolowano i zidentyfikowano 67 szczepów *S. suis*. W gospodarstwie „P” od 10 zwierząt z postacią nerwową oraz 10 z postacią stawową wyizolowano odpowiednio 14 i 17 szczepów, podczas gdy w analogicznych grupach w fermie „W” uzyskano 15 oraz 21 szczepów. Oceniając wrażliwość *in vitro* na ceftiofur wyizolowanych paciorkowców, stwierdzono wysoką lekowrażliwość na ten antybiotyk. Spośród 67 szczepów *S. suis* 66 (98,5%) charakteryzowało się pełną wrażliwością, a tylko jeden szczep (1,5%) wyizolowany ze stawu padłej świni w gospodarstwie „W” średnią wrażliwością. Nie stwierdzono obecności szczepów opornych *in vitro* na ceftiofur. W poprzednich badaniach własnych (13) spośród 393 szczepów *S. suis* wyizolowanych ze zmienionej tkanki płucnej 96,5% było *in vitro* wrażliwych na ten antybiotyk. Badania Crane i wsp. (8) wartości MIC dla ceftiofuru po kilkunastu latach stosowania tego antybiotyku wobec *S. suis* wykazały całkowitą antybiotyko-wrażliwość badanych szczepów. Także obserwacje Bur-

tona i wsp. (4) potwierdziły wysoką skuteczność ceftiofuru *in vitro* w stosunku do *S. suis*.

Wrażliwość bakterii na antybiotyki *in vitro* ma znaczenie podstawowe, nie zawsze jednak oznacza to dobrą skuteczność leczniczą chemioterapeutyku. Ta ostatnia zależy, między innymi, od stężenia, jakie osiąga w miejscu zakażenia i łatwości, z jaką przechodzi przez bariery anatomiczne ustroju. Na poziom ten wpływają właściwości farmakokinetyczne leku, takie jak: stopień absorpcji, dystrybucja czy metabolizm (10). Cefalosporyny, półsyntetyczne antybiotyki β -laktamowe z racji łatwego przechodzenia do tkanek i płynów ustrojowych są powszechnie uważane za skuteczne w leczeniu zapalenia szpiku kostnego, prostaty i stawów. Cefalosporyny III generacji przechodzą przez barierę krew/mózg i dlatego często są zalecane w leczeniu bakteryjnego zapalenia opon mózgowych (1, 19).

Podanie ceftiofuru zawartego w preparacie Naxcel nie spowodowało żadnych widocznych zmian zapalnych w miejscu iniekcji ani ogólnych reakcji ubocznych u leczonych świń. Wyniki dotyczące efektywności postępowania terapeutycznego przedstawiono na ryc. 3 i 4.

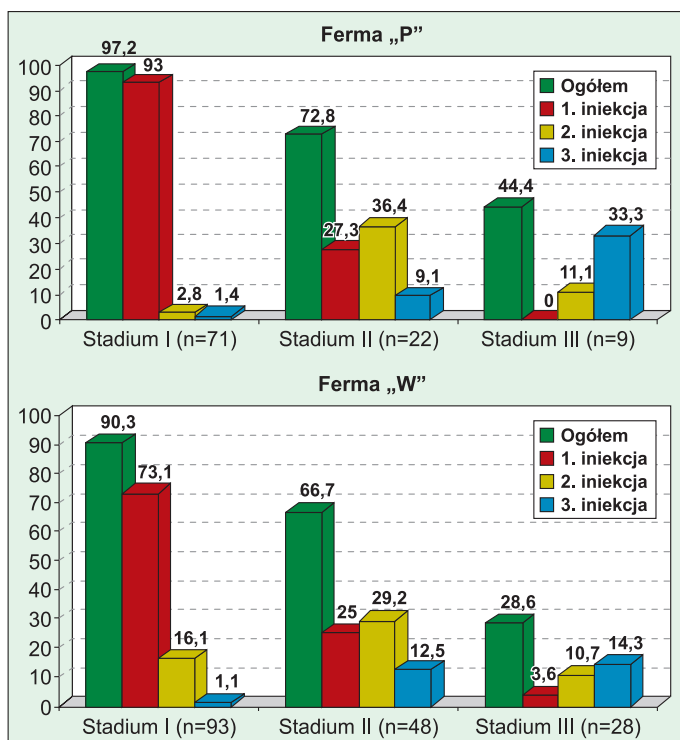
Efektywność leczenia formy nerwowej streptokokoz. Skuteczność terapii I – początkowego stadium nerwowej postaci streptokokoz okazała się w obu fermach bardzo wysoka. Odsetek wyleczeń w gospodarstwie „P” wyniósł 97,2%, a w fermie „W” – 90,3%.

Równolegle oceniano grupy zwierząt ze średnim zaawansowaniem objawów nerwowych. Odsetek wyleczeń postaci nerwowej był wyraźnie niższy i w gospodarstwie „P” wyniósł 72,8% w trakcie trzech tygodni obserwacji. Pełne wyleczenie po pierwszej iniekcji nastąpiło u 27,3% zwierząt, po drugiej u 36,4% i po trzeciej u 9,1%. Sześciu z 22 świń nie udało się skutecznie wyleczyć. Uzyskane wyniki w analogicznej grupie w gospodarstwie „W” wyniosły 66,7%. Po pierwszym podaniu Naxcelu wyleczonych było 12 (25%) świń; po drugim 14 (29,2%) i po trzecim 6 (12,5%).

Odsetek wyleczeń świń w trzecim stadium – o dużym zaawansowaniu – objawów nerwowych był stosunkowo niski i wyniósł w gospodarstwie „P” 44,4% przypadków, a w obiekcie „W” tylko 28,6%. Wprawdzie stan ogólny zwierząt, które ostatecznie wyzdrowiały, poprawił się już po pierwszej iniekcji preparatu, ale do całkowitej i trwałej regresji objawów doszło w kolejnych podaniach antybiotyku. W gospodarstwie „P” wyleczenie nastąpiło po trzeciej (33,3% wyleczeń), a w fermie „W” po drugiej (10,7%) i trzeciej iniekcji antybiotyku (14,3%).

Efektywność leczenia formy stawowej streptokokoz. Skuteczność leczenia I – początkowego stadium formy stawowej streptokokoz w fermie „P” wyniosła 100%, a w gospodarstwie „W” 98%. Jednorazowa aplikacja antybiotyku o przedłużonym okresie działania spowodowała trwały zanik kulawizny u znacznej większości zwierząt z grupy.

W grupie zwierząt ze średnio zaawansowanymi zmianami zapalnymi stawów efektywność terapii była mniej zadowalająca. Dla wyleczenia tych zwierząt potrzeba było zwykle dwóch lub nawet trzech iniekcji antybiotyku. Skuteczność leczenia w czasie obserwacji w obiekcie „P” wyniosła 56%, a w fermie „W” 47,7%.



Ryc. 3. Skuteczność terapii postaci nerwowej streptokokozji świń w zależności od zaawansowania (stadium) procesu chorobowego w fermach „P” i „W”

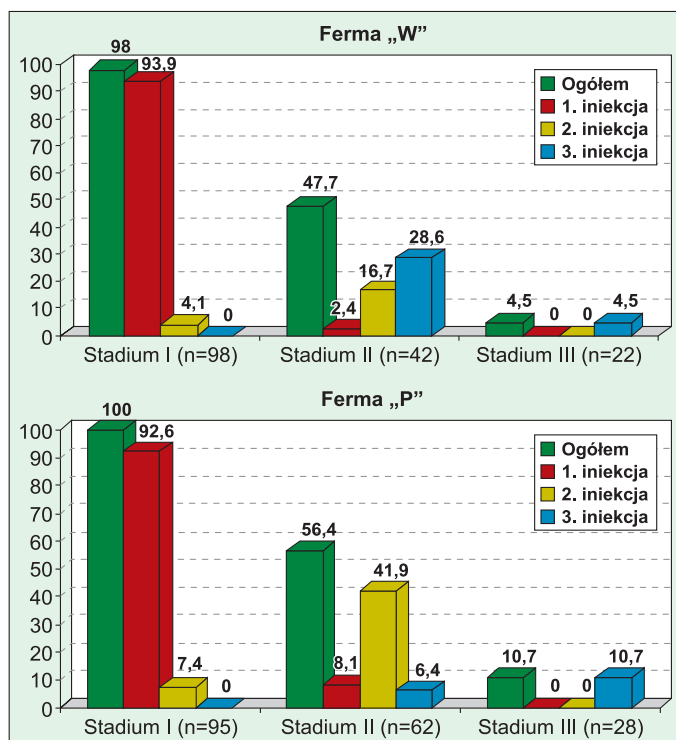
Efektywność terapii najcięższych przypadków była bardzo mała. Postępowanie w odniesieniu do *polyarthritus* w okresie trzech tygodni obserwacji było skuteczne w 10,7% przypadków w obiekcie „P” oraz tylko u jednego warchlaka (4,5%) w fermie „W”.

Odnotowane przypadki niepowodzeń w leczeniu postaci stawowej, w przeciwieństwie do efektywności leczenia postaci nerwowej, na ogół nie polegały na zejściu śmiertelnym, lecz na przewlekłych stanach zapalnych wykraczających poza ramy czasowe obserwacji i wymagających dalszego postępowania terapeutycznego lub, co było regułą, wybrakowania nieuleczalnie chorych zwierząt.

Wyniki terapii osiągnięte w gospodarstwie „P” okazały się lepsze od uzyskanych w obiekcie „W”, niezależnie od postaci oraz stadium choroby. Nie bez znaczenia dla skuteczności terapii wydają się warunki środowiskowe, status zdrowotny stada czy obecność czynników immunosupresyjnych (zakażenie PRRSV), które mogą rzutować na powodzenie leczenia.

Przedstawione dane dotyczące klinicznej skuteczności antybiotyku potwierdzają wysoką aktywność *in vitro* cefotiofuru, a także, co ma znaczenie decydujące, dobrą penetrację antybiotyku do stawów i płynu mózgowo-rdzeniowego w procesie zapalnym oraz osiąganie stężenia terapeutycznego w miejscu zakażenia (3, 10).

Reasumując można stwierdzić, że cefalosporyna trzeciej generacji – cefotiofur – cechuje się dużą skutecznością w terapii wcześniej wykrytych zmian chorobowych nerwowej i stawowej postaci streptokokozji. Przedłużanie się procesu zapalnego powoduje tworzenie się w zakażonych tkankach biofilmu bakteryjnego (16, 17) oraz nieodwracalnych zmian (ropień, zapalenie wytwórcze przewlekłe) (9), co drastycznie zmniejsza powodzenie terapii.



Ryc. 4. Skuteczność terapii postaci stawowej streptokokozji świń w zależności od zaawansowania (stadium) procesu chorobowego w fermach „P” i „W”

Piśmiennictwo

1. Abraham E. P.: Cephalosporins 1945-1986. *Drugs* 1987, 34, 1-14.
2. Anon.: NCCLS Draft: Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard Second Edition, Wayne 2001, 19, 11.
3. Beconi-Barker M. G., Hornish R. E., Vidmar T. J., Dame K. J., Brown S. A.: Cefotiofur hydrochloride: plasma and tissue distribution in swine following intramuscular administration at various doses. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1996, 19, 192-199.
4. Burton P. J., Thornsberry C., Cheung Yee Y., Watts J. L., Yancey R. J.: Interpretive criteria for antimicrobial susceptibility testing of ceftiofur against bacteria associated with swine respiratory disease. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1996, 8, 464-468.
5. Chancel G. G., Hoban D. J., Harding K.: The antibiotic effect: a review of in vitro and in vivo data. *Drug Intel. & Clin. Ph.* 1991, 25, 153-163.
6. Chanter N., Jones P. W., Alexander T. J.: Meningitis in pigs caused by *Streptococcus suis* a speculative review. *Vet. Microbiol.* 1993, 36, 39-55.
7. Cheng A. F., Oo K. T., Li E. K., French G. L.: Septic arthritis caused by *Streptococcus suis* serotype 2. *J. Infect.* 1987, 14, 237-241.
8. Crane J. P., Portis E. S., Lindeman C. J., Salomon S. A., Case C. A.: Minimum inhibitory concentration determinations for ceftiofur against swine pathogens from United States and Canada in 2001-2002. *Proc. 18th Internat. Pig Veterinary Society Congress, Hamburg 2004*, s. 534.
9. Gronowski J.: Patomorfologia. PZWL, Warszawa 1981.
10. Kania B. F.: Chemioterapia weterynaryjna. Wyd. Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa 1997.
11. Katsumi M., Kataoka Y., Takahashi T., Kikuchi N., Hiramune T.: Bacterial isolation from slaughtered pigs associated with endocarditis, especially the isolation of *Streptococcus suis*. *J. Vet. Med. Sci.* 1997, 59, 75-78.
12. Madsen L. W., Svensmark B., Elvestad K., Aalbak B., Jensen H. E.: *Streptococcus suis* serotype 2 infection in pigs: new diagnostic and pathogenetic aspects. *J. Comp. Pathol.* 2002, 126, 57-65.
13. Pejsak Z., Jabłoński A., Żmudzki J.: Lekowrażliwość bakterii chorobotwórczych układu oddechowego świń. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 664-668.
14. Pejsak Z., Tarasiuk K., Sadoch L.: Nagłe zachorowania i padnięcia warchlaków i tuczników na tle zakażeń *Streptococcus suis* typ 2. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 251-254.
15. Reams R. Y., Glickman L. T., Harrington D. D., Thacker H. L., Bowersock T. L.: *Streptococcus suis* infection in swine: a retrospective study of 256 cases. Part II. Clinical signs, gross and microscopic lesions, and coexisting microorganisms. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1994, 6, 326-334.
16. Singh P. K., Parsek M. R., Greenberg E. P., Welsh M. J.: A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature* 2002, 417, 552-555.
17. Stewart P. S.: Diffusion in biofilms. *J. Bacteriol.* 2003, 185, 1485-1491.
18. Williams A. E., Blakemore W. F.: Pathogenesis of meningitis caused by *Streptococcus suis* type 2. *J. Infect. Dis.* 1990, 162, 474-481.

Adres autora: lek. wet. Artur Jabłoński, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: artur.jablonski@piwet.pulawy.pl