

Wrażliwość drobnoustrojów wyizolowanych z mleka ćwiartkowego krów na antybiotyki

Danuta Borkowska, Monika Bąk

AR w Lublinie, Wydział Nauk Rolniczych w Zamościu

Leki zawierające antybiotyki, stosowane w przypadku krów mlecznych dowymieniowo, mogą spełniać funkcje terapeutyczne lub profilaktyczne. W celach terapeutycznych podawane są dowymieniowo podczas laktacji. Ustalenie czasu działania preparatu antybiotykowego nie jest równoznaczne z okresem całkowitej jego eliminacji z organizmu. Po ustąpieniu objawów jego działania jeszcze przez pewien czas (kilka dni i dłużej) stwierdza się w tkankach i płynach ustrojowych (w produktach pochodzenia zwierzęcego – mleko, mięso) pozostałości leków i ich metabolitów. Okres karencji ustalany jest ze względu na bezpieczeństwo człowieka. Jest to określony czas, w którym dochodzi do całkowitej lub prawie zupełnej eliminacji leku z organizmu zwierzęcego. Rozpoczyna się on z chwilą zaprzestania stosowania antybiotyku i jest konieczny do uniknięcia występowania ewentualnych zmian w organizmie człowieka – kancerogenności, alergenności [20] lub mutagenności [6]. Czas trwania okresu karencji dla poszczególnych terapeutyków jest różny dla mleka i tkanek jadalnych (tab. 1). W przypadku mleka mieści się on w granicach od 3 do 6 dni, natomiast tkanek jadalnych – od 3 do 30 dni.

Drugą grupę antybiotyków dowymieniowych stanowią preparaty podawane krowom w okresie zasuszania. Nazwy handlowe, substancje czynne zawarte w tych lekach i czas trwania karencji przedstawiono w tabeli 2. W przypadku zastosowania antybiotyków dowymieniowych w czasie zasuszania okres karencji dla mleka jest bardzo różny i na przykład przy zastosowaniu preparatu Cefa-safe określony został on do dwóch udojów po wycieleniu. Po zastosowaniu Fatroximinu D.C. mleko od leczonych krów może być wykorzystane po upływie 2 dni po porodzie. W przypadku pozostałych preparatów antybiotykowych karencja dla mleka powinna wynosić od 3 do 6 dni po wycieleniu. Okres karencji dla tkanek jadalnych jest znacznie dłuższy i waha się od 5 do 40 dni, bądź też nie obowiązuje. np. w przypadku Fatroximinu D.C.

Antybiotyki pod względem chemicznym należą do różnych grup – od prostych i drobnocząsteczkowych związków (chloramfenikol) do wielocząsteczkowych – makrolidy (erytromycyna). Wszyst-

kie jednak działają przez zakłócenie procesów decydujących o wzroście, przeżywalności lub replikacji drobnoustrojów. Leki mogą działać bakteriostatycznie (*bacteriostatica*) – np. tetracyklina, chloramfenikol, linkomycyn, lub bakteriobójczo (*bacteriocida*) – np. penicylina, aminoglikozydy (m.in. gentamycyna, kanamycyn, streptomycyna) [6].

Mechanizmy działania farmakologicznego leków są bardzo różne. Leki mogą działać w sposób fizyczny (np. mechanizm osmotyczny działania soli przeczyszczających), inne wchodzi w reakcje chemiczne ze składnikami komórkowymi (środki odkażające – oksyredukcja, wiązanie i strącanie białek). Antybiotyki mogą też łączyć się w drodze powinowactwa z enzymami w obrębie struktur komórkowych, wpływając na transport komórkowy. Zastępując naturalne metabolity są one w stanie hamować przemiany komórkowe [1]. Działanie większości leków, zgodnie z teorią receptorową, polega na tym, że łączą się one z wybiórczo reagującymi strukturami komórek – receptorami. Połączenie większości leków z makroelementarnym składnikiem komórkowym (receptorem) następuje za pomocą wiązań van der Waalsa, wiązań jonowych, rzadziej wodorowych. Z uwagi na stosunkowo słaby charakter tych wiązań ulegają one szybkiemu rozpiciu, a w konsekwencji lek łatwo odszczepia się od receptora i ustaje jego działanie [6].

W przypadku zastosowania antybiotyków w terapii mastitis u krów, preferuje się wprowadzanie ich drogą parenteralną (pozajelitową). Leki można zaaplikować zwierzętom domięśniowo lub dowymieniowo. W przypadku pierwszego sposobu antybiotyk dostaje się do przestrzeni limfatycznej i jest bezpośrednio resorbowany do krwi, natomiast w drugim – lek

Tabela 1
Nazwy handlowe antybiotyków, zawarte w nich składniki czynne oraz obowiązujące okresy karencji na leki stosowane w okresie laktacji (wg. HOVET)

Nazwa leku	Składniki czynne	Okresy karencji	
		mleko (dni)	tkanki jadalne (dni)
AMPICLOX L.C.	ampicylina, kloksacylina	3	7
CLOXA COLI	kloksacylina, kolistyna	6	6
LACTACLOX	ampicylina, kloksacylina	5	7
LINCOCIN FORTE	linkomycyna, neomycyna, metyloprednizolon	5	14
LINKOMYCIN F	linkomycyna, neomycyna, deksametazon	5	14
MASTIJET FORTE	tetracyklina, neomycyna, bacytracyna, prednizolon	5	30
MASTISAN MC	penicylina prokainowa, neomycyna	3	5
MASTI VEYXYM	trypsyna, chymotrypsyna, papaina, witamina A	nie	nie
MULTIMASTIT	penicylina prokainowa, streptomycyna, neomycyna, prednizolon	3	7
NAFPENZAL MC	penicylina prokainowa, dihydrostreptomycyna, nafcylina	5	3
PATHOZONE	cefoperazon	3	3
SYNULOX L.C.	amoksycylina, kwas klawulanowy, prednizolon	72 godz.	7
SYNTARPEN 500	kloksacylina	6	6
TERRAXINE	cefaleksyna, kanamycyna	4	21
TETRA DELTA	prednizolon, neomycyna, penicylina prokainowa, nowobiocyna, dihydrostreptomycyna	72 godz.	7
VETRAMYCIN	–	4	7
OMNYGRAM	kolistyna, ampicylina	6	6

Tabela 2
Nazwy handlowe antybiotyków, zawarte w nich składniki czynne oraz obowiązujące okresy karencji na leki stosowane w okresie zasuszania (wg. HOVET)

Nazwa leku	Składniki czynne	Okresy karencji	
		mleko	tkanki jadalne (dni)
ALBADRY PLUS	penicylina prokainowa, nowobiocyna	3 dni po wycieleniu	30
BOVACLOX D.C.	ampicylina, kloksacylina	4 dni po wycieleniu	28
CLOXAMED – TS	kloksacylina sodowa, kloksacylina benzatynowa	6 dni po wycieleniu	40
CEFA – SAFE	cefapiryna	2 udoje po wycieleniu	21
CEPRAVIN	cefalonium	4 dni po wycieleniu	21
FATROXIMIN D.C.	rifaximina	2 dni po wycieleniu	nie obowiązuje
NAFPENZAL DC	penicylina prokainowa; dihydrostreptomycyna, nafcylina	4 dni po wycieleniu	35
MASTISAN MC	penicylina prokainowa, neomycyna	3 dni	5
ORBENIN D.C.	kloksacylina	4 dni po wycieleniu	28
ORBENIN E.D.C.	kloksacylina	4 dni po wycieleniu	28
SICCOVET	penicylina prokainowa, streptomycyna, witamina A, pantotnian wapnia	5 dni po wycieleniu	21
SYNTARPEN PROL.	kloksacylina	5 dni po wycieleniu	40
NEMAST DC	erytromycyna, neomycyna	3 dni po wycieleniu	nie obowiązuje

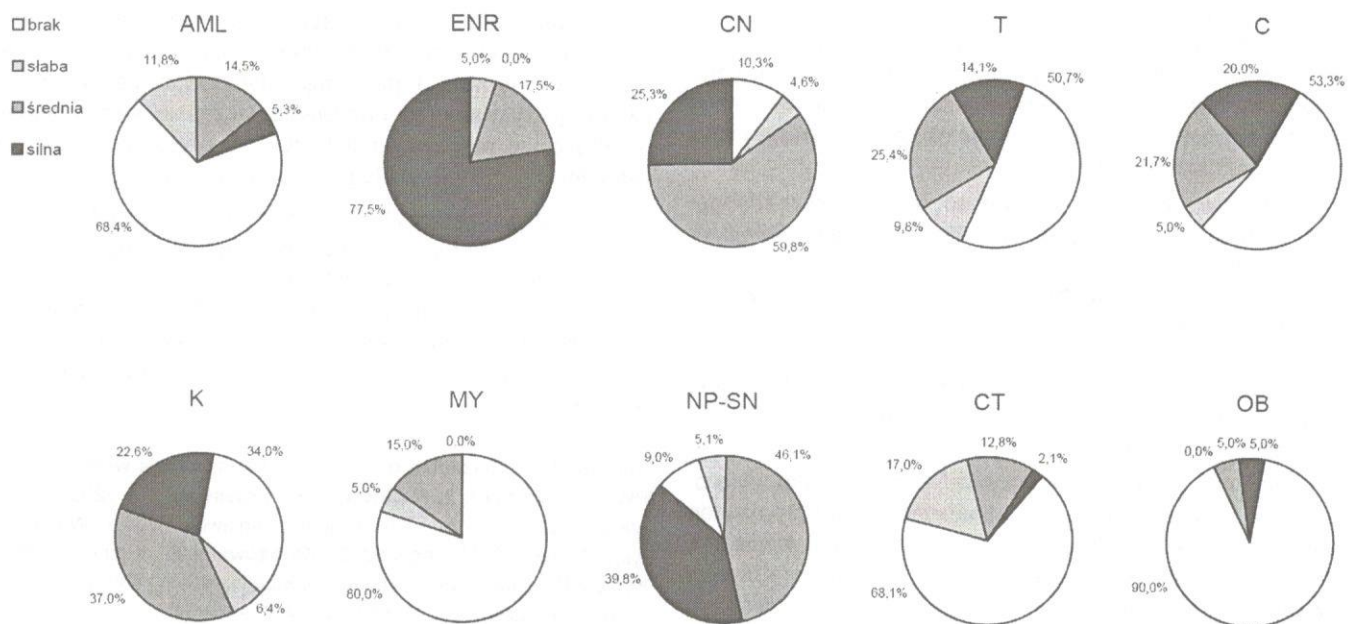
wprowadzony zostaje przez kanał strzykowy w postaci emulsji, maści lub roztworu. Lek podany dowymieniowo słabo się wchłania do krwiobiegu i działa głównie miejscowo [20].

Metabolizm (biotransformacja) leków przebiega głównie w wątrobie, rzadziej w nerkach, śluzówce jelit czy łożysku. Polega on na utlenianiu, redukcji i hydrolizie chemioterapeu-

tyków [1, 6]. Procesy te mogą lek unieczynnąć lub przekształcać w postać aktywną, przy czym powstająca w ten sposób modyfikacja struktury leku z reguły umożliwia reakcję sprzęgania (koniugacji). Reakcja ta unieczynnia aktywne związki i przez zmianę struktury przystosowuje do wydalenia z moczem. Związkami sprzęgającymi leki są kwas glukuronowy, siarkowy i aminokwasy. Reakcja sprzęgania wymaga ponadto energii (ATP) i aktywności enzymów znajdujących się w mitochondriach [1].

Drobnoustroje, pomimo niszczącego działania antybiotyków, są w stanie uodpornić się na poszczególne leki. Oporność patogenów może być naturalna (trwała cecha gatunku występująca jeszcze przed jakimkolwiek kontaktem z terapeutycznym) lub nabyta, rozwijająca się pod wpływem wielu czynników. Może ona występować w wyniku selekcji, polegającej na eliminacji osobników wrażliwych na dany antybiotyk lub też adaptacji, tj. wykształcenia się oporności w wyniku stykania się z lekiem.

Innym bodźcem sprzyjającym rozwojowi oporności nabytej jest transdukcja. Polega ona na pozachromosomalnym przekazywaniu cząsteczek materiału genetycznego (plazmidów) w obrębie jednego gatunku z patogenów opornych – na wrażliwe za pośrednictwem bakteriofaga. Do rozwoju oporności nabytej przyczynia się także proces koniugacji, tj. przenoszenia plazmidów pomiędzy różnymi gatunkami drobnoustrojów w czasie bezpośredniego kontaktu dwóch komórek bakteryjnych. Przenoszona przez plazmidy informacja dotyczy syntezy enzymów rozkładających antybiotyki. W przypadku np. tetracyklin odnosi się ona do zablokowania penetracji tych antybiotyków (np. tetracykliny, chlorotetracykliny, oksytetracykliny) do komórki bakteryjnej [6].



Rys. Wrażliwość drobnoustrojów wyizolowanych z mleka ćwiartkowego na testowane antybiotyki (AML – amoksylicyna, ENR – enrofloksacyna, CN – gentamycyna, T – tetracyklina, C – chloramfenikol, K – kanamycyn, MY – linkomycyn, NP-SN – tetra-delta, CT – kolistyna, OB – kloksacylina)

W związku z różnorodnością patogenów, wywołujących zapalenia gruczołów mlekowych, w ich leczeniu stosowana jest cała gama terapeutyków. Niektóre leki stosowane w terapii zawierają pojedynczy antybiotyk, częściej jednak jest to zestaw kilku preparatów. Przykładem takiego zestawu jest tetra-delta (NP-SN), w skład którego wchodzi prednizolon, neomycyna, penicylina prokainowa, nowobiocyna, dihydrostreptomycyna.

W terapii mastitis leki najczęściej podawane są dowymieniowo, za pomocą jednorazowych tubostrzykawek. Nie wszystkie jednak leki stosowane w leczeniu zapaleń gruczołów mlekowych są w typowych, wygodnych tubostrzykawkach. Z wywiadu przeprowadzonego z lekarzami weterynarii wynika, że często w terapii wykorzystują także preparaty sporządzane przez siebie. Należy do nich m.in. enrofloksacyna (ENR), która przed dowymieniowym zaaplikowaniem mieszana jest z fizjologicznym roztworem NaCl.

Celem badań było określenie wrażliwości na antybiotyki drobnoustrojów wyizolowanych z 92 prób mleka ćwiartkowego, pobranych z gruczołów wykazujących dodatni lub silnie dodatni wynik testu TOK. Ocenę stopnia wrażliwości drobnoustrojów na testowane antybiotyki wykonano metodą krążkowo-dyfuzyjną, której podstawą jest przenikanie antybiotyku z krążka do podłoża stałego i jego wpływ na rosnący na tym podłożu szczep [2]. Miarą wrażliwości wyizolowanych szczepów na testowany antybiotyk była średnica strefy zahamowania wzrostu wokół krążka nasyczonego poszczególnymi antybiotykami. Na tej podstawie wyodrębniono 4 warianty wrażliwości: 0 – niewrażliwy; 1 – słabo wrażliwy; 2 – średnio wrażliwy; 3 – silnie wrażliwy.

Testowano następujące antybiotyki (w różnych kombinacjach): amoksycylinę (AML), enrofloksacynę (ENR), gentamycynę (CN), tetracyklinę (T), chloramfenikol (C), kanamycyn (K), linkomycyn (MY), tetra-deltę (NP-SN), kolistynę (CT) oraz kloksacylinę (OB) – rysunek.

Spośród ogółu testowanych antybiotyków największej skuteczności leczenia mastitis można było oczekiwać w przypadku stosowania enrofloksacyny (ENR). Spośród ogółu prób w 77,5% przypadków stwierdzono 3 stopień wrażliwości na ten lek, a w 17,5% próbach – 2 stopień wrażliwości. Niskiego stopnia wrażliwości nie wykazano w żadnej próbie, natomiast w 5,0% antybiotyk ten nie mógł być skuteczny. Stopień wrażliwości wynosił bowiem 0.

Stosunkowo wysoką efektywność w zwalczaniu patogenów chorobotwórczych wykazała także tetra-delta (NP-SN), bowiem 39,8% przypadków świadczyło o silnej, a 46,1% o średniej wrażliwości drobnoustrojów na ten antybiotyk. Słabą aktywność leku wykazano w 5,1% prób, a zupełną oporność patogenów odnotowano w 9,0% przypadków. Spośród ogółu prób, w których testowano gentamycynę (CN), w większości stwierdzono średnią (59,8%) i silną (25,3%) wrażliwość drobnoustrojów na ten lek.

Przebieg skuteczności leczenia mastitis można było oczekiwać podczas stosowania kanamycynu (K). Preparat ten testowano w 62 próbach, z czego w 21 (34,0%) wykazano brak wrażliwości. Słaby, średni i silny stopień wrażliwości stwierdzono odpowiednio: w 4 próbach (6,4%); 23 próbach (37,0%) oraz 14 próbach (22,6%).

Testowanie amoksycyliny (AML) w wielu przypadkach wykazywało zupełną oporność patogenów w stosunku do tego terapeutyku. Spośród 76 prób w 52 przypadkach, co stano-

wiło 68,4%, wykazano brak wrażliwości na amoksycylinę (AML). W 9 próbach (11,8%) odnotowano słabą skuteczność leku w zwalczaniu patogenów, natomiast średnią skuteczność stwierdzono w 11 próbach (14,5%). Silny stopień wrażliwości drobnoustrojów odnotowano zaledwie w 4 przypadkach (5,3%).

Podobną do amoksycyliny (AML) skuteczność działania odnotowano w przypadku kolistyny (CT). Brak wrażliwości na ten preparat stwierdzono w 32 próbach (68,1%), a słabą i średnią odpowiednio: w 8 próbach (17,0%) i 6 próbach (12,8%). Silny stopień wrażliwości na ten lek odnotowano zaledwie w 1 próbie (2,1%). Podobnie, jak w przypadku amoksycyliny (AML) i kolistyny (CT), zupełną oporność patogenów w większości prób stwierdzono w odniesieniu do tetracykliny (T – 50,7%), chloramfenikolu (C – 53,3%), linkomycynu (MY – 80,0%) i kloksacyliny (OB – 90,0%). Jednak w przypadku tetracykliny (T) i chloramfenikolu (C) wyizolowane drobnoustroje częściej, w porównaniu z amoksycyliną (AML) i kolistyną (CT), były silnie (3) i średnio (2) wrażliwe. Wartości stwierdzone dla tych antybiotyków (T i C) wynosiły 14,1% i 20,0% w przypadku 3 stopnia wrażliwości, a w odniesieniu do 2 stopnia wrażliwości odpowiednio: 25,4% i 21,7%.

Do preparatów o najniższej efektywności terapeutycznej zaliczono kloksacylinę (OB) i linkomycyn (MY). Spośród 40 prób kloksacyliny (OB) aż w 36 przypadkach (90,0%) wykazano 0 stopień wrażliwości. W pozostałych 4 próbach wrażliwość ta była na poziomie średnim (2 próby – 5,0%) lub silnym (2 próby – 5,0%). Linkomycyn (MY) w zdecydowanej większości prób (16 z 20, co stanowiło 80,0%) zupełnie nie zwalczało wyizolowanych patogenów, a stopień ich wrażliwości wynosił 0. W jednym przypadku (5,0%) stwierdzono słabą wrażliwość na ten lek, a w pozostałych trzech (15,0%) odnotowano średnią skuteczność linkomycynu (MY). W żadnej próbie wrażliwość drobnoustrojów na ten antybiotyk nie została określona jako silna.

Antybiotyki stanowią ciągle podstawową grupę środków stosowanych w leczeniu i zapobieganiu mastitis u krów. Jednakże analiza danych piśmiennictwa wskazuje na coraz mniejsze efekty terapii przeciwbakteryjnej, mimo wytwarzania coraz to nowszych generacji antybiotyków. Jedną z przyczyn tego zjawiska jest nabywanie, wcześniej wspomnianej, oporności na preparaty antybiotykowe przez drobnoustroje uważane za czynnik etiologiczny mastitis [3, 4, 5].

Przedstawione wyniki wskazują, że antybiotykoterapia mastitis powinna być poprzedzona diagnozą stopnia wrażliwości drobnoustrojów, wyizolowanych z mleka ćwiartkowego, na leki. W przeciwnym razie leczenie może okazać się nieskuteczne, a hodowca poniesie koszty wynikające z przedłużającej się terapii oraz ze zmniejszenia ilości mleka towarowego.

Literatura: 1. Garbuliński T., 1984 – Farmakologia weterynaryjna. PWRiL, Warszawa. 2. Malinowski E., Kłossowska A., 2002 – Diagnostyka zakażeń i zapaleń wymienia. Państwowy Instytut Weterynaryjny, Puławy. 3. Malinowski E., Kłossowska A., Kuźma K., Krukowski H., 1992 – Medycyna Weterynaryjna 48 (8), 366-367. 4. Malinowski E., Lassa H., Kłossowska A., Lesiak M., 2004 – Medycyna Weterynaryjna 60 (2), 176-180. 5. Malinowski E., Piłaszek J., Kłossowska A., Sobolewska S., Sobolewski J., 1997 – Medycyna Weterynaryjna 53 (12), 722-725. 6. Roliński Z., 1994 – Zarys farmakoterapii weterynaryjnej. PWRiL, Warszawa.