

Skuteczność enrofloksacyny i marbofloksacyny w zwalczaniu bakterii wyizolowanych u psów i kotów - badanie *in vitro* pod kątem lekooporności

Elisabeth Müller, Silke Hom

Dzięki szerokiemu spektrum działania oraz korzystnym właściwościom farmakologicznym fluorochinolony zajmują bardzo istotne miejsce wśród leków i właśnie ze względu na swój wysoki potencjał terapeutyczny nie powinny być stosowane często ani też w leczeniu banalnych infekcji, gdyż tylko w ten sposób możliwe jest uniknięcie selekcji towarzyszącej kształtowaniu się lekooporności na tę grupę leków. Dane dotyczące poziomu lekooporności oraz skuteczności *in vitro* stanowią ułatwiają prawidłowe stosowanie leku w praktyce.

Dostępna od 1989 roku do celów weterynaryjnych enrofloksacyna pod nazwą Baytril® była pierwszym antybiotykiem z grupy fluorochinolonów dopuszczonym do stosowania w leczeniu zwierząt domowych.

Na dzień dzisiejszy jest ona najczęściej stosowanym lekiem z tej grupy. Z informacji zamieszczonych w portalu www.vetidata.de wynika, iż na terenie Niemiec dostępne są obecnie cztery inne leki weterynaryjne dopuszczone do stosowania w leczeniu psów i kotów – difloksacyna, ibafloksacyna, marbofloksacyna i orbifloksacyna.

Są to również antybiotyki z grupy fluorochinolonów, a ich właściwości farmakologiczne są częściowo zbliżone (Kroger, 2006). Każdy z tych leków posiada korzystne właściwości farmakokinetyczne oraz szerokie spektrum działania. Enrofloksacyna wyróżnia się tym, iż u różnych gatunków zwierząt ulega przemianie metabolicznej w cyprofloksacyne, która pod względem aktywności chemoterapeutycznej jest co najmniej porównywalna z enrofloksacyną. Ze względu na negatywny wpływ na chrząstki stawowe w fazie wzrostu oraz stymulujące działanie na ośrodkowy układ nerwowy obowiązują określone ograniczenia w stosowaniu tego leku u młodych, rosnących jeszcze zwierząt, a także u zwierząt z padaczką. Fluorochinolony są inhibitorem bakteryjnej gyrazy DNA i mają działanie bakteriobójcze. Ich spektrum działania obejmuje prawie wszystkie bakterie Gram-ujemne oraz ważniejsze bakterie Gram-dodatnie, a także mykoplazmy. Wyjątek stanowią paciorkowce, beztlenowce i enterokoki, wobec których wskutek działania naturalnych czynników lek nie jest dostatecznie skuteczny. U psów i kotów lek stosuje się przede wszystkim w infekcjach układu oddechowego, narządów trawiennych, dróg moczowych, infekcjach skórnych i zakażeń ran wywołanych bakteriami takimi jak *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae*, *Hemophilus*, *Pasteurella* i *Staphylococcus*. Wystąpienie oporności względem substancji bakteriobójczych oznacza ograniczenie możliwości terapeutycznych, a tym samym stanowi zagrożenie dla zdrowia zwierząt i ludzi. W związku z rosnącym powszechnie stopniem oporności antybiotykowej drobnoustrojów od lat dziewięćdziesiątych przedmiotem ostrej krytyki jest stosowanie antybiotyków do celów weterynaryjnych, a w szczególności u zwierząt stanowiących źródło pożywienia. Powodem jest obawa, iż czynniki odpowiedzialne za kształtowanie się lekooporności mogą przechodzić z patogenów zwierzęcych na patogeny ludzkie oraz że lekooporne patogeny chorób odzwierzęcych mogą się rozprzestrzeniać bezpośrednio ze zwierząt lub produktów odzwierzęcych na ludzi. Uwzględniając krytykę wysuwaną pod adresem weterynarii na przestrzeni ostatnich lat wypracowano instrumenty w zakresie prewencji lekooporności, które za wzorcowe uznał również świat medyczny (BVL, 2004).

Istotnym elementem prewencji są „Wytyczne w zakresie starannego stosowania antybakteryjnych leków weterynaryjnych” (Wytyczne o stosowaniu antybiotyków z 2000 r.), w których podkreśla się, że antybiotyki są niezbędne do ochrony zdrowia zwierząt, lecz jednocześnie apeluje o to, aby ich stosowanie miało miejsce wyłącznie w przypadku

rzeczywistej konieczności oraz po dokonaniu starannego doboru leku. Podstawę doboru leku powinna zawsze stanowić identyfikacja patogenu oraz antybiogram, a w ostrych przypadkach co najmniej dokładna diagnoza kliniczna oraz określenie prawdopodobnego patogenu. Innym ważnym instrumentem prewencji są programy monitorowania lekooporności. Ich celem jest wczesne rozpoznawanie krytycznych procesów, a w razie potrzeby ograniczenie stosowania konkretnych leków w zakresie pozwalającym na obniżenie lekooporności lub przynajmniej utrzymanie jej na stałym poziomie dzięki zminimalizowanej selekcji.

Ze względów dyktowanych ochroną konsumenta systematyczne i standardowe badania weterynaryjne w dziedzinie lekooporności – o ile są prowadzone – ograniczają się z reguły do patogenów występujących u zwierząt stanowiących źródło pożywienia. W Niemczech od 2001 roku realizowany jest oficjalny program monitorujący pod nazwą *GERM-Vet* prowadzony przez Federalny Urząd ds. Ochrony Konsumentów i Bezpieczeństwa Żywności. Ponadto w okresie od 2004 do 2006 roku z inicjatywy Federalnego Zrzeszenia na rzecz Zdrowia Zwierząt (BfT) zrealizowano projekt pod nazwą „BfTGermVet“, w ramach którego dodatkowo przebadano m.in. patogeny wyodrębnione u psów i kotów (Schwarz et al., 2007a). Poza wspomnianym programem obecnie prowadzi się niewiele badań i projektów (również w innych krajach) zajmujących się w sposób systematyczny lekoopornością chorobotwórczych drobnoustrojów u psów i kotów. Niniejsze badanie stanowi fachowy i praktyczny przyczynek do analizy aktualnego stanu lekooporności oraz do prawidłowego stosowania antybiotyków w myśl obowiązujących wytycznych. Badaniem objęto niezwykle dużą liczbę wyodrębnionych bakterii, co umożliwiło również przedstawienie uzyskanych wyników oddzielnie dla psów i kotów. Włączenie do badania enrofloksacyny i marbofloksacyny pozwoliło ustalić różnice pomiędzy tymi dwoma lekami, a także nakreślić w drodze porównania ogólny trend dla fluorochinolonów względem innych grup antybiotyków. Do każdego z gatunków i szczepów bakterii objętych badaniem odnosi się zawsze jedno bądź kilka z poniższych kryteriów określających ich istotność z punktu widzenia prewencji lekooporności. Kryteria te są następujące: patogen o dużym znaczeniu w weterynarii zwierząt domowych i/lub patogen o lekooporności na krytycznym poziomie bądź o naturalnie niskiej wrażliwości na leki i/lub drobnoustroj o potencjalnie wysokiej patogeniczności chorób odzwierzęcych.

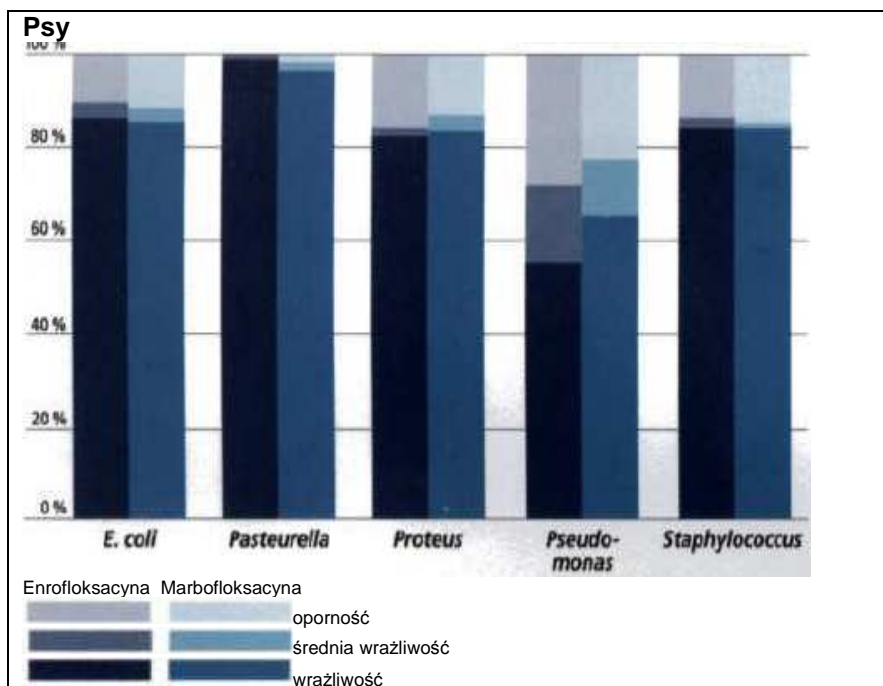
Materiał i metody

W badaniu wykorzystano próbki materiałów nadesłanych do rutynowej diagnostyki w okresie od lipca 2006 do czerwca 2007 roku. W ramach badania analizie poddano 5152 próbek materiału pozyskanego od psów i 1966 próbek pozyskanych od kotów. Materiał diagnostyczny obejmował próbki skóry i sierści, próbki z dróg moczowo-płciowych, próbki moczu, próbki narządów oddechowych, wymazy z nosa i podniebienia, wymazy z oka, uszu i ran (wysięk ropny) oraz fragmenty tkanek stawów.

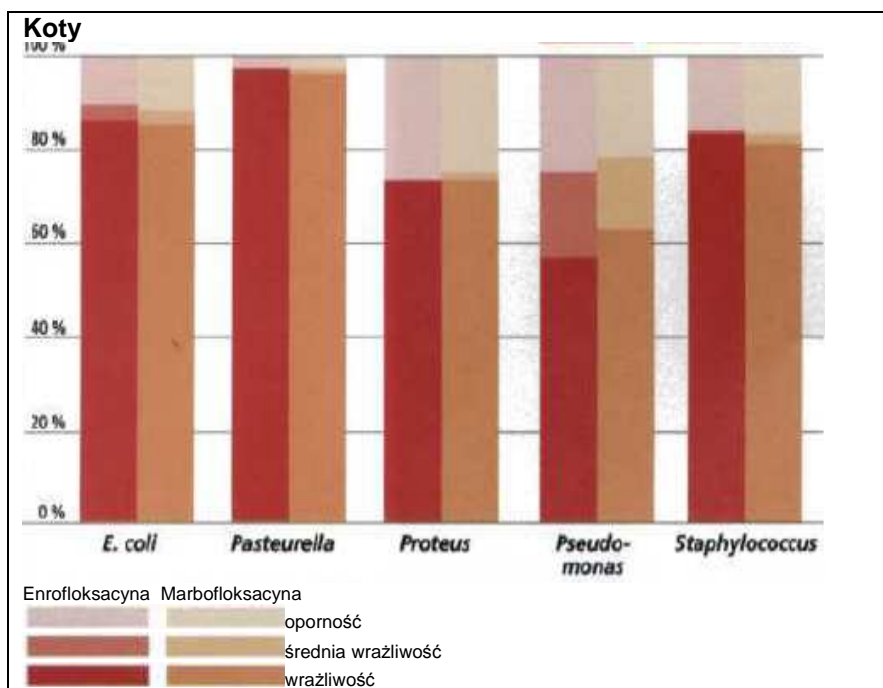
Ponieważ w przypadku materiałów nadsyłanych do rutynowych badań nie było możliwości uzyskania dostatecznych informacji o wcześniejszym przebiegu leczenia zwierzęcia, a ich uzupełnienie dla każdego zwierzęcia z osobna przy uwzględnieniu znacznej skali badania byłoby niewykonalne, przyjęto, iż status leczenia antybiotykowego wszystkich zwierząt objętych badaniem jest nieznan.

Na potrzeby analizy bakteriologicznej z posiadanych próbek sporządzono rozmazy na agarze Columbia z dodatkiem krwi i na podłożu Endo, a z próbek uzyskanych z dróg oddechowych dodatkowo rozmazy na agarze MacConkey'a i agarze HAEM, które następnie poddano inkubacji przez okres od 18 do 24 godzin w warunkach tlenowych w temperaturze $36 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Dodatkowo preparaty po wzbogaceniu w płynnej pożywce z tioglikolanem poddano inkubacji przez 18-20 godzin w temperaturze 37°C , a następnie sporządzono rozmaz na agarze Columbia z dodatkiem krwi oraz na podłożu Endo i poddano preparat ponownej inkubacji. W przypadkach, w których struktura morfologiczna wyhodowanych kolonii oraz zapach nie były kryterium wystarczającym do dyferencjacji drobnoustrojów, zastosowano dodatkowo preparaty natywne, barwienie metodą Grama, znaczniki enzymatyczne (oksydaza, katalaza, koagulaza, hialuronidaza), a także metody biochemiczne (metoda

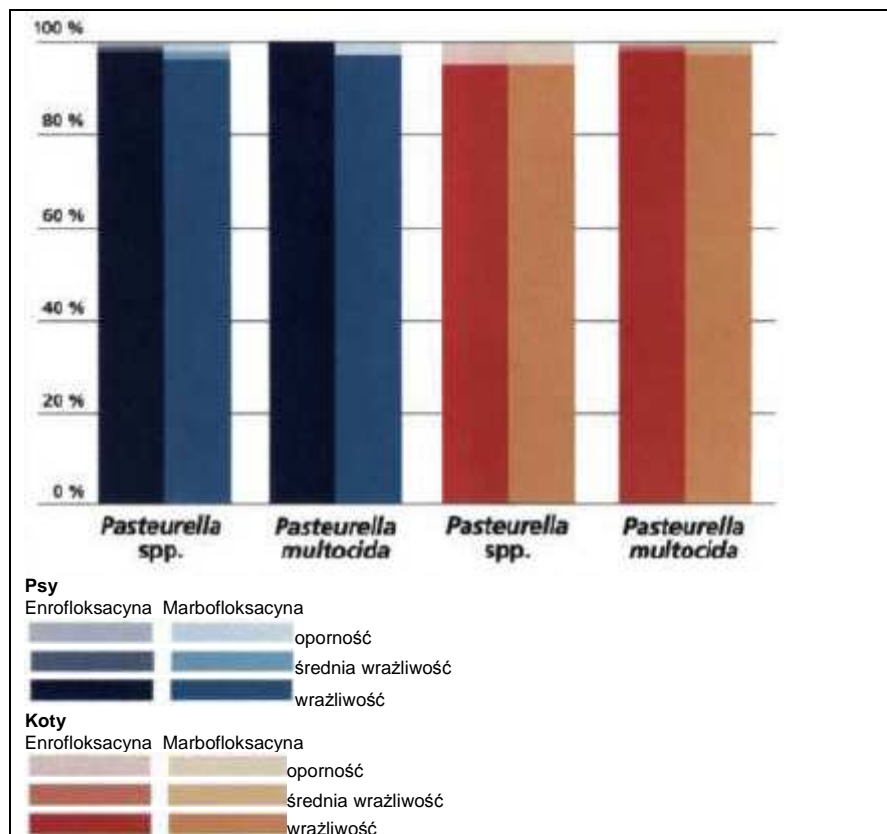
„kolorowych odczynników”, systemy API, Bio-Merieux). Po wyizolowaniu i zróżnicowaniu drobnoustrojów na potrzeby późniejszego badania wrażliwości dokonano wyboru 7118 izolatów w sposób gwarantujący, iż uwzględniono wszystkie istotne lokalizacje i patogeny. Poza działaniami opisanymi powyżej nie miała miejsca jakakolwiek preselekcja próbek i wyizolowanych drobnoustrojów.



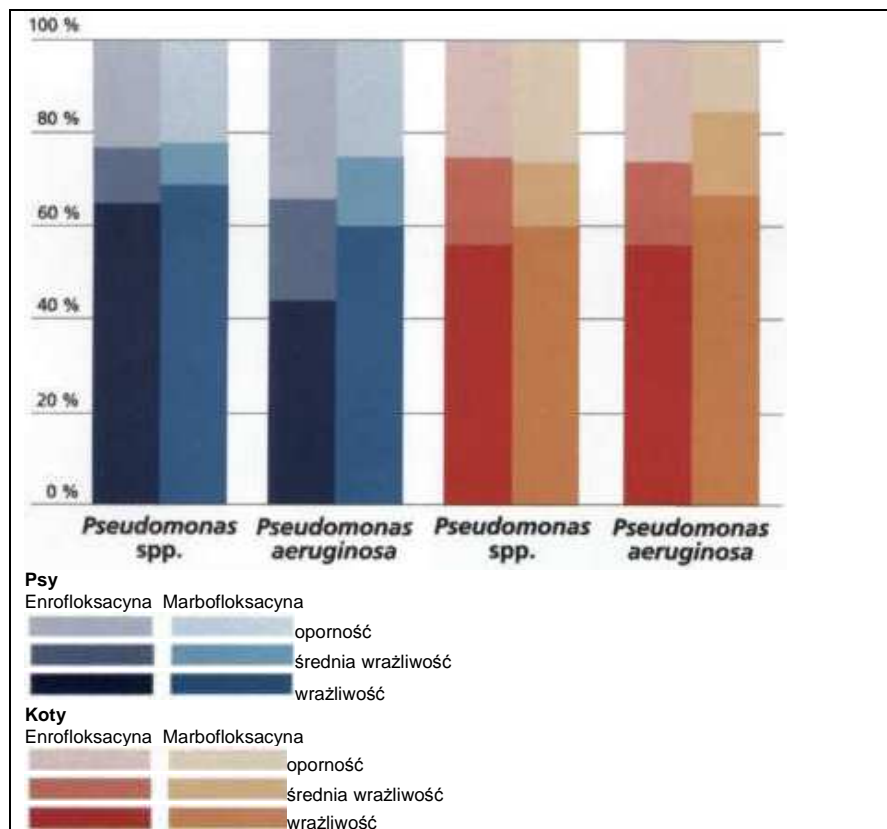
Wykres 1: Oporność, wrażliwość i średnia wrażliwość na enrofloksacynę i marbofloksacynę ze strony bakterii wyizolowanych u psów – wg gatunków



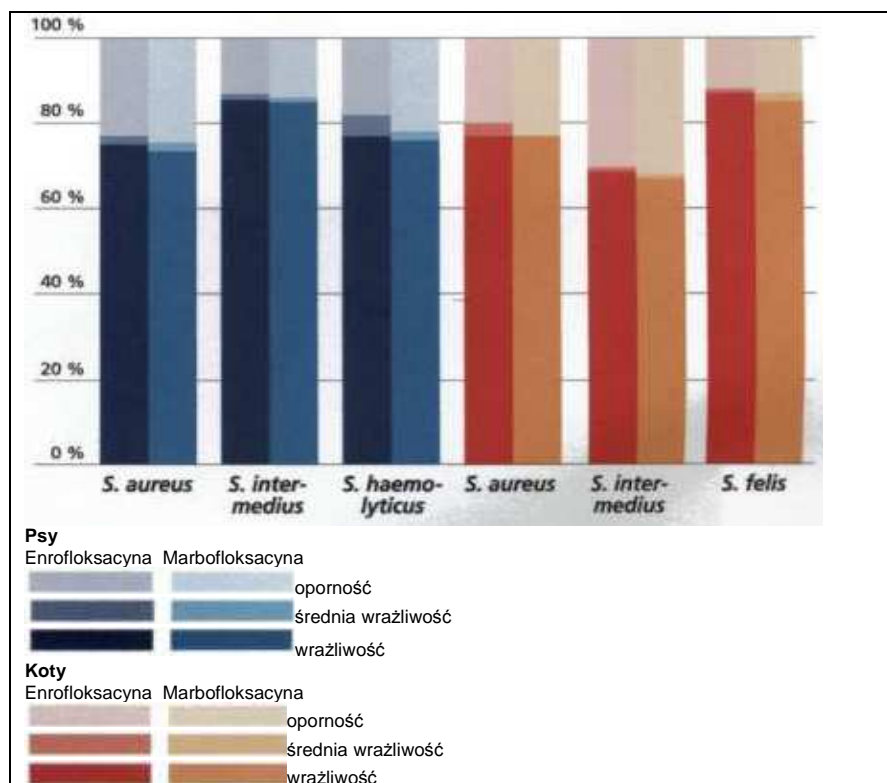
Wykres 2: Oporność, wrażliwość i średnia wrażliwość na enrofloksacynę i marbofloksacynę ze strony bakterii wyizolowanych u kotów – wg gatunków



Wykres 3: Oporność, wrażliwość i średnia wrażliwość na enrofloksacynę i marbofloksacynę ze strony izolatów *Pasteurella* u psów i kotów – w ujęciu ogólnym w rozbiściu na *Pasteurella* spp. i *Pasteurella multocida*



Wykres 4: Oporność, wrażliwość i średnia wrażliwość na enrofloksacynę i marbofloksacynę ze strony izolatów *Pseudomonas* u psów i kotów – w ujęciu ogólnym w rozbiściu na *Pseudomonas* spp. i *Pseudomonas aeruginosa*



Wykres 5: Oporność, wrażliwość i średnia wrażliwość na enrofloksacynę i marbofloksacynę ze strony izolatów *Staphylococcus* u psów i kotów (koagulazo-dodatnie: *S. aureus* i *S. intermedius*; koagulazo-ujemne: *S. haemolyticus* (psy), *S. felis* (koty))

Badaniu pod kątem wrażliwości na działanie leków poddano ogółem 7118 próbek. Zawierały one następujące bakterie (pierwsza liczba w nawiasie oznacza ilość próbek pochodzących od psów, druga liczba ilość próbek pochodzących od kotów): *Escherichia coli* (1464/626), *Pasteurella* spp. (162/91), *Pasteurella multocida* (68/182), *Proteus* spp. (295/44), *Pseudomonas* spp. (363/131), *Pseudomonas aeruginosa* (288/61), *Staphylococcus aureus* (61/64), *Staphylococcus intermedius* (2236/138), *Staphylococcus haemolyticus* (215/0), *Staphylococcus felis* (0/629).

Badanie wrażliwości izolatów na działanie enrofloksacyny i marbofloksacyny wykonano z wykorzystaniem standardowej metody mikrorozcieńczeń przy użyciu komercyjnego zestawu MERLIN-Micronaut-S. W tym celu zgodnie z zaleceniami producenta sporządzono najpierw zawiesiny bakteryjne w rozcieńczeniu 0,5 w skali McFarlanda. Z każdej zawiesiny pobrano po 50 µl w przypadku bakterii Gram-ujemnych i po 100 µl w przypadku bakterii Gram-dodatnich przenosząc pobraną zawiesinę każdorazowo do 8,5 ml płynnej pożywki Iso-Sensitest. W przypadku bardziej wymagających drobnoustrojów takich jak *Pasteurella* po 200 µl z każdej zawiesiny bakteryjnej umieszczono w 11 ml podgrzanej pożywki H. Z każdej zawiesiny bakteryjnej pobrano przy pomocy zakraplacza po 100 µl umieszczając zawiesinę w zagłębieniach specjalnych płytek. Zagłębienia płytek były napełnione przez producenta taką ilością substancji czynnej, iż wszystkie izolaty poddane zostały działaniu enrofloksacyny i marbofloksacyny w stężeniu 0,5 µg/ml i 1 µg/ml. Preparaty poddano inkubacji przez 18 do 24 godzin w temperaturze 36 ± 2°C.

Analiza fotometryczna odbyła się przy pomocy systemu Micronaut Scan. Klasyfikacji izolatów pod względem wrażliwości dokonano w oparciu o pomiary ekstynkcji bakterii według następującego schematu: wrażliwość – brak wzrostu przy stężeniu substancji czynnej 0,5 µg/ml i 1 µg/ml; średnia wrażliwość – wzrost przy stężeniu substancji czynnej 0,5 µg/ml i brak wzrostu przy stężeniu 1 µg/ml; oporność – wzrost przy stężeniu 0,5 µg/ml i 1 µg/ml.

Wyniki

Wyniki badania wrażliwości w rozbiciu na gatunki bakterii przedstawiono w tabeli nr 1 (psy) i tabeli nr 2 (koty), a także na wykresach od 1 do 5. Dodatkowo w tabeli nr 3 ujęto dane dotyczące psów i kotów jako podstawę do porównań z wynikami innych badań będących przedmiotem dyskusji.

W odniesieniu do łącznej liczby izolatów stwierdzono jednakową skuteczność *in vitro* enrofloksacyny i marbofloksacyny. Z 5152 izolatów pochodzących od psów do grupy wrażliwej na enrofloksacynę i marbofloksacynę zakwalifikowano odpowiednio 81% i 82% izolatów, do grupy o średniej wrażliwości na oba leki 3% oraz do grupy odpornej na działanie obu leków 15% izolatów. Z 1966 izolatów pozyskanych od kotów do grupy wrażliwej na enrofloksacynę i marbofloksacynę zaliczono odpowiednio 84% i 83 %, do grupy o średniej wrażliwości na oba leki 3% i do grupy odpornej na działanie obu leków 14% izolatów (Tabela 1 i 2).

Szczepy wyizolowane u psów

Wrażliwość izolatów *E. coli* (86%), *Pasteurella* (99%) i *Staphylococcus* (84%) pochodzących od psów była o 1 do 3 punktów procentowych wyższa w przypadku enrofloksacyny niż w przypadku marbofloksacyny. U bakterii z rodziny *Proteus* stwierdzono o 1 punkt procentowy wyższą wrażliwość na marbofloksacynę niż na enrofloksacynę. Największą różnicę w zakresie wrażliwości na oba leki zaobserwowano u bakterii *Pseudomonas*, których wrażliwość na marbofloksacynę (65%) była wyższa o 10 punktów procentowych niż na enrofloksacynę (wykres 1). Różnica w reakcji w przypadku bakterii z rodziny *Pasteurella* (*Pasteurella* spp. i *Pasteurella multocida*) była nieznaczna. U bakterii *Pasteurella multocida* zaobserwowano najwyższą wrażliwość na oba leki, tj. 100%, w przypadku enrofloksacyny i 97% w przypadku marbofloksacyny (tabela 1, wykres 3). Niezróznicowane szczepy *Pseudomonas* spp. wykazały w ogólnym ujęciu wyższą wrażliwość niż *Pseudomonas (P) aeruginosa*, przy czym różnica w reakcji na oba leki była minimalna. Natomiast szczepy *P. aeruginosa* wykazały ogółem najniższą wrażliwość tudzież najwyższą oporność, przy czym generalnie były one bardziej wrażliwe na marbofloksacynę niż na enrofloksacynę przy wyższym udziale izolatów o średniej wrażliwości na enrofloksacynę (enrofloksacyna: w 43% wrażliwość, w 22% średnia wrażliwość, w 34% oporność; marbofloksacyna: w 60% wrażliwość, w 15% średnia wrażliwość, w 25% oporność) (patrz tab. 1 i wykres 4).

Wśród gronkowców najwyższą wrażliwość na oba leki (85%) wykazał *S. intermedius*, natomiast szczepy *S. aureus* i *S. haemolyticus* były wrażliwe na enrofloksacynę odpowiednio w 75% i 77% i na marbofloksacynę w 74% i 76% (patrz tab. 1 i wykres 5).

Szczepy wyizolowane u kotów

Wrażliwość izolatów uzyskanych z próbek pochodzących od kotów na enrofloksacynę i marbofloksacynę kształtowała się podobnie jak u psów Taką samą bądź nieznacznie wyższą wrażliwość na enrofloksacynę wykazały szczepy *E. coli* (88%), *Pasteurella* (97%) i *Staphylococcus* (83%). Szczepy *Proteus* reagowały tak samo na oba leki (73%), ale znacznie gorzej niż w przypadku izolatów pochodzących od psów. W przypadku szczepów *Pseudomonas* stwierdzono ogółem wyższą o sześć punktów procentowych wrażliwość na marbofloksacynę (62%) (wykres 2).

Niezróznicowane szczepy *Pasteurella* spp. reagowały identycznie na enrofloksacynę i marbofloksacynę i były odpowiednio o 3 i 4 punkty procentowe mniej wrażliwe na oba leki niż szczepy *Pasteurella multocida*, będąc tym samym również w przypadku kotów szczepami o najwyższej wrażliwości (enrofloksacyna 98% i marbofloksacyna 97%) (patrz tab. 2, wykres 3).

W odróżnieniu od psów izolaty *Pseudomonas* spp. i *P. aeruginosa* pochodzące od kotów reagowały identycznie na enrofloksacynę. Wyższą aktywność wykazała również w tym przypadku marbofloksacyna, szczególnie w odniesieniu do szczepów *P. aeruginosa* (patrz tab. 2, wykres 4).

W grupie szczepów *Staphylococcus* w przeciwieństwie do psów najniższą wrażliwość na enrofloksacynę i marbofloksacynę wykazały szczepy *S. intermedius* (68% i 67%). Szczepy *S. aureus* reagowały z nieznacznie wyższą wrażliwością niż u psów (77% wrażliwości na oba leki), natomiast najwyższą wrażliwość wykazały szczepy *S. felis* (87% i 85%) (patrz tab. 2, wykres 5).

Dyskusja

Wyniki badania wskazują na to, iż oporność badanych izolatów na należące do grupy fluorochinolonów anrofloksacynę i marbofloksacynę jest generalnie niższa, niż przypuszczano, a także niższa w porównaniu z wynikami innych badań. Uzyskane dane potwierdzają, iż mimo rozwoju oporności krzyżowych wewnątrz grupy fluorochinolonów istnieją różnice pomiędzy poszczególnymi lekami.

Ze względu na fakt, iż enrofloksacyna została dopuszczona do obrotu pod nazwą Baytril® już w roku 1989 i stosowana jest w weterynarii zwierząt domowych dziesięć lat dłużej niż marbofloksacyna, teoretycznie należałoby założyć, że oporność na enrofloksacynę będzie stosunkowo wyższa. W rzeczywistości jednak enrofloksacyna wykazała w warunkach *in vitro* podobną, a nawet wyższą skuteczność niż marbofloksacyna, co dotyczy w równej mierze izolatów uzyskanych od psów i od kotów jak i wszystkich badanych szczepów. Jedynie w przypadku szczepów *Pseudomonas* spp., a w szczególności *P. aeruginosa*, skuteczniejsza w warunkach *in vitro* okazała się marbofloksacyna.

Wykorzystując w praktyce informacje uzyskane w badaniu *in vitro* należy uwzględnić fakt, iż u wielu gatunków zwierząt enrofloksacyna ulega metabolicznej przemianie w cyprofloksacynę, która charakteryzuje się co najmniej taką samą, a niekiedy nawet wyższą skutecznością niż enrofloksacyna (Grobbel et al. 2007a, Jones i Erwin 1998, Riddle et al. 200, Seol et al. 2002). U psów (brak danych dla kotów) stopień przemiany metabolicznej kształtuje się na poziomie ponad 40% (Boothe et al. 2002, Cester i Toutain 1997). Tym samym w warunkach *in vivo* enrofloksacyna może niekiedy - w zależności od specyfiki patogenu - posiadać wyższą skuteczność, niż można by tego oczekiwać sądząc po danych uzyskanych w warunkach *in vitro*, co w szczególności może mieć znaczenie w odniesieniu do szczepów wykazujących średnią wrażliwość. Odnośnie leczenia w przypadku szczepów wykazujących w warunkach *in vitro* średnią wrażliwość należy wskazać, iż zgodnie z Wytocznymi o stosowaniu antybiotyków z 2000 r. pod pojęciem dopuszczonej dawki leku należy rozumieć dawkę minimalną. W razie potrzeby weterynarz może zwiększyć dawkę w oparciu o aktualnie obowiązujące przepisy nie zmieniając w ten sposób przeznaczenia leku, przy czym ponosi on ewentualne ryzyko takiego działania. Zwiększenie dawki może być uzasadnione w szczególności, gdy ukierunkowany antybiogram wykaże średnią wrażliwość szczepów lub gdy zgodnie z posiadaną wiedzą należy wyjść z takiego założenia oraz jeżeli nie ma do wyboru lepszych antybiotyków. Dotyczy to w szczególności szczepów *Pseudomonas* spp., a dokładniej *P. aeruginosa*, gdyż szczepy te ze względu na swoje naturalne właściwości oraz potencjalnie nabywane dodatkowe mechanizmy opornościowe są w weterynarii szczepami najmniej wrażliwymi na antybiotyki (Werckenthin et al. 2007).

Punkt wyjściowy do zwiększenia dawki w celu rozszerzenia zakresu terapeutycznego leku u psów mogą stanowić następujące dawki obowiązujące w USA: Baytril® do 20 mg na 1 kg masy ciała (czyli 4-krotna wysokość dawki dopuszczonej w UE), Marbocyl® do 5,5 mg na 1 kg masy ciała (czyli 2,5-krotna wysokość dawki dopuszczonej w UE). Jednak w przypadku kotów zaleca się znaczną ostrożność, gdyż w wyniku znacznego przedawkowania może dojść do uszkodzenia siatkówki oka (Wiebe et al. 2002).

Mimo, iż we wszystkich dotychczasowych badaniach uznawanych za szczególnie istotne do celów porównawczych przedmiotem badania były zawsze izolaty pochodzące od psów i kotów, to jednak w żadnym innym przypadku wyniki nie były przedstawiane osobno dla obu tych gatunków. Niniejsze badanie wykazało znaczne różnice w zależności od pochodzenia izolatów. Na przykład częściowo znacznie korzystniejszy status opornościowy wykazały u psów szczepy *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp. i *Staphylococcus intermedius*, a u kotów szczepy *P. aeruginosa*. Stwierdzone różnice należy jednak interpretować z pewną

ostrożnością, gdyż w przypadku powyższych szczepów stosunkowo niewiele izolatów pochodziło od kotów.

Tabela 1. Skuteczność działania enrofloksacyny i marbofloksacyny na szczepy wyizolowane u psów (odchylenia od sumy 100% są wynikiem zaokrągleń)

Szczepy wyizolowane u psów		Enrofloksacyna			Marbofloksacyna		
Gatunek bakterii	Liczba izolatów	wrażliwość (%)	średnia wrażliwość (%)	oporność (%)	wrażliwość (%)	średnia wrażliwość (%)	oporność (%)
<i>E. coli</i>	1464	86	4	11	85	2	12
<i>Pasteurella</i> sp..	162	98	1	1	96	2	2
<i>P. multocida</i>	68	100	0	0	97	0	3
<i>Proteus</i> spp.	295	82	2	16	83	3	13
<i>Pseudomonas</i> spp.	363	65	12	23	69	9	22
<i>P. aeruginosa</i>	288	43	22	34	60	15	25
<i>S. aureus</i>	61	75	2	23	74	2	25
<i>S. intermedius</i>	2236	85	1	13	85	1	14
<i>S. haemolyticus</i>	215	77	5	18	76	2	22
Ogółem	5152	81	3	15	82	3	15

Tabela 2. Skuteczność działania enrofloksacyny i marbofloksacyny na szczepy wyizolowane u kotów (odchylenia od sumy 100% są wynikiem zaokrągleń)

Szczepy wyizolowane u kotów		Enrofloksacyna			Marbofloksacyna		
Gatunek bakterii	Liczba izolatów	wrażliwość (%)	średnia wrażliwość (%)	oporność (%)	wrażliwość (%)	średnia wrażliwość (%)	oporność (%)
<i>E. coli</i>	626	88	1	11	87	1	11
<i>Pasteurella</i> sp..	91	94	0	5	94	0	5
<i>P. multocida</i>	182	98	1	1	97	2	1
<i>Proteus</i> spp.	44	73	0	27	73	2	25
<i>Pseudomonas</i> spp.	131	56	18	25	60	14	26
<i>P. aeruginosa</i>	61	56	18	26	67	18	15
<i>S. aureus</i>	64	77	3	20	77	0	23
<i>S. intermedius</i>	138	68	1	30	67	1	32
<i>S. felis</i>	629	87	1	12	85	2	13
Ogółem	1966	84	3	14	83	3	14

Tabela 3. Skuteczność działania enrofloksacyny i marbofloksacyny na szczepy wyizolowane u psów i kotów ogółem (odchylenia od sumy 100% są wynikiem zaokrągleń)

Szczepy wyizolowane u psów i kotów		Enrofloksacyna			Marbofloksacyna		
Gatunek bakterii	Liczba izolatów	wrażliwość (%)	średnia wrażliwość (%)	oporność (%)	wrażliwość (%)	średnia wrażliwość (%)	oporność (%)
<i>E. coli</i>	2090	86	1	12	86	1	13
<i>Pasteurella</i> sp..	253	97	1	2	95	2	3
<i>P. multocida</i>	250	99	0	1	97	2	2
<i>Proteus</i> spp.	339	81	1	18	82	3	15
<i>Pseudomonas</i> spp.	494	63	13	24	66	10	23
<i>P. aeruginosa</i>	349	46	21	33	61	15	23
<i>S. aureus</i>	125	76	2	22	75	1	24
<i>S. intermedius</i>	2374	84	1	14	84	1	15
<i>S. haemolyticus</i> (tylko psy)	215	77	5	18	76	2	22
<i>S. felis</i> (tylko koty)	629	87	1	12	85	2	13
Ogółem	7118	82	3	15	83	3	15

Stosownie do sytuacji, jaka często ma miejsce w praktyce, w niniejszym badaniu uwzględniono również niezróżnicowane patogeny. Pomędzy niezróżnicowanymi szczepami *Pasteurella* spp. i *Pasteurella multocida* stwierdzono u psów i kotów jedynie nieznaczne różnice. Wyraźne różnice zaobserwowano natomiast pomiędzy *Pseudomonas* spp. i *P. aeruginosa*, przy czym u psów dotyczyły one obu leków, a u kotów tylko marbofloksacyny. Jako że w praktyce z etiologicznego punktu widzenia istotne są tylko szczepy *P. aeruginosa*,

również diagnoza laboratoryjna stwierdzająca obecność *Pseudomonas* spp. powinna uwzględniać specyficzny status opornościowy szczepów *P. aeruginosa*.

Z reguły bezpośrednie porównanie wyników badań dotyczących oporności antybiotykowej nie jest możliwe ze względu na znaczne różnice formalne poszczególnych badań, np. pod względem pochodzenia próbek, spektrum wyizolowanych bakterii, metod i kryteriów klasyfikacji wyizolowanych szczepów pod kątem wrażliwości, a także leków objętych badaniem. Niewiele jest badań dostarczających informacji na temat różnych bakterii występujących u zwierząt domowych, a jeszcze rzadziej ich przedmiotem jest porównanie poszczególnych leków z grupy fluorochinolonów. Znane są dwa panele badawcze zajmujące się tym tematem (na potrzeby porównań dane dotyczące psów i kotów przedstawiono w ujęciu łącznym, patrz tab. 3).

Po upływie ok. 10 lat od dopuszczenia enrofloksacyny pod nazwą Baytril® zespół naukowców pod kierownictwem Pirro (1999) dokonał po raz pierwszy analizy porównawczej skuteczności czterech różnych leków z grupy fluorochinolonów przeciwko drobnoustrojom występującym u zwierząt domowych, m.in. przeciwko szczepom *E. coli*, *S. intermedius* i *P. aeruginosa*. Co ciekawe, podczas gdy niniejsze badanie wykazało niemal identyczną wrażliwość szczepów *E. coli* i *S. intermedius*, zespół kierowany przez Pirro zaobserwował w oparciu o ustalone minimalne wartości stężenia hamującego prawie pięciokrotnie wyższą skuteczność enrofloksacyny w warunkach *in vitro*. Natomiast szczepy *P. aeruginosa* – podobnie jak w naszym badaniu – również u Pirro wykazywały znacznie niższą wrażliwość na wszystkie fluorochinolony, a marbofloksacyna była skuteczniejsza od enrofloksacyny.

W przeciwieństwie do badań przeprowadzonych przez Farca et al. (2006) nasze badanie wykazało ogółem znacznie wyższą wrażliwość tudzież korzystniejszy status opornościowy, a także równoważność enrofloksacyny i marbofloksacyny. Farca dokonał również analizy porównawczej enrofloksacyny i marbofloksacyny i przebadał bakterie wyizolowane w terenie u psów i kotów, a mianowicie szczepy *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis* i *S. intermedius* (w ujęciu ogólnym jako *Staphylococcus* spp.) oraz szczepy beta-hemolizujących paciorkowców. Te ostatnie nie były objęte naszym badaniem, ponieważ infekcje wywoływane paciorkowcami nie wchodzi w zakres zastosowania przedmiotowych leków. W niniejszym badaniu liczba izolatów wrażliwych była o ponad 30% wyższa niż w badaniu przeprowadzonym przez Farca et al., przy czym różnice w przypadku enrofloksacyny były bardziej wyraźne niż w przypadku marbofloksacyny (wrażliwość na enrofloksacynę: *E. coli* – 86%, wg Farca et al. (2006) tylko 55%, *P. aeruginosa* – odpowiednio 46% i 30%, *Staphylococcus* spp. 84% i 58%). Jedynie w odniesieniu do szczepów *P. aeruginosa* Farca stwierdził nieznacznie wyższą wrażliwość na marbofloksacynę, tj. na poziomie 68% (61% w naszym badaniu). Ze względu na różnice w metodyce badania wrażliwości (Farca et al. (2006): metoda dyfuzji agarowej/test płytkowy) uzyskane wyniki nie są wprawdzie bezpośrednio porównywalne, lecz w przypadku znacznych różnic uzasadnionym wydaje się być ich wykorzystanie przynajmniej w celu nakreślenia ogólnej tendencji. Podążając tym tokiem rozumowania można stwierdzić, iż nasze badanie wykazało korzystniejszy status opornościowy i podważa w każdym przypadku dane uzyskane przez Farca et al. (2006), z których wynika, że marbofloksacyna jest skuteczniejsza niż enrofloksacyna. Biorąc pod uwagę fakt, iż nasze badanie objęło znacznie wyższą liczbę izolatów (5782) niż badanie przeprowadzone przez Farca et al. (223), można pokusić się o stwierdzenie, że nasze wyniki posiadają większą wartość informacyjną.

W związku z aktualnością i znaczeniem danych uzyskanych w ramach programu monitorującego „BfTGermVet“ (Schwarz et al. 2007a) wyniki niniejszego badania należałoby odnieść również i do tych danych, mimo, iż również w tym przypadku bezpośrednie porównanie nie jest możliwe. W programie „BfTGermVet“ posłużono się wysokimi standardami metodycznymi stosowanymi w oficjalnych programach monitorujących bazujących na tzw. rozcieńczeniowych seriach minimalnych wartości stężeń hamujących oraz na podziale izolatów na wrażliwe, średnio wrażliwe i odporne w oparciu o specyficzne kliniczne wartości graniczne.

Ponadto przedmiotem porównania w programie „BfTGermVet“ były poszczególne grupy leków, a jedynym zbadanym w ramach programu lekiem z grupy fluorochinolonów była

enrofloksacyna reprezentująca całą grupę. Oprócz tego w programie „BfTGermVet“ tam, gdzie było to możliwe, uwzględniono wyłącznie szczepy wyizolowane u zwierząt nie leczonych wcześniej danym lekiem (wyjątek stanowiły jedynie szczepy *E. coli* i *Proteus* spp.), natomiast w niniejszym badaniu ogólnie przyjęto, że status leczenia antybiotykowego zwierząt objętych badaniem jest nieznany, przy czym zakładano wręcz, że większość zwierząt była wcześniej leczona antybiotykami, ponieważ próbki są zwykle nadsyłane do badania wyłącznie w tzw. „trudnych” przypadkach.

Dlatego też należałoby podkreślić, że w niniejszym badaniu mimo to zaobserwowano taką samą, a nawet wyższą wrażliwość na enrofloksacynę niż miało to miejsce w ramach programu „BfTGermVet“. Szczepy *Pasteurella multocida* wykazały praktycznie taką samą wrażliwość (99% vs. 100%), szczepy *Proteus* spp. nieznacznie wyższą wrażliwość (81% vs. 76%), a szczepy *P. aeruginosa* znacznie wyższą wrażliwość (46% vs. 27%) niż w programie „BfTGermVet“ (Schwarz et al. 2007b, Grobbel et al. 2007b, Werckenthin et al. 2007). Natomiast nieznacznie niższą wrażliwość stwierdzono w niniejszym badaniu w przypadku szczepów *E. coli* (86% vs. 93%), oraz znacznie niższą wrażliwość w przypadku koagulazododatnich szczepów *Staphylococcus* (83% vs. 94%) (Grobbel et al. 2007c, Schwarz et al. 2007c).

Zasadniczo bezpośrednie porównanie procentowych wyników badań o odmiennej strukturze jest dość problematyczne. Jednak w przypadku wyników programu „BfTGermVet“ porównanie wydaje się być przynajmniej w odniesieniu do wrażliwości o tyle uzasadnione, że w obu panelach zastosowano metodę mikrorozcieńczeń oraz że w obu przypadkach szczepy, których wzrost ulegał zahamowaniu przy stężeniu enrofloksacyny na poziomie 0,5 µg/ml, sklasyfikowano jako wrażliwe.

Natomiast analogiczne porównanie wyników obu badań dotyczących szczepów o średniej wrażliwości i szczepów opornych nie jest możliwe ze względu na różne wartości graniczne. Analizując ogólną tendencję stwierdzić można, iż izolaty objęte niniejszym badaniem wykazywały wyższą oporność (wyjątek stanowiły szczepy *Proteus* spp.), a w ujęciu procentowym także nieznacznie wyższy udział szczepów o średniej wrażliwości (za wyjątkiem *P. aeruginosa*). Za przyczynę takiego stanu rzeczy można uznać przyjęcie różnych wartości granicznych, a także fakt, iż w niniejszym badaniu w większości przypadków analizowane były szczepy wyizolowane u zwierząt wcześniej leczonych.

Co się tyczy wyników uzyskanych w ramach programu „BfTGermVet“ należy dodać, iż w programie tym enrofloksacyna reprezentująca grupę fluorochinolonów wykazała w porównaniu z 24 lekami z 12 innych grup antybiotyków ogółem status opornościowy na poziomie od średniego (*Proteus*, *Staphylococcus*) do bardzo korzystnego, a porównawczo również w odniesieniu do *P. aeruginosa*.

Wnioski praktyczne

W oparciu o aktualne dane status opornościowy enrofloksacyny i marbofloksacyny przedstawia się generalnie stosunkowo korzystnie. Dopuszczona w 1989 roku do stosowania w leczeniu zwierząt domowych pod nazwą Baytril® enrofloksacyna jako pierwszy lek z tej grupy wykazuje również dziś taką samą, a nawet wyższą skuteczność w warunkach *in vitro* niż będąca nowszym lekiem marbofloksacyna. Enrofloksacynę i marbofloksacynę uznaje się za szczególnie skuteczne w przypadku infekcji wywoływanych szczepami *E. coli*, *Pasteurella multocida*, *Proteus* spp. i *P. aeruginosa*. Nawet w przypadku problematycznych z natury szczepów *P. aeruginosa* sklasyfikowanych jako średnio wrażliwe istnieje możliwość ich skutecznej eliminacji przy pomocy fluorochinolonów poprzez zwiększenie dawki (uwaga: ryzyko uszkodzenia siatkówki u kotów!). W przypadku *P. aeruginosa* wyższą skuteczność w warunkach *in vitro* wykazuje marbofloksacyna.

Rozpoczynając leczenie antybiotykami należy zawsze stosować się do wytycznych dotyczących stosowania antybiotyków, które w ostrych przypadkach wymagają diagnozy klinicznej opartej na aktualnej znajomości statusu opornościowego leku, a w trudnych przypadkach dodatkowo warunkują leczenie wykonaniem badania w kierunku konkretnych szczepów wraz z antybiogramem.

Przed zastosowaniem antybiotyku o szerokim spektrum działania, w pierwszej kolejności należy zastosować lek o największym spektrum.

¹Do celów porównawczych dane z niniejszego badania dotyczące szczepów *S. aureus* i *S. intermedius* przedstawiono łącznie.

Literatura

- 1. Antibiotika-Leitlinien (2000):** Bundestierärztekammer (BTK), Arbeitsgemeinschaft der Leitenden Veterinärbeamten (ArgeVet): Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antimikrobiell wirksamen Tierarzneimitteln - mit Erläuterungen. *Deutsches Tierärzteblatt 11*, Beilage (2000).
- 2. Boothe, D. M., A. Boeckh, H. W. Boothe, S. Wilkie und S. Jones (2002):** Plasma concentrations of enrofloxacin and its active metabolite ciprofloxacin in dogs following single oral administration of enrofloxacin at 7.5, 10, or 20 mg/kg. *Vet. Ther.* 3, 409-419.
- 3. BVL (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit) (2004):** Resistenzen müssen weiter zurück gedrängt werden. *Dokumentation der Ergebnisse des BVL Symposiums „Risikomanagement zur Begrenzung von Antibiotikaresistenzen“ vom 15. und 16. November 2004.* www.bvl.bund.de.
- 4. Cester, C. C. und P. L. Toutain (1997):** A comprehensive model for enrofloxacin to ciprofloxacin transmission and disposition in dogs. *J. Pharm. Sci.* 86, 1148-1155.
- 5. Farca, A. M., P. Cavana, P. Robino und P. Nebbia (2006):** In vitro antimicrobial activity of marbofloxacin and enrofloxacin against bacterial strains isolated from companion animals. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 249, 259-264.
- 6. Grobbel, M., A. Lübke-Becker, E. Alesik, S. Schwarz, J. Wallmann, C. Werckenthin und L. H. Wieler (2007b):** Antimicrobial susceptibility of *Klebsiella* spp. and *Proteus* spp. from various organ systems of horses, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 120, 402-411.
- 7. Grobbel, M., A. Lübke-Becker, E. Alesik, S. Schwarz, J. Wallmann, C. Werckenthin und L. H. Wieler (2007c):** Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from swine, horses, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 120, 391-401.
- 8. Grobbel, M., A. Lübke-Becker, L. H. Wieler, R. Froyman, S. Friedrichs und S. Filios (2007a):** Comparative quantification of the *in vitro* activity of veterinary fluoroquinolones. *Vet. Microbiol* 124, 73-81.
- 9. Jones, R. N., und M. E. Erwin (1998):** In vitro susceptibility testing and quality control parameters for sarafloxacin (A-56620): a fluoroquinolone used for treatment and control of colibacillosis in poultry. *Quality Control Study Group. Diagn. Microbiol Infect. Dis.* 32, 55-64.
- 10. Kroker, R. (2006):** Pharmaka zur Behandlung und Verhütung bakterieller Infektionen. In: Löscher, W., F. R. Ungemach, R. Kroker: Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. Parey in MVS Medizinverlage, Stuttgart.
- 11. Pirro, F., M. Edingloh und N. Schmeer (1999):** Bactericidal and inhibitory activity of Enrofloxacin and other Fluoroquinolones in small animals pathogens. *Comp. Cont. Education Pract. Vet.*, 21 (Suppl), 19-25.
- 12. Riddle, C., C. L. Lemons, M. G. Papich und C. Altier (2000):** Evaluation of ciprofloxacin as a representative of veterinary fluoroquinolones in susceptibility testing. *J. Clin. Microbiol.* 38, 1636-1637.
- 13. Schwarz, S., E. Alesik, M. Grobbel, A. Lübke-Becker, J. Wallmann, C. Werckenthin und L. H. Wieler (2007a):** The BfT-GermVet monitoring program - aims and basics. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 120, 357-362.
- 14. Schwarz, S., E. Alesik, M. Grobbel, A. Lübke-Becker, C. Werckenthin, L. H. Wieler und J. Wallmann (2007b):** Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* and *Bordetella bronchiseptica* from dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 120, 432-430.
- 15. Schwarz, S., E. Alesik, C. Werckenthin, M. Grobbel, A. Lübke-Becker, L. H. Wieler und J. Wallmann (2007c):** Antimicrobial susceptibility of coagulase-positive and coagulase-variable staphylococci from various indications of swine, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.*, 120, 372-379.
- 16. Seol, B., T. Nagli, J. Madi und M. Bedekovi (2002):** In vitro antimicrobial susceptibility of 183 *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from dogs to selected antipseudomonal agents. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health* 4, 188-92.
- 17. Werckenthin, C., E. Alesik, M. Grobbel, A. Lübke-Becker, S. Schwarz, L. H. Wieler und J. Wallmann (2007):** Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* from dogs and cats as well as *Arcanobacterium pyogenes* from cattle and swine as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 120, 414-422.
- 18. Wiebe, V., D. Pharm und P. Hamilton (2002):** Fluoroquinolone-induced retinal degeneration in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 221, 1568-1571.

Autorzy – adres do korespondencji:

dr Elisabeth Müller, dr Silke Horn
Laboklin GmbH & Co. KG, Steubenstr. 4, 97688 Bad Kissingen,
e-mail: mueller@laboklin.de