

Moderní metody diagnostiky, terapie a prevence mastitid způsobených *Streptococcus uberis* jako nástroj pro sestavování cílených kontrolních programů v chovech skotu

Projekt NAZV ZEMĚ - QK1910212

Doba řešení: 2019-2023

Hlavní řešitel:

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.

Další řešitelé projektu:

Tekro spol. s r. o.

MENDELU



VU VeL

VU VeL 2020

Řešitelský tým

- **VÚVeL:**

**MVDr. Monika Zouharová, Ph.D. –
odpovědný řešitel**

MVDr. Kateřina Nedbalcová, Ph.D.

MVDr. Katarína Matiašková

Eva Audová

a další

- **TEKRO:**

Ing. Martin Jeřábek – řešitel

Mgr. Michaela Víšková

Ing. Radek Mayer

MVDr. Pavlína Bidlová

a další

- **MENDELU:**

Ing. Petr Sláma, Ph.D. – řešitel

Ing. Aleš Pavlík, Ph.D.

Doc. Dr. Ing. Zdeněk Havlíček

a další

Poděkování SVU Olomouc

Proč právě *Streptococcus uberis*?

Jeden z nejčastěji izolovaných patogenů mléčné žlázy krav
Velké ekonomické ztráty

Problémový patogen:

- **Environmentální patogen** (ubikvitární výskyt)
- **Geneticky velmi rozmanitý**
 - Různá míra virulence
 - Různá míra adaptace na mléčnou žlázu dojnic
- **Faktory virulence** – mohou unikát obranným mechanismům MŽ i účinku antimikrobik



Faktory virulence *S. uberis*

- **Biofilm**
- **SUAM** – umožňuje adherenci a internalizaci *S.uberis* dovnitř epiteliálních buněk MŽ
- Některé kmeny způsobují **vážný zánět a fibrózu**

→ některé kmeny lépe odolávají antimikrobní léčbě, přestože jsou laboratorně stejně citlivé!



Představení projektu

Obecný cíl projektu

- snížení spotřeby antimikrobik v chovech krav
- omezení šíření AMR

Konkrétní cíl projektu

- Zlepšení diagnostiky SUB mastitid - typizace *S.uberis* a odlišení virulentních kmenů
- Odhalení kritických bodů vzniku a šíření infekcí *S. uberis* a navržení efektivních ozdravných a preventivních plánů, které omezí spotřebu antimikrobik a tím přispěje k tlumení šíření AMR.

Dílčí cíle

1. Založení a průběžné doplňování **sbírky izolátů *S. uberis*** (2019-2023)
2. Vypracovat metody diagnostiky, **typizace a diferenciac**e izolátů *S.uberis* (2019-2022)
3. Ve sledovaném období určit **prevalenci** jednotlivých typů izolátů *S.uberis* v chovech skotu v ČR (2019-2023)
4. Sledování **rezistence** k antimikrobikům u izolátů *S. uberis* v chovech v ČR (2019-2023)

Dílčí cíle

5. Zavést metodu k „*in vitro*“ testování dendritických buněk jako modulátoru imunitní odpovědi mléčné žlázy na infekci *S. uberis* (2019-2023)
6. Podrobné šetření zoohygieny a managementu v chovech, určení **kritických bodů pro vznik a šíření** mastitidy způsobené *S. uberis* (2019-2023)
7. Navrhnout **doporučené postupy** léčby, preventivní postupy a kontrolní programy v chovech dojnic **k omezení vzplanutí a šíření** infekcí vemene *S.uberis* (2019-2023)

Vyšetření citlivosti k antimikrobikům

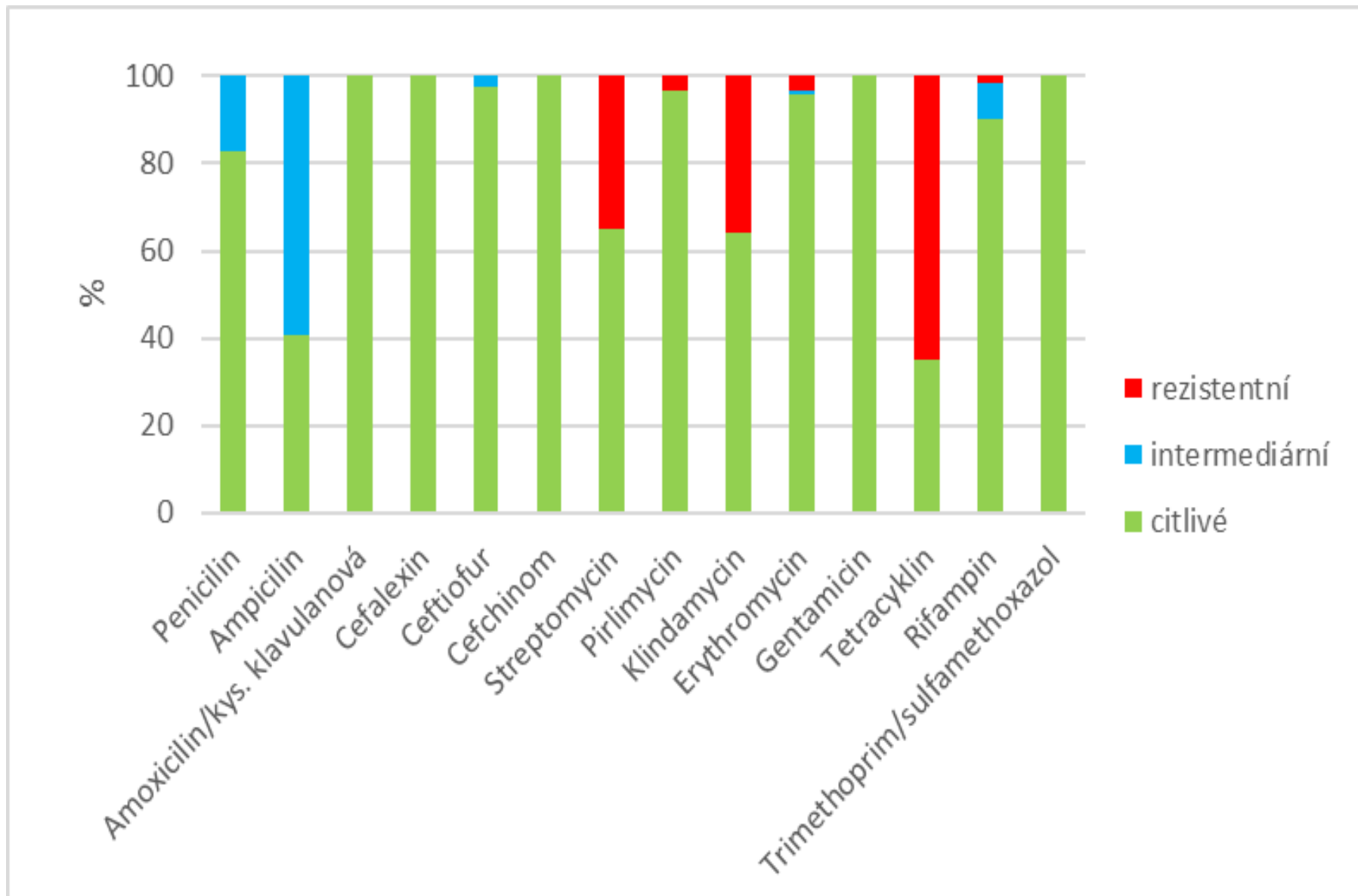
- **Navržení a výroba setu pro stanovení citlivosti izolátů *S.uberis* k antimikrobikům**
 - mikrodiluční metoda – bujón s obsahem lyzované krve
 - stanovením MIC
 - umožňuje stanovení C/R ke 14ti antimikrobikům v jedné destičce

Výsledky vyšetření citlivostí k AML

- K vyšetření vybráno 123 izolátů *S.uberis* ze 72 chovů v ČR
- **Interpretační kritéria** pro určení C, I, R podle dokumentů CLSI (VET01S a VET08), EUCAST, CA-SFM
- **Rezistence** zejména k TET (65 %), CLI (36 %) a STR (35 %)
- Vysoké procento **intermediárně citlivých** izolátů bylo zaznamenáno u AMP (59 %) a PNC (17 %), zvýšené procento u RIF (8 %)
- **Všechny** kmeny *S. uberis* byly **citlivé** k AMX s kys. klavulanovou, cefalexinu, cefchinomu, GEN a SXT
- 28,5 % izolátů bylo **multirezistentních**



Graf 1: Procentuální zastoupení citlivých, intermediárních a rezistentních izolátů *Streptococcus uberis* z mastitid skotu



Fenotypový profil rezistence

Počet skupin antimikrobik	Fenotypový profil rezistence	Počet izolátů	Procento izolátů %
0		32	26,0
1	TET	39	31,7
1	STR	1	0,8
1	PIR	1	0,8
1	CLI	1	0,8
1	ERY	1	0,8
2	STR, CLI	5	4,1
2	STR, TET	1	0,8
2	CLI, TET	1	0,8
2	TET, ERY	2	1,6
2	TET, RIF	2	1,6
2	STR, CLI, PIR	2	1,6
3	STR, CLI, TET	34	27,6
3	CLI, TET, PIR, ERY	1	0,8
Multirezistentní izoláty		35	28,5

Výsledky: Variabilita na jedné farmě

7 rozdílných izolátů dle ATB citlivosti

č.iz.	PNC	AMP	AMC	CEFL	EFT	CEFQ	STR	PIR	CLI	ERY	GEN	TET	RIF	SXT
52.	≤0,06	0,25	0,06	≤2	≤1	≤0,5	256	≤0,5	≤0,06	≤0,06	32	16	0,25	≤0,125
99.	0,25	1	0,25	≤2	≤1	≤0,5	128	≤0,5	≤0,06	≤0,06	32	32	0,125	≤0,125
56.	0,5	1	0,25	≤2	≤1	≤0,5	≥512	1	2	≤0,06	32	≥32	≤0,03	≤0,125
130.	0,5	1	0,25	≤2	2	≤0,5	≥512	1	≤0,06	0,5	32	32	0,06	≤0,125
63.	0,25	1	0,25	≤2	2	≤0,5	256	≤0,5	≤0,06	≤0,06	32	16	0,06	≤0,125
77.	0,25	1	0,25	≤2	≤1	≤0,5	≤64	≤0,5	≤0,06	≤0,06	32	16	0,06	≤0,125
55.	0,25	0,5	0,25	≤2	≤1	≤0,5	256	≤0,5	≤0,06	≤0,06	32	32	≤0,03	≤0,125

Profil rezistence na jedné farmě

Počet skupin antimikrobik	Fenotypový profil rezistence	Počet izolátů	Procento izolátů
0		21	28,4 %
1	TET	31	41,9 %
2	STR, CLI	1	1,4 %
2	STR, TET	1	1,4 %
3	STR, CLI, TET	20	27 %

Multirezistentní izoláty

Plánované aktivity na rok 2020 a 2021

- **Sběr vzorků a průběžné doplňování sbírky izolátů *S. uberis***
- **Určování rezistence u izolátů *S. uberis* a genotypizace**
- **Další vyhodnocování kritických bodů**

Budou vytipovány další chovy s vysokým výskytem SUB mastitid, které budou sledovány a budou vyhodnoceny kritické body a navržena nápravná opatření.

- **Kultivace dendritických buněk, testování schopnosti internalizace adhezivní molekuly SUAM**