Státní veterinární ústav Jihlava

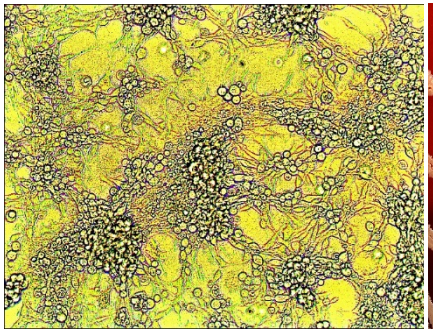
Laboratorní diagnostika respiračních onemocnění skotu

MVDr. Petr Václavek, Ph.D., MVDr. Ivana Kucharovičová, MVDr. Vladimíra Machová

MSD Farmářské fórum, Hotel Tři Věžičky 23.10.2019

OBSAH

1) **OBECNÝ ÚVOD a SPRÁVNÝ ODBĚR VZORKŮ**
2) **VIROLOGICKÉ / SÉROLOGICKÉ METODY** laboratorní diagnostiky
3) **PCR SCREENING PŮVODCŮ resp. onemocnění skotu**
4) **BAKTERIOLOGICKÉ DIAGNOSTICKÉ METODY**
5) **MALDI-TOF – princip a interpretace výsledků**
6) **TESTOVÁNÍ K CITLIVOSTI K ATB vs. resp. onemocnění skotu**

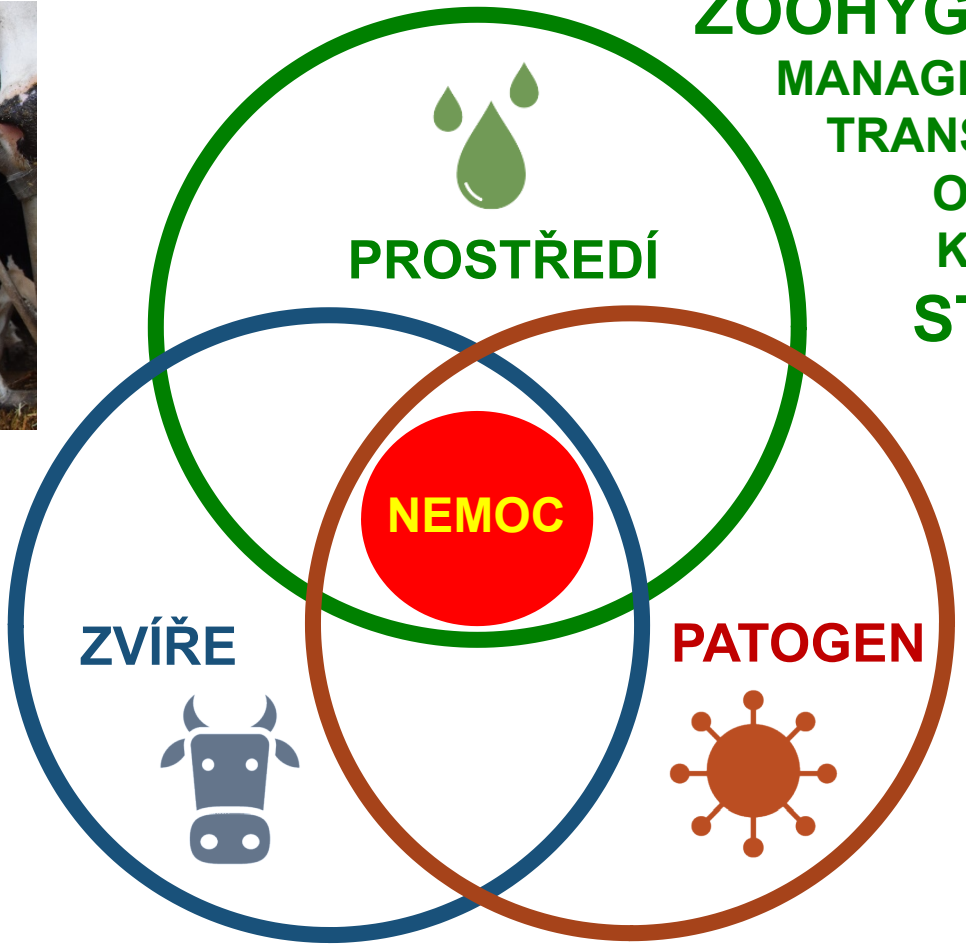


RESPIRAČNÍ ONEMOCNĚNÍ SKOTU

„RESPIRAČNÍ SYNDROM“

KOMPLEXNÍ ONEMOCNĚNÍ s MULTIFAKTORIÁLNÍ ETIOLOGIÍ

ZOOHYGIENA
MANAGEMENT
TRANSPORT
ODSTAV
KRMENÍ
STRES



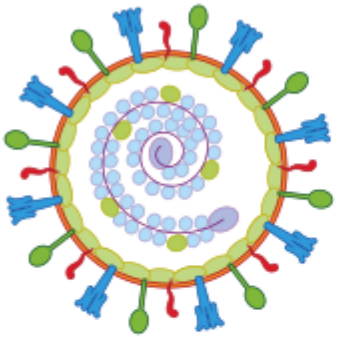
IMUNITA ZVÍŘETE
IMUNOKOMPETENCE
ZDRAVOTNÍ STAV
VAKCINACE
VĚK: FUNKČNÍ ZRALOST DÝCHACÍCH CEST A TERMOREGULACE

PRŮBĚH RESPIRAČNÍHO SYNDROMU

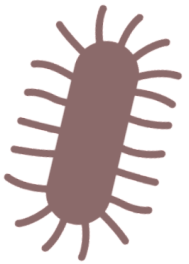
1. **STUPEŇ**
2. **STUPEŇ**
3. **STUPEŇ**
4. **STUPEŇ**

FAKTORY PROSTŘEDÍ, STRES a IMUNITA

PRIMÁRNÍ PATOGENY: VIRY
BRSV, PI3, adenovirus, BHV1, BVD atd.



SEKUNDÁRNÍ PATOGENY:
BAKTERIE A MYKOPLAZMATA
Mannheimia haemolytica



P. multocida H. somni M. bovis

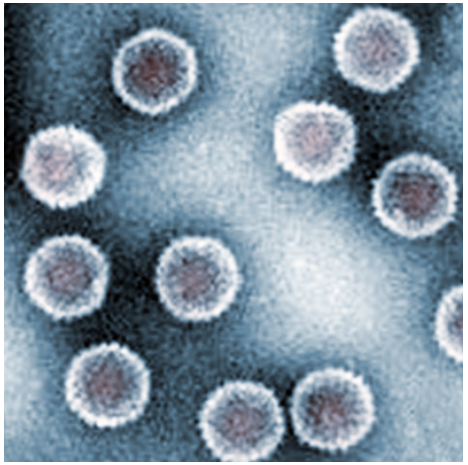
Respirační syndrom / enzootická pneumonie
DŮLEŽITÁ FAKTA:

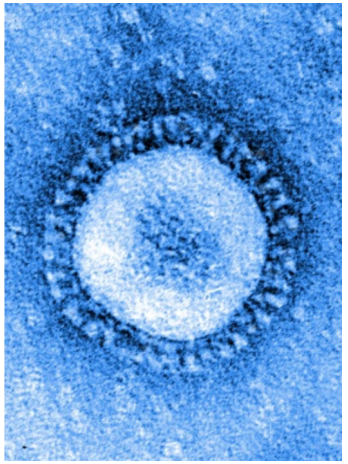
- **nejčastěji postižena TELATA ve věku 2-6 MĚSÍCŮ**
- **více než 2/3 postižených telat je mladší 3 měsíců**
- **ALE BRSV i u starších zvířat**
- **většinou sezónní výskyt (podzim, zima)**
- **ve většině případů SMÍŠENÁ INFEKCE dvou a více agens**
- **sérové protilátky** (MDA či postvakcinační) **nezaručují ochranu - nedifundují na sliznice plic** – to se děje ve větší míře až při zánětu v exudátu
- **využívá se účinné intranasální vakcinace**

NEJVÝZNAMNĚJŠÍ MIKROORGANISMY v etiologii respiračních nákaz skotu

VIRY

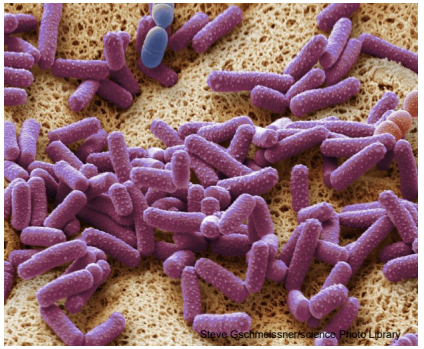
- **bovinní respiratorní a syncytiální virus (BRSV)**
- **virus parainfluenzy typu 3 (PI-3)**
- **virus bovinní virové diarrhoey (BVD-MD)**
- **bovinní herpesvirus typu 1 (BHV-1 / IBR)**
- **bovinní koronavirus (BoCoV)**
- **bovinní adenovirus**
- bovinní reovirus, rhinovirus, parvovirus





BAKTERIE

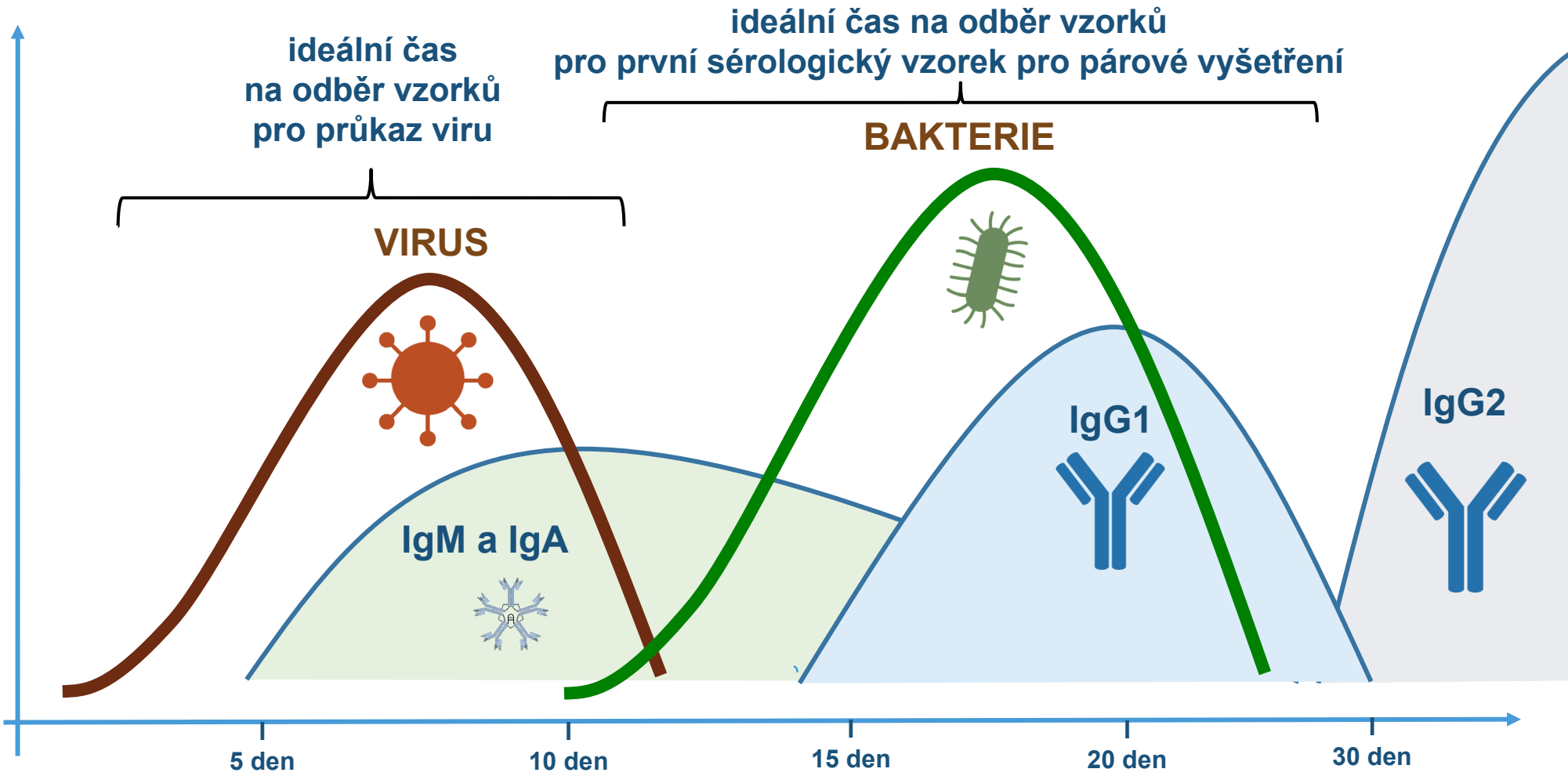
- ***Mannheimia haemolytica***
- ***Pasteurella multocida***
- ***Histophilus somni***
- ***Mycoplasma bovis***, *Mycoplasma dispar*
- *Klebsiella pneumoniae, Trueperella pyogenes, Morganella morganii atd.*



DALŠÍ NOSOLOGICKÉ JEDNOTKY spojené s resp. onemocněním skotu

NÁZEV	PŘÍČINA / Diagnostika
Přepravní horečka	• **PI3** , ***M. haemolytica***, BRSV, *P. multocida, H. somni*, *Mycoplasma* atd. • stres + patogen - postihuje **všechny věkové skupiny** = variabilní resp. problémy • DG: kultivace, izolace a identifikace bakterií, PCR, sérologie
Farmářská plíce	• **seno/prach - spóry termofilních actinomyces** *např. Saccharopolyspora rectivirgula* • hypersenzitivita + obvykle chronický stav / 1 - 2 akutní případy u skotu staršího 5 let • DG: komplikovaná diagnostika (v souvislosti s krmením a zoohygienou)
Aspirační pneumonie	• **anaerobní mikroorganismy bachoru** • při ,,ulehnutí po porodu“ či po celkové anestézii • DG: post mortem – kultivace z plic
Abscesy plic	• ***Trueperella pyogenes*** • samostatně nebo jako komplikace jiných onem. (např. při pasteurelóze) • DG: přímá mikroskopie + mikroaerofilní kultivace a identifikace
Mykotická pneumonie	• ***Aspergillus fumigatus, Mortierella wolfii*** • obvykle **chronické pneumonie** / u pneumonie *M. wolfii* fatální • DG: histopatologie, kultivace, izolace a identifikace patogenních hub
Calf diphtheria	• poranění a bakterie ***Fusobacterium necrophorum*** • **nekrotické léze** v tlamě, hltanu a hrtanu, horečka, nechutenství, slinění, pneumonie • DG: stěr z lézí, anaerobní kultivace

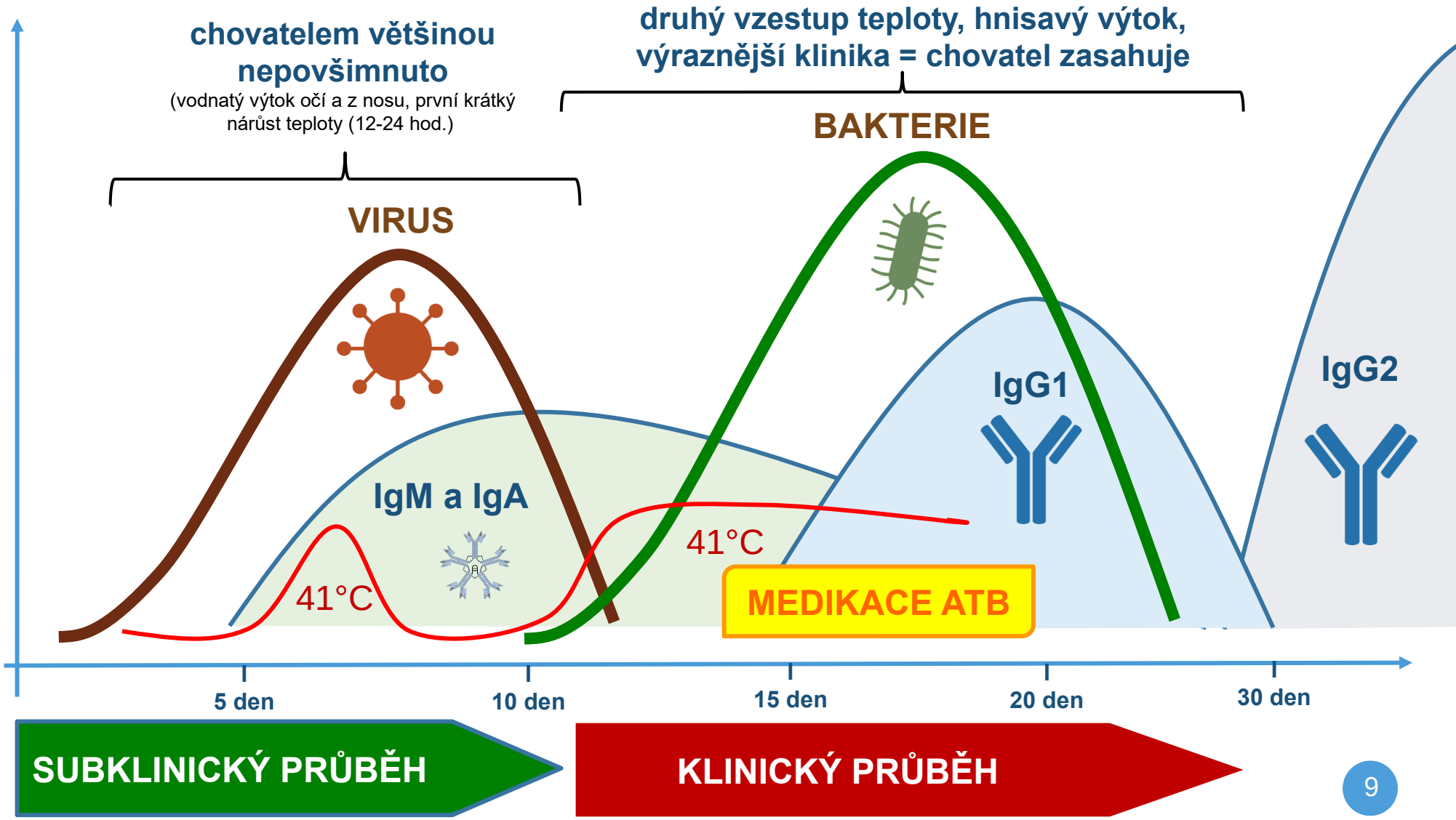
PRŮBĚH RESPIRAČNÍHO ONEMOCNĚNÍ vs. odběr vzorků pro diagnostiku



SUBKLINICKÝ PRŮBĚH

KLINICKÝ PRŮBĚH

PRŮBĚH RESPIRAČNÍHO ONEMOCNĚNÍ vs. odběr vzorků pro diagnostiku



VZORKY VHODNÉ PRO DIAGNOSTIKU respiračních onemocnění skotu

VZORKY PRO SÉROLOGICKOU DIAGNOSTIKU (průkaz specifických protilátek)

- **KREV / SÉRUM**

VZORKY PRO PŘÍMÝ PRŮKAZ VIRŮ A BAKTERIÍ (izolace, kultivace, PCR apod.)

- **NOSNÍ VÝTĚR**
- **VÝPLAŠEK (ASPIRÁT) DOLNÍCH CEST DÝCHACÍCH**
  - transtracheální aspirát (TTA)
  - bronchoalveolární laváž (BAL)
  - tracheobronchiální aspirát

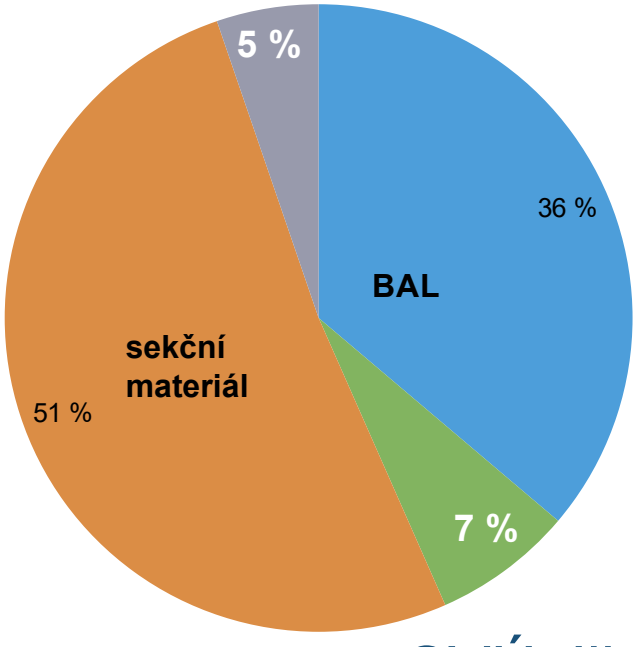
TEORIE: diagnosticky nejvhodnější vzorky bez kontaminace z horních cest dýchacích
PRAXE: **KVALITA VZORKŮ? DŮVOD VYŠETŘENÍ? TERAPIE?**

- **SEKČNÍ MATERIÁL** (plíce, trachea apod.)
- **STĚR Z OROPHARYNGU**
- **SPUTUM**

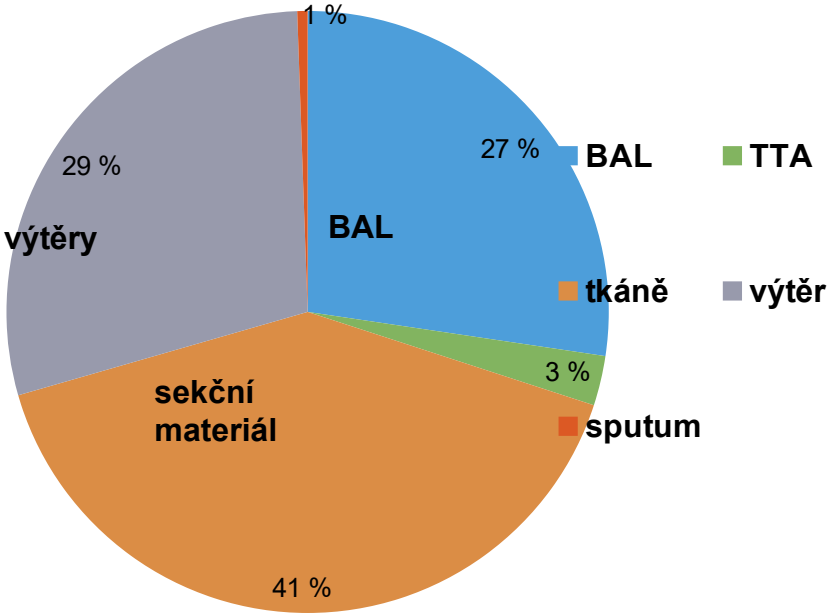
většinou nevhodný vzorek z pozdní fáze onemocnění (bez primárních patogenů) a často po ATB

ZASTOUPENÍ VZORKŮ
pro diagnostiku resp. onemocnění skotu

Testované vzorky: PCR

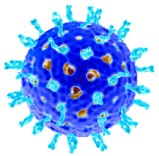


Testované vzorky: BAKTERIOLOGIE



SVÚ Jihlava 2015-2019

OBECNÉ ZÁSADY ODBĚRU VZORKŮ pro virologické vyšetření



- ✓ při odběru vzorků virologické vyšetření vycházíme ze znalostí patogeneze virových onemocnění
- ✓ **množství viru je obvykle nejvyšší v počátečním stadiu choroby** a v místě patologických změn či na jejich periferii (+ tkáňový/orgánový tropismus)
- ✓ **maximální výše titru** viru často koreluje s **vrcholem horečky** a předchází výskytu klinických změn
- ✓ **různé viry – různě dlouhá virémie** – BVD – perzistentní virémie nebo akutní virémie 5-16 dnů, některé viry bez virémie = virus se replikuje na sliznici - BRSV kratší dobu (5-8dní), PI-3 delší dobu (8-10 dní)
- ✓ vzorky získané **z pozdního stádia choroby nebo post-mortem - menší pravděpodobnost záchytu** (živého) **viru**
- ✓ **důležitá je komunikace: konzultace klinika (terén) a vrologa (laboratoř)**
  komunikujeme: ODBĚR, TRANSPORT a UCHOVÁNÍ apod.

Doporučený odběr, uložení a transport vzorků viz

STÁTNÍ VETERINÁRNÍ ÚSTAV JIHLAVA

RESPIRAČNÍ ONEMOCNĚNÍ SKOTU

ODBĚR VZORKŮ, ULOŽENÍ, TRANSPORT, VYŠETŘENÍ

Biologický materiál k vyšetření:

1. nosní výtěr
2. výplašek (aspirát) dolních cest dýchacích (TTA, BAL)
3. sekční materiál
4. stěr z oropharyngu
5. sputum
6. krev/sérum
7. krev pro hemokulturu
8. odběr vzorků pro detekci *Mycoplasma bovis a Mycoplasma sp.*

STÁTNÍ VETERINÁRNÍ ÚSTAV JIHLAVA
Rantířovská 93, 586 05 Jihlava
Tel.: +420 567 143 297, Fax: +420 567 143 262, Web: www.svujihlava.cz, E-mail: virologie@svujihlava.cz

https://www.msd-farmarske-forum.cz/diagnosticky-pruvodce/

https://www.svujihlava.cz/344-odber-a-baleni-vzorku-objednavky-vysetreni.html

NABÍDKA SVOZU VZORKŮ

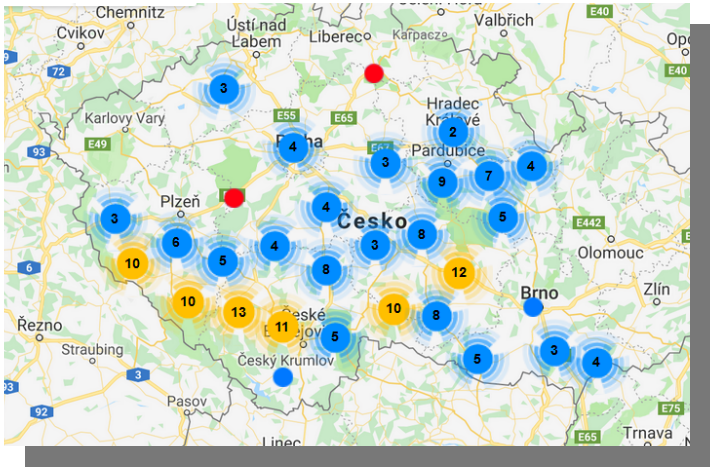
1) Naše svozové linky - viz WEB SVÚ Jihlava

https://www.svujihlava.cz/14-prijem-a-svoz-vzorku.html

2) Kurýr TNT – po individuální konzultaci

(hradí SVÚ Jihlava)

- nechlazené!!
- doručení do 24 hodin

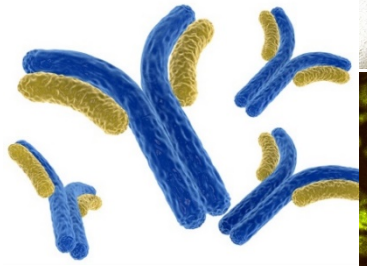


3) Biopharm – dohoda s SVÚ Jihlava na využití svozných linek firmy

VIROLOGICKÉ / SÉROLOGICKÉ METODY
v diagnostice respiračních nákaz skotu

NEPŘÍMÝ PRŮKAZ VIRU (PRŮKAZ DŮSLEDKŮ INFEKČNÍHO PROCESU):

- PA nález a histopatologie
- **sérologie - detekce a kvantifikace specifických anti-virových** (popř. anti-bakteriálních) **protilátek**

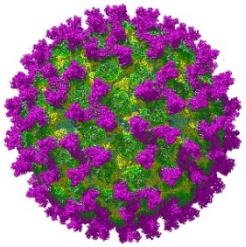


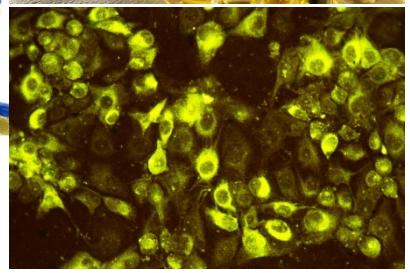
PŘÍMÝ PRŮKAZ VIRU:

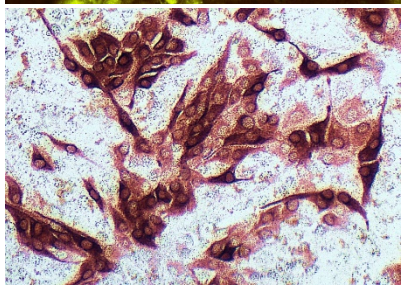
Izolace a kultivace viru

Detekce a identifikace virových antigenů

- **ELISA antigen**
- **přímý imunofluorescenční test** (DFA, gFA, FA)
- **imunohistochemie** (IHC)
- **imunoperoxidázový test** (PLA)

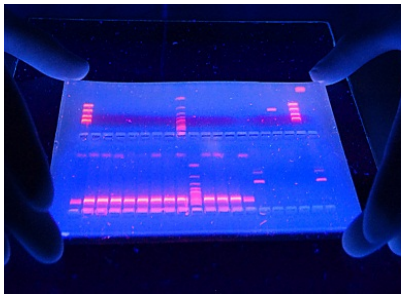






Detekce a identifikace virové (popř. bakteriální) **nukleové kyseliny**

- **PCR (polymerázová řetězová reakce) a její modifikace** (Real-time PCR, RT-PCR, PCR-multiplex apod.)
- **sekvenace / typizace**



OBECNÉ ZÁSADY pro SPRÁVNOU VOLBU TESTU

je třeba znát mnohá fakta a to jak z laboratoře tak z terénu

jinak **nebezpečí nesprávné volby testu a/nebo nesprávné interpretace!**

DATA Z TERÉNU:

- **anamnéza?**
- **věk zvířat?**
- **fáze infekce?** – akutní, chronická,..
- **vzorkování?** – původ vzorků, způsob odběru, způsob uchování a transportu…
- **prevalence?** epizootologická situace
- **vakcinace?** – ANO/NE , jaká vakcína, způsob podání, vakcinační historie
- **věk, MDA ?** - mateřské protilátky

DATA Z LABORATOŘE:

- **co test detekuje?** antigen, NK, IgM, IgG
- **senzitivita testu?**
- **specificita testu?**
- **robustnost a opakovatelnost testu?**
- **test kvalitativní či kvantitativní?**
- **nutnost párových vzorků?**

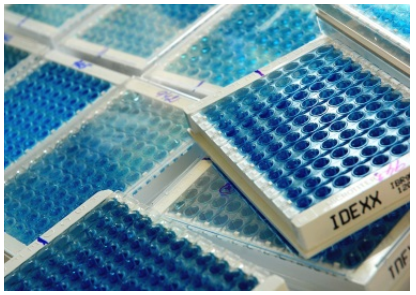
SÉROLOGIE: detekce specifických protilátek

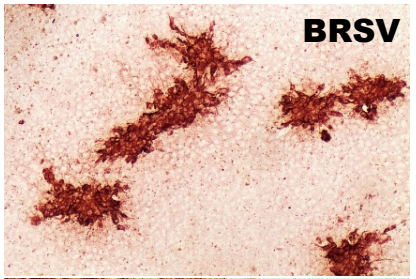
- **ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)**
  - většinou pouze **kvalitativní jednoduchý výsledek = pozit. /negat.**
  - **vysoce senzitivní a specifický a rychlý** diagnostický test
  - detekujeme**: BRSV, PI-3, BVD, IBR, BoCoV, Adenovirus, *Mannheimia haemolytica, Mycoplasma bovis***

výjimky – sérologický průkaz bakterie

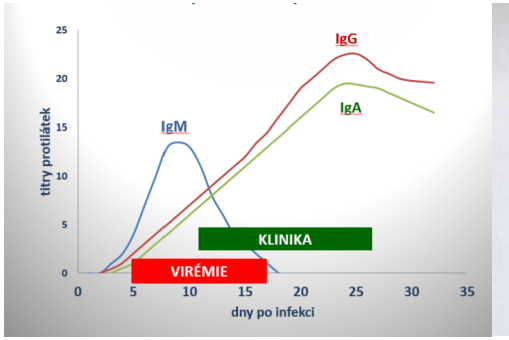
KVANTITATIVNÍ TESTY = VÝSLEDEK JE UDÁVÁN V TITRECH

- **IPMA (imunoperoxidázový test)**
  - detekujeme: protilátky proti viru **BRSV**
- **VNT (virus neutralizační test)**
  - detekujeme: protilátky proti viru **BHV1 (IBR)**
- **NPLA (neutralizační imunoperoxidázový test)**
  - detekujeme: protilátky proti viru **BVD**
- **HIT (hemaglutinačně-inhibiční test)**
  - detekujeme: protilátky proti viru **PI-3**





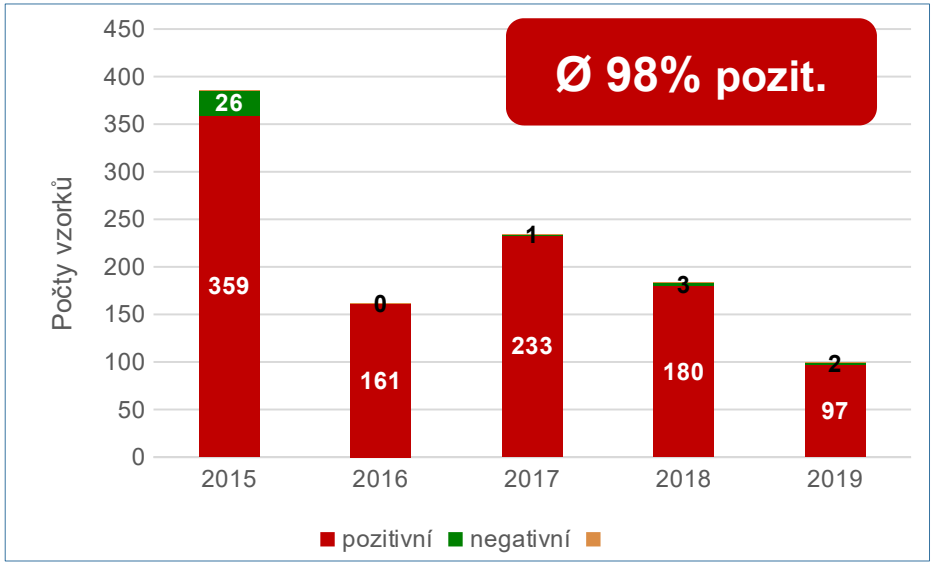
LIMITY SÉROLOGIE



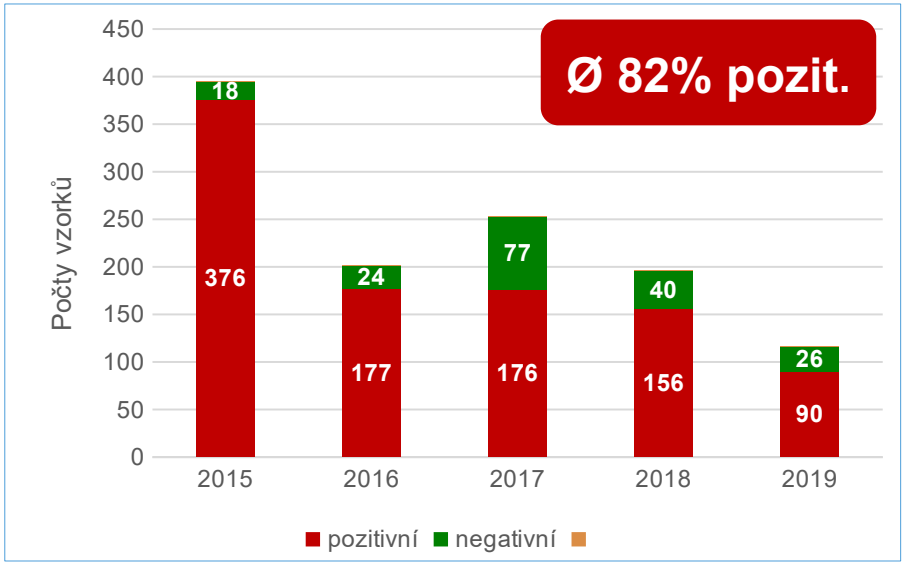
- stanovujeme imunitní odpověď na infekci - **vzestup protilátek může trvat týdny**
- **stanovujeme většinou pouze IgG odpověď** (ALE nestanovujeme IgA, IgM, buněčnou imunitu, slizniční imunitu nebo nespecifické imunitní mechanismy)
- **k interpretaci** (diagnostické) jsou většinou **nutné párové vzorky**
- **nerozlišuje mateřské** (kolostrální) **protilátky** (MDA) **a postinfekční protilátky**
- **kvůli vysokým titrům MDA do 3. měsíců stáří telat neprokazatelná sérokonverze**
- **nerozlišujeme postvakcinační a postinfekční protilátky** (výjimka IBR gE)
- **výběr vzorkovaných zvířat je kritickým bodem** - musí být reprezentativní pro danou nákazu (z diagnostického hlediska), nebo pro celé stádo/halu
- **nevhodně odebrané vzorky (načasování) = nemožná či nesprávná interpretace výsledků vyšetření**

SÉROLOGIE: POČTY VYŠETŘENÍ v SVÚ Jihlava 2015-2019

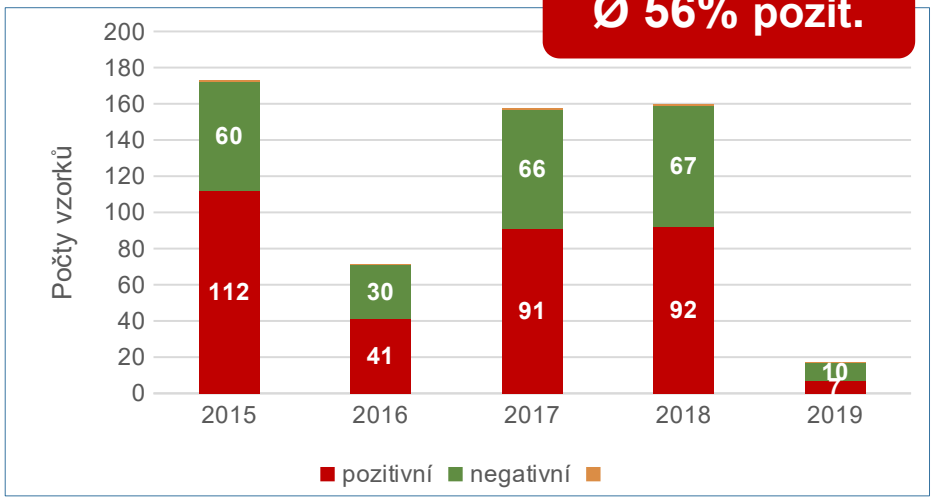
PARAINFLUENZA 3: HIT



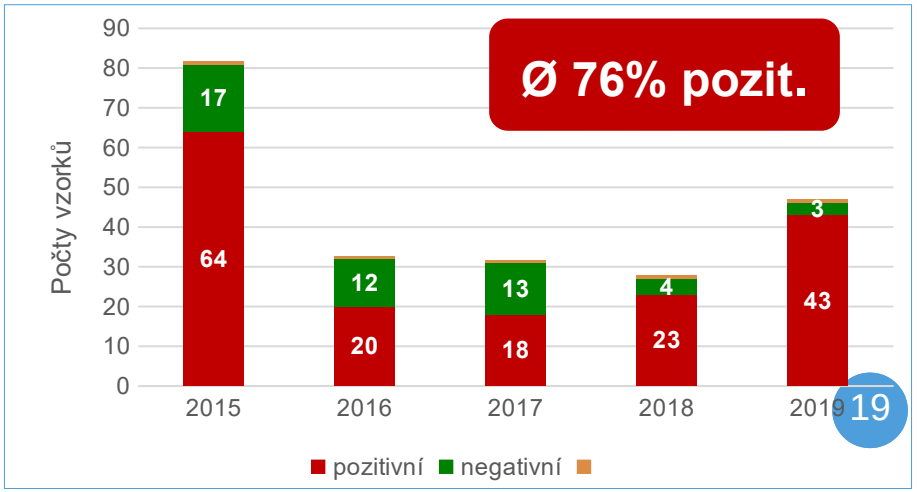
BRSV: IPMA



BVD VIRUS: NPLA

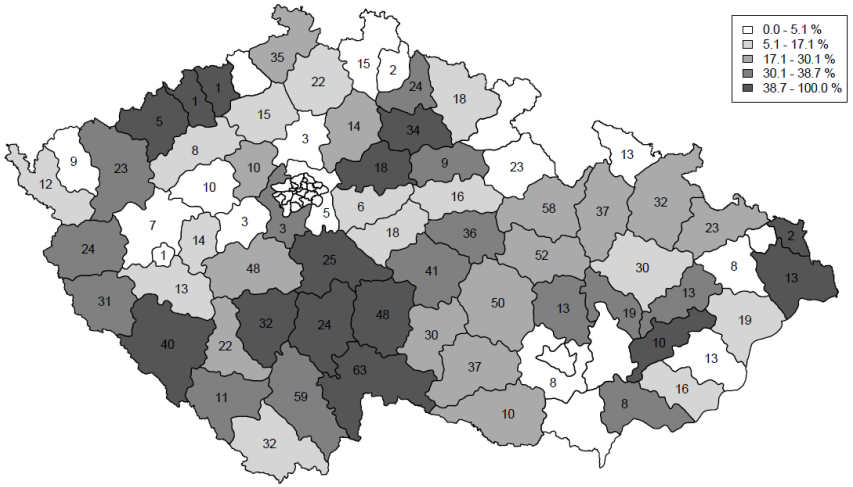


Adenovirus: ELISA Ab



Sérologický screening BVD 2017 v ČR

Počet pozitivních zvířat z 10 testovaných vz.	Počet hospodářství
0	1077
1	79
2	28
3	25
4	19
5	40
6	20
7	19
8	31
9	38
10	103
Celkem	1479



BVD pozitivní chovy – prevalence dle okresů

402 chovů = **27%**

Prevalence chovů s vysokou pravděpodobností **aktivní infekce s přítomností PI zvířete** je **17,0%** (251 chovů z 1479 testovaných)

PÁROVÉ VZORKY: sledování dynamiky titrů protilátek

Na potvrzení recentní infekce BRSV, PI3, Adenoviru či BVD je doporučen **průkaz sérokonverze = VZESTUP TITRŮ PROTILÁTEK.**

- **Z PÁROVÝCH VZORKŮ** odebraných **v intervalu min. 3-4 týdnů ze stejných zvířat**
- **první odběr nutno OZNAČIT na ŽÁDANKU**

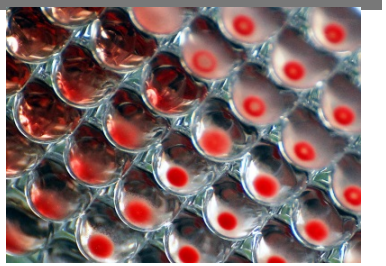
Signifikantní sérokonverze je potvrzena rozdílem v titrech mezi párovými vzorky a to minimálně o dva řády (např. 20 → 80, 32 → 128 nebo 80 → 320 apod.).

Párové vzorky je **nutné testovat:**

- **v jedné laboratoři**
- **najednou (1. a 2. odběr) za stejných podmínek**
- **stejným testem (kvantitativním)**
- **se stejnou šarží testu**

BOVINNÍ RESPIRATORNÍ SYNCYTIÁLNÍ VIRUS (BRSV)
Průkaz protilátek proti BRSV testem IPMA
IMUNOPEROXIDÁZOVÝ TEST

Titr protilátek	Vz. č.
negativní (<1:20)	-
1:20	6
1:40	8, 19, 20
1:80	2, 4, 16
1:160	12, 14, 17
1:320	10, 11, 18
1:640	1, 5, 7, 9, 21
1:1280	3, 15
≥ 1:2560	13
Nehodnotitelné	-
Málo séra – netestováno	-
Celkem testováno vz.	21



PÁROVÉ VZORKY:
sledování dynamiky titrů protilátek

BOVINNÍ RESPIRATORNÍ SYNCYTIÁLNÍ VIRUS (BRSV)
Průkaz protilátek proti BRSV testem IPMA
IMUNOPEROXIDÁZOVÝ TEST

Titr protilátek	Vz. č.
negativní (<1:20)	5
1:20	8
1:40	3, 4, 9, 10
1:80	-
1:160	2, 6
1:320	7
1:640	1
1:1280	-
≥ 1:2560	-
Nehodnotitelné	-
Málo séra – netestováno	-
Celkem testováno vz.	10

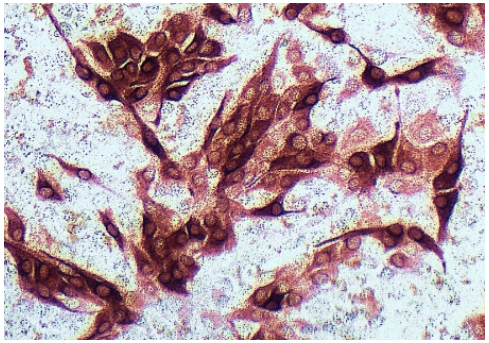
3 - 4 TÝDNY

BOVINNÍ RESPIRATORNÍ SYNCYTIÁLNÍ VIRUS (BRSV)
Průkaz protilátek proti BRSV testem IPMA
IMUNOPEROXIDÁZOVÝ TEST

Titr protilátek	Vz. č.
negativní (<1:20)	-
1:20	
1:40	
1:80	
1:160	-
1:320	9
1:640	4, 5
1:1280	3, 6, 7
≥ 1:2560	1, 2, 8, 10
Nehodnotitelné	-
Málo séra – netestováno	-
Celkem testováno vz.	10

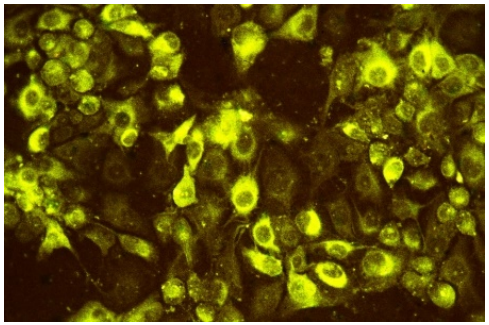
METODY PŘÍMÉHO PRŮKAZU VIRU v diagnostice resp. onemocnění skotu

IZOLACE VIRU – provádí se výjimečně **BVD, BRSV** atd.



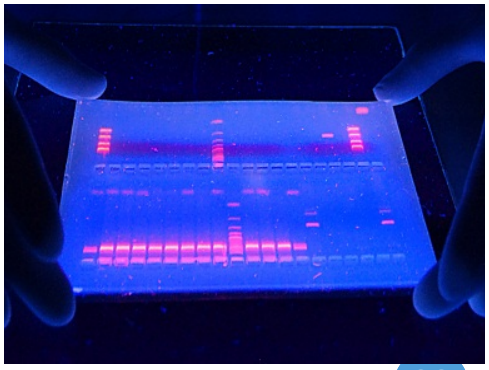
DETEKCE VIROVÝCH ANTIGENŮ

- ELISA antigen - **BVD**
- přímý imunofluorescenční test (FA) - **reovirus,** - **koronavirus** atd.



DETEKCE VIROVÉ NUKLEOVÉ KYSELINY

- **PCR (polymerázová řetězová reakce) a její modifikace** (Real-time PCR, RT-PCR, PCR-multiplex apod.) **lze použít na detekci všech virů**
  + využíváno i pro průkaz bakterií
- **sekvenace / typizace**



PCR SCREENING původců respiračních onemocnění skotu

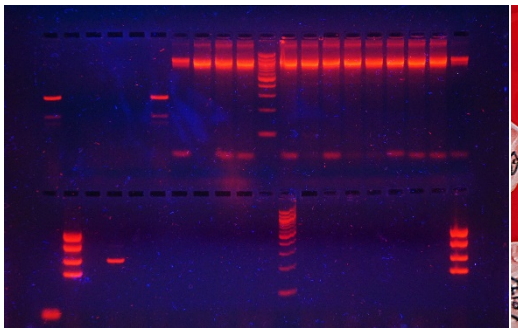
- **1 odběr/vzorek** (TTA, BAL, plíce, výtěr nebo sputum) **– 7 patogenů**
- **detekce genomu/NK = detekce živých i neživých mikroorganismů**
- **lze využít i na počátku medikace ATB**
- **7 x Real time RT-PCR / PCR –** „balíček“ vyšetření za zvýhodněnou cenu

VIRY

- **bovinní respiratorní a syncytiální virus (BRSV)**
- **virus parainfluenzy typu 3 (PI-3)**
- **bovinní koronavirus (BoCoV)**

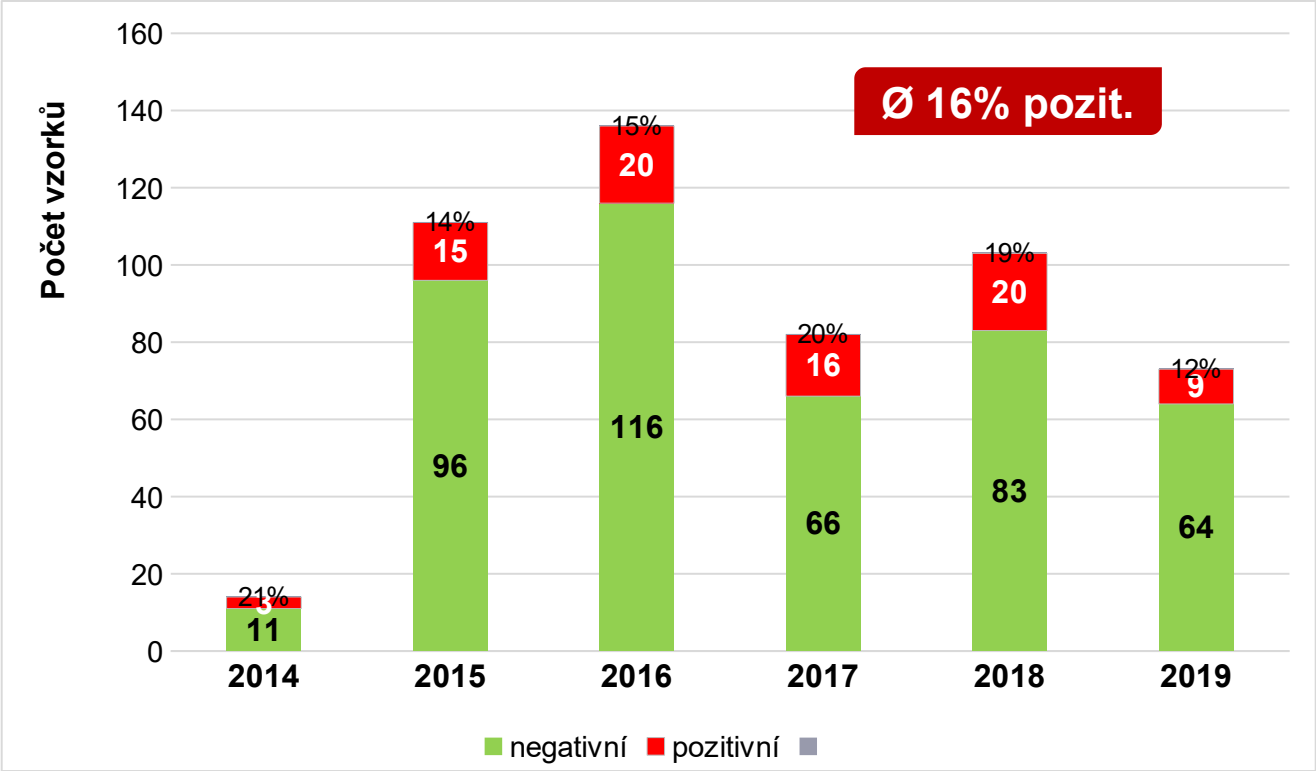
BAKTERIE

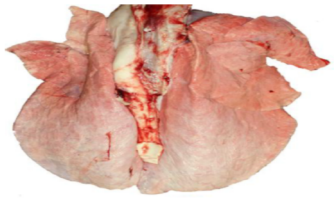
- ***Mannheimia haemolytica***
- ***Pasteurella multocida***
- ***Histophilus somni***
- ***Mycoplasma bovis***

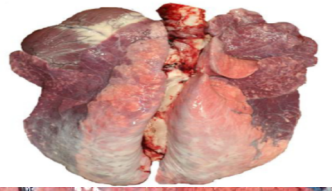


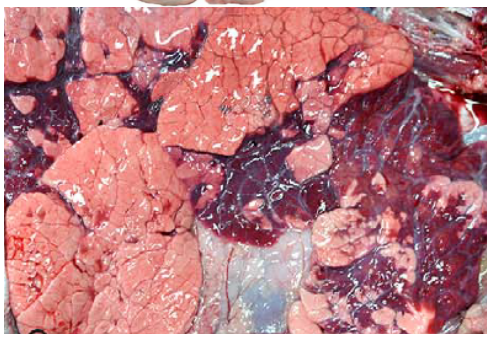
BRSV: RT-PCR

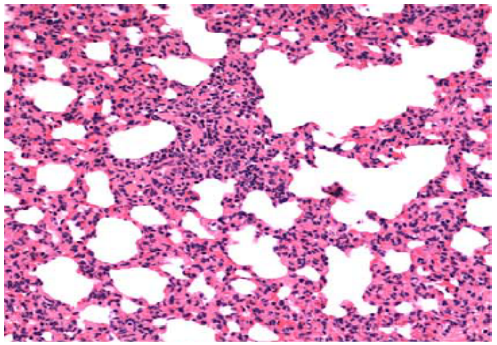
POČTY VYŠETŘENÍ v SVÚ Jihlava 2014-2019







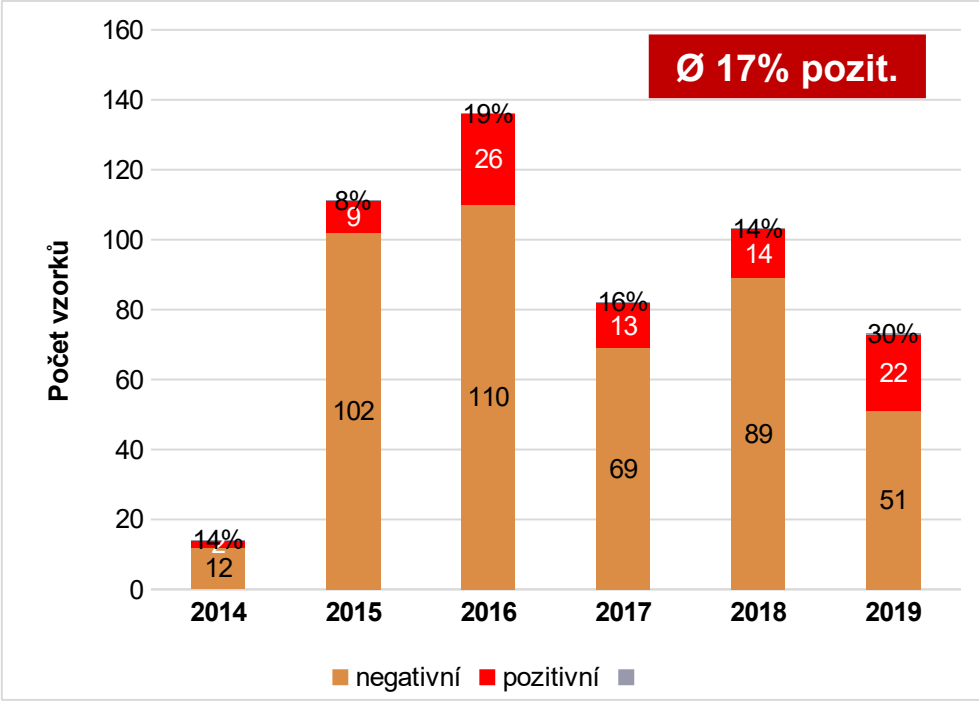


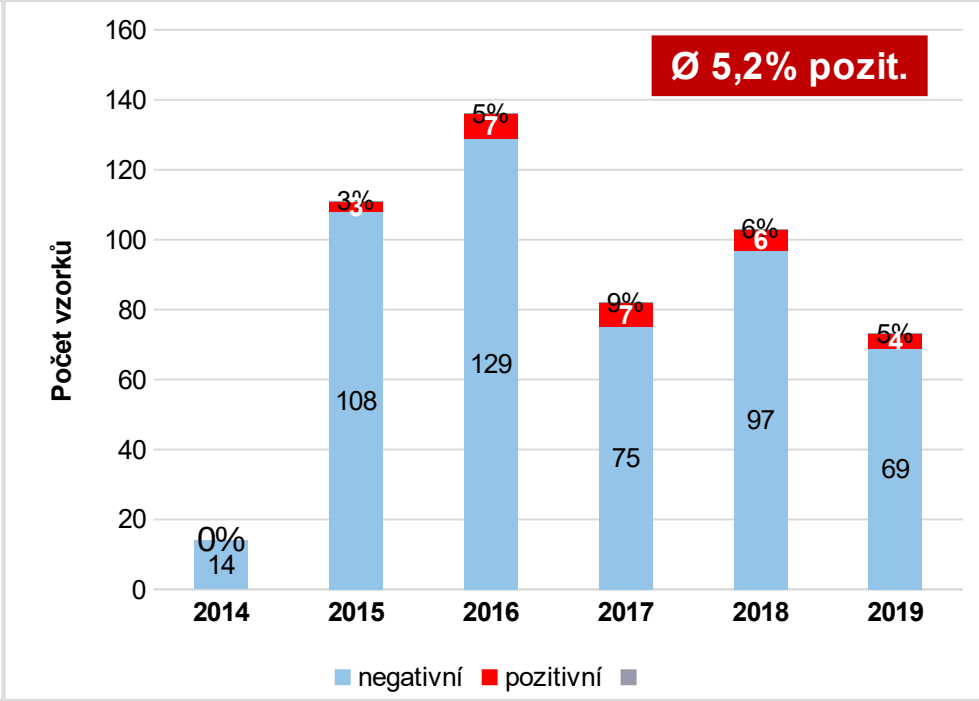


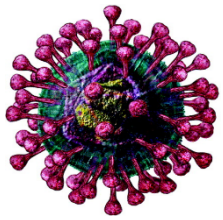
- nejzávažnější respirační patogen – většinou do 6. měs.
- akutní bronchopneumonie, emfyzém, úhyny
- infekce i přes přítomnost MDA
- běžné reinfekce a reintrodukce BRSV do chovu
- virus velmi citlivý ve vnějším prostředí

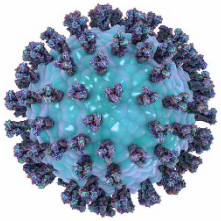
POČTY VYŠETŘENÍ v SVÚ Jihlava 2014-2019

BOVINNÍ KORONAVIRUS a PARAINFLUENZA 3: RT-PCR



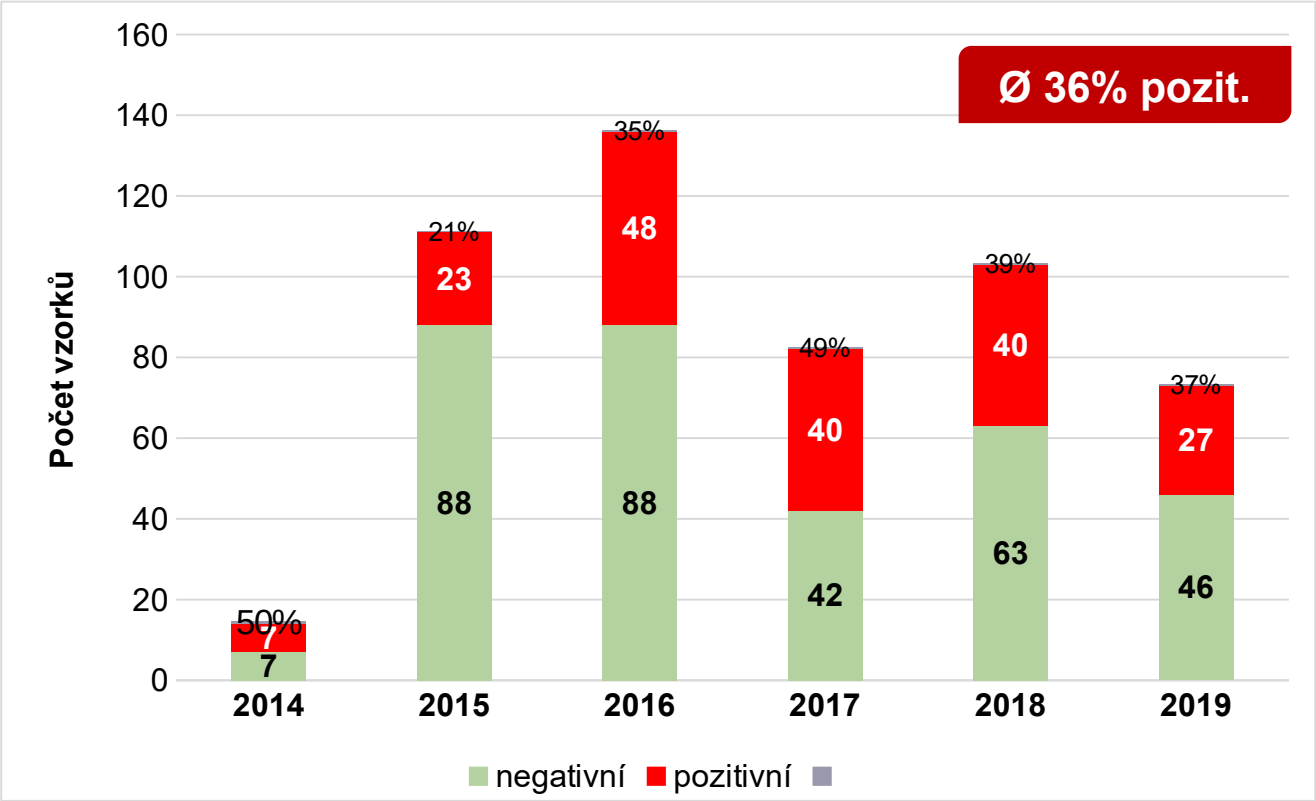


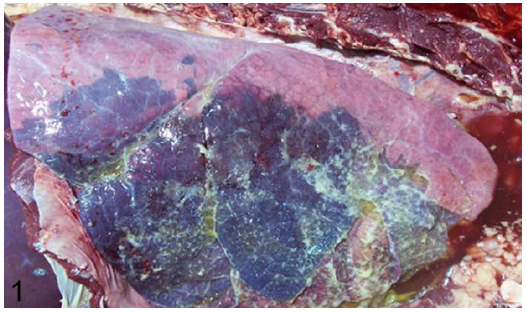


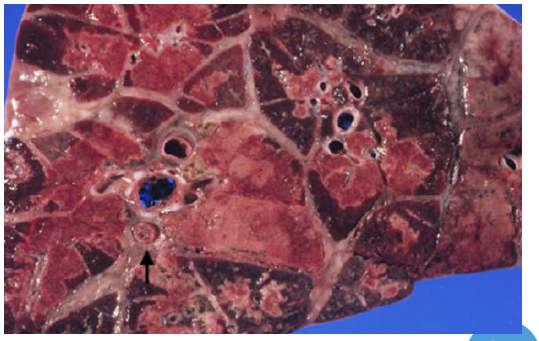


Mannheimia haemolytica: PCR test

POČTY VYŠETŘENÍ v SVÚ Jihlava 2014-2019



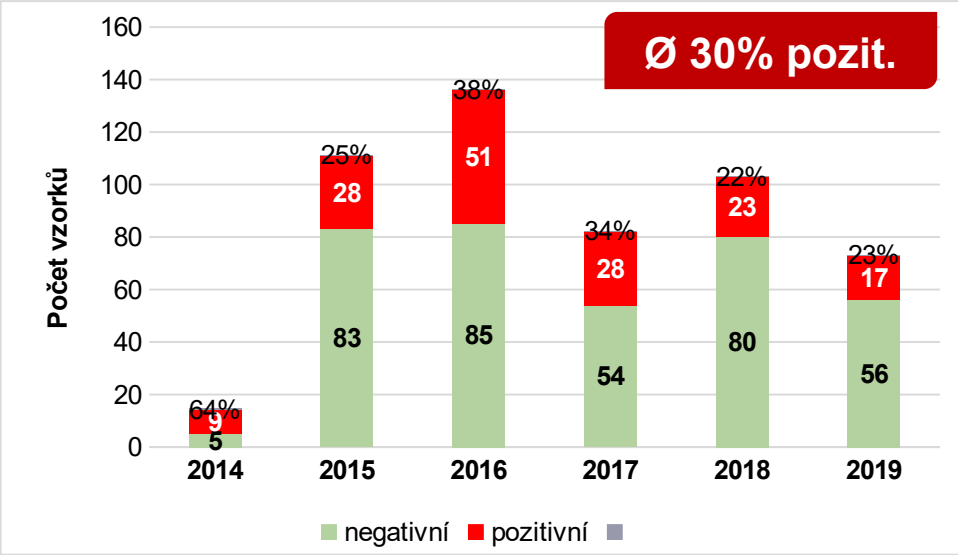




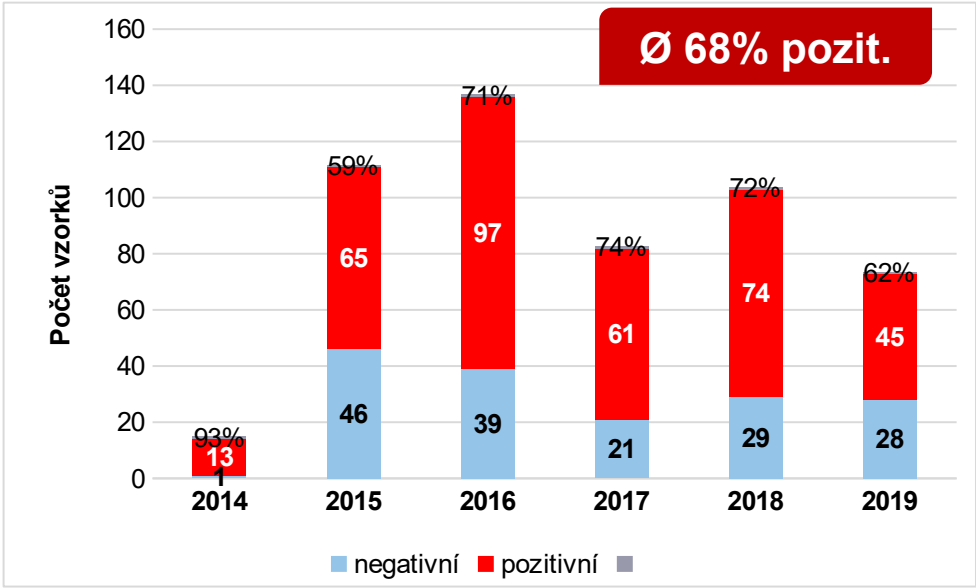
- nejčastější bakterie izolovaná z fatálních případů respiračních onemocnění skotu
- různě patogenní kmeny
- způsobuje fibrinózní bronchopneumonie
- saprofyt v nosních dutinách a nosohltanu, ale nemá být detekována v plicích

POČTY VYŠETŘENÍ v SVÚ Jihlava 2015-2019

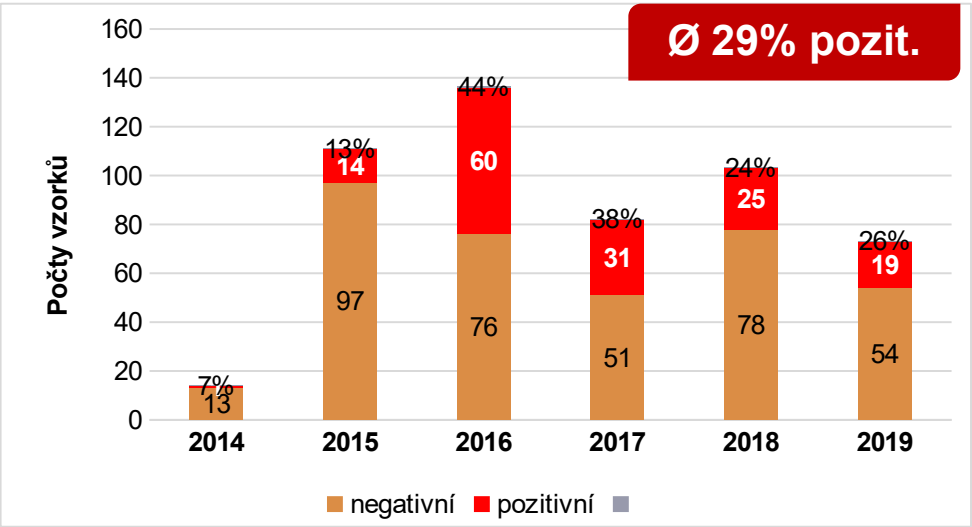
Histophilus somni: PCR test



Pasteurella multocida: PCR test

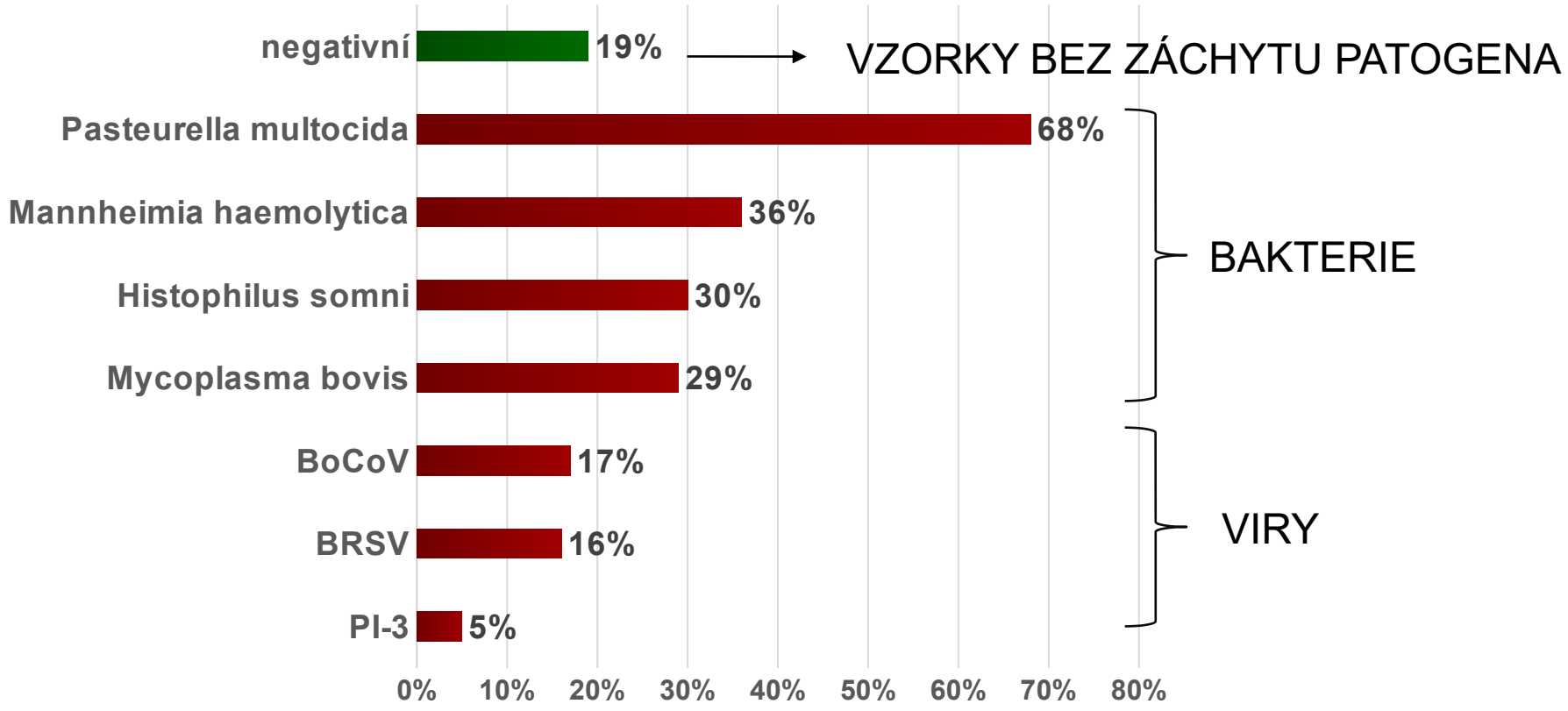


Mycoplasma bovis: PCR test



PCR SCREENING původců respiračních onemocnění skotu

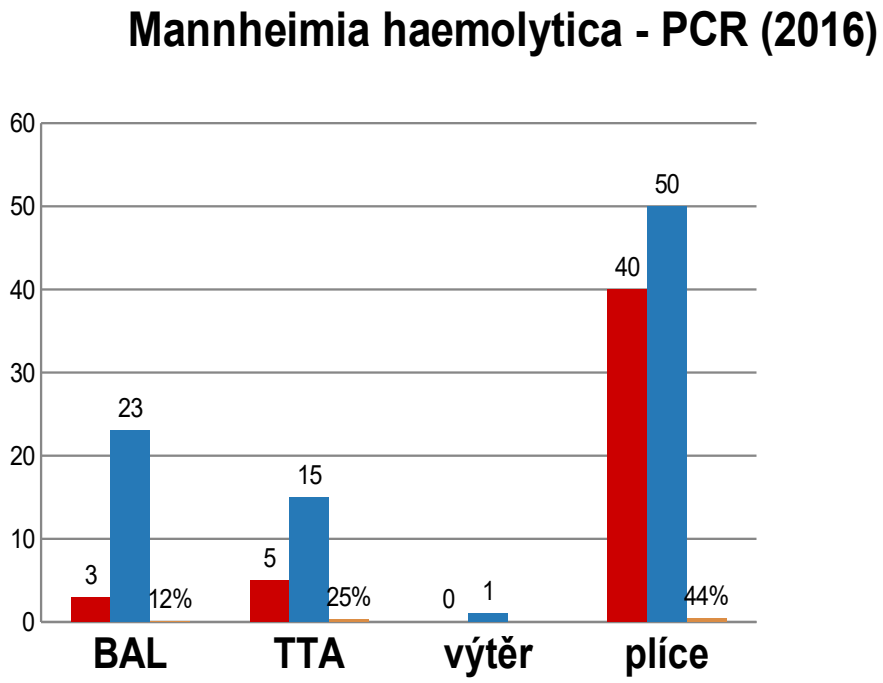
ČETNOST ZÁCHYTŮ CELKEM: 2014-2019

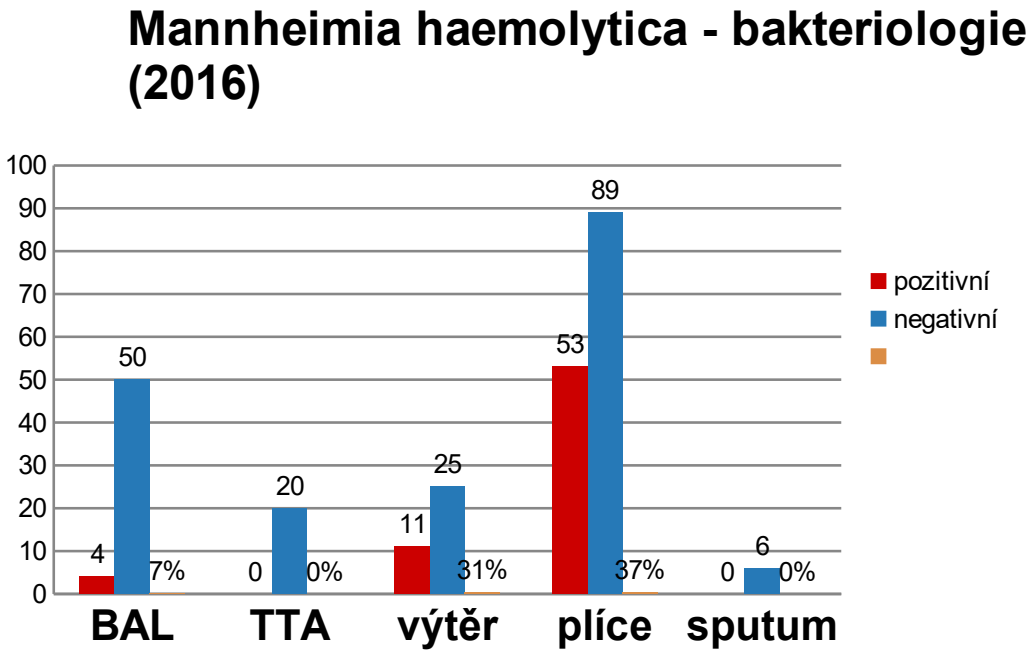


Většinou koinfekce různého složení.

PCR SCREENING původců respiračních onemocnění skotu

Porovnání záchytu *M. haemolytica* **z různých typů vzorků.**



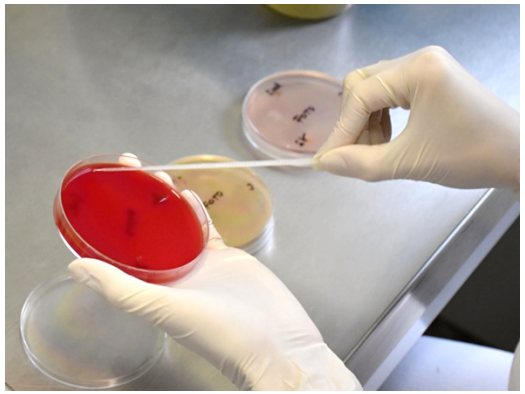
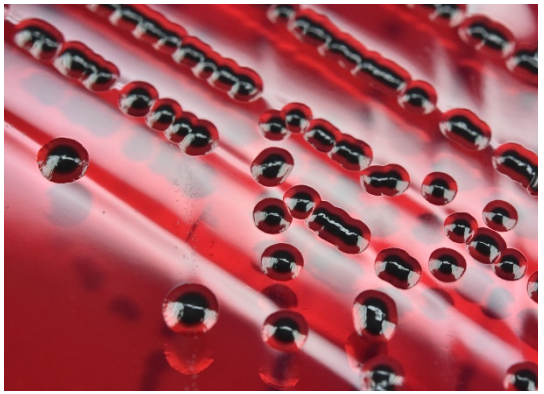
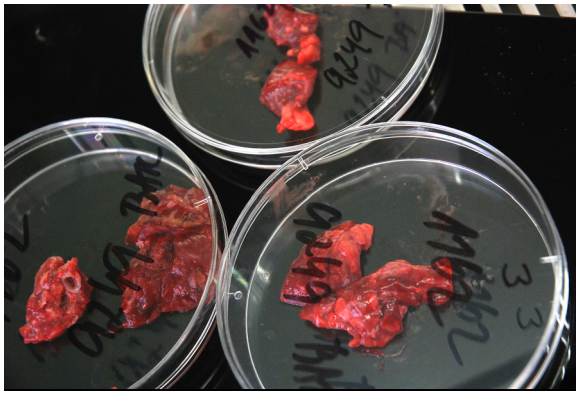
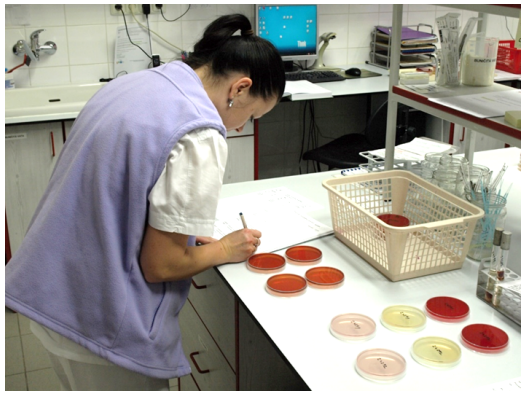


Kvalita odběru BAL/TTA? Důvod odběru? Čas odběru (klinická fáze)?

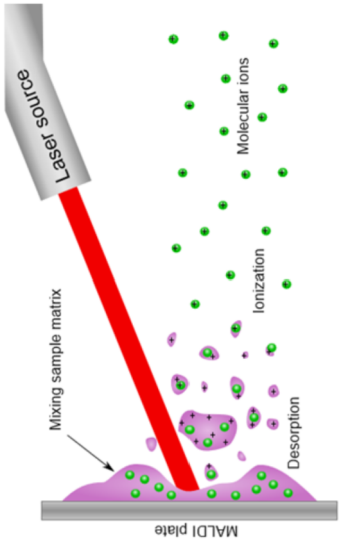
METODY PŘÍMÉHO PRŮKAZU BAKTERIÁLNÍCH PŮVODCŮ

resp. onemocnění skotu

KULTIVACE A IZOLACE

Rodová a druhová identifikace mikroorganismů hmotnostní spektrometrií

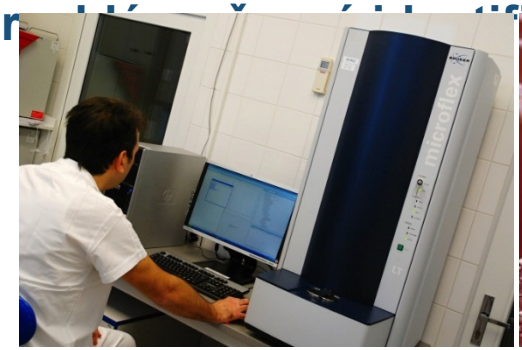


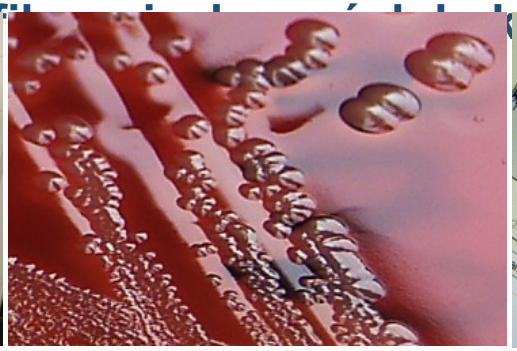
MALDI-TOF MS

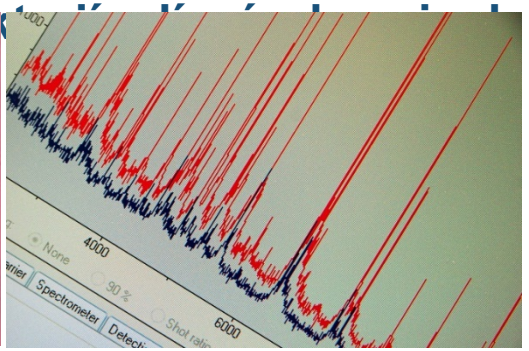
Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization

s analyzátorem doby letu

Time of Flight Mass Spectrometry

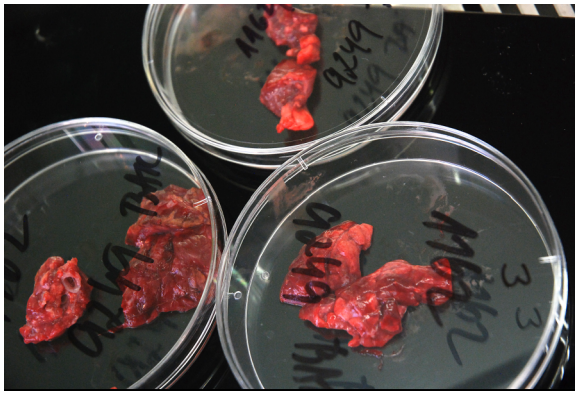






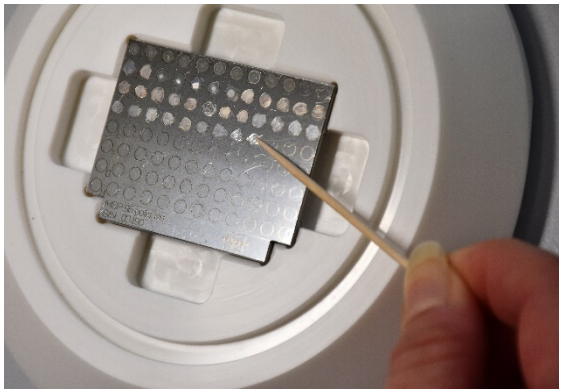
CELÝ PROCES IDENTIFIKACE METODOU MALDI - TOF

KLINICKÝ VZOREK
kultivace + izolace

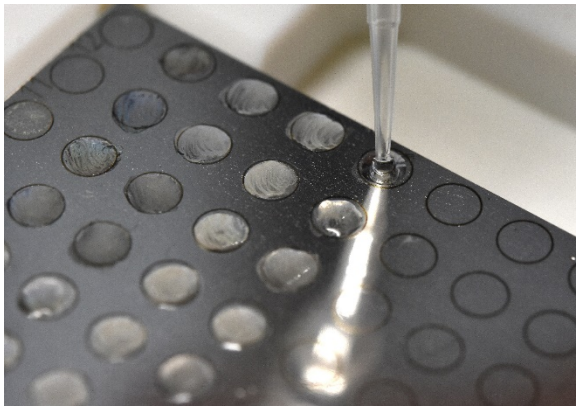


BAKTERIÁLNÍ KULTURA
selekce kolonie

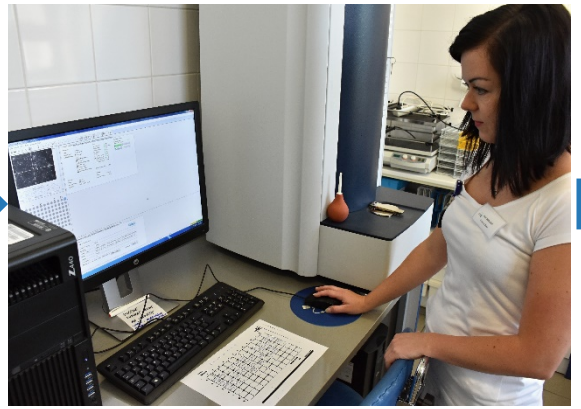
DESTIČKA MALDI TOF
přenesení kolonie



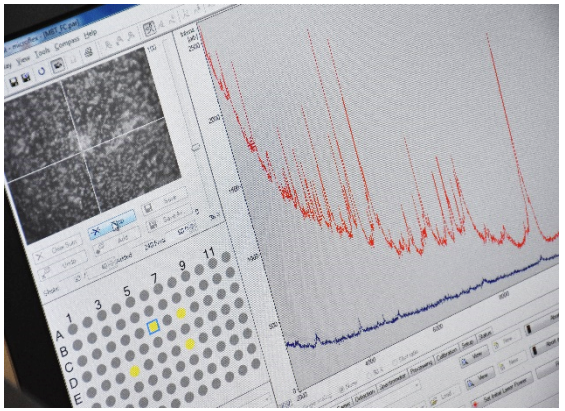
DESTIČKA MALDI TOF
krystalizace kolonie pomocí matrix



MALDI TOF MS analýza
proces měření

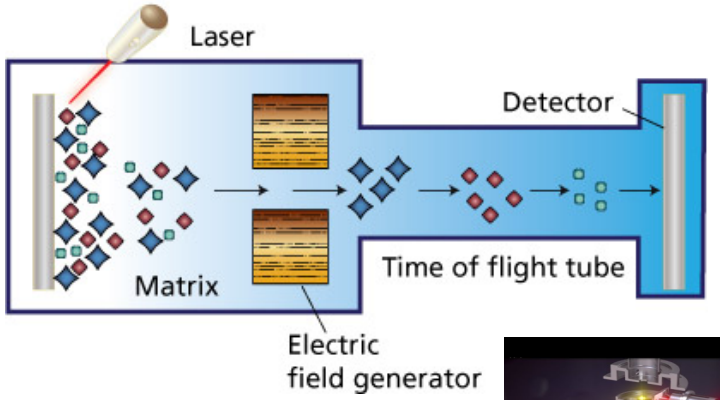


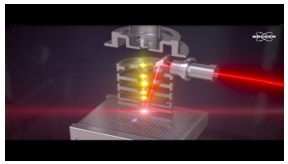
VYHODNOCENÍ
výsledků MALDI TOF

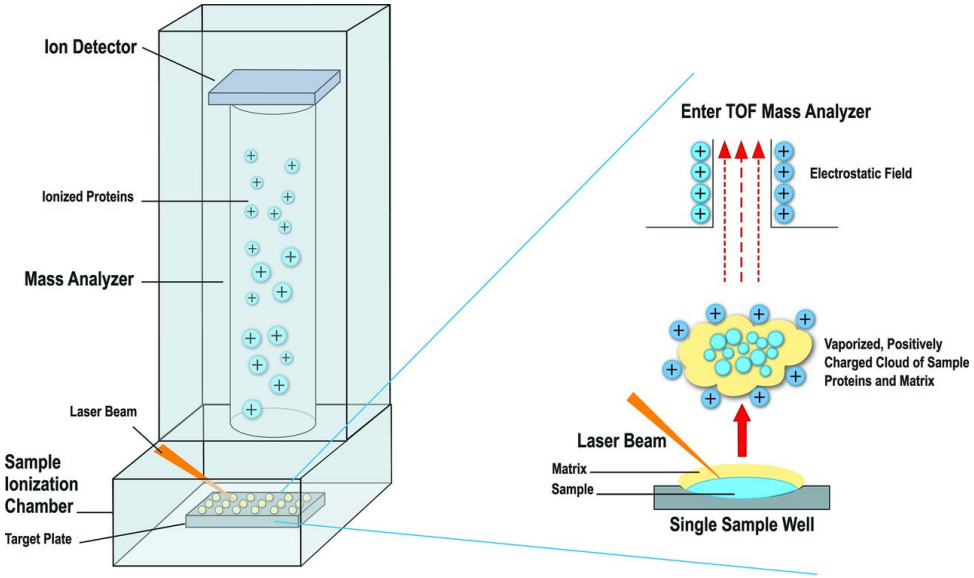


PRINCIP metody MALDI - TOF

- ✓ **mikroorganismus** se za pomocí matrice **ionizuje laserem ve vakuu** (**MALDI**)
- ✓ **detektor doby letu** (**TOF**) **měří dobu letu** ribozomálních proteinů uvolněných z mikroorganismů po jejich přistání na detektoru
- ✓ z doby průletu zaznamenané detektorem se **vypočítá rychlost částice** a **pomocí kalibračních konstant přepočítává na hmotnost jednotlivých proteinů**
- ✓ naměřené hodnoty molekulárních hmotností se **zaznamenávají jako seznam píků**, toto hmotnostní spektrum je pro velký počet mikroorganismů druhově specifické, představuje jejich „**molekulární identifikátor**“ (tzv. fingerprint)





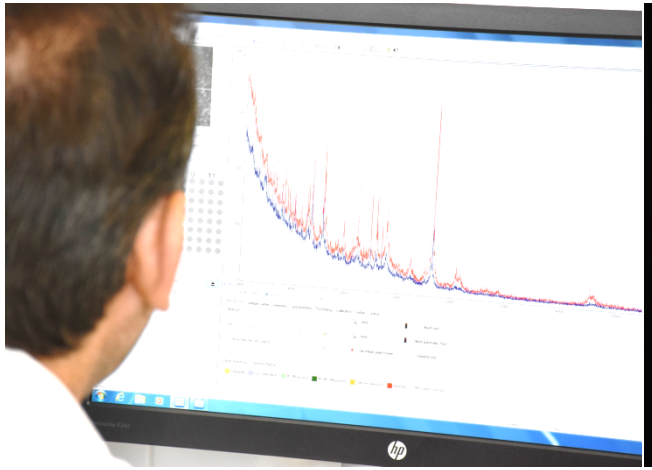


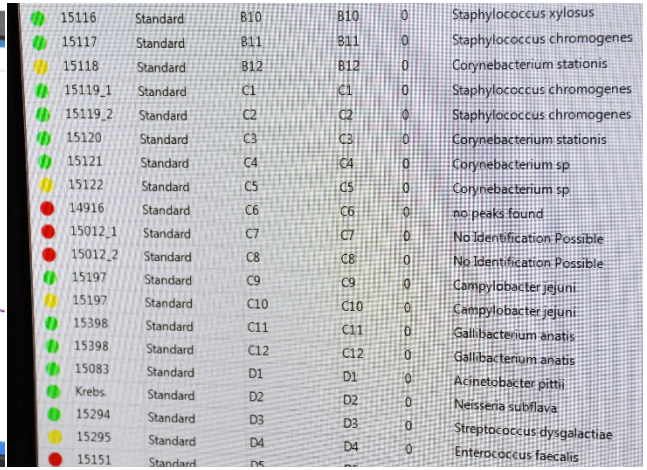
VÍCE VIZ VIDEO:

https://www.youtube.com/watch?v=0jeFpXHZ8W0

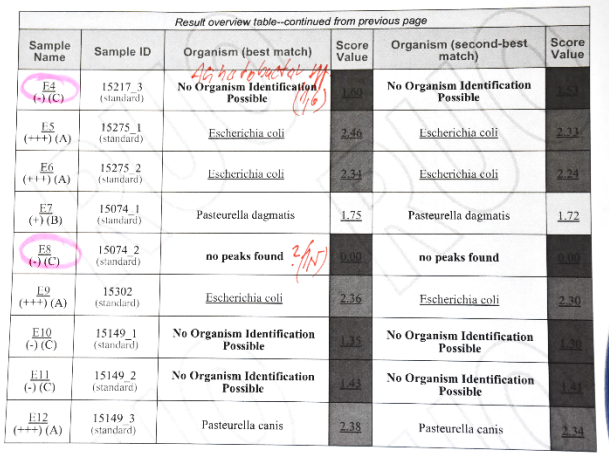
VYHODNOCENÍ výsledků MALDI - TOF

- ✓ fingerprint vyšetřované bakterie se **porovnává se** všemi profily uloženými v databázi
- ✓ pro toto srovnání profilu software **vypočítává tzv. identifikační skóre**, které znamená pravděpodobnost toho, že neznámý mikroorganismus je jedním z druhů, které jsou v databázi přístroje
- ✓ **vlastní interpretaci výsledků provádí vždy mikrobiolog** (vyšetření se v některých případech neobejde bez dalších **konfirmačních vyšetření**)





15116	Standard	B10	B10	0	Staphylococcus xylosus
15117	Standard	B11	B11	0	Staphylococcus chromogenes
15118	Standard	B12	B12	0	Corynebacterium stationis
15119_1	Standard	C1	C1	0	Staphylococcus chromogenes
15119_2	Standard	C2	C2	0	Staphylococcus chromogenes
15120	Standard	C3	C3	0	Corynebacterium stationis
15121	Standard	C4	C4	0	Corynebacterium sp
15122	Standard	C5	C5	0	Corynebacterium sp
14916	Standard	C6	C6	0	no peaks found
15012_1	Standard	C7	C7	0	No Identification Possible
15012_2	Standard	C8	C8	0	No Identification Possible
15197	Standard	C9	C9	0	Campylobacter jejuni
15197	Standard	C10	C10	0	Campylobacter jejuni
15398	Standard	C11	C11	0	Gallibacterium anatis
15398	Standard	C12	C12	0	Gallibacterium anatis
15083	Standard	D1	D1	0	Acinetobacter pittii
Krebs.	Standard	D2	D2	0	Neisseria subflava
15294	Standard	D3	D3	0	Streptococcus dysgalactiae
15295	Standard	D4	D4	0	Enterococcus faecalis
15151	Standard	D5			



Result overview table--continued from previous page

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second-best match)	Score Value
E4 (-) (C)	15217_3 (standard)	No Organism Identification Possible	1.60	No Organism Identification Possible	2.53
E5 (+++) (A)	15275_1 (standard)	Escherichia coli	2.46	Escherichia coli	2.33
E6 (+++) (A)	15275_2 (standard)	Escherichia coli	2.34	Escherichia coli	2.24
E7 (+) (B)	15074_1 (standard)	Pasteurella dagmatis	1.75	Pasteurella dagmatis	1.72
E8 (-) (C)	15074_2 (standard)	no peaks found	0.00	no peaks found	0.00
E9 (+++) (A)	15302 (standard)	Escherichia coli	2.36	Escherichia coli	2.30
E10 (-) (C)	15149_1 (standard)	No Organism Identification Possible	1.35	No Organism Identification Possible	1.30
E11 (-) (C)	15149_2 (standard)	No Organism Identification Possible	1.43	No Organism Identification Possible	1.41
E12 (+++) (A)	15149_3 (standard)	Pasteurella canis	2.38	Pasteurella canis	2.34

VYHODNOCENÍ výsledků MALDI - TOF

Meaning of score value

Rang	Description	Symbols	Color
2.300...3.000	Highly probable species identification	(+++)	Green
2.000...2.299	Secure genus identification, probable species identification	(++)	Green
1.700...1.999	Probable genus identification	(+)	Yellow
0.000...1.699	Not reliable identification	(-)	Red

SKÓRE ANALÝZY:

- identifikace s vysokou mírou jistoty 2,0 - 3,0
- identifikace s nízkou mírou jistoty 1,70 - 1,99
- nelze identifikovat 0,00 - 1,69

VÝSLEDEK ANALÝZY:

Identifikace vygenerovaná přístrojem není definitivní výsledek!

VŽDY POSUZUJE BAKTERIOLOG
- výsledek analýzy schválí nebo rozhodne o dalších diagnostických krocích.

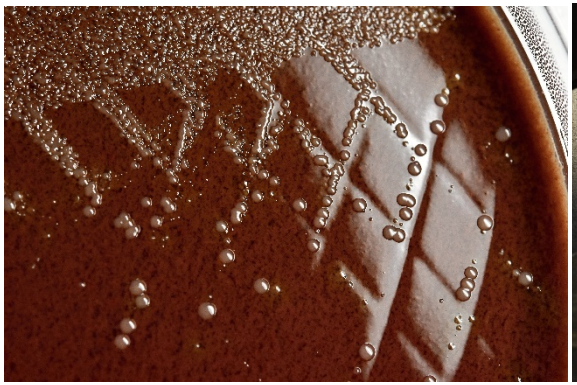
Analyte Name: B23
Analyte description:
Analyte ID: *Staphylococcus aureus* isolate No. 5
Analyte creation Date/Time: 2016-03T12:43:41.395
Applied MSP Library(ies):
Applied taxonomy tree: Bruker taxonomy

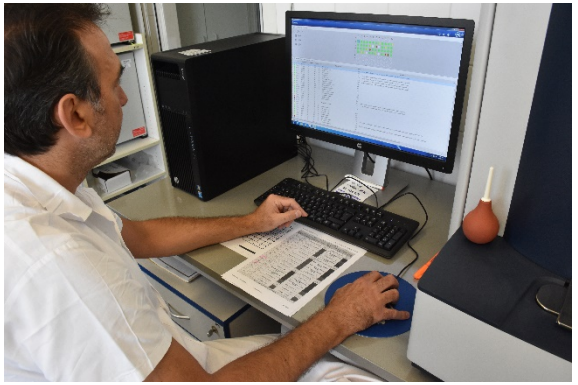
Rank (Quality)	Matched pattern	Score value	NCBI Identifier
1 (++)	*Staphylococcus aureus* ATCC 33862 THL+*Bacithus flexus* DSM 1320T DSM	2.24	1280
2 (++)	*Staphylococcus aureus* ATCC 33591 THL+*Bacithus flexus* DSM 1320T DSM	2.224	1280
3 (+)	*Staphylococcus aureus* ATCC 33591 THL	1.911	1280
4 (+)	*Staphylococcus aureus* ATCC 33862 THL	1.879	1280
5 (+)	*Staphylococcus aureus* ssp., *aureus* DSM 3463 DSM	1.776	46170
6 (+)	*Staphylococcus aureus* ssp., *aureus* DSM 4910 DSM	1.72	46170
7 (-)	*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 THL	1.69	1280
8 (-)	*Staphylococcus aureus* ssp., *aureus* DSM 346 DSM	1.609	46170
9 (-)	*Staphylococcus aureus* DSM 17639 DSM	1.557	308354
10 (-)	*Staphylococcus aureus* THL 25923 THL	1.55	1280

MALDI - TOF

VÝHODY METODY:

- ✓ vysoce přesná
- ✓ aplikovatelná pro široké spektrum mikroorganismů
- ✓ výrazně rychlejší ve srovnání s tradičními metodami (provedení samotné analýzy v řádu minut)
- ✓ ekonomicky efektivní
- ✓ robustní

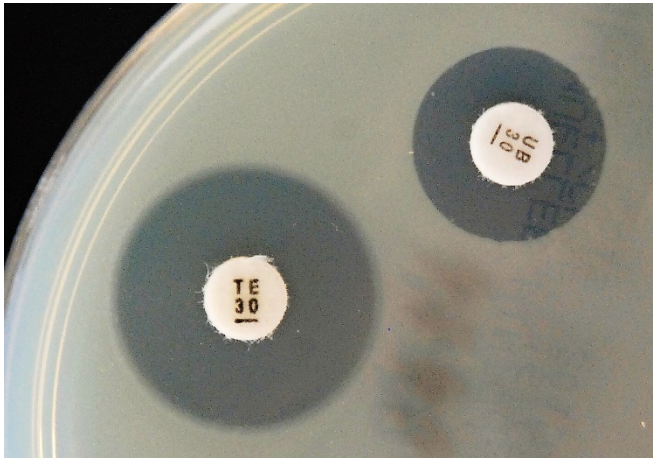


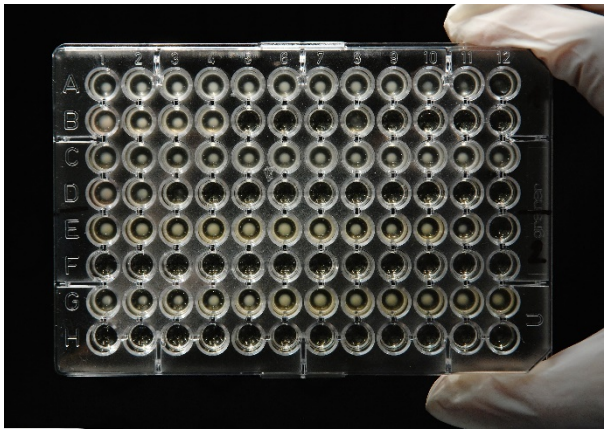


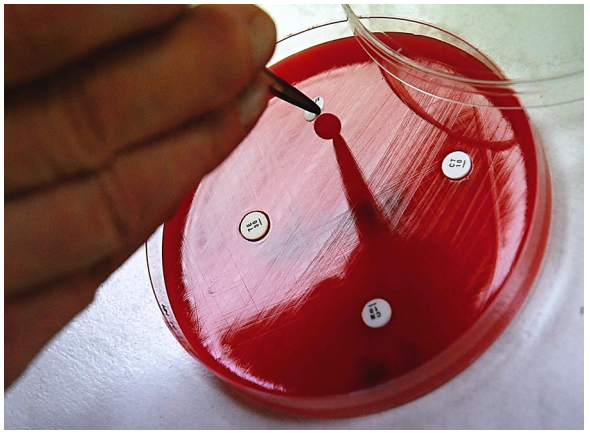
TESTOVÁNÍ CITLIVOSTI K ANTIMIKROBIÁLNÍM LÁTKÁM =

předpoklad pro správné použití ATB při terapii

- disková difuzní metoda (DDM)
- minimální inhibiční koncentrace (MIC)
- Národní antibiotický program (NAP)







POČTY NÁLEZŮ M.H., P.M., H.S. V NAP

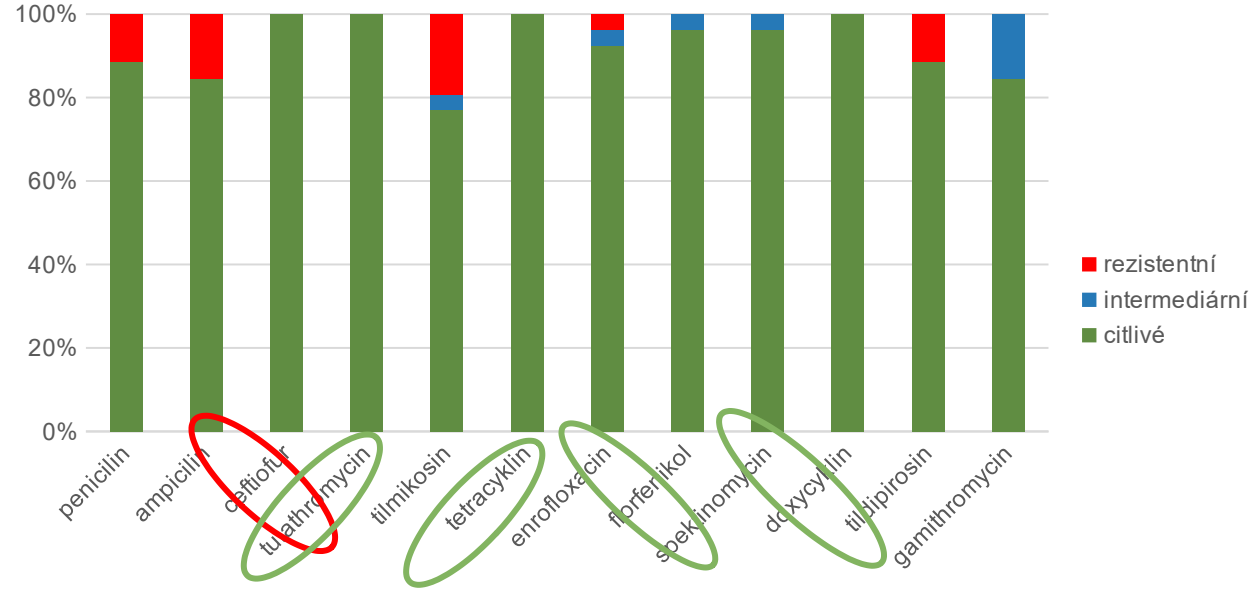
v letech 2017, 2018, leden - srpen 2019

Testování citlivosti k ATB pro chovatele zdarma

MANNHEIMIA HAEMOLYTICA

2017	2018	leden – srpen 2019
26	26	9

Zastoupení rezistentních a citlivých kmenů *Mannheimia haemolytica* izolovaných v chovech skotu v roce 2018

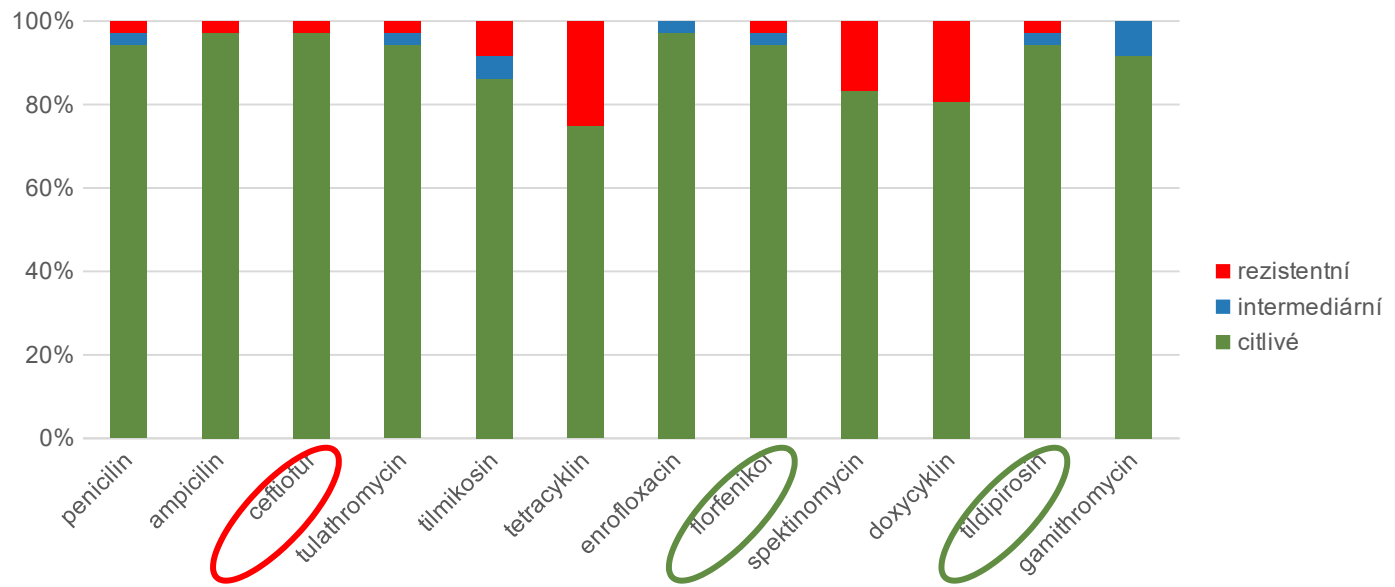


PASTEURELLA MULTOCIDA

Testování citlivosti k antimikrobiálním látkám v rámci NAP

2017	2018	leden – srpen 2019
41	36	36

Zastoupení rezistentních a citlivých kmenů *Pasteurella multocida* izolovaných v chovech skotu v roce 2018.

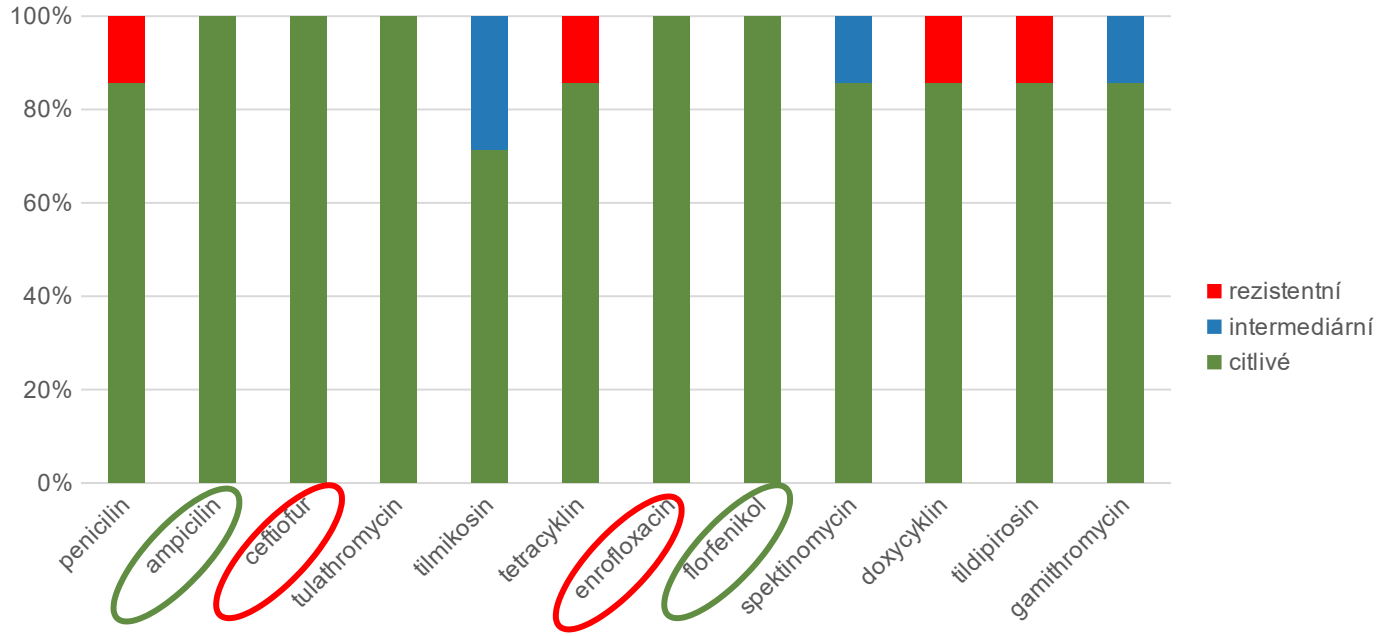


HISTOPHILUS SOMNI

Testování citlivosti k antimikrobiálním látkám v rámci NAP

2017	2018	leden – srpen 2019
6	7	5

Zastoupení rezistentních a citlivých kmenů *Histophilus somni* izolovaných v chovech skotu v roce 2018.



VÝSLEDKY

Státní veterinární ústav Jihlava
Laboratoře SVÚ Jihlava
Zkušební laboratoř č.1129 akreditovaná ČIA dle ČSN EN ISO/IEC 17025:2018

L 1129

OPIS PRO ZALOŽENÍ

Majitel: TA
Agrospol Mladá Vožice a.s.
[redacted]

Adresát:

C. dokumentu: 2497/19 Strana: 1 / 3

ZKUŠEBNÍ PROTOKOL č. 136599/19

Identifikace zakázky a vzorků

Doručeno dne: 12.6.2019
Číslo příjmu: **19136599**
Odesílatel: Pavlík Ladislav, MVDr.
Důvod vyšetření: cílené vyšetření - zájem soukromé firmy
KÚ (ZSJ): 696722 Mladá Vožice
Analýza(y) provedena(y) ve dnech: 12.6.2019 - 21.6.2019

Vzorek			Počet
BA 9872	**plíce** tur domácí - plíce, stěr z plic	[redacted]	1

Výsledky vyšetření

Bakteriologické vyšetření

Označení vz.		Bakteriologický nález		Antibiogram
BA 9872	PA 1393	Mannheimia haemolytica	**pozitivní**	A
		Pasteurella multocida	**pozitivní**	A

A Antibiogram zpracován viz tabulka níže

Antibiogramy

DDM disková difuzní metoda
MIC diluční metoda stanovení minimální inhibiční koncentrace
MIC NAP diluční metoda stanovení minimální inhibiční koncentrace v rámci Národního antibiotického programu
C/I/R kvalitativní vyjádření citlivosti zkoušeného bakteriálního kmene izolovaného ze vzorku k danému antimikrobiku: C - citlivý, I - intermediálně citlivý, R - rezistentní
mg/l zjištěná minimální inhibiční koncentrace daného antimikrobika pro zkoušený bakteriální kmen (uváděno pouze v rámci NAP)
* indikační omezení

Zkušební protokol č. 136599[redacted]
Č. dokumentu: 2497/19 Strana: 2 / 3

Vzorek č. : **BA 9872** Zvíře: tur domácí - tele (obecně)	**Mannheimia haemolytica**				**Pasteurella multocida**			
	DDM	MIC	MIC NAP		DDM	MIC	MIC NAP	
Antimikrobikum	C/I/R	C/I/R	mg/l	C/I/R	C/I/R	C/I/R	mg/l	C/I/R
Amoxicilin/klavulanová kyselina 2/1	-	C	-	-	-	C	-	-
Ampicilin	-	C	-	-	-	C	-	-
Cefalotin	-	C	-	-	-	C	-	-
Ceftiofur*	-	C	-	-	-	C	-	-
Enrofloxacin*	-	C	-	-	-	C	-	-
Erythromycin	-	I	-	-	-	I	-	-
Florfenikol	-	C	-	-	-	C	-	-
Gentamicin*	-	C	-	-	-	C	-	-
Kolistin	-	C	-	-	-	C	-	-
Penicillin G	-	C	-	-	-	C	-	-
Spektinomycin	-	C	-	-	-	I	-	-
Tetracyklin	-	C	-	-	-	C	-	-
Tiamulin	-	C	-	-	-	C	-	-
Tilmikosin	-	C	-	-	-	C	-	-
Trimethoprim/sulfamethoxazol 1/19	-	C	-	-	-	C	-	-
Tulathromycin	-	C	-	-	-	C	-	-

Poznámky k DDM, MIC:

Mannheimia haemolytica
Ampicilin - výsledek platí i pro AMOXYCILIN
Colistin - výsledek platí i pro POLYMYXIN B
Tetracyclin - výsledek platí i pro OXYTETRACYCLIN

Pasteurella multocida
Ampicilin - výsledek platí i pro AMOXYCILIN
Colistin - výsledek platí i pro POLYMYXIN B
Tetracyclin - výsledek platí i pro OXYTETRACYCLIN

Závěr:

Bakteriologickým vyšetřením bylo prokázáno:
Pasteurella multocida BA 9872 stěr z plic, plíce - testace citlivosti na antibiotika stanovení MIC viz tabulka
Mannheimia haemolytica BA 9872 stěr z plic - testace citlivosti na antibiotika stanovení MIC viz tabulka

Uvedené vzorky byly vyšetřeny dle následujících metod:

Cíl vyšetření / Metoda	Akreditace	Identifikace metody	Pracoviště
Identifikace bakterií metodou MALDI-TOF	A	SOP BAK.18	1
Testování citlivosti bakterií k antimikrobiálním látkám MIC komerčními testy	A	SOP BAK.15	1
Základní kultivace	N	pomocný SOP BAK.02	1

A = akreditovaná / N = neakreditovaná metoda

Místo provedení vyšetření (pracoviště)
[1] Rantířovská 93/20, Horní Kosov, 586 01 Jihlava

ZÁVĚR

Spolehlivá a včasná laboratorní diagnostika
nezbytná pro správnou volbu **terapie, prevence a profylaxe.**

Výsledek laboratorní diagnostiky respiračních onemocnění skotu

je ovlivněn mnoha faktory:

- **správným odběrem vzorku** (způsob, množství, čas apod.)
- **vhodné uskladnění a transport vzorku**
- **správná volba testu** (nelze bez dostatečných informací z terénu)
- **správná interpretace laboratorních výsledků**

Děkujeme za pozornost

Státní veterinární ústav Jihlava
State Veterinary Institute Jihlava
Rantířovská 93/20 | 586 05 Jihlava | ČR
T: 567 143 111 | E: info@svujihlava.cz | www.svujihlava.cz