

## **Citlivost původce kaseózní lymfadenitidy vůči vybraným dezinfekčním látkám**

### **Úvod**

Kaseózní lymfadenitida (CLA) je chronické onemocnění, které se vyskytuje v chovech malých přežvýkavců po celém světě a jeho rozšíření ve stádech může vést k ekonomickým ztrátám chovatelů spojeným zejména s vyřazováním velkého počtu nakažených jedinců, ale také s pravidelnými diagnostickými úkony potřebnými pro identifikaci případných dalších CLA pozitivních zvířat. Původcem onemocnění je bakterie *Corynebacterium pseudotuberculosis*, která proniká do organismu zvířete nejčastěji přes různé drobné i větší rány na těle (včetně mikrotraumat) narušující přirozenou mechanickou kožní bariéru. Bakterie se poté šíří krví nebo lymfatickým systémem do mizních uzlin a orgánů, kde se vytváří zánětlivá ložiska – abscesy (Fontaine & Baird, 2008). V případě vnější formy nákazy, kdy jsou abscesy viditelné jako zduření pod kůží, může dojít k prasknutí a uvolnění velkého množství hnisavého obsahu s *C. pseudotuberculosis* do okolí. To vede ke kontaminaci prostředí chovu a podporuje další šíření nemoci. Aby bakterie přežily mimo svého hostitele, využívají různé mechanismy. Některé z nich se přizpůsobily na populace vytvářející biofilm, což je vrstva bakteriálních buněk přichycených k povrchu a k sobě navzájem. Biofilmy jsou často přítomny na površích a předmětech, jako například potrubí a tanky pro transport živočišných produktů, nádoby na uchovávání potravin, nástroje pro veterinární zákroky a pro stříhání zvířat a také na podlahách nebo plochách ve stájích. Takto propojené mohou bakterie mnohem snáze odolávat nepříznivým vlivům přicházejícím zvenčí, mezi něž patří i aplikace dezinfekčních přípravků.

### **Vědecká studie na bakteriálních kmenech z ČR**

Na Výzkumném ústavu veterinárního lékařství, v. v. i. (VÚVeL) v Brně byla v rámci grantového projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZV QK1910082) provedena studie zabývající se testy citlivosti na vybrané dezinfekční látky u bakteriálních kmenů *C. pseudotuberculosis* pocházejících z CLA pozitivních chovů ovcí a koz v ČR. Tyto kmeny byly získány v letech 2019 – 2020 kultivací zánětlivých obsahů abscesů spojených s povrchovými lymfatickými uzlinami nebo lokalizovaných v podkoží a vnitřních orgánech (játra, plíce) zvířat (obrázek 1).

### **Testy citlivosti bakterií na dezinfekční látky**

Analýzy na VÚVeL probíhaly za laboratorních podmínek a testováno bylo celkem 33 bakteriálních kmenů *C. pseudotuberculosis* schopných tvořit biofilm převážně o silné, ale i střední intenzitě (obrázek 2). Pro testy citlivosti byly zvoleny čtyři základní skupiny dezinfekčních účinných látek, a to kvartérní amonné sloučeniny (benzalkonium chlorid), oxidující sloučeniny (chlornan sodný, kyselina peroctová, PVP jód), biguanidy (chlorhexidin diglukonát) a alkoholy (etanol). Tyto látky se v chovech, ze kterých pocházely bakteriální kmeny, používají buď jako součást přípravků určených na ošetření poranění zvířat, nebo v přípravcích na dezinfekci ploch a vybavení. Účinnost použitých dezinfekčních látek byla ověřena podle normy ČSN EN 1656:2019 E a jednotlivé roztoky naředěny v závislosti na typu

dezinfekčních prostředků a na koncentračním rozmezí doporučeném jejich výrobcem. Připravené série dezinfekčních látek (celkem 11 různých objemových procentuálních koncentrací pro každou testovanou látku) byly nanášeny na biofilmy *C. pseudotuberculosis* a nechaly se působit po doporučenou dobu kontaktu. Následně byla vizuálně odečtena minimální baktericidní koncentrace (MBC), což je nejnižší koncentrace dezinfekční látky, která je potřebná k inaktivaci a usmrcení mikroorganismů.

### **Výsledky studie**

Koncentrace jednotlivých dezinfekčních látek v rámci jejich ředících řad vykazovaly dostatečný baktericidní účinek na všech 33 kmenů *C. pseudotuberculosis* a nebylo tedy nutné pro stanovení MBC připravit vyšší. Zároveň hodnoty MBC ani v jednom případě nepřekročily koncentrace doporučené výrobcem dezinfekčních prostředků a u většiny kmenů byly dokonce nižší. U dvou kmenů tvořících silný biofilm a pocházejících ze dvou různých farem byly naměřeny hodnoty MBC pro kyselinu peroctovou uprostřed doporučeného koncentračního rozmezí. U jednoho z nich byla rovněž naměřena hodnota MBC pro PVP jód ležící na horní hranici doporučené procentuální koncentrace. Na těchto farmách by tedy pro požadovaný baktericidní efekt na biofilm *C. pseudotuberculosis* musely použité koncentrace dosahovat minimálně 0,6 % u kyseliny peroctové a 10 % u PVP jodu.

### **Shrnutí**

Naše analýzy ukázaly, že vybrané dezinfekční látky používané v přípravcích na devíti CLA pozitivních farmách ovcí a koz v ČR působily za laboratorních podmínek baktericidně na biofilmy všech 33 testovaných kmenů *C. pseudotuberculosis*, a to v doporučených koncentračních rozmezích a za dodržení určeného času působení, tzv. expoziční doby. To je samozřejmě velmi dobrá zpráva, nicméně je třeba vzít v úvahu, že námi zjištěné hodnoty MBC byly stanoveny za laboratorních podmínek. V přirozených podmínkách farmy mohou mít dezinfekční látky po kontaktu s organickým materiálem, jako jsou různé nečistoty a hnůj, nižší účinnost nebo mohou být dokonce zcela inaktivovány. Zároveň se zde *C. pseudotuberculosis* nachází v prostředí spolu s dalšími mikroorganismy, což může potenciálně zvyšovat (ale samozřejmě i snižovat) její odolnost. Vlhko, stín a nižší teploty také podporují přežívání této bakterie mimo hostitele.

Je tedy potřeba na farmách zajistit takové podmínky, aby nedocházelo k přežívání *C. pseudotuberculosis* ve vnějším prostředí a aby zde bakterie neměla dostatečný prostor pro tvorbu biofilmu. Dbejte proto na pravidelný úklid a údržbu stájových prostor a všech míst, kde dochází ke shromažďování zvířat, nebo kde se pracuje s produkty živočišného původu (včetně používaných nástrojů). Mějte připraven co nejčerstvější naředěný dezinfekční přípravek, aby byly zajištěny požadované koncentrace, a po jeho použití dodržujte expoziční dobu nutnou pro baktericidní efekt. Za určitý čas (dva až tři měsíce) vystřídejte dezinfekční přípravek za jiný, který obsahuje jinou účinnou látku. Lépe tak předejdete případnému riziku vzniku nižší citlivosti bakterií na stále stejné dlouhodobě používané dezinfekční látky.

Tato práce byla podpořena Ministerstvem zemědělství ČR v rámci řešení projektu NAZV QK1910082 a institucionální podpory MZE-RO0718.

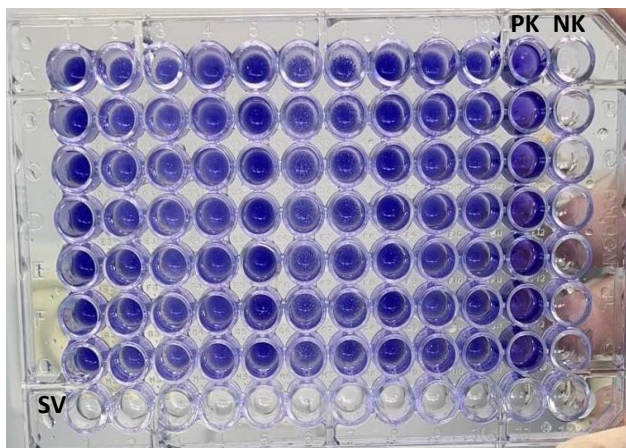
## Literatura

Fontaine, M. C., & Baird, G. J. (2008). Caseous lymphadenitis. *Small Ruminant Research*, 76(1-2), 42-48. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.12.025>

Autorka: MVDr. Jiřina Marková, Ph.D.



Obrázek 1: Kolonie bakterie *C. pseudotuberculosis* získané po kultivaci zánětlivého obsahu z povrchového abscesu lokalizovaného na hlavě roční ovce plemene suffolk z chovu v ČR; foto: J. Marková



Obrázek 2: Biofilm *C.pseudotuberculosis* o silné nebo střední intenzitě obarvený pro vizualizaci genciánovou violetí (čím tmavší barva, tím silnější biofilm). Každý sloupeček představuje jeden testovaný kmen bakterie. PK – pozitivní kontrola (bakterie tvořící biofilm); NK – negativní kontrola (bakterie netvořící biofilm); SV – slepý vzorek (čisté kultivační medium); foto: D. Langová