

**Projekt i financuar nga Agjensia e Kerkimit, Teknologjise dhe
Inovacionit
2010 – 2014**

Titulli i Projektit
**"KERKIM MBI ASPEKTE GJENETIKE TE
REZISTENCES ANTIMIKROBIKE TE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS NE MASTITIN E
GJEDHIT"**

AUTORET:

PROF. Dr. PRANVERA ÇABELI

DR. KETI MARGARITI

PROF. DR. ILIRIAN KUMBE

PROF. DR. LULJETA DHASKALI

PROF. ASOC. TANA SHTYLLA KIKA

DR. SONILA ÇOÇOLI

ANTIBIOTIKO-REZISTENCA



**KY STUDIM KA PËR QËLLIM KARAKTERIZIMIN GJENETIK TË
MASTITOGJENIT MË FREKUENT *S. AUREUS*
ANTIBIOTIKO-REZISTENT TË IZOLUAR NGA QUMËSHTI I LOPËVE NË
DISA FERMA TË VENDIT TONË.**

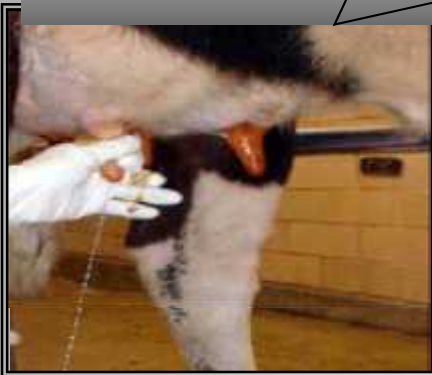


OBJEKTIVAT:

**OBJEKTIVI 1:
EPIDEMIOLOGJIA E MASTITIT NE DISA
EKONOMI TE GJEDHIT PER
QUMESHT NE SHQIPERI.**

- **Rezultati 1:** Monitorimi i situates epidemiologjike te mastitit te gjedhit te shkaktuar nga *S. aureus* si shkaktar kryesor i mastiteve ne lopet e vendit tone;
- **Rezultati 2:** Vleresimi i shtameve te *S.aureus* koagulazo – pozitive dhe koagulazo – negative te izoluar nga mastiti i gjedhit.

OBJEKTIVAT:



MASTIT SUBKLINIK



MASTIT KLINIK

OBJEKTIVI 2:

KARAKTERIZIMI BIOMOLEKULAR I SHTAMEVE REZISTENTE TE *S. AUREUS* TE IZOLUAR

- **Rezultati 1:** Testimi in vitro i ndjeshmerise se shtameve te *S.aureus* ndaj panelit te antibiotikeve te rutines. Teknika e biologjise molekulare (PCR), konsiderohet ne studimet e fushes si Gold Standart ne identifikimin e geneve pergjegjes per antibiotiko – rezistencen.
- **Rezultati 2:** Prania e genit *mecA* ne shtamet e *S.aureus* te izoluar nga mastiti i gjedhit, me ane te teknikave te biologjise molekulare(PCR). *S. aureus* behet meticolino-rezistente duke pervetesuar gjenin *mecA*, gjen i cili kodon nje proteine peniciline lidhese (PBP2a) me afinitet te ulet per betalaktamidet. Shtamet qe prodhojne PBP2a jane rezistente ndaj te gjithë betalaktamideve. Geni *mecA* ndodhet ne kaseten kromozomike.

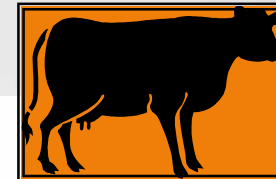
PATOGJENI REZISTENT *S. AUREUS*



**MASTITI
KONSIDEROHET
SEMUNDJA
ME E
KUSHTUESHME,
QE PREK LOPET E
QUMESHTIT,
KUDO NE BOTE**



- **STUDIMET E KRYERA TREGOJNË QË NË TUFAT E GJEDHIT ME HISTORI TË MASTITEVE ËSHTË MJAFT I RËNDËSISHËM IDENTIFIKIMI I SAKTË I SHTAMEVE MRSA (METHICILIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*).**
- **STUDIMET E SHUMTA TREGOJNË SE $\frac{1}{2}$ E MASTITEVE SUBKLINIKE DHE GATI 1/3 E MASTITEVE KLINIKE SHKAKTOHEN NGA STAFILOKOKËT.**
- **KAMPIONET E QUMËSHIT TË MARRA NGA TANKU OSE NGA ÇEREKËT E LOPËS PËRBËJNË NJË PROCES TË RËNDËSISHËM PËR TË PËRCAKTUAR NUMRIN MESATAR TË QELIZAVE SOMATIKE (SCC) DHE SHKAKTARËT MIKROBIKE TË MASTITIT NË TUFËN E LOPËVE.**
- **IDENTIFIKIMI I HERSHËM I INFEKSIONIT, PËRPARA SE *STAPH. AUREUS* TË KETË MUNDËSI TË PUSHTOJË THELLË BRENÐËSINË E GJIRIT DHE TË FORMOJË ABSESE, ËSHTË MJAFT I RËNDËSISHËM (WATTS J L, SALMON J A, 1997).**





MATERIALI DHE METODA

OBJEKTIVI 1:

**PËRLOGARITJA E
QELIZAVE
SOMATIKE (NQS)
DHE
NGARKESËS
BAKTERIALE
TOTALE NË
QUMËSHTIN E
MASËS TË GJEDHIT, SI
TREGUES I PRANISË
SË
MASTITEVE SUB-
KLINIKE**

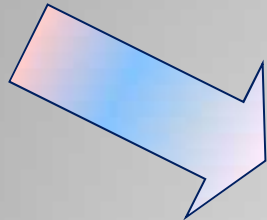
- **PERLLOGARITJA E QELIZAVE SOMATIKE U KRYE ME METODEN ELEKTRONIKE NEPERMJET APARATIT "SOMATOS MINI"**

(SENSIBILITETI DHE SPECIFICITETI I SCC, NË NJË PRAG PREJ 200.000/ML, SI TREGUES I PRANISË SË INFEKSIONEVE INTRAMAMARE (IMI), JANË LLOGARITUR RESPEKTIVISHT 73 DHE 86% (DOHOO AND LESLIE, 1991).

- **NGARKESA BAKTERIALE TOTALE U MAT ME ANEN E METODES STANDARTE ISO 7218**
- **PER TE IDENTIFIKUAR LOPET ME MASTIT SUB-KLINIK, PAS LLOGARITJES SE NUMRIT TE QELIZAVE SOMATIKE (SCC) DHE NGARKESES BAKTERIALE TOTALE (TBC) NE QUMESHTIN E MASES, U PERDOR TESTI FUSHOR CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT).**

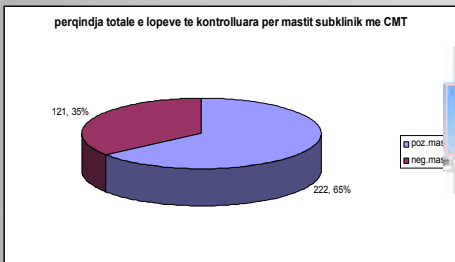
REZULTATET E SCC, TBC DHE CMT PER LOPET E MARRA NE STUDIM

REZULTATET DHE DISKUTIMI

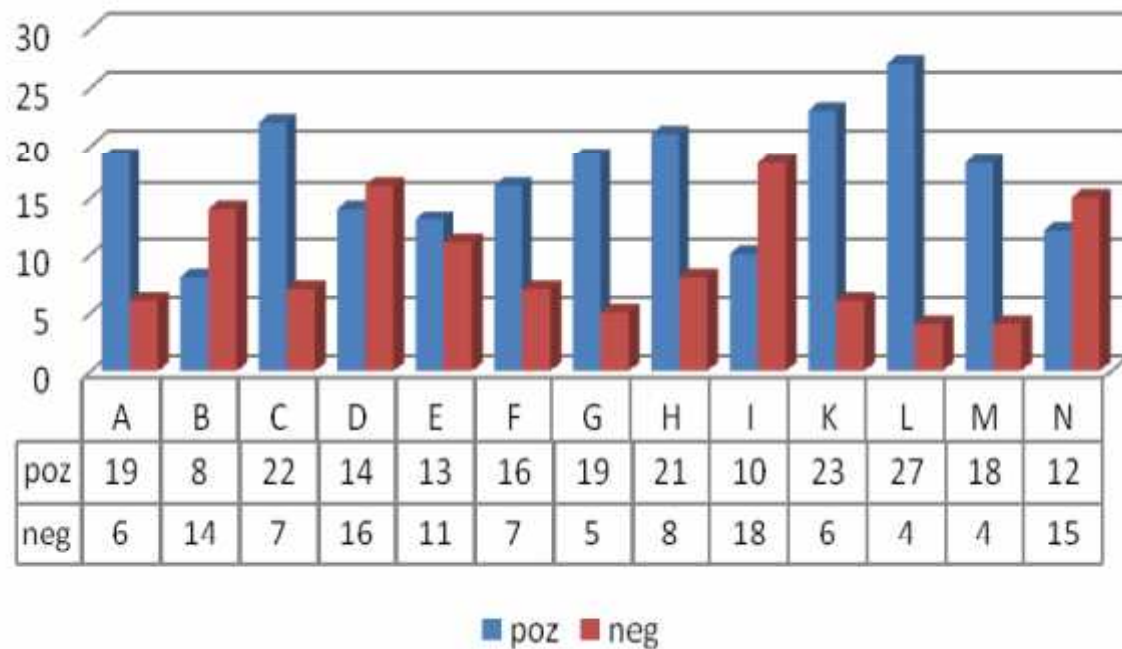


Fermat ne studim	Numri i lopeve te kontroll. ne lakt.	SCC, /000/ml qum. result.	SCC, /000/ml qum. stand.	Totale Aerobe /000 cfu/ml /qum. Result.	Totale Aerobe /000 cfu/ml /qum. Stand	CMT pozitive krere	CMT poz. %	CMT neg. krere	CMT neg. %
A. Ndroq-Tirane	25	780,000	400	4,500,000	≤1000	19	76	6	24
B. Kashar-Tirane	22	380,000	400	1,800,000	≤1000	8	36.3	14	63.7
C. Vishnje-Tirane	29	450,000	400	7,500,000	≤1000	22	75.86	7	24.13
D. Shijak Durres	30	400,000	400	5,100,000	≤1000	14	46.66	16	53.34
E. Shijak Durres	24	500,000	400	1,400,000	≤1000	13	54.16	11	45.83
F. Lushnje (Kamcisht)	23	500,000	400	1,400,000	≤1000	16	69.56	7	30.43
G. Lushnje (Krutje)	24	540,000	400	2,200,000	≤1000	19	79.16	5	20.83
H. Shkoder	29	550,000	400	4,100,000	≤1000	21	72.41	8	27.58
I. Fushe-Kruje	28	450,000	400	3,100,000	≤1000	10	35.71	18	64.28
K. Lushnje	29	900,000	400	1,500,000	≤1000	23	79.31	6	20.69
L. Fier	31	800,000	400	3,300,000	≤1000	27	87.1	4	12.9
M. Gjirokastrer	22	800,000	400	2,900,000	≤1000	18	81.81	4	18.19
N. Fier	27	560,000	400	1,900,000	≤1000	12	44.44	15	55.56

NUMRI TOTAL I LOPEVE TE KONTROLLUARA ME CMT PER MASTIT SUB-KLINIK



**numri total i kereve te lopeve te kontrolluara me CMT
per mastit sub-klinik**

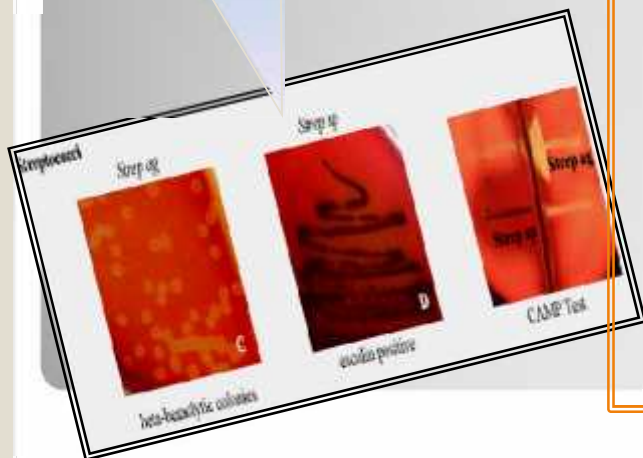


OBJEKTIVI 2:

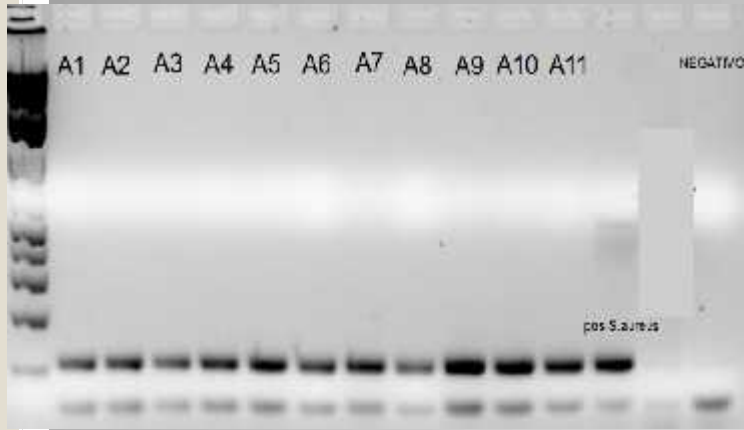


IZOLIMI DHE IDENTIFIKIMI I *S. AUREUS* NGA KAMPIONET E QUMËSHTIT TË GJEDHIT

- Në studim u morën 222 kampione qumështi, të prelevuara nga lopët e 13 ekonomive, të cilat rezultuan pozitive me mastit sub-klinik pas provës së CMT.
- Cdo kampion qumështi u formua nga një Pool i prelevuar nga të katër thithat e gjirit në lopë individuale, qumështi i të cilave rezultoi me SCC dhe TBC të lartë.
- Qumështi u grumbullua në kontenitorë sterilë, e u mboll në pllaka me Agar-Gjak dhe Mannitol Salt Agar (MSA). 48 orë pas inkubimit u vlerësua morfologjia e kolonive të zvuilluara; të gjitha kolonitë me karakteristikat tipike të stafilokokëve ju nënështruan ngjyrimit me metoden e Gramit.
- Të gjitha shtamet e izoluara ju nënështruan provës së koagulazës. Izolatet që rezultuan pozitive nga testi i koagulazës ju nënështruan karakterizimit biokimik dhe fenotipik me anë të sistemit API Staph.. Më pas, të gjitha shtamet e *S. aureus* ju nënështruan provës së PCR duke përdorur kitin D Neasy Tissue Kit (Qiagen).



Rezultatet e fituara paraqiten në fotot, tabelat dhe grafikët e mëposhtëm:



Rezultatet e PCR per identifikimin e disa kampioneve te S. Aureus, izoluar nga disa grupe ne studim



Rezultatet e PCR per identifikimin e S. Aureus nga disa grupe ne studim

Three API Staph test result sheets are shown, each with a grid of wells and a legend. The sheets are labeled 'API Staph' and 'CE'. The results are recorded in the wells, with some wells containing numbers (1-6) and others containing symbols (circles with numbers).

Rezultatet e Api Staph. per speciet koagulazo- negative

perqindja e kampioneve te qumeshtit pozitive dhe negative per S. aureus



PERFUNDIME



- Tipizimi molekular i MRSA është një hap i rëndësishëm në programet e kontrollit të infeksioneve të shkaktuara nga *S. aureus*. Prania e gjenit *mecA* identifikuar me anë të PCR është indikator i pranisë së shtemeve hiperproduktore të β -laktamazave në qumështin e lopeve me mastite klinike apo subklinike.
- 12 % e shtemeve të stafilokokeve të izoluar rezultuan shtame të “vertete” meticilino-rezistente. Rezultatet tona konfirmojmë se PCR është një test i artë për të zbuluar rezistencën e “vertete” ndaj meticilines.
- Ky studim përben sinjalin e parë për praninë e MRSA në qumështin e lopeve me mastit në vendin tonë dhe njohja e prevalencës aktuale të MRSA përben një detyrë për të ardhmen.

REKOMANDIME



- Publikimi i programeve bashkëkohore dhe të përballueshme për kontrollin e mastiteve klinike dhe subklinike ne gjedhin e qumeshtit, në grupet e interesit.
- Realizimi i survejancës aktive dhe pasive për praninë e mastitit nga *S.aureus* meticilinirezistente, me qëllim kontrollin e infeksionit ne fjale në fermat e prodhimit të qumështit.
- Edukimi i fermerëve përbën një nga fushat e rëndësishme dhe më pak të elaboruara. Programi trainues do të bazohet në rezultatet e studimit për prevalencën e mastitit nga shtame MRSA. Modeli do të shërbejë për zbatimin praktik të skemave të shëndetësimit të gjedhit per qumesht;
- Laboratori mund ta ofrojë për grupet e interesit sidomos fermerët shërbim, në kohë, në përputhje me standardet e OIE dhe me kosto konkurruese me qëllim përcaktimin e pranisë, shkallës së përhapjes dhe ndikimin ekonomik të infeksioneve te gjendres se gjirit ne lope.



**E KALUARA, E TASHMJA,
E ARDHMJA E
PERDORIMIT TE ANTIBIOTIKEVE**



- **INFEKSIONET E SHKAKTUAR NGA BAKTERIET REZITENTE JANE NE RRITJE;**
- **REZISTENCA ANTIMIKROBIKE NUK KA KUFI EKOLOGJIKE APO GJEOGRAFIKE;**
- **CDO LLOJ ANTIBIOTIKU I PERDORUR NE NJEREZ, KAFSHE APO BIME MUND TE NXISI ZHVILLIMIN DHE PERHAPJEN E ANTIBIOTIKO-REZISTENCES;**
- **AUTORITET E NJE VENDI, VETERINERET, MJEKET, PACIENTET, FERMERET LUAJNE ROLIN KYC NE PARANDALIMIN E KESAJ FUQIE NE RRITJE TE REZISTENCES ANTIBIOTIKEVE.**

E TASHMJA...



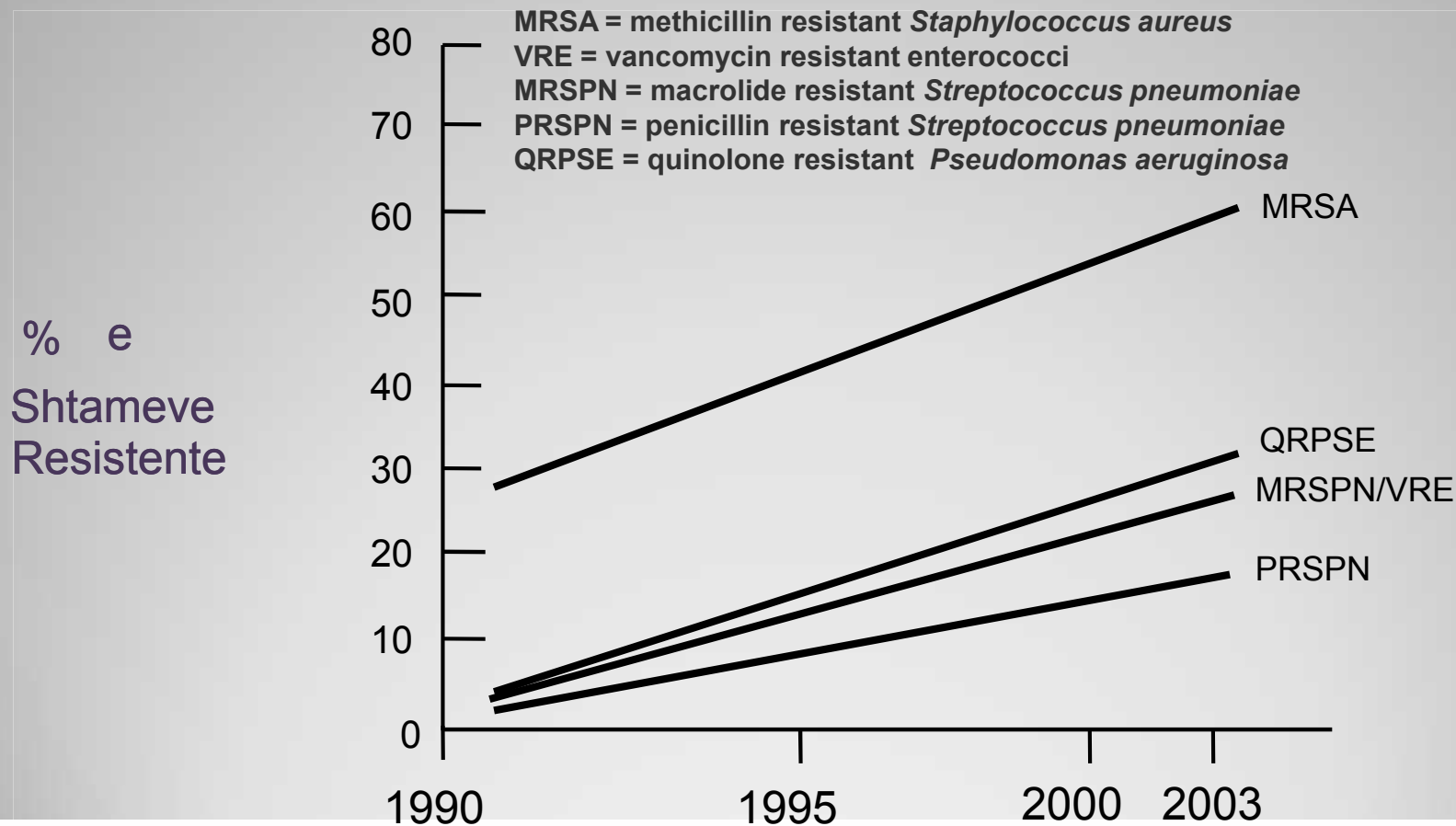
ANTIBIOTIKO-REZISTENCA ESHTË NE RRITJE

NUMRI I ANTIBIOTIKEVE TE HEDHUR NE TREG
ESHTË NE RËNIE



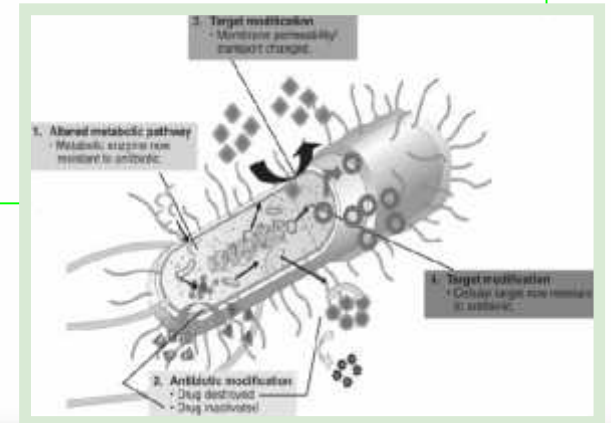
MRSA =	methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
VRE =	vancomycin resistant enterococci
MRSPN =	macrolide resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i>
PRSPN =	penicillin resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i>
QRPSE =	quinolone resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

ANTIBIOTIKO-REZISTENCA ESHTË NE RRITJE



E ARDHMJA...!!!

- PËRMIRËSIMI I STANDARDEVE TË PËRSHKRIMIT TE ANTIBIOTIKUT ME QELLIM ZGJATJEN E JETES SE ANTIMIKROBIKEVE EKZISTUES;
- PERDORIMI I VAKSINAVE;
- PARANDALIMI DUKE PËRMIRËSUAR KONTROLLIN E INFEKSIONIT.



NE VETERINARI...!!!

- DUKE ELEMINUAR PERDORIMIN E ANTIBIOTIKEVE SI PROMOTORE TE RRITJES SE KAFSHEVE;
- ATIBIOTIKET TE MERREN NGA KAFSHET VETEM ATEHERE KUR KESHILLOHEN NGA VETERINERI;
- ANTIBIOTIKET E IDENTIFIKUAR SI TE DOMOSDOSHEM NE NJEREZ, SI FLUORQUINOLONES - GJENERATA E TRETE DHE E KATERT E CEPHALOSPORINAVE - TE PERDOREN NE KAFSHE VETEM ATEHERE KUR ATO JANE TE JUSTIFIKUAR.

"Pasojë e përdorimit pa kriter të antibiotikëve është, pra, prishja e ekologjisë natyrore mikrobike. Kjo prishje mund të zbulohet në shfaqjen e llojeve të bakterieve, të cilat janë shumë të ndryshme nga ato që gjendeshin atje më parë, ose variante antibiotiko-rezistente të atyre bakterieve që ekzistonin më parë.

Levy, 1997



JU FALEMINDERIT!