

Karvių slaptojo mastito sukėlėjų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimas

Lina Kaplerienė,

Agnė Kirkliauskienė,

Olga Purakevič,

Halina Gluchovienė

Vilniaus universitetas,
Universiteto g. 3, 01513 Vilnius
El. paštas: linakaleinikovaite@gmail.com;
agne.kirkliauskiene@mf.vu.lt

Mastitas – tai pieno liaukos uždegimas, viena didžiausių problemų pienininkystės ūkiuose. Stebimas didėjantis slapųjų mastitų sukėlėjų atsparumas antimikrobinėms vaistams. Bakterijos, turinčios atsparumo antimikrobinėms medžiagoms genų, yra perduodamos vieno gyvulio kitam per maisto grandinę ar žmogui per tiesioginį sąlytį su gyvūnais. Slaptieji mastitai 15–40 kartų dažniau paplitę nei klinikiniai, jie sunkiau aptinkami ir yra visos bandos mastitų sukėlėjų šaltinis.

Tyrimo tikslas – išskirti iš karvių pieno mastitų sukėlėjus ir nustatyti jų atsparumą antimikrobinėms medžiagoms. Tiriamoji medžiaga surinkta Anykščių rajono „A“ ir „B“ pieninių galvijų bandose 2018 m. liepos mėnesį. Mikrobiologiniai tyrimai atlikti Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Mikrobiologijos laboratorijoje. Dėl slapųjų mastitų iš viso ištirtos 36 karvės. Naudojant įprastinius kultivavimo metodus ir identifikacinius testus, išskirtos *Streptococcus* spp., koaguliazė neigiamos (KN) *Staphylococcus* spp. ir *Staphylococcus aureus* padermės. Nustatytas visų, iš pieno išskirtų, padermių jautrumas neomicinui, tetraciklinui, eritromicinui, kanamicinui, klindamicinui, penicilinui, ampicilinui, streptomicinui, gentamicinui, rifampinui, cefoksitinui ir oksacilinui.

Nustatyta, kad dažniausiai slaptuosius mastitus tirtoms karvėms sukėlė *Staphylococcus* spp. padermės. Nustatytas didelis *S. aureus*, išskirtų iš karvių pieno, atsparumas penicilinui, ampicilinui ir tetraciklinui. Visos išskirtos padermės buvo jautrios oksacilinui, cefoksitinui, neomicinui, gentamicinui, klindamicinui, kanamicinui ir rifampinui.

Raktažodžiai: karvių mastitai, slaptieji mastitai, *Staphylococcus aureus*, atsparumas antimikrobinėms medžiagoms

ĮVADAS

Mastitas – pieno liaukos uždegimas – viena didžiausių problemų pienininkystės ūkiuose (Ugur et al., 2018). Lietuvoje 2015 m. parduota 11,9 t veterinarinių antimikrobinų medžiagų (*Sales of Veterinary Antimicrobial Agents in 30 European Countries in 2015, 2017*). 2014–2015 m. net 55 % vaistinėse parduotų veterinarinių anti-

mikrobinų medžiagų buvo skirtos karvių mastitams gydyti (*Racionalus antimikrobinų medžiagų naudojimas...*, 2016). Lietuvos veterinarinėje medicinoje dažniausiai naudojami penicilinų, tetraciklinų, aminoglikozidų, sulfonamidų, makrolidų, kvinolonų ir fluorokvinolonų antibiotikų grupių preparatai (Dabravolskas, 2013; *Sales of Veterinary Antimicrobial Agents in 30 European Countries in 2015, 2017*). Mastitams gydyti naudojama daug

kompleksinių preparatų, kurių sudėtyje yra daugiau kaip dvi antimikrobinės medžiagos. Šie preparatai sudaro sąlygas plisti atsparioms mikroorganizmų padermėms (Pol et al., 2007). Bakterijos, turinčios atsparumo antimikrobinėms medžiagoms genus, yra perduodamos vieno gyvulio kitam per maisto grandinę ar žmogui per tiesioginį sąlytį su gyvūnais (Hawari et al., 2008). Be to, mikroorganizmų atsparumas šioms medžiagoms didėja greičiau, negu sukuriama nauji antimikrobiniai preparatai. Mastito sukėlėjai bei jų atsparumas skiriasi įvairiuose regionuose, į tai svarbu atsižvelgti taikant gydymą. Dažnai gydymas vis dar skiriamas empiriškai, nors visų pirma rekomenduojama nustatyti sukėlėją ir jo jautrumą antibakterinėms medžiagoms (Klimienė et al., 2012).

Suomijoje atliktame tyrime nurodoma, kad dažniausi mastitų sukėlėjai koaguliazėi neigiami (KN) *Staphylococcus* spp. (43 %), *Staphylococcus aureus* (21 %), *Spreptococcus* spp. (17 %), *Corynebacterium bovis* (7 %), *Escherichia coli* (5 %) (Vakkamaki et al., 2017). Lietuvoje kaip dažniausi mastitų sukėlėjai išskiriami *Streptococcus* spp. (5,43–20,35 %), *Staphylococcus* spp. (11,43–41,59 %), koaguliazėi neigiami *Staphylococcus* spp. (2,86–58,15 %), enterobakterijos (8,47 %) (Ramanauskienė et al., 2008). Slaptieji mastitai 15–40 kartų dažniau paplitę nei klinikiniai, jie sunkiau aptinkami ir yra visos bandos mastitų sukėlėjų šaltinis (Klimienė et al., 2011). Pieno ūkyje persistuojantis *S. aureus* 3,2–63 % gali būti subklinikinio mastito priežastis (Klimienė et al., 2012). *S. aureus* patogeniškas ne tik gyvūnams, bet ir žmonėms, todėl šiame tyrime pasirinkta išskirti, identifikuoti ir *S. aureus* padermes, detaliau ištirti šio svarbaus mastito sukėlėjo paplitimą ūkiuose ir atsparumą antimikrobinėms medžiagoms.

Tyrimo tikslas – išskirti iš karvių pieno slaptųjų mastitų sukėlėjus ir nustatyti jų atsparumą kai kurioms antimikrobinėms medžiagoms.

TYRIMO METODAI IR SĄLYGOS

Tiriamoji medžiaga surinkta 2018 m. liepos mėn. dviejose Anykščių rajono pieninių galvijų bandose (A ir B ūkiai). Į tyrimą įtraukti to paties rajono panašaus dydžio pieninių galvijų ūkiai. Tyrime dalyvavusiuose ūkiuose bandos buvo kontroliuo-

amos. Karvės buvo šeriamos ir laikomos panašiomis sąlygomis: šiltuoju metų laiku – ganyklose naudojant palaidą sistemą, melžiamos melžimo aikštelėje du kartus per parą iš dalies automatizuotais melžimo aparatais, laikantis higienos reikalavimų, karvės nesirgo ūminiu kliniškai pasireiškusiu mastitu, per tyrimo laikotarpį negavo antimikrobinio gydymo. A ūkio karvės buvo laikomos atskirai ir neturėjo tiesioginio kontakto su B ūkio karvėmis. Visos karvės tirtos tuo pačiu metų laiku (tą pačią dieną). Prieš tyrimą kliniškai buvo įvertinta kiekvienos karvės tešmens būklė (apžiūrėta tešmens forma, nustatyta, ar nėra dydžio pakitimų, sukietėjimų, atrofijos ir kt.). Iširtos 36 į tyrimą įtrauktų A ir B ūkių karvės, po 18 karvių kiekviename. Iš viso surinkti 144 karvių pieno mėginiai.

Mastito sukėlėjų identifikacija ir atsparumas antimikrobinėms medžiagoms nustatytas Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Mikrobiologijos skyriaus mokslinėje laboratorijoje. Imant mėginius laikytasi VĮ „Pieno tyrimai“ pateikto mėginių paėmimo aprašo „Mėginio paėmimas mastito sukėlėjų ir jų jautrumui antibiotikams nustatyti“. Prieš imant mėginį nuplautos ir dezinfekuotos rankos. Speniai nuvalyti ir dezinfekuoti 70 % alkoholio tirpalu. Mastito sukėlėjams nustatyti pieno mėginiai imti iš kiekvieno tešmens ketvirčio po 40 ml į atskirus sterilius mėgintuvėlius, prieš tai numelžiant po keturias čiurkšles pieno, kad būtų gautas mėginys iš pieno liaukos, o ne iš tarpkanalio. Mėginiai atšaldyti ir pristatyti į Mikrobiologijos laboratoriją per <6 val. nuo mėginių paėmimo.

Mikrobiologinėje laboratorijoje į tris Petri lėkštes su kraujo („Bio-Rad“, Prancūzija), manitolio druskos („Liofilchem“, Italija) agarais ir Endo terpe („Oxoid“, Anglija) užlašinta po 10 μl pieno ir išsėta glaistikliu. Pasėliai inkubuoti termostate 36 °C temperatūroje 24–48 valandas. Identifikuojant išskirtus mikroorganizmus remtasi kolonijų morfologija ir augimo pobūdžiu terpėse, mikroskopija, 3 % KOH, katalazės (UAB „Valentis“, Lietuva), Latex agliutinacijos („Bio-Rad“, Prancūzija), oksidazės („Becton Dickinson“, JAV), DNR-azės („bioMerieux sa“, Prancūzija), plazmokoagulazės („Bio-Rad“, Prancūzija) testais. Išskirtų mikroorganizmų jautrumas kai kurioms antimikrobinėms medžiagoms ištirtas laikantis Klinikinių laboratorinių standartų instituto

rekomendacijų (angl. CLSI, 2015). Iš 24 val. kultivuotos kraujo agare bakterijų kultūros paruošta 0,5 McFarland'ų drumstumo standartą atitinkanti suspensija, kuri išsėta ant Mueller-Hintono agaro („Bio-Rad“, Prancūzija). Diskų difuzijos metodu, naudojant Oxoid („Limited“, Hampšyras, Anglija) diskus, nustatytas visų išskirtų padermių atsparumas neomicinui (30 µg), tetraciklinui (30 µg), eritromicinui (15 µg), kanamicinui (30 µg), klindamicinui (2 µg), penicilinui (10 µg), ampicilinui (10 µg), streptomycinui (10 µg), gentamicinui (10 µg), rifampinui (5 µg), cefoksitinui (30 µg) ir oksacilinui (1 µg). Po 24 val. inkubacijos termostate išmatuotos inhibicijos zonos, atsparumo rezultatų patikimumui patvirtinti naudotos kontrolinės ATCC padermės.

Duomenų analizė atlikta naudojantis Microsoft Excel ir IBM SPSS Statistics 23.0 statistinėmis programomis. Kategorinių duomenų analizei naudotas χ^2 ir Fišerio tikslusis testai. Rezultatai vertinti kaip statistiškai reikšmingi, kai $p \leq 0,05$.

TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

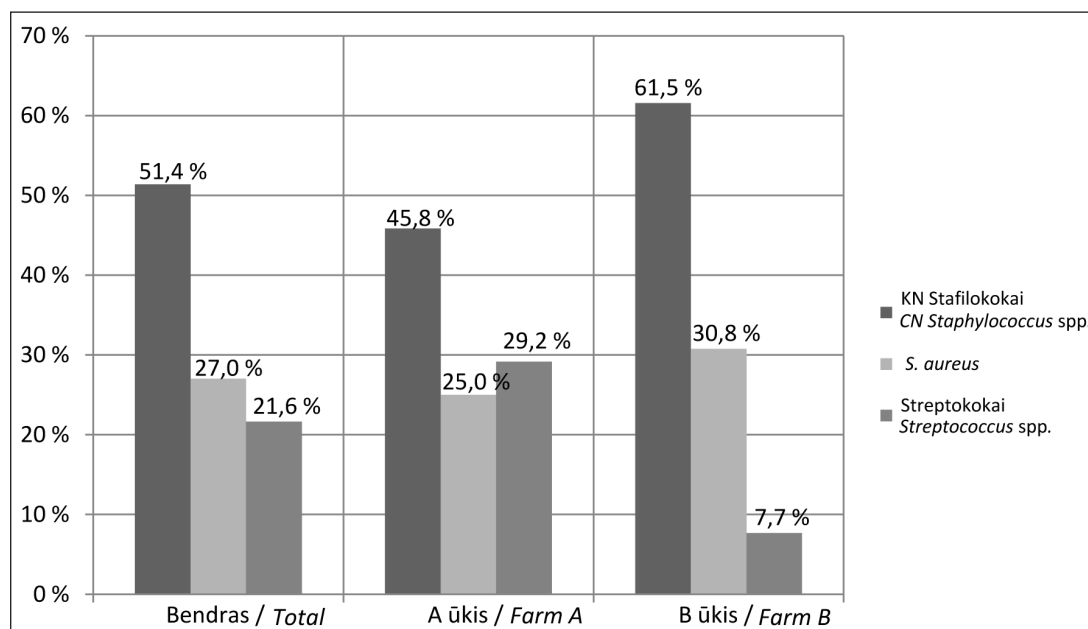
Tyrimo metu ūkiuose iširta po 72 karvių pieno mėginius. Naudojant įprastinius kultivavimo metodus ir identifikacinius testus A ūkyje 44,4 % ($n = 8$) nustatyti slaptieji karvių mastitai, o B ūkyje – 33,3 % ($n = 6$) karvių ($p = 0,733$) (1 lentelė).

Iš tirtų 36 karvių išskirtos 37 gramteigiamų kokių padermės, iš kurių 78,4 % ($n = 29$) buvo *Staphylococcus* spp. ir 21,6 % ($n = 8$) *Streptococcus* spp. padermės. Kaip vienas svarbiausių mastitų sukėlėjų atskirai išskirtas ir identifikuotas *S. aureus*, kuris sudarė 34,5 % ($n = 10$) stafilokokų padermių ir 27 % visų mastitų sukėlėjų. Kiti išskirti stafilokokai priklausė koagulazei neigiamiems stafilokokams (65,5 %, $n = 19$), šios padermės atskirai iki rūšies neidentifikuotos. Sukėlėjų pasiskirstymas A ir B ūkiuose pateiktas 1 paveiksle. Abiejuose ūkiuose dažniausiai išskirti slaptųjų mastitų sukėlėjai buvo *Staphylococcus* spp. ($p = 0,216$).

Lentelė. Ištirtų karvių, surinktų mėginių ir nustatytų slaptųjų mastitų kiekis A ir B ūkiuose

Table. Distribution of tested cows, collected samples, quantity of latent mastitis in farms A and B

Rodikliai / Parameters	Ūkis / Farm		Iš viso / Total (n)
	A ūkis / Farm A	B ūkis / Farm B	
Karvės / Cows (n)	18	18	36
Mėginiai / Samples (n)	72	72	144
Slaptieji mastitai / Latent mastitis (n)	8	6	14



1 pav. Mastito sukėlėjų pasiskirstymas A ir B ūkiuose

Fig. 1. Distribution of mastitis causing bacteria in farms A and B

Toks didelis slaptųjų mastitų sukėlėjų paplitimas tirtuose ūkiuose rodo nepakankamą mastitų sanavimą bandose ar per mažą dėmesį melžimo higienai ir karvių laikymo sąlygoms.

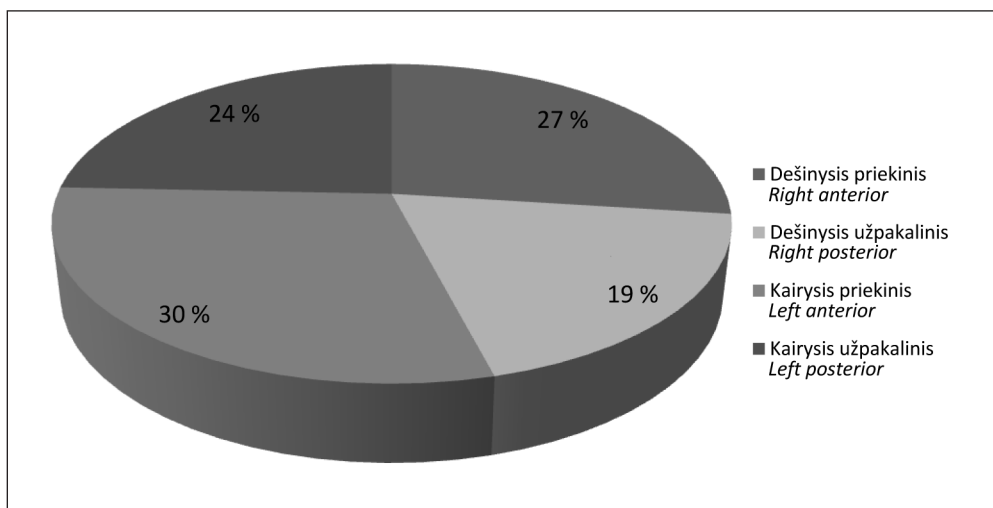
2017 m. atliktoje metaanalizėje (Krishnamoorthy et al., 2017) ir kituose literatūros šaltiniuose (Mir et al., 2014) nurodoma, kad dažniausi mastitų sukėlėjai yra *Staphylococcus* genties bakterijos. *S. aureus* sukelia 27–69 % slaptųjų mastitų Lietuvoje (Klimienė et al., 2012), o kai kuriose šalyse siekia net 73,2 % (Abebe et al., 2016). Šie įvairių mokslininkų bakteriologų tyrimų duomenys skiriasi priklausomai nuo karvių laikymo aplinkoje esančių mikroorganizmų, sanitarijos ir melžimo technologijos, nuolatinės tešmens mikrobiotos, individualių gyvulio savybių ir kt.

Sukėlėjų pasiskirstymas tešmens ketvirčiuose pateikiamas 2 paveiksle. Dažniau slaptųjų mastitų sukėlėjai išskirti iš kairiojo priekinio (30 %) ir dešiniojo priekinio (27 %) tešmens ketvirčių, tačiau nenustatyta statistiškai reikšmingo sukėlėjų paplitimo masto skirtumų tarp karvių tešmens ketvirčių ($p = 0,7805$).

Nustatyta, kad 75 % ($n = 6$) *Streptococcus* spp. padermių buvo atsparios tetraciklinui, atsparumas eritromicinui, penicilinui, ampicilinui ir streptomycinui siekė 12,5 %. *Staphylococcus* spp. didžiausias atsparumas nustatytas penicilinui ir ampicilinui (po 73,7 %, $n = 14$), kiek mažesnis būdingas tetraciklinui – 47,4 % ($n = 9$), eritromicinui (26,3 %), streptomycinui (10,5 %). Visi tirti *S. aureus* izoliatai ($n = 10$) buvo atsparūs peni-

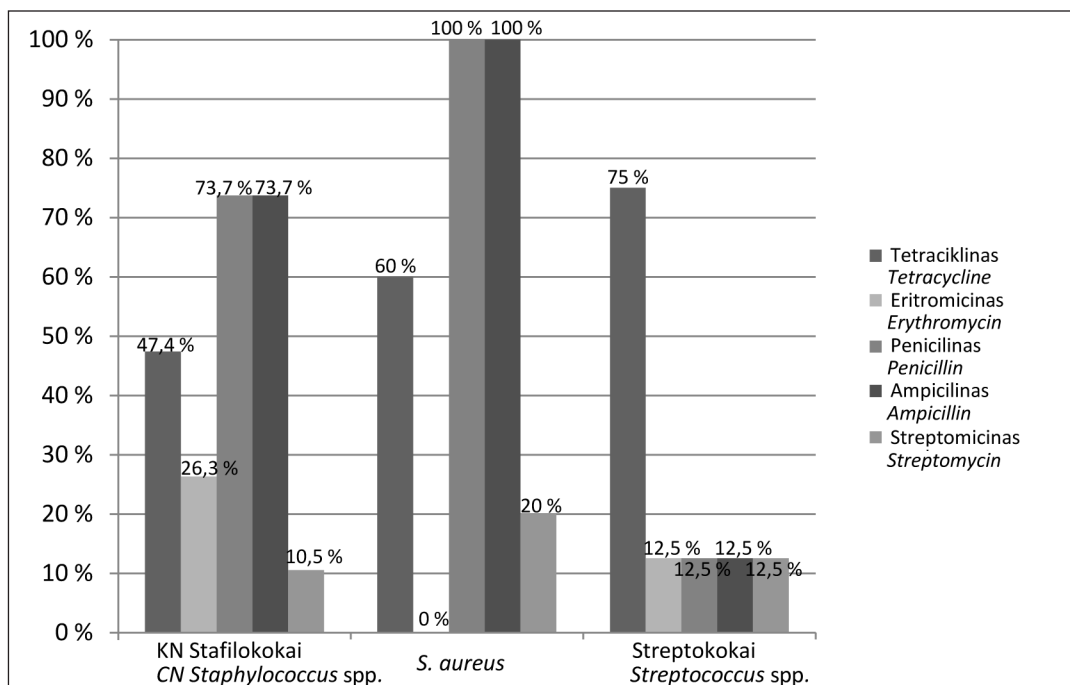
linui ir ampicilinui, 60 % ($n = 6$) tetraciklinui ir 20 % ($n = 2$) streptomycinui, bet visos *S. aureus* padermės jautrios eritromicinui (3 pav.). Visi išskirti sukėlėjai buvo jautrūs oksacilinui, cefoksitinui, neomicinui, gentamicinui, klindamicinui, kanamicinui ir rifampinui. Taigi meticilinui atsparių *S. aureus* (MRSA) padermių nenustatyta. MRSA paplitimas regionuose ir netgi įvairiose tos pačios šalies bandose skiriasi, pavyzdžiui, Belgijoje MRSA paplitimas įvairių regionų bandose pasiskirsto netolygiai ir siekia 0–10 % (Vanderhaeghen et al., 2009).

Lyginant gautus atsparumo antimikrobinėms medžiagoms duomenis su kitų autorių publikuotais duomenimis matyti, kad šiame tyrime nustatytas didesnis tiek *S. aureus*, tiek *Staphylococcus* spp. atsparumas penicilinui ir ampicilinui, palyginti su Turkijoje (*S. aureus* atitinkamai 62,1 ir 56,3 %, *Staphylococcus* spp. – 62,5 ir 55,9 %) (Turutoglu et al., 2005) ar Lenkijoje (*S. aureus* – 23,6 ir 22,8 %) (Szweda et al., 2013) atliktais tyrimais. Šis tyrimas atskleidė, kad *S. aureus* ir *Staphylococcus* spp. atsparumas tetraciklinui buvo didesnis nei I. Klimienės ir bendraautorių 2008–2010 m. atliktame tyrime (atitinkamai 13 % ir 3,6–24,2 %) (Klimienė et al., 2012), tačiau duomenys tokie patys, kaip gauti H. Turutoglu su bendraautoriais (61,2 ir 31,6 %) (Turutoglu et al., 2005). Atsparumo streptomycinui, seniai Lietuvoje naudojamo antimikrobinio vaisto, duomenys I. Klimienės ir bendraautorių atliktame tyrime didesni, nei mūsų gauti rezultatai, ir siekė iki 78 %.



2 pav. Mastito sukėlėjų pasiskirstymas tešmens ketvirčiuose

Fig. 2. Distribution of mastitis causing bacteria in quarters of udder

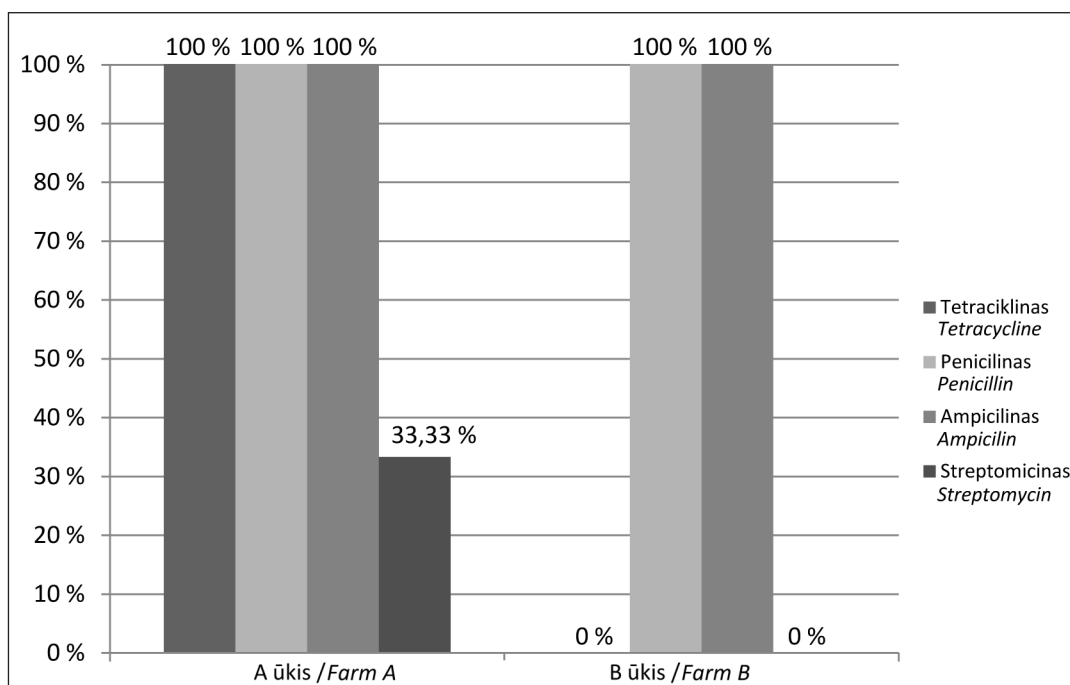


3 pav. Mastito sukėlėjų atsparumas antimikrobiniams vaistams

Fig. 3. Antibiotic resistance of mastitis causing bacteria

Gana didelis slaptųjų mastitų sukėlėjų atsparumas antimikrobiniams vaistams gali būti sietinas su mažai kontroliuojamu antimikrobinų vaistų skyrimu, pardavimu ir sunaudojimu šalyje. Europos ligų prevencijos ir kontrolės centro bei Europos maisto saugos tarnybos pateiktoje 2016 m. antimikrobinų

vaistų veterinarijos sektoriuje sunaudojimo ataskaitoje nurodoma, kad Lietuvoje maistui auginamiems gyvūnams antimikrobinų vaistų tenka 35,5 mg/kg biomasės (ES – 151,5 mg/kg biomasės), per 2016 m. parduota 12,8 t antimikrobinų vaistų, iš jų 4,5 t skirtos galvijų gydymui. Populiariausi penicilinų



4 pav. S. aureus atsparumas antimikrobinėms medžiagoms A ir B ūkiuose

Fig. 4. Antimicrobial resistance of S. aureus in farms A and B

(4,81 t.) ir tetraciklinų (2,34 t.) klasių antimikrobiniai vaistai. Netinkamo antimikrobinio vaisto skyrimas neatlikus mikrobiologinių tyrimų ir nepakankama gydymo dozė ne tik sutrikdo tešmens normaliosios mikrobiotos santykį, bet ir lemia atsparių padermių plitimą (Rudejevienė et al., 2011). Antimikrobinio atsparumo tyrimai ir jų rezultatų analizė leidžia stebėti antimikrobinų medžiagų atsparumo kitimo tendencijas, pritaikyti tinkamiausią antimikrobinį mastitų gydymą ir kontroliuoti antimikrobinio atsparumo augimą (Ruegg, 2009).

Palyginti *S. aureus*, vieno dažniausių slaptųjų mastitų sukėlėjų, atsparumo antimikrobinėms medžiagoms duomenys A ir B ūkiuose. A ūkyje nustatytas didesnis atsparumas tetraciklinui ir streptomycinui nei B ūkyje. Abiejuose ūkiuose visos tirtos *S. aureus* padermės buvo atsparios penicilinui ir ampicilinui (4 pav.). Siekiant sumažinti tirtose bandose slaptųjų karvių mastitų kiekį, juos sukeliančių mikroorganizmų atsparumą antimikrobiniais vaistais, būtina nuolatinei karvių sveikatos kontrolė, dažnesnis mastitų sanavimas bandose ir didesnis dėmesys karvių mastitų problemai (Klimienė et al., 2005), taip pat gydymo taikymas tik atlikus mikrobiologinius tyrimus, išskyrus sukėlėją ir nustačius jo atsparumą antimikrobiniais vaistais.

IŠVADOS

Nustatyta, kad dažniausiai slaptuosius mastitus tirtoms karvėms sukėlė *Staphylococcus* spp. ir *S. aureus* padermės. *S. aureus* padermėms, išskirtoms iš karvių pieno, būdingas didelis atsparumas penicilinui, ampicilinui ir tetraciklinui. Visos išskirtos padermės buvo jautrios oksacilinui, cefoksitinui, neomicinui, gentamicinui, klindamicinui, kanamicinui ir rifampinui.

Gauta 2019 01 07
Priimta 2019 04 26

LITERATŪRA

1. Abebe R., Hatiya H., Abera M., Megersa B., Asmare K. 2016. Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. *BioMed Central Veterinary Research*. Vol. 12. No. 1. P. 270.
2. Dabravolskas R. 2013. Beta laktaminiai antibiotikai ir jų antimikrobinis efektyvumas iš karvių mastito išskirtiems streptokokams ir stafilokokams:

- magistro baigiamasis darbas [žiūrėta 2018-11-03]. Prieiga per internetą: http://talpykla.elaba.lt/elaba-fedora/objects/elaba:2201843/datastreams/ATTACHMENT_2201846/content
3. European Medicines Agency, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption. 2017. *Sales of Veterinary Antimicrobial Agents in 30 European Countries in 2015* [žiūrėta 2018-11-03]. Prieiga per internetą: https://www.ema.europa.eu/documents/report/seventh-esvac-report-sales-veterinary-antimicrobial-agents-30-european-countries-2015_en.pdf
4. Hawari A. D., Al-Dabbas F. 2008. Prevalence and distribution of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Jordan. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*. Vol. 3. Issue 1. P. 36–39.
5. Klimienė I., Mockeliūnas R., Butrimaitė-Ambrozevičienė Č., Sakalauskiene R. 2005. Karvių mastitas. Tyrimai Lietuvoje. *Veterinarija ir Zootechnika*. T. 31(53). P. 67–76.
6. Klimienė I., Ružauskas M., Špakauskas V., Matusevičius A., Mockeliūnas R., Pereckienė A., Butrimaitė-Ambrozevičienė Č., Virgailis M. 2011. Antimicrobial resistance patterns to beta-lactams of gram-positive cocci isolated from bovine mastitis in Lithuania. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. Vol. 14(3). P. 467–72.
7. Klimienė I., Ružauskas M., Mockeliūnas R., Šiugzdinienė R., Špakauskas V., Matusevičius A., Butrimaitė-Ambrozevičienė Č. 2012. Stafilokokų, išskirtų iš karvių mastitinio pieno, įvairovė ir atsparumas antimikrobinėms medžiagoms. *Veterinarija ir zootechnika*. T. 57(79). P. 31–37.
8. Krishnamoorthy P., Suresh K. P., Saha S., Govindaraj G., Shome B. R., Roy P. 2017. Meta-analysis of prevalence of subclinical and clinical mastitis, major pathogens in dairy cattle in India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. Vol. 6. Issue 3. P. 1214–1234.
9. Mir A. Q., Bansal B. K., Bupta D. K. 2014. Subclinical mastitis in machine milked dairy farms in Punjab: prevalence, distribution of bacteria and current antibiogram. *Veterinary World*. Vol. 7. Issue 9. P. 291–294.
10. MO2-A12. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – Twelfth Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.
11. Pol M., Ruegg P. L. 2007. Treatment practices and quantification of antimicrobial drug usage in conventional and organic dairy farms in Wisconsin. *Journal of Dairy Science*. Vol. 90. P. 249–261.
12. Ramanauskienė J., Sederevičius A., Aniulis E., Rudejevienė J., Telyvytė R., Monkevičienė I., Savickis S. 2008. Karvių klinikinio mastito gydymo efektyvumo tyrimai. *Veterinarija ir zootechnika*. T. 41(63). P. 80–85.

13. Rudejeviėnė J., Žilaitis V., Japertienė R., Mišeikienė R. 2011. Karvių slaptojo mastito gydymo cefaleksinu ir cefaleksino deriniu su ampicilinu efektyvumas. *Veterinarija ir zootechnika*. T. 55(77). P. 53–59.
14. Ruegg P. L. 2009. Management of mastitis on organic and conventional dairy farms. *Journal of Animal Science*. Vol. 87. Issue 13. P. 43–55.
15. Szweda P., Schielmann M., Frankowska A., Kot B., Zalewska M. 2013. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows with mastitis in eastern Poland and analysis of susceptibility of resistant strains to alternative nonantibiotic agents: lysostaphin, nisin and polymyxin B. *The Journal of Veterinary Medical Science*. Vol. 76. No. 3. P. 355–362.
16. Turutoglu H., Ercelik S., Ozturk D. 2005. Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci* isolated from bovine mastitis. *Bulletin – Veterinary Institute in Pulawy*. Vol. 50. P. 41–45.
17. Ugur P., Sukru K., Özge O. F., Tugba Y. H. 2018. Isolation of major pathogens from cattle with subclinical mastitis and determination of antibiotic susceptibilities. *Approaches in Poultry, Dairy and Veterinary Sciences*. Vol. 3. Issue 4. P. 1–6.
18. Vakkamäki J., Taponen S., Heikkilä A. M., Pyörälä S. 2017. Bacteriological etiology and treatment of mastitis in Finnish dairy herds. *Acta Veterinaria Scandinavica*. Vol. 59. Issue 33. P. 1–9.
19. Valstybinė maisto ir veterinarijos tarnyba. 2016. *Racionalus antimikrobinų medžiagų naudojimas veterinarijoje* [žiūrėta 2018-12-20]. Prieiga per internetą: <http://www.hi.lt/uploads/news/id1002/3.pdf>
20. Vanderhaeghen W., Cerpentier T., Adriaensen C., Vicca J., Hermans K., Butaye P. 2009. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows. *Veterinary Microbiology*. Vol. 144. Issues 1–2. P. 166–171.

**Lina Kaplerienė, Agnė Kirkliauskienė,
Olga Purakevič, Halina Gluchovienė**

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF THE BACTERIA ISOLATED FROM COWS WITH LATENT MASTITIS

Summary

The main problem of dairy farms is mastitis – inflammation of the mammary gland. Resistance of bacteria causing latent mastitis to antibiotics is increasing every year. Bacteria that have resistance genes to antibiotics are transmitted from one animal to another and through food chains or direct contacts from animals to humans. Latent mastitis is 15–40 times more frequent than clinical mastitis, which is more difficult to detect and is the major source of pathogens for the whole herd of cattle.

The aim of this study was to isolate bacteria which cause mastitis from cow milk and determine their susceptibility to antimicrobials. Milk samples from two dairy farms (farm A and farm B) in Anykščiai District were taken in July 2018. Microbiological assays were performed at the Microbiology Laboratory of the Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Vilnius University. In total, 36 cows were tested. Using common methods of cultivation and identification tests, strains of *Streptococcus* spp., coagulase negative *Staphylococcus* spp. and *Staphylococcus aureus* were identified. Susceptibility of all isolated strains to neomycin, tetracycline, erythromycin, kanamycin, clindamycin, penicillin, ampicillin, streptomycin, gentamicin, rifampin, cefoxitin and oxacillin was performed using the disc diffusion method according to the guidelines of the Clinical Laboratory Standards Institute.

It was concluded that the most frequent agent of mastitis was *Staphylococcus* spp. Also, a high level of resistance to penicillin, ampicillin and tetracycline in *S. aureus* strains was determined. All isolated bacteria were susceptible to neomycin, erythromycin, kanamycin, clindamycin, gentamicin, rifampin, cefoxitin and oxacillin.

Keywords: cow mastitis, latent mastitis, *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, antimicrobial resistance