

3. ročník konference 2025
Antibiotická rezistence v ČR: Jak společně
zastavit nezastavitelné“

Interakce půdního a fekálního mikrobiomu skotu a rezistom půdy

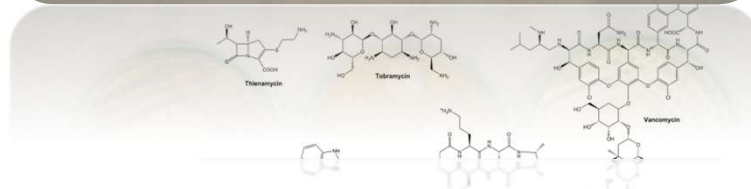
Dana Elhottová

BC AVČR, Ústav půdní biologie a
biogeochemie

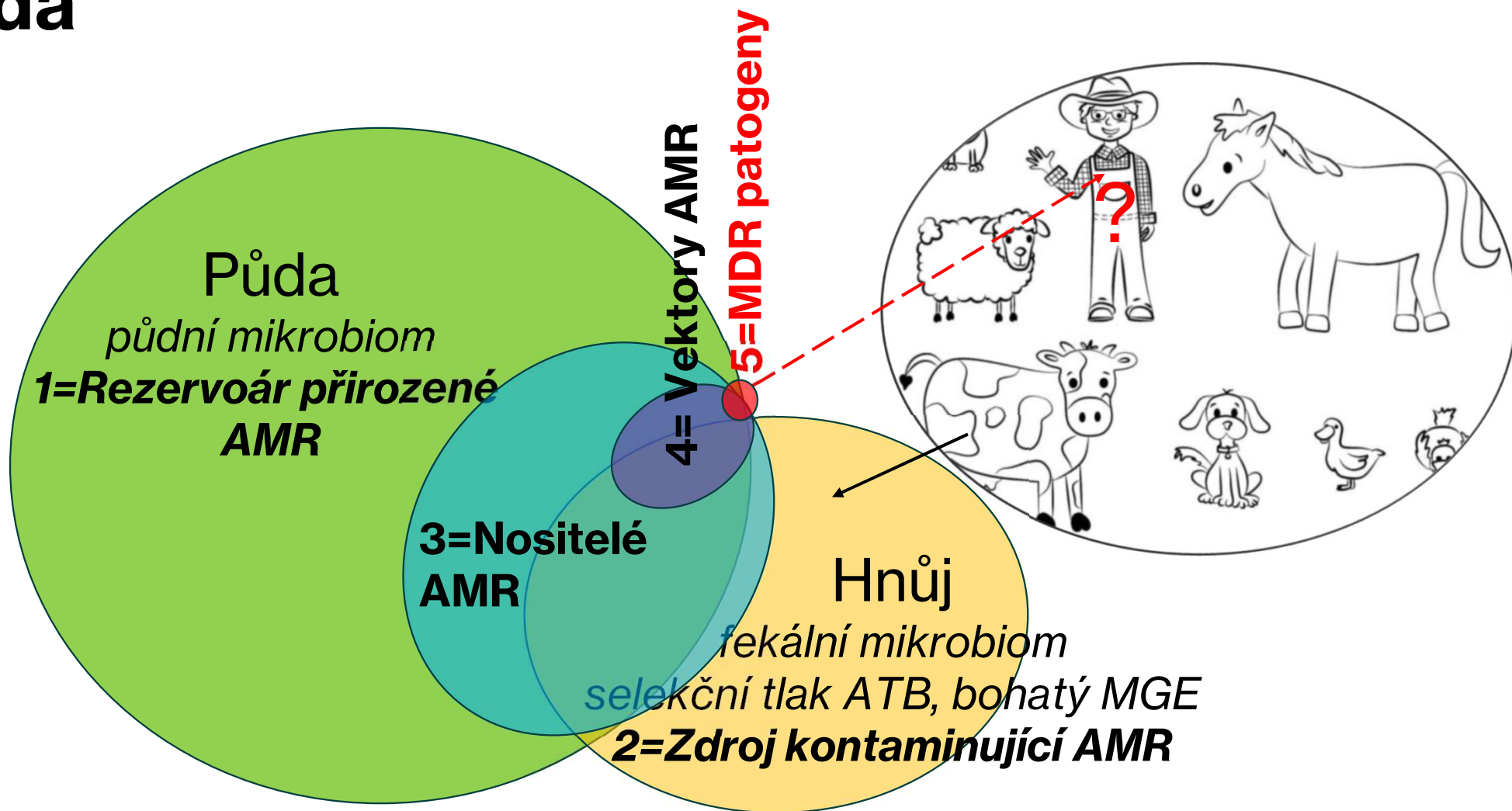
České Budějovice

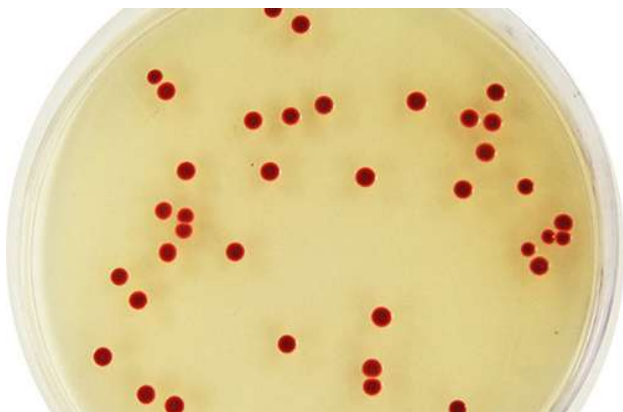
Role půdy v evoluci a šíření antimikrobiální rezistence (AMR)

- **Evoluce AMR v půdě** (*významná - mnoho přirozených producentů ATB*)
- **Šíření AMR v půdě** (*v souvislosti s AMR kontaminujícími zdroji*)
- **Přirozené a kontaminující prostředí**



Šíření AMR v prostředí: Hnůj a zemědělská půda





Cíl přednášky

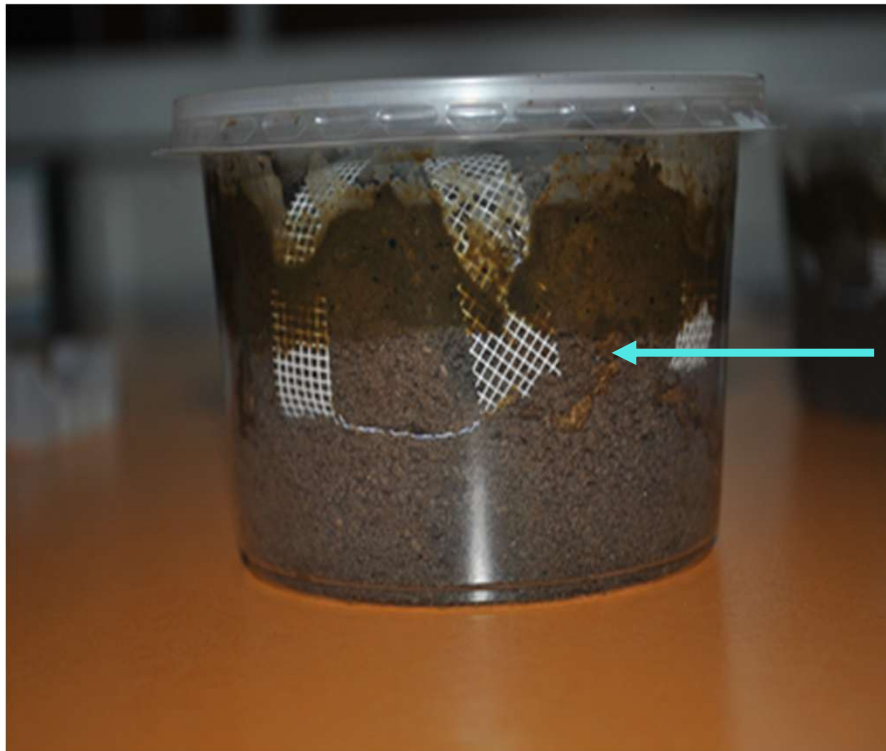
pohled na r. *Acinetobacter* v procesu šíření AMR z kravského hnoje do zemědělských půd a jeho potenciál být oportunním patogenem

r. *Acinetobacter*

- patří mezi prospěšné půdní bakterie, zlepšuje úrodnost půdy, detoxikuje prostředí kontaminované těžkými kovy i organickými polutanty
- neobývá extrémní prostředí, ale vyniká mimořádnou odolností k vysychání a látkám s AM účinkem, přizpůsobivostí k potravní nabídce
- snadná izolace z půdy, vody, odpadních vod, bezobratlých, zvířat, rostlin, lidského těla, potravy
- A.spp. častou příčinou environmentálních infekcí u jedinců s oslabenou imunitou
- Prominentní postavení ***A. baumannii***, nejvirulentnější mezi ostatními druhy. Patří do skupiny ESKAPE patogenů s vysokou mírou antibiotické (multi)rezistence, odpovědný za většinu nozokomiálních infekcí (převážně aspirační pneumonie a katetrizační bakteriémie, stejně jako infekce měkkých tkání a močových cest).
- .

Pro sledování interakce fekálního a půdního mikrobiomu: Mikrokosmové inkubační experimenty

Design horizontálního vrstvení



Vrchní vrstva = Hnůj
směs 12 vzorků odebraných z rekta dojníc z mléčné
farmy

Zóna přirozené interakce hnůj a půda (oddělená od hnoje
a spodní vrstvy půdy sítkou)

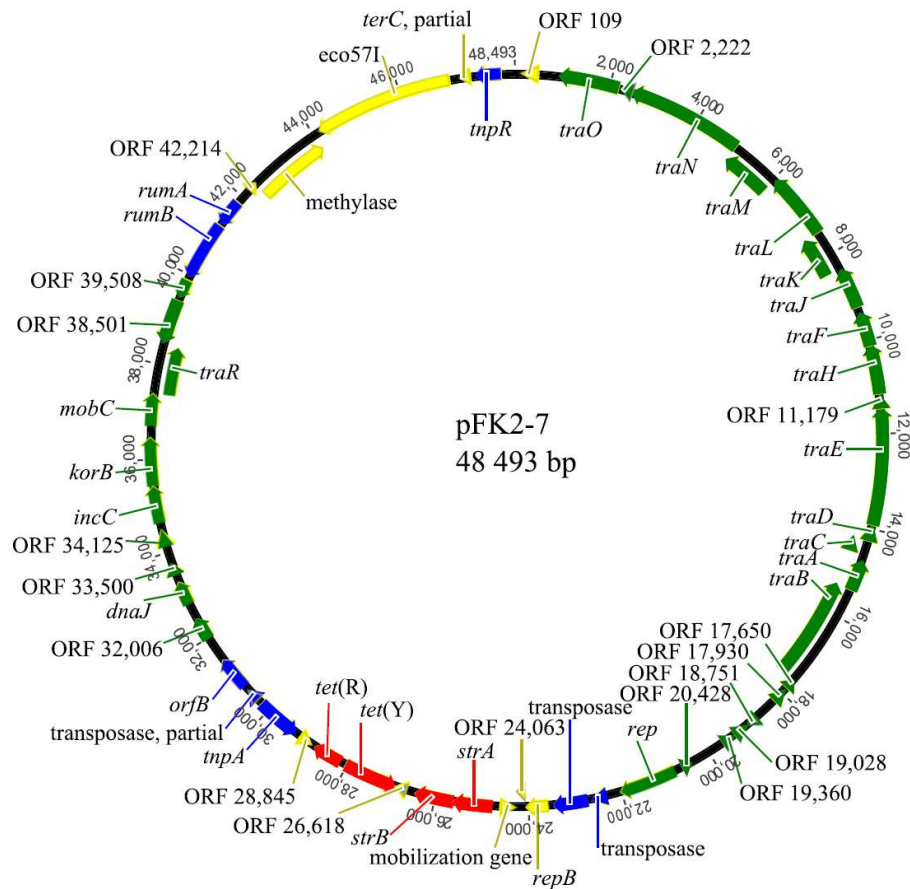
Půda trvalého travního porostu (bio-farmy)

Hnůj mléčného skotu pod profylaktickou aplikací tetracyklinových ATB (*CTC-metricyklinové* čípky)

- TET-r geny byly stabilní částí střevního metagenomu mléčného skotu.
- Resistom zahrnoval všechny základní typy TET-r mechanismů
- Stádo sdílelo „core-resistome“ od raného věku jedinců (1-2 týdny),
- Výskyt a množství TET-r genů v čerstvém trusu jalovic a dospělých krav zůstaly neovlivněny intrauterinní aplikací CTC
- Půda v blízkosti farmy i pole, na kterou byl aplikován hnůj z farmy, byla kontaminována TET-r s perzistencí některých genů déle než 3 měsíce po aplikaci hnoje.
- **Mezi nositele TET-r genů patřil *Acinetobacter johnsonii* a *A. soli*: tet(Y)**

Kyselková et al., 2015, Frontiers in Microbiology

Hnůj mléčného skotu pod TET profylaxí zdrojem MGE schopných šířit TET-r geny



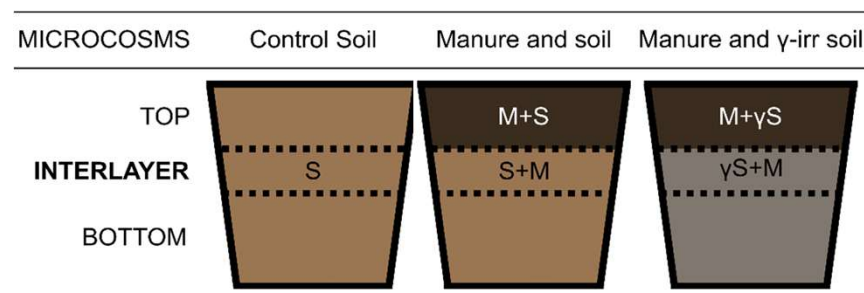
Exogenní izolace plazmidů nesoucích TET-r geny z kravského hnoje pomocí recipientů a TET selekce transkonjugantů ukázala, že

hnůj je nejen zdrojem TET-r genů, ale i MGE schopných šířit TET-r geny

Poprvé v kravském hnoji byl zachycen **LowGC plasmid** (charakteristický pro *r. Acinetobacter*) **nesoucí tet(Y)**

Kyselková et al., 2016, FEMS Microbial Ecology

Role domácího půdního mikrobiomu



Kultivační nárůst *Acinetobacter* a dalších NFGNB
(ChromAgarAcinetobacter médium, 28°C, 24 h)

Zleva: kontrolní půda, půda ovlivněné hnojem a gamma ozářená
půda ovlivněné hnojem

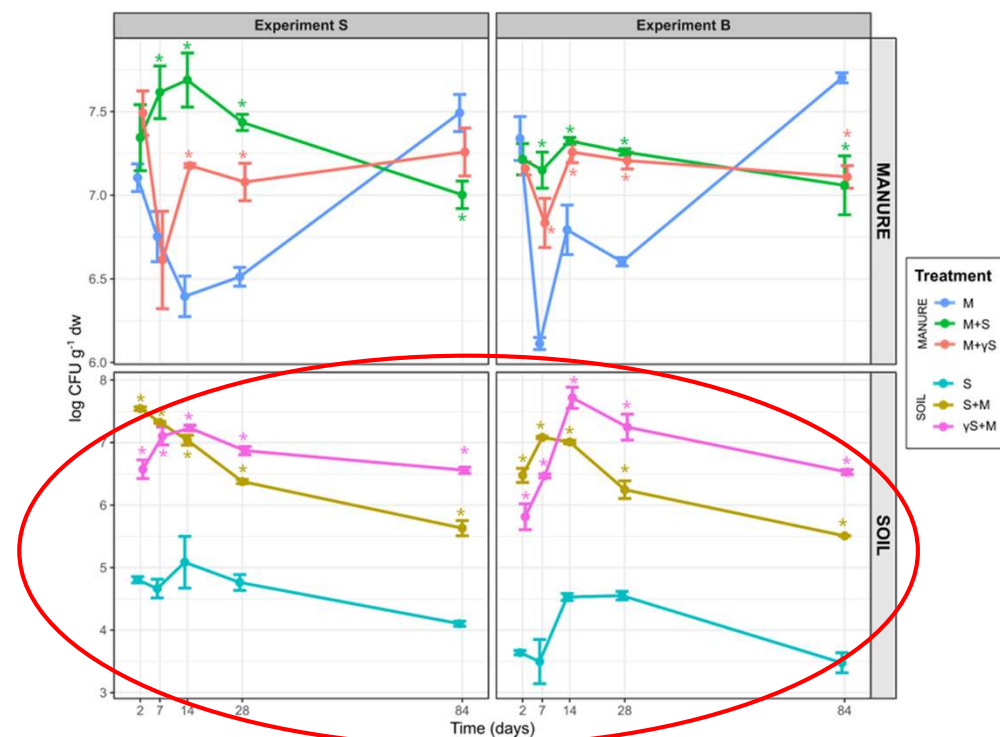
- Mikrokosmový pokus zaměřený na šíření TET-r genů z hnoje do půdy se zdravou a gamma radiací ošetřenou půdou ve třech nezávislých pokusech ukázal, že ozářené půdy pod hnojem vykazovaly průkazně vyšší početnost genů TET-r ve srovnání se zdravou půdou.
- Podobně to ilustruje markantní rozdíl v nárůstu NFGNB kolonií ve zdravé a gamma ozářené půdě ovlivněné hnojem (foto)

Pérez Valera et al., 2019, Scientific Reports

Čerstvý hnůj spouští masívní, ale krátkodobou dominanci acinetobacterů v mikrobiálním společenstvu pastevní půdy

- Relativní skladba celkových i kultivovaných společenstev (sekvenace 16SrRNA amplikonů) potvrdila **dominanci acinetobakterů 2.-7. den po aplikaci hnoje**, po té je nahrazují další nefermentující G- bakterie (NFGNB) zejména r. *Stenotrophomonas* a *Pseudomonas*

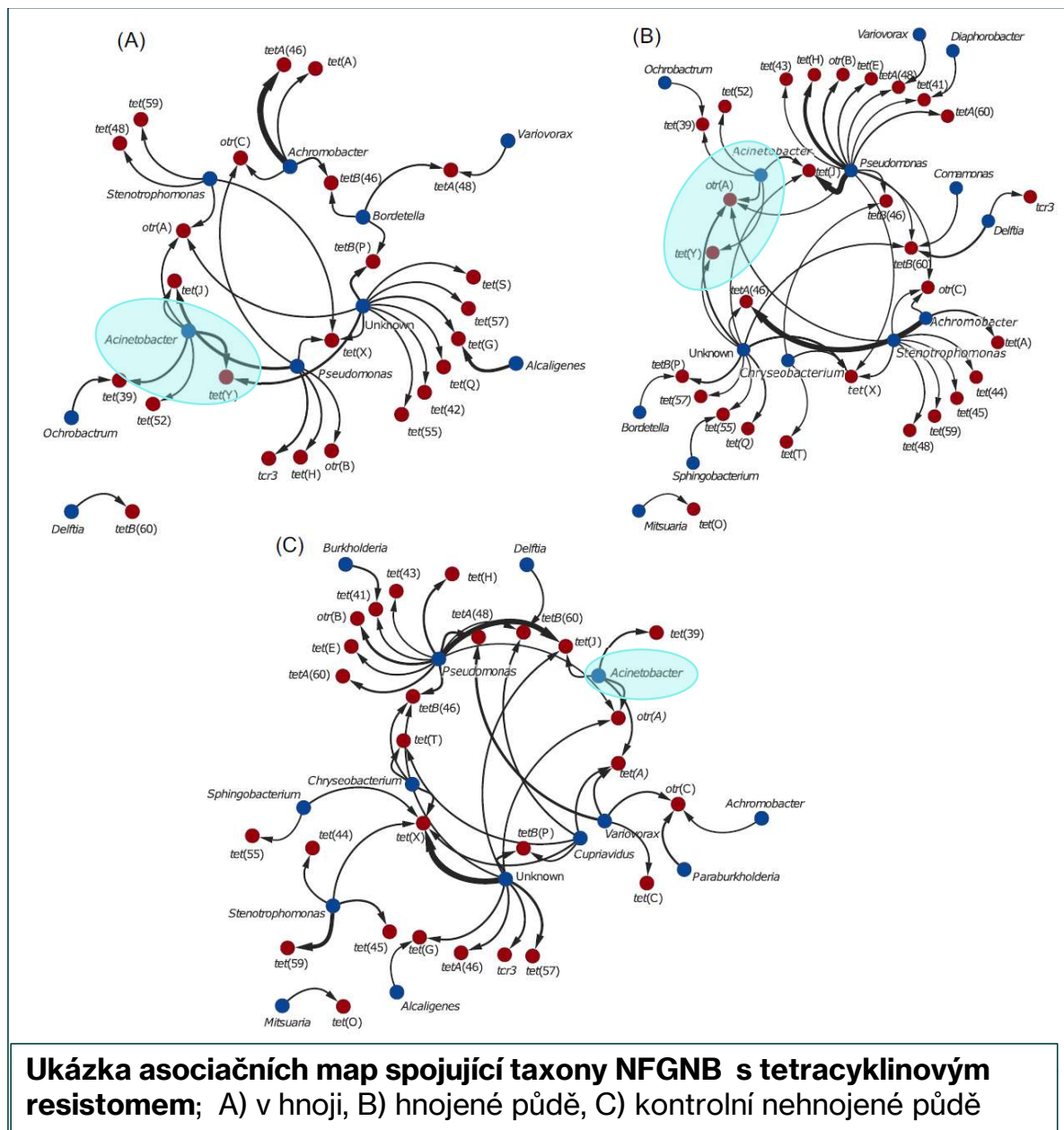
Pérez Valera et al., Applied Soil Ecology, 2022



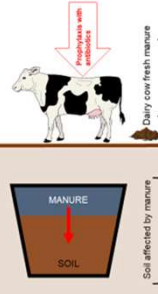
- O 2-3 řády vyšší kultivovatelné počty (ChromAgarAcinetobacter, 24 h, 28°C) v půdách ovlivněných hnojem oproti kontrolní půdě, zejména 2.-7. den, po té pokles
- v gamma ozářené půdě oproti zdravé půdě zůstávají počty cca o řád vyšší.

- Kromě jiného potvrdily, že **hnůj je zdrojem acinetobacterů nesoucích tet(Y), které jsou přenášeny do hnojené půdy.**
- Nejbohatší TET resistom byl indikován u *Stenotrophomonas* a *Pseudomonas*

Sardar et al., 2023, FEMS Microbial Ecology



Znaky izolátů usnadňující perzistenci v prostředí a kolonizaci hostitele indikovaly vysoký potenciál patogenity

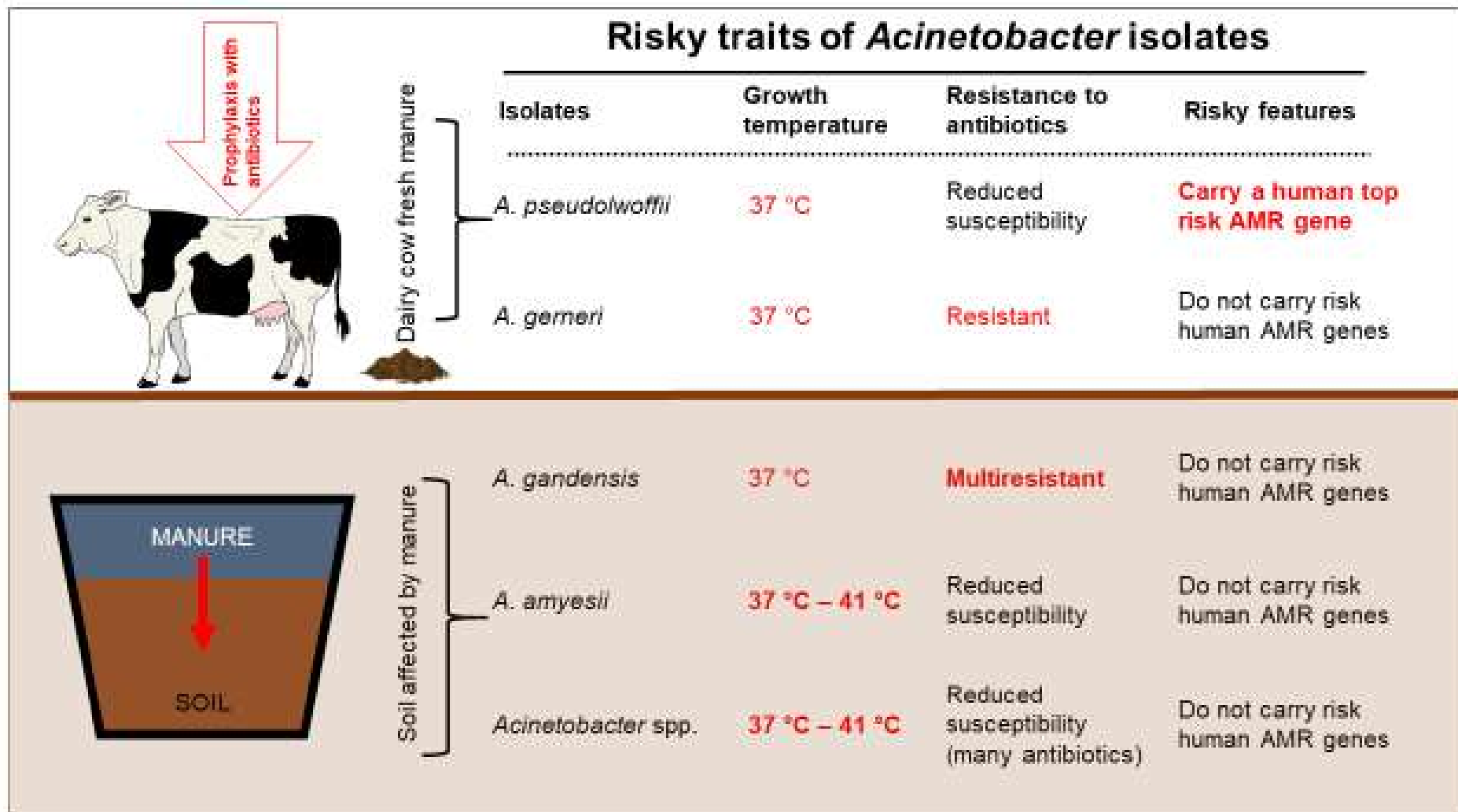


Risky traits of *Acinetobacter* isolates

Isolates	Growth temperature	Resistance to antibiotics	Risky features
<i>A. pseudotwooffii</i>	37 °C	Reduced susceptibility	Carry a human top risk AMR gene
<i>A. germeri</i>	37 °C	Resistant	Do not carry risk human AMR genes
<i>A. gandensis</i>	37 °C	Multiresistant	Do not carry risk human AMR genes
<i>A. anisot</i>	37 °C - 41 °C	Reduced susceptibility	Do not carry risk human AMR genes
<i>Acinetobacter</i> spp.	37 °C - 41 °C	Reduced susceptibility (many antibiotics)	Do not carry risk human AMR genes

- Celogenomová shotgun analýza 11 *Acinetobacter* izolátů z hnoje a hnojem ovlivněné půdy + 7 referenčních genomů včetně klinických *A. baumannii*
- 164 vybraných genů mapujících: AMR, HGT, virulenci, tvorbu biofilmu, resistenci k vysychání, quorum sensing/quenching, kapsulární polysacharidy, lipopolysacharidy, vychytávání železa, všestrannost v růstových požadavcích, tvorbu rezervního materiálu, chemotaxi
- Teplotní růstová analýza (37°C-44°C),
- ATB multirezistence klinicky relevantních kategorií (Magiorakos et al., 2012)
- Potenciál patogenity izolátů a referenčních kmenů byl hodnocen pomocí PathogenFinder (Cosentino et al., 2013)

Dede et al., 2025, Microbial Pathogenesis



Shrnutí role r. *Acinetobacter* v procesu šíření AMR z čerstvého kravského hnoje do zemědělských půd a jeho potenciál být oportunním patogenem

- Ano, environmentální kmeny předpovězeny jako lidské patogeny
- Potvrzený přenos AMR acinetobakterů a obohacení z hnoje do půdy
- Vysoká schopnost akumulovat geny AMR a šířit se pomocí MGE
- Po aplikaci hnoje pouze krátkodobá dominance v původní půdní komunitě
- Rizikovější pro prostředí s degradovaným domácím půdním mikrobiomem
- Domácí mikrobiom půdy tlumil šíření AMR a acinetobakterů z hnoje do půdy

K diskusi

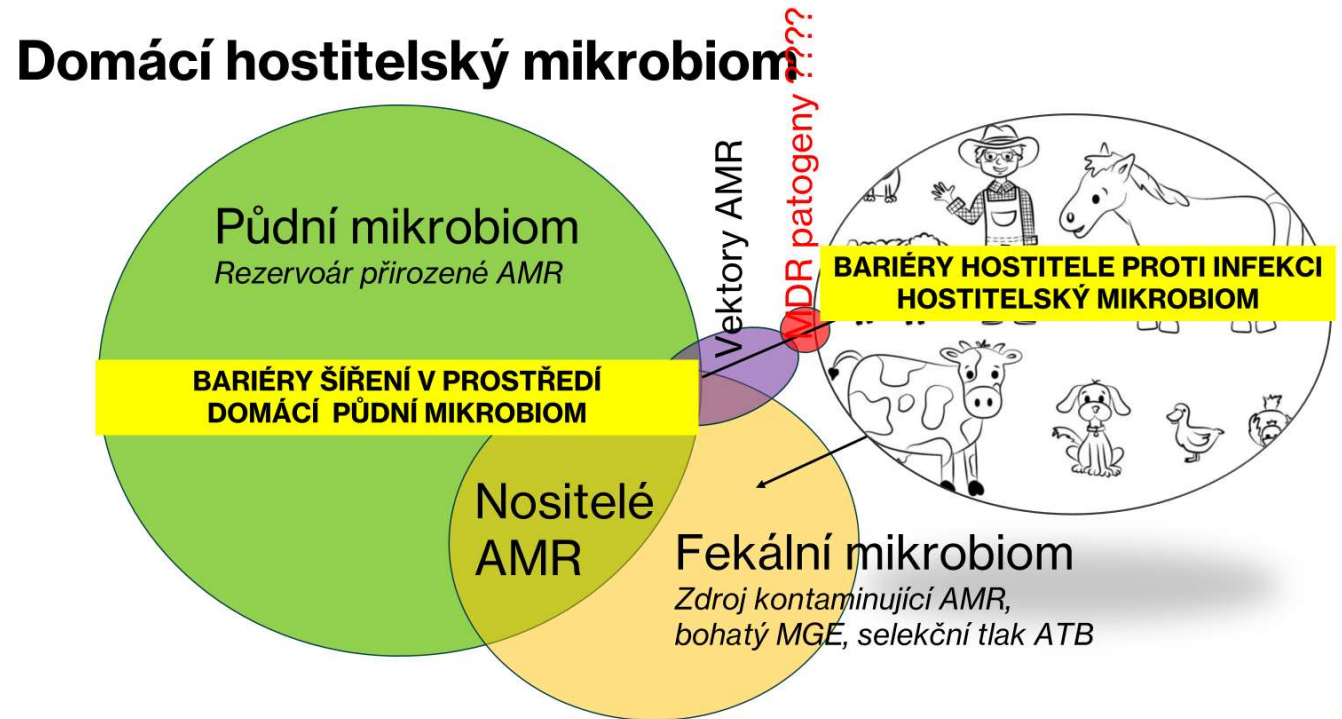
- 2 typy kolonizace/infekce oportunním patogenem:

Prudká - traumata, popáleniny, imunodeficience, ...

Tichá - chronický stres, špatná životospráva

význam domácího hostitelského mikrobiomu

2 zásadní vlivy ATB aj látek s antimikrobiálním účinkem na hostitelský mikrobiom: 1. nárůst AMR a 2. pokles diverzity a vitality



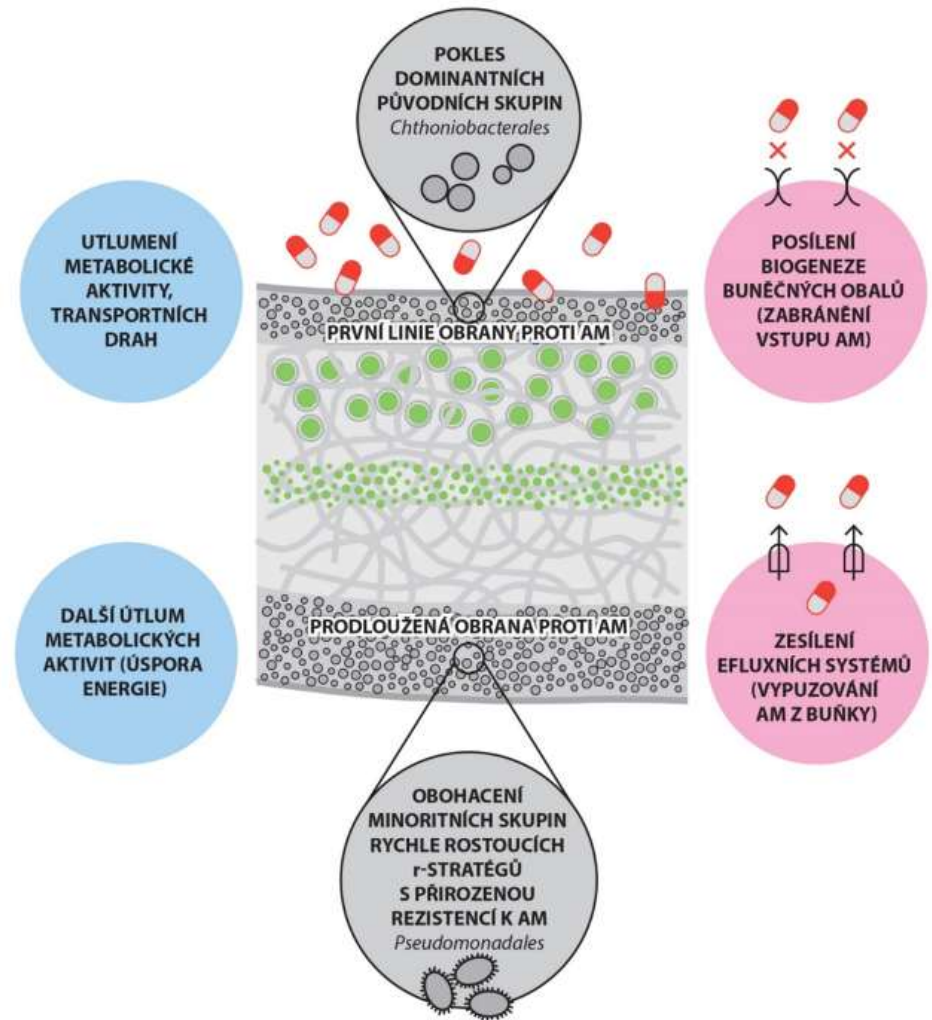
Nepodceňujme vliv AM na zdravý mikrobiom prostředí/ hostitele

Výzkum vícesložkového systému (lišejník), a uplatnění **komplexního** využívání -omických metod je cesta, která dovolila lépe odkrýt a upřesnit dopady 4 AM často používaných v zemědělství na mikrobiom dosud nenarušeného přirozeného prostředí (*Wicaksono et al., 2022: Trade-off for survival: Microbiome response to chemical exposure combines activation of intrinsic resistances and adapted metabolic activity. Environment International 168*).

Účinek

glyfosátu>alkylpyrazinu>tetracyklinu>kolistinu ukázal na úrovni transkriptomu a proteomu:

1. posílení AMR na úkor metabolické aktivity
2. změnu diverzity a vitality mikrobiomu



INTENZIFIKOVANÁ ZEMĚDĚLSKÁ VÝROBA

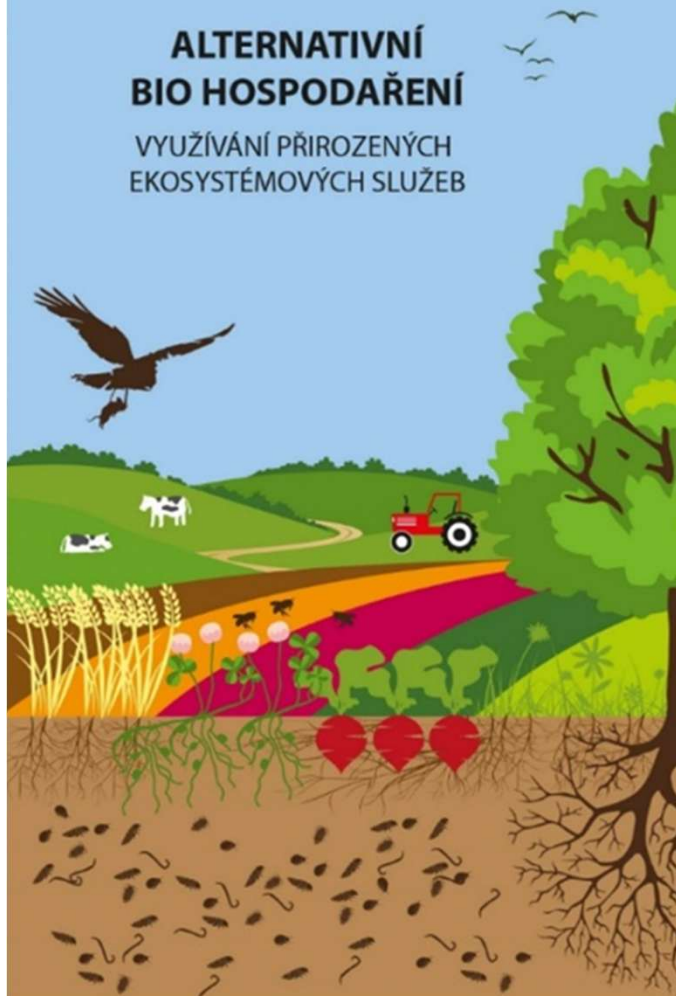
KONTROLOVANÁ CHEMICKÁ OCHRANA PLODIN
(HERBICIDY, INSEKTICIDY, RODENTICIDY,
FUNGICIDY, ANTIBIOTIKA) + MINERÁLNÍ VÝŽIVA



Půdní mikrobiom je vystaven mnoha chemickým stresům a nedostatku „potravy“ (odumřelé organické hmoty a kořenových deponií)

ALTERNATIVNÍ BIO HOSPODAŘENÍ

VYUŽÍVÁNÍ PŘIROZENÝCH
EKOSYSTÉMOVÝCH SLUŽEB



STRATEGIE AV21
Špičkový výzkum ve veřejném zájmu

Akademie věd
České republiky



Elhottová, D. 2023. Vliv syntetických chemikálií s antimikrobiálním účinkem na mikrobiom prostředí. In: Jílková a kol (eds) Půdní živote, nedej se! Edice Strategie AV21. Potraviny pro budoucnost, Vydalo SSČ AVČR v.v.i., Praha. E.č.13018.

Elhottová, D. 2021. Organické hnojení a zdraví zemědělských půd - pohled půdního mikrobiologa. In: Jílková a kol (eds) Organická hmota nad zlato. Edice Strategie AV21. Potraviny pro budoucnost, Vydalo SSČ AVČR v.v.i., Praha. E.č.12850

Poděkování



Akademie věd
České republiky

STRATEGIE **AV21**

Špičkový výzkum ve veřejném zájmu

UDRŽITELNÁ PRODUKCE A
SPOTŘEBA POTRAVIN

