

Promotoren

Prof. dr. S. De Vliegheer
Faculteit Diergeneeskunde, Ugent

Dr. ir. E. Van Coillie
Instituut voor Landbouw en Visserij onderzoek (ILVO)

Leden van de examencommissie

Prof. dr. Dr. h. c. A. de Kruijff
Voorzitter van de examencommissie

Prof. dr. Y.H. Schukken
Cornell University, Ithaca, USA

Dr. S. Taponen
University of Helsinki, Finland

Prof. dr. R. Zadoks
University of Edinburgh, UK

Prof. dr. P. Butaye
CODA, Ukkel

Prof. dr. ir. L. De Vuyst
Vrije Universiteit Brussel

Prof. dr. M. Heyndrickx
Instituut voor Landbouw en Visserij onderzoek (ILVO)

Prof. dr. K. Hermans
Faculteit Diergeneeskunde, Ugent

Veerle Piessens werd geboren op 23 mei 1984 te Kortrijk. In 2002 beëindigde ze haar secundaire opleiding Latijn-Wiskunde aan het Onze-Lieve-Vrouw van Vlaanderen Instituut te Kortrijk, waarna ze aan haar Bachelor studies Biologie begon aan de Universiteit Gent. In 2006 behaalde zij het diploma van Master in de Biotechnologie met grote onderscheiding.

Na haar studies trad Veerle in dienst bij het Instituut voor Landbouw en Visserij onderzoek (ILVO) in Melle, waar zij in 2007 een doctoraatsstudie begon in samenwerking met de vakgroep Voorplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde van de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent. Deze studie werd gefinancierd door het agentschap voor innovatie door Wetenschap en Technologie (IWT) en kaderde in het Landbouwproject "Verbetering van de uiergezondheid en melkwaliteit in Vlaanderen: Onderzoek naar relevante microbiota en geassocieerde factoren". Haar onderzoek spitste zich toe op de soortdiversiteit, verspreiding en karakterisatie van coagulase-negatieve stafylokokken op melkveebedrijven. Het onderzoek werd uitgevoerd onder leiding van Prof. dr. Sarne De Vliegheer en Dr. ir. Els Van Coillie.

Veerle Piessens is auteur en co-auteur van meerdere wetenschappelijke publicaties in internationale tijdschriften. Zij was spreker op verschillende symposia en nam actief deel aan meerdere nationale en internationale congressen omtrent uiergezondheid.



UITNODIGING

Openbare verdediging van het doctoraal
proefschrift

Veerle Piessens

28 okt 2011

**Vakgroep Voortplanting, Verloskunde
en Bedrijfsdiergeneeskunde**



Samenvatting van het proefschrift

U wordt vriendelijk uitgenodigd voor de openbare verdediging van het doctoraal proefschrift van

Veerle PIESENS

Titel van het proefschrift:

Epidemiologie en karakterisatie van coagulase-negatieve *Staphylococcus* (CNS) species van melkveebedrijven

vrijdag 28 oktober 2011 om 14h00
Kliniek auditorium B
Faculteit Diergeneeskunde
Universiteit Gent
Salisburylaan 133
Merelbeke

Om 16h30 vindt ook de verdediging plaats van het proefschrift "*Intramammary infections with coagulase-negative Staphylococcus species in bovines: molecular diagnostics and epidemiology*" door Karlien Supré. Daarna volgt om 18h30 een gezamenlijke receptie waarop u vriendelijk wordt uitgenodigd.

Indien u de receptie graag bijwoont, gelieve dit telefonisch (0473 555487) of per mail (Veerle.Piessens@ilvo.vlaanderen.be) te bevestigen vóór 21 oktober 2011

Mastitis of uierontsteking is de meest voorkomende ziekte in de melkveehouderij en gaat gepaard met grote economische verliezen. Zowel klinische als subklinische mastitis verhogen het celgetal in de melk en hebben een belangrijke impact op de productiviteit en melkkwaliteit. Wereldwijd zijn de coagulase-negatieve stafylokokken (CNS) de meest voorkomende oorzaak van intramammaire infecties (IMI) bij melkvee. Hoewel de symptomen van CNS mastitis meestal subklinisch zijn, worden ze beschouwd als opkomende mastitispathogenen, waaraan aandacht moet worden besteed op bedrijven die een laag celgetal beogen.

Algemeen worden CNS gezien als opportunisten afkomstig van de bovine huid, waar ze deel uitmaken van de natuurlijke flora, maar er zijn ook indicaties dat CNS infecties zouden ontstaan vanuit de omgeving van de koeien. De CNS groep bestaat uit een groot aantal verschillende soorten die in routine mastitis diagnostiek zelden worden geïdentificeerd. Door dit gebrek aan soort-specifieke informatie is het onmogelijk om de impact van de afzonderlijke soorten op de uiergezondheid in te schatten en hun exacte infectiebronnen en transmissieroutes te bepalen. Conventionele biochemische methoden zijn tijdrovend en ontoereikend om de talrijke *Staphylococcus* species correct te onderscheiden. De huidige beschikbaarheid van DNA-gebaseerde (genotypische) methoden biedt mogelijkheden voor een meer accurate identificatie van CNS en laat toe om hun epidemiologisch gedrag te bestuderen.

Mastitis is de voornaamste reden voor het gebruik van antibiotica en biociden op melkveebedrijven. Hoewel CNS milde pathogenen zijn, blijken ze vaak resistent voor verschillende antimicrobiële middelen doordat ze (mobiele) resistentiegenen dragen. Deze eigenschap bevordert de verspreiding van pathogenen en zou de gestegen prevalentie van CNS IMI kunnen verklaren. Daarnaast is ook aangetoond dat een aantal CNS species beschikken over virulentiefactoren zoals biofilmvorming, wat het koloniseren van en persistieren in de uier zou bevorderen.

De voornaamste doelstellingen van dit onderzoek waren (1) de ontwikkeling en validatie van een genotypische identificatiemethode voor CNS soorten, (2) het bepalen van de soortendiversiteit in IMI en in reservoirs in de stalomgeving, (3) studie van de verspreiding van IMI-veroorzakende soorten binnen bedrijven en (4) het evalueren van de rol van antimicrobiële resistentie en biofilmvormende eigenschappen in de pathogeniciteit van CNS.

In het **eerste deel** werd "amplified fragment length polymorphism" (AFLP) genotypering gevalideerd als identificatiemethode voor bovine-geassocieerde CNS soorten. Na validatie bleek AFLP een zeer herhaalbare methode met een typeerbaarheid van 98,4% en een accuraatheid van 99,2%.

In het **tweede deel** werd de AFLP methode toegepast in een longitudinale studie op zes Vlaamse melkveebedrijven, waar maandelijks zowel melk- als omgevingsstalen werden genomen voor de isolatie van CNS. Slechts vier CNS soorten bleken (persisterende) IMI te veroorzaken bij de herhaaldelijk bemonsterde koeien: *S. chromogenes*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* en *S. simulans*. Andere soorten werden sporadisch gevonden in de melk, maar deze verdwenen meestal binnen de maand. Primaire reservoirs verschilden duidelijk van soort tot soort: sommige soorten leken zich vooral te beperken tot de uier (*S. chromogenes* en *S. epidermidis*) of de omgeving (*S. equorum* en *S. sciuri*), terwijl andere soorten zowel in IMI als in de omgeving frequent werden gevonden (*S. haemolyticus* en *S. simulans*).

In het **derde deel** werd de verspreiding van de vier IMI veroorzakende soorten bestudeerd d.m.v. genotypering en werd de stalomgeving geëvalueerd als mogelijke bron van infectie. De resultaten van deze studie duiden erop dat zowel omgevingsbronnen als besmettelijke transmissie een rol kunnen spelen in de epidemiologie van CNS, maar dat hun relatief belang sterk kan verschillen naargelang de soort. *Staphylococcus haemolyticus* gedroeg zich bijvoorbeeld meer als een omgevingspathogeen, terwijl bepaalde *S. epidermidis* en *S. chromogenes* stammen zich verspreidden van koe tot koe.

De resultaten van het **vierde deel** toonden aan dat biofilmgeassocieerde genen en antimicrobiële resistentie, inclusief het bezit van het multi-resistentiegen *mecA*, meer voorkwamen bij omgevings- dan bij IMI-gerelateerde CNS soorten. Een link met pathogeniciteit werd niet aangetoond, enkel voor *S. epidermidis* leek de aanwezigheid van het *mecA* gen een rol te spelen in de verspreiding van infecties. Verder werd een lagere gevoeligheid geobserveerd voor speendipmiddelen bij bepaalde *S. chromogenes* en *S. simulans* stammen wat kan wijzen op een rol in de verspreiding en pathogeniciteit van deze IMI-veroorzakende soorten.