

TDK DOLGOZAT

Szabó Zsolt

2020

Állatorvostudományi Egyetem
Patológiai Tanszék
Haszonállat-diagnosztikai Központ

**Az állati eredetű meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* előfordulása
hazai lógyógyász állatorvosokban**

Szabó Zsolt

Témavezető:
dr. Albert Ervin
egyetemi tanársegéd
Patológiai Tanszék
Haszonállat-diagnosztikai Központ

Tartalomjegyzék

| | |
|---|----|
| ÁBRAJEGYZÉK..... | 2 |
| TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE | 2 |
| RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE..... | 3 |
| 1. Bevezetés | 5 |
| 2. Irodalmi áttekintés..... | 6 |
| 2.1. A <i>Staphylococcus aureus</i> általános jellemzése | 6 |
| 2.2. A <i>Staphylococcus aureus</i> virulenciáját meghatározó tényezők | 7 |
| 2.3. Meticillin rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) | 9 |
| 2.4. LA-MRSA és a CC398 LA-MRSA | 12 |
| 2.5. LA-MRSA törzsek lógyógyászati előfordulása, jelentősége és genetikai vonalak | 13 |
| 2.6. A lovakban előforduló CC398 és egyéb LA-MRSA genetikai vonalak emberekben | 14 |
| 3. Célkitűzések..... | 16 |
| 4. Anyag-és módszer | 17 |
| 4.1. A beérkezett minták mikrobiológiai vizsgálata | 17 |
| 4.2. Molekuláris biológiai vizsgálatok..... | 17 |
| 4.2.1. A baktérium DNS izolálása..... | 17 |
| 4.2.2. Az MRSA azonosítására és egyes virulenciagének kimutatására használt PCR rendszer | 18 |
| 4.2.3. A baktériumtörzsek genotípusának meghatározása..... | 19 |
| 4.2.4. A baktériumtörzsek rezisztenciavizsgálata | 20 |
| 5. Eredmények | 21 |
| 5.1. A törzsek genetikai jellemzése | 21 |
| 5.2. Az izolátumok rezisztenciája..... | 22 |
| 6. Megbeszélés..... | 26 |
| ÖSSZEFOGLALÓ..... | 35 |
| SUMMARY | 36 |
| IRODALOMJEGYZÉK..... | 38 |
| KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS | 44 |
| HuVetA nyilatkozat | 45 |

ÁBRAJEGYZÉK

| | |
|--|-----------|
| 1. ábra: Lógyógyász szakemberekből izolált MSSA törzsek összesített rezisztenciaprofilja..... | 22 |
| 2. ábra: Lógyógyász szakemberekből izolált MRSA törzsek összesített rezisztenciaprofilja..... | 23 |

TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

| | |
|---|-----------|
| 1. táblázat: Az állatfajokban gyakoribb <i>S. aureus</i> genetikai vonalak..... | 12 |
| 2. táblázat: A <i>S. aureus</i> törzseknél használt PCR rendszerek primerei..... | 19 |
| 3. táblázat: A lógyógyászati konferencián vett humán-orrtampon mintákból kitenyésztett <i>Staphylococcus aureus</i> minták összefoglaló táblázata..... | 25 |

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

- Bap – Biofilm associated protein
- BORSA – borderline-oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*, mérsékelten meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*
- BURP – Based Upon Repeat Pattern
- C – klóramfenikol
- CA-MRSA – Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, közösségben szerzett meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*
- CC – Clonal Complex
- *ccr* – staphylococcus kromoszóma kazettán megtalálható egyik gén, a kazetta mobilizását szabályozza
- *cfr* – széleskörű antibiotikum rezisztenciáért felelős gén
- *chp* – chemotaxis inhibitory protein, kemotaxist gátló fehérje génje
- CIP – ciprofloxacín
- CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute
- CN – gentamicin
- DA – klindamicin
- DNS – deoxiribonukleinsav
- E – eritromicin
- EAA – The European Economic Area, Európai Környezetvédelmi Ügynökség
- EARS-Net – European Antimicrobial Resistance Surveillance Network, Európai Antimikrobiális Rezisztencia Felügyeleti Hálózat
- EU – European Union, Európai Unió
- EUCAST – The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Antimikrobiális Érzékenységi Vizsgálatok Európai Bizottsága
- FA – fuzidinsav
- HA-MRSA – Hospital-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, kórházi eredetű meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*
- IEC – immune evasion cluster, immunrendszert elkerülő rendszer
- IgG Fc – G osztályú immunglobulin konstans szekvenciákat tartalmazó terminális része
- IgM Fc – M osztályú immunglobulin konstans szekvenciákat tartalmazó terminális része
- K – kanamycin
- LA-MRSA – Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, állati eredetű meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*
- LNZ – linezolid
- *lukPQ* – specifikus leukocidint kódoló génszakasz
- MGE – Mobile Genetic Elements, mobilis genetikai szakaszok
- MLST – Multilocus Sequence Typing

- MLVA – Multilocus variable number of tandem repeats analysis
- MRSA – meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*
- MSSA – meticillin érzékeny *Staphylococcus aureus*
- P – penicillin
- PBP – Penicillin binding protein, penicillinkötő fehérje
- PCR – Polymerase Chain Reaction, polimeráz láncreakció
- PFGE – Pulsed-field Gel Electrophoresis, pulzáttatott mezejű gélelektroforézis
- PHLOPSA – phenicols, lincosamides, oxazolidines, pleuromutilins, streptogramins, fenikolok, linkóزامidok, oxazolidin, pleuromutilinek, streptogramin
- PIA – Polysaccharide Intercellular Adhesin, intercelluláris poliszacharid adhezín
- PVL – Pantón-Valentine Leukocidin
- SYN – quinupristin-dalfopristin
- RA – rifampicin/rifampin
- REF – Clinical and Laboratory Standards Institute referenciaértéke
- S – streptomycin
- *sak* – staphylokináz termelésért felelős génszakasz
- SCCmec – Staphylococcal Cassette Chromosome mec
- SCIN – staphylococcus komplement inhibitor
- *scn* – staphylococcus komplement inhibitor-t kódoló génszakasz
- *sea* – enterotoxin A-t kódoló génszakasz
- *spa* – *Staphylococcus* protein A-t kódoló génszakasz
- ST – Sequence Type, szekvenciatípus
- SXT – szulfamethoxazol-trimethoprim
- SYN – quinupristin-dalfopristin
- TE – tetraciklin
- TGC – tigeciklin
- TIAMU – tiamulin
- TOB – tobramicin
- TUL – tulathromycin
- TYL – tilozin
- WHO – World Health Organization, Egészségügyi Világszervezet

1. Bevezetés

A *Staphylococcus aureus* egy széles körben elterjedt, fakultatív patogén baktérium, az emberek körülbelül negyede hordozza az ornyálkahártyáján ezt a baktériumot. Törzsek az enyhébb, bőrfelületi és légyszervi elváltozások mellett, nehezen gyógyuló, és/ vagy súlyos invazív fertőzéseket, szepsziseket, halált is okozhatnak. Az elmúlt három évtizedben a meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) okozta megbetegedések és a humán populációra való veszélye miatt egyre nagyobb figyelmet kap. 2017-ben 120.000 *S. aureus* vérfertőzésből közel 20.000 eset halállal végződött (Kourtis és mtsai, 2019; Choi és mtsai, 2006).

A humán populáció között cirkuláló *S. aureus* törzsek mellett kiemelt fontosságú a haszon-, illetve kedvtelésből tartott állataink szerepe is. Több kutatás is alátámasztotta, hogy emberről állatra és az állatról emberre is képes terjedni ez a baktérium. A fő problémát ezzel kapcsolatosan az állatainkban túlzottan használt antimikrobiális szerekkel szemben kialakuló bakteriális rezisztencia okozza, mivel a staphylococcus törzsek rendkívül gyorsan képesek védekező mechanizmusokat, rezisztenciát kialakítani az ellenük használt kemoterapeutikumok ellen. Az állatokban található törzsek ezt átadni képesek az emberben megbetegedéseket okozó törzseknek, illetve az állatokban megbetegedést okozó törzsek képesek kolonizálni az emberek nyálkahártyáját (Lakhundi és Zhang, 2018). Az anthroponózis is kiemelt jelentőséggel bír a *Staphylococcus* fajok esetében, ugyanis kutatások bizonyítják, hogy néhány állatokból kimutatható, megbetegedést is okozó törzs a genomszekvenálások alapján humán vonalakra vezethető vissza. A vizsgálatban négy kontinensről, a CC398-as klonális komplexbe tartozó állati és emberi meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* törzseket vizsgáltak. A filogenetikai elemzés során kiderült, hogy az állati vonalakat humán MSSA (meticillin érzékeny *Staphylococcus aureus*) törzsekre lehet visszavezetni. A gazdafajváltás emberre specifikus virulenciagének elvesztésével járt, ami valószínűleg gyengítette a CC398-as komplex zoonótikus potenciálját, de a tetraciklin és meticillin rezisztencia megszerzésével is együtt járt. Eredményeik a zoonózis-anthroponózis jelenlétét szemléltetik, és hangsúlyozzák az állattenyésztésben elterjedt túlzott antibiotikum használat esetleges közegészségügyi kockázatait (Price és mtsai, 2012). A további kutatások célja felderíteni az új, virulens és zoonótikus potenciállal rendelkező törzseket, felmérni az eddigi vonalak elterjedtségét, és esetleg eradikációs megoldást találni a staphylococcusok vonalainak felszámolására.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A *Staphylococcus aureus* általános jellemzése

A *Staphylococcus aureus* egy világszerte előforduló fakultatív patogén baktérium. Gyakran megtalálható az élőlények bőrén, nyálkahártyáin, ahol általában megbetegedést sem okoz: az egészséges populáció körülbelül egyharmadának felső légútjaiból kimutathatóak a staphylococcusok. Hajlamosító tényezők hatására azonban betegségeket okozhatnak, amik súlyossága változó: a jóindulatú folliculitistól az osteomyelitisen át az életet veszélyeztető szepszisig változhat a kórlefolyás (Gordon és Lowy, 2008). Sikeréhez hozzájárulnak felületi adhezinjei, toxinjai és enzimejei, melyek a gazdaszervezet kolonizációjában töltenek be fontos szerepet, emellett az *S. aureus* baktériumok olyan mobilis genetikai elemeket (MGE) tartalmaznak, amiket a külső környezetből képesek felvenni (például: transzpozonok, bakteriofágok, inzerciók szekvenciák), és amikkel növelik virulenciájukat, ellenállóképességüket, rezisztenciájukat (Novick, 2003).

A körülbelül egy mikrométer átmérőjű, gömb alakú baktériumok legtöbbször szőlőfürtökhöz „staphyli” hasonlító halmazokba rendeződnek a kenetekben: a „staphylo” ógörögül szőlőfürtöt, míg a „coccus” bogyót jelent. Burok és csilló nem figyelhető meg a baktériumokon, spórát sem képeznek. Gram szerinti festésük pozitív, a staphylococcusok kéken tűnnek fel a mikroszkóp látóterében. Tenyésztése egyszerű, közönséges agaron 1-3 milliméteres telepei a legtöbb törzs esetében sárga/ arany színű karotinoid pigmentet termelnek, mely a táptalajba nem diffundál. Nevét (aureus) is innen kapta. Véres agaron kettős hemolítikus zóna figyelhető meg a telepek körül, amely a faj által termelt hemolizineknek köszönhető. Különböző szelektív tenyésztési módszerek is rendelkezésre állnak a más baktériumfajoktól való megkülönböztetés érdekében, melyek közül kiemelhető a nátrium-telluritos dúsítás, 10%-os nátrium-kloridos tenyésztés, illetve a nalidixsavas-kolisztines táptalaj. Biokémiai teszteken vizsgálva a *Staphylococcus* fajok kataláz pozitívak (a *Staphylococcus aureus subsp. anaerobius* kivételével), hidrogén-peroxidot gázképződés közben bontják. Citokróm-oxidázok hiányában az oxidáz teszt negatív, míg a glükózt fermentatív úton képesek lebontani savtermelés közben (Rusvai és mtsai., 1999).

A *Staphylococcus* nemzetségen belül körülbelül 40-45 fajt különböztetünk meg, ezek közül 16 faj általános az emberekből kitenyésztett mintákban és körülbelül 10 faj bír állatorvosi jelentőséggel (Götz és Bannerman, 2006; Rusvai és mtsai., 1999).

2.2. A *Staphylococcus aureus* virulenciáját meghatározó tényezők

A *S. aureus* a gazdaszervezetben való elszaporodását és megbetegítő képességét felépítésének, extracelluláris enzimjeinek, emellett felületi fehérjéinek és toxinjainak köszönheti. Extracelluláris enzimjei közé tartozik a koaguláz, a fibrinolizin és a hialuronidáz. Előbbiek a fibrinogén-fibrin átalakulást (például: clumping faktor), majd a fibrinolízist segítik elő, utóbbi pedig a szövetek közötti terjedést könnyíti meg.

A *S. aureus* törzseinek többsége tokkal rendelkezik, ami a phagocytózist gátolja, viszont fontos antigén is, az ellenük termelt ellenanyag állatmodellben hatékony volt a szepszis kialakulásával szemben. 11 típusuk közül az 5-ös és a 8-as tok mutatható ki a fertőző törzsek többségéből. Egyéb felületi molekulák, mint például a Bap (biofilm associated protein), vagy a PIA (Polysaccharide Intercellular Adhesin) biofilm képzésében vesznek részt, így a baktérium túlélésében, kolonizációjában játszhatnak szerepet, viszont virulenciafaktor szerepük máig sem tisztázott (Bennett és mtsai, 2015; Cucarella és mtsai, 2001; Pál, 2013).

A bakteriális felületi adhezinek a mátrixfehérjékhez való kötődést segítik. Affinitásuk a különböző testi sejtekhez különböző: a clumping faktor B-nek az orr epitheliumának kolonizációjakor, a clumping faktor A-nak endocarditis, a kollagén-kötő fehérjének pedig osteoarthritis előidézésekor van domináns szerepe. A *spa* gén által kódolt Protein-A, amely az IgG, IgM Fc régiójához (emellett még a von Willebrand faktorhoz és a vérlemezkékhez) képes kötődni, gátolja a phagocytózist. A *spa* gén a törzsek genotipizálásában, és elkülönítésében bír fontos szereppel (Bennett és mtsai, 2015).

A baktériumok patogenitását nagyban befolyásolja a törzsek toxinkészlete. A *Staphylococcus* fajok többek közt élelmiszer-higiéniai szempontból fontos enterotoxinokat, immunsejtkárosító leukocidineket, exotoxinokat, hemolizineket termelhetnek. Az exotoxinok a gazdasejt tönkretételében játszanak szerepet, ezáltal könnyíthetik meg a felszabaduló tápanyagok segítségével a baktériumok túlélését. A *Staphylococcus* hemolizinek négy típusba (α , β , γ , δ) sorolhatóak be. Az α - és a δ -hemolizinek a gazdasejt membránján alakítanak ki a lipidmembránon áthatoló pórusokat. Az így létrejött képletek átlukasztva a membránt,

felborítják a sejtek homeosztázisát, elpusztítva azokat. A β -hemolizinek szfingomielinázok, amelyek a sejtmembránok lipidkomponenseit enzimatikusan bontják. A γ -hemolizinek kétkomponensű, egyes fehérvérsejtekre és ritkán más sejt típusokra is toxikus fehérjék. A két komponens szintén egy membránt átfúró komplex létrehozásában játszik szerepet: az S-alegység (*lukS* által kódolt) a receptoriális kötődésben, az F-alegység pedig a pórus létrehozásában játszik szerepet. Az eddig felfedezett hat leukocidin közül az elsőként leírt a Pantan-Valentine leukocidin (PVL), amely a fagocitózist végző sejteket károsítja. Ezen leukocidint kódoló gén (*pvl*) két részből áll (*lukS*, *lukF*), amely egy, a géneket hordozó mobilis profággal (ϕ SLT) is kicserélődhet a baktériumok közt. A toxint a *S. aureus* törzsek kis hányada termeli, főleg a közösséghez köthető meticillin rezisztens *S. aureus* (CA-MRSA, lásd később) vonalaknál találhatunk ilyen PVL leukocidint termelő törzseket. Hatására a tünetek nekrotizáló jellegűek, főleg fiataloknál a bőrön és a tüdőben alakulnak ki a jellemző gennyel-elhalásos elváltozások. Lovakból izolált *S. aureus*-okban hasonló szereppel bír a LukPQ. A PVL-hez hasonlóan ennek génjét is profág hordozhatja, így ki is cserélődhet a lovakat megbetegítő baktériumtörzsek között. Fontos megjegyezni, hogy az eddig felfedezett leukocidinek általában fajspecifikusak. A LukPQ egy Φ Saeq1 elnevezésű profágon kódolódik, és a lovak neutrofil granulocytáin megtalálható CXCR1 és CXCR2 receptorokra specifikus (Dinges és mtsai, 2000; Koop és mtsai, 2017; Bennett és mtsai, 2015).

Ezekon felül a legtöbb, emberekből izolált *S. aureus* törzs rendelkezik egy, az immunrendszert kijátszó/elkerülő rendszerrel (immune evasion cluster, IEC). Ennek részei a staphylokinázok, a humán plazminogén aktivátorai és az anti-staphylococcus fehérjék inaktivátorai, amelyek a *sak* géneken kódolódnak. Ide tartozik még a staphylococcus komplement inhibitor fehérje (SCIN, génje: *scn*) és a kemotaxis gátló protein (génje: *chp*), valamint esetenként az egyik legpotensebb staphylococcus enterotoxin, a *staphylococcus enterotoxin A* (génje: *sea*). Az IEC markergénje a staphylococcus komplement inhibitor fehérjét kódoló *scn*, aminek jelenléte alapján kimondható, hogy az adott *S. aureus* törzs hordozza az IEC-t alkotó gének legalább egy részét. A humánról állatra átkerült *S. aureus* vonalak a β -hemolizinek képzését zavaró ϕ Sa3 nevű profágot, így az IEC-t alkotó gének többségét is elvesztették a gazdaváltás következtében, viszont az SCC*mec* kazettakromoszómát ezzel szemben megszerezték. Ez a mechanizmus játszódt le több, emberi *S. aureus* vonal állatokra való átkerülésekor: például a CC398 és a CC8 klonális komplexeknél, és az ST5 vonalnál.

Vizsgálataink szempontjából kiemelkedő fontosságú a *spa* (*Staphylococcus* protein A) gén, mivel a vonalak genotipizálásánál a *spa* gén polimorfizmusai alapján is elkülöníthetők a vonalak. Az általa kódolt fehérje a fehérvérsejtek fagocitózisát akadályozza meg, azáltal, hogy az IgG osztályú ellenanyagok Fc részéhez kapcsolódik.

A PCR alapú *spa* tipizálás az ismétlődő polimorfizmusokat vizsgálja a *spa* (*S. aureus* Protein A) gén X régióján, amik 24 nukleotid hosszúságú ismétlődő szakaszokból (repeat sequences) állnak, így a régió hossza a repeatek megkettőződése vagy deléciója miatt igen változatos lehet. Ezen tipizálás eredményeit aztán BURP algoritmus segítségével sorolják típusokba, és a típusok „t” jeleket kapnak a különböző csoportszámok elé, szemben a multilókusz szekvencia tipizálással (MLST), ahol „ST” előtagot kapnak a számok. Az MLST módszerrel hét alapvető génlókuszt (*arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi*, és *yqiL*) keresnek meg, és a nukleotidjaik sorrendjének segítségével „ST” csoportba sorolják őket. Ha öt génlókusz allélvariánsai megegyeznek, akkor egyazon klonális komplexbe (CC) sorolhatjuk őket. Mivel az alapvető lókuszok függetlenek az MGE-k cserélődéseitől, főleg filogenetikai vizsgálatokra használják ezt a módszert. A harmadik, PFGE módszer (pulzáttatott mezejű gélelektroforézis) az *SmaI* restrikciós enzim segítségével szakítja nagyobb darabokra a kromoszómát, amit aztán ezzel a módszerrel futtatnak, és azonosítanak. A módszer a törzsek származásáról nem sok információt ad, a főbb komplexekbe való besorolást, illetve a gyors azonosítást segíti elő (Cuny és mtsai, 2010; Bennett és mtsai, 2015).

2.3. **Meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

A bakteriális szerzett rezisztencia az első antibiotikum, a penicillin felfedezése és nagy arányú használata óta folyamatosan nő. A rezisztencia többféleképpen valósulhat meg: a baktérium megváltoztathatja a sejtfalának permeabilitását/ pumpamechanizmusait, a sejtalkotóin található kötőhelyeket is változtathatja, találhat alternatív utakat is létfontosságú anyagainak előállításához, vagy a gyógyszerek molekuláit inaktíválhatja enzimek segítségével. Az utóbbi módszer a gyakori *Staphylococcus* törzseknél, melyeknél a β -laktamáz, másnéven penicillináz enzimük felelős a kialakult rezisztenciáért. Körülbelül 400 különböző enzimet különböztetnek meg manapság, közös jellemzőjük, hogy a baktericid hatásért felelős β -laktám gyűrűt hasítják el az első generációs cefalosporinok, és a szűk spektrumú penicillinek esetében. A szűk spektrumú penicillinek közé tartozó szerek tökéletesen ellátják feladatukat más egyéb

Gram pozitív baktériumokkal szemben (*Bacillus spp.*, *Erysipelothrix spp.*), de *Staphylococcus spp.* ellen manapság a penicillinek csoportjából a félszintetikus származékok használhatóak, melyeket penicillináz-stabil penicillineknek vagy izoxazolil-penicillineknek is nevezünk. Ebbe a csoportba tartozik az oxacillin, cloxacillin és a meticillin is. A csoport tagjai, mint például a meticillin ellenáll a penicillináz hatásának, de az 1959-es bevezetése után nem sokkal már tenyésztettek ki meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* törzseket. A béta-laktám antibiotikumok a Penicillin Binding Protein-hez (PBP) kötődnek, melyekből több altípus létezik, ezeket számokkal (PBP1, PBP2, stb.) különböztették meg. A különböző béta-laktám hatóanyagoknak más-más altípusú PBP-hez van affinitásuk, de összességében elmondható, hogy a bakteriális sejtfalszintézist gátolják az ehhez szükséges enzimek (PBP-ek) gátlásával. A meticillin a PBP2-es enzimfehérjére hat normális esetben, viszont, ha a fehérjét a baktérium a kötőhely megváltoztatásával expresszálja (PBP2a, PBP2'), a szer hatása elmarad, mivel a PBP2a fehérjéhez már nem akkora az affinitása (Gálfi és mtsai, 2015).

A meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*-ban ezt az alternatív PBP2a-t kódoló gént, a *mecA*-t egy exogén DNS részlet hordozza, amit staphylococcus kromoszóma kazetta *mec*-nek (*SCCmec*) hívnak. A kazetta fő elemei az előbb említett *mec* gén és a *ccr* gének, utóbbiak a kazetta mobilizását képesek szabályozni. A főleg LA-MRSA mintákban megtalálható *mecC* gén (*SCCmecXI*, régebben: *mecA_{LGA251}*) a meticillin rezisztenciát kódoló *mecA* génszakasz variánsa. Ezek a *mecC* génszakasszal rendelkező baktériumok oxacillinre (amely szerrel a meticillin rezisztenciát vizsgálják) részben érzékenyek, ezért korábban gyakran meticillin érzékenyként azonosították a *mecC*-t tartalmazó törzseket (Paterson és mtsai, 2013; García-Álvarez és mtsai, 2011). A *mec*-génvariánsokat hordozó kazetta egy mobilis génszakasz, könnyen kicserélődhet baktériumok között, újabb rezisztens vonalakat hozva létre, és eddig összesen 13 típusát azonosították (Bennett és mtsai, 2015; Schwarz és mtsai, 2018). Az *SCCmec* kazetta I, II, III típusai nagyobbak (35-60 kb), emiatt nehezebben képes őket mobilizálni a baktériumok többsége, viszont nagyobb számú rezisztenciagént tartalmazhatnak, a kórházi HA-MRSA vonalakban ilyen kazettakromoszómát találni. A közösségben szerzett CA-MRSA vonalak ezzel szemben IV, ritkán V és VI típusokat tartalmaznak, amik mobilisabbak, viszont kevesebb rezisztenciagénnel rendelkeznek, de többször PVL termelésért felelős géneket is tartalmazhatnak. A kazettakromoszóma típusának azonosítása az MRSA törzsek tipizálásának egyik fontos elemévé vált (Bennett és mtsai, 2015).

A DNS alapú molekuláris tipizálások (pl.: PCR-tipizálás) alkalmazásakor kiderült, hogy a különböző emlősfajokból származó *S. aureus* vonalak változatos genetikája is nagy szerepet játszik a gazdafajokon belüli megbetegedésekben. Bizonyos klonális vonalakat még csak humán megbetegedéseknél találtak (pl.: ST15, ST25, ST45), továbbá néhány törzs általában csak állatokat kolonizál, emberek mintáiban ritkán találhatóak meg, például az ST130, ST151, ST771, ST837 vonalak (Sung és mtsai, 2008). Más típusok viszont egynél több fajt képesek kolonizálni/ megbetegíteni, például az ST1 és ST254 vonalakat, amelyek humán eredetűek, de például lovakból is tenyésztették ki vonalaikat (Cuny és mtsai, 2010). A talált klonális komplexeket három nagy kategóriára osztották szét: a közösségben szerzett (community-associated, CA-MRSA), a kórházi eredetű (healthcare-associated, HA-MRSA), és a háziállat eredetű (livestock-associated, LA-MRSA) meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* csoportokra.

Napjainkban a HA-MRSA törzsek okozzák a kórházi multirezisztens kórokozók által előidézett megbetegedések többségét (Stefani és mtsai, 2012). Kezelésük széleskörű rezisztenciájuk miatt nehezebb, a kórházi kezelések idejét és kiadásait többszörösére növelik, így nagyobb gazdasági és logisztikai problémát is okoznak az egészségügyben (Thampi és mtsai, 2015; Antonanzas és mtsai, 2015).

1961-ben jelent meg először a kórházakban a meticillin rezisztens *S. aureus*, akkoriban még csak kórházi fertőzéseket okozó patogén baktériumnak gondolták (Jevons, 1961). Ezek után egyes törzsek a kórházakkal kapcsolatba nem került személyekben, főként fiatal, egészséges emberekben bőr- és légyszöveti fertőzéseket, ritkábban súlyos elhalásos pneumóniát és fasciitist okoztak. Az első eseteket az Egyesült Államokban és Írországból írták le a '80-as években (Lakhundi és Zhang, 2018; David és mtsai, 2010). A CA-MRSA csoport egy új fehérjét, Pantón-Valentine leukocidint (PVL) termelt, mely a megbetegedések súlyosságát fokozza. A PVL, amit a *pvl* gén kódol, általában a CA-MRSA vonalakra jellemző, a gazdaszervezet neutrofil granulocytáival lép kapcsolatba: aktiválja és lizálja őket. A *pvl* gén mellett a csoportnál az SCC kazettakromoszómák három új változata jelent meg: az SCC*mecIV* és ritkábban V, VI. Ezzel szemben a HA-MRSA SCC*mecI*, II, III típusú kazettakromoszómákkal rendelkezik. Összefoglalva a HA-MRSA vonalak gyengébb virulenciájúak, de szélesebb rezisztenciával rendelkeznek, mint a CA-MRSA vonalak, amelyeket a béta-laktám antibiotikumokon kívül a legtöbb antibiotikum sikeresen kezelheti (Albert és Biksi, 2020).

2.4. LA-MRSA és a CC398 LA-MRSA

A harmadik epidemiológiai csoport a háziállat eredetű MRSA (LA-MRSA). Állatból először MRSA-t 1972-ben, Belgiumban mutattak ki, ahol tőgygyulladásos tehének mintáiból tenyésztették ki a meticillin rezisztens *S. aureus*-t (Devriese és mtsai, 1972). Azóta csirkékből, lovakból, kutyákból, macskákból és más állatfajokból (1. táblázat) is kimutatták az MRSA-t (Cuny és mtsai, 2010). Járványtani veszélyükre 2005-ben mutattak rá, mikor holland sertéstartók körében figyeltek meg MRSA kolonizációt és fertőzéseket (Voss és mtsai, 2005). A vonalak tipizálásakor kiderült, hogy egy, a sertésekben megtelepedő vonalról van szó, amit addig csak sertésekkel foglalkozó személyekben találtak, emiatt következtek a sertések és emberek közötti baktériumátadásra (Armand-Lefevre és mtsai, 2005). A humán mintákban főleg az ST398-as LA-MRSA vonalat lehet megtalálni. Napjaink túlzott antibiotikum használata a haszonállatokban a baktériumokra kifejtett szelekciós hatással olyan rezisztens vonalakat alakít ki, amik az emberre átkerülve antibiotikumra nem, vagy alig reagáló betegségeket okozhatnak majd (Aarestrup, 2005; Eveillard és mtsai, 2004). Az általuk okozott termelés-csökkenés pénzügyi vonzata sem elhanyagolható, a mastitis okozta tejminőségromlás mellett a baromfiágazatban bakteriális chondronecrosis és osteomyelitis okozta sántaság, és a nyulaknál okozott bőrtályogodás, pododermatitis és mastitis is *S. aureus* által előidézett betegségek, melyek nagy veszteségeket okoznak az állattartó telepeken (Lakhundi és Zhang, 2018).

| <i>Klonális komplex</i> | <i>spa</i> típusok | <i>SCCmec</i> | Állati gazdafajok |
|-------------------------|--|---------------|--|
| <i>CC1; ST1</i> | t128/t127/t125/t1178 | IV | Bo, Su, Eq, Gal |
| <i>CC5; ST5</i> | t002/t003/t311 | IV | Eq, Su, Gal, Mel |
| <i>CC9</i> | t100/t411/t899/t4358 | III/IV/V/NT | Su, Bo, Gal |
| <i>CC22</i> | t022/t032/t223 | IV | Eq, Bo, Ca, Fe |
| <i>CC97</i> | t1234 | V/IV | Bo, Su |
| <i>CC130</i> | t373 | XI | Bo, Ov, Eq, Ca, Fe |
| <i>CC398</i> | t571/t011/t034/t1197/t1250/t1451/t1456/t2510 | III/IV/V/VII | Su, Bo, Ov, Cap, Gal, Mel, Lep, Eq, Ca, Fe |

1. táblázat: Az állatfajokban gyakoribb *S. aureus* genetikai vonalak. Bo: szarvasmarha; Ca: kutya; Cap: kecske; Eq: ló; Fe: macska; Gal: tyúk; Lep: nyúl; Mel: pulyka; Ov: juh; Su: sertés (Albert és Biksi, 2020).

2.5. LA-MRSA törzsek lógyógyászati előfordulása, jelentősége és genetikai vonalak

Lóban az első MRSA fertőzést 1997-ben írták le az Egyesült Államokban és Japánban, 1999-ben már lókérdhási dolgozók orrnyálkahártyáját kolonizáló *S. aureus*-ról írtak tanulmányt, szintén az Egyesült Államokban (Hartmann és mtsai, 1997; Shimizu és mtsai, 1997, Seguin és mtsai, 1999). Lovakban MRSA fertőzéseket 2017-ig amerikai, európai, ausztrál és ázsiai lóklinikákon írtak le (Cuny és Witte, 2017).

Lókérdházakban *S. aureus* fertőzésekből eddig a CC1, CC5, CC8, CC22, CC59, CC88, CC398 komplexek tagjait sikerült azonosítani (van Duijkeren és mtsai, 2010; Cuny és mtsai, 2008).

Az LA-MRSA-k közé sorolt ST1, t127-es típust először osztrák lókérdházakban mutatták ki 2008-ban, majd egyéb európai országokban is megjelent ez a vonal. A CC22 komplexet Németország, a CC225 komplexet Ausztria lóklinikáin mutatták ki 2014-ben és 2016-ban (Cuny és mtsai, 2016; Loncaric és mtsai, 2014; Layer és mtsai, 2012; Grundmann és mtsai, 2014).

A CC8-as klonális komplexbe tartozó vonalak (ST8, ST254, ST259) a CC398 komplex előtt Európában széles körben elterjedtek voltak, Észak-Amerikában az ST8, t064, SCC*mecIV* vonal még mindig gyakori (Cuny és Witte, 2017). Az emberből kimutatott ST8 vonal a lovakhoz is adaptálódott, kolonizálja és megbetegítheti őket (Weese és mtsai, 2005). Ezt a vonalat leírták már Írországban és Németországban is (Moodley és mtsai, 2006; Walther és mtsai, 2009). Egy német kutatás szerint, melyben 17 lókérdházból és 39 lópraxisból vett minták alapján a német lovak MRSA mintáinak 16,5%-a tartozik ehhez a vonalhoz, a nagyobb hányad (82,7%) a CC398-as komplexhez tartozik (Cuny és mtsai, 2016). Az ST254 t009/t036 SCC*mecIV* a 2000-es évek elején jelent meg Közép-Európa lógyógyászati létesítményeiben, 2006-2007 között a bécsi lóklinikán is megtalálták (Cuny és mtsai, 2008). Ezen felül humán megbetegedésekről is vannak információk Németországból, Lengyelországból és az Egyesült Királyságból (Cuny és Witte, 2017). ST259-es vonalat lókérdházi megbetegedéseknél izoláltak Németországból, Ausztriából és az Egyesült Királyságból (Walther és mtsai, 2009; Cuny és mtsai, 2008; Moodley és mtsai 2006).

A CC398-as komplexnek létezik kifejezetten lóklinikákra jellemző vonala, viszont ez a vonal ritkán mutatható ki emberi fertőzésekből, mindazonáltal a dolgozók szervezetének, főleg orrnyálkahártyájuk és bőrük mikrobiomjának részét képezi. Az ST398 klonális vonalat az európai lóklinikák közül először Ausztriában mutatták ki. A CC8-as komplex helyét közel egész

Európában átvette a CC398-as klonális komplex (Cuny és mtsai, 2010). Ezek a kifejezetten lókorház-specifikus vonalak nagyon hasonló genomiális profillal, és csak rájuk jellemző pontmutációkkal rendelkeznek, emiatt következtetnek a közös eredetre. A sertés CC398-as komplextól különleges (de csak egyes klonális vonalak esetében) lóspecifikus leukocidinjük, a LukPQ, és egyedi staphylococcus komplement inhibitor fehérjékük, a SCIN különbözteti meg őket. Emellett az ST398-as lóklinika-specifikus vonalak túlnyomóan t011-es *spa* típusúak és SCC*mecIV* kazettakromoszómával rendelkeznek. A humán MRSA vonalakra jellemző IEC klaszter olykor megtalálható a lovak mintáiból kitenyésztett MRSA törzsekben (Cuny és Witte, 2017).

Magyarországon, az üllői lóklinikán folyt tanulmány szerint, amiben lovakból és a velük dolgozó emberekből vizsgáltak mintákat, szintén elterjedt a CC398 komplex. Ezen kutatás dokumentálta először az ST398-t011-SCC*mecIV* szekvencia típust hazánkban, a kutatásba bevont összes lóból, illetve a 10 pozitív humán minta többségéből is ezt a vonalat mutatták ki. A rezisztencia az ST398-t011 ló izolátumoknál általában béta-laktámokra, tetraciklinre, gentamicinre és trimetoprimre terjedt ki. Klóramfenikol és rifampicin rezisztenciáért felelős géneket is találtak, ami a magyar klinika vonatkozásában azért érdekes, mert ezt a két szert csak 2014 őszén vezették be a klinikai protokollba, de 2015 tavaszán már kimutatták a baktériumokban a *cat_{pC221}* gént, ami a klóramfenikol rezisztenciáért felelős (Albert és mtsai, 2019).

2.6. A lovakban előforduló CC398 és egyéb LA-MRSA genetikai vonalak emberekből

Vizsgálatok igazolták, hogy egyes MRSA genetikai vonalak, amiket lovakból, kutyákból és macskákból mutattak ki, humán vonalakhhoz köthetőek (CC1, CC8, CC22, CC45, CC398), más vonalak (CC97, CC9, CC151) pedig nem humán eredetűek, és inkább LA-MRSA törzsekhez sorolhatóak (Loncaric és mtsai, 2014).

Az állati vonalak annak ellenére, hogy több szempontból különböznek a humán vonalak génprofiljától, képesek megtelepedni az emberi szervezetben, így főleg a telepen, klinikán dolgozók a veszélyeztetettek. Egy svájci kutatásban több esetben az emberekből sikerült először kimutatni az MRSA vonalat, ami aztán megjelent a hospitalizált lovakban is. A berni klinikán kimutatott MRSA vonalakat (ST398-t011-IVa, ST8-t064-IVd) először a dolgozókból

azonosították, majd nemsokára lovakban is felfedezték ezeket a vonalakat. A lóklinikákra jellemző CC398-as vonalak (CC398-t011-SCC*mecIV*) is az egyik hordozó személytől származhattak, aki a berni klinika előtt egy olyan német lóklinikán dolgozott, ahol ez az MRSA típus jelen volt. A személyzet dekolonizációjával próbálkoztak 2010-ben, de a hat emberből kettőnél nem sikerült a mupirocin kúra, illetve fennállt a veszélye annak, hogy mupirocin rezisztens törzseket alakítanak így ki (Sieber és mtsai, 2011).

A lógyógyászati intézményekben vagy a lovakkal hivatásszerűen foglalkozó embereknél a hordozás 10-20%-os lehet, mindez viszont eltörpül a sertéságazatban vizsgáltaktól. Az ottani vizsgálatok szerint mindez a 60-80%-ot is elérheti, amely tartóssá válhat, annak ellenére is, hogy a személynek nincs kapcsolata a hellyel és/vagy az állatokkal (Köck és mtsai, 2012).

Összességében elmondható, hogy a ló-specifikus meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* vonalak, annak ellenére, hogy csak az emberi szervezet időszakos kolonizálói, a rezisztenciagének fenntartása/ terjesztése, széleskörű elterjedtsége és esetleges humán readaptációja miatt fontos szereppel bírhat a közeljövőben népegészségügyi szempontból. A humán dekolonizáció és a lovak MRSA mentesítése eddig nem teljesen megoldott, a mostani tapasztalatok alapján a humán esetek közel fele nem teljesen kezelhető (van Duijkeren és mtsai, 2010; Weese és Rousseau, 2010).

3. Célkitűzések

Az LA-MRSA vonalak európai térnyerése miatt, és a korábbi, magyar lópopulációt érintő területi felmérő vizsgálatok után a magyar lógyógyászati szakemberek terheltségét szerettem volna feltérképezni. A vizsgálatom során a személyek mintáiból kitenyésztett LA-MRSA törzsekkel foglalkoztam, de a vizsgált személyekből izolált MSSA törzsek rezisztenciaprofilját is tanulmányoztam. Munkám célja a magyar lógyógyász állatorvosok esetleges érintettségének kivizsgálása, illetve a további vizsgálatok céljára szükséges adatgyűjtés volt.

4. Anyag-és módszer

Mintáinkat a Magyar Lógyógyász Állatorvosok Egyesülete által 2019. november 22-23. között megrendezett XXVII. Lógyógyászati Kongresszuson gyűjtöttük. A mintavételhez a Lógyógyászati Tanszék és Klinika munkatársainak vizsgálatára használt eljárást alkalmaztuk (Albert és mtsai., 2019). Az orrtörletmintákat mindkét orrnyílásból, steril vattapálcát és transzportközeget tartalmazó készlettel vettük. A hazai állategészségügyben dolgozók MRSA terheltségével kapcsolatos vizsgálatainkat az Emberi Erőforrások Minisztériuma, Egészségügyi Tudományos Tanács, Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága (EMMI ETT TUKEB) mint beavatkozással nem járó vizsgálatot engedélyezte (engedélyszám: 42323-2/2019/EKU).

4.1. A beérkezett minták mikrobiológiai vizsgálata

Az orrtamponmintákat 16-20 órán keresztül sós Müller-Hinton elődúsító levesben (6,5 w/V% NaCl) inkubáltuk, $37\pm 1^\circ\text{C}$ -on. Ezzel a staphylococcus-okat, azok jó sótűrő képessége miatt, szelektíven elődúsítottuk. Az ezt követő primer leoltást MRSA szelektív kromogén táptalajra („BD MRSA II agar”, DIAGON Kft., Budapest), és *Staphylococcus aureus* szelektív kromogén táptalajra („BD Staph aureus agar”, DIAGON Kft., Budapest) végeztük, mindkét táptalaj esetében 24-48 órán keresztül $37\pm 1^\circ\text{C}$ -on inkubálva a tenyészetet. A *S. aureus* mindkét agaron közepes méretű, fénylő, mályvaszínű telepek formájában növekedik, az egyéb *Staphylococcus* fajok telepei többnyire ettől jelentősen eltérő színnel és mérettel bírnak. Amennyiben az MRSA kromogén agaron 48 óra után sem növekedett MRSA telep, úgy a staphylococcus-szelektív agarról választottunk egy *S. aureus* morfológiájú telepet a további vizsgálatokra. Az MRSA, illetve *S. aureus* telepeket Columbia véres agaron tisztítottunk tovább, szintén 24-48 órán keresztül, $37\pm 1^\circ\text{C}$ -on inkubálva a tenyészeteket. A törzseket a laboratórium munkatársai, a későbbi felhasználás érdekében, -80°C -on konzerválták.

4.2. Molekuláris biológiai vizsgálatok

4.2.1. A baktérium DNS izolálása

A bakteriális nukleinsavat a baktériumsejtek direkt lízisével nyertük ki. Ehhez az adott baktériumtörzs, tiszta tenyészetéből átoltással friss, 24 órás tenyészetet nyertünk és 3-5

telepéből 100 µl lízispufferben (PrepMan, Thermo Scientific) szuszpenziót készítettünk. A szuszpenziót örvénykeverővel homogenizáltuk, 100°C-on 10 percig inkubáltuk, majd centrifugálással (12000×g, 3 perc) szeparáltuk a nukleinsavat tartalmazó felülúszót az üledéktől. A felülúszót molekuláris biológiai tisztaságú vízzel ötszörösére hígítottuk, és a további felhasználásig fagyasztóban (-10 °C) tároltuk.

4.2.2. Az MRSA azonosítására és egyes virulenciagének kimutatására használt PCR rendszerek

A fenotípusos azonosítást az MRSA esetében meg kell erősíteni a meticillin rezisztencia génjét vagy a géntermékét kimutató további eljárással. Vizsgálataim esetében ezt a kódoló génszakasz, a *mec*-gén valamely variánsának kimutatásával végeztük. A *mec* mellett PCR módszerrel vizsgáltunk egyéb olyan virulenciagéneket, amelyek vagy humán- vagy állategészségügyi szempontból lehetnek jelentősek. Ilyen a virulensebb humán eredetű MRSA törzsekre jellemző gének a Panton-Valentine leukocidin (PVL) génje, a *pvl* és a staphylococcus komplement inhibitor (SCIN) kódoló gén, az *scn*. Állatorvosi szempontból a ló eredetű MRSA törzsekből még 2017-ben leírt lóspecifikus leukocidint kódoló gént, a *lukPQ*-t kerestük. Mivel lovak esetében a legjellemzőbb genetikai vonal a CC398, így az erre a genetikai vonalra jellemző génszakasz (*sau1-hsdS1*) kimutatásával még az *spa*-tipizálás előtt azonosítani tudtuk a genotípushoz tartozó törzseket. Az egyes primerpárokat, ahol lehetett, összevont reakciókban, multiplex PCR-ként futtattuk le. A rendszerek primerpárjai és azok forrásai a 1. számú táblázatban találhatóak.

| Primer neve | Primer szekvenciája | Ta (°C) | Kimutatott génszakasz | Termékméret bázispár (bp) |
|-------------------------|-----------------------------|------------|--------------------------|------------------------------|
| Multiplex PCR 1. | | | | |
| CC398AF | AGGGTTTGAAGGCGAATGGG | 58 | <i>sauI-hsdSI</i> | 296 |
| CC398r1 | CAGTATAAAGAGGTGACATGACCCCT | 58 | <i>sauI-hsdSI</i> | |
| mecup1 | GGGATCATAGCGTCATTATTC | 58 | <i>mecA</i> | 527 |
| mecup2 | AACGATTGTGACACGATAGCC | 58 | <i>mecA</i> | |
| IEC-scen-F1 | TACTTGCGGGAACCTT TAGCAA | 58 | <i>IEC</i> | 130 |
| IEC-scen-R1 | AATTCATTAGCTAACTTTTCGTTTTGA | 58 | <i>IEC</i> | |
| Multiplex PCR 2. | | | | |
| spa-F | TAAAGACGATCCTTCGGTGAGC | 58 | <i>spa</i> | 180-600 |
| spa-R | CAGCAGTAGTGCCGTTTGCTT | 58 | <i>spa</i> | |
| mecA-F | TCCAGATTACAACCTCACCAGG | 58 | <i>mecA</i> | 162 |
| mecA-R | CCACTTCATATCTTGTAACG | 58 | <i>mecA</i> | |
| pvl-F | GCTGGACAAAACCTTCTTGGAATAT | 58 | <i>pvl</i> | 85 |
| pvl-R | GATAGGACACCAATAAATTCTGGATTG | 58 | <i>pvl</i> | |
| mecALGA251 Multi F | GAAAAAAGGCTTAGAACGCCTC | 58 | <i>mecC</i> | 138 |
| mecALGA251 Multi R | GAAGATCTTTCCGTTTTCAGC | 58 | <i>mecC</i> | |
| lukPQ PCR | | | | |
| lukPQ fw | CCTGATGGTGAACCTGTCAGCGCAT | 55 | <i>lukPQ</i> | 939 |
| lukPQ rev | TTGTGTGCCTCGACACCCCAAC | 55 | <i>lukPQ</i> | |

2. táblázat: A *S. aureus* törzseknél használt PCR rendszerek primerei. Multiplex PCR 1: (Stegger és mtsai. 2013, Islam és mtsai. 2017); multiplex PCR 2: (Stegger és mtsai. 2011); lukPQ PCR: (Koop és mtsai. 2017).

A PCR reakciókhoz egy, a multiplex PCR-ekre is alkalmas reagenskészletet használtunk (PCRBIO HS Red Taq Kit, PCRBioSystems). A PCR termékeket gélelektroforézis segítségével különítettük el. Az egyes gének jelenlétét a megfelelő méretű PCR termék jelezte, lásd 2. táblázat. A reakciók minden esetben az egyes géntermékekre pozitív kontrollmintával futottak együtt. A reakciók tisztaságát egy, nukleinsav helyett mintaként csak molekuláris biológiai minőségű vizet tartalmazó reakciócső párhuzamos vizsgálatával ellenőriztük.

4.2.3. A baktériumtörzsek genotípusának meghatározása

Az *spa*-típus meghatározását a gödöllői BIOMI Kft. szekvenáló laboratóriumában végezték. Ehhez az MRSA törzsek tiszta tenyészetéből a fentebb már részletezett módon nukleinsavat izoláltak, és a *spa*-génszakaszt PCR segítségével felszaporították. A kapott géntermék nukleotidsorrendjét Sanger-szekvenálással határozták meg, és a szekvenálólabor

adatelemző szoftverének (BioNumerics, Applied Maths, bioMérieux) *spa*-típusmeghatározásra írott algoritmusával elemezték.

A *mec*-génszakaszt is hordozó kazettagén típusát a Diagnosztikai Központ laboratóriumában, egy multiplex PCR-ekből álló módszerrel határoztuk meg. A PCR-ek részleteit Kondo és munkatársai által írt (2007) közlemény részletezi. A kapott géntermékeket ebben az esetben is gélelektroforézissel különítettük el, és méretük alapján azonosítottuk.

A fentebb leírt eljárások az MRSA törzsek alapvető tipizálásának módszerei, elméleti hátterüket a dolgozatom Irodalmi áttekintés című része tárgyalja részletesebben.

4.2.4. A baktériumtörzsek rezisztenciavizsgálata

Az izolált MRSA törzseken rezisztenciavizsgálatot végeztünk, 18 különböző antimikrobiális hatóanyag bevonásával. A hatóanyagok az alábbiak voltak: klóramfenikol (C, 30 µg), ciprofloxacín (CIP, 5 µg), klindamicin (DA, 2 µg), eritromicin (E, 15 µg), fuzidinsav (FA, 10 µg), gentamicin (CN, 10 µg), kanamicin (K, 30 µg), linezolid (LNZ, 10 µg), penicillin (P, 10 µg), quinupristin-dalfopristin (SYN, 15 µg), rifampin (RA, 5 µg), sztreptomycin (S, 10 µg), szulfamethoxazol-TMP (SXT, 25 µg), tetraciklin (TE, 30 µg), tiamulin (T, 30 µg), tigeciklin (TGC, 15 µg), tobramicin (TOB, 10 µg), tulatromicin (30 µg), tilozin (30 µg). A rezisztenciavizsgálat protokollját az Antimikrobiális Érzékenységi Vizsgálatok Európai Bizottságának (EUCAST) ajánlása szerint végeztük (EUCAST, 2019). A protokoll főbb lépései a következők. A törzsek friss, tiszta tenyészetéből foszfát-pufferelt steril fiziológiai sóoldatban 0,5 McFarland hígítású szuszpenziót készítettünk, és ebből steril vattapálcával Müller-Hinton agarlemezre szélesztettük. A korongokat adagolóval helyeztük fel, majd közvetlenül ezután a lemezeket $35\pm 1^\circ\text{C}$ -on, 18 ± 2 órán át inkubáltuk. A korongok körül kialakult gátlási zónákat az előírásoknak megfelelően tolmérő segítségével olvastuk le. A gátlási zónák mérete alapján a törzseket az adott hatóanyaggal szemben három kategória valamelyikébe lehetett sorolni az EUCAST Staphylococcus-okra vonatkozó standardjai alapján: érzékeny, mérsékelten érzékeny, rezisztens. Ahol nem volt elérhető EUCAST érték, ott a „Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI) standardjában feltüntetett értékeket követtük (REF).

5. Eredmények

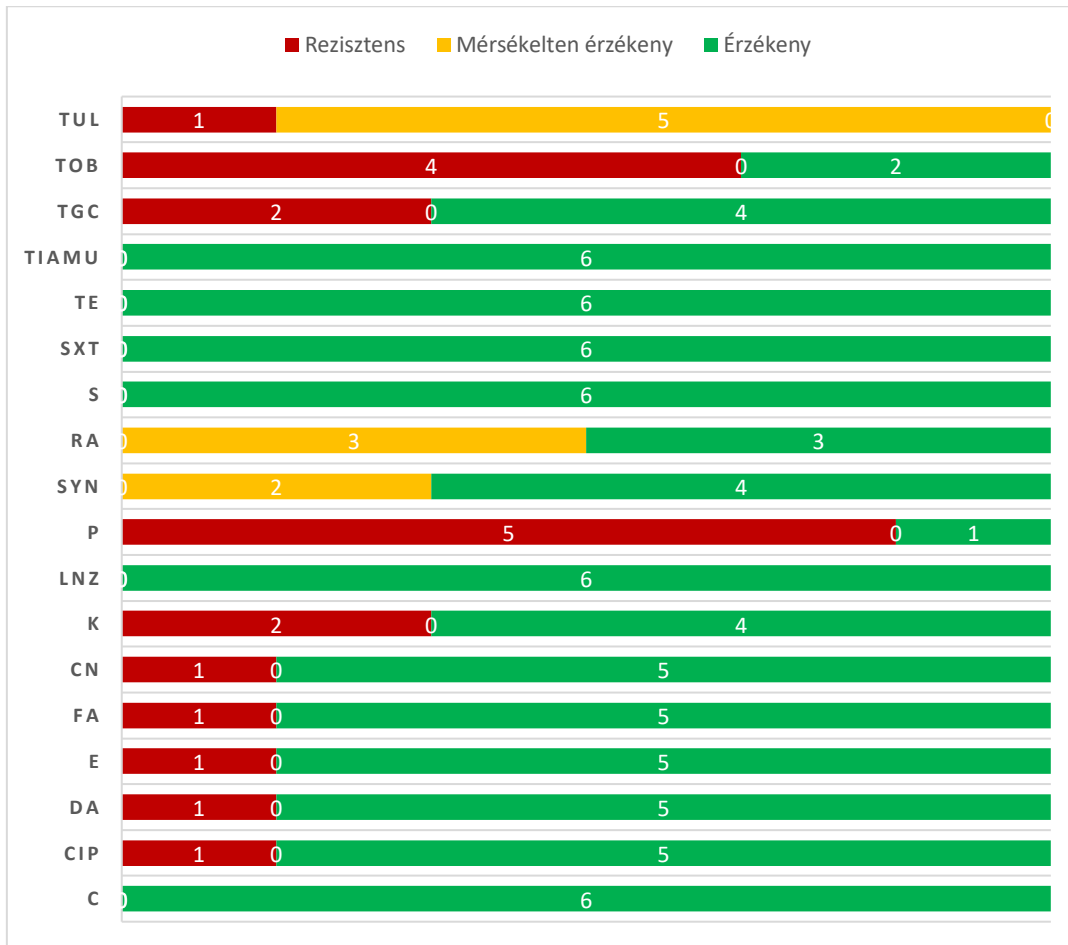
5.1. A törzsek genetikai jellemzése

A XXVII. Lógyógyászati Kongresszuson összesen huszonkilenc orrtampon mintát vettünk le huszonhét állatorvostól és két lógyógyász szakembertől. A *Staphylococcus* szelektív táptalajon („BD Staph aureus agar”) hét mintánál szintenyészetet kaptunk, amiken csak *Staphylococcus aureus* telepek nőttek ki. A maradék mintánál más *Staphylococcus* fajok, és vagy egyéb baktériumfajok nőttek, ritkán szintenyészetben de általában vegyes tenyészetben (lásd: 3. táblázat a fejezet alján). Az MRSA szelektív táptalajon („BD MRSA II agar”) tizenhét törzs nem növekedett, tizenkét minta esetében *Staphylococcus aureus*-t, más *Staphylococcus* fajt vagy vegyes törzset találtunk, amik képesek voltak kinőni a szelektív táptalajon.

A molekuláris vizsgálatoknál az első vizsgálat a *spa* gén meglétére irányult. A *Staphylococcus* szelektív táptalajon kinőtt baktériumtörzsekből tizenkettőben volt jelen a *spa* gén, azaz tizenkettő tartalmazott *Staphylococcus aureus*-t (41,4%). Az összes MRSA számára a *mec* gén jelenlétéből következtettünk. Öt minta *mecA* (17,2%), egy minta pedig *mecC* pozitívnak bizonyult (3,5%), azaz hat MRSA izolátumot tenyésztettünk ki a huszonkilenc orrtampon mintából (20,7%). A *mecC* gént tartalmazó minta nem nőtt a szelektív „BD MRSA II agar”-on. A PCR vizsgálatok során ebből a hat mintából az európai lóklinikákon leggyakoribb, CC398-as klonális komplexbe négy minta tartozott (13,8%). A 12 *S. aureus* izolátum közül hatnál, egy MRSA esetében és öt egyéb *S. aureus*-nál vegyesen mutattuk ki az *scn* virulenciagént (50%). A *pvl* génre mindegyik izolátum negatív volt, a lóspecifikus *lukPQ* gént két izolátumnál találtunk, egy CC398-as és egy CC130-as klonális komplexbe tartozó MRSA-nál. A *spa*-típusok közül a t011-es volt a leggyakoribb, ilyen a tizenkét mintából háromnál találtunk (25,0%), mindegyikük az MRSA CC398-as komplexből került ki. A többi *spa*-típus közül mindegyik külön komplexnél, vonalnál fordult elő (t4753, t209, t127, t359, t091, t085, t843, t034), emellett egy eddig ismeretlen *spa*-típust is találtunk egy *mec*-negatív *S. aureus* törzsnél. A CC398-as t011 *spa* típusú törzsek mind IV-es kazettatípust hordoztak, továbbá még az ST1-t127 genotípusú MRSA izolátum rendelkezett még ezzel a kazettatípussal. Az egyik t034-es *spa* típusal rendelkező CC398-as SCC*mecV* kazettakromoszómával rendelkezett, illetve a *mecC* gént tartalmazó CC130-t843 genotípusú törzs a szokványos PCR módszerekkel nem tipizálható kazettatípust hordozott.

5.2. Az izolátumok rezisztenciája

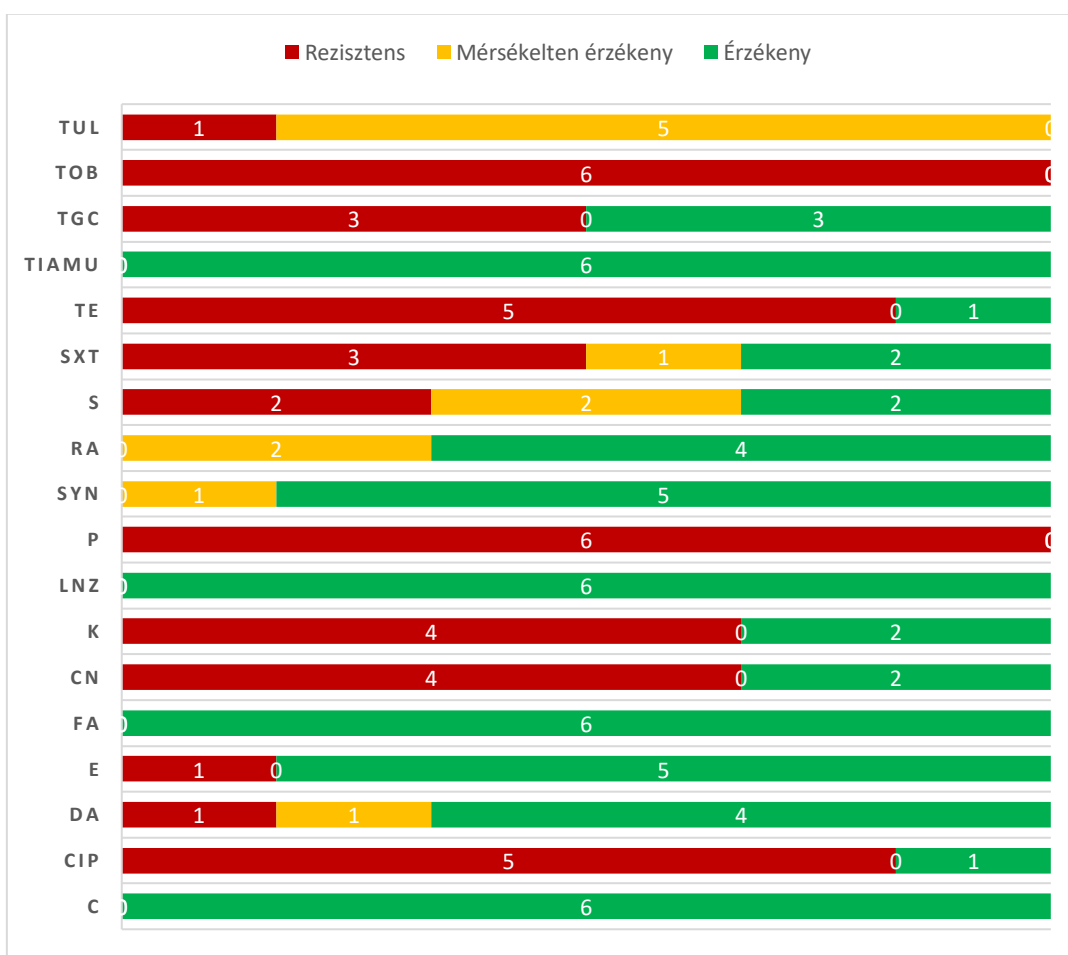
A tizenkét *Staphylococcus* izolátum fele MSSA-nak bizonyult. Rezisztenciájuk átlagosan 3,2 antibiotikumra terjedt ki, mérsékelten rezisztensnek pedig 1,7 antibiotikummal szemben bizonyultak. Összesen tizennyolc antibiotikumra vizsgáltuk az MSSA és MRSA törzseinket. Tularromycinre nem találtunk érzékeny törzset, illetve penicillinre és tobramicinre túlnyomórészt rezisztens törzseket találtunk. A többi antibiotikumra a törzsek legalább fele érzékenynek bizonyult (1. ábra).



1. ábra: Lógyógyász szakemberekből izolált MSSA törzsek összesített rezisztenciaprofilja

TUL: tularromycin, TOB: tobramicin, TGC: tigecklin, TIAMU: tiamulin, TE: tetraciklin, SXT: trimethoprim és sulfamethoxazol kombináció, S: streptomycin, RA: rifampicin/rifampin, SYN: quinupristin-dalfopristin, P: penicillin, LNZ: linezolid, K: kanamicin, CN: gentamicin, FA: fuzidinsav, E: eritromicin, DA: klindamicin, CIP: ciprofloxacín, C: klóramfenikol

A hat MRSA törzs rezisztenciaprofiljának vizsgálata során átlagban 6,8 antibiotikumra rezisztensnek, és 2 antibiotikumra mérsékelten rezisztensnek bizonyult. Az összes izolált baktériumtörzs rezisztens volt penicillinre és tobramicinre, többségében rezisztens volt tetraciklinre és ciprofloxacinnra (83,3%), kanamicinre és gentamicinre (66,7%). Tigeciklinre és a trimethoprim és sulfamethoxazol kombinációra az izolátumok fele volt rezisztens. A törzsek 83,3%-a mérsékelten rezisztens volt a tulatromycinre, emellett streptomycinre és rifampicinre bizonyult két-két törzs rezisztensnek (33,3%). Eritromicinre, quinupristin-dalfopristinre öt (83,3%), klindamicinre és rifampimre négy izolátum volt érzékeny (66,7%), ezek mellett klóramfenikolra, fuzidinsavra és tiamulinra az összes törzs érzékenynek bizonyult (2. ábra).



2. ábra: Lógyógyász szakemberekből izolált MRSA törzsek összesített rezisztenciaprofilja

TUL: tulatromycin, TOB: tobramicin, TGC: tigeciklin, TIAMU: tiamulin, TE: tetraciklin, SXT: trimethoprim és sulfamethoxazol kombináció, S: streptomycin, RA: rifampicin/rifampin, SYN: quinupristin-dalfopristin, P: penicillin, LNZ: linezolid, K: kanamicin, CN: gentamicin, FA: fuzidinsav, E: eritromicin, DA: klindamicin, CIP: ciprofloxacinn, C: klóramfenikol

Az MRSA törzsek körülbelül kétszer annyi hatóanyagra voltak rezisztensek, mint az MSSA törzsek. Tulatromycinre az izolátumokból egyik sem volt érzékeny, emellett tobramicinre is nagyarányú rezisztenciát figyeltünk meg. Az MRSA-k a korai béta-laktám antibiotikumokra a PBP-t termelő *mec* gén jelenléte miatt mind rezisztensek, de az MSSA törzseink között, amelyekben a *mec* gén nincs jelen, öt is rezisztensnek bizonyult penicillinre. Mind a tizenkettő izolátum alacsony rezisztenciát mutatott rifampicinre és quinupristin-dalfopristinre. Fuzidinsavra egy izolátum kivételével az összes, emellett tiamulinra, linezolidra és klóramfenikolra mind a tizenkettő baktériumtörzs érzékeny volt. A legmarkánsabb különbségek az MRSA és az MSSA vonalak között a tetraciklin, trimethoprim és sulfamethoxazol kombináció, streptomycin, kanamicin, gentamicin és ciprofloxacín elleni rezisztenciáknál voltak.

| MINTA | ÁLLAT-ORVOS | <i>S. aureus</i> szelektív tenyésztés eredménye | MRSA szelektív tenyésztés eredménye | Genotípus | <i>spa</i> | repeat succession | <i>mec</i> | <i>scn</i> | <i>pvl</i> | <i>lukPQ</i> | Rezisztencia | Mérsékelt érzékenység |
|-------|-------------|---|-------------------------------------|---------------------|------------|--|------------|------------|------------|--------------|--|-----------------------|
| 1. | igen | <i>S. aureus</i> | nincs növekedés | CC45-t4753 | POZ | 09-02-16-13-17-34-34 | NEG | POZ | NEG | NEG | P | SYN, RA, TUL |
| 2. | igen | <i>S. aureus</i> + <i>Staph. sp.</i> | MRSA | CC398-t011-SCCmecIV | POZ | 08-16-02-25-34-24-25 | A | NEG | NEG | NEG | CIP, CN, K, P, TE, TGC, TOB | SXT, TUL |
| 3. | nem | <i>S. aureus</i> | nincs növekedés | CC1-t209 | POZ | 07-16-12-23-34 | NEG | POZ | NEG | NEG | DA, E, P, TGC, TOB | TUL |
| 4. | igen | <i>S. aureus</i> + <i>Staph. sp.</i> | MRSA | ST1-t127-SCCmecIV | POZ | 07-23-21-16-34-33-13 | A | POZ | NEG | NEG | CIP, DA, E, CN, K, P, S, TE, TGC, TOB, TUL | SYN, RA |
| 5. | igen | <i>S. aureus</i> | nincs növekedés | CC97-t359 | POZ | 07-23-12-21-17-34-34-33-34 | NEG | NEG | NEG | NEG | K, P, TOB | SYN, RA, TUL |
| 6. | igen | <i>S. aureus</i> | nincs növekedés | ? | POZ | 07-23-12-34-34-12-12-23-02-20-02-12-23 | NEG | POZ | NEG | NEG | CIP, K, TGC | TUL |
| 7. | igen | <i>S. aureus</i> + <i>Staph. sp.</i> | MR <i>Staph. sp.</i> | ST7 (?)-t091 | POZ | 07-23-21-17-34-12-23-02-12-23 | NEG | POZ | NEG | NEG | P, TOB, TUL | RA |
| 8. | igen | <i>S. aureus</i> | nincs növekedés | CC15-t085 | POZ | 07-23-12-34-34-12-23-02-12-23 | NEG | POZ | NEG | NEG | FA, CN, P, TOB | TUL |
| 9. | igen | <i>S. aureus</i> | nincs növekedés | CC130-t843-SCCmecNT | POZ | 04-82-17-25-17-25-25-16-17 | C | NEG | NEG | POZ | P, TGC, TOB | DA, TUL |
| 10. | igen | <i>S. aureus</i> + vegyes egyéb | MRSA | CC398-t011-SCCmecIV | POZ | 08-16-02-25-34-24-25 | A | NEG | NEG | NEG | CIP, CN, K, P, SXT, TE, TOB | S, TUL |
| 11. | igen | <i>S. aureus</i> | MRSA | CC398-t011-SCCmecIV | POZ | 08-16-02-25-34-24-25 | A | NEG | NEG | POZ | CIP, CN, K, P, SXT, TE, TOB | RA, S, TUL |
| 12. | igen | <i>S. aureus</i> + vegyes egyéb | MRSA | CC398-t034-SCCmecV | POZ | 08-16-02-25-02-25-34-24-25 | A | NEG | NEG | NEG | CIP, P, S, SXT, TE, TOB | TUL |

3. táblázat: A lógyógyászati konferencián vett humán-orrtampon mintákból kitenyésztett *Staphylococcus aureus* minták összefoglaló táblázata.

A táblázatban található gének: *spa* - *Staphylococcus* protein A-t kódoló génszakasz; *mec* – az alternatív PBP2a-t kódoló gén; *scn* - *staphylococcus*-komplement inhibitor fehérje génje; *lukPQ* - *S. aureus* leukocidint kódoló gén; A táblázatban található antibiotikum rövidítések: TUL: tularomycin, TOB: tobramicin, TGC: tigecklin, TIAMU: tiamulin, TE: tetraciklin, SXT: trimetoprim és sulfamethoxazol kombináció, S: streptomycin, RA: rifampicin/rifampin, SYN: quinupristin-dalfopristin, P: penicillin, LNZ: linezolid, K: kanamicin, CN: gentamicin, FA: fuzidinsav, E: eritromicin, DA: klindamicin, CIP: ciprofloxacín, C: klóramfenikol

6. Megbeszélés

A *Staphylococcus aureus* a humán szervezet kommenzalista baktériumflórájának a része, a hordozása függ életkortól, nemtől, testrésztől, etnikumtól és a földrajzi elhelyezkedéstől is. A predilekciós helyei általában az orrjáratok, a torok, a gáttájék, de a belek és a bőr egyéb helyei is gyakran kolonizálódnak. Az MRSA a kórházakban leggyakrabban azonosított rezisztens kórokozó a világ számos részén, beleértve Európát, Amerikát, Észak-Afrikát, a Közép-, és a Távol-Keletet is. A *S. aureus* orrüregi kolonizációja a felnőtt populációban földrajzi eltéréseket mutat. Az európai országokban a hordozási arány Hollandiában 24,0–25,2%, Norvégiában 27,3–27,6% és Svájcban 36,4% körül mozog. Az ezredforduló környékén Indonéziában 9,1%, Mexikóban 37,1%, az Egyesült Államokban 30,4% volt a prevalencia (Sollid és mtsai, 2014). Az Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ (ECDC) 2011-ben huszonnyolc ország 34.099 *S. aureus* izolátumát vizsgálta, amelyből 5.703-at (16,7%) azonosított meticillin rezisztens *S. aureus*-ként. Ezek közé az izolátumok közé a HA-MRSA, CA-MRSA és az LA-MRSA vonalak mind beszámítottak (ECDC, 2012). Az állat-eredetű MRSA jelentősége és elterjedtsége növekszik egész Európában. Az Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ koordinálja az MRSA európai felügyeletét az Európai Antimikrobiális Rezisztencia Felügyeleti Hálózaton (EARS-Net) keresztül, amely nemzeti klinikai-, és szűrővizsgálati adatokat gyűjt az invazív MRSA izolátumokról az Európai Unió/ Európai Környezetvédelmi Ügynökség (EU / EAA) országaiban.

2007-ben egy felmérés adatokat gyűjtött Európa országaiban az MRSA és az LA-MRSA okozta megbetegedésekről-kolonizációról, tizenöt ország huszonegy *Staphylococcus* referencialaboratóriumának szűrővizsgálatait felhasználva a tanulmányhoz. Nyolc ország jelentett humán mintából kimutatott LA-MRSA-t, beleértve a klinikai izolátumokat is. Ennél a felmérésnél az LA-MRSA izolátumok előfordulása az összes MRSA mintából négy országban és Németország egyik régiójában meghaladta a 2%-ot.

Egy hat évvel későbbi retrospektív felmérés adatokat gyűjtött azokról a LA-MRSA mintákról, amelyeket szintén európai referencialaboratóriumok gyűjtöttek 2013. január 1. és december 31. között emberekből származó MRSA izolátumokból (vér-, légzőtraktus-, bőrnyálkahártya-, vizelet-, sebekből vett-, és egyéb mintákból). A laborok 14.291 beteg MRSA mintáját küldték el 2013-ban, amelyek közül 13.756 (96,3%) izolátumot tipizáltak. Az országok

közül Hollandiából, Dániából és Spanyolországból származott a legtöbb minta. Az összes tipizált MRSA minta közül az LA-MRSA izolátumok aránya 535 (3,9%) volt. Az összes LA-MRSA izolátum közül 533 tartozott a CC398 klonális komplexbe. Tíz ország egyik mintában sem talált egyéb LA-MRSA típust, és csak Olaszország határozta meg azokat a „nem CC398” típusokat, amelyeket LA-MRSA-nak tekintettek, két ST1 (t127) izolátumot. A felmérés magas válaszadási aránya jelzi az LA-MRSA észlelt közegészségügyi jelentőségét az EU / EAA országokban. A 2007-es, felmérésében tizenöt európai országból csak nyolc számolt be LA-MRSA izolátumokról. A 2013-as felmérésben az LA-MRSA izolátumokról az MRSA tipizálási adatokkal rendelkező húsz országból az összesnél beszámoltak. A mindkét felmérésben részt vevő tizenegy országból hét megállapította az LA-MRSA minták számának növekedését. A magyar 341 MRSA minta közül 191-et tipizált (56,0%) volt, ezek közül az összes LA-MRSA, azaz 12 minta (6,3%) a CC398-as klonális komplexbe tartozott (Kinross és mtsai, 2017).

A fakultatív patogén *Staphylococcus aureus* esetenként fertőzéseket is okozhat, egy 2017-es francia intenzív osztályon végzett vizsgálatban 363 betegből 112 (30,9%) hordozott *Staphylococcus aureus*-t. Tizennégy intenzív osztályon szerzett *S. aureus* fertőzést diagnosztizáltak, köztük egyet az MRSA miatt. Kilenc *S. aureus* fertőzés fordult elő hordozókban és 5 nem-hordozókban. A *S. aureus* hordozása szignifikánsan összefüggésben állt az intenzív osztályon szerzett *S. aureus* fertőzések előfordulásával (Gagnaire és mtsai, 2019). A lóklinikákon hasonló helyzet áll fenn, egy holland tanulmány során megállapították, hogy a ló klinikára való bekerüléskor jóval kevesebb az MRSA-hordozó állat, és a hospitalizáció alatt emelkedik meg a számuk. A vizsgálatok szerint a kórházba való bekerülés előtt a lovak 9,3%-a (24/259) volt MRSA-val fertőzött, míg a kórházba felvett lovak 41,6%-a lett MRSA-pozitív (62/149). Tanulmányukban szorgalmazzák a folyamatos rutinvizsgálatok elvégzését, melyek segíthetnének a két csoport (hordozó – nem hordozó) térbeli elkülönítésében. Fontos megjegyezni emellett, hogy sokszor fertőzött környezetben sem alakult ki hordozás (87 ló esetében), és ha hordozás is alakult ki, az is rövid ideig tartott. A másik részről viszont olyan lovakat is találtak, amelyek ismétlődően lettek pozitívak. Ebből gyanítható, hogy sok lovat nem kolonizál a baktérium, hanem pusztán csak szennyeződnek vele, például porszemcsék által (van Duijkeren és mtsai, 2010).

A berni ló klinikán végzett tanulmányban 2005 és 2010 között posztoperatív MRSA fertőzéseket vizsgáltak. Az MRSA törzsek által kolonizált humán eseteknél mupirocin-t

adagoltak orron át háromszor egy nap, illetve 4%-os klórhexidines fürdőt vettek naponta, amely után már nem használták a régi ruhát és ágyneműt. A kúrát 5 napon keresztül végeztették velük. A dekolonizációs próbálkozás után két dolgozó pozitív maradt, illetve a további kezelések felvetették a mupirocin rezisztens baktériumtörzsek térnyerését a szervezetükben. A berni lóklinikán végzett vizsgálat során talált MRSA vonalak (ST398-t011-SCC*mecIVa*, ST8-t064-SCC*mecIVd*) először a klinikán dolgozó emberekből kerültek kimutatásra, majd nem sokkal ezután az állatok mintáiból is kimutatták ezeket a vonalakat. Mindez bizonyítja az ember-állat közti átadás (anthroponózis) lehetőségét, és kihangsúlyozza a klinikán használt kesztyűk és fertőtlenítők szerepét az MRSA elleni védekezésben. A kezdetekben vett hetven *S. aureus* mintából tizenkettő MSSA-nak (17,1%), tizennyolc BORSA-nak (25,7%), negyven pedig MRSA-nak (57,1%) bizonyult. Három további ló bizonyult fertőzöttnek a klinikára való bekerüléskor, de ezeket az egyedeket a korábbi 6 hónapban már kezelték a klinikán. 2006-ban történt az első fertőződés, amit egy ST398-t011-SCC*mecIV* vonal okozott, amit ekkor mutattak ki először a berni egyetem lóklinikáján. 2007 februárjában az ST398-t011-SCC*mecIVa* klonális vonal lett az egyedüli típus mind lóban, mind emberben, és csak 2009-ben és 2011-ben mutattak ki egy-egy esetben ettől eltérő, ST398-t2970-SCC*mecIVa*, ST8-t064-SCC*mecIVd* vonalakat (Sieber és mtsai, 2011).

Magyarországon, az üllői lóklinikán folyt vizsgálat szerint a lovakból és a velük dolgozó emberekből származó MRSA törzsek esetében a leggyakrabban azonosított komplex a CC398-as volt, a kutatásba bevont összes lóból (36 MRSA pozitív állat) ezt a vonalat azonosították. Az izolátumok antibiotikum-rezisztencia vizsgálata alapján nagymértékű rezisztencia alakult ki a klonális vonalban (Albert és mtsai, 2019). A bécsi lóklinikán az üllőihez hasonlóan, az ST szekvencia típusokból a 398-as, *spa* típusból a t011 volt a leggyakoribb, SCC*mec* típusokból a II, IVa (a IV-es bizonyult a leggyakoribbnak) és az V került leírásra (Loncaric és mtsai, 2014).

Vizsgálatunkban a lógyógyászati konferencián mintázott 29 állatorvos és lógyógyász szakember közül 12-nél (41,4%) sikerült *Staphylococcus aureus*-t kitenyészteni. A holland 24,0–25,2% hordozási aránynak ez megközelítőleg kétszerese (Sollid és mtsai, 2014). Az összes mintából hat MRSA izolátumot tenyésztettünk ki (20,7%), ez a 2017-es üllői lóklinikán folyt vizsgálatokhoz képest kissé alacsonyabb, ahol ez a szám 27,7% (10/36) volt. A Cseh Köztársaságban egy 2008-as vizsgálat szerint az állatorvosi dolgozók MRSA hordozási aránya 0,7% volt, míg egy friss, 2020-as tanulmány, amiben szintén egy konferencián vizsgálták a

résztevőket, megállapította, hogy ez az arány mostanra 6,7%-ra nőtt. Egy 2006-os amerikai vizsgálatban az állatorvosi személyzet 6,5%-a hordozott meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*-t, vizsgálatunkban az MRSA hordozási arány mindkét ország eredményeinél jóval magasabb volt. Az Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ 2011-ben készített tanulmánya szerint az EU országokban a *S. aureus* minták 16,7%-nál azonosítottak MRSA-t, ez a szám vizsgálatunkban 50% (Neradova és mtsai, 2020; ECDC, 2012; Albert és mtsai, 2019). Okai többek között a hivatásból erednek, míg az európai minták nem célzott, hanem a teljes közösségre, széleskörűen kiterjedő vizsgálatok voltak, addig a mi vizsgálataink célzottan, a lovakkal mindennapi kontaktusban lévő, ezáltal az LA-MRSA kolonizációnak is kitett személyekre irányultak. Megjegyzendő az is, hogy a kisszámú minta miatt vizsgálatunk a lovakkal foglalkozó állatorvosok csoportjára nem feltétlenül ad megfelelő képet, mindenesetre elgondolkodtató adatot szolgáltat egy konferencián jelenlévő kisebb csoport MRSA érintettségéről. Az üllői lóklinikával összehasonlítva az adatok több okból különböznek. Először is a klinikára hazánk minden területéről, vagy akár a határon túlról érkeznek lovak különböző immunstátusszal, sokszor a súlyos esetek (pl. súlyos bakteriális fertőzés) kerülnek ide, az itt dolgozók jobban ki vannak téve a fertőzésnek, másodsor az esetszám a klinikán jóval nagyobb, mint a vidéken dolgozó lovas praxisoknál, harmadszor a klinika területén egy endémiás kórokozó hosszabb ideig perzisztálhat a megfelelő körülmények és az újabb gazdaszervezetek miatt. Negyedszer egy klinikáról beszélünk, az állatorvosok huzamosabb ideig tartózkodnak az épületben, az istállókban, a klinikai előfordulás pedig jóval gyakoribb, mint a vidéki lovardáknál. A gyógyászati komplexumokon kívüli humán kolonizáció csekély mértékét szemlélteti az a belga kutatás, mely során ló és tulajdonosa/gondozója párokat vizsgáltak annak felderítésére, hogy az érintett emberek bírnak-e bármilyen rezervoár szereppel a klinikákon kívüli lovakhoz köthető MRSA esetekben. A 166 vizsgált párból mindössze négy humán minta lett pozitív, de a pozitív humán eseteknél a lovaik fele (magyarán kettő ló-gondozó pár) bizonyult csak hordozónak (Van den Eede és mtsai, 2013).

Az előbb említett cseh kutatás a közép-európai viszonyokról adott áttekintése alapján kijelenthető, hogy a CC398-as komplex a legdominánsabb LA-MRSA a környező országokban is. Szlovákiában és Romániában haszonállatokban (főleg sertésben) a t034 és t011 *spa*-típusok széleskörűen elterjedtek, mindkét *spa* típust kimutattuk a vizsgálatunkban (Neradova és mtsai, 2020; Huang és mtsai, 2014). A vizsgálatunkban hat MRSA izolátumból négy a CC398-as

klonális komplexbe tartozott, egy az ST1-es vonalhoz, egy pedig a CC130-as klonális komplexbe. Eredményeink összhangban vannak azzal a megfigyeléssel, hogy az európai kontinensen a CC398-as komplexbe tartozó ST398-t011-SCC*mecIV* MRSA vonal az európai lóklinikákon is teret nyer. Több tanulmány is készült azzal kapcsolatban, hogy ez a vonal lóklinikákra specifikus, több hasonló tulajdonsággal és virulenciagénnel rendelkezik, megemlíthető itt sajátos leukocidinjük, a LukPQ. A bakteriális virulenciagének nagyban befolyásolják az adott törzs gazdaspecifikusságát, és a LukPQ a lóhoz, mint gazdafajhoz való nagyfokú adaptációt jelzi (Albert és Biksi, 2020). Az LA-MRSA-k közé sorolt CC398-as a vizsgálatunk humán mintáiban nagy arányban jelen volt, a lóspecifikus leukocidint viszont csak az egyik 398-as izolátumban találtunk. A másik két t011 genotípusú izolátum nem hordozta a *lukPQ*-t.

Egy másik esetben a *lukPQ* gént a CC130-as izolátumban azonosítottuk. A CC130-as klonális komplexben, jelen ismereteink szerint, még senki nem írta le a LukPQ leukocidin termelésért felelős gént. Mind a CC398-as, mind pedig a CC130-as komplex képes megtelepedni az emberben, de a *lukPQ* gén jelenléte az adott *S. aureus* vonal lovakkal való tartósabb együttélésére utal. Az általunk vizsgált (ST1, CC130, CC398) izolátumok többsége, az ST1-es vonal kivételével állati eredetű, erre az *scn* gén (IEC része, humán vonalak markere) jelenléte, illetve hiánya alapján következtethettünk. Az összes *S. aureus*-nak bizonyuló minta közül 6 minta viszont hordozta az *scn* gént, de ebből csak egy minta bizonyult meticillin rezisztensnek. Megjegyzendő, hogy a *lukPQ* gén jelenléte két mintánál kifejezetten lóeredetre utal. Az eredmények tükrében kiemelendő, hogy a vizsgálatban részt vevő MRSA-hordozó lógyógyászati dolgozók 83,3%-a (5/6) meticillin rezisztens baktériumtörzse nagy valószínűséggel állattól, ezen belül két emberé lovaktól származhat.

A humán orrüregben több *Staphylococcus* faj (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. lugdunensis*, *S. hominis*) is megtalálható (Ohara-Nemoto és mtsai, 2008). Az innen kitenyésztett minták nem feltétlenül adják vissza a vizsgálati alany orrüregében élő *Staphylococcus*-ok heterogenitását, mivel a szelektív táptalajról az oltókacccsal csak egy telepet oltunk tovább. Eredményeink ismertetésekor homogén populációként kezelve beszélünk a minták *S. aureus*-airól, de ilyen szempontból nem a teljes igazságot állítjuk amikor azt mondjuk, hogy a vizsgált alany egy bizonyos törzset hordoz. Ezt, mint az általunk használt módszer korlátját kell hangsúlyozni.

További pontatlanságokat adhattak a mintázás módjából származó fals negatív eredmények. A lausanne-i egyetemi kórházban elvégzett MRSA-szűrés során összesen 12.456 személyből vettek mintát az orrból, az ágyéki területről és a torokból. A tenyésztés általi kimutatás érzékenysége a három mintavételi hely esetében külön-külön 48%, 63% és 61% volt. Két helyszín kombinációja 76-89% százalékra növelte az érzékenységet, míg mindhárom helyszín bevonása 96% százalékra növelte az érzékenységet. Viszont az ajánlott mintavételi helyek a nemzeti irányelvek szerint változnak. (Senn és mtsai, 2012; El-Bouri és El-Bouri, 2013; Bignardi és Lowes, 2009). Az észszerűség határain belül, a konferencián történő mintázással ezeket a kritériumokat nem lehetett teljesíteni, éppen emiatt fennállhat a fals negatív eredmények előfordulása is.

A vizsgálatunk során talált genetikai vonalak közös jellemzőkkel rendelkeznek. A három csoport (HA-, CA-, LA-MRSA) között némelyikük átmenetet képez, éppen ezért nehezebben besorolhatóak, filogenetikai vizsgálatokkal határozzák meg, hogy tulajdonképpen melyik faj lehetett az eredeti ősök.

A CC1 egy humán CA-MRSA, aminek bizonyos vonalai gazdát váltottak, kitenyésztették többek között sertésből, szarvasmarhából és emberi mintákból is, Magyarországon egy mastitises tehén és gondozója mintájából mutatták ki, de nagyobb jelentőséggel csak Olaszországban bír, ahol gyakran mutatható ki szarvasmarhák tőgygyulladásos megbetegedéseinél (Cuny és Witte, 2017). Az ST1-es vonal volt az első, túlnyomórészt PVL pozitív vonal, amit a '90-es évek végén leírtak. Főleg humán CA-MRSA vonalak által okozott megbetegedésekből mutatták ki a *pvl* gént, LA-MRSA mintákból csak ritkán írtak le ilyen vonalat. Egyes CC1 vonalak viszont hordozzák az IEC klád egyes génjeit, például a *sak*, *scn*, *sea*, illetve β - és γ -hemolizin termelésért felelős géneket. Az állatokból kimutatható vonalak túlnyomórészt a t127-es típusú *spa* génnel rendelkeznek.

Az 1958-ban először leírt CC97-es komplex világszerte a szarvasmarha mastitisek fontosabb kórokozója, esetenként kitenyésztethető kiskérődző és sertés mintákból is. Ezt a klonális komplexet emberből először 1996-ban mutatták ki, azóta pedig az európai MRSA fertőzések 3%-át ennek a már CA-MRSA csoportba tartozó komplexnek tulajdonítják. Néhány CC97-es izolátum genomszekvenálása alapján bizonyították, hogy a két, manapság emberek között cirkuláló CC97-es klád a haszonállatokról „ugrott át” humánra, de két független alkalommal. Ezek közül az „A” klád négy kontinensen fordul elő, a „B” klád csak Dániában és

Nagy-Britannia középső területein. Kimutatták, hogy ez a két, szoros rokonságban lévő CC97-es klón eltérő mutációs tulajdonságokkal rendelkezik, amelyek a különböző ökológiai viszonyok szelekciós hatásaira hívják föl a figyelmet. A kutatás azt is felderítette, hogy az állatok sem az elsődleges gazdái ennek a komplexnek, mivel valószínűsíthetően egy humán ősvonaltól származik a CC97-es klonális komplex. A tanulmány a tehénből származó mintákat humán mintákkal összevetve arra a következtetésre jutott, hogy a CC97 a gazdaváltás után, az embernél szerezte meg a széleskörű rezisztenciáért felelős géneket. Egyébiránt az állatok mintái közül a sertések CC97-es izolátumai rendelkeznek szélesebb körű rezisztenciával (Spoor és mtsai, 2013).

A CC130-as komplexet először tehénből mutatták ki az Egyesült Királyságban és Dániában. Azóta több állatfajból és az emberből is kimutatták, különlegességük a *mecC* kazettagén, mely az MRSA törzsek kimutatására irányuló rutin vizsgálatok során sokszor fals negatív eredményt ad. Egy tanulmány a 2003 előtti mintákból vizsgálta a *mecC* gént tartalmazó MRSA törzseket, ekkor még csak 2 minta rendelkezett ezzel a génnel, de a 2003-2011 közötti időszakban már 110 ilyen baktériumtörzset találtak. A dán Zealand megyéből vett humán mintákból 22 *mecC*-pozitív volt. Közülük 4 személy állatteleppel volt folyamatos kapcsolatban, és ebből kettő ember baktériumtörzsének *spa* génje (t843), MLVA (MT429) és PFGE mintázata azonos volt az állatokból vett *mecC* gént hordozó MRSA mintáival, bizonyítva az állat-ember irányú átadást (Petersen és mtsai, 2013). A *mecC* gént legtöbbször a CC130-as komplex-szel hozzák kapcsolatba, de megtalálható ezenkívül a CC1943, CC425, CC599, és a CC59 komplexeknél is (Lakhundi és Zhang, 2018).

A CC398-as komplex a domináns Európában és Észak-Amerikában, általában az ST398-as szekvenciatípus a leggyakrabban kimutatható. Jellemzőjük, hogy több nem béta-laktám antibiotikumra is rezisztensek, illetve *SmaI* restrikciós enzimmel végzett PFGE tipizálásuk nem lehetséges. Általában SCC kazettakromoszómájuk IVa és V típusú, emellett a PHLOPSA (fenikolok, linkózamidok, oxazolidin, pleuromutilinek, streptogramin) antibiotikumok elleni rezisztenciát hordozó *cfr* gént is sokszor kimutatják a vonalaikban, PVL-t és más enterotoxinokat az esetek többségében nem termelnek (Li és mtsai, 2011; Kehrenberg és mtsai, 2009; Hallin és mtsai, 2011). Az ST398-as vonal eredetét célzó vizsgálatok a sok hasonlóság miatt a humán CC398-as komplexre vezetik vissza az állati vonalakat. A humán és állat vonalak megkülönböztethetőek az IEC (immun evasive cluster) megléte vagy hiánya alapján, mivel ezek

a humán immunrendszert elkerülő gének az állati vonalakban nem találhatóak meg, emiatt az embereket ezek kevésbé képesek megbetegíteni. Elvértve előfordul azonban, hogy betegséget okoznak, illetve posztoperatív sebekből ki lehet mutatni az ST398-as vonalat (Cuny és Witte, 2017).

6.1. Következtetések

Vizsgálataink alapján kijelenthető, hogy a klinikán kívül dolgozó, magyar lógyógyászati szakemberek és állatorvosok körében is jelen van az állati eredetű MRSA. A vizsgálatunkban kimutatott domináns, állatokból származó genetikai vonal a lovakhoz kapcsolható speciális típus, a CC398-t011-SCC*mecIV*. Emellett elgondolkodtató tulajdonsága két vonalnak a lóspecifikus LukPQ leukocidin termeléséért felelős *lukPQ* gén hordozása. Külön kiemelő, hogy jelen ismereteink szerint a CC130-as klonális komplexnél még senki nem írta le a *lukPQ* gén hordozását. Ez a mikroevolúciós változás a *mecC* gént hordozó CC130-as komplexben azért is lehet nagyobb jelentőségű, mert a rutin MRSA szűrővizsgálatok során a CC130-as komplex fals negatív eredményt ad, mivel a vizsgálatban használt oxacillinre mérsékelt érzékeny, így tévesen MSSA-ként diagnosztizálhatják (Paterson és mtsai, 2013). A fals negatív eredményeken túl képes egy olyan leukocidint (LukPQ) termelni, amely a fertőzéseket súlyosbíthatja, így nehezen kezelhető, félrediaosztizálás veszélyével fenyegető megbetegedéseket okozhat.

A 20,7%-os MRSA hordozási arány felveti az állatorvosok rezervoár és vektor szerepét a klinikán kívül is, illetve felhívja a figyelmet a lógyógyászati dolgozók és családjaik multirezisztens kórokozónak való kitettségére és az ezzel kapcsolatos esetleges jövőbeli egészségügyi komplikációkra, mivel a rezisztenciaprofilok vizsgálata során a CC398-as komplexhez tartozó LA-MRSA-k általában hét antibiotikumra rezisztensek, míg kettőre mérsékelt érzékenyek voltak. A dolgozók védelme érdekében a higiéniai alapelvek oktatása és betartása kiemelő a prevenció módszerei közül. A kényelmetlen alternatívák megkönnyítésének érdekében új, könnyebben alkalmazható módszerek kidolgozása szükséges. A lógyógyászati klinikákon, illetve a lovas praxisokban váltott kesztyű, lábbeli, lószerszám és egyéb eszközök lelkiismeretes használata és fertőtlenítése a multirezisztens kórokozók visszaszorítását ugyancsak nagyban segítené, amellett, hogy az antimikrobiális kezeléseket rezisztenciavizsgálat előzné meg a nem súlyos esetekben. Ennek lényegességét alátámasztja a vizsgálatunkban megtalált öt állati eredetű MRSA vonal, mivel a WHO 2019-ben kiadott

AWaRe antibiotikum osztályzását („Access”, „Watch”, „Reserve”) alapul véve a vizsgálatunkban szereplő izolátumok közül egy rezisztens vonalat (CC130-as) találtunk tigecliklinre („Reserve” csoportba tartozó, azaz legvégső esetben alkalmazandó szer), emellett streptomycin, ciprofloxacín, kanamicin, tobramicin (mind a négy „Watch”, azaz második kategóriás szer) rezisztenciákkal is találkoztunk a CC130-as vonal és a CC398-as vonalak között vegyesen, illetve mérsékelt rezisztenciát is megfigyeltünk streptomycinre, rifampicinre (második kategóriás szerek). Fontos hozzáfűzni azonban, hogy a WHO kiadványában besorolt 180 antimikrobiális szernek a tizedét, azaz csak tizennyolc antibiotikumot vizsgáltunk korongdiffúziós módszerrel (WHO, 2019). Ez felveti a lehetőségét több, általunk nem vizsgált rezisztenciának, és további jelentőséget ad a helyes antibiotikum használat betartásának.

A konferencián mintázott lógyógyászati szakemberek eredményeinek figyelembevételével elmondható, hogy a lovas praxisban dolgozók nagy része hordozhat legalább egy, állatokból származó MRSA vonalat, amely felveti az alkalmazott mindennapos higiéniai gyakorlat hiányosságait. A higiéniai gyakorlat átdolgozása, illetve még több felmérés szükséges annak megállapítására, hogy a lovakkal, illetve egyéb haszon-, kedvtelésből tartott állatokkal foglalkozó személyek mennyire vannak kitéve a meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* veszélyének. A monitoring vizsgálatok elemzéséből pontosabb higiéniai protokollok kidolgozására lesz lehetőség, amely segítheti ezen multirezisztens kórokozó visszaszorítását mind a humán-, mind pedig az állategészségügyön belül.

ÖSSZEFOGLALÓ

A *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) egy nagy jelentőséggel bíró fakultatív patogén baktérium az állatorvoslásban és a humán medicinában egyaránt, a hordozás aránya 20-30% körüli mind az emberi, mint a házi emlősállatok populációiban. A kórokozó egyik fontos tulajdonsága az antimikrobiális szerekkel szemben kialakuló gyors és nagyfokú rezisztenciája, és az illető rezisztenciagének hatékony terjedése. Másik fontos tényező az egyes genetikai vonalak alacsony gazdafajlagossága, így zoonótikus jelentősége is van. Meticillin rezisztens *S. aureus*-t (MRSA) a '70-es években sikerült először kimutatni tehenekből, majd az ezredforduló után sertéstartók mintáiból is. Az állati eredetű MRSA-t (livestock associated-, LA-MRSA) megtalálták már sertésben, kutyában, macskában, baromfiban, lovakban, illetve a velük kapcsolatban lévő emberekben is. Az európai lóklinikákon a 398-as klonális komplexbe (CC398) tartozó LA-MRSA jellemző nozokomiális patogén, a személyzet körében a hordozás aránya általában meghaladja a populációs átlagot.

Vizsgálatunkban egy magyar lógyógyászati konferencián állatorvosoktól és lovas szakemberektől gyűjtött mintákban vizsgáltuk a *S. aureus* előfordulását. A kórokozók szelektív elődúsításos tenyésztését követően elvégeztük a talált törzsek genetikai azonosítását és tipizálását, valamint rezisztenciaprofiljának vizsgálatát is. A 29 mintából 12-ben (41,4%) azonosítottunk *S. aureus*-t, ezek közül 6 törzs (az összes minta 20,7%-a) volt MRSA. A meticillin érzékeny *S. aureus* törzsek többsége a gyakoribb európai, emberek körében előforduló genetikai vonalához tartozott. Az MRSA törzsek közül négy az Európában leggyakoribb LA-MRSA genotípushoz, a CC398-as klonális komplexhez, és egy-egy törzs az állatokban szintén előforduló CC1, illetve CC130 komplexbe tartozott. A CC398-as törzsek közül három t011-SCC*mecIV* genotípusú, ami megegyezik az európai lókorház-specifikus vonallal, a negyedik a sertésekre és más haszonállatokra jellemző t034-SCC*mecV*.

Vizsgálatainkból kiderül, hogy a magyar lókorházakon kívül dolgozó lógyógyász állatorvosok körében is előfordul az LA-MRSA. A 20%-os prevalencia, és a kis gazdaspecifitású genotípusok előfordulása aggodalomra adhat okot, rávilágít az állatokkal mindennapi kapcsolatban lévő emberek MRSA hordozásának és rezervoár szerepének jelentőségére. Az állategészségügyben emiatt fontos cél a helyes higiéniai gyakorlatának

oktatása és betartása az állategészségüggyel foglalkozók (orvosok, asszisztensek, szaksegédek) körében, annak érdekében, hogy a multirezisztens kórokozókat visszaszorítsuk.

SUMMARY

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) is a facultative pathogenic bacterium with great importance in both veterinary and human medicine, with a carrier rate of around 20-30% in both human and domestic mammalian populations. One of the important properties of the pathogen is its rapidly emerging and wide-scale resistance to antimicrobials and the effective spread of the respective antimicrobial resistance genes. Another important factor is the low host specificity of some genetic lines, accounting for a zoonotic potential. Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) was first detected in cows in the '70s and then in samples from pig keepers after the turn of the millennium. Animal MRSA (livestock associated-, LA-MRSA) has been found in pigs, dogs, cats, poultry, horses, and humans related to them. In European equine clinics, LA-MRSA belonging to the 398 clonal complex (CC398) is a characteristic nosocomial pathogen, with a carriage rate generally exceeding the population average among staff members.

In our study, we examined the occurrence of *S. aureus* in samples collected from veterinarians and equestrian specialists at a Hungarian equine medicine conference. Following selective pre-enrichment cultivation of the pathogens, genetic identification and typing of the isolated strains as well as examination of their resistance profile were also performed. Of the 29 samples, 12 (41.4%) yielded *S. aureus*, of which 6 strains (20.7% of all samples) were MRSA. The majority of methicillin-susceptible *S. aureus* strains belonged to the more common European genetic lineages related to humans. Four of the MRSA strains belonged to the most common LA-MRSA genotype in Europe, the CC398 clonal complex, and single isolates belonged to the CC1 and CC130 complexes, which also occur in animals. Of the CC398 strains, three are from the t011-SCC*mecIV* genotype, which is identical to the European equine hospital-specific lineage, and the fourth is t034-SCC*mecV*, which is characteristic of pigs and other farm animals.

Our research reveals that LA-MRSA also occurs among equine veterinarians working outside Hungarian equine hospitals. The 20% prevalence, and the occurrence of low host-specific genotypes may be of concern, highlighting the importance of MRSA-carriage and reservoir role of humans in daily contact with animals. In animal health, therefore, the

education to and use of good hygiene practices by veterinary professionals (doctors, assistants, professional auxiliaries) are both important goals, in order to control multidrug-resistant pathogens.

IRODALOMJEGYZÉK

- Aarestrup F. M., 2005: Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 96. 4. p. 271-281. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1742-7843.2005.pto960401.x>. Megtekintve: 2020. 06. 28.
- Albert E., Biksi I., Német Z., Csuka E., Kelemen B., Morvay F., Bakos Z., Bodó G., Tóth B., Collaud A., Rossano A., Perreten V., 2019: Outbreaks of a Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clone ST398-t011 in a Hungarian Equine Clinic: Emergence of Rifampicin and Chloramphenicol Resistance After Treatment with These Antibiotics. *Microbial drug resistance*, 25. 8. p. 1219-1226.
- Albert, E., Biksi, I., 2020: Állati eredetű meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* nagyállatokban és haszonállatokban - 1. rész. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 142. p. 503-512.
- Antonanzas F., Lozano C., Torres C., 2015: Economic features of antibiotic resistance: the case of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmacoeconomics*, 33. p. 285–325.
- Armand-Lefevre L., Ruimy R., Andremont A., 2005: Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerging infectious diseases*, 11. 5. p. 711. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3320358/>. Megtekintve: 2020. 08. 19.
- Bennett, E. J., Dolin, R., Blaser, J. M., 2015: Infectious Disease Essentials. 8th edition. Philadelphia, Elsevier. URL: <https://cpncampus.com/biblioteca/files/original/1ef846128012b54344bd46c1024c6877.pdf>. Megtekintve: 2020. 09. 02.
- Bignardi G. E., Lowes S., 2009: MRSA screening: throat swabs are better than nose swabs. *The Journal of Hospital Infection*, 71. 4. p. 373-374.
- Choi C. S., Yin C. S., Bakar A. A., Sakewi Z., Naing N. N., Jamal F., Othman N., 2006: Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among healthy adults. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 39. 6. p. 458-64.
- Cucarella C., Solano C., Valle J., Amorena B., Lasa Í., Penadés R. J., 2001: Bap, a *Staphylococcus aureus* Surface Protein Involved in Biofilm Formation. *Journal of bacteriology*, 183. 9. p. 2888-2896.
- Cuny C., Abdelbary H. M. M., Köck R., Layer F., Scheidemann W., Werner G., Witte W., 2016: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from infections in horses in Germany are frequent colonizers of veterinarians but rare among MRSA from infections in humans. *One Health*, 2. p. 11-17. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5441336/>. Megtekintve: 2020. 06. 30.
- Cuny C., Friedrich A., Kozytska S., Layer F., Nubel U., Ohlsen K., Strommenger B., Walther B., Wieler L., Witte W., 2010: Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in different animal species. *International Journal of Medical Microbiology*, 300. 2-3. p. 109-117.
- Cuny C., Strommenger B., Witte W., Stanek C., 2008: Clusters of infections in horses with MRSA ST1, ST254, and ST398 in a veterinary hospital. *Microbial drug resistance*, 14. 4. p. 307-310.
- Cuny C., Witte W., 2017: MRSA in equine hospitals and its significance for infections in humans. *Veterinary microbiology*, 200. p. 59-64.
- David Z. M., Glikman D., Crawford E. S., Peng J., King J. K., Hostetler A. M., Boyle-Vavra S., Daum S. R., 2008: What is community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*?. *The Journal of infectious diseases*, 197. 9. p. 1235-1243.

- Devriese L. A., van Damme L. R., Fameree L., 1972: Methicillin (Cloxacillin)-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Bovine Mastitis Cases. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B*, 19. 7. p. 598-605.
- Dinges M. M., Orwin P. M., Schlievert P. M., 2000: Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical microbiology reviews*, 13. 1. p. 16-34.
- El-Bouri K., El-Bouri W., 2013: Screening cultures for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a population at high risk for MRSA colonisation: identification of optimal combinations of anatomical sites. *The Libyan Journal of Medicine*, 8. 1. p. 22755.
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3842447/>. Megtekintve: 2020. 10. 24.
- European Centre for Disease Prevention and Control: Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). 2012 Stockholm, ECDC. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2011.pdf>. Megtekintve: 2020. 10. 18.
- Eveillard M., Martin Y., Hidri N., Boussougant Y., Joly-Guillou M. L., 2004: Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among hospital employees: prevalence, duration, and transmission to households. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 25. 2. p. 114-120.
- Gagnaire J., Botelho-Nevers E., Martin-Simoes P., Morel J., Zéni F., Maillard N., Mariat C., Haddar C. H., Carricajo A., Fonsale N., Grattard F., Pozzetto B., Laurent F., Berthelot P. Verhoeven P. O., 2019: Interplay of nasal and rectal carriage of *Staphylococcus aureus* in intensive care unit patients. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 38. 10. p. 1811-1819.
<https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-019-03613-z>. Megtekintve: 2020. 10. 19.
- Gálfi Péter, Csikó György, Jerzsele Ákos, 2015: Állatorvosi gyógyszerteran 3. Második kiadás. Budapest, Biró Family Nyomda és Könyvkiadó. p. 89-96.
- García-Álvarez L., Holden M. T., Lindsay H., Webb C. R., Brown D. F., Curran M. D., Walpole E., Brooks K., Pickard D. J., Teale C., Parkhill J., Bentley S. D., Edwards G. F., Girvan E. K., Kearns A. M., Pichon B., Hill R. L., Larsen A. R., Skov R. L., Peacock S. J., Maskell D. J., Holmes M. A., 2011: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *The Lancet infectious diseases*, 11. 8. p. 595-603.
- Gordon R. J., Lowy F. D., 2008: Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clinical microbiology reviews*, 46. 5. p. S350-S359. URL: https://academic.oup.com/cid/article/46/Supplement_5/S350/472604. Megtekintve: 2020. 08. 21.
- Götz F., Bannerman T., Schleifer K.-H., 2006: The Genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. *Prokaryotes*, 4. p. 5-75.
- Grundmann H., Schouls M. L., Aanensen M. D., Pluister N. G., Tami A., Chlebowicz M., Glasner C., Sabat J. A., Weist K., Heuer O., Friedrich W. A., on behalf of the ESCMID Study Group on Molecular Epidemiological Markers and the European Staphylococcal Reference Laboratory Working Group Collective, 2014: The dynamic changes of dominant clones of *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infections in the European region: results of a second structured survey. *Eurosurveillance*, 19. 49. p. 20987.
- Hallin M., De Mendonça R., Denis O., Lefort A., El Garch F., Butaye P., Hermans K., Struelens M. J., 2011: Diversity of accessory genome of human and livestock-associated ST398 methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Infection, genetics and evolution*, 11. 2. p. 290-299.

- Hartmann F. A., Trostle S. S., Klohnen A. A., 1997: Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a postoperative wound infection in a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211. 5. p. 590-592.
- Huang E., Gurzau A. E., Hanson B. M., Kates A. E., Smith T. C., Pettigrew M. M., Spinu M., Rabinowitz P. M., 2014: Detection of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among swine workers in Romania. *Journal of Infection and Public Health*, 7. 4. p. 323-332. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876034114000495?via%3Dihub>. Megtekintve: 2020. 10. 23.
- Islam M. Z., Espinosa-Gongora C., Damborg P., Sieber R. N., Munk R., Husted L., Moodley A., Skov R, Larsen J., Guardabassi L., 2017: Horses in Denmark Are a Reservoir of Diverse Clones of Methicillin-Resistant and -Susceptible *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology*, 8. p. 543. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.00543/full>. Megtekintve: 2020. 06. 30.
- Jevons P. M., 1961: "Celbenin" - resistant Staphylococci. *British Medical Journal*. 1. 5219. p. 124–125.
- Kehrenberg C., Cuny C., Strommenger B., Schwarz S., Witte W., 2009: Methicillin-Resistant and -Susceptible *Staphylococcus aureus* Strains of Clonal Lineages ST398 and ST9 from Swine Carry the Multidrug Resistance Gene *cfr*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53. 2. p. 779-781.
- Kinross P., Petersen A., Skov R., Van Hauwermeiren E., Pantosti A., Laurent F., Voss A., Kluytmans J., Struelens M. J., Heuer O., Monnet D. L.; The European Human LA-Mrsa Study Group, 2017: Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among human MRSA isolates, European Union/European Economic Area countries, 2013. *Eurosurveillance*, 22. 44. p. 16-00696. URL: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.44.16-00696#16>. Megtekintve: 2020. 10. 18.
- Kondo Y., Ito T. Ma X. X., Watanabe S., Kreiswirth B. N., Etienne J. Hiramatsu K., 2007: Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome mec type assignment: rapid identification system for mec, ccr, and major differences in junkyard regions. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51. 1. p. 264-74.
- Koop G., Manouk Vrieling M., Storisteanu M. L. D., Lok S. C. L., Monie T., van Wigcheren G., Raisen C., Ba X., Gleadall N., Hadjirin N., Timmerman J. A., Wagenaar A. J., Klunder M. H., Fitzgerald R. J., Zadoks R., Paterson K. G., Torres C., Waller S. A., Loeffler A., Loncaric I., Hoet E. A., Bergström K., Martino D. L., Pomba C., Lencastre de H., Slama B. K., Gharsa H., Richardson J. E., Chilvers R. E., Haas de C., van Kessel K., van Strijp G. A. J., Harrison M. E., Holmes A. M., 2017: Identification of LukPQ, a novel, equid-adapted leukocidin of *Staphylococcus aureus*. *Scientific reports*, 7. 1. p. 1-10. URL: <https://www.nature.com/articles/srep40660>. Megtekintve: 2020. 06. 27.
- Kourtis A. P., Hatfield K., Baggs J., Mu Y., See I., Epton E., Nadle J., A. Kainer M. A., Dumyati G., Petit S., Ray S. M., Emerging Infections Program MRSA author group, Ham D., Capers C., Ewing H., Coffin N., McDonald L. C., Jernigan J., Cardo D., 2019: Vital Signs: Epidemiology and Recent Trends in Methicillin-Resistant and in Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections - United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 68. 9. p. 214-219. URL: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/68/wr/mm6809e1.htm>. Megtekintve: 2020. 06. 17.
- Köck R., Loth B., Köksal M., Schulte-Wülwer J., Harlizius J., Friedrich W. A., 2012: Persistence of Nasal Colonization with Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Pig Farmers after Holidays from Pig Exposure. *Applied and Environmental Microbiology*, 78. 11. 4046-4047. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3346418/>. Megtekintve: 2020. 08. 17.
- Lakhundi S., Zhang K., 2018: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical microbiology reviews*, 31. 4. URL: <https://cmr.asm.org/content/31/4/e00020-18>. Megtekintve: 2020. 09. 28.

- Layer F., Cuny C., Strommenger B., Werner G., Witte W., 2012: Aktuelle Daten und Trends zu Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, 55. 11-12. p. 1377-1386.
- Li S., Skov R. L., Han X., Larsen A. R., Larsen J., Sørnum M., Wulf M., Voss A., Hiramatsu K., Ito T., 2011: Novel types of staphylococcal cassette chromosome mec elements identified in clonal complex 398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55. 6. p. 3046-3050.
- Loncaric I., Künzel F., Licka T., Simhofer H., Spargser J., Rosengarten R., 2014: Identification and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Austrian companion animals and horses. *Veterinary Microbiology*, 168. 2-4. p. 381-387. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5441336/>. Megtekintve: 2020. 06. 27.
- Moodley A., Stegger M., Bagcigil A. F., Baptiste K. E., Loeffler A., Lloyd D. H., Williams N. J., Leonard N., Abbott Y., Skov R., Guardabassi L., 2006: spa typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from domestic animals and veterinary staff in the UK and Ireland. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58. 6. p. 1118-1123.
- Neradova K., Jakubu V., Pomorska K., Zemlickova H., 2020: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in veterinary professionals in 2017 in the Czech Republic. *BMC Veterinary Research*, 16. 4. URL: <https://bmvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-019-2223-z>. Megtekintve: 2020. 10. 22.
- Novick R. P., 2003: Mobile genetic elements and bacterial toxinoses: the superantigen-encoding pathogenicity islands of *Staphylococcus aureus*. *Plasmid*, 49. p. 93-105.
- Ohara-Nemoto Y., Haraga H., Kimura S., Nemoto T. K., 2008: Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal-oral trafficking of the bacteria. *Journal of Medical Microbiology*, 57. 1. p. 95-99. URL: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.47561-0>. Megtekintve: 2020. 10. 09.
- Pál T., 2013: Az orvosi mikrobiológia tankönyve. Második kiadás, Budapest, Medicina Kiadó. URL: https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_524_Mikrobiologia/ch03s03.html. Megtekintve: 2020. 09. 02.
- Paterson K. G., Harrison M. E., Holmes A. M., 2013: The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends in microbiology*, 22.1. p. 42-47.
- Petersen A., Stegger M., Heltberg O., Christensen J., Zeuthen A., Knudsen K. L., Urth T., Sorum M., Schouls L., Larsen J., Skov R., Larsen R. A., 2013: Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carrying the Novel *mecC* Gene in 38 Denmark Corroborates a Zoonotic Reservoir with Transmission to Humans. *Clinical microbiology and infection*, 19. 1. p. E16-E22.
- Price L. B., Stegger M., Hasman H., Aziz M., Larsen J., Andersen P. S., Talima Pearson T., Andrew E. Waters A. E., Jeffrey T. Foster J. T., Schupp J., Gillece J., Driebe E., Liu C. M., Springer B., Zdovc I., Battisti A., Franco A., Żmudzki J., Schwarz S., Butaye P., Jouy E., Pomba C., Porrero M. C., Ruimy R., Smith T. C., Robinson D. A., Weese J. S., Arriola C. S., Yu F., Laurent F., Keim P., Skov R., Aarestrup F. M., 2012: *Staphylococcus aureus* CC398: host adaptation and emergence of methicillin resistance in livestock. *mBio*, 3. 1. URL: <https://mbio.asm.org/content/3/1/e00305-11.short>. Megtekintve: 2020. 08. 21.
- Rusvai, M., Medveczky, I., Varga, J., Tuboly, S., 1999: Állatorvosi járványtan I. Budapest, Mezőgazda Kiadó. URL: https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_521_Allatorvosi_jarvanytan1/ch02.html#d517467. Megtekintve: 2020. 08. 21.

- Schwarz S., Feßler T. A., Loncaric I., Wu C., Kadlec K., Wang Y., Jianzhong Shen, 2018: Antimicrobial Resistance among Staphylococci of Animal Origin. *Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals*, p. 127-157.
- Seguin C. J., Walker D. R., Caron P. J., Kloos E. W., George G. C., Hollis J. R., Jones N. R., Pfaller A. M., 1999: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Outbreak in a Veterinary Teaching Hospital: Potential Human-to-Animal Transmission. *Journal of clinical microbiology*, 37. 5. p. 1459-1463. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC84801/>. Megtekintve: 2020. 06. 28.
- Senn L., Basset P., Nahimana I., Zanetti G., Blanc D. S., 2012: Which anatomical sites should be sampled for screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage by culture or by rapid PCR test?. *Clinical microbiology and infection*, 18. 2. p. E31-E33. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14613537>. Megtekintve: 2020. 10. 20.
- Shimizu A., Kawano J., Yamamoto C., Kakutani O., Anzai T., Kamada M., 1997: Genetic Analysis of Equine Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 59. 10. p. 935-937.
- Sieber S., Gerber V., Jandova V., Rossano A., Evison J. M., Perreten V., 2011: Evolution of Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in Horses and Colonized Personnel in an Equine Clinic Between 2005 and 2010. *Microbial Drug Resistance*, 17. 3. 471-8.
- Sollid J. U. E., Furberg A. S., Hanssen A. M., Johannessen M., 2014: *Staphylococcus aureus*: determinants of human carriage. *Infection, genetics and evolution*, 21. p. 531-541. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567134813000932>. Megtekintve: 2020. 10. 21.
- Spoor L. E., McAdam P. R., Weinert L. A., Rambaut A., Hasman H., Aarestrup F. M., Kearns A. M., Larsen A. R., Skov R. L., Fitzgerald J. R., 2013: Livestock origin for a human pandemic clone of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *MBio*, 4. 4. URL: <https://mbio.asm.org/content/4/4/e00356-13>. Megtekintve: 2020. 10. 21.
- Stefani S., Chung D. R., Lindsay J. A., Friedrich A. W., Kearns A. M., Westh H., Mackenzie F. M., 2012: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. *International journal of antimicrobial agents*, 39. p. 273–282.
- Stegger M., Lindsay J. A., Moodley A., Skov R., Broens E. M., Guardabassi L., 2011: Rapid PCR Detection of *Staphylococcus Aureus* Clonal Complex 398 by Targeting the Restriction-Modification System Carrying *sauI-hsdSI*. *Journal of Clinical Microbiology*, 49. 2. p. 732–34. URL: <https://jcm.asm.org/content/49/2/732>. Megtekintve: 2020. 07. 01.
- Stegger M., Liu C. M., Larsen J., Soldanova K., Aziz M., Contente-Cuomo T., Petersen A., Vandendriessche S., Jiménez J. N., Mammina C., van Belkum A., Salmenlinna S., Laurent F., Skov R. L., Larsen A. R., Andersen P. S., Price L. B., 2013: Rapid Differentiation between Livestock-Associated and Livestock-Independent *Staphylococcus aureus* CC398 Clades. *PLoS ONE*, 8. 11. p. e79645. URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0079645>. Megtekintve: 2020. 07. 01.
- Sung J. M., Lloyd D. H., Lindsay J. A., 2008: *Staphylococcus aureus* host specificity: comparative genomics of human versus animal isolates by multi-strain microarray. *Microbiology*, 154. 7. p. 1949-1959.
- Thampi N., Showler A., Burry L., Bai A. D., Steinberg M., Ricciuto D. R., Bell C. M., Morris A. M., 2015: Multicenter study of health care cost of patients admitted to hospital with *Staphylococcus aureus* bacteremia: impact of length of stay and intensity of care. *American journal of infection control*, 43. 7. p. 739-744.

- The 2019 WHO AWaRe classification of antibiotics for evaluation and monitoring of use. Geneva, World Health Organization. URL: https://www.who.int/medicines/news/2019/WHO_releases2019AWaRe_classification_antibiotics/en/. Utolsó frissítés: 2019. 11. Megtekintve: 2020. 10. 20.
- Van den Eede A., Martens A., Floré K., Denis O., Gasthuys F., Haesebrouck F., Van den Abeele A., Hermans K. 2013: MRSA carriage in the equine community: an investigation of horse-caretaker couples. *Veterinary Microbiology*, 163. 3-4. p. 313-318.
- van Duijkeren E., Moleman M., Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan M. M., Multem J., Troelstra A., Fluit A. C., van Wamel W. J. B., Houwers D. J., de Neeling A. J., Wagenaar J. A., 2010: Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in Horses and Horse Personnel: An Investigation of Several Outbreaks. *Veterinary Microbiology*, 141. 1-2. p. 96-102.
- Voss A., Loeffen F., Bakker J., Klaassen C., Wulf M., 2005: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerging infectious diseases*, 11. 12. p. 1965. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3367632/>. Megtekintve: 2019. 11. 30.
- Walther B., Monecke S., Ruscher C., Friedrich A. W., Ehrlich R., Slickers P., Soba A., Wleklinski C. G., Wieler L. H., Lubke-Becker A., 2009: Comparative Molecular Analysis Substantiates Zoonotic Potential of Equine Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology*, 47. 3. p. 704-710. URL: <https://jcm.asm.org/content/47/3/704>. Megtekintve: 2019. 12. 03.
- Weese J. S., Archambault M., Willey B. M., Hearn P., Kreiswirth B. N., Said-Salim B., McGeer A., Likhoshvay Y., Prescott J. F., Low D. E., 2005: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel, 2000-2002. *Emerging infectious diseases*, 11. 3. p. 430.
- Weese J. S., Rousseau J., 2010: Attempted eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonisation in horses on two farms. *Equine veterinary journal*, 37. 6. p. 510-514.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálásan köszönöm dr. Albert Ervinnek a sok iránymutatást és segítséget, amit a munkám során nyújtott. Hozzáállása, motiválása és türelme nagyban segítette a hozzáállásomat és a dolgozat megírását.

Köszönöm dr. Biksi Imrének, a Haszonállat Diagnosztikai Központ vezetőjének, hogy lehetőséget és részben forrást biztosított a vizsgálataimhoz, és Kelemen Bernadettnek a minták feldolgozása során nyújtott szakmai segítségért.

Továbbá családomnak, barátaimnak is köszönöm a türelmet, támogatást és a sok segítséget, amit a dolgozatom írása közben nyújtottak.

Nem utolsó sorban köszönöm minden lógyógyász szakembernek az együttműködést, akik mintájukkal hozzájárultak ahhoz, hogy ez a dolgozat létrejöheszen.

HuVetA nyilatkozat

HuVetA ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: SZABÓ ZSOLT
Elérhetőség (e-mail cím): zsol95@hotmail.com
A feltöltendő mű címe: AZ ÁLLATI EREDETI METIKULLIN REZISZTENS
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ELŐFORDULÁSA HÁRMI LŐGSGYAKOR ÁLLATORVOSOKBAN
A mű megjelenési adatai: 2020
Az átadott fájlok száma: 1

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédtett PDF formára konvertálja és szolgáltatssa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyezik, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrészt mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel):

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címekre) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:

Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénytörtő módon visszaélne.

Budapest, 2020 év10.....hó ..25:....nap



aláírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutýra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltatassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*

5. melléklet

Nyilatkozat TDK- és diplomamunka-azonosságáról

NYILATKOZAT

Alulírott SZABÓ ZSOLT..... nyilatkozom, hogy diplomamunkám,
melynek címe Az állati eredetű meticillin rezisztens.....
Staphylococcus aureus előfordulása hazai lógyógyász állatorvosokban.
tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2020.....
évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2020. 11. 16.

SZABÓ ZSOLT
Szabó Zsolt.....

a hallgató neve és aláírása