

SZENT ISTVÁN EGYETEM
ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI KAR
Lógyógyászati Tanszék és Klinika

Multi-drug rezisztens *Staphylococcus aureus* esetek
összehasonlító retrospektív vizsgálata 2010 és 2014 között a
Lógyógyászati Tanszék és Klinikán

Comparative retrospective analysis of multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* infections at the Equine Department and Clinic between 2010 and 2014

Készítette:

Béni Dániel

11. féléves hallgató

Témavezető:

Dr. Tóth Balázs MS, MSc, Dipl. ACIVM & ECEIM

Belgyógyászati részlegvezető

SzIE-ÁOTK, Lógyógyászati Tanszék és Klinika

Budapest

2014

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	2
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	3
2.1 A Staphylococcus genus jellemzése.	3
2.2 A Staphylococcus aureus jellemzése	3
2.3 Az MRSA laboratóriumi diagnosztikája	3
2.4 HA-MRSA, CA-MRSA.....	8
2.5 MRSA lovakban.....	8
2.6 MRSA prevalenciája a lópopulációban	9
2.7 HA-MRSA lovakban	10
2.8 CA-MRSA lovakban	11
2.9 LA-MRSA lovakban	11
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	13
3.1. Vizsgálat helyszíne.....	13
3.2. Adatgyűjtés	13
3.3 Mintavétel és tenyésztés.....	14
3.4 Antibiotikum-érzékenységi vizsgálat.....	14
3.5 Statisztikai analízis.....	14
4. EREDMÉNYEK	16
5. MEGBESZÉLÉS	24
6. ÖSSZEFOGLALÁS	27
7. SUMMARY	28
8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	29
9. IRODALOMJEGYZÉK	30

1. BEVEZETÉS

A *Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus* genusba tartozó, Gram és koaguláz pozitív opportunistá patogén, melynek klinikai megjelenése lokalizált enyhe fertőzésektől súlyos szepsziskémiáig terjedhet virulenciától és a beteg immunstátuszától függően. A humán orvoslás legfontosabb multi-drug rezisztens *Staphylococcus* a Methicillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA). Hosszú időn keresztül úgy vélték, kizárólag humán patogén, mely kórházakban fordul elő (hospital acquired MRSA, HA-MRSA), azonban a kilencvenes évek közepén kimutatták MRSA törzseket nem hospitalizált betegekben is (community associated MRSA, CA-MRSA). MRSA-t először 1997-ben izoláltak lóól, amely egyre növekvő problémát jelent a nagy esetszámú lóórházakban, azonban a fertőzések tulajdonságairól kevés információ áll rendelkezésre.

A methicillin rezisztenciát a MecA gén által kódolt alternatív penicillin kötő fehérje (PBP2a) okozza, melynek alacsonyabb affinitása van beta-laktám antibiotikumokhoz. A beta-laktám rezisztencia mellett kialakulhat más antibiotikum csoportok elleni rezisztencia is, csökkentve ezáltal a kezelés lehetőségeit.

Retrospektív vizsgálatunk célja volt, hogy a Lóógyászati Tanszék és Klinikán összegyűjtsük, elemezzük és összehasonlítsuk a lovakban előforduló *Staphylococcus aureus* (MRSA és nem MRSA) klinikai fertőzéseket. Hipotézisünk, hogy az MRSA-val fertőzött lovak hosszabb és költségesebb gyógykezelést igényelnek, valamint túlélési esélyük rosszabb, mint egyéb *Staphylococcus* okozta megbetegedéseknek.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1A Staphylococcus genus jellemzése

Az ubiquiter Staphylococcus aureus a Staphylococcus genusba tartozó opportunistá patogén. A genus tagjai 0,8-1,0 µm méretű, Gram-pozitív, nagyfokú ellenállóképességű, csillótlán, burkot és spórát nem képző coccusok. Előfordulásuk bőrön, felső légutakban, conjunctiva mikroflórájában, húgy-nemiszervek nyálkahártyáin, tejben, talajon, növényeken jellemző. Koaguláz termelés alapján két csoportra oszthatóak. A koaguláz-negatív csoport többsége szaprofita, azonban lehetnek közöttük patogének. A fertőzés általában kórházi vagy más veszélyeztetett gazdában alakul ki, rendszerint lokális gyulladáson formában. (Tuboly, 1998).

A S. aureus és S. intermedius, mint a koaguláz-pozitív csoport képviselői, a lógyógyászatban is fontos és egyre növekvő szereppel bírnak. Emellett S. hyicus is izolálásra került lovak csüdjéről, szeptikus ízületből (Sellon és Long, 2014).

A genus tagjai mind aerob, mind anaerob körülmények között gyorsan szaporodnak 37 °C-on, de a folyamat lassabban, 10 és 42 °C között is végbemegy. A S.aureus 24 órás tenyésztés alatt 2-3 mm átmérőjű sima, fényes, sárga, kerek telepeket képez. A pigmentképzés anaerob körülmények között, valamint folyékony táptalajon elmarad. Véres táptalajokon a telepeket béta-hemolitikus udvar veszi körül, ahol a hemolízis foka összefügg a patogenitással. (Gergely, 2003).

2.2. Staphylococcus aureus jellemzése

A S. aureus törzsek többnyire a bőr és nyálkahártyák sérüléseikhez csatlakozóan a háziállatokban különféle gennyesedéssel járó helyi folyamatokat, bőrgyulladást, tályogképződést, lábvégek gennyesedéseit, mastitist és metritist okoznak. A fertőzés jellege és kimenetele a fertőzést okozó törzs virulenciájától függ. (Tuboly, 1998).

2.2.1 Virulenciafaktorok

A Staphylococcus genus tagjai virulenciafaktorokat termelnek, melyek lehetővé teszik az elszaporodást és a kórokozást. A staphylococcus fertőzésekkel kapcsolatban több potenciális virulenciafaktort leírtak, melyek közül a legtöbbet a S. aureus fertőzéseknél vizsgálták. Ezeket a faktorokat három csoportba sorolhatjuk: sejthez-kötött virulenciafaktorok, exoenzimek és exotoxinok (Gyles, et al., 2010). A fertőzések jellege és kimenetele függ a törzs által termelt virulenciafaktor típusától, valamint mennyiségétől (Gergely, 2003).

2.2.1.1 Sejthez kötött virulenciafaktorok

A protein-A olyan felületi fehérje, mely az IgG immunoglobulinok Fc régiójához kapcsolódva gátolja az opszonizációt és fagocitózist. A poliszacharid tok az immunoglobulinok kapcsolódását korlátozza, míg a peptidoglikán és lipoteikolsav a citokin felszabadulásért felel (Gyles, et al., 2010). Emellett a *S. aureus* felületére olyan proteineket expresszálhat, melyek az extracelluláris mátrix elemeihez való kapcsolódást segítik elő, ezek az úgynevezett MSCRAMM-ok (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) (Plata, et al., 2009). A felületi proteinek a fibronectin, laminin, vitronectin és kollagén kötésért felelősek, melyek az epiteliális és endoteliális extracelluláris mátrix alkotói. A véralvadékhoz, valamint sérült szövetekhez való kapcsolódásért a clumping faktor felel, ami hasonlóan egy felületi fehérje (Gyles, et al., 2010). A *S. aureus* törzsek nagy részének felszínén megtalálható, a fibrinhez és fibrinogénhez kapcsolódik, és a baktériumok körül egy fibrinburkot hoz létre, mely gátolja a gazdaszervezet általi felismerést (Gergely, 2003). A kollagénhez való kapcsolódás a mély szöveti fertőzések és biofilm kialakulását segíti elő (Gyles, et al., 2010).

2.2.1.2 Exoenzimek

A *S. aureus* elkülönítésében az egyik legfontosabb enzim a koaguláz, mely hatására végbemegy a fibrinogén-fibrin átalakulás, ezáltal a baktérium körül egy védőburok alakul ki (Gergely, 2003). Szerepe valószínűleg egy lokalizált alvadás indukálása, mely megvédi a baktériumokat a fagocitózistól (Gyles., et al, 2010). A lipázok zsírszövetben történő terjedéshez, valamint további tápanyagok felszabadításához szükségesek (Gergely, 2003). A Hialuronidáz és a hialuronát-liáz az enzimek egy olyan csoportját alkotják, melyek a hialuronsav depolimerizációját okozzák, így elősegítve a kötőszöveti terjedést. A proteázok szerepe az ellenanyagok hasítása, az antimikrobiális fehérjék (defenzinek) gátlása, emellett az inváziós képesség növeléséhez is hozzájárulhatnak a szöveti fehérjék bontásával. A proteázok feladata a fibronectin-kötő fehérjék bontása, mely a kezdeti adhézio után a szöveti terjedést indítja el (Gyles, et al., 2010).

2.2.1.3 Exotoxinok

A *S. aureus* törzsek patogenitásának mértékét és karakterét az általuk termelt toxinok típusa jelentős mértékben befolyásolja, szerepük a sejtmembránok károsítása. Megkülönböztetünk enterotoxinokat, toxikus shock szindróma toxint, exfoliatív toxinokat, hemolizineket és leukocidint. Az enterotoxinok (*Staphylococcus enterotoxin*, SE), enterotoxin-szerű toxinok és toxic shock syndrome toxin (TSST-1) szuperantigén hatásúak, a T-sejtek túlzott mértékű aktiválását okozzák, mely azok gyors proliferációjához és nagy mennyiségű citokin felszabadulásához vezet (Gyles, et al., 2010). A lokalizált fertőzésekből felszabaduló TSST-1 intakt nyálkahártyán is képes áthatolni szisztémás megbetegedést okozva. A TSST-1 által okozott toxikus sokk szindrómát leírták lónál is, azonban ez a betegség nagyon ritka, ehhez hasonló a lovakban ritkán előforduló magas mortalitású heveny autoimmun rhabdomyolysis, amit mirigykór fertőzés idézhet elő (Sellon és Long, 2014).

Az exfoliatív toxinok (ET) a keratinociták közötti sejt-sejt kapcsolat felbontásával kiterjedt hólyagosodást és bőrleválást okoznak (Nishifuji, et al., 2007).

A hemolizinek közül az α -toxin a leghatékonyabb membránkárosító. A sejtmembránhoz kapcsolódva pórusokat hoz létre, melyeken keresztül a kationok szabadon mozognak. A toxin egy citokin felszabadulással járó folyamat indukál, mely további gyulladáshoz vezető mediátorok termelését indítja meg. A folyamat a súlyos fertőzések során tapasztalható szepszishez vezet (Gyles, et al., 2010).

A β -toxin egy szfingomielináz, mely a szfingomielinben gazdag membránokat károsítja elsősorban, míg a γ -hemolizin egy kétkomponensű toxin, ami toxikus makrofágokra, és neutrofil granulocitákra egyaránt.

A sokszor Community-associated MRSA-hoz (CA-MRSA) köthető Panton-Valentine leukocidin (PVL) a fehérvérsejtek citoplazma membránját károsítja, emellett elhalásos tüdőgyulladás és súlyos bőrfertőzés kiváltója is lehet (Plata, et al., 2009). Főleg humán MRSA törzsekben található meg, jelentősége lovaknál még nem tisztázott (Sellon és Long, 2014).

2.2.2 *S. aureus* methicillin-rezisztencia mechanizmusa:

A *S. aureus*-t a XIX. század végén fedezték fel, és a penicillin használatáig az általuk okozott fertőzések mortalitása a 80%-ot is elérte. 1942-ben, két évvel a penicillin felfedezése után, már penicillin rezisztens fertőzésről számoltak be. 1960 óta a törzsek közel 80%-a rezisztens penicillinre (Deurenberg és Stobberingh, 2008). 1961-ben, két évvel a methicillin első alkalmazása után már leírták a baktériumok methicillin rezisztenciáját is (Deurenberg és Stobberingh, 2008). Egyes *S. aureus* törzsek specifikusak lehetnek egy-egy fajra, adaptálódhatnak emberekre és állatokra is, míg

mások gazdaspektruma kiterjedt, és megtelepednek több állatfajban. A törzsek prevalenciája változó, egyes törzsek gyakrabban fordulnak elő, és köthetőek az egészségügyi intézményekhez (HA-MRSA) vagy az egyén életkörülményeihez (CA-MRSA).

A methicillin egy félszintetikus β -laktám antibiotikum, melyet kis mennyiségű penicillináz nem képes elbontani, azonban nagy mennyiségben az antibiotikum részleges hidrolizálásával csökkentheti annak hatását (Hiramatsu, 1995). A másik mechanizmus a *mecA* génen keresztül zajlik, mely egy 78-kDa méretű penicillin-kötő fehérjét (PBP2a) kódol. A *mecA* egy mobilis genetikai elem, ami a *Staphylococcal chromosomal cassette (SCCmec)* része (Weese, 2004). Ez a módosult fehérje alacsony affinitással rendelkezik a β -laktám antibiotikumokhoz, melynek következménye, hogy a csoportba tartozó antibiotikumok nem képesek a penicillin-binding domaint telíteni, így a peptidoglikán keresztidák kialakulását nem gátolják, és a baktériumok növekedése nem gátlódik (Deurenberg és Stobberingh, 2008).

2.3 Az MRSA laboratóriumi diagnosztikája:

Az MRSA fertőzéseket, ideértve az inapparens fertőzéseket, legegyszerűbben bakteriológiai mintavétellel és laboratóriumi tenyésztéssel vizsgálhatjuk. A *S. aureus* szaporítható véres agaron, illetve szelektív táptalajokon egyaránt. Mikroszkóp alatt egyesével, párban vagy szabálytalan csoportokban fordulnak elő. A koaguláz teszttel elkülöníthető más *Staphylococcus*októl (1. táblázat). DNáz teszt megbízhatóbban elkülöníti a kevésbé patogén *Staphylococcus*októl. A *S. aureus* más hemolizáló DNáz pozitív *Staphylococcus*tól a sárga pigment termelése alapján különíthető el (Boyen, et al., 2013). A *S. aureus* izolálásakor, az antibiotikum érzékenységi vizsgálat eredménye alapos gyanút kelthet MRSA-ra. A pontos megállapításhoz, azonban a *mecA* gén jelenlétét PCR-rel, vagy indirekt úton PBP2a latex agglutinációs próbával is igazolni szükséges. A fenotípusos antibiotikum érzékenység elbírálására korong diffúziós próbát vagy minimális gátlókoncentráció meghatározást (MIC) végezhetünk. A fenotípusos rezisztenciavizsgálatok fals pozitivitása magas, mivel *mecA* génnel nem rendelkező izolátumok is mutathatnak methicillin rezisztenciát (Sellon és Long, 2014).

	KOAGULÁZ	DNÁZ	HEMOLÍZIS	PIGMENT	TERMELÉS	UREÁZ	TERMELÉS
	TESZT	TESZT	TESZT	TESZT	TESZT	TESZT	TESZT
S. AUREUS	+	+	+	+	+		+/-
S. INTERMEDIUS	+	+	+		-		+
S. HYICUS	+/-	+	-	-	-		+/-
S. EPIDERMIDIS	-	+/-	+/-	-	-		+
S. EQUORUM	-	-	+/-	-	-		+
S. LENTUS	-	-	-	+/-	-		-
S. SIMULANS	-	-	+/-	-	-		+

1. táblázat: Staphylococcus genus tagjainak tulajdonságai (Markey, et al, 2013)

A Pulsed-field gél elektroforézis (PFGE) a legspecifikusabb tipizálási módszer, mely DNS fragmentumok agarózgélben való szétválasztásán alapszik. A humán kórházi fertőzések igazolására rutinszerűen alkalmazzák.

A Multilocus sequence typing (MLST) az úgynevezett housekeeping gének fragmentumainak analízisén alapul. Minden allélhez különböző szekvencia tartozik. Az allélok összetétele határozza meg a *S. aureus* vonalat, amelyet szekvencia típusként (ST) kategorizálnak. Az MRSA nomenklatura a szekvenciatípus és SCCmec típusából épül fel (Maree, et al., 2007).

A spa lókusztipizálás a protein A-t kódoló spa gén szekvenciájának elemzésén alapul. Jól használható a molekuláris evolúció valamint a kórházi fertőzések nyomonkövetésére. A módszer előnye annak olcsósága és gyorsasága, hátránya az alacsony specifikusság.

SCCmec tipizálás: a SCCmec struktúrája térképezhető fel vele, PCR vizsgálaton alapul (Maree, et al., 2007).

2.4 Hospital acquired-, Community associated -Methicillin rezisztens S. aureus

Az MRSA az 1960-as években jelent meg humán egészségügyi központokban. Kezdeti alacsony előfordulási aránya miatt nem kapott megfelelő figyelmet egészen az 1970-es évekig, amikor is az MRSA esetek száma markánsan emelkedni kezdett. Az MRSA-hoz köthető fertőzések évekig kórházakra és egyéb egészségügyi egységekre korlátozódtak. Az 1990-es évek közepétől, azonban az MRSA fertőzések száma megsokszorozódott olyan betegeknél, akik korábban nem kerültek kapcsolatba egészségügyi intézményekkel. Korábban, mikor MRSA-t izoláltak egy közösségben, rövidesen rátaláltak a fertőzés eredetére (korábbi kórházi kezelés, érintkezés hospitalizált egyénnel, korábbi antibiotikum használat). A CA-MRSA törzsekre eltérő antibiotikum rezisztencia mintázat volt jellemző, mint a HA-MRSA törzsekre (Chambers, 2001). Míg korábban ez a típus csupán β -laktám antibiotikumokkal szemben volt ellenálló, addig a HA-MRSA törzsek más antibiotikumokra is rezisztenciát mutattak. Ezt a folyamatot a humán egészségügyi egységekben jelentkező intenzív antibiotikum szelektációs nyomással magyarázták (Chambers, 2001). A kezdeti CA-MRSA leírásoknál még nem volt tisztázott, hogy a törzsek kórházi fertőzések voltak, melyek kikerültek a kórházakból, vagy olyanok, melyek új SCCmec mobilis genetikai elem megszerzésével váltak methicillin rezisztenssé (Fey, et al., 2003).

A CA-MRSA és HA-MRSA kifejezések korábban arra szolgáltak, hogy különbséget tegyenek a törzsek között a genotípusuk, járványtanuk és a fertőzések klinikai tulajdonságai alapján (Daum és David, 2010). A CA-MRSA eredetileg abban különbözött a HA-MRSA-tól, hogy a tradicionális fertőzési kockázatok nem voltak rá jellemzőek, kevesebb antibiotikumcsoportra volt rezisztens, valamint más virulenciafaktorokkal rendelkezett. A CA-MRSA törzsek tipikusan hordozói a Panton-Valentine leukocidin génnek, mely leukocita károsító és szövetelhalást okozó citotoxint termel, melyet a CA-MRSA okozta bőrfertőzésekkel és elhalásos tüdőgyulladással hoztak kapcsolatba (Weber, 2005).

2.5 Methicillin-Rezisztens Staphylococcus aureus lovakban

A methicillin-rezisztens S. aureus egyre jobban előtérbe kerülő patogén lovakban. A lovak MRSA eseteinek első leírásai szerint a fertőzés feltehetően emberektől származó direkt transzmisszió következménye volt, mindemellett sporadikus eseteknek számítottak (Weese, 2010). Hartmann 1997-ben számolt egy MRSA okozta posztoperatív sebfertőzésről, majd ezt követően számos esetben leírtak kórházi MRSA fertőzéseket világszerte (Cuny, et al., 2010).

Az MRSA mind klinikai, mind istálló körülmények között változatos klinikai képet mutató fertőzést képes okozni az állat korától függetlenül. A leggyakrabban sebészeti beavatkozás utáni

szövődményes fertőzésként jelentkezik, és összefüggésbe hozható a HA-MRSA-val, azonban a szövődményes sebggyulladások előfordulása a CA-MRSA fertőzések esetén is számottevő lehet (Anderson et al, 2009). A CA-MRSA fertőzés leggyakrabban szeptikus ízületgyulladás, szövődményes sebggyulladások valamint bőr- és légyszöveti fertőzésként manifesztálódhat. Egyéb kevésbé gyakori forma lehet a hemotogén vagy aerogén módon kialakult tályogképződéssel járó bronchopneumonia, méhgyulladás, köldökgyulladás, sinusitis, szeptikémia, osteomyelitis, tenosynovitis és mastitits. A tünetek súlyossága nagymértékben változhat az enyhe lokálistól a súlyos szisztémás sepszisig (Weese, 2010). A fertőzés súlyossága a nem-MRSA és MRSA törzsek között nem feltétlen különbözik, mivel a mecA gén nem virulenciáért, hanem antibiotikum rezisztenciáért felel. A helytelen antibiotikum használat esetén azonban ez utóbbinak is jelentős hatása lehet a fertőzés kimenetelére, ezért MRSA fertőzéseknél döntő szerepe van az azonnali antibiotikum rezisztencia vizsgálatoknak (Sellon és Long, 2014).

Az MRSA lehetséges forrása a lóval kontaktusba kerülő emberek, hordozó lovak és környezetük vagy esetlegesen élelmiszertermelő állatok.

2.6 MRSA prevalenciája a lópopulációban

Az MRSA megjelenése lovakban az 1990-es évekre datálható, ami mára pandémiás problémává nőtte ki magát. Az első irodalmi közlések légyszöveti fertőzésekről számoltak be, és az eredetét tünetmentes hordozó személyekhez kapcsolták. Később azonban kórházi és istálló körülmények között is azonosították a kórokozót, felismerték a lovak közötti, valamint a lovak és emberek közötti terjedést. Több felmérésben vizsgált lópopuláció MRSA kimutatása jelentős számú tünetmentes hordozót azonosított, mely súlyos problémát jelenthet a kórokozó visszaszorításában. A hordozás mértéke eltérő lehet, hospitalizált lovak között akár 40%, míg istállón belül elérheti az 50%-ot az inapparensen fertőzött lovak aránya (Sellon és Long, 2014). Számos tanulmány foglalkozott az MRSA prevalenciájával és átlagosan 5-10%-os előfordulási aránnyal találkozhatunk világszerte (Boyen, et al., 2013).

Az első humán MRSA törzs a 8-as clonal complexhez tartozott. A MRSA ST8 törzs erős lóhoz való adaptálódást mutatott kórházi körülmények között, ezentúl a kórokozó képessége egyértelműen szerepet játszott lovak fertőzéseiben. A törzset Kanadán és az USA-n kívül Európa számos országában kimutatták, köztük Írországbán, az Egyesült Királyságban és Németországban is (Cuny, et al., 2010).

A közelmúltban Nyugat-Európában a CC398 törzs kezdett elterjedni lovakban (Sellon és Long, 2014). A törzset franciaországi sertésekből mutatták ki először. Széles körben elterjedt a

nagyüzemi sertésállományokban, illetve egyéb állatfajokban is képes volt tünetmentes fertőzést okozni (Cuny, et al., 2010). Ez a LA-MRSA törzs egyre szélesebb körben terjedt el a kontinensen, mind nagyállat klinikákon, mind az állományokban, egyre jobban kiszorítva az ST8-as típust. A. Van den Eede és munkatársai 2010-es kutatásában a Ghenti Nagyállat Klinikán vizsgált lovak több, mint fele MRSA hordozó volt orrtampon minta alapján, és döntően az ST398 típushoz tartoztak (Van den Eede, et al., 2013).

2.7 HA-MRSA lovakban:

A kórházi MRSA fertőzés vagy tünetmentes hordozás egyre növekvő problémává válik a nagyállat klinikákon, ahogyan ez évtizedekkel korábban már a humán gyógyászatban is megtörtént.

A kórházba érkező lovak rutinszerű MRSA szűrése fontos lenne megelőzés céljából, azonban legtöbb helyen praktikussága és anyagi vonzata miatt nem alkalmazott. Amennyiben nagyszámú kolonizált ló érkezik a klinikára, a pozitív lovak elkülönítése nehezen megoldható, ezért a kórházi fertőzések megelőzése céljából a legfontosabb az, hogy csökkentsük a kórokozóval való érintkezés lehetőségét (Weese, et al., 2006).

S. aureus kolonizációjának vizsgálata több szempontból is fontos. MRSA hordozó lovakban szignifikánsan nagyobb valószínűséggel alakult ki klinikai fertőzés felvételkor, a nem hordozó lovakhoz képest (Weese, et al., 2006), emellett a kórházi környezetet is kontaminálják. Az MRSA kórházi körülmények között állatról emberre és emberről állatra is terjedhet, valamint a felületeken hónapokig túlélhet (Hoet, et al., 2011). A S. aureus akár 7 hónapig is képes perzisztálni ragályfogó tárgyakon (Kramer, et al., 2006). Az Ontariói egyetemi lóklinikán, egy MRSA fertőzések megszorodása miatt felmérő vizsgálat megmutatta, hogy az állatkórházi környezetben a legszennyezettebb területek a fertőzött lovak boxai, az állatorvosi felszerelések valamint a fékező eszközök (pipa). (Weese, 2004).

A klinikai közösségi szobák (konyha, étkező, pihenő szobák) hasonlóan szennyezettek lehetnek, rámutatva arra, hogy a klinikán belül a személyzet terjesztheti a kórokozókat (Van Duijkeren, et al., 2010). A kezelő személyzet, valamint az állatorvosok ruhái nagy eséllyel válnak MRSA kontaminálttá. A munkaruházat szerepe, hogy a személy bőre vagy a munkaruházat alatti ruhák ne legyenek szennyezettek, de kórházon belül így is képes a kórokozót egy lóról a másikra átvinni. Különböző MRSA szennyezettség szempontjából legfontosabbak a zsebek. Az átvitel megelőzése és mérséklése szempontjából fontos a kézfertőtlenítés, azonban a ruházat gyorsan újrakontaminálhatja a már fertőtlenített kezét, illetve a kesztyűt annak viselésekor. Amennyiben a ruházatot kórházból való távozáskor nem cserélik, úgy a kórokozó a közösségbe is kikerülhet

(Singh, et al, 2013).

Járványtani szempontból három kritikus pont emelhető ki: az MRSA fertőzések megelőzése, a fertőzött lovak kezelése, valamint a kitörések megállítása. Kórházon belül az MRSA transzmisszió megállítása az elsődleges cél. Tudva, hogy az istállókban akár a lovak fele is MRSA hordozó lehet, a *S. aureus* fertőzések kórokozójának rezisztenciavizsgálata elengedhetetlen. Azokon a területeken, ahol a populációban magas az MRSA előfordulása, ott kórházba való felvételkor a szűrés igen megfontolandó és indokolt lehet. A fertőzöttség megállapításakor a ló elkülönítése kiemelten fontos. Ilyenkor az egész istállói környezetet és a lóval kontaktusba lépő személyeket fertőzöttnek kell tekinteni. Annak ellenére, hogy klinikai tünetekben megmutatkozó MRSA fertőzés csak a lovak kis hányadánál alakul ki, a tünetmentes hordozók aránya emelkedhet, ezért fontos a folyamatos ellenőrzés. A kitörések kezelése szempontjából kritikus a korai diagnózis valamint a minél korábbi elkülönítés (Weese, 2004).

2.8 CA-MRSA lovakban:

A tipizálás és az MRSA prevalenciák összehasonlítása megmutatta, hogy a lovak MRSA törzsei nem minden esetben egyeznek az emberekben előfordulókkal és egyes törzsek sokkal jobban adaptálódtak lovakhoz (Weese, 2004).

Weese és Lefebvre vizsgálata szerint a ló korábbi inapparens fertőzése, az istállóban korábban megállapított fertőzés, az antibiotikumok használata megelőző 30 napban, a csikó intenzív osztályokra történő beutalás valamint a sebészi beavatkozások melletti egyéb kezelések egyaránt kockázati tényezőnek számítottak CA-MRSA kolonizáció szempontjából (Weese és Lefebvre, 2007).

Mivel az inapparens fertőzés kockázati tényező lehet később súlyos klinikai megbetegedésekben, ezért endémiás állományban bizonyos egyedek eradikációjának is lehet létjogosultsága. A hordozó lovakban gyakrabban alakul ki megbetegedés, valamint kontaminálhatják környezetüket, ezáltal veszélyforrásként szolgálnak a többi egyedre, és a velük kapcsolatba kerülő személyekre nézve is (Weese, 2004).

A fertőzött környezet fertőtlenítése igen nehéz feladat. Alapja a telepen levő lovak folyamatos szűrése, a fertőzött lovak elkülönítése, az elkülönített vagy ismeretlen MRSA státuszú lovak védőöltözetben való kezelése, a személyzet szűrése, tisztítás, takarítás valamint a személyi higiénia. Ideális esetben a felsoroltakat alkalmazva a kórokozók száma jelentős mértékben csökkenhet, de bizonyos egyedek hosszú ideig hordozók maradhatnak (Weese, 2004).

2.9 Livestock associated-MRSA

Az intenzív állattartás következtében kialakuló állat-egészségügyi problémák között a *S. aureus* egyre nagyobb jelentőséggel bír. Az állatállományhoz köthető MRSA (LA-MRSA) genomjának feltérképezése megmutatta, hogy a LA-MRSA törzsek különböznek a humán eredetű törzsektől, de rendelkezhetnek közös virulenciafaktorokkal. A LA-MRSA olyan faktorokat is hordoz, melyeknek az állati gazdához való adaptációban van fontos szerepe. A LA-MRSA törzsek számos haszonállatfajhoz adaptálódtak; izolálták őket sertésekből, szarvasmarhából és baromfiból is (Fluit, 2012).

A haszonállatokhoz hasonlóan a lovakban is megjelentek a LA-MRSA törzsek. 2007 márciusa és júliusa közötti időszakban Ghenti Egyetem lóklinikájára érkező 110 ló 10,9%-a volt ST398 hordozó (Van den Eede, et al, 2009).

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1 Vizsgálat helyszíne

Retrospektív vizsgálatunkat a Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar, Lógyógyászati Tanszék és Klinikán végeztük 2014-ben. A klinikára évente közel 800 ló érkezik belgyógyászati, sebészeti és szaporodásbiológiai ellátásra.

2010 és 2014 között a klinikára beérkező eseteket dolgoztuk fel. Vizsgálatunkba azokat az eseteket vontuk be, melyeknél gennyképződéssel járó vagy egyéb klinikai fertőzést állapítottak meg és mintavétel eredményeként *Staphylococcus aureus* izoláltak. A kórházból való távozás utáni események munkánk során nem lettek vizsgálva.

3.2 Adatgyűjtés

Adatainkat 2014 szeptemberében a klinika archívumában található kórlapokból, valamint a Haszonállat-gyógyászati Tanszék és Klinika laboratóriumának archívumából gyűjtöttük a 2010 és 2014 közötti periódusra vonatkozóan. Az alábbi adatokat gyűjtöttük ki: nem; kor; fajta; felvétel indoka: elektív sebészeti beavatkozás, légzőszervi tünetek, emésztőszervi megbetegedés, szövődményes sebgyógyulás, szemvizsgálat, tályogosodás; fertőzésig eltelt idő; gyógyulásig eltelt idő; kórházban töltött idő; fertőzés kimenetele; antibiotikum kezelés a fertőzést megelőző 30 napban; izolált *S. aureus* antibiotikum érzékenysége.

A fertőzéseket 2 fő csoportra bontottuk methicillin/oxacillin érzékenység szerint (nem-MRSA és MRSA). Mivel az izolátumok genotípus vizsgálata nem rutinszerű a klinikán, ezért az eseteket az izolátumok fenotípusos tulajdonságai alapján osztottuk az MRSA és nem-MRSA csoportokba.

A methicillin-rezisztens *S. aureus* fertőzések csoportját további két csoportra bontottuk, hospital acquired MRSA (HA-MRSA) és community associated MRSA (CA-MRSA) a fertőzés megállapításának ideje szerint. Ha a fertőzést a klinikára érkezés követő 48 órán belül vizsgálták, akkor CA-MRSA csoportba, ha 48 órán túl állapították meg akkor HA-MRSA csoportba soroltuk az esetet (Anderson, et al., 2009).

3.3 Mintavétel és tenyésztés

A klinikán bakteriológiai mintavétel történt minden olyan esetben, amikor a klinikai tünetek alapján felmerült az MRSA fertőzés gyanúja. A bakteriológiai vizsgálatra szánt mintákat légcsőből, sebváladékból, tályogtartalomból, szaruhártyáról, bőrfelületről, felső légutakból nyerték.

A minták vizsgálata a Haszonállat-gyógyászati Tanszék és Klinika Diagnosztikai Laboratóriumában (2013. szeptember 1. előtt a Nagyállatklinika Kórbonctani Osztálya) történt. A baktériumtenyésztést véres agaron végezték, aerob körülmények között. 24 órás, 37 °C-on történő inkubálás után a jellegzetes sárga vagy szürkésfehér pigmentet termelő, hemolizáló, kataláz-pozitív, oxidáz-negatív, a tenyészetből készített kenet mikroszkópos vizsgálata alapján szőlőfürtszerűen rendeződő Gram-pozitív coccusok alkotta telepeket *Staphylococcus aureus* törzsként azonosították (Tuboly, 1998). A vizsgált időszak alatt a tenyésztési protokoll nem változott.

3.4 Antibiotikum-érzékenységi vizsgálat

Az izolátumok antibiotikum érzékenységi vizsgálatát korongdiffúziós módszerrel végezték. A lehető leggyorsabb eredményközlés érdekében – amikor lehetséges volt – a primer tenyészetből közvetlenül továbboltottak rezisztencia-vizsgálatra is, az azonosítás további lépéseit ezzel párhuzamosan végezték.

A vizsgált hatóanyagokat a kezelő állatorvos határozta meg. A methicillin-rezisztencia gyanúját korongdiffúziós módszerrel megállapított a methicillin-, oxacillin-, és cefoxitin-rezisztencia alapján állapították meg. Az MRSA gyanús törzseket a NéBiH-ÁDI Molekuláris Biológiai Osztályára küldték tovább, ahol a *mec-A* gén jelenlétének PCR-módszerrel való megállapításával erősítették meg a feltételezett diagnózist. (Brackstad, et al., 1993)

3.5 Statisztikai analízis

A kórlapok adatait Microsoft Excel 2013 táblázatkezelő programba gyűjtöttük össze a 3.2 pontban említett csoportosítás szerint. Az elemzéshez GraphPad QuickCalcs online szoftverét használtuk. Az adatok eloszlását Kolmogorov-Smirnov próbával vizsgáltuk. A leíró statisztika során folytonos adatok esetén átlag±szórás valamint medián (minimum-maximum) lett lejegyezve.

Az összegyűjtött folytonos adatokat az MRSA és nem-MRSA csoport között (kor, fertőzésig eltelt idő, a gyógyulásig eltelt idő és a kórházban töltött idő) a nem-parametrikus Mann-Whitney U próbával (Wilcoxon teszt) vizsgáltuk.

A kategorikus adatok elemzését (túlélés, fertőzést megelőző 30 nap antibiotikum használata és az izolátumok antibiotikum érzékenységének vizsgálata) a két csoport között Fisher-, Khi-négyzet teszttel végeztük. A statisztikai szignifikancia minden próba esetén $p < 0,05$ volt.

4. EREDMÉNYEK

A fertőzések 53,85%-a nem-MRSA és 46,15%-a MRSA volt. Az MRSA okozta fertőzések közül 8 a CA-MRSA (47,05%) és 9 a HA-MRSA (52,94%) csoportba tartozott, egy esetet nem tudunk a két csoportba besorolni, így a HA-MRSA CA-MRSA csoport összehasonlításakor 17 eset eredményeit vettük figyelembe.

4.1 Ivari eloszlás

2010 és 2014 közötti időszak 39 S. aureus eset adatait dolgoztuk fel. A S. aureus fertőzött lovak között 18 herélt (46,15%), 13 kanca (33,33%) valamint 8 mén (20,51%) volt.

4.2 Kor

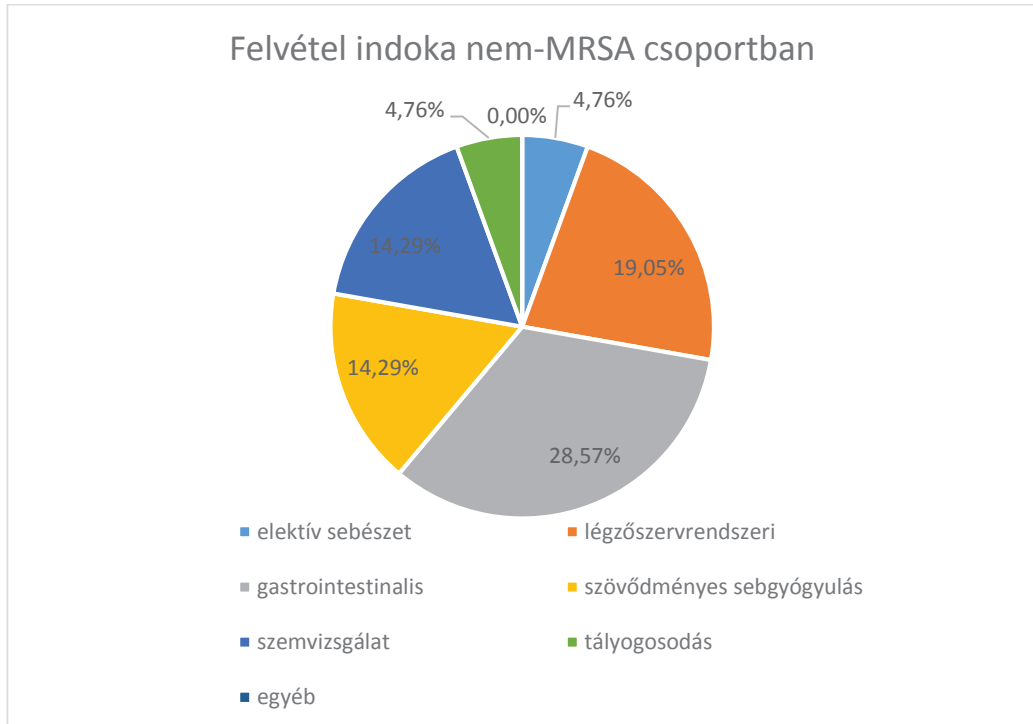
A kor alapján nem találtunk szignifikáns különbséget az MRSA és nem-MRSA csoportok között ($p=0.43$).

	Összes S. aureus	nem-MRSA	MRSA	HA-MRSA	CA-MRSA
minimum(év)	0,083	0,083	1	3	2
maximum(év)	17	17	17	13	17
minta- terjedelem (év)	16,92	16,92	16	10	15
elemszám	39	21	18	9	8
átlag (év)	7,69	7,62	7,78	7,89	8,50
medián(év)	7,00	7	7,50	8	8
szórás	4,648	4,83	4,44	3,35	5,05

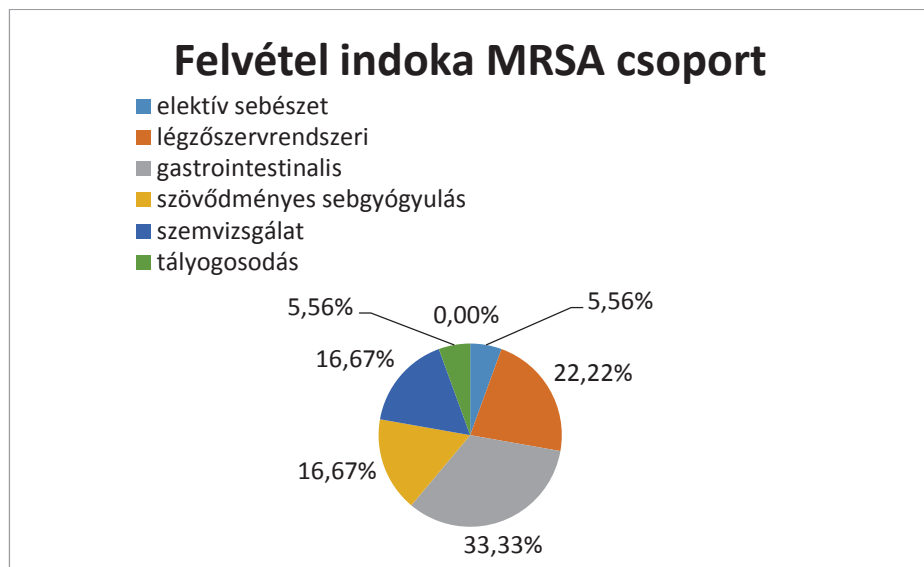
1. táblázat: kor leíró statisztikája a különböző csoportokban

4.3 Felvétel indoka

Az adatok alapján az MRSA csoportban szignifikánsan több emésztőszervi megbetegedés volt (Fisher próba $P = 0,035$).



1. ábra: felvétel indokának gyakorisága nem-MRSA csoporton belül



1. ábra: felvétel indokának gyakorisága MRSA csoporton belül

A HA-MRSA és CA-MRSA csoportok között felvételi indokok gyakorisága között nem találtunk szignifikáns különbséget.

felvétel indoka	HA-MRSA		CA-MRSA		p-érték
	n/N	%	n/N	%	
elektív sebészeti beavatkozás	1/9	11.11	0/8	0,00	1,00
légzőszervrendszeri megbetegedés	2/9	22.22	2/8	25,00	1,00
emésztőszervi megbetegedés	4/9	44.44	2/8	25,00	0,62
szövődményes sebgyógyulás	0/9	0.00	2/8	25,00	0,21
Szemvizsgálat	1/9	11.11	2/8	25,00	0,58
Tályogosodás	1/9	11.11	0/8	0,00	1,00

2. táblázat: egyes felvételi indokok gyakorisága HA-MRSA és CA-MRSA csoportokon belül Fisher-próbával vizsgálva

n = felvételi indok gyakorisága

N = összes eset

4.4 Túlélés

Az eredmények alapján a nem-MRSA csoportban szignifikánsan magasabb volt a túlélés aránya ($p = 0,037$).

	ÖSSZES ESET	NEM-MRSA	MRSA	HA-MRSA	CA-MRSA
ÖSSZES	39	21	28	9	8
ELBOCSÁTÁS	35	21	14	8	5
ELHULLÁS	4	0	4	1	3

3. táblázat: fertőzés kimenetele a különböző csoportokban

4.5 Antibiotikum használat a fertőzést megelőző 30 napban

A kórokozó izolálását megelőző antibiotikum használat szempontjából az MRSA és nem-MRSA csoportok között egyetlen esetben sem volt szignifikáns különbség.

antibiotikum	MRSA n/N	nem-MRSA n/N	p-érték
benzilpenicillin – prokain	3/17	3/18	0,94
cefquinom	4/17	0/18	0,10
metronidazol	4/17	2/18	0,59
klóramfenikol	5/17	3/18	0,52
szulfadiazin+TMP	1/17	0/18	0,49
rifampicin	1/17	1/18	1,00
ciprofloxacín	0/17	1/18	1,00
gentamicin	4/17	3/18	0,69
amoxicillin – klavulánsav	5/17	5/18	0,72
enrofloxacin	2/17	2/18	1,00
oxitetraciklin	1/17	0/18	0,49
doxiciklin	1/17	0/18	0,49
amikacin	1/17	0/18	0,49
cefazolin	1/17	0/18	0,49

4. táblázat: antibiotikum használat a S.aureus izolációt megelőző 30 napban Fisher-próbával vizsgálva

n = kezelt lovak száma N = összes eset

4.6 Antibiotikum-érzékenység

Az MRSA és nem-MRSA csoport közötti antibiotikum-rezisztencia gyakoriságának statisztikai analizését itt is Fisher-féle egzakt próbával végeztük. Az korongdiffúziós tesztek alapján gentamicin (0,0044), enrofloxacin (p=0,0004), oxitetraciklin (p=0,042), cefoxitin (p=0,002) és methicillin (p=0,006) rezisztencia szignifikánsan gyakoribb volt az MRSA csoportban.

antibiotikum	MRSA n/N	nem-MRSA n/N	p-érték
klóramfenikol	1/15	0/12	1,00
rifampicin	0/2	0/3	1,00
gentamicin	9/10	5/17	0,0044
amoxicillin – klavulánsav	6/14	4/15	0,45
enrofloxacin	13/13	6/16	0,0004
oxitetraciklin	13/15	6/13	0,042
doxiciklin	4/4	2/5	0,17
marbofloxacin	4/4	2/6	0,076
cefoxitin	11/11	3/9	0,002
szulfamethoxazol	5/9	2/7	0,36
methicillin	17/17	4/8	0,006
oxacillin	14/14	1/2	0,125
vankomicin	2/3	1/2	1,00

5. táblázat: MRSA és nem-MRSA csoport antibiotikum-rezisztencia gyakoriságának vizsgálata Fisher-próbával

n = rezisztens N = összes vizsgált

Az MRSA csoporton belül nem volt szignifikáns különbség a CA-MRSA és a HA-MRSA izolátumok antibiotikum-érzékenysége között.

antibiotikum	HA-MRSA		CA-MRSA		p-érték
	n/N	rezisztencia %	n/N	rezisztencia %	
klóramfenikol	0/8	0,00	0/6	0,00	1,00
gentamicin	6/6	100,00	2/3	66,66	0,33
amoxicillin- klavulánsav	5/8	62,50	1/5	20,00	0,27
enrofloxacin	7/7	100,00	5/5	100,00	1,00
oxytetraciklin	8/8	100,00	5/6	83,33	0,20
doxyciklin	2/2	100,00	2/2	100,00	0,20
marbofloxacin	2/2	100,00	2/2	100,00	1,00
cefoxitin	7/7	100,00	3/3	100,00	1,00
szulfamethoxazol- trimetoprim	2/4	50,00	2/4	50,00	1,00

6. táblázat: HA-MRSA és CA-MRSA csoport antibiotikum-rezisztencia gyakoriságának vizsgálata Fisher-próbával

n = rezisztens izolátumok száma

N = az antibiotikumra vizsgált izolátumok száma

4.7 Fertőzésig eltelt idő, fertőzéstől gyógyulásig eltelt idő, kórházban töltött idő

ló száma	fertőzésig eltelt idő (nap)	gyógyulásig eltelt idő (nap)	kórházban töltött idő (nap)
019	0	0	0
020	0	0	0
021	0	0	0
022	0	0	0
023	0	4	4
024	0	1	1
025	0	1	1
026	4	5	9
027	0	9	9
028	0	1	1
029	1	10	11
030	1	4	5
031	0	1	1
032	0	1	1
033	4	6	10
034	0	20	21
035	0	0	1
036	0	1	1
037	5	2	7
038	2	11	13
039	0	3	3

7. táblázat: Fertőzésig eltelt idő, gyógyulásig eltelt idő, kórházban töltött idő a nem-MRSA csoportban

A fertőzésig eltelt idő a nem-MRSA csoportban szignifikánsan rövidebb volt, mint az MRSA csoportban ($p=0,001$), míg a gyógyulásig eltelt napok száma, valamint a kórházban eltöltött napok száma szignifikánsan magasabb volt az MRSA fertőzött lovak csoportjában ($p=0,003$ és $p=0.0004$).

ló száma	fertőzésig eltelt idő (nap)	gyógyulásig eltelt idő (nap)	kórházban töltött idő (nap)
001	0	1	1
002	10	3	13
003	0	6	6
004	1	18	19
005	19	20	39
006	7	7	14
007	11	5	15
008	6	9	16
009	1	0	1
010	7	12	19
011	0	17	17
012	9	31	40
013	5	12	17
014	n.a	n.a	n.a
015	1	35	36
016	0	1	1
017	1	5	6
018	12	14	26

8. táblázat: Fertőzésig eltelt idő, gyógyulásig eltelt idő, kórházban töltött idő az MRSA csoportban

n.a. = nincs adat

5. MEGBESZÉLÉS

Retrospektív vizsgálatunk célja volt, hogy összegyűjtsük, elemezzük és összehasonlítsuk a lovakban előforduló *Staphylococcus aureus* antibiogramok alapján tipizált (MRSA és nem-MRSA) klinikai fertőzéseket. Hipotézisünk volt, hogy az MRSA-val fertőzött lovak hosszabb és költségesebb gyógykezelést igényelnek, túlélési esélyük alacsonyabb, mint egyéb nem-MRSA okozta megbetegedéseknek.

A vizsgálat eredményei szerint a *Staphylococcus* fertőzések jelentkezhettek bármely életkorban, változatos klinikai képpel és súlyossággal. Az állatok életkora 1 hónap és 17 év között változott, azonban az MRSA és nem-MRSA csoportok között nem találtunk szignifikáns különbséget ($p=0.43$) életkor tekintetében. Eredményeink az irodalmi adatokkal hasonlóságot mutatnak (Anderson, et al., 2009).

Korábbi retrospektív vizsgálatok szerint a leggyakrabban az MRSA fertőzés szövődményes sebgyógyulás képében jelentkezik, és szoros összefüggésbe hozható a kórházi tartózkodással (Anderson et al., 2009). Vizsgálatunk eredményei ettől részben eltérnek, hiszen a szövődményes sebgyógyulás aránya mindössze 16,67% (4/39) az MRSA csoportban, míg az irodalmi adatok között ez az arány akár 38%-ot is meghaladhatja. A leggyakoribb felvételi indok a klinikára a légzőszervi megbetegedés volt (11/39, 28,21%). Az MRSA és nem-MRSA csoportok között nem volt szignifikáns különbség a légzőszervi megbetegedések gyakoriságában. MRSA csoporton belül a lovak leggyakrabban emésztőszervi megbetegedéssel kerültek felvételre (6/18). Ez a felvételi indok szignifikánsan gyakoribb volt az MRSA fertőzött lovak esetén ($p=0,035$). Ezek a megbetegedések gyakoriság szempontjából azonban nem különböztek CA-MRSA és HA-MRSA csoportok között. A vizsgálatot megelőző feltevésünk volt, hogy az MRSA fertőzött lovak túlélési aránya alacsonyabb a nem-MRSA csoporthoz képest, azonban a fertőzés súlyossága a nem-MRSA és MRSA törzsek között nem feltétlen különbözik, mivel a *mecA* gén nem virulenciáért, hanem antibiotikum rezisztenciáért felel (Sellon és Long, 2014). A túlélési arány azonban szignifikánsan alacsonyabb volt az MRSA csoportban. Összességében a fertőzések 89,74%-a (35/39) elbocsátással végződött, és mind a négy elaltatás /elhullás (4/18, 22,22%) az MRSA csoportban volt. A négy elaltatott ló közül 3 (75%) emésztőszervi megbetegedés indokával érkezett a klinikára. Mivel a kólikás esetek súlyos megbetegedésnek számítanak, ezért az eredményeink azt is jelenthetik, hogy az alapbetegség vezetett az elaltatáshoz, ezért ez az eredmény fenntartásokkal értékelhető.

A gyógyuláshoz szükséges idő, valamint a kórházban eltöltött napok száma szignifikánsan magasabb volt az MRSA csoportban, melyek a vizsgálat előtti feltételezésünket igazolták. A statisztikai eredmények sok esetben igen meggyőzőek, azonban az esetek alacsony száma miatt (21 nem-MRSA, 18 MRSA) további vizsgálatok szükségesek, hogy, hogy a gyógyulásig eltelt idő és a kórházban töltött napok száma az MRSA fertőzés következtében volt magasabb.

Az antibiotikum kezelés jól ismert kockázati tényező MRSA hordozás szempontjából emberekben, amit a lógyógyászati irodalmi adatok is alátámasztanak (Anderson, et al 2009). Az eredményeink alapján azonban ezt az összefüggést nem tudtuk megerősíteni, mivel az izolációt megelőző 30 nap antibiotikum használata nem különbözött az MRSA és nem-MRSA fertőzések között.

Az MRSA törzsek előtérbe kerülése a lógyógyászati intézményekben növekvő probléma. A béta-laktám antibiotikumok mellett rezisztencia sokszor más antibiotikumokra is kialakul. Figyelembe kell azonban venni, hogy nem minden MRSA törzs rendelkezik rezisztenciával nagyszámú antibiotikum csoportra, sőt előfordulhat az is, hogy a törzs csak béta-laktámokkal szemben rezisztens. Ennek eredményeképp az antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok eredményét szükséges figyelembe venni, az antibiotikum terápia megkezdése előtt, különösen nem életveszélyes fertőzések esetén (Sellon és Long, 2014).

A laboratóriumi feldolgozás során az izolátumok antibiotikum-rezisztenciáját korong diffúziós módszerrel állapították meg. A tanszék laboratóriumában végzett antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok alapján 18 esetet soroltunk az MRSA csoportba. Az izolátumok antibiotikum-érzékenysége változatos képet mutatott. A methicillinre, oxacillinre és cefoxitinre való rezisztencia mellett gentamicin (9/10), enrofloxacin (13/13), oxitetraciklin (13/15) amoxicillin-klavulánsav (6/14) a klóramfenikol (1/15) rezisztenciával is rendelkeztek a csoport tagjai. A methicillin-, oxacillin- vagy cefoxitin-rezisztencia miatt a törzseket minden béta-laktám antibiotikummal szemben rezisztensnek kell tekinteni, akkor is, ha az in vitro eredmények egyes hatóanyagok esetében érzékenységet mutatnak. Esetünkben az amoxicillin-klavulánsav-érzékenység szembevető az MRSA csoportban. Definíciójuk szerint az MRSA törzsek minden béta-laktám antibiotikumra rezisztenciát kell, hogy mutassanak. Ezzel szemben a minták 42,86%-ban érzékenyek voltak, melynek egyik indoka a fenotípusos rezisztenciavizsgálatok specifitása lehet, másrészt, hogy valójában az izolátumok nem rendelkeztek mecA génnel.

A béta-laktám, aminoglikozid, fluorokinolon és tetraciklin antibiotikumokra kialakult rezisztencia erősen szűkíti a kezelési lehetőségeket, azonban a vizsgálatban résztvevő esetek 93,33%-a érzékeny volt klóramfenikolra. A korongdiffúziós tesztek alapján enrofloxacin, oxitetraciklin, gentamicin, cefoxitin és methicillin rezisztencia szignifikánsan magasabb volt az MRSA csoportban. Mint korábban említettük, a rezisztencia önmagában nem okoz súlyosabb klinikai megbetegedést, hatása akkor van a fertőzés kimenetelére, ha a kórokozóval szemben ineffektív antibiotikum kezelést választunk. Meglepő eredmény, hogy a vizsgált minták oxitetraciklinre 46,15%-ban, enrofloxacinra 37,50%-ban, amoxicillin-klavulánsavra 26,67%-ban és gentamicinre 29,41%-ban mutattak rezisztenciát a nem-MRSA csoportban, ami azt mutatja, hogy kiemelt figyelmet kell fordítani az empirikus antibiotikum terápiára.

A klinkán a vizsgált időszak alatt nem volt MRSA szűrés a lovak klinikára érkezésekor, a CA-MRSA és HA-MRSA csoportokat a fertőzés megállapításának ideje szerint állítottuk össze. Későbbi vizsgálatok során a CA-MRSA és HA-MRSA fertőzések elkülönítésére azonban a legalkalmasabb módszer lehet. A két csoport között egyetlen változó esetében sem találtunk szignifikáns különbséget, mindazonáltal az alacsony elemszám csökkenti a statisztikai értékelések erejét, ezzel összefüggésben pedig az ebből levonható következtetések validitását. Ahhoz, hogy stabilabb alapokon nyugvó képet kapjunk a HA-MRSA és CA-MRSA tulajdonságairól, több lóklinika adatait szükséges összevetni.

A fertőzéseknél izolált baktériumok vizsgálatát csak fenotípusos tulajdonságaik alapján végeztük, a mecA gén tipizálása nem történt meg, így annak meglétéről, valamint típusáról nem kaptunk információt. A genotípus meghatározásával a CA-MRSA és HA-MRSA csoportok még pontosabban meghatározhatóak lennének. Jelenleg nem tudjuk, hogy ez befolyásolta-e munkánk eredményét, az esetek MRSA besorolása szempontjából, ezért későbbi vizsgálatok feladata lesz a továbbiakban igazolni az itt közölt eredményeket.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A methicillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) a lógyógyászatban is komoly problémákat okozó kórokozó, amely klinikai és istálló körülmények között egyaránt változatos megjelenésű és súlyosságú megbetegedéseket képes okozni korcsoporttól függetlenül.

Retrospektív vizsgálatunk célja volt, hogy összegyűjtsük, elemezzük és összehasonlítsuk a lovakban előforduló MRSA és nem-MRSA klinikai fertőzéseket. Azt feltételeztük, hogy az MRSA-val fertőzött lovak hosszabb gyógykezelést igényelnek, kórjóslatuk rosszabb, mint egyéb nem-MRSA okozta megbetegedéseknek.

A vizsgált lovak átlag életkora 7,69 év volt (szórás: 4,648; medián: 7,00; minimum 1 hónap, maximum 17 év). A vizsgált esetek 53,8% nem-MRSA, 46,2% MRSA fertőzés volt. Az MRSA csoporton belül 8 illetve 9 egyedet soroltunk CA-MRSA és HA-MRSA csoportba. A leggyakoribb felvételi indok a légzőszervi megbetegedés volt. MRSA csoporton belül az emésztőszervi megbetegedések voltak a leggyakoribbak. Antibiotikum rezisztencia szempontjából a gentamicin-, az enrofloxacin-, és az oxitetraciklin-rezisztencia MRSA esetén szignifikánsan magasabb volt. A kórokozó izolálását megelőző antibiotikum használat alapján nem találtunk összefüggést az MRSA és nem-MRSA csoportok között. A túlélési arány szignifikánsan magasabb volt nem-MRSA fertőzéseknél (21/21), mint az MRSA fertőzéseknél.

Az eredményeink olyan későbbi vizsgálatok alapját képezhetik, melyek részletesebben kívánják vizsgálni az MRSA fertőzéseket kórházi körülmények között. Összességében tehát megállapíthatjuk, hogy az MRSA fertőzések hosszabb kezelést igényelnek, nagyobb eséllyel mutatnak rezisztenciát egyéb antibiotikumokra, valamint a kórjóslat rosszabb nem-MRSA fertőzésekhez viszonyítva.

7. SUMMARY

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is an emerging pathogen both in farm and hospital settings. The severity and the localization of the infection can manifest depending on the pathogenicity of the organism and the immunocompetence of the host.

The aim of our retrospective study was to collect, analyze and compare the MRSA and non-MRSA infections in a clinical environment. Our hypothesis was that the MRSA affected horses require longer treatment and carry worse prognosis than non-MRSA infections.

The mean age of the horses was 7,69 years (SD: 4,648); median 7,00 years;(0,08-17 years). 53,8% of the cases was diagnosed as non-MRSA while 46,2% of the cases as MRSA. The MRSA group was divided into CA-MRSA and HA-MRSA (8 and 9 cases respectively). Regardless of typing respiratory diseases have been most common among the horses admitted, and the MRSA group had gastrointestinal complaints most commonly. The MRSA infection was significantly associated with gentamycin, enrofloxacin and oxytetracyclin resistance. The survival rate in non-MRSA group (21/21) was significantly higher than in the MRSA group (14/18).

Based on these the results, MRSA infections require longer therapy and carry a worse prognosis. However further clinical studies are warranted to obtain stronger evidence and reveal additional information about MRSA infections in horses .

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenek előtt szeretném megköszönni témavezetőmnek **Dr. Tóth Balázsnak**, hogy szakmai odaadásával segítette szakdolgozatom elkészülését, köszönöm a közös munkát, valamint a tudást, melyet szakdolgozatom írása során szereztem.

Köszönöm **Dr. Bodó Gábornak** a Lógyógyászati Tanszék és Klinika vezetőjének, hogy engedélyével hozzájárult a dolgozat elkészítéséhez.

Szeretnék köszönetet mondani mindenkinek, aki bármilyen úton közreműködött dolgozatom elkészítése során.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Tuboly, S. 1998: Állatorvosi járványtan I. Budapest: Mezőgazda Kiadó. p 117-121
2. Sellon, D. C., Long, M. T. 2013: Equine Infectious Diseases, 2nd Edition. St. Louis, Missouri Elsevier; Sanders. p. 278-283.
3. Gergely, L. 2003: Orvosi Mikrobiológia, 2. átdolg. kiad.. Budapest: Alliter Kiadó és Oktatásfejlesztő Alapítvány. p. 137-141.
4. Gyles, C. L., Prescott, J. F., Songer, J. G., Thoen, C. O. 2011: Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals, 4th Edition, Ames, Iowa: Wiley-Blackwell. 2010 p. 75-77.
5. Markey, B., Leonard, F., Archambault, M. Cullinane, A., Maguire, D. 2013: Clinical Veterinary Microbiology, 2nd Edition, St. Louis, Missouri: Elsevier; Mosby. p. 115.
6. Plata, K., Rosato, A. E., Wegrzyn, G. 2009: Staphylococcus as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta Biochimica Polonica* 56. vol. 4. no. p. 597-612.
7. Nishifuji, K., Sugai, M. Amagai, M. 2007: Staphylococcal exfoliative toxins: “Molecular scissors” of bacteria that attack the cutaneous defense barrier in mammals. *Journal of Dermatological Science*. 49. vol. , Issue 1. p 21 – 31.
8. Hiramatsu, K. 1995: Molecular Evolution of MRSA. *Microbiol. Immunol.* 39. vol. 8. no p 531-543.
9. Duerenberg, R. H., Stobberingh, E. E. 2008: The Evolution of Staphylococcus aureus. *Infection, Genetics and Evolution*. 9. vol. p. 747-763.
10. Weese, J. S. 2004: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in horses and horse personnel. *Vet Clin Equine* 20. vol. p. 601-613.
11. Boyen, F., Butaye, P., Haesebrouck, F., Hermans, K., Martel, A., Martens, A., Smet, A. 2013: Methicillin-resistant staphylococci and broad-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae in horses. *Veterinary Microbiology*. 167. vol. p. 67-77.
12. Maree, C.L., Boyle-Vavra, S., Daum, R.S., Mayatoshi, K., Miller, L.G. 2007: Community-associated Methicillin-resistant Staphylococcus aureus Isolates Causing Healthcare-associated Infections. *Emerging Infectious Diseases*. 13. vol. 2. no. p 236-242.
13. Fey, P. D., Boxrud, D. J., Davis, C. C., Hinrichs, S. H., Kreiswirth, B. N., Rupp, M. E., Schlievert, P.M., Said-Salim, B. 2003: Comparative Molecular Analysis of Community-

- or Hospital-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 47. vol., 1. no. p. 196-203.
14. Chambers, H. F. 2001: The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerging Infectious Diseases*. 7. vol. 2. no. p.178-182.
 15. Daum, R. S., David, M. Z. 2010: Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and Clinical Consequences of an Emerging Epidemic. *Clinical Microbiol Rev*. 23. vol. 3. no. p. 616-687
 16. Weber, J. T. 2005: Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Diseases*. 41. vol. 4. suppl. p. 269-272.
 17. Weese, J. S. 2010: Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus* in Animals. *Ilar J* 51. vol 3. no. p. 233-244.
 18. Cuny, C., Friedrich, A., Kozytska, S., Layer, F., Nübel, 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. vol, 2-3 issues, p. 109-117.
 19. Anderson, M. E. C. Aceto, H., Caron, J. P., Holbrook, T. C., Lefebvre, S. L., Moore, B., Morley, P. S., Rankin, S. C., Taylor, D. R., Weese, J. S., Welsh, R. D. 2009: Retrospective multicentre study of methicilli-resistant *Staphylococcus aureus* infections in 115 horses. *Equine Veterinary Journal* 41 vol. 4. no. p. 401-405.
 20. Van den Eede, A. Butaye, P., Dewulf, J., Floré, K., Gasthuys, F., Haesebrouck, F., Hermans, K., Martens, A., Némeghaire, S., Van den Abeele, A., Vanderhaeghen, W. 2013: The nasal vestibulum is the optimal sampling site for MRSA screening in hospitalised horses. *The Veterinary Journal* 197. vol. p. 415-419.
 21. Weese, J. S., Caldwell, F., Kreiswirth, B. N., Low, D. E., Mcgeer, A., Rousseau, J., Willey, B. M. 2006: An outbreak of methicillin –resistant *Staphylococcus aureus* skin infections resulting from horse to human transmission in a veterinary hospital. *Veterinary Microbiology* 11. vol. p 160.164.
 22. Hoet, A. E., Bateman, S., Dyce, J., Gebreyes, W.A., Hillier, A., Johnson, A., Nava-Hoet, R.C., Wittum, T. E.: Environmental Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Veterinary Teaching Hospital During a Nonoutbreak Period. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 11. vol. 6. no. p. 609-615.
 23. Singh, A., Moneith, G. J., Rousseau, J., Walker, M., Weese, J. S. 2013: Methicillin-Resistant *Staphylococcal* Contamination of Clothing Worn by Personnel in a Vetereinary Teaching Hospital. *Veterinary Surgery*. 42. vol. p. 643-648.

24. Fluit, A.C. 2012: Livestock-associated *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 18. vol p. 735-744.
25. Van den Eede, A., Denis, O., Deplano, A., Gasthuys, F., Hermans, K., lipinska, U., Martens, A., Struelens, M. 2009: High occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in equine nasal samples. *Veterinary Microbiology* 133. vol. p. 138-144.
26. Brackstad, O.G, Maeland, K.A., Tveten, Y 1993: Multiplex polymerase chain reaction for detection of genes for *Staphylococcus aureus* thermonuclease and methicillin resistance and correlation with oxacillin resistance. *APMIS* 101. vol. 9. no. p. 681-688.
27. Rousseau, J. Weese, J.S. 2005: Attempted eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonisation in horses on two farms. *Equine Veterinary Journal* 37. vol 6. no. p. 510-514.