

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**MAGYARORSZÁGON IZOLÁLT  
ÁLLATI EREDETŰ METICILLIN REZISZTENS  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* TÖRZSEK  
JELLEMZÉSE**

Albert Ervin

Témavezető:

Dr. Biksi Imre



Állatorvostudományi Egyetem  
Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2023

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....

Biksi Imre, Ph.D.  
*egyetemi docens, egységvezető*  
Állatorvostudományi Egyetem  
Patológiai Tanszék  
Haszonállat Diagnosztikai Központ  
*témavezető*

Vincent Perreten, Ph.D.  
Berni Egyetem (Svájc)  
Állatorvosi Kar  
Állatorvosi Bakteriológiai Intézet  
*témabizottsági tag*

Dán Ádám, Ph.D.  
SCG Diagnosztika Kft.  
*témabizottsági tag*

Sipos Rita, Ph.D.  
Eurofins BIOMI Kft.  
*témabizottsági tag*

Micsinai Adrienn, Ph.D.  
Eurofins BIOMI Kft.  
*témabizottsági tag*

.....

Albert Ervin

# 1. A vizsgálat céljai és előzményei

## 1.1 Bevezetés

A *Staphylococcus aureus* világszerte elterjedt fakultatív patogén baktérium, amelyet az emberi és háziállatos emlőspopulációk 10-30%-a tünetmentesen hordozhat. A *S. aureus*-szal kapcsolatos kórképek a jóindulatú bőr- és légyszövetfertőzésektől az életveszélyes elhalásos tüdőgyulladásig, az endocarditisig és az osteomyelitisig terjednek. Az antibiotikumok széleskörű alkalmazásával a *S. aureus* (MRSA) meticillin rezisztens változatai napjainkban a legsikeresebb és legismertebb multirezisztens kórokozók közé tartoznak. Az utóbbi időben az MRSA gyorsan terjed számos háziállatfajban is. Így az állattartáshoz köthető (livestock-associated; LA-) MRSA, amely a 398-as klonális komplexhez tartozik, Európa legelterjedtebb klonális vonalává vált. A 2000-es évek elején vált ismertté, hogy ez a klonális vonal Európa számos országának sertésállományában jelen van, és hasonló genotípusú törzseket izoláltak klinikai beteg mezőgazdasági dolgozók mintáiból is. Későbbi vizsgálatok igazolták, hogy ez a klonális vonal emberi eredetű, és megőrizte azt a képességét, hogy sikeresen kolonizálja és megfertőzze az emberi gazdaszervezetet.

## **1.2. A tanulmány céljai**

A 2000-es évek elején történt első leírásuk óta Európa nagy részében széles körben publikáltak olyan tanulmányokat, amelyek az LA-MRSA CC398 törzsek prevalenciáját és zoonotikus potenciálját vizsgálták. Ugyanakkor Magyarországon az LA-MRSA különböző nagyállatfajokban való előfordulásáról és prevalenciájáról továbbra sem állnak rendelkezésre friss adatok. Ezért első célunk az volt, hogy megvizsgáljuk az MRSA előfordulását és populációs genetikáját sertésekben, amely faj az LA-MRSA CC398 törzsek fontos rezervoárja, valamint olyan más kiválasztott háziállatfajokban, amelyekben a staphylo-coccusok fontos kórokozónak tekinthetők (tejelő szarvasmarha és ló).

Állatorvosi jelentőségük mellett az MRSA törzsek potenciális humán egészségügyi kockázatot is jelentenek, és a törzsek emberi gazdaszervezethez való újbóli adaptációja is felmerült. Második célunk az volt, hogy felmérjük az izolált LA-MRSA CC398 izolátumok zoonotikus potenciálját az állati és emberi eredetű törzsek összehasonlításával, a molekuláris epidemiológiai eszközök széles eszköztárát felhasználva.

Az új rezisztenciamechanizmusok megjelenése további kockázatot jelent az olyan kórokozók esetében, amelyek

több gazdafajban is megtelepedhetnek, mint például a *S. aureus*. A humán- és állatgyógyászatban az antimikrobiális szerek alkalmazása közötti átfedés egyes antimikrobiális rezisztencia gének kölcsönös átadásához vezethet a különböző gazdafajok közötti kereszt-fertőződés, valamint a mikrobiomon belüli horizontális géntranszferen keresztül. Így a harmadik cél az izolátumok antimikrobiális rezisztencia profiljának vizsgálata volt, különös tekintettel a mobilis genetikai elemeken kódolt rezisztenciákra.

A vizsgálatok során különös figyelmet szenteltünk a lovaknak, amelyekben az LA-MRSA CC398 főleg kórházi kórokozóként jelent meg Európában, és komoly kihívást jelent a lógyógyászatban. Annak ellenére, hogy egyes klonális vonalak hosszú ideje vannak jelen az európai lóklinikákon, a hazai klinikai jelentőségű, illetve tünetmentesen hordozott törzsek előfordulása és genetikai rokonsága még nem ismert. Negyedik célunk a lovakkal kapcsolatos CC398 törzsek 10 éves periódusban történő vizsgálata volt a Lógyógyászati Tanszék és Klinikán és azon kívül, hogy jobban megértsük a klinika szerepét a hazai lóeredetű MRSA epidemiológiájában.

## **2. A vizsgálat új tudományos eredményei**

### **2.1 Sertéserezdetű MRSA**

Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság a témában végzett alapfelmérése szerint 2008-ban Magyarország 181 vizsgált sertéstelepe közül három volt MRSA-pozitív. Az országban azonban azóta nem készült hasonló hivatalos becslés az MRSA-val kapcsolatban a sertéstartásban. 2019-ben 40 sertéstelep mintázása igazolta, hogy drámai mértékben megnőtt az MRSA előfordulása a magyar sertéságazatban, a vizsgált telepek közül 33 (83%) pozitívnak bizonyult. A kórokozó elterjedésében a – mind a hazai, mind a határokon átnyúló – állatmozgások kulcsszerepét a hazai és más európai izolátumok teljesgenom-szekvenciáinak összehasonlítása erősítette meg. Szintén nagy előfordulási arány (70%) volt megfigyelhető az ezeken a telepeken dolgozó sertés egészségügyi és sertéstenyésztő szakemberek (állatorvosok és telepvezetők) körében. Az izolált LA-MRSA-törzsek kizárólag az állattenyésztéshez köthető 398-as klonális komplexhez tartoztak. A teljesgenom-elemzések szoros rokonságot mutattak ki a legtöbb telepi izolátum, valamint a sertéses szakemberekből és a humán klinikai mintákból származó izolátumok között, ami az LA-MRSA közegészségügyben való megjelenését igazolja. Amellett,

hogy a törzsek zoonotikus potenciálja nagy, kiterjedt antibiotikumrezisztenciájuk is aggodalomra ad okot. A sertésstelepekről izolált törzsek fele legalább hat vizsgált antibiotikummal szemben mutatott rezisztenciát vagy nem vad fenotípust (a béta-laktám antibiotikumokon kívül). A sertésstelepi és humán klinikai izolátumokat vizsgálva, ezek nyolc különböző típusú multidrog-rezisztenciagént hordoztak, többek között a *cfr*-t, amely öt antimikrobiális hatóanyagcsoporttal szemben kódol rezisztenciát.

## **2.2 Tehéntej eredetű MRSA**

Tejelő szarvasmarhákánál a *S. aureus* az egyik legfontosabb fertőző klinikai vagy szubklinikai tőgygyulladást okozó baktérium. Az MRSA okozta tőgygyulladás azonban csak alkalmi megfigyelés és ritkán jelent állomány szintű problémát. A nyers tejből származó MRSA hazai előfordulására vonatkozó legutolsó vizsgálatok a 2000-es évek elején készültek, és mindössze 0–0,6% prevalenciát mutattak. Egy 2017 júliusa és 2018 decembere között végzett passzív surveillance keretében 42 gazdaság tehéntejmintáiból izolált 626 egyedi *S. aureus*-törzset gyűjtöttünk össze és jellemeztünk. A megfigyelés eredményeként három gazdaságból (7,1%) négy (0,5%) MRSA CC398 törzset azonosítottunk. A Nébih Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság (Budapest)

törzsgyűjteményének retrospektív vizsgálatával 27 MRSA-törzset azonosítottunk, amelyek tíz tejgazdaságból származnak. Az izolátumok különböző szekvencia-típusokhoz (ST-k), illetve klonális komplexekhez tartoztak (ST1, ST22, CC97 és ST398). Ezek mindegyike képes kolonizálni és megfertőzni az emberi szervezetet. A legtöbb vizsgált izolátum három vagy több antimikrobiális hatóanyagcsoportra rezisztensnek bizonyult, ezért a törzsek kismértékű gazdaspecificitása, valamint multidrog-rezisztenciája megkívánja az MRSA szerepének és elterjedésének időszakos felülvizsgálatát a magyar tejágazatban.

### **2.3 Lóeredetű MRSA**

Lóeredetű MRSA-t először 2011-ben azonosítottak az Állatorvostudományi Egyetem (Budapest) Lógyógyászati Tanszékén és Klinikáján (LTK), de a lovakból izolált baktériumokat 2009 óta gyűjtik és helyezik el a Diagnosztikai Laboratórium törzsgyűjteményében. Ennek a gyűjteménynek a molekuláris vizsgálatával 2010 és 2018 között olyan járványmeneteket azonosítottunk, amelyeket a lókorházhoz köthető (equine hospital associated; EHA-) CC398-t011-SCC<sub>mecIV</sub> genotípusú MRSA két különböző klonális vonala okozott (L1 és L2 néven jelölve). Az L1 törzseket 2011-ben teljesen felváltották az L2 törzsek, és ez



utóbbi törzsei fokozatosan további olyan rezisztencia- és virulenciagénekre tettek szert a kórházi környezetben, amelyek többségükben mobilis genetikai elemeken kódoltak. A antibiotikumrezisztenciában bekövetkezett változások az adott hatóanyagok kórházi használatához köthetők, ezért a szelektív nyomásra adott evolúciós válasznak tekinthetők. A lóspecifikus leukocidin (LukPQ) megjelenése a klonális vonalon belül egy további lépés a sikeres gazdaadaptáció felé. Ugyanezt az idővel összefüggő mikroevolúciós mintázatot figyeltük meg, amikor más magánállatorvosi praxisok klinikai mintáiból származó MRSA-törzseket, köztük egy további lóklinika (2. lóklinika) mintáit elemeztük retrospektív módon a 2008-2018 közötti időszakra vonatkozóan. Mindez a törzsek közös eredetére utal. A genomikai bizonyítékok mellett egyes esetekben epidemiológiai kapcsolatok is kimutathatók voltak a lovak és a ló klinikák között.

Két látszólag független MRSA-járványmenet megfigyelése ugyanazon L2 genetikai vonal izolálását eredményezte. A járványmenetek 2018-ban a 2. ló klinikán és három kapcsolódó lovardában, valamint 2019-ben egy ménesben zajlottak. Ezekről a járványokról eltekintve a kórokozó vélhetően ritka a klinikán kívüli ló populációban, ugyanis 24 lovardában tartott 325 lóból nem sikerült MRSA-t izolálnunk,

míg az LTK-ra felvett 128 lónak is csak 6%-a hordozott MRSA-törzset. Ezek közül egy kivételével mindegyik az L2 vonalhoz tartozott, ami tovább erősíti a magyar lovakból származó MRSA-törzsek klonális leszármazását.

A lovak gondozói, valamint az állatok környezete az EHA-MRSA jelentős forrása lehet. Mind a klinikákon, mind az érintett lótartó helyeken a személyzet több mint 20%-a hordozta a kórokozót. A környezet erős szennyeződésének szerepét hangsúlyozta az LTK-t elhagyó MRSA-pozitív lovak nagy aránya (47%).

Az izolátumok teljesgenom-alapú összehasonlítása más európai adatokkal megerősítette a magyar L2 izolátumok nagyon szoros rokonságát. Az eredmények a klonális leszármazási vonal feltehetően csak néhány epicentrumban lezajló, fokozatos adaptív mikroevolúcióját, valamint az epicentrumokból a magyarországi lóállományba történő esetenkénti átterjedését jelzik. Ilyen epicentrumok lehetnek a lóklinikán kívül bizonyos intenzív lótartó helyek, pl. ménesek, ahol a kórokozó feldúsulásához szükséges feltételek adóttak.

### **3. A doktori értekezés témájához köthető tudományos közlemények**

#### **A doktori értekezés alapját képező, tudományos folyóiratokban megjelent közlemények**

Albert, E., Sipos, R., Perreten, V., Tóth, Á., Ungvári, E., Papp, M., Dán, Á., Biksi, I.: High prevalence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Hungarian pig farms and genomic evidence for the spillover of the pathogen to humans, *Transbound. Emerg. Dis.*, 2023. Article ID 5540019, 2023.

Albert E., Biksi, I.: Állati eredetű meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* nagyállatokban és haszonállatokban – 1. rész Az MRSA előfordulása és jelentősége lovakban és a lovakkal kapcsolatban lévő emberekben (Irodalmi összefoglaló), *Magy. Állatorvosok Lapja*, 142. 503-512, 2020.

Albert, E., Sipos, R., Jánosi, S., Kovács, P., Kenéz, Á., Micsinai, A., Noszály, Z., Biksi, I.: Occurrence and characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine milk in Hungary, *Acta Vet. Hung.*, 68. 236-241, 2020.

Albert, E., Biksi, I., Német, Z., Csuka, E., Kelemen, B., Morvay, F., Bakos, Z., Bodó, G., Tóth, B., Collaud, A., Rossano, A., Perreten, V.: 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. *Microb. Drug Resist.*, 25. 1219-1226, 2019.

### **Konferenciaközlemények és tudományos előadások**

Albert, E.: Experiences with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* derived from horses in Hungary, XXVII Annual Conference of the Hungarian Association of Equine Practitioners, Balatonkenese, Hungary, 2019.

Albert, E.: A multidrug-resistant bacterium in the Hungarian swine sector, XXVIII. Köves Napok, Egerszalók, Hungary, 2019.

Albert, E., Jánosi, S., Noszály, Z., Sipos., R., Erős, Á., Kelemenová., B., Biksi., I., Szenci, O.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from Hungarian dairy herds in the past 15 years, XVIII Middle-European Buiatrics Congress, Eger, Hungary, 2018.

## **A doktori értekezés témájához köthető egyéb közlemények**

Albert, E., Sahin-Tóth, J., Horváth, A., Papp, M., Biksi, I., Dobay, O.: Genomic evidence for direct transmission of *mecC*-MRSA between a horse and its veterinarian, *Antibiotics*, 12. 408, 2023.

Sahin-Tóth, J., Albert, E., Juhász, A., Ghidán, Á., Juhász, J., Horváth, A., Steward, M. C., Dobay, O.: Prevalence of *Staphylococcus aureus* in wild hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) and first report of *mecC*-MRSA in Hungary, *Sci. Total Environ.* 815. 152858, 2022.

Petróczki, F. M., Pásztor, Á., Szűcs, K. D., Pál, K., Kardos, G., Albert, E., Horváth, B., Ungvári, E., Béri, B., Peles, F.: Occurrence and characteristics of *Staphylococcus aureus* in a Hungarian dairy farm during a control program. *Pathogens*, 10. 104, 2021.

Német, Z., Albert, E., Dán, Á., Balka, G., Szenes, Á., Sipos, R., Bódizs, S., Biksi, I.: Genomic analysis of *Staphylococcus aureus* strains originating from Hungarian rabbit farms reinforce the clonal origin of various virulence types. *Animals*, 10. 1128, 2020.

Német, Z., Albert, E., Nagy, K., Csuka, E., Dán, Á., Szenci, O., Hermans, K., Balka, G., Biksi, I.: Virulence type and tissue tropism of *Staphylococcus* strains originating from Hungarian rabbit farms. Vet Microbiol., 193. 1-6, 2016.