

PREVALENCE METHICILIN REZISTENTNÍCH KMENŮ *S. AUREUS* (MRSA)

Marcela Klimešová, Oto Hanuš, Ludmila Nejeschlebová
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Prevalence of methicilin resistant strains *S. aureus*

Abstrakt

Methicilin rezistentní kmeny *Staphylococcus aureus* se dělí na základě epidemiologických a genetických charakteristik na nemocniční (hospital-acquired, HA-MRSA), komunitní (community-associated, CA-MRSA) a vázané na chov hospodářských zvířat (livestock associated, LA-MRSA). Podle výsledků Evropského centra pro prevenci a kontrolu onemocnění (ECDC) za rok 2011 byl hlášen výskyt MRSA v humánní populaci v ČR 14,5 % (17. místo ze všech 28 zemí), přičemž v roce 1993 byla incidence MRSA v ČR 6,1 %. Vedle výskytu MRSA se v prostředí prvovýroby mléka často izolují rezistentní kmeny *Staphylococcus epidermidis*, které jsou schopné přenášet rezistenci nejen uvnitř druhu, ale i mezidruhově. Naše výsledky potvrzují, že kmeny *S. epidermidis* byly potvrzeny jako nejčastěji rezistentní uvnitř svého druhu, zatímco *S. aureus* byl rezistentní uvnitř druhu pouze ve 4,5 %. Toto zjištění představuje vážný problém neboť koaguláza-negativní stafylokoky se stávají hlavními izolovanými mikroorganismy ve spojení s mastitidním onemocněním

Abstract

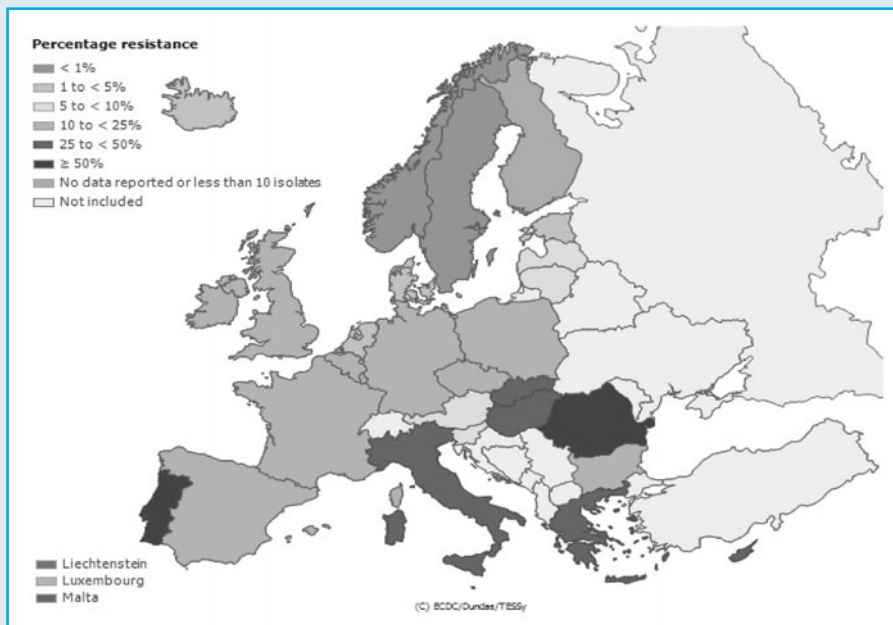
Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains are divided into three groups: hospital-acquired HA-MRSA, community-associated CA-MRSA and livestock-associated LA-MRSA on the basis of their epidemiological and genetic characteristics. According to the results of the European center for disease prevention and control (ECDC 2011) was reported incidence of MRSA in human population in the Czech Republic 14.5 % (17 of 28 countries), while in 1993, the incidence of MRSA in CR was 6.1 %. Next to the occurrence of MRSA in primary milk production, *Staphylococcus epidermidis* are often isolated resistant strains, which are capable of transmitting the resistance not only within a species, but also interspecies. Our results confirm that *S. epidermidis* strains were confirmed as the most resistant inside of its species, while *S. aureus* strains were resistant within a species in only 4.5 %. This finding represents a serious problem, because coagulase-negative staphylococci belong to the most isolated microorganisms related to mastitis disease.

Výskyt bakterií rodu *Staphylococcus* je v prostředí ubikvitární a některé druhy se řadí mezi významné patogeny lidí i zvířat. V humánní medicíně se některé druhy podílí na vzniku infekcí např. *S. haemolyticus* (endokarditida, septikémie, infekce ran, močových cest), *S. sciuri* (závažné onemocnění kůže), *S. warneri* (aborty, záněty endokardu), *S. saprophyticus* (infekce močových cest převážně mladých dívek), *S. xylosus* (infekce močových cest) a *S. epidermidis* (kontaminace protetik, např. umělých chlopní, kloubů, intravaskulárních katétrů, infekce chirurgických ran) (Murray a kol., 1999; Gordon a kol., 2010). Ve veterinární medicíně jsou stafylokoky častými původci různých onemocnění od závažných procesů, abscesů nebo sepsí. Jedná se o druhy *S. sciuri* (závažné onemocnění kůže u prasat), *S. warneri* (abortus) a *S. hyicus* (onemocnění kůže) (Murray a kol., 1999; Chen a kol., 2007). Na onemocnění mléčné žlázy se však nejčastěji podílí *S. aureus*, *S. chromogenes*, *S. hyicus*, *S. haemolyticus* a *S. epidermidis*.

V posledních letech je celosvětově zaznamenáván nepříznivý trend zvyšující se prevalence methicilin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* (MRSA) a v některých státech i k vankomycinu (VRSA) - (Witte a kol, 1997; Boyce, 1990; Le Blanc, 2007; Tenover a kol., 2001; Chang, 2003) nejen v humánní, ale i veterinární medicíně.

Jako první byl rezistentní kmen izolován v roce 1960 nejdříve u člověka, teprve později u zvířat, včetně těch, které jsou určeny k produkci potravin, zejména u prasat. Rezistence k β -laktamovým antibiotikům je způsobena modifikací proteinu PBP2a, který je u stafylokoků kódován genem *mecA*. Je lokalizován na mobilním elementu stafylokokové chromozomální kazety (SCC*mec*) a je horizontálně přenosný. Na základě Rozhodnutí komise ES 2008/55 byla v roce 2008 v zemích Evropské unie provedena první studie o výskytu MRSA v chovech prasat. K vyšetření byly odebrány smíšené vzorky ze stájového prostředí farem prasat (stěry ze zábran mezi kotci). Výsledky monitoringu v České republice prokázaly výskyt MRSA v 1,8 % vzorků (5/283) a všechny izolované kmeny MRSA byly zařazeny do jediného sekvenčního typu ST 398 (Bardoň, 2012). Výsledky za všechny členské státy zatím nebyly souborně publikovány.

Na základě epidemiologických a genetických charakteristik se MRSA kmeny dělí na nemocniční (hospital-acquired, HA-MRSA) a komunitní (community-associated, CA-MRSA). Zástupci obou skupin se od sebe odlišují některými znaky, např. genetickou linií, umístěním a velikostí chromozomální kazety (SCC*mec*) a rezistencí k antimikrobiálním látkám (Karpíšková a kol., 2009). Nedávno byla popsána nová skupina LA-MRSA (livestock associated) kmenů u lidí a dojníc (Holmes a Zadoks, 2011). Tato skupina nese odlišný *mecA* gen označovaný jako *mecA_{LAGA251}* který je lokalizován na chromozomální kazetě SCC*mec* typu-XI. Tyto kmeny náleží ke třem genetickým liniím CC130, CC705 a ST425 a v minulosti byly specifické pro skot. V poslední době jsou však izolovány i v humánním klinickém materiálu. Rozšíření rezistentních



Obr. 1 Mapa výskytu rezistence (MRSA) v evropských zemích (OECD)

kmenů u skotu může být problematické v případě farem s chovem mléčných i masných zvířat. Vzhledem k tomu, že se přenos rezistence děje horizontálně, je šíření rezistentních kmenů možné i prostřednictvím ošetřujícího personálu (Holmes a Zadoks, 2011).

Výskyt methicilin rezistentních kmenů *S. aureus* se stává celosvětovým vážným problémem. Kim a kol. (2003) varují před dramatickým nárůstem HA-MRSA během 10 let v Koreji, které jsou potvrzeny ve více jak 50 % vzorcích. Dall'Antonia a kol. (2005) kontrolovali celkem 680 pacientů, z nichž 56 (8,2 %) bylo nositeli MRSA. Výskyt rezistentních kmenů ve vzorcích od různých druhů zvířat jsou nejčastěji vztaženy k chovu prasat (Voss a kol, 2005; Cui a kol., 2009; Smith a kol. 2009; Larson a kol., 2011).

Podle výsledků Evropského centra pro prevenci a kontrolu onemocnění (ECDC) za rok 2011 byl hlášen výskyt MRSA v humánní populaci v ČR 14,5 % (17. místo ze všech 28 zemí), přičemž v roce 1993 byla incidence MRSA

v ČR 6,1 % (Tabulka 1, Obr. 1). Nejvyšší výskyt MRSA nahlásilo Portugalsko (54,6 %) a nejmenší Norsko (0,3 %). Zajímavý je výskyt na Slovensku, které do roku 2011 nezasílalo žádné údaje o rezistenci. Procentuální výskyt MRSA je v porovnání s ČR vyšší a činí 26,2 %.

Pozornost je nutné věnovat rezistentním kmenům *S. epidermidis*, které jsou schopné přenášet rezistenci nejen uvnitř druhu, ale i mezidruhově (Forbes a Schaberg, 1983). Naše výsledky potvrzují, že kmeny *S. epidermidis* byly potvrzeny jako nejčastěji rezistentní uvnitř svého druhu, zatímco *S. aureus* byl rezistentní uvnitř druhu pouze ve 4,5 %. Toto zjištění představuje vážný problém, neboť CNS se stávají hlavními izolovanými

mikroorganismy ve spojení s mastitidním onemocněním (Moroni a kol., 2005). Naše výsledky však ukazují, že z CNS je nejčastěji izolovaným druhem *S. haemolyticus*. Co se týče *S. epidermidis* (rovněž CNS), lze jej izolovat z povrchu vemene, ale i kůže zvířat a ošetřujícího personálu. Navíc byl u něj potvrzen přenos mezi zvířaty a člověkem (Seguin a kol., 1999), což pro vznik rezistence představuje tento druh vážný problém.

Aby v budoucnu nedocházelo k jejich nadměrnému růstu a šíření rezistentních kmenů, je nutné najít takovou spolupráci mezi chovateli a specializovanými laboratořemi, která by byla efektivní nejen pro ně, ale i pro samotné spotřebitele. Na základě jejich výsledků práce lze doporučit praktickou léčbu mastitid v problémových stádech dojníc především se znalostí výsledku bakteriologického vyšetření a se znalostí citlivosti původce na antibiotika, kterážto metoda byla v posledním období neoprávněně poněkud podceňována. V podstatě to znamená změnu současného rutinního přístupu. K této změně by mělo přispět i řešení navazujícího současného výzkumného projektu, které vychází z uvedených poznatků a vedle změny přístupu k bakteriologickému vyšetřování poruch sekrece mléka si klade za cíl i založení a správu informační databáze o řešení problémů poruch sekrece mléka na mléčných farmách.

(Příspěvek vznikl za podpory projektu MZe NAZV KUS QJ 1210284 a projektu QJ1210301)

Literatura:

- BARDOŇ J., KOLÁŘ M., KARPÍŠKOVÁ R., ŽEMLIČKOVÁ H., FRIDRICHOVÁ M., BAUER P., ŠTÁSTKOVÁ Z., HANULÍK V. (2012): Occurrence and characteristic of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on pig farms in the Czech Republic. *Acta Veter.*, 81(3), 219-223.
- BOYCE J.M. (1990): Increasing prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States. *Infect. Control. Hospit. Epidemiol.*, 11 (12): 639-642.

Tab. 1 Výsledky stanovení obsahu vitamínu A a E

	2008	2009	2010	2011
Česká republika	14,2	14,6	13,5	14,5
Rakousko	8,3	6,2	7,4	7,4
Německo	19,4	18,4	20,8	16,2
Maďarsko	22,5	29,0	30,2	26,2
Malta	55,6	58,8	48,2	49,2
Portugalsko	52,9	49,1	53,4	54,6
Polsko	12,1	20,2	13,1	24,3
Anglie	30,7	27,8	21,6	13,6
Norsko	0,7	0,3	0,5	0,3
Slovinsko	7,2	9,6	12,0	7,1
Bulharsko	25,0	15,8	19,0	22,4
Kypr	45,6	32,6	32,3	41,6
Island	1,6	0,0	1,5	2,8
Slovensko	xxx	xxx	xxx	26,2
Všechny státy	20,1	19,4	18,5	18,7

- CHANG S., SIEVERT D.M., HAGEMAN J.C. (2003): Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *N Engl J Med.* 348: 1342-1347.
- CHEN S., WANG Y., CHEN F., YANG, H. GAN M. ZHENG S. J. (2007): A highly pathogenic strain of *Staphylococcus sciuri* caused fatal exudative epidermitis in piglets. *PLoS ONE* 2(1): e147. doi:10.1371/journal.pone.0000147.
- CUI S., LI J., HU CH., HU CH., JIN S., LI F., GUO Y., RAN L., MA Y. (2009): Isolation and characterisation of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* from swine and workers in China. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 64: 680-683.
- GORDON Y.C., CHEUNG G.Y.C., RIGBY K., WANG R., QUECK S.Y., BRAUGHTON K.R. et al. (2010): *Staphylococcus epidermidis* strategies to avoid killing by human neutrophils. *PLoS Pathog* 6(10): e1001133. doi:10.1371/journal.ppat.1001133.
- HOLMES M. A., ZADOKS R. N. (2011): Methicillin resistant *S. aureus* in human and bovine mastitis. *J. Mamm. Gland Biol. Neopl.*, 16(4): 373-382.
- KARPIŠKOVÁ R., ŠTÁSTKOVÁ Z., KARPIŠKOVÁ S. (2009): Nálezy methicilin rezistentních *Staphylococcus aureus* u zvířat. *Veterinářství*, 59: 34-36.
- KIM H.B., PARK W.B., LEE K.D., CHOI Y.J., PARK S.W., OH M., KIM E., CHOE, K.W. (2003). Nationwide surveillance for *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Korea. *J. Clin. Microbiol.*, 41: 2279-2281.
- LARSON K.R.L., HARPER A.L., HANSON B.M., MALE M.J., WARDYN S.E., DRESSLER A.E., WAGSTROM E.A., TENDOLKAR S., DIEKEMA D.J., DONHAM K.J., SMITH T.C. (2011): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pork production shower facilities. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77 (2): 696-698.
- LE BLANC D.M., REECE E.M., HORTON J.B., JANIS J.E. (2007): Increasing incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hand infections: a 3-year county hospital experience. *Plast. Reconstr. Surg.*, 119 (3): 935-40.
- MORONI P., PISONI G., ANTONINI M., RUFFO G., CARLI S., VARISCO G., BOETTCHER P. (2005): Subclinical mastitis and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus capri* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from two Italian goat herds. *J. Dairy Sci.*, 88: 1964-1704.
- MURRAY P.R., BARON E.J., PFALLER M.A., TENOVER F.C., YOLKEN R.H. (1999): *Manual of clinical microbiology*. 7th edition. American Society for Microbiology, 1999.
- SEGUIN J.C., WALKER R.D., CARON J.P., KLOOS W.E., GEORGIE C.G., HOLLIS R.J., JONES R.N., PFALLER M.A. (1999): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a veterinary teaching hospital: potential human-to-animal transmission. *J. Clin. Microbiol.*, 37: 1459-1463.
- SMITH T., MALE M.J., HARPER A.L., KROEGER J.S., TINKLER G.P., MORITZ E.D., CAPUANO A.W., HERWALDT L.A., DIEKEMA D.J. (2009): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain ST398 is present in Midwestern U.S. swine and swine workers. *PLoS One*. 2009, vol. 4, e4258, on-line.
- TENOVER F.C., BIDDLE J.W., LANCASTER M.V. (2001): Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. *Emerg. Inf. Dis.*, 7 (2): 327 - 332.
- VOSS A., LOEFFEN F., BAKKER, J., KLAASSEN C., WULF M. (2005): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg. Inf. Dis.*, 11: 1965-1966.
- WITTE W., KRESKEN M., BRAULKE CH., CUNY CH. (1997): Increasing incidence and widespread dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitals in central Europe, with special reference to German hospitals. *Clin Microbiol Infect.*, 3 (4): 414-422.

Přijato do tisku 4. 11. 2013
Lektorováno 29. 11. 2013

ROZLIŠENÍ KOZÍHO A KRAVSKÉHO MLÉKA POMOCÍ ANALÝZY MASTNÝCH KYSELIN

Ondřej Elich, Markéta Borková, Martina Švejcarová,
Hedvika Dragounová, Miroslav Jangl

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Analysis of fatty acids to the differentiation of goats and cows milks

Abstrakt

Práce se zabývá možností rozlišení kozího a kravského mléka pomocí analýz profilů mastných kyselin. Statistickou analýzou hlavních komponent (PCA) byl vytvořen klasifikační model pro rozlišení obou typů mlék. Výsledná rozpoznávací schopnost modelu umožňuje v testovaném souboru vzorků kravského a kozího mléka zařazení mléka do příslušné skupiny v 87 % a zcela chybné zařazení do opačné kategorie pouze v 1,1 % případů.

Abstract

The differentiation of goats and cows milk using analysis of fatty acids profiles was studied in this work. Using the statistical analysis of the main components it was established the classifiable model for differentiation both type of milk. The resulting ability of model offers categorization 87% of milk into relevant group and incorrect categorization into opposite category only in 1.1% examples.

Úvod

V poslední době narůstá poptávka po mléku malých přežvýkavců jako alternativě ke kravskému mléku. Jelikož je mléko důležitou součástí stravy a zdrojem mnoha důležitých makro a mikronutrientů, jsou tato alternativní mléka důležitá nejen pro možnost zpestření stravy běžných konzumentů, ale zejména pro část populace se specifickými výživovými nároky. Složení kozího mléka zejména vlivem lépe stravitelných bílkovin a celkově snížené alergenicity může hrát významnou roli ve stravě dětí a vzhledem k demografickému rozložení společnosti též ve stravě seniorů. S rostoucím zájmem o mléka malých přežvýkavců roste také potřeba získu detailních informací o nutričním složení těchto produktů.

Jednou z nutričně nejdůležitějších součástí mléka je mléčný tuk, který obsahuje potenciálně jak prospěšné tak i rizikové komponenty. Jedná se o pozitivně působící polyenové (PUFA) mastné kyseliny a také nasycené kyseliny s krátkým řetězcem (C4-C10). V poslední době se nejčastěji hovoří o pozitivním působení konjugované linolové kyseliny (CLA), jejímž nejvýznamnějším zdrojem