

mgr Aneta Mroczkowska

Livestock-associated Staphylococcus aureus w Polsce
– nowe zagrożenie dla zdrowia publicznego

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor: prof. dr hab. n. med. Anna Skoczyńska

Promotor pomocniczy: dr n. biol. Joanna Empel

Zakład Epidemiologii i Mikrobiologii Klinicznej, Narodowy Instytut Leków, Warszawa



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2023

STRESZCZENIE

Tytuł: Livestock-associated *Staphylococcus aureus* w Polsce – nowe zagrożenie dla zdrowia publicznego

Staphylococcus aureus - gronkowiec złocisty, należy do wiodących bakteryjnych czynników etiologicznych zakażeń u ludzi. Szczególnie groźne są zakażenia wywoływane przez szczepy odporne na metycylinę (MRSA), należące z definicji do szczepów wielolekoopornych i klasyfikowane jako tzw. patogeny alarmowe. Przez kilkadziesiąt lat występowanie szczepów MRSA ograniczone było do środowiska szpitalnego (HA-MRSA). Pierwsze doniesienia literaturowe o zakażeniach wywołanych przez pozaszpitalne szczepy MRSA (CA-MRSA) u ludzi pojawiły się w latach 90. XX w. Kilka lat później uwagę zwrócił wzrost odsetka bezobjawowego nosicielstwa *S. aureus* wśród osób mających kontakt z trzodą chlewną. Badania molekularne szczepów *S. aureus* występujących w środowisku zwierząt gospodarskich (LA-SA), w tym trzody chlewnej, wykazały, że należą one do odmiennych linii genetycznych niż te opisywane dotychczas w środowisku szpitalnym i pozaszpitalnym. Wśród szczepów LA-SA wyodrębniono dwa główne kompleksy klonalne, obejmujące zarówno szczepy MRSA jak MSSA: CC398 i CC9. Trzecim kompleksem klonalnym opisywanym wśród LA-SA jest CC30, obejmujący głównie szczepy o typie sekwencyjnym ST433. Szczepy LA-SA są zazwyczaj odporne na tetracykliny, jedne z najczęściej stosowanych antybiotyków w terapii zakażeń u trzody chlewnej. Obserwowany jest także wzrost oporności tej populacji gronkowca złocistego na inne leki przeciwbakteryjne, w tym stosowane w leczeniu zakażeń u człowieka.

Polska jest jednym z największych producentów wieprzowiny w Europie zatem istnieje prawdopodobieństwo, że osoby mające kontakt z trzodą chlewną mogą stanowić w naszym kraju grupę ryzyka nosicielstwa lub zakażenia o etiologii LA-SA oraz być źródłem nowych szczepów *S. aureus* wprowadzanych do środowiska szpitalnego, jak to miało miejsce w innych krajach.

Celem pracy było poznanie struktury populacji izolatów *S. aureus* występujących u trzody chlewnej i ludzi mających z nią kontakt w Polsce, a także oszacowanie rozprzestrzenienia izolatów LA-SA na terenie ferm oraz określenie częstości ich występowania u rolników i lekarzy weterynarii.

Badaniem objęto łącznie 283 izolaty *S. aureus*, przypisane do dwóch grup. W pierwszej grupie przeprowadzono analizę struktury populacji 190 izolatów *S. aureus*

pochodzących z wymazów z nosa od świń i ludzi mających z nimi kontakt (rolnicy i lekarze weterynarii) oraz z próbek kurzu, zebranych na terenie 123 ferm trzody chlewnej w Polsce, w latach 2010-2012. Druga grupa została utworzona ze względu na pojawienie się nowego klonu LA-MRSA na terenie polskich ferm. W grupie tej przeprowadzono analizę 105 izolatów *S. aureus* z kompleksu klonalnego CC30 o wybranych, najczęściej występujących typach *spa* (t021, t318 oraz t1333), pochodzących z różnych zbiorów (2008-2017) od trzody chlewnej i ludzi w celu zbadania tła genetycznego potencjalnego jego zróżnicowania.

Określenie i charakterystykę struktury populacji badanych izolatów prowadzono przy użyciu stosowanych w epidemiologii molekularnej *S. aureus* metod wykorzystujących technikę PCR (m. in. wykrywanie determinant oporności i wirulencji, określanie kompleksów klonalnych i profili fagowych, typowanie elementów *SCCmec*, locus *agr*, MLVF) oraz analizę sekwencji nukleotydowych produktów PCR (typowanie *dru*, *spa*, MLST). Ponadto, dla grupy izolatów z kompleksu klonalnego CC30 przeprowadzono analizę podobieństwa metodą PFGE oraz ocenę zdolności tworzenia biofilmu.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały obecność trzech populacji LA-SA na terenie naszego kraju, należących kolejno pod względem wielkości do kompleksu klonalnego CC398, CC9 i CC30/ST433. Kompleksy te zostały wykryte w 88,8% badanych, *S. aureus* pozytywnych, ferm trzody chlewnej. Wśród nich wyróżniono 72 (38%) izolaty odporne na metycylinę (MRSA). Odsetek rolników, u których wykryto CC398-MRSA wyniósł 3,2%, a lekarzy weterynarii – 10,5%. Wśród izolatów LA-SA z kompleksu klonalnego CC30/ST433 znaleziono nowy, nieopisywany dotychczas na świecie klon MRSA (ST433-t318-*SCCmec* IVa).

Jest to pierwsze i jedyne jak dotąd badanie LA-SA wykonane w naszym kraju na tak dużą skalę, dlatego uzyskane wyniki stanowią istotny wkład do epidemiologii *S. aureus* w Polsce i mogą być traktowane jako punkt wyjściowy do dalszych badań nad strukturą populacji livestock-associated *S. aureus* w różnych środowiskach w naszym kraju. Ponadto, zastosowane w pracy metody analizy molekularnej umożliwiają włączenie uzyskanych wyników do epidemiologii światowej. Możliwość dalszego rozprzestrzeniania się klonów LA-MRSA w populacji ludzkiej, w szczególności w środowisku szpitalnym, stanowi nowe i poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego, które należy monitorować.