

Chorobotwórczość MRSA dla ludzi i zwierząt

TOMASZ BANASZKIEWICZ, HENRYK KRUKOWSKI

Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

Otrzymano 05.06.2013

Zaakceptowano 09.09.2013

Banaszkiewicz T., Krukowski H.

Pathogenicity of MRSA for humans and animals

Summary

The first methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* (MRSA) emerged in the early 1960s after the introduction β -lactamases, semi-synthetic penicillins, such as methicillin. For nearly 30 years the incidence was confined to the hospital environment (hospital-associated MRSA, HA-MRSA), which have a selective advantage over strains of *S. aureus* sensitive to methicillin (methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, MSSA). CA-MRSA strains, as well as hospital strains, are capable of inducing a variety of infections; they are frequently responsible for the initial infection of the skin and soft tissues as well as necrotizing pneumonia. The factors that predispose the occurrence of MRSA are: diabetes mellitus, intravenous drug abuse, chronic hemodialysis, the colonization of the skin lesions, specific immunotherapy, neutropenia, increased IgE level, hemodialysis, surgical wound infections, stays in hospitals and nursing homes. The first reports of MRSA occurring in cattle took place in Belgium in 1972. MRSA strains have also been identified in horses, pigs, dogs, poultry and turtles. The common coexistence of VRE and MRSA can lead to the formation of MDR (multidrug resistant) strains of *S. aureus*. The emergence of multidrug-resistant strains is a major problem for MRSA eradication, and therefore it is necessary to discover antibacterial substances reducing the activity of the pathogens.

Keywords: MRSA, infection, animals, people, eradication

Metycylinooporne szczepy *S. aureus* (methicillin resistant *S. aureus*) zostały po raz pierwszy opisane w 1960 r. Do późnych lat 80. XX w. nie rozprzestrzeniły się znacząco z uwagi na ograniczoną migrację ludności. W XXI w. liczba izolatów MRSA znacząco wzrosła, bowiem 40-60% wszystkich szpitalnych izolatów *S. aureus* stanowiły szczepy MRSA (16). W 2006 r. w USA MRSA był odpowiedzialny za więcej niż 50% wszystkich infekcji skóry i tkanek miękkich (32).

Patogeny potencjał HA-MRSA

HA-MRSA (hospital associated methicillin resistant *S. aureus*) kojarzone są głównie ze środowiskiem szpitalnym (9, 50) i nie posiadają antygenów następującego rodzaju: TSST-1 (toxic shock syndrome toxin-1), SEB, SEC (SE, staphylococcal enterotoxin) (46). Wykazują one oporność na metycylinę i antybiotyki β -laktamowe, co powoduje ich wielooporność i utrudnia leczenie. Czynniki predysponującymi występowanie HA-MRSA są: cukrzyca insulinozależna, nadużywanie iniekcji dożylnych leków, hemodializa, specyficzna immunoterapia, neutropenia, podniesiony poziom IgE, pooperacyjne infekcje ran, przebywanie w szpitalach i domach opieki społecznej (47).

Patogeny potencjał CA-MRSA

CA-MRSA (community associated methicillin resistant *S. aureus*) są poważnym zagrożeniem od

ponad 20 lat. Kojarzone są z atopowymi chorobami skóry i infekcjami tkanek miękkich (SSTI, skin and soft tissue infections) oraz zdolnością do wywołania sepsy, infekcji płucnej o wysokim wskaźniku śmiertelności (martwicze zapalenie płuc, necrotizing pneumonia), martwiczego zapalenia powięzi (necrotizing fasciitis) oraz syndromu szoku toksycznego (toxic shock syndrome, TSS). Czynniki predysponującymi do zakażenia CA-MRSA są: nadużywanie iniekcji dożylnych, terapia antybiotykiem stosowana przez okres dłuższy niż 6 miesięcy, hemodializa oraz cukrzyca (41). Zaobserwowano także występowanie nosicielstwa u 1% populacji bez żadnej z wymienionych przyczyn (16). W obrębie grupy CA-MRSA wyróżniono trzy główne podtypy: USA400, USA300, USA200. Izolaty CA-MRSA USA300 i USA400 oraz ich metycylinowrażliwe odpowiedniki (CA-MRSA, community associated methicillin sensitive *S. aureus*) produkują wysoce zapalne cytolizyny: α -toksyny, γ -toksyny, δ -toksyny oraz leukocydynę Panton-Valentine (PVL). USA 200 produkują małą ilość cytolizyn kosztem wytwarzania TSST-1. USA300 zawiera kasetę SCCmec IV, czym tłumaczy się patogeny charakter tego szczepu. Cechuje je oporność na metycylinę, jednak są umiarkowanie wrażliwe na antybiotyki β -laktamowe (46). Badania przeprowadzone przez Millera i wsp. (31) wykazały, że szczepy CA-MRSA częściej występują u osób z wirusem HIV

niż tych niezainfekowanych (odpowiednio, 14%, 3%). Stwierdzili oni, że grupą ryzyka w odniesieniu do infekcji CA-MRSA są narkomani i bezdomni. Badania przeprowadzone przez Sissolak i wsp. (47) wykazały, że pacjenci z wirusem HIV wykazują wyższe prawdopodobieństwo wystąpienia zmian skórnych w odniesieniu do HIV-negatywnych (odpowiednio, 36,2% i 4,1%). Wyjaśnieniem tego zjawiska jest obniżone stężenie albumin, ilości CD4+ oraz występująca leukopenia. Onorato i wsp. (36) wykazali, że obniżenie koncentracji albuminy może być czynnikiem predysponującym kolonizację MRSA. Badania przeprowadzone przez Sissolak i wsp. (47) nie wykazały podobnej korelacji.

CA-MRSA związany jest z wywołaniem u dzieci głębokiej, miejscowej infekcji szyi (pediatric deep neck space infection) (3). Podstawową różnicą jest obecność kasety SCC (staphylococcal cassette chromosome) typu IV, która warunkuje oporność na antybiotyki β -laktamowe oraz odgrywa marginalną rolę w procesie patogeniczności (5). Obecnie na świecie obserwuje się rozprzestrzenianie klonów ST8 (USA300) z USA do Europy, ST1 (USA400) z USA do Europy i Azji, ST59 (USA1000) z USA do Azji, ST80 z Europy do Azji, ST30 z Oceanii do Europy itd. (50).

Inne typy oporności *S. aureus*

Oprócz szczepów MRSA w 1997 r. pojawiły się szczepy VISA (vancomycin intermediate *S. aureus*), które ewoluowały do VRSA (vancomycin resistant *S. aureus*) posiadających gen *vanA*. Oporność na wankomycynę po raz pierwszy zaobserwowano u enterokoków (VRE vancomycin-resistant enterococci), jednak po dwóch latach nastąpił transfer genu *vanA* znajdującego się na plazmidzie *Enterococcus faecalis* do *S. aureus* (6). Gemmell (17) sugeruje, że podniesiony poziom białek *pbp4* wpływa na obniżenie wrażliwości szczepów *S. aureus* na wankomycynę. Nadprodukcja *pbp4*, wywołana wstawieniem kopii plazmidów do szczepów VISA, spowodowała 2-3-krotne obniżenie wrażliwości na wankomycynę. Colacite i wsp. (8) zidentyfikowali, w wyizolowanych z wody szczepach *S. aureus*, bakterie odporne na oksacylinę (NORSA – non-multiresistant oxacilin resistant *S. aureus*), które wykazują zwiększone powinowactwo do abiotycznych powierzchni.

Chorobotwórczość *S. aureus* dla ludzi

S. aureus jest powszechnym komensalem kolonizującym błony śluzowe u 30-70% populacji ludzkiej na świecie (39). Gronkowce są zaliczane do organizmów oportunistycznych, które w sprzyjających warunkach wywołują objawy chorobowe. Z uwagi na powszechną kolonizację błon śluzowych gardła, pochwy czy odbytu, uszkodzona skóra lub pęknięte naczynia krwionośne mogą być wrotami umożliwiającymi zainfekowanie organizmu (40). Najwyższy stosunek nosicielstwa (80-100%) wykazano u noworodków około 10. dnia

życia. Około 1.-2. r.ż. nosowe nosicielstwo zmniejsza się do 20%. Ustalono, iż *S. aureus* może rozprzestrzenić się poprzez kontakt bezpośredni, zanieczyszczone środowisko oraz dyspersje aerozolem (7). Nosicielstwo *S. aureus* może mieć charakter okresowy (20-70% populacji) lub stały (10-20%) (54). Większość dzieci jest nosicielami stałymi, podczas gdy dorośli wykazują tendencję przemijającą. Modyfikacja nosicielstwa stałego w okresie ma miejsce między 10. a 20. r.ż. Gronkowiec złocisty wywołuje szeroką gamę schorzeń począwszy od łagodnych infekcji skóry (pryszczki, krosty, czyraki, zapalenia mieszków włosowych, ropnie podskórne) do zagrażających życiu chorób (*endocarditis*, *meningitis*, *pneumonie*, syndrom toksycznego wstrząsu, sepsę) (14). Pacjenci z łagodnymi infekcjami skóry cechują się wyższą częstością występowania *S. aureus* niż osoby z nieprzerwaną ciągłością skóry (40). 1/3 pacjentów cierpiących na atopowe zapalenie skóry (AD, atopic dermatitis) zmagają się z infekcją szczepów CA-MRSA (46). Bakteryjna flora skóry osób zmagających się z AD różni się istotnie od fizjologicznej flory osób zdrowych. Nieuszkodzoną skórę kolonizują: mikrokoki, CNS (gronkowce koagulazo-ujemne, coagulase-negative staphylococci), bakterie coryneform i z rodzaju *Propionibacterium*, podczas gdy skóra osób z AD skolonizowana jest przez bakterie powodujące zmiany egzemowe, głównie *S. aureus*. Niektóre dane wskazują, że gronkowiec złocisty może być także obecny na nieuszkodzonych fragmentach skóry (30). Objawami atopowego zapalenia skóry są łuszczenie i zaczerwienienie skóry, gorączka, wzrost ciśnienia tętniczego krwi, co skutkować może szokiem i śmiercią. Choroba jest nasiloną przez czynniki zjadliwości mające charakter superantygenów stymulujących limfocyty B i T do obrony oraz produkcji cytokin, które potęgują proces zapalny skóry. Hoeger i wsp. (23) wykazali, iż 93% dzieci z atopowym zapaleniem skóry posiadało w miejscach zmian chorobowych szczepy *S. aureus*. Międzobrodzki i wsp. (30) wykazali, że 91% szczepów *S. aureus* wyizolowanych ze zmian skórnych wykazuje aktywność proteolityczną za sprawą sekrecji metaloproteinazy (SAMP, *S. aureus* metalloproteinase) oraz proteinazy serynowej (SASP, *S. aureus* serine proteinase). Proteinaza cysteinowa (SACP, *S. aureus* cysteine proteinase), z uwagi na konieczność występowania redukującego środowiska, ma ograniczony wpływ na patogeniczność. Proteinazy są uwalniane pod wpływem operonu *agr* w obrębie mechanizmu „quorum-sensing”. Szczepy CA-MRSA z uwagi na obecność genu PV-luk podejrzewane są o powodowanie pneumonii hemolitycznej u dzieci (18). W przypadku operacji ortopedycznych i kardiologicznych *S. aureus* wywołuje zakażenia pooperacyjne ran, co przekłada się na wtórne infekcje serca (*endocarditis*), kości i stawów (*osteomyelitis*) oraz oczu. Gronkowce częściej wywołują zmiany chorobotwórcze u pacjentów poddawanych hemodializie, przy czym głównym sprawcą w 67-90% jest *S. aureus* (40).

Bursitis, czyli stan zapalny kaletki maziowej, w 80% jest wywołany przez *S. aureus*. Kliniczny obraz składa się głównie z ostrego bólu, opuchlizny i zapalenia w obrębie ścięgien. Czynniki predysponującymi występowanie *bursitis* są: urazy i choroby kaletki, nadużywanie alkoholu, chroniczne obturacyjne choroby płuc, terapia kortykosterydowa, praca w charakterze mechanika, farmera, stolarza, hydraulika. W badaniach przeprowadzonych przez Cea-Pereiro i wsp. (4) na 56 epizodów 47 było wywołanych przez gronkowca złocistego (SAB, *S. aureus* bursitis), 9 przez szczepy NSAB (inne mikroorganizmy niż *S. aureus*, non-*Staphylococcus aureus* microorganisms, non-*S. aureus* bursitis). Zapalenie kaletki wywołane przez NSAB występuje w równym nasileniu przez cały rok (wiosna 36%, lato 27%, jesień 36%), natomiast SAB dominuje w okresie letnim (54%).

AAD (antibiotic associated diarrhea) czyli poantybiotykowe biegunki są często skojarzone z obecnością *Clostridium difficile*, *C. perfringens* oraz *S. aureus*. Przedłużająca się AAD prowadzi do rzekomobłoniastego zapalenia jelit. Flemming i Ackermann (15) przebadali 2727 próbek kału pochodzących od pacjentów cierpiących na AAD. Spośród wszystkich badanych próbek 198 wykazało obecność gronkowca złocistego, a 29 szczepów (14,6%) scharakteryzowano jako MRSA.

Brook (3) podczas swoich badań wysunął wniosek, iż u pacjentów młodszych niż 16 miesięcy występuje podwyższone ryzyko zarażenia *S. aureus* w stosunku do innych bakterii. Gronkowiec złocisty związany jest u dzieci z głęboką, miejscową infekcją szyi sprzężoną z występowaniem CA-MRSA, MSSA (methicilin sensitive *S. aureus*) oraz N-SA (non *S. aureus*) (12). Spośród 136 zaklasyfikowanych pacjentów: 5 cechowało się obecnością flory mieszanej, u 13 pacjentów stwierdzono brak wzrostu mikroorganizmów, u 49 (42%) zdiagnozowano szczep MRSA, u 35 (30%) MSSA oraz u 34 (28%) szczepy N-SA. CA-MRSA (80%) oraz MSSA (83%) zidentyfikowano w części bocznej szyi, w przeciwieństwie do N-SA (56%) bytujących w jej części centralnej (3).

Pierwotne zapalenie szpiku (PSO, primary sternal osteomyelitis) jest rzadką chorobą infekcyjną, która przed 1990 r. nie była wywołana przez *S. aureus*. Rozprzestrzenienie CA-MRSA spowodowało wzrost występowania PSO z 10/100 000 przypadków (1988-1990) do 259/100 000 (1993-1995) (22). Tseng i wsp. (52) po raz pierwszy opisali przypadek chłopca cierpiącego na pierwotne zapalenie szpiku wywołane przez obecność szczepów CA-MRSA, posiadających kasetę SCC typu IV z genem *mecA* oraz brak genów dla toksyny PVL.

Liszajowate pęcherze są przykładem infekcji SSTI (skin and soft tissue infection), powodowanych przez toksyny eksfoliatywne (ET) typu A, B oraz D. Objawami są głównie łuszczenie skóry bez występowania nekrozy oraz reakcja zapalna skóry. ET odgry-

wają rolę proteaz epidermolitycznych, które niszczą desmogleiny 1, co warunkuje rozsuniecie komórek nabłonka i powstanie zmian skórnych w formie pęcherzy (50).

S. aureus powoduje ponadto choroby związane z toksynami: syndrom toksycznego wstrząsu (TSS) wywołwanego przez toksynę TSST-1, gronkowcowe złuszczone zapalenie skóry (SSSS, staphylococcal scalded skin syndrome) oraz długotrwałe, stale nawracające zapalenie przewodu słuchowego (*otitis*) (27). TSS objawia się podwyższoną temperaturą, złuszczeniem naskórka, podwyższeniem ciśnienia, wystąpieniem szoku ogólnoustrojowego. Obecność toksyny TSST-1 powoduje uwolnienie cytokin: TNF, IL-1 (29, 50). Enterotoksyna gronkowcowa (SE) znajdująca się w produktach żywnościowych powoduje wymioty, nudności, skurcze brzucha. Obróbka cieplna żywności zabija drobnoustroje, jednak enterotoksyny są odporne na inaktywację cieplną (24).

Chorobotwórczość *S. aureus* dla zwierząt

Pierwszy komunikat o szczepach MRSA występujących u bydła miał miejsce w Belgii w 1972 r. Kolejne przypadki kolonizacji zdiagnozowano w Pakistanie (2004), Korei (2007) i na Węgrzech (2007). Analiza metodą MLST (multilocus sequence typing) wykazała specyficzność gatunkową szczepów MRSA. W odniesieniu do przeżuwaczy charakterystyczne są sekwencje mikrosateitarnie ST 151, ST 771, ST 130 oraz ST 837 (11). *S. aureus* jest powszechnym sprawcą *mastitis*, co przekłada się na możliwość zakażenia mleka i kontaminacji produktów mlecznych. Głównym rezerwuarem dla patogenów są zainfekowane ćwiartki wymion, ręce dojarzy oraz muchy (35). Podczas rutynowych badań przesiewowych (50 000 prób mleka w ujęciu rocznym) 14 szczepów MRSA ST398 zidentyfikowano w okresie od stycznia do września 2008 r. w 14 różnych stadach krów mlecznych w Holandii. Wszystkie szczepy MRSA były odporne na dwie lub więcej klasy antybiotyków, szczepy te były także PVL negatywne. Większość gospodarstw hodowała jednocześnie świnię i krowy (49). Z kolei Saini i wsp. (45) wykazali tylko jeden izolat MRSA w mleku krów z *mastitis* w fermach krów mlecznych w Kanadzie (częstość występowania: 0,05%). Szczepy MRSA zidentyfikowano także u koni (ST 8, ST 254), świń (ST 398), psów (ST 22), drobiu oraz żółwi (ST 22). U koni jednostkami chorobowymi związanymi z występowaniem szczepów gronkowca złocistego są: SSTI, zapalenie stawów, *osteomyelitis*, *omphalitis* (zapalenie pępownicy). Szczep ST 398 powodujący wysiękowe zapalenie naskórka świń zaobserwowano w Danii (2007), Niemczech (2008), Kanadzie (2008), USA (2008), Portugalii (2009). Konsekwencją kolonizacji zwierząt gospodarskich może być zanieczyszczenie produktów mięsnych związane z rozprzestrzenieniem patogennych szczepów i zatruciami pokarmowymi (11). Badania przeprowadzone przez Que i wsp. (42) wskazują na rolę ClfA

(clumping factor A) oraz FnbpA (fibronectin-binding protein A) w wywoływaniu u szczurów *endocarditis*. Infekcje *S. aureus* u myszy z cukrzycą przyspieszają zapalenie i uszkodzenie śródbłonna, koagulację krwi, wzrost produkcji cytokin, co prowadzi do dysfunkcji układu immunologicznego (51).

Sposoby eradykacji *Staphylococcus aureus*

Oporność na metycylinę, a więc i antybiotyki β -laktamowe, wyznaczyła pierwszy kryzys ery antybiotykowej. Jej początek szacuje się na 1942 r., kiedy to wykształciły się szczepy PRSA (penicillin resistant *S. aureus*). Wzrost liczby infekcji powodowanych przez PRSA spowodował spadek skuteczności tego antybiotyku w okresie 10 lat od jego zastosowania. Rozwiązaniem stała się metycylina – alternatywny antybiotyk β -laktamowy, którego zmierzch nastąpił w 1959 r., czyli wraz ze zidentyfikowaniem szczepów MRSA i powodowanych przez nie infekcji (5). Obecnie MRSA są nie tylko odporne na antybiotyki β -laktamowe, lecz także na inne klasy antybiotyków (44). Wspólna koegzystencja VRE oraz MRSA może doprowadzić do powstania wieloopornych (multidrug resistant, MDR) szczepów *S. aureus* (21). Badania przeprowadzone przez Raju i wsp. (43) na 110 pacjentach pozwoliły na identyfikację 40 klinicznych izolatów *S. aureus*. Z tej liczby 32 (80%) wykazywało wielooporność na więcej niż 8 antybiotyków, a 35% należało do grupy MRSA. Wszystkie szczepy *S. aureus* były odporne na penicylinę, 63% na ampicylinę, 55% na streptomycynę, 50% na tetracyklinę oraz 50% na gentamycynę. Pojawienie się wieloopornych szczepów stanowi poważny problem dla eradykacji, w związku z czym koniecznym staje się odkrycie antibakteryjnych substancji ograniczających aktywność patogenów (20).

Większą aktywność niż antybiotyki β -laktamowe w stosunku do *S. aureus* posiada wankomycyna, która jest ostoją dla pacjentów zmagających się z ciężkimi infekcjami MRSA. U niektórych pacjentów odnotowano zjawisko zmniejszenia stężenia wankomycyny we krwi z uwagi na jej wzmożoną koncentrację w płucach (10).

Obecnie do nowej linii antybiotyków zaliczamy quinupristin-dalfopristin należące do klasy streptogramin B i A, odpowiednio. Powyższe komponenty wykazują działanie synergistyczne, hamując syntezę białek ściany komórkowej. Kliniczne zastosowanie tych antybiotyków może ograniczać fakt powinowactwa do cytochromu P450 (13). Linezolid jest inhibitorem pierwszych etapów syntezy białek, stosowany do leczenia *endocarditis* podczas infekcji HA-MRSA. W 2001 r. zidentyfikowano pierwszy szczep odporny na ten antybiotyk za sprawą mutacji w genie podjednostki rybosomu 23 SrRNA. Związek ten wykazuje jednak działanie toksyczne, powodując zespół serotoninowy, kwasicę mleczanową oraz neutropenię obwodową (13). Innymi antybiotykami wykazującymi potencjał antibakteryjny są: tygecyklina, daptomycyna, dalbawacyna, talawancyna, ceftobiprol (13, 33).

Nowe rozwiązania w leczeniu powinny być łatwo dostępne, tanie, cechować się minimalną ilością efektów ubocznych oraz wysoką skutecznością. Powyższe kryteria spełnia metoda z wykorzystaniem bakteriofagów zabijających bakterie niezależnie od ich antybiotycznej wrażliwości. Bakteriofag P-27/HP, wyizolowany z wody ściekowej, wykazuje aktywność lityczną w stosunku do szerokiej gamy gronkowców. Zaletą takiego rozwiązania jest swoiste ukierunkowanie faga, co ogranicza bakteryjną dysbiozę. Badania wykazały, że myszy zainfekowane *S. aureus* oraz poddane terapii z wykorzystaniem faga przeżywały w 100% w porównaniu z grupą kontrolną, w której śmiertelność sięgała 80% (20).

Lizostafina jest endopeptydazą wytwarzaną przez niepatogenne szczepy gronkowców w odpowiedzi na zakażenie *S. aureus*. Zaliczana jest także do bakteriocyn oraz lantybiotyków. Po raz pierwszy została zidentyfikowana u *S. simulans*. Mechanizm jej działania polega na degradowaniu sieci pentaglicyny w peptydoglikanie, co skutkuje upośledzeniem struktury ściany komórkowej (40). Badania przeprowadzone przez Walencką i wsp. (53) wskazują, że lizostafina może być użyteczną substancją ograniczającą powstanie biofilmu. Działa ona skuteczniej w stosunku do *S. aureus* niż *S. epidermidis* z uwagi na przewagę glicyny w peptydoglikanie. Autorzy stwierdzają, że połączenie oksacyliny z lizostafiną wywołuje efekt synergistyczny. Klein i wsp. (26) wprowadzili do komórek HeLa plazmidowy wektor ekspresyjny (pcDNA 3.1) z genem lizostafiny, uzyskany drogą jego amplifikacji z *S. simulans*. Komórki HeLa-lys spowodowały drastyczne obniżenie żywych, międzykomórkowych izolatów *S. aureus*, co monitorowano poprzez oznaczenie CFU (colony forming unit, jednostka tworząca kolonię, JTK). Kolejnym lantybiotykiem jest nizyna będąca przykładem adaptacji bakteriocyn do celów leczniczych. Lantybiotyk ten wytwarzany jest przez *Lactobacillus lactis* i wywiera toksyczny wpływ na *S. aureus*. Mersacidin, lantybiotyk produkowany przez *Bacillus spp.*, inhibituje syntezę ściany komórkowej MRSA (38).

Wykorzystanie przeciwciał pochodzenia ludzkiego (IVIG, intravenous immunoglobulin) jest strategią nie tylko skierowaną przeciwko *S. aureus*, lecz także jego toksynom. Dotychczas na rynku farmaceutycznym brak jest dostępnej szczepionki przeciwko gronkowcowi złocistemu, stąd bierna immunizacja może uchronić pacjenta przed negatywnymi komplikacjami wynikającymi z infekcji szczepów MRSA. Pozyskanie IVIG odbywa się metodą separacji z czystego osocza krwi zdrowych osób, które posiadają antibakteryjne przeciwciała będące pozostałością po kontakcie z drobnoustrojem (34). Badania przeprowadzone przez Yanagisawa i wsp. (55) wykazały redukcję aktywności hemolitycznej szczepów MRSA ze 100% do 5,5%, inaktywację enterotoksyn A i C oraz TSST-1. Innym rodzajem immunizacji jest uzyskanie przeciwciał

z żółtka jaj kurzych, które wcześniej poddano kontaktowi z patogenem. Badania przeprowadzone przez Guimarães i wsp. (19) polegały na 6-krotnej immunizacji kur rasy White-Leghorn z wykorzystaniem adjuwanta w postaci wodorotlenku glinu. Iniekcja roztworu antygeny miała miejsce ok. 15. tygodnia bezpośrednio do mięśnia piersiowego. Immunoglobuliny uzyskane z żółtek jaj tych kur wykazywały powinowactwo do hodowli bakteryjnych ograniczając ich wzrost.

Kolejną ścieżką walki z gronkowcem złocistym jest mechanizm antywirulentny polegający na neutralizacji czynników wywołujących stany patogene. Przykładem jest zahamowanie syntezy stafyloksantyny, która ułatwia *S. aureus* unikanie odpowiedzi immunologicznej, głównie poprzez ograniczenie kontaktu z neutrofilami wild-type (28). Clumping factor (ClfA), czyli adhezyjna molekula wiążąca fibrynogen może zostać zneutralizowana poprzez zastosowanie IVIG. Aby wytworzyć immunoglobuliny, można wykorzystać podobną do ClfA drożdżowo-adhezyjną proteinę Als3p będącą formą szczepionki (48). Skierowanie przeciwciał przeciwko AIPs (autoinducing peptides), czyli cząstkom sygnałowym szlaku agr, spowodowało złagodzenie infekcji ropnej wywołanej przez *S. aureus* jednak takie podejście wywołało odwrotną modulację ekspresji genów uczestniczących w powstaniu biofilmu, co może pociągnąć za sobą wzrost kolonizacji (37).

Zakłócenie mechanizmu „quorum sensing” powoduje ograniczenie wytwarzania biofilmu. *S. epidermidis* wytwarza proteazę serynową (Esp), która działa hamująco na wytwarzanie agregatów *S. aureus*. Mutant *S. epidermidis* pod względem genu proteazy nie wywołuje efektu ograniczającego powstawanie biofilmu (25).

Podsumowanie

MRSA obejmuje szczepy, które nabyły gen zapewniający im odporność na metycylinę i zasadniczo wszystkie inne antybiotyki beta-laktamowe. Pierwsze metycylinooporne szczepy *Staphylococcus aureus* pojawiły się na początku lat 60. po wprowadzeniu, stabilnych wobec β -laktamaz gronkowcowych, półsyntetycznych penicylin, takich jak metycylina. Chociaż mikroorganizmy te powodują u ludzi te same rodzaje infekcji, jak inne *S. aureus*, stały się odporne na najczęściej stosowane antybiotyki, a leczenie ich może być trudne. Pierwsze szczepy MRSA wykryto u bydła w latach 70. ub. wieku, od tego czasu szczepy MRSA zidentyfikowano także u koni, świń, psów, drobiu oraz żółwi. Oporność na metycylinę, a więc i antybiotyki β -laktamowe, wyznaczyła pierwszy kryzys ery antybiotykowej. Obecnie MRSA są nie tylko odporne na antybiotyki β -laktamowe, lecz także na inne klasy antybiotyków. Wspólna koegzystencja VRE oraz MRSA może doprowadzić do powstania wieloopornych szczepów *S. aureus*. Pojawienie się wieloopornych szczepów stanowi poważny problem

dla eradykacji, w związku z czym koniecznym staje się odkrycie antybakteryjnych substancji ograniczających aktywność patogenów.

Piśmiennictwo

1. Abudu L., Blair I., Fraise A., Cheng K. K.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a community-based prevalence survey. *Epidemiol. Infect.* 2001, 126, 351-356.
2. Bohlius J., Herbst C., Reiser M., Schwarzer G., Engert A.: Granulopoiesis-stimulating factors to prevent adverse effects in the treatment of malignant lymphoma. *Cochrane database of systematic reviews* 2008, (4), CD003189.
3. Brook I.: The Increased risk of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in neck infections in young children. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2012, 14, 119-120.
4. Cea-Pereiro J. C., Garcia-Mejide J., Mera-Varela A., Gomez-Reino J. J.: A comparison between septic bursitis caused by *Staphylococcus aureus* and those caused by other organisms. *Clin. Rheumatol.* 2001, 20, 10-14.
5. Chambers H., DeLeo F. R.: Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009, 7, 629-641.
6. Chang S., Suvert D. M., Hageman J. C., Boulton M. L., Tenover F. C., Pouch Downes F.: Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *N. Engl. J. Med.* 2003, 348, 1342-1347.
7. Chiang F. Y., Climo M.: *Staphylococcus aureus* carriage and health care-acquired infection. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2002, 4, 498-504.
8. Colacite J., Scoaris D., Yamada-Ogatta S., Ueda-Nakamura T., Nakamura C., Dias del Filho B.: Pathogenic potential of *Staphylococcus aureus* strains isolated from various origins. *Ann. Microbiol.* 2011, 61, 639-647.
9. Cox R. A., Conquest C.: Strategies for the management of healthcare staff colonized with epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Hosp. Infect.* 1997, 35, 117-127.
10. Cruciani M., Gatti G., Lazzarini L., Furlan G., Broccoli G., Malena M., Franchini C., Concia E.: Penetration of vancomycin into human lung tissue. *J. Antimicrob. Chemother.* 1996, 38, 865-869.
11. Cuny C., Friedrich A., Kozytka S., Layer F., Nubel U., Ohlsen K., Strommenger B., Walther B., Wieler L., Witte W.: Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) indifferent animal species. *Int. J. Med. Microbiol.* 2010, 300, 109-117.
12. Duggal P., Naseri I., Sobol S. E.: The increased risk of community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* neck abscesses in young children. *The Laryngoscope* 2011, 121, 51-55.
13. Eliopoulos G. M.: Quinupristin-dalfopristin and linezolid: evidence and opinion. *Clin. Infect. Dis.* 2003, 36, 473-481.
14. El-Jakee J., Nagwa A. S., Bakry M., Zouelfakar S., Elgabry E., Gad El-Said W. A.: Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from human and animal sources. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 2008, 4, 221-229.
15. Flemming K., Ackermann G.: Prevalence of enterotoxin producing *Staphylococcus aureus* in stools of patients with nosocomial diarrhea. *Infection* 2007, 35, 356-358.
16. Fluit A. C., Verhoef J., Schmitz F. J.: European SENTRY Participants. Frequency of isolation and antimicrobial resistance of Gram-negative and Gram-positive bacteria from patients in intensive care units of 25 European university hospitals participating in the European arm of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 1997-1998. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2001, 20, 617-625.
17. Gemmell C. G.: Glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus*: is it a real threat? *J. Infect. Chemother.* 2004, 10, 69-75.
18. Gillet Y., Issartel B., Vanhems P., Fournet J. C., Lina G., Bes M., Vandenesch F., Piémont Y., Brousse N., Floret D., Etienne J.: Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Pantone-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* 2002, 359, 753-759.
19. Guimarães M. C., Amaral L. G., Rangel L. B., Silva I. V., Matta C. G., Matta M. F.: Growth inhibition of *Staphylococcus aureus* by chicken egg yolk antibodies. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)* 2009, 57, 377-382.
20. Gupta R., Prasad Y.: Efficacy of polyvalent bacteriophage p-27/hp to control multidrug resistant *Staphylococcus aureus* associated with human infections. *Curr. Microbiol.* 2011, 62, 255-260.
21. Hamilton-Miller J. M.: Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a real and present danger? *Infection* 2002, 30, 118-124.
22. Herold B. C., Immergluck L. C., Maranan M. C., Lauderdale D. S., Gaskin R. E., Vavra S. B., Leitch C. D., Daum R. S.: Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. *JAMA* 1998, 279, 593-598.

23. Hoeger P. H., Lenz W., Boutonnier A., Fournier J. M.: Staphylococcal skin colonization in children with atopic dermatitis: prevalence, persistence, and transmission of toxigenic and nontoxigenic strains. *J. Infect. Dis.* 165, 1992, 1064-1068.
24. Hyun-Jung K., Se-Wook O.: Performance comparison of 5 selective media used to detect *Staphylococcus aureus* in foods. *Food. Sci. Biotechnol.* 2010, 19, 1097-1101.
25. Iwase T., Uehara Y., Shinji H., Tajima A., Seo H., Takada K., Agata T., Mizunoe Y.: *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature* 2010, 465, 346-349.
26. Klein M., Krönke M., Krut O.: Expression of lysostaphin in HeLa cells protects from host cell killing by intracellular *Staphylococcus aureus*. *Med. Microbiol. Immunol.* 2006, 195, 3, 159-163.
27. Kos M. I., Stenz L., François P., Guyot J. P., Schrenzel J.: Immuno-detection of *Staphylococcus aureus* biofilm on a cochlear implant. *Infection* 2009, 37, 450-454.
28. Liu C. I., Liu G. Y., Song Y., Yin F., Hensler M. E., Jeng W. Y., Nizet V., Wang A. H., Oldfield E.: A cholesterol biosynthesis inhibitor blocks *Staphylococcus aureus* virulence. *Science* 2008, 319 (5868), 1391-1394.
29. Manders S. M.: Toxin-mediated streptococcal and staphylococcal disease. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1998, 39, 383-398.
30. Międzobrodzki J., Kaszycki P., Bialecka A., Kasprzowicz A.: Proteolytic activity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the colonized skin of patients with acute-phase atopic dermatitis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2002, 21, 269-276.
31. Miller M., Cespedes C., Vavagiakis P., Klein R. S., Lowy F. D.: *Staphylococcus aureus* colonization in a community sample of HIV-infected and HIV-uninfected drug users. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2003, 22, 463-469.
32. Moran G. J., Krishnadasan A., Gorwitz R. J., Fosheim G. E., McDougal L. K., Carey R. B., Talan D. A.: Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N. Engl. J. Med.* 2006, 355, 666-674.
33. Morgan M.: Treatment of MRSA soft tissue infections: An overview. *Injury* 2011, 42, 11-17.
34. Nakae T., Hirayama F., Hashimoto M.: Neutralizing activity of human immunoglobulin preparation against toxic shock syndrome toxin-1 (in Japanese). *Kansenshogaku Zasshi* 2002, 76, 195-202.
35. Oktavia Salasia S. I., Khusnan Z., Lammler C., Zschock M.: Comparative studies on phenol-and genotypic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in central Java in Indonesia and Hesse in Germany. *J. Vet. Sci.* 2004, 5, 103-109.
36. Onorato M., Borucki M., Baillargeon G., Paar D. P., Freeman D. H., Cole C. P., Mayhall C. G.: Risk factors for colonization or infection due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in HIV-positive patients: a retrospective case-control study. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 1999, 20, 26-30.
37. Otto M.: *Staphylococcal biofilms*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2008, 322, 207-228.
38. Park B., Liu G. Y.: Targeting the host-pathogen interface for treatment of *Staphylococcus aureus* infection. *Semin. Immunopathol.* 2012, 34, 299-315.
39. Peacock S. J., de Silva I., Lowy F. D.: What determines nasal carriage of *Staphylococcus aureus*? *Trends in Microbiology* 2001, 9, 605-610.
40. Polgreen P. M., Herwaldt L. A.: *Staphylococcus aureus* colonization and nosocomial infections: implications for prevention. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2004, 6, 435-441.
41. Price M. F., Carlini M., Houston S., Gentry L. O.: Prevalence of nasal colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in selected patient populations. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2000, 21, 603-605.
42. Que Y. A., Moreillon P. i wsp.: Fibrinogen and fibronectin binding cooperate for valve infection and invasion in *Staphylococcus aureus* experimental endocarditis. *J. Exp. Med.* 2005, 201, 1627-1635.
43. Raju S., Oli A. K., Patil S. A., Chandrakanth K. R.: Prevalence of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in diabetics clinical samples. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2010, 26, 171-176.
44. Rigby K. M., DeLeo F. R.: Neutrophils in innate host defense against *Staphylococcus aureus* infections. *Semin. Immunopathol.* 2012, 34, 237-259.
45. Saini V., McClure J. T., Léger D., Keefe G. P., Scholl D. T., Morck D. W., Barkema H. W.: Antimicrobial resistance profiles of common mastitis pathogens on Canadian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 2012, 95, 4319-4332.
46. Schlievert P. M., Strandberg K. L., Lin Y. C., Peterson M. L., Leung D. Y.: Secreted virulence factor comparison between methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, and its relevance to atopic dermatitis. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2010, 125, 39-49.
47. Sissolak D., Geusau A., Heinze G., Witte W., Rotter M. L.: Risk factors for nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in infectious disease patients, including patients infected with HIV, and molecular typing of colonizing strains. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2002, 21, 88-96.
48. Spellberg B., Ibrahim A. S., Yeaman M. R., Lin L., Fu Y., Avanesian V., Bayer A. S., Filler S. G., Lipke P., Otoo H., Edwards J. E.: The antifungal vaccine derived from the recombinant N terminus of Als3p protects mice against the bacterium *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun.* 2008, 76, 4574-4580.
49. Tavakol M., Riekerink R. G., Sampimon O. C., van Wamel W. J., van Belkum A., Lam T. J.: Bovine-associated MRSA ST398 in The Netherlands. *Acta. Vet. Scand.* 2012, 54, 28.
50. Tristan A., Ferry T., Durand G., Dauwalder O.: Virulence determinants in community and hospital methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Hosp. Infect.* 2007, 65(S2), 105-109.
51. Tsao S. M., Hsu C. C., Yin M. C.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in diabetic mice enhanced inflammation and coagulation. *J. Med. Microbiol.* 2006, 55, 379-385.
52. Tseng M. H., Lin W. J., Teng C. S., Wang C. C.: Primary sternal osteomyelitis due to community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: case report and literature review. *Eur. J. Pediatr.* 2004, 163, 651-653.
53. Walencka E., Sadowska B., Różalska S., Hryniewicz W., Różalska B.: Lysostaphin as a potential therapeutic agent for staphylococcal biofilm eradication. *Pol. J. Microbiol.* 2005, 54, 191-200.
54. Weems J. J., Beck L. B.: Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* as a risk factor for skin and soft tissue infections. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2002, 4, 420-425.
55. Yanagisawa C., Hanaki H., Natae T., Sunakawa K.: Neutralization of staphylococcal exotoxins in vitro by human-origin intravenous immunoglobulin. *J. Infect. Chemother.* 2007, 13, 368-372.

Adres autora: dr hab. Henryk Krukowski, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin; e-mail: henryk.krukowski@up.lublin.pl