

Oznaka poročila: ARRS-CRP-ZP-2012-05/37

## ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH CILJNEGA RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

### A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

#### 1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

|  |  |
|--|--|
| <b>Šifra projekta</b>                          | V4-1080  |
| <b>Naslov projekta</b>                         | Odpornost proti antibiotikom pri bakterijah živalskega izvora  |
| <b>Vodja projekta</b>                          | 12682 Irena Zdovc  |
| <b>Naziv težišča v okviru CRP</b>              | 5.09.08 Sledenje odpornosti bakterij proti protimikrobnim zdravilom v veterinarski medicini  |
| <b>Obseg raziskovalnih ur</b>                  | 1403   |
| <b>Cenovni razred</b>                          | C  |
| <b>Trajanje projekta</b>                       | 10.2010 - 09.2012  |
| <b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>       | 406 Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta   |
| <b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b> | 381 Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta<br>481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta<br>2843 Zavod za zdravstveno varstvo Nova Gorica |
| <b>Raziskovalno področje po šifrantu ARRS</b>  | 4 BIOTEHNIKA<br>4.04 Veterina<br>4.04.02 Animalna patologija in epizootiologija  |
| <b>Družbeno-ekonomski cilj</b>                 | 08. Kmetijstvo   |

#### 2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS<sup>1</sup>

|                   |                  |
|-------------------|------------------|
| <b>Šifra</b>      | 4.03             |
| <b>- Veda</b>     | 4 Kmetijske vede |
| <b>- Področje</b> | 4.03 Veterina    |

#### 3. Sofinancerji<sup>2</sup>

|    |              |                                     |
|----|--------------|-------------------------------------|
|    | Sofinancerji |                                     |
| 1. | Naziv        | Ministrstvo za kmetijstvo in okolje |
|    | Naslov       | Dunjska 22, Ljubljana               |

## B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

### 4. Povzetek projekta<sup>3</sup>

SLO

Odpornost bakterij proti antibiotikom predstavlja v veterinarski medicini velik problem tako pri ekonomskih kot tudi pri ljubiteljskih vrstah živalih. Veterinarji za male živali pogosto ostajajo nemočni pri zdravljenju okužb z bakterijami, proti katerim nimajo na voljo učinkovitih antibiotikov, registriranih za veterinarsko uporabo. Pri živalih, ki so namenjene za prehrano ljudi, imajo velik zoonotični pomen proti meticilinu odporni stafilkoki (LA-MRSA), ki so razširjeni predvsem v rejah prašičev.

V zadnjih letih postajajo problem tudi enterobakterije, ki izločajo betalaktamaze z razširjenim spektrom delovanja (ESBL). Bakterija *E. coli* je pri človeku in drugih toplokrvnih živalih sestavni del komezalne mikrobne združbe prebavnega trakta. Z ustreznim naborom genskih zapisov za dejavnike virulence pa lahko povzroči različne črevesne in zunajčrevesne okužbe. Zdravljenje slednjih je v zadnjem času pogosto oteženo ali celo neuspešno zaradi povečanja števila izolatov, ki izločajo encime ESBL. Potencialni vir odpornih in virulentnih sevov *E. coli* je sodobna živinoreja in posledično hrana živalskega izvora. V naši raziskavi smo primerjali genotipe sevov *E. coli*, ki so bili izolirani iz človeških in živalskih kužnin ter ob zakolu zdravih živali, namenjenih prehrani ljudi. Ugotovili smo, da ima velik delež izolatov iz zdravih živali genske zapise za encime ESBL, predvsem iz skupine CTX-M. Ti izolati imajo nekatere genske zapise za dejavnike virulence, ki so značilni za patogene seve, hkrati pa se v velikem deležu uvrščajo v filogenetsko skupino, ki je povezana z zunajčrevesnimi okužbami pri človeku. Iz naših rezultatov je razvidno, da je hrana živalskega porekla lahko vir odpornih in patogenih sevov *E. coli*, zato je nujno potrebna čim prejšnja poglobljena primerjava in analiza genotipov izolatov iz zdravih in obolelih živali in ljudi ter prehranskih izdelkov živalskega porekla.

Kampilobakterioza je vodilna bakterijska zoonoza v Evropi in drugje po svetu. Odpornost kampilobaktrov proti številnim antibiotikom, še posebej proti kinolonom in makrolidom, kakor tudi pomanjkanje učinkovitih metod za kontrolo širjenja takih sevov predstavlja velik zdravstveni problem in grožnjo za človeštvo. V naši raziskavi smo primerjali podatke o protimikrobni odpornosti človeških in perutninskih izolatov *C. jejuni* v Sloveniji v istih obdobjih.

Človeški izolati *C. jejuni* so bili redko odporni proti gentamicinu in proti eritromicinu, pogosteje pa proti tetraciklinu. Prevalenca proti ciprofloksacinu odpornih humanih sevov je zelo visoka in stabilna. Odpornost perutninskih izolatov *C. jejuni* je bila nizka proti eritromicinu in gentamicinu, visoka pa proti tetraciklinu in še posebej proti ciprofloksacinu.

Vsi omenjeni problemi imajo lahko zelo velik vpliv na zdravje ljudi, zato jih je mogoče reševati le z odgovornim in usklajenim delom vseh vpletenih strok.

ANG

Bacterial resistance to antibiotics represents a major problem in the veterinary medicine and affects both the economic as well as the pet animals. Veterinarians in the small animal practice are often helpless regarding the treatment of bacterial infections, against which there are no effective antibiotics, registered for the veterinary use, available. In the food-producing animals, great zoonotic significance is shown by the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA), spread mainly through the pig population. Recently, *Enterobacteriaceae* capable of producing extended spectrum beta-lactamase (ESBLs) have also gained a particular clinical and epidemiological importance.

*Escherichia coli* is a part of the normal gut microbiota of humans and warm-blooded animals. Strains carrying (encoding for) specific virulence factor genes can cause either intestinal or extra-intestinal infections. Treatment of the latter has recently become

hindered or even unsuccessful due to the increasing number of ESBL-producing isolates. Possibly, the potential sources of resistant and virulent strains are the industrialized animal-food production systems and subsequently the food of animal origin. The aim of our study was to compare genotypes of *E. coli* strains isolated from the human and animal infective material and those from the healthy food-animals at slaughter. Our results corroborated the recent findings showing that a high percentage of food-animal isolates carried genes for enzymes of the CTX-M group. Additionally, these isolates encoded for several virulence factor genes and belonged to the same phylogenetic group as human extra-intestinal pathogenic *E. coli*. This supports the presumption that food of animal origin can be the source of antimicrobial-agent resistant and pathogenic strains.

Campylobacteriosis is the leading bacterial zoonosis in Europe and worldwide. Antimicrobial resistance of campylobacters against antibiotics, especially to quinolones and macrolides, and lack of the adequate measures for the control of spreading of infections from the contaminated food to humans represents a huge public health problem and threat.

The aim of our study was to compare the antimicrobial drug resistance patterns in Slovene *C. jejuni* isolates obtained from humans the same period as those isolated from broilers, broiler carcasses and broiler meat in 2008, 2009 and in 2010, obtained from different sources.

*C. jejuni* was isolated most often from human and broiler samples. Human isolates of *C. jejuni* were rarely resistant to erythromycin and gentamicin, but frequently against tetracycline. The prevalence of ciprofloxacin resistant human strains was very high and stable. Resistance of *C. jejuni* isolated from poultry was low regarding erythromycin and gentamicin, but high regarding tetracycline and especially ciprofloxacin.

All these problems could have a tremendous impact on the human health; therefore, they can be solved only with a responsible and coordinated work of all the involved professions.

#### 5. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu<sup>4</sup>

Raziskava je potekala v okviru samostojnih delovnih skupin za stafilokoke, enterobakterije in kampilobakte. V vsaki delovni skupini so sodelovali raziskovalci iz različnih raziskovalnih skupin oz. ustanov. Predmet proučevanja so bili sevi bakterij, ki so jih imele posamezne raziskovalne skupine v svojih novejših arhivskih zbirkah ali pa so jih pridobile v času raziskave z izolacijo iz različnih kliničnih ali drugih vzorcev ljudi, živali in živil živalskega izvora.

##### A. DELOVNA SKUPINA ZA STAFILOKOKE

Poudarek je bil na proučevanju vzorcev iz rizičnih skupin živali in ljudi, pri katerih je obstajala večja verjetnost, da so nosilci MRSA ali drugih proti meticilinu odpornih stafilokokov (MRS). V naši raziskavi je bil ugotovljen edini primer MRSA pri mački s kroničnim otitisom, kjer sta bila izolirana dva različna fenotipa, vendar sta oba izolata pripadala istemu genotipu (ST 1327, spa t005), ki ga sicer najdemo pri ljudeh, zato menimo, da je bil vir okužbe človek. Pri izoliranih sevih MRSP smo ugotovili različne vzorce odpornosti. Najbolj pogosti so bili sevi, ki so bili poleg proti betalaktamom odporni še proti kinolonom, makrolidom (eritromicin, azitromicin), linkozamidom (klindamicin), aminoglikozidom (gentamicin, neomicin), kombinaciji trimetoprima s sulfonamidom, nekateri pa poleg tega še proti tetraciklinom, razen doksiciklinu.

V okviru projekta smo preučevali rizične skupine ljudi, pri katerih je obstajala večja verjetnost, da so nosilci MRSA in živali, ki so z njimi v tesnem stiku. Pregledali smo nosne brise ljudi in terapevtskih živali, ki obiskujejo ljudi v domovih za ostarele, otroke v bolnišnicah in drugih podobnih ustanovah. Nekateri od njih so imeli v preteklosti stike z ljudmi, okuženimi z MRSA. Pregledali smo 20 brisov ljudi, iz katerih sta bila izolirana 2 seva MSSA, ostali vzorci so bili negativni na stafilokoke. Pregledali 44 brisov nosnic psov, 3 brise sluhovodov in 1 ostružek kože. Vsi vzorci so bili negativni na MRS, vendar smo izolirali 12 izolatov *S. pseudintermedius*. Polovica vseh izolatov (6) je bilo dobro občutljivih za vse testirane antibiotike, 6 pa jih je bilo odpornih proti penicilinom.

Pri veterinarjih in drugih delavcih v ambulantah za male živali, smo pregledali 13 brisov, izolirani pa so bili 3 sevi MSSA (vsi odporni proti penicilinu, 1 sev iMLSb), ostali vzorci pa so bili

negativni. Iz 7 brisov njihovih domačih živali smo izolirali 3 seve *S. pseudintermedius*. (1 odporen proti penicilinom in oksitetraciklinu, in zmanjšano odporen proti doksiciklinu). Pri istih živalih pa sta bila izolirana še 2 seva MRSP, ki sta bila odporna tudi proti kanamicinu, eden pa še proti gentamicinu.

**MRS pri psih in mačkah.** Iz različnih vzorcev smo izolirali 272 sevov stafilokokov, pri katerih smo ugotavljali odpornost proti 28 različnim antibiotikom. Pri psih je bil najpogosteje izoliran *S. pseudintermedius*, ki je bil v večini primerov še dobro občutljiv za antibiotike, vendar pa se pogosteje kot v preteklosti pojavljajo sevi, ki so odporni vsaj proti eni skupini antibiotikov, predvsem penicilinom in eritromicinu. Med izolati MRSP smo našli več različnih rezistotipov, ki se verjetno širijo klonalno. Vsi so imeli ohranjeno občutljivost za glikopeptide (vankomicin, teikoplanin) in mupirocin, ki so rezervni antibiotiki za zdravljenje MRSA pri ljudeh, kar pomeni, da se v veterini še ne uporabljajo oz. zlorabljajo.

**MRSA pri prašičih.** V okviru projektne naloge je bilo pregledanih še 50 brisov nosu prašičev na okuženi fermi, kjer je bila ugotovljena 94% prekuženost živali. Hkrati so bili pregledani še brisi nosu 4 delavcev (vsi pozitivni) in 4 veterinarjev vzorčevalcev (3 pozitivni, 1 negativen) Pri zaposlenih je šlo verjetno za stalno kolonizacijo, pri vzorčevalcih pa za kontaminacijo, ker so bili ob naslednjih dveh pregledih vsi brisi negativni. Pregledani so bili še brisi nosu 5 delavcev v laboratoriju in vsi rezultati so bili negativni na MRSA. Ker so bila po letu 2010 v strokovni literaturi vse pogostejša opozorila o nevarnosti kontaminacije svinjskega mesa, smo leta 2011 v okviru posebne preliminarnе študije, ki jo je omogočila Veterinarska uprava RS pregledali še 60 vzorcev svinjskega mesa, kjer je bila ugotovljena je bila 33% kontaminacija.

Izolati so pripadali različnim spa tipom, med katerimi so najpogostejši t011, t034, t108 in t1245. Ker je večina izolatov (tudi vsi slovenski) odpornih proti tetraciklinu, predvidevajo, da je bila uporaba tega antibiotika verjetno eden izmed selekcijskih dejavnikov.

**MRSA pri govedu, konjih in perutnini.** Preiskali smo mleko 87 klinično zdravih krav (228 vzorcev) iz rej, s pogostejšim stafilokoknim mastitisom. Kljub sicer velikemu številu izolatov *S. aureus* (56%), so bili vsi negativni na MRSA. Negativni na MRSA so bili tudi vzorci 20 krav s kliničnim mastitisom, nosni brisi 76 plemenskih žrebcev (152 vzorcev) in 80 vzorcev perutninskega mesa. Na podlagi teh podatkov sklepamo, da je stanje glede MRSA pri naših mesojedih, perutnini, govedu in konjih zelo ugodno in da te vrste živali verjetno ne predstavljajo vira okužb za ljudi.

## **B. DELOVNA SKUPINA ZA ENTEROBAKTERIJE**

Sevi *E. coli* iz živali in iz okolja so lahko nosilci genov za odpornost, ki se lahko prenesejo na človeku prilagojene patogene seve *E. coli*. Največji problem so sevi, ki izločajo betalaktamaze z razširjenim spektrom delovanja (ESBL) in betalaktamaze AmpC. Za našo študijo smo uporabili seve, ki smo jih izolirali 2011, ko je bilo v Sloveniji opravljeno preliminarno testiranje glede prisotnosti večkratno odpornih bakterij v mesu. Z usmerjeno preiskavo je bilo pregledanih 80 vzorcev perutninskega mesa in *E. coli* tipa ESBL/AmpC je bila izolirana iz več kot 70 % vzorcev. Nasprotno pa v 60 pregledanih vzorcih prašičjega mesa ni bilo ugotovljenih bakterij, ki izločajo ESBL/AmpC. Na podlagi preliminarnih rezultatov je pristojna veterinarska služba za leto 2012 odredila dodatni monitoring na večjem številu vzorcev, ki bo omogočal statistično ovrednotenje stanja.

V raziskavo smo zaradi primerjave z živalskimi izolati vključili 133 človeških arhivskih izolatov *E. coli* ESBL, ki so bili izolirani pri bolnikih z zunajčrevesnimi okužbami. V raziskavo smo vključili tudi 5 arhivskih živalskih kliničnih izolatov ter 72 izolatov, pridobljenih v klavnicah iz vzorcev mesa. Pri vseh izolatih *E. coli* smo prisotnost ESBL določili fenotipsko na osnovi testiranja občutljivosti za indikatorske antibiotike. Testiranje smo opravili z disk difuzijsko metodo in mikrodilucijsko metodo v skladu s priporočili Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Za genotipizacijo smo z verižno reakcijo s polimerazo (PCR) namnožili izbrane genske zapise, kot vzorčno DNA pa smo v vseh primerih uporabili genomsko DNA iz bakterijskih lizatov, ki smo jih pripravili po predhodno opisanem postopku. Humane ExPEC izolate iz obdobja 2000-2007 smo združili v skupino I, humane ExPEC izolate iz obdobja 2008-2010 v skupino II, klinične veterinarske izolate v skupino III, izolate živali iz klavnic pa v skupino

Iz preliminarnih rezultatov sklepamo, da so ESBL pozitivni sevi, izolirani iz bolnih domačih živali in mesa zdravih zaklanih živali, genetsko raznoliki. Čeprav se ne uvrščajo v filogenetsko skupino B2, tako kakor večina izolatov klonalne linije ST131 in drugih virulentnih humanih ExPEC sevov po letu 2006, je zaskrbljujoč visok odstotek (40 %) sevov iz filogenetske skupine D med izolati iz perutninskega mesa. Filogenetska skupina D je bila namreč prevladujoča med slovenskimi humanimi ESBL-ExPEC izolati pred letom 2006. Po letu 2006 se je genetska variabilnost med

humanimi ESBL-ExPEC izolati izrazito zmanjšala zaradi prevlade klonalne skupine ST131 za katero je značilna večkratna odpornost in prisotnost številnih virulenčnih genov. Zaskrbnjuječe je pojavljanje genov iha, flu in usp pri perutninskih izolatih iz filogenetskih skupin A in B1. Človeške izolate iz teh dveh skupin so namreč tradicionalno opredeljevali kot komenzalne seve z majhnim številom genov za dejavnike virulence. Izsledki naše raziskave potrjujejo možnost, da imajo sevi E.coli iz zdravih živali, genske zapise za encime ESBL in dejavnike virulence, značilne za humane ExPEC seve in so torej lahko povzročitelji zunajčrevesnih okužb pri človeku. Ugotovitve bi lahko deloma pojasnile nesorazmerni porast števila sevov v domačem okolju, ki so odporni proti antibiotikom. proti kombinaciji trimetoprima in sulfametoksazola. Jakobsen in sod. so izolirali seve klonalne skupine A iz brojlerjev, piščančjega mesa, zdravih ljudi in ljudi z okužbami urinarnega trakta.

#### C. DELOVNA SKUPINA ZA KAMPILOBAKTRE

Kampilobaktri so bakterije, ki so lahko prisotne povsod v naravi in so del normalne črevesne mikrobiote različnih živali. Okužba le v redkih primerih zahteva zdravljenje z antibiotiki, predvsem z makrolidi ali s kinoloni.

Za našo raziskavo smo uporabili predvsem arhivske izolate človeških in perutninskih kampilobaktrov, ki so bili izolirani v okviru nacionalnih sistemov spremljanja infekcij s *Campylobacter* spp. in protimikrobne odpornosti *C. jejuni* v Sloveniji od 2007 do 2011. Poleg tega smo uporabili tudi arhivske izolate *Campylobacter* spp., ki so bili izolirani na NVI in IMP/VF iz perutninskih vzorcev v okviru različnih predhodnih študij. Sevi so bili izolirani na podlagi standardnih metode za izolacijo bakterij iz blata. Občutljivost sevov za antibiotike smo testirali z mikrodilucijsko metodo za določanje minimalne inhibitorne koncentracije na komercialnih mikrotiterskih ploščah (TREK Diagnostics). Rezultate smo intepretirali po kriterijih EUCAST.. Največ humanih izolatov *C. jejuni* je bilo odpornih proti ciprofloksacinu, ki je drugo zdravilo izbora za zdravljenje kampilobakterioze pri odraslih ljudeh. Ker je kampilobakterioza v Sloveniji najpogostejša bakterijska zoonoza in odpornost slovenskih izolatov *C. jejuni* proti ciprofloksacinu presega 60 %, je ciprofloksacin postal neprimeren za empirično terapijo bakterijskih drisk. Tetraciklin in gentamicin se lahko uporabljata za sistemsko zdravljenje okužb s sevi, ki so odporni proti makrolidom ali fluorokinolonom. Odpornost proti tetraciklinu je bila pri človeških izolatih *C. jejuni* se je od leta 2007, stopnjevala in dosegla 21,5 %. Odpornost proti tetraciklinu pri perutninskih *C. jejuni* je verjetno posledica široke uporabe teh zdravil v rejske namene, kar omejuje možnost uporabe tetraciklinov v humani medicini. Dobro pa je ostala ohranjena občutljivost za gentamicin tako pri humanih kot tudi perutninskih izolatih.

Eritromicin je prvo zdravilo izbora za zdravljenje humane kampilobakterioze. Odpornost proti eritromicinu je povsod v EU in tudi v Sloveniji nizka in ne kaže trenda naraščanja (ne presega 2,5%), zato je eritromicin še vedno učinkovit terapevtik za zdravljenje kampilobakterioze pri ljudeh. Pri perutninskih izolatih *C. jejuni* je v zadnjih dveh letih opazen trend naraščanja odpornosti proti ciprofloksacinu, medtem ko je odpornost proti eritromicinu in gentamicinu stabilno nizka. Potrebno je ugotoviti razloge za visok delež odpornih sevov in omejiti uporabo antibiotikov v reji perutnine. Ciprofloksacin spada v humani medicini med kritično pomembne antibiotike. Odpornost proti fluorokinolonom je začela naraščati po začetku uporabe v veterinarski medicini, zato jo povezujejo s pretirano uporabo pri rejnih živalih. Države, ki so ukinile uporabo protimikrobnih zdravil kot t.i. vzpodbujevalcev rasti pri živalih in so dopustile le izjemno uporabo fluorokinolonov za zdravljenje živali, beležijo padec odpornosti proti kinolonom tako pri humanih kot pri živalskih izolatih.

#### 6. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem in zastavljenih raziskovalnih ciljev<sup>5</sup>

Pridobili smo številne bakterijske izolate (stafilokoki, entrobakterije, kampilobaktri) in ugotovili odpornost posameznih skupin proti rutinsko uporabljanim in indikatorskim antibiotikom. Odporne stafilokoke smo večinoma izolirali iz načrtno odvzetih vzorcev v rizičnih populacijah živali, kjer smo pričakovali večjo stopnjo odpornosti. Pri domačih mesojedih smo sicer pričakovali večje število izolatov MRSA, vendar smo izolirali le en izolat pri mački. Na podlagi ugotovljenega spa tipa, ki je razširjen med ljudmi predvidevamo, da je prišlo do prenosa s človeka na žival in menimo, da psi in mačke niso pomemben vir okužb za ljudi. Neprijetno pa nas je presenetilo zelo visoko število izolatov



MRSP pri psih, še bolj pa njihova izjemna odpornost proti različnim skupinam antibiotikov. Pogosteje se pojavljajo se različne težave pri zdravljenju, ker ni več na voljo učinkovitih antibiotikov za uporabo v veterinarski medicini. Prav tako nas je presenetil velik delež z MRSA koloniziranih prašičev in posledično visoka kontaminacija svinjskega mesa, kar lahko pomeni nevarnost za zdravje ljudi.

Enterobakterije oz. *E. coli* tipa ESBL/ampC smo izolirali le iz posameznih kliničnih vzorcev, kar nakazuje, da so ti sevi s stališča zdravja živali zaenkrat še manj pomembni. Vendar pa je prevalenca izjemno visoka v rejah perutnine in posledično tudi v piščančjem mesu. To pa pomeni neposredno nevarnost za zdravje drugih živali in predvsem ljudi. Poleg tega je velik delež teh izolatov odporen tudi proti kinolonom in drugim skupinam antibiotikov.

Sevi kampilobaktrov so bili človeškega in perutninskega izvora, večinoma pa smo jih pridobili iz novejših arhivskih zbirk. Podobno kot pri prvih dveh skupinah nas je presenetila očitna strmo naraščajoča odpornost proti kinolonom.

Pri delu smo uporabljali moderne in zanesljive diagnostične metode, ki vključujejo izolacijo bakterij na kromogenih selektivnih gojiščih in testiranje odpornosti z mikrodilucijsko metodo. Posodobili smo molekularne metode za dokazovanje genov za odpornost, determinante patogenosti in molekularno tipizacijo sevov. Zaradi pojava novih oblik odpornosti smo dopolnili ali modificirali že uvedene metode. Pri dokazovanju MRSA smo uvedli dodatno testiranje za gen *mecC* (poleg *mecA*), ki je odgovoren za nov tip MRSA pri ljudeh in govedu. Na IMP/VF smo uvedli spa tipizacijo in metodo PFGE za tipizacijo *S. pseudintermedius*.

Na podlagi dobljenih rezultatov smo dobili dober posnetek stanja glede odpornosti posameznih skupin živalskih bakterij proti antibiotikom in na tej osnovi smo izdelali več priporočil za uporabo antibiotikov v veterinarski medicini (splošne smernice, za ljubiteljske vrste živali, za rejne živali ipd.).

Svoje ugotovitve smo že predstavili v številnih strokovnih in znanstvenih člankih, nekaj prispevkov pa je še v pripravi oz. v postopku sprejemanja. Izdelana je bila tudi doktorska disertacija s področja odpornosti bakterij.

### 7. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine<sup>6</sup>

Cilji so bili doseženi v celoti, v nekaterih vsebinskih sklopih pa celo preseženi. V času trajanja projekta je namreč problematika odpornih živalskih bakterij začela dobivati izjemne razsežnosti tudi pri rejskih živalih. Tako so odporne bakterije začele neposredno vstopati tudi v prehransko verigo in tako pridobile zoonotični pomen. Zaradi tega smo preiskavo razširili tudi na pregled mesa (prašičjega mesa glede MRSA in perutninskega mesa glede ESBL) in drugih živil živalskega izvora. Menimo, da je bilo širjenje vsebin nujno za celostno obravnavanje odpornosti živalskih bakterij. Sredstva za razširjen obseg preiskav smo pridobili iz drugih virov.

### 8. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine<sup>7</sup>

| Znanstveni dosežek |           |         |  |
|--------------------|-----------|---------|--|
| 1.                 | COBISS ID | 3503738 | Vir: COBISS.SI   |
|                    | Naslov    | SLO     | Staphylococcus aureus CC398: Prilagoditev na gostitelja in pojav odpornosti proti meticilinu pri živini  |
|                    |           | ANG     | Staphylococcus aureus CC398: Host adaptation and emergence of methicillin resistance in livestock  |
|                    | Opis      | SLO     | V članku je predstavljena ideja, da LA- MRSA CC398 v osnovi človeški MSSA. Preskok s cloveka na živali je spremljala tudi izguba gena za virulenco, zato se ni mogel izraziti zoonotski potencial. Hkrati pa je prišlo do razvoja odpornosti proti tetraciklinu in meticilinu. |
|                    |           | ANG     |  |

|              |           |   |
|--------------|-----------|---|
|              |           | Findings strongly support the idea that livestock-associated MRSA CC398 originated as MSSA in humans. The jump of CC398 from humans to livestock was accompanied by the loss of phage-carried human virulence genes, which likely attenuated its zoonotic potential, but it was also accompanied by the acquisition of tetracycline and methicillin resistance.   |
|              | ANG       |   |
| Objavljeno v |           | American Society for Microbiology; mBio; 2012; Vol. 3, iss. 1; str. 1-6; Impact Factor: 5.311; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.393; A': 1; WoS: QU; Avtorji / Authors: Price Lance B., Stegger Marc, Hasman Henrik, Aziz Maliha, Larsen Jesper, Andersen Paal Skytt, Pearson Talima, Waters Andrew E., Foster T. J., Schupp James, Gillece John, Driebe Elizabeth, Liu Cyndy M., Springer Burkhard, Zdovc Irena, Battisi Antonio, Franco Alessia, Zmudzki Jacek, Schwarz Stefan, Butaye Patrick, Jouy Eric, Pomba Constanca, Porrero M. Concepción, Ruimi Raymond, Smith Tara C., Robinson D. Ashley, Weese J. Scott, Arriola Carmen Sofia, Yu Fangyou, Laurent Frederic, Keim Paul, Skov Robert, Aarestrup Frank M. |
| Tipologija   |           | 1.01 Izvirni znanstveni članek  |
| 2.           | COBISS ID | 3740280   |
|              |           | Vir: COBISS.SI  |
| Naslov       | SLO       | Bakterije Campylobacter in njihova mnogokratna odpornost v živilski verigi  |
|              | ANG       | Campylobacter and its multi-resistance in the food chain  |
| Opis         | SLO       | Pregledni članek podaja pregled pogostosti in nekaterih mehanizmov naraščajoče mnogokratne odpornosti bakterij Campylobacter v živilski verigi. Povdarek je na nespecifičnih izlivnih sistemih oz. membranskih proteinih, ki so vpleteni v mehanizme zmanjšane občutljivosti oz. odpornosti bakterij proti nesorodnim snovem, vključno z žolčnimi solmi. Prvič je za bakterije Campylobacter opisano delovanje rastlinskih učinkovin (npr. EGKG-a), ki deluje kot inhibitor izlivne črpalke CmeB in zato poveča občutljivost odpornih sevov za antibiotike in žolčne soli.  |
|              | ANG       | A review of the prevalence and mechanisms of the multiple antimicrobial resistance of Campylobacter in the food chain is given, with the emphasis on non-specific efflux pumps which are involved in bacterial reduced susceptibility and/or resistance against antibiotics and other unrelated antimicrobials, e.g. bile salts. For the first time the synergistic antimicrobial activity of some plant compounds (e.g. EGCG) which acts as an inhibitor of the efflux pump CmeB is presented as a challenge to develop efficient protection against antibiotic and/or bile salt resistant Campylobacter strains.  |
| Objavljeno v |           | Elsevier Trends Journals; Trends in food science & technology; 2011; Vol. 22; Str. 91-98; Impact Factor: 3.672; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.379; A': 1; WoS: JY; Avtorji / Authors: Smole Možina Sonja, Kurinčič Marija, Klančnik Anja, Mavri Ana  |
| Tipologija   |           | 1.02 Pregledni znanstveni članek  |
| 3.           | COBISS ID | 3433082   |
|              |           | Vir: COBISS.SI  |
| Naslov       | SLO       | Koagulazno negativni stafilkoki v mlečni žlezi krave brez znakov vnetja   |
|              | ANG       | Coagulase-negative staphylococci from non-mastitic bovine mammary gland   |
| Opis         | SLO       | Članek opisuje vlogo koagulazno negativnih stafilkokov v mlečnih žlezah z krav brez vidnih znakov vnetja. Sevi prevladujočih vrst, Staphylococcus chromogenes in Staphylococcus haemolyticus so bili nadalje testirani z disk difuzijsko metodo glede občutljivosti za antibiotike (Kirby-Bauer) in tipizirani s pulzno-gelsko elektroforezo (PFGE).  |
|              |           | The article describes the role of coagulase-negative stafilkokov in the mammary gland of cows with no visible signs of inflammation. The predominant species, Staph. chromogenes and Staph. haemolyticus, were  |

|    |              |         |  |
|----|--------------|---------|--|
|    |              | ANG     | further characterized by antibiotic susceptibility testing using the agar disc diffusion method (Kirby -Bauer) and by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE).   |
|    | Objavljeno v |         | Cambridge University Press; Journal of Dairy Research; 2012; Vol. 79, issue 2; str. 129-134; Impact Factor: 1.566;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 0.903; A': 1; WoS: AD, JY; Avtorji / Authors: Pate Mateja, Zdovc Irena, Avberšek Jana, Ocepek Matjaž, Pengov Andrej, Podpečan Ožbalt  |
|    | Tipologija   |         | 1.01 Izvirni znanstveni članek   |
| 4. | COBISS ID    | 3511930 | Vir: COBISS.SI   |
|    | Naslov       | SLO     | Boj med bakterijami in protimikrobnimi zdravili - kdo bo končni zmagovalec   |
|    |              | ANG     | Bacteria against the antimicrobials - who will be the final winner   |
|    | Opis         | SLO     | Članek opozarja na naraščanje odpornosti bakterij proti antibiotikom, ki postaja mednarodni zdravstveni problem, ki zahteva hitro ukrepanje. Občutljive bakterije lahko postanejo odporne bodisi zaradi nove mutacije (kromosomska odpornost) ali s pridobitvijo mobilnih genetskih elementov (plazmidov) iz druge, že odporne bakterije (horizontalni prenos genov). Poseben problem predstavljajo večkratno odporne bakterije (MDRB).  |
|    |              | ANG     | The article highlighted the problem of antibiotic resistance which becomes a growing international public health problem that urgently requires significant attention. A susceptible bacteria can become resistant through a novel genetic mutation (chromosomal resistance) or through the acquisition of mobile genetic elements from another bacterium that is already resistant (horizontal gene transfer). Special problem represent a multidrug resistant bacteria (MDRB). |
|    | Objavljeno v |         | Slovensko združenje veterinarjev za male živali; Zbornik referatov; 2012; Str. 80-82; Avtorji / Authors: Zdovc Irena, Golob Majda  |
|    | Tipologija   |         | 1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci   |
| 5. | COBISS ID    | 4051064 | Vir: COBISS.SI   |
|    | Naslov       | SLO     | Pogostost odpornosti proti antibiotikom in biocidom pri bakterijah <i>Campylobacter coli</i> in <i>Campylobacter jejuni</i> , izoliranih iz različnih virov  |
|    |              | ANG     | The prevalence of antibiotic and biocide resistance among <i>Campylobacter coli</i> and <i>Campylobacter jejuni</i> from different sources   |
|    | Opis         | SLO     | Predstavljena je bila pogostost odpornosti proti antibiotikoma eritromicinu in ciprofloksacinu ter proti biocidom triklosanu, benzalkonijev kloridu, klorheksidin diacetatu, cetilpiridin kloridu, natrijevemu fosfatu in natrijevemu dodecil sulfatu pri bakterijah <i>Campylobacter coli</i> in <i>Campylobacter jejuni</i> , izoliranih iz živil, živali, ljudi in vodnih virov. Rezultati odpornosti niso potrdili povezave med odpornostjo proti antibiotikom in biocidom.  |
|    |              | ANG     | The prevalence of erythromycin, ciprofloxacin, triclosan, benzalkonium chloride, chlorhexidine diacetate, cetylpyridinium chloride, trisodium phosphate and sodium dodecyl sulphate resistance of <i>Campylobacter coli</i> and <i>Campylobacter jejuni</i> from food, animal, human and environmental water sources was presented. No correlation between biocide and antibiotic resistance was observed among.   |
|    | Objavljeno v |         | Faculty of Food Technology and Biotechnology; Food technology and biotechnology; 2012; Vol. 50, no. 3; Str. 371-376; Impact Factor: 1.195;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.379; WoS: DB, JY; Avtorji / Authors: Mavri Ana, Kurinčič Marija, Smole Možina Sonja   |
|    | Tipologija   |         | 1.01 Izvirni znanstveni članek   |



**9. Najpomembnejši družbeno-ekonomsko relevantni rezultati projektne skupine<sup>8</sup>**

| Družbenoekonomsko relevantni dosežki |              |  |                                   |
|--------------------------------------|--------------|--|-----------------------------------|
| 1.                                   | COBISS ID    | 3460218  | Vir: COBISS.SI                    |
|                                      | Naslov       | <i>SLO</i> Pojav proti meticilinu odpornih stafilokokov pri domačih živalih v Sloveniji  |                                   |
|                                      |              | <i>ANG</i> Emergence of methicillin-resistant staphylococci in domestic animals  |                                   |
|                                      | Opis         | <i>SLO</i> V prispevku predstavljamo pomen proti meticilinu odpornih stafilokokov (MRS), predvsem odpornih sevov <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) pri domačih živalih in pogostnost pojavljanja v izbranih populacijah živali v Sloveniji.  |                                   |
|                                      |              | <i>ANG</i> his paper presents the importance of methicillin-resistant staphylococci (MRS), especially resistant strains <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) in domestic animals and incidence in selected populations of animals in Slovenia.  |                                   |
|                                      | Šifra        | C.05   | Uredništvo nacionalne revije      |
|                                      | Objavljeno v | Veterinarska fakulteta; Program in zbornik referatov; Slovenian veterinary research; 2011; Vol. 48, suppl. 13; str. 338-341; Impact Factor: 0.216; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 0.951; WoS: ZC; Avtorji / Authors: Zdovc Irena, Kušar Darja, Golob Majda   |                                   |
|                                      | Tipologija   | 1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci   |                                   |
| 2.                                   | COBISS ID    | 3518330  | Vir: COBISS.SI                    |
|                                      | Naslov       | <i>SLO</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> v komolčnem sklepu psa   |                                   |
|                                      |              | <i>ANG</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> in the canine elbow joint  |                                   |
|                                      | Opis         | <i>SLO</i> V prispevku predstavljamo prvi dokazan klinični primer okužbe živali z bakterijo <i>A. baumannii</i> v Sloveniji. Pes, nemški ovčar, star 2 leti, je bil sprejet na zdravljenje zaradi akutnega vnetja komolčnega sklepa, povzročena z večkratno odporno bakterijo <i>A. baumannii</i> . Zaradi odpornosti proti vsem antibiotikom, ki so registrirani za uporabo v veterinarski medicini, je bil pes uspešno zdravljen z imipenemom. Zaradi tega smo posebej izpostavili problem naraščajoče odpornosti živalskih bakterij in upravičenost uporabe antibiotikov, ki so namenjeni za kritično rabo v humani medicini. |                                   |
|                                      |              | <i>ANG</i> The paper presents the first known clinical case of <i>A. baumannii</i> infection in animals in Slovenia. Dog, German Shepherd, 2 years old, was admitted to the treatment of acute elbow joint infection, caused by multidrug resistant <i>A. baumannii</i> . Due to resistance to all antibiotics registered for use in veterinary medicine, the dog was successfully treated with imipenem. For this reason, we have especially highlighted the increasing problem of bacterial resistance in animals and eligibility of use of antibiotics designed for critical care in human medicine.                          |                                   |
|                                      | Šifra        | B.01   | Organizator znanstvenega srečanja |
|                                      | Objavljeno v | Slovensko združenje veterinarjev za male živali; Zbornik referatov; 2012; Str. 152-154; Avtorji / Authors: Zdovc Irena, Matko Milan, Golob Majda   |                                   |
|                                      | Tipologija   | 1.09 Objavljeni strokovni prispevek na konferenci  |                                   |
| 3.                                   | COBISS ID    | 3542394  | Vir: COBISS.SI                    |
|                                      | Naslov       | <i>SLO</i> Pojav večkratno odpornih bakterij, zaradi pretirane uporabe antibiotikov - veterinarski vidiki  |                                   |
|                                      |              | <i>ANG</i> The emergence of multidrug-resistant bacteria due to the excessive antimicrobial use- veterinary perspective  |                                   |

|              |   |  |
|--------------|---|--|
| Opis         | SLO   | V prispevku predstavljamo pomen posebno odpornih živalskih bakterij in njihovo pogostnost pojavljanja v izbranih populacijah živali v Sloveniji in drugih državah EU. Poseben problem predstavljajo večkratno odporne bakterije, med katerimi so pomembni zlasti proti meticilinu odporni stafilokoki (MRS), večkratno odporni <i>Enterococcus faecalis</i> in <i>Enterococcus faecium</i> , enterobakterije, ki izločajo encime ESBL in karbapenemaze, odporni sevi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> in posamezni primeri okužb z <i>Acinetobacter baumannii</i> . |
|              | ANG   | This paper presents the importance of multidrug resistant animal bacteria and their frequency of occurrence in selected animal populations in Slovenia and other EU countries. A special problem is the multidrug bacteria, which are particularly methicillin-resistant staphylococci (MRS), multiple-resistant <i>Enterococcus faecalis</i> and <i>Enterococcus faecium</i> , ESBL producing Enterobacteriaceae, and karbapenemase-resistant strains of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and cases of <i>Acinetobacter baumannii</i> infections.                  |
| Šifra        | B.06  | Drugo  |
| Objavljeno v | Veterinarska zbornica; Zbornik 9. strokovnega srečanja veterinarske zbornice; 2012; Str. 10-14; Avtorji / Authors: Zdovc Irena, Golob Majda, Zajc Urška, Gruntar Igor |  |
| Tipologija   | 1.09  | Objavljeni strokovni prispevek na konferenci   |

## 10. Drugi pomembni rezultati projektne skupine<sup>9</sup>

Vodja projekta Irena Zdovc

- raziskovalka v Centru odličnosti (CO) NAMASTE, s sedežem na Inštitutu Jožef Stefan V Ljubljani. V okviru tega centra proučuje alternativne možnosti protimikrobnega delovanja na osnovi različnih nano materialov. V skupini je zadolžena za testiranje protimikrobnih učinkov nano materialov na bakterijo *Listeria innocua*.
  - vodja Nacionalnega referenčnega laboratorija (NRL) za ugotavljanje odpornosti bakterij proti antibiotikom. NRL deluje na Nacionalnem veterinarskem inštitutu (NVI) v Ljubljani v okviru dejavnosti Veterinarske fakultete
  - vodja Nacionalnega referenčnega laboratorija (NRL) za bakterijo *Listeria monocytogenes*. NRL deluje na Nacionalnem veterinarskem inštitutu (NVI) v Ljubljani v okviru dejavnosti Veterinarske fakultete
  - občasno sodeluje z nacionalno Komisijo za preudarno rabo protimikrobnih zdravil pri Ministrstvu za zdravje
  - prof. dr. Silvestra Kobal
  - stalna članica nacionalne Komisije za smiselno rabo protimikrobnih zdravil pri Ministrstvu za zdravje
  - stalna članica Komisije za zdravila za uporabo v veterinarski medicini Javne agencije za zdravila in medicinske pripomočke v RS
  - ekspert za področje farmakologije in toksikologije pri Evropski agenciji za zdravila (EMA)
- Rezultati vseh treh raziskovalnih sklopov, ki so sestavni del tega poročila, bodo v objavljeni v obliki predavanj na strokovnem srečanju 4. Baničevi dnevi, 23. in 24. novembra 2012 v Radencih.
1. Odpornost proti protimikrobnim zdravilom pri bakterijah, izoliranih iz živali in živil (Irena Zdovc, Majda Golob, Katja Seme, Urška Zajc, Jerneja Ambrožič-Avguštin)
  2. *Escherichia coli* z betalaktamazami razširjenega spektra - primerjava genotipov izolatov iz obolelih živali in živil živalskega izvora z genotipi humanih kliničnih izolatov (Jerneja Ambrožič-Avguštin, Irena Zdovc, Iztok Štrumbelj)
  3. *Kampilobakterioza* – pojavnost in nadzor pri človeku in perutnini v Sloveniji (Ingrid Berce, Igor Gruntar)

## 11. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine<sup>10</sup>

### 11.1. Pomen za razvoj znanosti<sup>11</sup>

SLO

a) v domačih znanstvenih krogih

Že v začetnih fazah naše raziskave so bili rezultati zelo zanimivi za širšo veterinarsko in medicinsko stroko. Največ zanimanja je pokazala medresorska Komisija za preudarno rabo protimikrobnih zdravil pri Ministrstvu za zdravje, ki je člane projektne skupine redno začela vabiti na svoje sestanke. Ker omenjeno komisijo sestavljajo različni predstavniki medicinske in veterinarske stroke, smo svoje ugotovitve lahko posredovali kolegom z Veterinarske uprave, Veterinarske fakultete in Medicinske fakultete, Inštituta za varovanje zdravja RS, Infekcijske klinike in predstavnikom zavodov za zdravstveno varstvo. Zaradi številnih poročil tujih strokovnjakov smo porast odpornosti sicer pričakovali, vendar so bili preliminarni rezultati presenetljivi in so močno povečali interes po nadaljnjih preiskavah. Vse zanimive rezultate smo v obliki predavanj, postrov in okroglih miz sproti predstavljali na različnih strokovnih in znanstvenih srečanjih.

b) v mednarodnih znanstvenih krogih

Večina rezultatov je zanimiva tudi za mednarodno znanstveno javnost, predvsem za vse centralne referenčne laboratorije v okviru Evropske unije (EU-RL), ki se ukvarjajo z enako problematiko. Rezultate in izkušnje redno izmenjujemo z EU-RL za AB rezistenco v Kopenhagnu, EU-RL za salmonele v Bilthovnu in EU-RL za kampilobaktrije v Upsali. Svoje prispevke v obliki predavanj in postrov predstavljamo tudi na različnih znanstvenih in strokovnih srečanjih v tujini.

ANG

a) In domestic scientific society

Already in the initial stages of our research, results were very interesting for a broader veterinary and medicine profession. The greatest interest was taken by the inter-field Commission for a proper use of antimicrobial agents at the Ministry of Health, which has started to invite the members of the project group to their meetings at a regular basis. Since the aforementioned commission is encompassing different representatives from the medicine and veterinary field, our results could be passed on to the colleagues from the Veterinary Administration, Veterinary Faculty and Medicine Faculty, Institute of Public Health of the Republic of Slovenia, Clinic for Infectious Diseases, and representatives of the institutes for health care. Due to the numerous reports of foreign experts, the increase of resistance was, however, anticipated, but the preliminary results were surprising and they markedly increased the interest for further research. All the interesting results were regularly presented as lectures, posters and round tables at various professional and scientific meetings.

b) In international scientific society

Most of the results are interesting also for the international scientific public, especially for all the central reference laboratories within the European Union (EU-RL), involved in the same problems. Our results and experience are regularly exchanged with the EU-RL for Antimicrobial Resistance in Copenhagen, EU-RL for Salmonella in Bilthoven, and EU-RL for Campylobacter in Uppsala. Our contributions are presented as lectures and posters at various scientific and professional meetings abroad.

## 11.2. Pomen za razvoj Slovenije<sup>12</sup>

SLO

pri domačih uporabnikih

- Zelo veliko zanimanje za rezultate naše raziskave kažejo različne veterinarske organizacije. Veterinarske bolnice in ambulante za male živali zanima predvsem problematika klonalnega širjenja MRSP (in manj MRSA) pri psih, v zadnjem času pa tudi razširjenost E. coli tipa ESBL pri okužbah urinarnega trakta in drugih kliničnih stanjih.
- Rejce prašičev in veterinarje na prašičjih farmah zanima razširjenost živalskega klona MRSA ST398 (livestock associated MRSA).
- Rejci perutnine želijo podatke o razširjenosti in pomenu okužb oz. kontaminaciji perutninskega mesa z E. coli tipa ESBL/ampC.
- Vsi podatki so pomembni tudi za Veterinarsko upravo RS.
- Poleg veterinarskih ustanov pa se za naše rezultate močno zanimajo tudi na medicinskem področju, predvsem Komisija za smiselno rabo protimikrobnih zdravil in Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ).

ANG

At domestic users/consumers

- A very great interest for the results of our research is shown by various veterinary organizations. Veterinary hospitals and clinics for small animals are mostly interested in the problem of clonal dispersal of MRSP (and to a lesser extent, of MRSA) in dogs and, recently, also the dissemination of E. coli type ESBL in the urinary tract infections and other clinical conditions.
- Pig breeders and veterinarians at pig farms are interested in the dissemination of animal clone MRSA ST398 (livestock associated MRSA).
- Poultry farmers are interested in data on the range and meaning of the infection/contamination of poultry meat with E. coli type ESBL/ampC.
- All data are also important for the Veterinary Administration of the Republic of Slovenia.
- In addition to the veterinary institutions, medicine profession is very interested in our results as well, especially the Commission for a proper use of antimicrobial agents and the Slovenian agency for assessing antimicrobial drug sensitivity (SKUOPZ).

## 12.Vpetost raziskovalnih rezultatov projektne skupine.

### 12.1.Vpetost raziskave v domače okolje

Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja deležna zaznavnega odziva?

- v domačih znanstvenih krogih
- pri domačih uporabnikih

**Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?**<sup>13</sup>

Veterinarske bolnice in ambulante za male živali  
Slovensko združenje veterinarjev za male živali  
Rejci prašičev in veterinarji na prašičjih farmah  
Rejci perutnine in veterinarji na prašičjih farmah Veterinarska uprava RS.  
Komisija za preudarno rabo protimikrobnih zdravil  
Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila

### 12.2.Vpetost raziskave v tuje okolje

Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja deležna zaznavnega odziva?

- v mednarodnih znanstvenih krogih
- pri mednarodnih uporabnikih

**Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujini raziskovalnimi inštitucijami:**<sup>14</sup>

IMP/VF v Ljubljani aktivno sodeluje z refrenčnimi laboratoriji za dejavnosti, ki so povezane z ugotavljanjem odpornosti bakterij proti protimikrobnim zdravilom. Preko njih se vključujemo tudi v njihove raziskovalne projekte.

- EU-RL Reference Laboratory for Antimicrobial resistance, DTU Technical University of Denmark, National Food Institute, Lyngby, Denmark
- EU-RL for Salmonella, Bilthoven, The Netherlands,
- EU-RL for Campylobacter, SVA National Veterinary Institute, Upsala, Sweden,

**Kateri so rezultati tovrstnega sodelovanja:**<sup>15</sup>

EU referenčni laboratoriji s svojimi strokovnjaki predstavljajo vodilne evropske raziskovalne skupine, ki vodijo obsežne mednarodne projekte. V večini primerov opravljajo epidemiološke študije na mednarodnem nivoju, zato potrebujejo sodelavce iz različnih držav, najpogosteje strokovnjake iz NRLjev.

Z EU referenčnim laboratorijem za odpornost bakterij sodelujemo pri zbiranju bakterijskih izolatov z določenimi lastnostmi oz. oblikami odpornosti. EU-RL določi enotne kriterije, po

katerih se oblikuje bakterijska zbirka in predpiše minimalni obseg in metodo predhodnega testiranja. Izolati, ki ustrezajo projektnim kriterijem, se zbirajo v centralnem laboratoriju, kjer se opravijo zahtevnejša končna testiranja in interpretacije rezultatov. S takim sodelovanjem stalno posodabljam in usklajujemo diagnostične metode in pridobimo podatke o lastnostih naših in drugih izolatov, ki so predmet raziskave. Poleg tega večinoma tudi pridobimo pravico do soavtorstva pri objavah rezultatov.

## C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja in obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino letnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta
- bomo sofinancerjem istočasno z zaključnim poročilom predložili tudi študijo ali elaborat, skladno z zahtevami sofinancerjev

### Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba  
raziskovalne organizacije:*

in

*vodja raziskovalnega projekta:*

Univerza v Ljubljani, Veterinarska  
fakulteta

Irena Zdovc

### ŽIG

Kraj in datum: 

|           |            |
|-----------|------------|
| Ljubljana | 10.10.2012 |
|-----------|------------|

### Oznaka prijave: ARRS-CRP-ZP-2012-05/37

<sup>1</sup> Zaradi spremembe klasifikacije je potrebno v poročilu opredeliti raziskovalno področje po novi klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevaljalna tabela med raziskovalnimi področji po klasifikaciji ARRS ter po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science) s kategorijami WOS (Web of Science) kot podpodročji je dostopna na spletni strani agencije (<http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/preslik-vpp-fos-wos.asp>). [Nazaj](#)

<sup>2</sup> Podpisano izjavo sofinancerja/sofinancerjev, s katero potrjuje/jo, da delo na projektu potekalo skladno s programom, skupaj z vsebinsko obrazložitvijo o potencialnih učinkih rezultatov projekta obvezno priložite obrazcu kot priponko (v skeniranem PDF formatu) in jo v primeru, da poročilo ni polno digitalno podpisano, pošljite po pošti na Javno agencijo za raziskovalno dejavnost RS. [Nazaj](#)

<sup>3</sup> Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

<sup>4</sup> Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>5</sup> Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11) [Nazaj](#)

<sup>6</sup> V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta (obrazložitev). V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>7</sup> Znanstveni in družbeno-ekonomski dosežki v programu in projektu so lahko enaki, saj se projektna vsebina praviloma nanaša na širšo problematiko raziskovalnega programa, zato pričakujemo, da bo večina izjemnih dosežkov raziskovalnih programov dokumentirana tudi med izjemnimi dosežki različnih raziskovalnih projektov.

Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)

## Zaključno poročilo o rezultatih ciljnega raziskovalnega projekta - 2012

<sup>8</sup> Znanstveni in družbeno-ekonomski dosežki v programu in projektu so lahko enaki, saj se projektna vsebina praviloma nanaša na širšo problematiko raziskovalnega programa, zato pričakujemo, da bo večina izjemnih dosežkov raziskovalnih programov dokumentirana tudi med izjemnimi dosežki različnih raziskovalnih projektov.

Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.

Družbenoekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen, kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno ekonomsko relevantnega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. v preteklem letu vodja meni, da je izjemen dosežek to, da sta se dva mlajša sodelavca zaposlila v gospodarstvu na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovila svoje podjetje, ki je rezultat prejšnjega dela ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

<sup>9</sup> Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 7 in 8 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov vključno s presledki. [Nazaj](#)

<sup>10</sup> Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

<sup>11</sup> Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>12</sup> Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>13</sup> Največ 500 znakov vključno s presledki (velikosti pisave 11) [Nazaj](#)

<sup>14</sup> Največ 500 znakov vključno s presledki (velikosti pisave 11) [Nazaj](#)

<sup>15</sup> Največ 1.000 znakov vključno s presledki (velikosti pisave 11) [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-CRP-ZP/2012-05 v1.00c  
56-EE-47-2F-55-DF-F3-3C-54-7E-9D-05-0D-D7-7E-60-08-F9-B3-85



## SPLOŠNA PRIPOROČILA ZA UPORABO ANTIBIOTIKOV V VETERINARSKÉ NAMENE

### OPREDELITEV PROBLEMA

V veterinarski medicini se je uporaba antibiotikov začela že zelo kmalu po uvedbi antibiotičnega zdravljenja pri ljudeh. Sprva so se antibiotiki uporabljali le za zdravljenje posameznih bolnih živali, kasneje pa tudi za preprečevanje okužb v populacijah z večjim tveganjem za pojav bakterijskih bolezni, predvsem za preprečevanje dihalnih in črevesnih okužb v intenzivnih rejah perutnine, prašičev in telet. Največji problem pa je v preteklosti pomenilo dodajanje antibiotikov v krmo z namenom pospeševanja rasti živali (ang. growth promotors, GP). Uporaba antibiotikov v živinorejske namene je praviloma potekala izven pristojnosti veterinarske stroke in nadzora. Zaradi potreb po intenzivni pridelavi hrane živalskega izvora je v nekaterih državah poraba antibiotikov v živinoreji celo presegla porabo v veterini in medicini. V državah EU je sicer uporaba v rejske namene že dolgo prepovedana, vendar je skupna uporaba antibiotikov še vedno prevelika.

Večina antibiotikov, ki se uporabljajo za zdravljenje živali, spada v iste ali podobne farmakološke skupine kot tisti, ki se uporabljajo za ljudi. Zato bakterije pri živalih pogosto razvijejo podoben način sekundarne odpornosti, kar lahko privede do težav pri zdravljenju ljudi in živali, ne glede na to, v katerih populacijah je bila odpornost pridobljena. To je še posebno nevarno pri nekaterih povzročiteljih zoonoz (npr. iz rodov *Salmonella* in *Campylobacter*), ali pa v primerih, ko se geni za odpornost prenašajo iz živalskih v sorodne človeške bakterije in obratno. Pojav posebno odpornih bakterijskih sevov pri živalih je pomemben s stališča zdravja živali in hkrati varovanja zdravja ljudi.

Način in pogostnost uporabe antibiotikov v veterinarski medicini močno zavisi od ljubiteljskega ali ekonomskega namena reje, zato se pri različnih živalskih vrstah in celo kategorijah živali precej razlikuje. Vse to pa narekuje specifičen pristop pri reševanju problemov v zvezi s povečano odpornostjo bakterij proti antibiotikom. Reševanje je v pristojnosti različnih služb in strok, ki delujejo vsaka na svojem področju in se hkrati povezujejo s sorodnimi strokami doma in v tujini.

### **Pristojnosti veterinarske stroke na nacionalnem nivoju**

- Vsaka država mora pripraviti nacionalno strategijo za preprečevanje odpornosti bakterij na področju veterinarske medicine. V Sloveniji imamo stalne veterinarske predstavnike v skupni Komisiji za preudarno rabo protimikrobnih zdravil, skupaj s predstavniki medicinske stroke. Nimamo pa primerljive veterinarske komisije, zato je ustanovitev stalne **Komisije za preudarno rabo protimikrobnih zdravil v veterini** ena izmed prednostnih nalog veterinarske službe. V komisiji bi morali nujno sodelovati predstavniki različnih vej veterine, predvsem pa s področja upravnega veterinarstva, farmakologije, mikrobiologije, epizootiologije in različnih kliničnih praks. Osnovna naloga te komisije bi bila spremljanje odpornosti pri bakterijah živalskega izvora, priprava smernic za preprečevanje odpornosti, tesno sodelovanje z medicinsko stroko in skrbeti za sprotno obojestransko obveščanje o aktualnem stanju na področju odpornosti bakterij.

### **Pristojnosti diagnostičnih laboratorijev**

- Pristojne službe morajo poskrbeti za možnost ustreznega mikrobiološkega testiranja vzorcev oz. izolacijo povzročiteljev ter njihovo testiranje glede občutljivosti za antibiotike. V Sloveniji je trenutno za to akreditiran Bakteriološki laboratorij na Inštitutu za mikrobiologijo in parazitologijo Veterinarske fakultete v Ljubljani. V okviru Nacionalnega veterinarskega inštituta (NVI) pa deluje tudi Nacionalni referenčni laboratorij za odpornost bakterij proti protimikrobnim zdravilom (NRL za AB rezistenco). Laboratorij je usposobljen za preiskave različnih kliničnih vzorcev kot tudi za izvajanje ustreznih monitoringov v skladu s smernicami EU in veljavnimi mikrobiološkimi standardi (CLSI, EUCAST).
- Po celi državi mora biti organizirana mreža usposobljenih veterinarskih laboratorijev, ki lahko zagotavljajo ustrezno osnovno mikrobiološko testiranje kliničnih vzorcev oz. za napotitev materiala ali že osamljenih bakterijskih povzročiteljev v drug ustrezni laboratorij.

- NRL mora biti usposobljen, da po potrebi izvaja permanentna izobraževanja in delavnice za delavce drugih laboratorijev in jih tako seznanja z najnovejšimi spoznanji na tem področju.
- NRL mora biti usposobljen za opravljanje strokovnega in znanstveno raziskovalnega dela, s svojimi dognanji pa redno seznanjati domačo in tujo veterinarsko javnost.
- Redno mora sodelovati s pristojnim centralnim referenčnim laboratorijem na nivoju Evropske unije (EU-RL) in sodelovati v medlaboratorijskih kontrolah, ki zagotavljajo enotno metodologijo testiranja in s tem primerljivosti rezultatov.

#### **Pristojnosti upravnih služb**

- Načrtovanje in zagotavljanje izvajanja ustreznih monitoringov za ugotavljanje stanja odpornosti živalskih bakterij. Rezultate je potrebno ustrezno evidentirati, interpretirati in jih primerjati z rezultati medicinske stroke in primerljivimi strokami iz drugih držav. Po potrebi je smiselno načrtovati skupne akcije.
- Uvajanje nadzornih sistemov za zbiranje podatkov o prodaji in uporabi protimikrobnih zdravil za zdravljenje živali.
- Na nacionalni ravni je potrebno oblikovati informacijski sistem in/ali usklajevalno telo, v okviru katerega bodo vsem strokam dostopni podatki za izvajanje nacionalnih strategij in načrtov za uporabo protimikrobnih zdravil in preprečevanje odpornosti nanje. Komisija za preudarno rabo protimikrobnih zdravil v veterini pri tem lahko sodeluje kot posvetovalno telo.

#### **OSNOVNA SPLOŠNA PRAVILA ZA SMOTRNO UPORABO ANTIBIOTIKOV**

- Začetno izkustveno zdravljenje naj bo čim večkrat podprto z mikrobiološko preiskavo za izolacijo povzročitelja in testiranjem glede občutljivosti oz. odpornosti za antibiotike. V primeru, da rezultati analize ne podpirajo prvotne izbire, je potrebno antibiotik zamenjati.
- Spoštovati je potrebno opredelitve Svetovne zdravstvene organizacije (SVO) in Svetovne organizacije za zdravje živali (OIE) glede kritično pomembnih antibiotikov antibiotikov (critical important antimicrobials, CIA). V veterini je potrebno zelo preudarno uporabljati cefalosporine višjih generacij in fluorokinolone.

- Kritično pomembne antibiotike se sme uporabljati le v primerih, ko je znan povzročitelj, ki je dokazano odporen proti ostalim antibiotikom. V primerih zdravljenja akutnih okužb se kritično pomembna protimikrobna zdravila lahko uporabijo v začetni fazi, če je to potrebno, vendar je potrebno njihovo uporabo prekiniti, če rezultati antibiograma tega ne opravičujejo.
- Posebno restriktivni ukrepi pa so potrebni za veterinarsko uporabo tistih antibiotikov, ki so kritično pomembni v humani medicini in so namenjeni izključno za primere okužb ljudi z zelo odpornimi bakterijami. Taki antibiotiki so npr. vankomicin, teikoplanin in mupirocin za zdravljenje MRSA, karbapenemi za zdravljenje okužb z odpornimi po Gramu negativnimi bakterijami ipd.
- Protimikrobna zdravila morajo biti dostopna le na zdravniški ali veterinarski recept.
- Na predpisovanje določene vrste antibiotika ne smejo vplivati finančne spodbude proizvajalca.
- Veterinarje je potrebno permanentno ozaveščati o pomenu smotrne rabe antibiotikov in jih seznanjati z najnovejšimi spoznanji s tega področja.
- Potrebno je stalno izobraževanje vseh veterinarskih delavcev v zvezi z diagnosticiranjem, zdravljenjem in preprečevanjem nalezljivih bolezni ter pravilno uporabo protimikrobnih zdravil.
- Po potrebi je potrebno izobraževanje zagotoviti tudi za imetnike živali, predvsem rejce gospodarsko pomembnih živali

#### **Viri:**

- Technical specifications on the harmonised monitoring and reporting of antimicrobial resistance in *Salmonella*, *Campylobacter* and indicator *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. bacteria transmitted through food. EFSA Journal 2012;10(6):2742 [64 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2012.2742.
- Uradni list Evropske unije, Informacije institucij, organov, uradov in agencij Evropske unije, Sklepi Sveta z dne 22. junija 2012 o posledicah protimikrobne odpornosti v zdravstvenem in veterinarskem sektorju-pobuda »Eno zdravje« (2012/C 211/02 z dne 18.7.2012).
- Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. World Health organisation. 2011; Copenhagen, Denmark.

## SPLOŠNA PRIPOROČILA ZA UPORABO ANTIBIOTIKOV PRI LJUBITELJSKIH VRSTAH ŽIVALI

### OPREDELITEV PROBLEMA

V humani medicini so bolnišnične okužbe, predvsem tiste, ki jih povzročajo zelo odporne bakterije, že več desetletij izjemno velik problem. V veterinarski medicini smo se s podobnimi bakterijami začeli srečevati predvsem v zadnjih nekaj letih, še posebej v praksi z malimi živalmi, kjer je zdravstvena problematika, način dela in uporaba antibiotikov v terapevtske namene pogosto zelo podobna kot v humani medicini. V številnih veterinarskih ambulantah v Sloveniji so v zadnjem času že imeli primere okužb z zelo odpornimi bakterijami (MRSP, *E. coli* tipa ESBL ali AmpC, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus sp.*), pri katerih so imeli na voljo zelo majhen nabor učinkovitih veterinarskih antibiotikov.

### Uporaba antibiotikov pri ljubiteljskih živalih

Posebej je potrebno izpostaviti problem uporabe antibiotikov, ki so namenjeni za kritično rabo v humani medicini (ang. critical important antimicrobials, CIA). Glede tega so mnenja strokovnjakov zelo nasprotujoča, zato ni predpisanih enotnih pravil. Posebna delovna skupina v okviru mednarodnega združenja za kužne bolezni malih živali (Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases) je oblikovala zelo uporabne smernice, na podlagi katerih bi se lažje pravilno odločili, kdaj je uporaba takega antibiotika dopustna. Smernice so sicer pripravljene za zdravljenje urinarnih okužb, vendar so tako splošne, da so uporabne tudi za druge primere. Na podlagi tega je uporaba rezervnih antibiotikov (vankomicina, karbapenemov (imipenem) in linezolida) v veterinarski medicini prepovedana, razen če so izpolnjeni naslednji pogoji:

- Okužba mora biti jasno dokumentirana na podlagi kliničnih znakov, mikrobiološkega izvida in citoloških sprememb. Zdravljenje subkliničnih okužb v nobenem primeru ni dopustno.
- Dokazana in ustrezno dokumentirana mora biti vrsta izolirane bakterije in ugotovljena odpornost proti vsem antibiotikom, ki so sicer za ta namen v rabi v veterinarski medicini.

- Okužba mora biti potencialno ozdravljiva. Uporaba rezervnih antibiotikov v primerih, ki imajo že v osnovi zelo slabo prognozo, ni dopustna.
- Predhodno se je potrebno posvetovati s strokovnjakom za živalske kužne bolezni oz. odpornost proti antibiotikom in pretehtati vse druge možnosti zdravljenja.
- Uporaba rezervnih antibiotikov je le skrajni način reševanja primerov, na katere prehodno ni mogoče vplivati.
- Mnogo pomembneje je preventivno ravnanje, s katerim zagotavljamo preprečevanje okužb, še posebej v veterinarskih ambulantah in bolnišnicah, kjer so pacienti zaradi osnovnih bolezni bolj dovzetni za okužbe.
- Pomembno je zlasti strogo upoštevanje pravil aseptičnega dela pri vseh invazivnih postopkih zdravljenja ter vzdrževanju bolnišničnih prostorov in opreme.
- Tudi v veterinarski praksi bo vse bolj pomembno predhodno testiranje glede posebno odpornih bakterij pri tistih pacientih, ki so sprejeti na zdravljenje iz druge ustanove in je znano, da je bila žival predhodno že neuspešno zdravljena z enim ali celo več antibiotiki.
- Nekateri strokovnjaki imajo pri uporabi rezervnih antibiotikov (CIA) mnogo strožja pravila od opisanih in ne dopuščajo njihove uporabe v nobenem primeru, niti za zdravljenje živali posebnega pomena (službene, delovne in terapevtske pse). Svoje mnenje utemeljujejo z dejstvom, da je izjemne primere zelo težko opredeliti na tak način, da bi preprečili njihovo zlorabo.

Ne glede na vse omenjene pogoje pa se je potrebno ob vsaki taki uporabi antibiotika zavedati, da je naraščanje odpornosti skupen problem ljudi in živali in da se vsako napačno ravnanje lahko odrazi v razvoju večkratno odpornih sevov bakterij (ang. Multi Drug Resistant Bacteria, MDRB), ki postajajo neobvladljiva grožnja tako v humani kot tudi v veterinarski medicini.



## PRIPOROČILA ZA UPORABO ANTIBIOTIKOV PRI OKUŽBAH Z MRSP

### OPREDELITEV PROBLEMA

#### Odpornost proti meticilinu

Proti meticilinu odporni sevi bakterije *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) imajo poseben gen za odpornost *mecA*, ki je enak kot pri MRSA in drugih proti meticilinu odpornih stafilokokih. Omogoča odpornost proti meticilinu oz. oksacilinu in drugim beta laktamskim antibiotikom, vključno s cefalosporini in karbapenemi. Gen nosi zapis, da se v celični steni bakterije sintetizirajo nekoliko spremenjene beljakovinske molekule, na katere se običajno veže penicilin (penicilin binding protein ali PBP). Zaradi spremembe v zgradbi beljakovine (PBP2a) se antibiotik ne more vezati nanjo in tako ni učinkovit (bakterija je proti njemu odporna).

#### Večkratna odpornost

Sevi *S. pseudintermedius*, ki so odporni proti meticilinu, so poleg proti betalaktamom običajno odporni tudi proti številnim drugim antibiotikom iz različnih farmakoloških skupin. Večinoma (90%) so odporni še proti fluorokinolonom, klindamicinu, eritromicinu, kanamicinu, streptomycinu in trimetoprimu, pogosto (70%) pa še proti gentamicinu in tetraciklinu. Približno polovica sevov je odpornih tudi proti kloramfenikolu.

Na podlagi raziskav je znano, da imajo evropski izolati MRSP nekoliko drugačen vzorec odpornosti kot ameriški sevi, kar je verjetno posledica klonalnega širjenja na določenih področjih.

#### Priporočila za zdravljenje MRSP

*S. pseudintermedius* pri psih ima zelo podobno vlogo kot *S. aureus* pri ljudeh in najpogosteje povzroča piodermije, vnetje sluhovodov, vnetje sečnega mehurja, kirurških ran in razna druga klinična stanja. Okužbe se običajno uspešno zdravijo z različnimi betalaktamskimi antibiotiki. Na povečano odpornost proti antibiotikom pa posumimo, kadar je zdravljenje neuspešno kljub pravilno izvedenemu empiričnemu zdravljenju, oz. po neuspešnem zdravljenju z več različnimi antibiotiki. V teh primerih je nujno potrebno opraviti bakteriološko preiskavo in antibiogram. V veterinarskih laboratorijih običajno testiramo učinkovitost za antibiotike, ki so registrirani za veterinarske namene, vendar imamo pogosto na izbiro zelo majhen nabor

učinkovitih zdravil. Poleg tega pa uporabo omejujejo še različni drugi zdravstveni problemi živali, ki ne dopuščajo uporabe sicer še učinkovitega antibiotika. Za namene monitoringa oz. oceno stopnje odpornosti, testiramo še antibiotike, ki so namenjeni samo za zdravljenje ljudi. Vendar teh rezultatov ne poročamo, ker bi s tem lahko zavajali lastnika in lečečega veterinarja k uporabi antibiotikov, ki so namenjeni za zdravljenje ljudi v kritičnih primerih (critical important antimicrobials, CIA).

### Sistemsko zdravljenje

V Sloveniji je najpogosteje izoliran MRSP z zelo širokim spektrom odpornosti proti zgoraj navedenim antibiotikom, zato je nabor primernih antibiotikov izjemno omejen. Odpornost proti meticilinu pomeni odpornost proti vsem penicilinom in cefalosporinom. Občutljivi so le za novejšje cefalosporine (npr. ceftobiprol), ki pa so strogo namenjeni le za uporabo v humani medicini.

**Kloramfenikol** je bakteriostatični antibiotik z zelo dobrim učinkom na stafilokoke, vendar je v Sloveniji prepovedan za uporabo v veterinarski medicini, tako za gospodarske kot tudi za ljubiteljske vrste živali. V državah, kjer je uporaba kloramfenikola še dovoljena in so izolati dobro občutljivi, velja za primeren antibiotik.

Odmerek za pse je 25-50mg/kg, trikrat dnevno, za mačke pa 12,5-20mg/kg.

Stranski učinki pri psih so prebavne motnje in izguba telesne teže, redkeje nevrološki znaki.

**Rifampicin** je baktericidni antibiotik, ki zelo dobro prodira v tkiva. Dobro deluje na številne po Gramu pozitivne in negativne bakterije in je zelo primeren za zdravljenje stafilokonih okužb. Odmerek za pse je 5-10mg/kg, 1-2krat. Rifampicin je lahko hepatotoksičen, kar se pri psih pojavlja pogosteje kot pri ljudeh. Rifampicin se lahko uporablja le v kombinaciji z drugimi antibiotiki.

**Amikacin** je aminoglikozidni antibiotik, ki se lahko aplicira le parenteralno, zato se pri psih uporablja zelo redko. Odmerek za pse je 15-30mg/kg (za mačke 10-14mg/kg) subkutano enkrat dnevno. Uporaba tega antibiotika je indicirana le na podlagi izolacije povzročitelja in rezultatov antibiograma, ki kažejo na odpornost proti ostalim antibiotikom.

**Tetraciklini** so dobri protistafilokokni antibiotiki, vendar je odpornost proti njim dokaj pogosta, za kar sta odgovorna gena *tetK* in *tetM*. Če ima sev samo gen *tetK*, je odporen proti tetraciklinu, vendar še občutljiv za doksiciklin in minociklin, če ima gen *tetM* pa je odporen proti vsem trem antibiotikom. Večina slovenskih izolatov pripada najpogostejšemu evropskemu klonu (ST71), ki ima samo gen *tetK*, kar pomeni, da so še dobro občutljivi za

doksicilin in minociklin. Zato je pri nas doksiciklin pogosto antibiotik izbora za zdravljenje MRSP.

Za seve MRSA pa je znano, da pri izolatih, ki so odporni proti tetraciklinu, lahko pride do inducirane odpornosti še proti doksicilinu. Zaradi tega vse proti tetraciklinu odporne seve obravnavajo kot odporne tudi proti doksicilinu, ne glede na rezultate testiranja *in vitro*. Ni pa še znano ali se podoben problem pojavlja tudi pri MRSP. V veterinarskih laboratorijih vse seve testiramo le za tetraciklin in doksiciklin, v primeru odpornosti pa bi jih bilo smiselno testirati še za minociklin. Odmerek za pse je 5 mg / kg enkrat dnevno. Pred p/o aplikacijo živali ne dajemo mleka ali druge hrane, ki vsebuje veliko kalcija.

**Klindamicin** je linkozamidni antibiotik, ki zelo dobro prodira v tkiva, zato je pogosto prva izbira pri zdravljenju piodermij pri psih. Kadar je občutljivost ohranjena, je zelo primeren za zdravljenje MRSP, vendar so taki izolati dokaj redki. Večina slovenskih izolatov MRSP je odporna proti klindamicinu. Poleg tega pa je znana tudi navzkrižna odpornost med makrolidi. Fenomen inducibilne odpornosti pomeni, da se gen izrazi le v primeru prisotnosti antibiotika, kar močno oteži interpretacijo rezultatov antibiograma. Kadar želimo uporabiti klindamicin, je obvezno potrebno testirati tudi eritromicin in v primeru, da je bakterija proti slednjemu odporna, je velika verjetnost, da je odporna proti obema.

Odmerek je 11mg/kg, enkrat ali dvakrat dnevno, odvisno od minimalne inhibitorne koncentracije (MIC).

**Fluorokinoloni** (ciprofloksacin, enrofloksacin, marbofloksacin, pradofloksacin) pri okužbah z MRSP običajno nimajo nobenega terapevtskega pomena, ker je večina izolatov MRSP proti njim odporna. Tudi večina slovenskih izolatov MRSP je odpornih proti fluorokinolonom. Poleg tega je fluorokinolone potrebne ohranjati kot rezervne antibiotike za zdravljenje težjih okužb s po Gramu negativnimi bakterijami (npr. *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Acinetobacter sp.*).

**Nitrofurantion** je antibiotik, ki ga uvrščamo v skupino nitrofuranov in je primarno namenjen za zdravljenje okužb sečil, povzročenih z *E. coli*. Sicer je registriran samo za uporabo v humani medicini, vendar ga lahko uporabimo za zdravljenje urinarnih infekcij, povzročenih z MRSP (glede na predhodno izdelan antibiogram), če se s tem izognemo uporabi antibiotikov, ki so namenjeni za zdravljenje težkih okužb pri ljudeh.

V Sloveniji ga ne testiramo rutinsko, pač pa le v primerih okužb s sevi MRSP, ki so odporni proti vsem ostalim antibiotikom.

**Vankomicin in linezolid** sta antibiotika, ki sta nemenjena za kritično rabo v humani medicini v primerih (ang. critical important antibiotic, CIA), ko ni na voljo nobenega drugega

učinkovitega antibiotika. Vankomicin je glikopeptidni antibiotik, ki ga je potrebno aplicirati i/v, linezolid pa p/o. Vsi slovenski izolati MRSP so dobro občutljivi, vendar je uporaba obeh v veterinarski medicini nesprejemljiva.

**Mnenje o izredni uporabi CIA v veterinarski medicini je podano v splošnih priporočilih.**

### Topikalno zdravljenje

Lokalno zdravljenje lahko izvajamo kot samostojno v primerih, ko ni na razpolago nobenega učinkovitega sistemskega antibiotika ali pa predvideni stranski učinki ne dopuščajo uporabe pri določenem pacientu. Najbolj primerni so šamponi, ki vsebujejo **klorheksidin**, lahko pa tudi druge razkužilne učinkovine. Za učinkovito delovanje pa je pomembno tudi redno nanašanje (trikrat tedensko). Ustrezna je tudi uporaba klorheksidina v razpršilu, kar je še posebej primerno med dvema kopanjema. Kontaktni čas za uspešno delovanje razkužila naj bo vsaj 10 minut.

Okužena žarišča lahko zdravimo s klorheksidinom v razpršilu, **mupirocinom** v obliki mazila, peroksidnim gelom, **fusidično** kislino ipd. Številne študije kažejo, da sta mupirocin in fusidična kislina zelo učinkovita za lokalno zdravljenje okužb z MRSP.

Topikalno zdravljenje je tudi ustrezno dopolnilo sistemskega zdravljenju.

### Kolonizacija z MRSP

Redko so opisani primeri kolonizacije ali okužb ljudi z MSSP ali MRSP. Običajno gre za ljudi z drugimi obolenji in redko je dokazan neposredni prenos z živali na ljudi.

### Stanje v Sloveniji

V Sloveniji je več kot četrtina izolatov *S. pseudintermedius* odpornih proti meticilinu (MRSP). V večini primerov so povzročitelji različnih lokalnih gnojnih vnetij (koža, različne sluznice, sluhovodi) in okužb ran (po poškodbi, ugrizu, kirurškem posegu) ipd. Doslej so bili taki pacienti razmeroma uspešno zdravljeni topikalno, v redkih primerih, ko to zaradi narave procesa ni bilo mogoče, pa je bilo zdravljenje neuspešno in se je končalo smrtno.

V Sloveniji trenutno še nimamo stalnega nadzora nad stanjem MRSP v klinično zdravi populaciji mesojedov in vsi podatki izvirajo iz raziskovalnih nalog na omejenem številu primerov. Preiskovali smo nosne brise različnih kategorij psov in njihovih lastnikov ter ljudi, ki zaradi svojega dela prihajajo v stik z domačimi mesojedi. Poleg živali smo pregledali:

- Veterinarje in osebe v ambulantah za male živali

- Lastnike terapevtskih psov
- Lastnike psov na njihovo željo

Pri vseh so bili pregledani nosni brisi in pri nobenem človeku doslej nismo ugotovili prisotnosti MSSP ali MRSP.

## Preprečevanje prenosa odpornih bakterij

### A. Na veterinarskih klinikah

Britansko združenje veterinarjev za male živali BSAVA je pripravilo splošna navodila za preprečevanje prenosa odpornih bakterij, ki so uporabna tudi za primere MRSP.

- Ustrezna higiena rok vseh zaposlenih
- pacienti, pri katerih je bil ugotovljen MRSP (ali je postavljen sum) naj se obravnavajo ločeno oz. na tak način, da preprečimo kontaminacijo bolnišničnega okolja oz. prenos na druge živali. To pomeni postavitve ustreznih razkuževalnih barier in preprečevanje križanja čistih in nečistih poti. Osebe mora uporabljati zaščitne rokavice, predpasnike in prevleke za obuvala.
- Posebno pomembna je dekontaminacija okolja, ker je znano, da običajno čiščenje ne zadošča oz., da je rekontaminacija zelo pogosta.
- Dekolonizacija osebja (če je pri njih ugotovljen MRSP)
- Pokrivanje okuženih ran in izolacija pacienta

### B. V gospodinjstvih

Opisani so primeri prenosa okužbe z bolne živali na zdrave živali v istem gospodinjstvu. Okužene živali, predvsem tiste s površinskimi oz. odprtimi ranami, so lahko vir okužbe za druge živali in redkeje za ljudi. Poleg tega pa lahko močno kontaminirajo domače okolje, v katerem se druge živali stalno okužujejo. V času aktivne okužbe je v primeru neustrezne zaščite prenos povzročitelja skoraj neizogiben.

Splošni ukrepi za preprečevanje okužbe so podobni kot na veterinarskih ustanovah, vendar jih je v stanovanju težje izvajati. Najbolje je bolno žival začasno izolirati, da v času aktivne okužbe ne prihaja v stik z zdravimi živalmi. Če zdravstveno stanje živali dopušča, jo pogosteje kopamo, da tako zmanjšamo število bakterij na koži oz. kožuhu.

Temeljito in redno čistimo bivalno okolje živali in s pravilno higieno rok preprečujemo prenos na ljudi.

## Zaključki

Število primerov okužb z MRSP je v zadnjem času skokovito naraslo, glavni razlog pa je verjetno klonalno širjenje v populacijah psov. Zaradi izrazite večkratne odpornosti je to postal eden izmed pomembnejših veterinarskih problemov. Ker je problem razmeroma nov, je izjemno pomembno ustrezno izobraževanje veterinarjev in drugih veterinarskih delavcev. Izjemna odpornost proti meticilinu in številnim drugim skupinam antibiotikov lahko pomeni nevarnost za prenos genov na druge stafilokoke, predvsem na *S. aureus*, zato je problem potrebno obravnavati tudi s stališča zoonoz.



## PRIPOROČILA ZA UPORABO ANTIBIOTIKOV PRI OKUŽBAH Z MRSA

### OPREDELITEV PROBLEMA

#### **Odpornost proti meticilinu**

Sevi MRSA so odporni proti meticilinu (in večini ostalih betalaktamskih antibiotikov) zaradi gena *mecA*, ki kodira sintezo spremenjene beljakovinske molekule 'penicilin vezoče beljakovine' (penicilin binding protein, PBP2'), na katero ni več možna vezava penicilina ali cefalosporinov. Gen *mecA* je univerzalni gen, ki povzroča odpornost proti meticilinu pri različnih koagulazno pozitivnih vrstah stafilokokov (KPS) in tudi pri številnih koagulazno negativnih vrstah (KNS). V zadnjem letu pa so se v nekaterih državah pri govedu in pri ljudeh pojavili tudi sevi *S. aureus*, pri katerih je odpornost kodirana z nekoliko spremenjenim genom *mecC*. Za dokazovanje tega gena je potreben nekoliko modificiran diagnostični postopek. V Sloveniji doslej taki sevi še niso ugotovljeni.

Nekateri redki sevi imajo tudi alternativni mehanizem odpornosti na osnovi povečane proizvodnje betalaktamaz, ki hidrolizirajo betalaktamske antibiotike in jih tako inaktivirajo.

#### **Proti meticilinu odporni *Staphylococcus aureus* (MRSA) pri gospodarskih živalih**

Pri ljudeh so seve MRSA do nedavnega razvrščali v dve večji skupini in sicer na tiste, ki so pridobljeni v bolnišnicah (Hospital-Associated ali HA-MRSA) in pridobljene zunaj njih (Community-Associated ali CA-MRSA).

Pomembnost MRSA pri različnih živalskih vrstah se je izjemno povečala, ko so ugotovili, da se lahko pojavlja tudi pri živalih, ki so namenjene za prehrano ljudi. V zvezi s tem pojavom se največkrat omenja LA-MRSA (ang. Livestock-associated MRSA), ki se nanaša na klon ST 398. Pojavlja se predvsem pri prašičih, pa tudi pri prežvekovalcih, konjih in redkeje pri drugih vrstah živali. Pri živalih praviloma ne povzroča zdravstvenih problemov, vendar je spremljanje potrebno zaradi dejstva, da lahko povzroča okužbe ljudi. V veterinarski medicini je bilo na področju problematike MRSA prelomno leto 2007, ko so posumili, da je prašičji klon MRSA ST 398, ki je bil prvič ugotovljen na Nizozemskem, verjetno razširjen v vseh državah EU.

Rezultati raziskav kažejo, da je bil CC398 v osnovi človeški *Staphylococcus aureus*, ki je bil občutljiv za meticilin (meticilin sensitive *S. aureus*, MSSA), ki se je dobro adaptiral predvsem v populaciji prašičev, vendar zanje ni bil klinično pomemben. Intenzivna uporaba antibiotikov pri prašičih je pomenila velik selekcijski pritisk, zaradi katerega je sev razvil odpornost proti meticilinu in drugim antibiotikom. Večina živalskih sevov MRSA je odporna proti tetraciklinom, zato je zelo verjetno, da je imela pri selekciji odpornih sevov pomembno oz. odločilno vlogo tudi uporaba tetraciklinov za rejske živali.

Sevi CC398 so, kljub dobri adaptaciji na živalske vrste, obdržali patogenost za ljudi, zato so njihovo prisotnost zaznali šele ob pojavu okužb pri ljudeh, ki so bili v neposrednem ali posrednem stiku s prašiči. Novejše raziskave kažejo, da prenos MRSA na ljudi možen tudi preko živil živalskega izvora. Tak način prenosa je sicer manj verjeten in doslej razmeroma redko opisan, vendar je kontaminacija različnih vrst živil (predvsem mesa in mesnih izdelkov) zelo visoka in zahteva pozorno spremljanje. Najpomembnejša pot prenosa MRSA z gospodarskih živali na ljudi je neposredni stik med živaljo in delavci v različnih rizičnih poklicih (rejci, veterinarji, mesarji ipd). Prenos MRSA preko kontaminirane hrane je razmeroma redek.

Nedavno je bil pri človeških in govejih izolatih v Veliki Britaniji in na Nizozemskem ugotovljen nov tip MRSA, ki ima namesto gena *mecA* nekoliko spremenjeno obliko gena *mecC*, ki prav tako odgovoren za odpornost proti meticilinu. Gen je v 70% podoben genu *mecA*, vendar je za njegovo dokazovanje z molekularnimi metodami potreben nekoliko spremenjen protokol.

Zaradi možnosti pojava nove oblike MRSA je potrebno pri izolatih živalskega izvora, predvsem govejih, prirediti diagnostične postopke na način, ki omogoča detekcijo novo opisanega gena *mecC*.

### Stanje v Sloveniji

V Sloveniji so bile doslej opravljene različne študije glede MRSA pri živalih in preliminarni rezultati kažejo, da so epizootiološko pomembni samo prašiči.

Na podlago preliminarnih rezultatov pregleda hlevskega prahu TŠ 2008 je bilo naknandno pregledani še nosni brisi prašičev na farmah, ki so bile pozitivne na MRSA. Ugotovili smo, da je bila večina živali nosilcev MRSA. Poleg tega so bili pregledani tudi nosni brisi delavcev in veterinarjev na farmah in so bili vsi pozitivni na MRSA. Noben od njih ni imel zdravstvenih težav, zato smo ocenili, da bili le kolonizirani oz. kontaminirani. Vsi sevi (živalski in

človeški) so bili tipizirani na podlagi spa tipizacije, ki je bila opravljena na Medicinski fakulteti v Ljubljani. Sevi so pripadali enakim spa tipom kot smo jih izolirali iz prahu prašičjih hlevov.

V okviru preliminarnega pregleda prašičjega mesa v letu 2011 in 2012 smo ugotovili, da je približno tretjina vzorcev kontaminiranih z MRSA. V okviru iste študije so bili vsi pregledani vzorci perutninskega mesa negativni na MRSA.

Pri govedu so bili doslej pregledani vzorci mleka, ki so bili vsi negativni na MRSA. Uveden je bil tudi diagnostični postopek za dokazovanje novega gena za rezistenco *mecC*, ki ga imajo lahko goveji in človeški izolati. V vzorcih govejega mesa MRSA še ni bil dokazan.

### **Predlagani nadzor**

Brojlerji, klavni prašiči in teleta do 1 leta starosti, krave mlekarice in purani v državah, kjer letna produkcija presega 10 000 ton je priporočljivo spremljati vsaka 3 leta po principu rotacije. Monitoring za brojlerje in prašiče pitance pa se v vsaki državi izvaja na volonterski osnovi. Program spremljanja se lahko izvaja vzporedno s programom za monitoring salmonel.

### **Uporaba antibiotikov pri rejnih živalih**

- Skrb za splošno dobro zdravstveno stanje živali mora biti zagotovljena na takem nivoju, da preprečuje pojav in širjenje kužnih bolezni in s tem zmanjšuje potrebo po uporabi antibiotikov.
- Uporaba antibiotikov pri rejnih živalih v čredi mora biti omejena le za primere, ko imajo živali izražene klinične znake bolezni.
- Uporaba antibiotikov za zdravljenje vse črede je dopustna le izjemoma, ko veterinar s kliničnega ali epizootiološkega vidika nesporno oceni, da je zdravljenje potrebno.
- Za nabor antibiotikov za zdravljenje rejnih živali bi bilo potrebno izdelati doktrine, ki morajo biti pripravljene za posamezne vrste in kategorije živali.