

Latvijas Lauksaimniecības universitāte
Latvia University of Life Sciences and Technologies

Veterinārmedicīnas fakultāte
Faculty of Veterinary Medicine



Meldra Ivbule

**METICILĪNREZISTENTĀ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
SASTOPAMĪBA CŪKKOPĪBAS INDUSTRIJĀ**

***OCCURRENCE OF METHICILLIN-RESISTANT
STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN PIG INDUSTRY***

Promocijas darba KOPSAVILKUMS
Dr.med.vet zinātniskā grāda iegūšanai

SUMMARY
of the doctoral thesis for the scientific degree of *Dr.med.vet.*

Jelgava
2019

Promocijas darba zinātniskā vadītāja:
Scientific Supervisor:

LZA korespondētājlocekle, profesore, Dr.med.vet. **Anda Valdovska**
LAS Correspondent Member, Professor, Dr.med.vet. Anda Valdovska

Promocijas darbs izstrādāts

- Latvijas Lauksaimniecības universitātes Veterinārmedicīnas fakultātes Pārtikas un vides higienas institūta mikrobioloģijas laboratorijā;
- Latvijas Lauksaimniecības universitātes Biotehnoloģiju zinātniskajā laboratorijā;
- Rīgas Stradiņa universitātes Onkoloģijas institūtā.

Research has been carried out at:

- *Latvia University of Life Sciences and Technologies Faculty of Veterinary Medicine Microbiological laboratory of Institute of Food and Environmental Hygiene;*
- *Latvia University of Life Sciences and Technologies Laboratory of Biotechnologies;*
- *Riga Stradins University Institute of Oncology.*

Oficiālie recenzenti

Official reviewers:

- Profesors, Dr.med.vet. **Ilmārs Dūrītis** (Latvijas Lauksaimniecības universitāte, Veterinārmedicīnas fakultāte/ *Professor, Dr.med.vet. Ilmārs Dūrītis Latvia University of Life Sciences and Technologies, Faculty of Veterinary Medicine,*).
- LZA akadēmiķe, profesore, Dr.med. **Modra Murovska** (Rīgas Stradiņa universitātes Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūta direktore/ *LAS Academician, Professor, Dr.med. Modra Murovska (Director of the Institute of Microbiology and Virology, August Kirhenstein, Riga Stradins University)*).
- PhD, LVZU profesors **Mindaugas Malakauskas** (Lietuvas Veselības Zinātņu universitāte/ *PhD, professor Mindaugas Malakauskas Lithuanian University of Health Sciences*)

Promocijas darba izstāvēšana notiks 2019. gada 25. jūnijā plkst. 10.00 Latvijas Lauksaimniecības universitātes Veterinārmedicīnas fakultātē, Jelgavā, K. Helmaņa ielā 8, A 300. auditorijā

The defense of this thesis will take place at Latvia University of Life Sciences and Life Technologies Faculty of Veterinary Medicine, Jelgava, K.Helmaņa Street 8, auditorium A 300, on 25th of June 2019, at 10.00.

Ar promocijas darbu var iepazīties Latvijas Lauksaimniecības universitātes Fundamentālajā bibliotēkā Jelgavā, Lielajā ielā 2 un
http://llufb.llu.lv/promoc_darbi.html

*The thesis is available at the Fundamental Library of Latvia University of Life Sciences and Life Technologies, Jelgava, Lielā iela street 2 and
http://llufb.llu.lv/promoc_darbi.html*

Satura rādītājs/ Content

IEVADS.....	6
Darba aktualitāte	6
Darba hipotēze	7
Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes	7
Darba mērķis	7
Darba uzdevumi	7
Darba zinātniskā novitāte	8
Personīgais ieguldījums	9
Pētījuma rezultātu aprobācija/ Approbation of the study results.....	9
Promocijas darba apjoms un struktūra	10
MATERIĀLS UN METODIKA	11
Pētījuma laiks un vieta	11
PĒTĪJUMA REZULTĀTI UN DISKUSIJA.....	14
MRSA sastopamība cūkām saimniecībās	14
MRSA sastopamība cūkās un cūku liemeņos kautuvēs	19
MRSA sastopamība saimniecību un kautuvju vidē un darbiniekos	22
MRSA diagnostikas iespējas atkarībā no paraugu veida (nazālie, rektālie, piena paraugi).....	27
Saimniecībās izolētā MRSA antimikrobiālās rezistences analīze	30
Kautuvēs izolētā MRSA antimikrobiālās rezistences analīze	33
Izolētā MRSA genotipiskā analīze	35
Izolēto MRSA spa tipu un antimikrobiālās rezistences savstarpējais raksturojums.....	39
Enterotoksīnu kodējošo gēnu sastopamība MRSA	45
SECINĀJUMI	50
PRIEKŠLIKUMI	52
INTRODUCTION.....	53
Topicality of the work	53
Hypothesis of the study	54
Research thesis.....	54
The aim of the research	54
The objectives of the doctoral thesis	54
Scientific novelty of the research	55
Personal contribution	56
Structure and volume of doctoral thesis	56
MATERIAL AND METHODS	57
Location and time of the research	57
RESULTS OF THE RESEARCH AND DISCUSSION	58

The occurrence of MRSA in pigs on farms.....	58
The occurrence of MRSA in pigs and pig carcasses in slaughterhouses	61
The occurrence of MRSA in farms and slaughterhouses, environment and workers.....	63
MRSA diagnostic options based on sample type (nasal, rectal, milk samples)	67
Analysis of antimicrobial resistance of MRSA isolated from farms	69
Analysis of antimicrobial resistance of MRSA isolated in slaughterhouses	71
Genotypic analysis of isolated MRSA	72
Characteristics of isolated MRSA <i>spa</i> types and antimicrobial resistance.....	75
The occurrence of enterotoxin-encoding genes in MRSA	78
CONCLUSIONS.....	82
RECOMENDATIONS FOR PRACTICE.....	84

IEVADS

Darba aktualitāte

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) ir nozīmīgs pārtikas toksikoinfekciju, pneimoniiju, brūču infekciju un slimīcās iegūto infekciju, kas nereti pāriet septicēmijā, ierosinātājs (Graveland et al., 2011). Tas spēj ģenētiski izmainīt savas šūnapvalka olbaltumvielas, padarot mikroorganismus neuzņēmīgus pret antibiotiku iedarbību (Bocher, 2008). Meticilīnrezistentais *S. aureus* (MRSA) ir viens no biežāk sastopamajiem augsti patogēnajiem mikroorganismiem, kas rezistenci pret β -laktāma grupas antibiotikām ieguvis, pateicoties *mecA* gēnam. Ir konstatēts, ka MRSA ir multirezistents, un tam novēro rezistenci pret cefalosporīniem, tetraciklīniem, aminoglikozīdiem, makrolīdiem, hloramfenikolu un fluorokvinoloniem (Lee, 2003), kā arī pret vankomicīnu (Tenover, Goering, 2009), kas ir viens no efektīvākajiem un biežāk lietotajiem preparātiem MRSA infekciju ārstēšanai (Boucher et al., 2010), tādējādi radot problēmsituācijas slimības ārstēšanas gaitā (gan veterinārmedicīnā, gan humānajā medicīnā) (Otter, French, 2010).

MRSA producē enterotoksīnus (SEA), kas toksikoinfekciju gadījumos cilvēkiem izraisa klīniskos simptomus – sliktu dūšu, vemšanu, vēdera krampjus un diareju (Nitzsche et al., 2007; Argudin et al., 2010; Chao et al., 2015). SEA, SEB, SEC and SEH piemīt emētiska iedarbība (Argudin et al., 2010). Visbiežāk toksikoinfekciju gadījumos konstatē SEA, savukārt SEC visbiežāk konstatē MRSA dzīvnieku izolātiem, bet SEB ir tīcīs pat pētīts kā „bioloģiskais ierocis” (Pinchuk et al., 2010). SEH ir viens no toksīniem, kas konstatēts pēdējos piecos gados, un tā izpēte turpinās vēl joprojām.

MRSA sastopams gan lauksaimniecības dzīvniekiem, gan mīldzīvniekiem un eksotiskajiem dzīvniekiem, tomēr visbiežāk tas konstatēts cūkām (Graveland et al., 2011; Cunny et al., 2013). MRSA rada potenciālu inficēšanās risku cūkkopības industrijā nodarbinātājiem (Wulf et al., 2008; Wettstein Rosenkranz et al., 2014). No produktīvajiem dzīvniekiem, kuri ir MRSA nēsātāji, kautuvēs kaušanas un liemeņu apstrādes procesa laikā MRSA var tikt pārnests no dzīvnieka tālāk uz liemeni, vidi un darbiniekiem. Savukārt, ja liemeņi un gaļa ir kontaminēta ar MRSA, mikrobioms var ieklūt tālāk pārtikas kēdē (Kluytmans et al., 2010).

Eiropā veiktajos pētījumos dažādās valstīs MRSA sastopamība cūku novietnēs variē no 0.0% - 51.2% (EFSA, 2009). Pētījumi liecina par to, ka MRSA ir plaši sastopams cūkkopības industrijā - gan dzīvniekiem, gan nozarē strādājošajiem, tomēr nav pieejami dati par situāciju Latvijā, par MRSA patogenitāti, tās genotipisko raksturojumu, kā arī maz ir pieejama informācija par MRSA sastopamību un pārneses ceļiem cūku ganāmpulkos, sastopamību dažādās organismu sistēmās, kā arī to, vai pastāv saikne starp MRSA izolātu *spa* tipiem, antimikrobiālo rezistenci un stafilocoku enterotoksīnu klātbūtni genomā.

Darba hipotēze

Atkarībā no saimniecības un kautuves darba intensitātes un ražošanas jaudas varētu variēt MRSA sastopamība un genoma dažādība, un ET gēnu klātbūtnē MRSA genomā varētu liecināt par augstāku AMR.

Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes

Promocijas darba hipotēzes ir jāpierāda ar šādām **tēzēm**.

1. MRSA sastopamību ietekmējošs faktors ganāmpulkā ir cūku vecums, kā arī rezistentā stafilokoka pārnese var notikt no MRSA pozitīvām laktējošām sivēnmātēm uz zīdējsivēniem, no MRSA pozitīvām kaujamām cūkām uz liemeniem, kā arī no cūkām uz cūkkopības industrijā nodarbināto personālu.
2. Kautuvēs ir lielāka MRSA sastopamība un genoma dažādība nekā cūkkopības saimniecībās.
3. Novietnēs un kautuvēs ar lielu ražošanas jaudu ir lielāka MRSA sastopamība un genoma dažādība nekā saimniecībās un kautuvēs ar mazu ražošanas jaudu.
4. MRSA biežāk konstatējams cūkām elpošanas sistēmā.
5. Nepastāv sakarība starp MRSA antimikrobiālo rezistenci, *spa* tipu un eneterotoksīnu kodējošo gēnu klātbūtni genomā.
6. Retāk izplatītākajiem MRSA *spa* tipiem ir zemāka antimikrobiālā rezistence.

Darba mērķis

Promocijas darba mērķis ir izpētīt meticilīnrezistentā *Staphylococcus aureus* sastopamību cūkkopības industrijā - mājas cūku populācijā, vidē, nozarē strādājošām personām, un noskaidrot izolētā meticilīnrezistentā *Staphylococcus aureus* antimikrobiālo rezistenci un genotipu..

Darba uzdevumi

Lai minēto mērķi īstenotu, izvirzīti sekojoši **pētnieciskā darba uzdevumi**.

1. noskaidrot MRSA sastopamību:
 - 1.1. saimniecībās dažāda vecuma cūku grupās;
 - 1.2. kautuvēs cūkām un to liemenos atkarībā no kautķermeņu apstrādes tehnikas veida;
 - 1.3. saimniecību un kautuvju vidē.
2. izpētīt MRSA sastopamību cūkkopības industrijā (saimniecību un kautuvju) nodarbinātā personāla vidū.

3. izvērtēt MRSA diagnostikas iespējas atkarībā no pētāmā parauga veida (nazālais, rektālais, piena paraugs).
4. izvērtēt MRSA izolātu rezistenci pret antibiotikām pētāmajās saimniecībās un kautuvēs.
5. izvērtēt kautuvēs un saimniecībās izolēto MRSA genotipu:
 - 5.1. noteikt un salīdzināt izolēto MRSA *spa* tipus.
 - 5.2. noteikt izolēto MRSA ET kodējošo gēnu klātbūtni genomā.
6. izvērtēt, vai pastāv sakarība starp izolēto MRSA *spa* tipiem, ET kodējošo gēnu klātbūtni genomā un AMR.
7. noteikt, vai cūkkopības industrijā nodarbinātais personāls ir cūku izcelsmes MRSA nēsātāji.

Darba zinātniskā novitāte

1. Pirmo reizi Latvijā veikta MRSA izolēšana un sastopamības izvērtēšana cūkkopības saimniecībās un kautuvēs, kā arī to vidēs un cūkkopības industrijā nodarbinātajam personālam. Salīdzinot ar citās Eiropas valstīs veiktajiem pētījumiem (Nīderlandē - 40.0% cūku (de Neeling et al., 2007; van Duijkeren et al., 2008), Vācijā – 50.0% (Mutters et al., 2016), Itālijā - 39.8% - 83.7% (EFSA, 2009; Batisti et al., 2010), Belģijā – 40.0% - 84.0% (Pletnickx et al., 2013; Peeters et al., 2015)), Latvijā konstatēta vidēji augsta MRSA sastopamība (saimniecībās - 19.7% cūku, kautuvēs - 51.0%).
2. Pirmo reizi Latvijā veikta cūkkopības industrijā iegūto MRSA izolātu antimikrobiālās rezistences noteikšana, genotipiskā izvērtēšana un stafilokoku enterotoksīnu noteikšana. Līdzīgi citu autoru veiktajiem pētījumiem konstatēts, ka viena MRSA *spa* tipa ietvaros novēro atšķirīgu antimikrobiālo rezistenci, tomēr pretēji citu autoru pētījumiem, kas norāda, ka Eiropā lielākoties konstatējams MRSA, kas pieder pie ST398 sekvoences tipa, mēs konstatējām MRSA, kas pieder pie ST9, kas pēc citu autoru domām lieākoties raksturīgs Āzijas reģionam.
3. Pirmo reizi izvērtētas sakarības starp MRSA *spa* tipu, antimikrobiālo rezistenci un enterotoksīnu gēnu klātbūtni un konstatēts, ka nepastāv saistošas tendences attiecībā uz MRSA antimikrobiālo rezistenci un enterotoksīnu kodējošo gēnu klātbūtni, bet gan vērojama izteikta AMR un enterotoksīnu kodējošo gēnu v dazādībā viena MRSA *spa* tipa ietvaros.
4. Pirmo reizi Latvijā izvērtēta MRSA diagnostikas efektivitāte cūkām atkarībā no paraugu ieguves veida. Nemot vērā to, ka šobrīd pasaule ir maz pieejamu/ veiktu pētījumu par MRSA izolēšanas iespējām dzīvniekiem atkarībā no parauga veida, it īpaši par MRSA sastopamību sīvēnmāšu piena paraugos, izpēte šajā jomā sniedz papildus informāciju par MRSA diagnostikas iespējām.

Personīgais ieguldījums

Promocijas darba izstrādes ietvaros veikta:

1. literatūras apkopošana un analīze;
2. darba gaitas un metodikas plānošana;
3. pētījumā iesaistīto saimniecību un kautuvju apsekošana, to darbības un apstākļu novērtēšana;
4. izpētē izmantoto paraugu iegūšana;
5. saimniecībās un kautuvēs strādājošā personāla aptauja;
6. iegūto paraugu mikrobioloģiskā izmeklēšana un antimikrobiālās rezistences noteikšana;
7. iegūto datu statistiskā apstrāde un analīze.

Pētījuma rezultātu aprobatīcija/ *Approbation of the study results*

Zinātniskās publikācijas/*Scientific publications*

1. Ivbule M., Miklaševičs E., Čupāne L., Bērziņa L., Bāliniņš A., Valdovska A. (2017) Presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in sloughterhouse environment, pigs, carcasses and workers. *Journal of Veterinary research* 61: 257-277. (**Scopus /WoS**)
2. Ivbule M., Miklaševičs E., Čupāne L., Bērziņa L., Bāliniņš A., Valdovska A. (2017) Investigation of MRSA isolates from pig origin, environment and stuff by spa typing, antimicrobial resistance and SE gene detection. (2017) *Veterinarija ir Zootechnika*, 75 (97): 6-16. (**Scopus /WoS**)
3. Ivbule M., Miklaševičs E., Čupāne L., Bērziņa L., Bāliniņš A., Valdovska A. (2017) MRSA in pig population. *Polish Journal of Microbiology*, 66 (3): 383-392. (**Scopus /WoS**)
4. Ivbule M., Valdovska A. (2014) *Staphylococcus aureus* in different age groups of pigs Research for Rural Development 2014 Annual 20th Intenational Scientific Conference Proceedings, 1:176-180. (**Scopus /WoS**)
5. Ivbule M., Valdovska A. (2014) Occurrence of *Staphylococcus aureus* in pig slaughterhouses. Konferences “Infectious and Parasitic Diseases of animals” “Proceedings of scientific contributions and abstracts”, 229.-231.
6. Ivbule M., Valdovska A. (2012) *Staphylococcus aureus* aktualitāte cilvēkiem un dzīvniekiem. Konferences “Veterinārmedicīnas zinātnes un prakses aktualitātes” Raksti, Nr.1, 184.-187.

**Pētījuma rezultāti aprobēti šādās starptautiskās zinātniskās konferencēs/
Research results were approved at the following international scientific
conferences:**

1. 7th International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology “BioMicroWorld2015”. Barselona, Spānija, 28.-30. oktobris, 2015. Ivbule M., Valdovska A., Miklaševič E., Čupāne L. Prevalence and risk factor analysis of MRSA in pig herds in Latvia (stenda ziņojums).
2. 25th Nordic View to Sustainable Rural Development. Rīga, Latvija, 16.-18. jūnijs, 2015. Ivbule M., Valdovska A., Miklaševič E., Čupāne L. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pig slaughterhouses (stenda ziņojums).
3. 20. ikgadējā starptautiskā zinātniskā konference “Research for Rural Development”. Jelgava, Latvija 21.-23. maijs, 2014. Ivbule M., Valdovska A. *Staphylococcus species* in different age groups of pigs in Latvia (mutisks ziņojums).
4. 5th International Scientific Conference “Infectious and Parasitic Diseases of animals”. Košice, Slovākija, 4.-5. septembris 2014. Ivbule M., Valdovska A. Occurrence of *Staphylococcus aureus* in pig slaughterhouses (stenda ziņojums).
5. Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna: Starptautiskā ikgadējā konference “Veterinārmedicīnas zinātnes un prakses aktualitātes”. Jelgava, Latvija, 2014., 27.-28. novembris. Ivbule M., Valdovska A. *Staphylococcus aureus* sastopamība cūku kautuvēs.
6. 16th Baltic Animal Breeders and GeneticConference. Rīga, Latvija, 2013. Ivbule M., Valdovska A. *Staphylococcus aureus* in piglets (stenda ziņojums).
7. Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna: Starptautiskā ikgadējā konference “Veterinārmedicīnas zinātnes un prakses aktualitātes”. Jelgava, Latvija, 2012., 22.-23. novembris. Ivbule M., Valdovska A. *Staphylococcus aureus* aktualitāte dzīvniekiem un cilvēkiem (stenda ziņojums).

Promocijas darba apjoms un struktūra

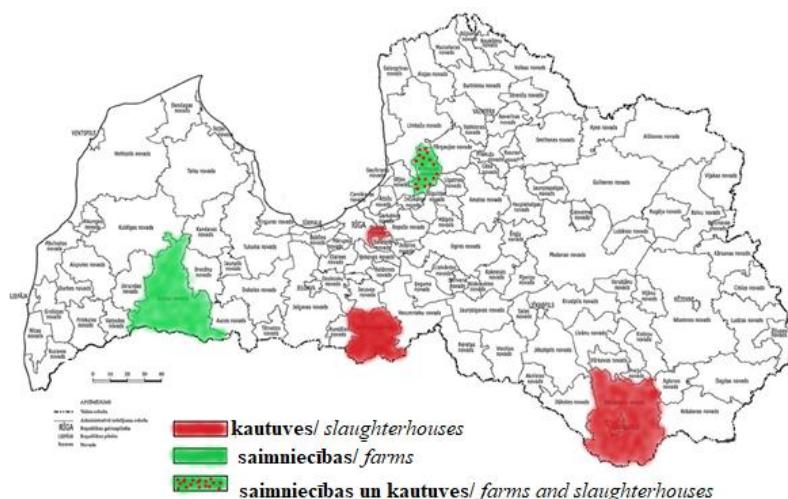
Promocijas darba noformēts uz 151 lapaspusēm ar 51 attēlu un 35 tabulām. Promocijas darbs izkārtots nodaļās: ievads, literatūras apskats, materiāls un metodika, pētījuma rezultāti, diskusija, secinājumi, priekšlikumi un izmantotā literatūra (277 literatūras avoti) un pievienoti 4 pielikumi.

MATERIĀLS UN METODIKA

Pētījuma laiks un vieta

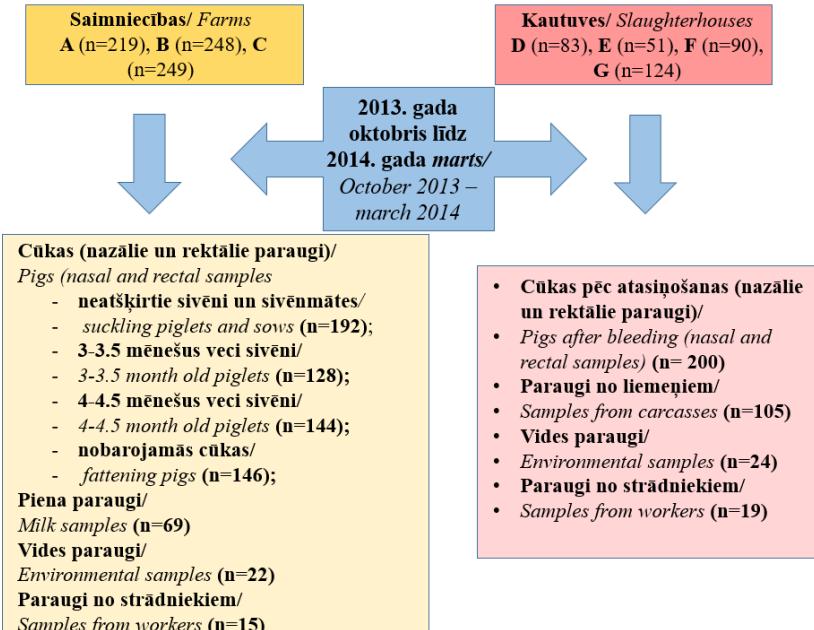
Promocijas darbs izstrādāts no 2013. gada līdz 2017. gadam LLU VMF PVHI Mikrobioloģijas laboratorijā un Biotehnoloģiju zinātniskajā laboratorijā, kā arī RSU Onkoloģijas institūta laboratorijā.

Paraugi iegūti no 3 dažāda lieluma saimniecībām un 4 dažādas jaudas kautuvēm dažādos Latvijas reģionos (skat. 1. att.). Izmeklētas 405 cūkas, saimniecību un kautuvju vide un darbinieki (paraugu sadalījumu skat. 2. att.).



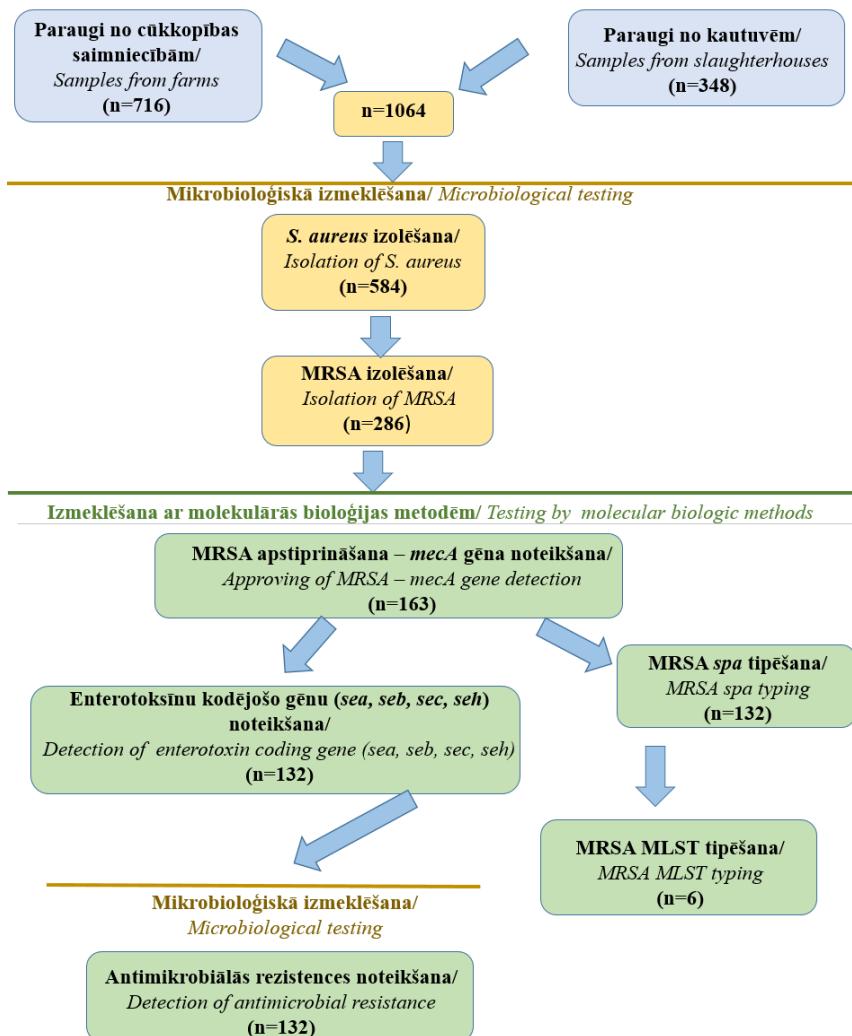
1. att. Pētījuma paraugu ņemšanas vietas/

Fig.1 Sample taking places



2. att. Izmeklēto paraugu sadalījums/
Fig. 2. Distribution of investigated samples

Paraugu izmeklēšana un darba gaita attēlota Kopējā plātījuma shēmā (skat. 3. att.).



3. att. Kopējā pētījuma shēma/
Fig. 3. Scheme of the study

Veicot mikrobioloģisko izmeklēšanu, paraugi no transportbarotnēm vai petri platēm (vides gaisa paraugi, kas iegūti ar Koha sedimentācijas metodi) tika uzsēti uz Baird-Parker agara. Raksturīgākās kolonijas tika krāsotas pēc Grama, mikroskopētas. Izolātu tālākai pārsēšanai un apstiprināšanai izmantots Mannīta sāls

agars (MSA), plazmas koagulācijas tests, *S. aureus* selektīvā barotne CHROMagar Staph aureus, MRSA selektīvā barotne CHROMagar MRSA.

Izmantojot molekulārās bioloģijas metodes, veikta DNS izdalīšana, MRSA noteikšana (apstiprināšana pēc *mecA* gēna), enterotoksīnu kodējošo gēnu noteikšana, MRSA izolātu tipēšana pēc *spa* gēna un pēc MLST.

Ar PCR apstiprinātajiem MRSA izolātiem veikta antimikrobiālās rezistences noteikšana pret 12 antibiotikām - penicilīnu, amoksicilīnu kopā ar klavulānskābi, cefaleksīnu ciproflokacīnu, tetraciklīnu, klindamicīnu, eritromicīnu, gentamicīnu, meropenemu, oksacilīnu, trimetoprim-sulfonamīdiem un vankomicīnu, izmantojot Kirby Bauer disku difūzijas metodi.

Datu statistiskā apstrāde veikta, izmantojot SPSS 16 programmu (SPSS, INC., Chicago, IL, USA). Darbā tika izmantota kontingences analīze un χ^2 tests, lai noteiktu stafilocoku sastopamības atšķirības starp cūku vecuma grupām saimniecībās un kautuvēs. Atšķirības tika novērtētas kā būtiskas, ja p vērtība bija <0.05 . Pazīmu saistības ciešuma noteikšanai izmantojām Krāmera V koeficientu, kas atrodas robežās no 0 līdz 1. Jo vērtība tuvāka 1, jo starp pazīmēm bija vērojama ciešāka saistība jeb mikroorganismu sadalījums izteiktī atšķiras dažādās saimniecībās /kautuvēs. Izmantojot Beijesa teorēmu, darba rezultātos tika pierādītas stafilocoku diagnostikas iespējas cūkām ir atkarīgas no izmeklētā parauga veida.

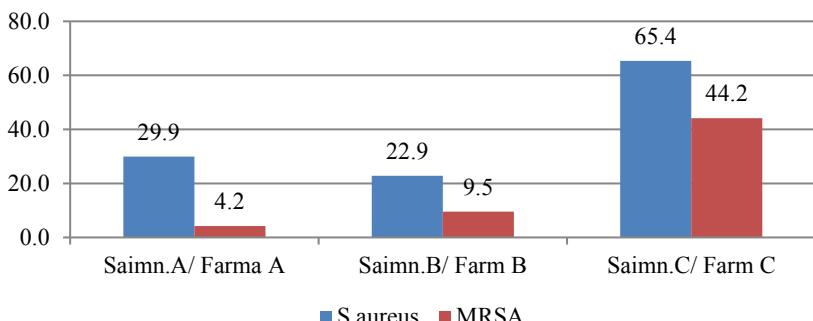
PĒTĪJUMA REZULTĀTI UN DISKUSIJA

MRSA sastopamība cūkām saimniecībās

S. aureus ir viens no nozīmīgākajiem pārtikas toksikoinfekciju, pneumoniju, brūču infekciju un nozokomiālo infekciju izraisītājiem (Tiemersma et al., 2004). Ir konstatēts, ka starp visiem lauksaimniecības dzīvniekiem, tieši cūkas ir potenciāls MRSA infekcijas avots cilvēkiem, kuri ir biežā kontaktā ar šiem MRSA kolonizētajiem dzīvniekiem, it īpaši cūkkopības nozarē strādājošie – novietu un kautuvju darbinieki un veterinārārsti (Huijsdens et al., 2006; Voss et al., 2005; Wulf et al., 2006). Nīderlandē veiktais pētījumā konstatēts, ka 40.0% cūku bija MRSA CC398 nēsātājas (MRSA konstatēts nāsīs) (de Neeling et al., 2007; van Duijkeren et al., 2008). Līdzīgi ziņojumi ir konstatēti arī citās valstīs - Belģijā (Denis et al., 2009), Dānijā (Guardbassi et al., 2009), Vācijā (Witte et al., 2007), ASV (Smith et al., 2009), un Singapūrā (Sergio et al., 2007).

Pētījumos pierādīts, ka MRSA ir samērā bieži sastopams mājdzīvnieku vidū, pie kam, vērojams sastopamības pieaugums. Vācijā 2015. gadā MRSA pozitīvas bija 40.0% izmeklēto cūku (Idelevich et al., 2015), bet 2016. gadā – jau 50.3% dzīvnieku (Mutters et al., 2016). MRSA vidējā sastopamība mūsu pētījumā iekļautajā mazajā (saimniecība A) un vidēja lieluma saimniecībā (B) ir attiecīgi 4.2% un 9.5% (skat. 4. att.), kas ir mazāka nekā ziņotais citās valstīs. Piemēram, Itālijā MRSA prevalence

cūku ganāmpulkos variē no 39.8% - 83.7% (EFSA, 2009; Batisti et al., 2010) un Belģijā – no 40.0% līdz 84.0% (Pletnickx et al., 2013; Peeters et al., 2015). Protams, kā norāda arī citi zinātnieki, rezistētā stafilocoka sastopamības ietekmējoši faktori ir **saimniecības** un novietētu **lielums** (Batisti et al., 2010), saimniecības tips un cūku iepirkšana no citām saimniecībām, un, ka augstāka sastopamība tiek novērota lielākās saimniecībās (Crombe et al., 2012), kas sakrīt arī ar mūsu rezultātiem, jo saimniecībā A, kur ir mazs dzīvnieku skaits, MRSA sastopamība ir vidēji 4.2% dzīvniekiem, bet saimniecībā C, kur ir vislielākais dzīvnieku skaits, MRSA sastopamība cūkām sastāda jau 44.2%.



4. att. *S. aureus* un MRSA sastopamības salīdzinājums saimniecībās/
Fig. 4. Comparison of *S. aureus* and MRSA occurrence on farms

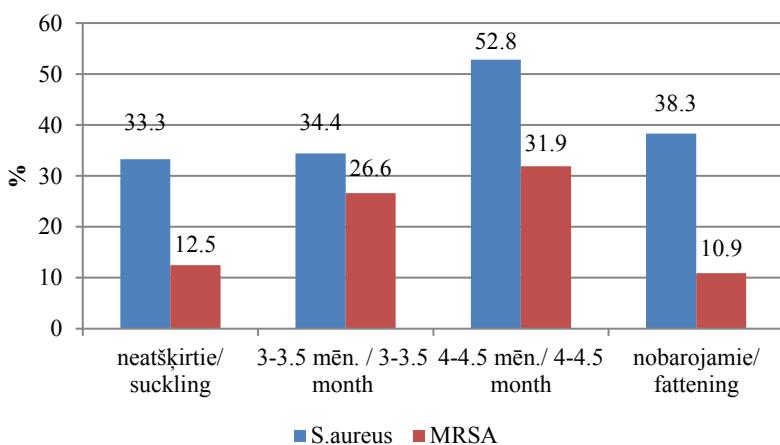
Salīdzinot ar citu valstu veiktajiem pētījumiem, visās mūsu pētījumā iekļautajās cūku saimniecībās ir konstatēts MRSA, bet citiem pētniekiem - tikai pusei saimniecībās, t.i., Vācijā - 52.0% un Nīderlandē 56.0% (Alt et al., 2011). Savukārt Itālijā veiktajā pētījumā (Batisti et al., 2010) MRSA konstatēts 38.1% no izmeklētajām cūku turēšanas mītnēm, bet Ķīnā – tikai 3.3% izmeklēto cūku (Guo et al., 2018).

Mūsu pētījuma rezultāti lauj savstarpēji salīdzināt *S. aureus* un MRSA klātbūtni cūkkopības saimniecībās. Konstatējam, ka lielāka sastopamība un zemāka proporcionālitāte starp minētajiem stafilocokiem ir vērojama saimniecībās ar augstāku dzīvnieku blīvumu un lielāku dzīvnieku skaitu. Tā saimniecībā A (ar vismazāko dzīvnieku skaitu) MRSA sastopamību cūkām konstatējam par vidēji 26% retāk nekā *S. aureus*, savukārt saimniecībā C (ar vislielāko dzīvnieku skaitu) – jau par 21% retāk nekā *S. aureus*. Arī mēs kopumā novērojam sakarību - jo intensīvāka ir cūku audzēšana, lielāks cūku blīvums un arī dzīvnieku skaits novietnē, jo biežāka ir arī MRSA sastopamība.

MRSA biežāku sastopamību lielajās saimniecībās varētu skaidrot ar lielāku skaitu darbiniekiem, kuri ir MRSA kolonizēti, kā arī citiem vektoriem – grauzējiem un insektiem, ar tuvumā esošo saimniecību/telpu gaisu, kas no ventilācijas sistēmām izplūst ārpusē (Alt et al., 2011; Friese et al., 2012; Shulz et al., 2012). Zināms, ka MRSA pēc ieklūšanas cūku ganāmpulkā izplatās starp dzīvniekiem tieša kontakta ceļā, bet kūts vides putekļi un kontaminētās virsmas kalpo kā būtisks MRSA rezervuārs (Broens et al., 2011a).

Joprojām ir samērā maz ilglaicīgu pētījumu par MRSA dinamiku cūkās, un lielākā daļa šādu pētījumu ir veikti, nosakot MRSA klātbūtni cūkam līdz kaušanas vecumam (Broens et al., 2011a, Burns et al., 2014, Verhegge et al., 2013) vai pat vēl īsākā laika periodā, t.i., līdz 70 dienu vecumam (Weese et al., 2011). Turklat, šie pētījumi neatainino individuālu dzīvnieku rezultātus (Bangerter et al., 2016), savukārt citu autoru (Burns et al., 2014; Weese et al., 2011) pētījumi ir veikti tikai vienā saimniecībā, bet Broens (Broens et al., 2011) veiktajā pētījumā ir iegūti mikrobioloģiskie kopparaugi no cūkām pirms un pēc transportēšanas uz kautuvi.

Mūsu pētījumā *S. aureus* un MRSA prevalence dzīvnieku **vecuma grupās** variē. Vidēji vislielāko *S. aureus* sastopamību konstatējam 4 līdz 4.5 mēnešus veci sivēnu vidū (vidēji 52.8% dzīvniekiem), bet zemāko - sivēniem līdz atšķiršanai (vidēji 33.3%) (skat. 5. att.). Kopumā 39.3% dzīvnieku uzrādīja *S. aureus* klātbūtni.



5. att. *S. aureus* un MRSA sastopamības salīdzinājums saimniecībās cūkām dažādās vecuma grupās/

Fig.5. Comparison of *S. aureus* and MRSA occurrence in farms for pigs in different age groups

Savukārt, vidēji vislielāko MRSA sastopamību mēs cūkām novērojam ne tikai 4-4.5 mēnešus (vidēji 31.9% dzīvniekiem), bet jau arī 3-3.5 mēnešus vecu cūku vidū (vidēji 26.6% dzīvnieku). Burns ar līdzautoriem (Burns et al., 2014) savā pētījumā ir norādījis, ka visaugstākā MRSA sastopamība ir vērojama sivēniem 2 dienas pēc atšķiršanas, bet samazināta – pirms atšķiršanas periodā. Līdzīgi rezultāti atrodami arī citu autoru pētījumos (Smith et al., 2009; Weese et al., 2010; Broens et al., 2011; Verhegge et al., 2011). Arī Belģijā veiktais pētījums (Pletinckx et al., 2013) visaugstākā MRSA sastopamība konstatēta atšķirto sivēnu vidū – 86.3% un nobarojamo cūku vidū – 86.3%, bet viszemākā – neatšķirto sivēnu vidū.

Arī mēs pētījumā zemāko MRSA sastopamību konstatējam sivēniem līdz atšķiršanai (12.5% gadījumu) un nobarojamām cūkām (vidēji 10.9% dzīvnieku), bet Vācijā (Alt et al., 2011) – 52% un Nīderlandē – 56% (Broens et al., 2011). No mums atšķirīgus rezultātus ir ieguvuši arī Mutters ar līdzautoriem (Mutters et al., 2016), augstāku MRSA sastopamību konstatējot nobarojamo cūku (59.8%), neatšķirto sivēnu (49.0%) un sivēnmāšu (25.6%) vidū.

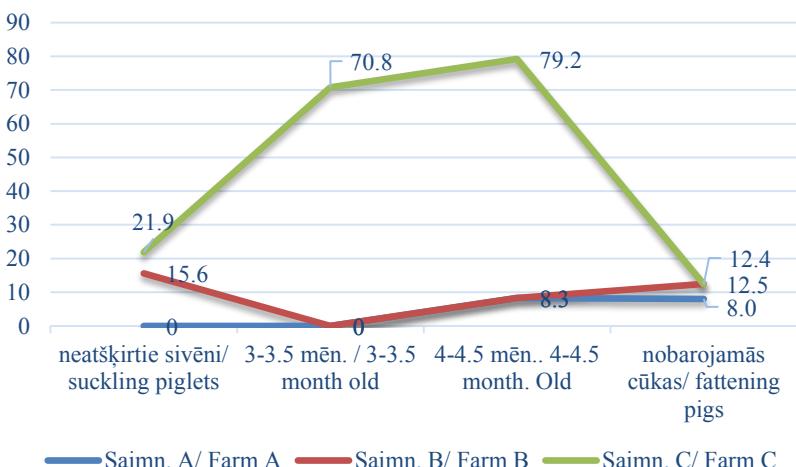
Kopumā 19.7% dzīvnieku *S. aureus* uzrāda meticilīna rezistenci. No pētījuma rezultātiem novērojam, ka MRSA sastopamība palielinās proporcionāli *S. aureus* klātbūtnei un sivēnu vecumam līdz 4 - 4.5 mēnešiem.

Saskaņā ar autoru (Weese et al., 2010; Dewaele et al., 2014) skaidrojumiem, MRSA prevalences paaugstināšanās atšķiršanas periodā ir saistīta ar MRSA pozitīvo un negatīvo cūku sajaukšanos, veidojot jaunās grupas; kā arī atšķiršanas perioda stresu; ar vecumam saistīto imunitātes samazināšanos (mātes antivielu zudums); jaunām telpām un to kontamināciju no iepriekšējiem dzīvniekiem.

Mūsu pētījumā iekļautajās saimniecībās, atkarībā no cūku audzēšanas īpatnībām, 3 - 4.5 mēnešu vecumā cūkas tika pārvietotas uz nobarošanas kūtīm, kur notika jaunu grupu veidošana. Jaunās mītnes, telpas un aprīkojums, kā arī pati pārvietošana un pārgrupēšana, būtiski dzīvniekiem izraisa papildus stresu, tādējādi tie ir riska faktori, kam vajadzētu būt pastiprināti kontrolētiem, lai izvairītos arī no MRSA pārnešanas iespējamības.

Analizējot MRSA sastopamību **cūkām dažādās vecuma grupās un dažāda lieluma saimniecībās** (skat. 6. att.), konstatējam, ka neatšķirto sivēnu grupā MRSA sastopamība variēja no nulles (saimniecībā A) līdz 21.9% (saimniecībā C). Lai arī mūsu MRSA sastopamības rādītāji ir zemāki nekā Mutters (Mutters et al., 2016) pētījumā, tomēr saimniecībā C izmeklētajām cūkām neatšķirtajiem sivēniem (MRSA sastopamība 21.9%) bija uz ādas novērojami strutojoši procesi. Lai arī visbiežāk strutojošus ādas procesus, abscesus un eksudatīvu epidermītu cūkām izraisa tieši *Staphylococcus hyicus*, tomēr, kā rāda citu zinātnieku un veterinarārstu pieredze (Pomba et al., 2010), trīs cūku saimniecībās tika konstatēts MRSA izcelsmes eksudatīvs epidermīts 15.0% sešu nedēļu veciem sivēniem, kas rezultējās ar 20.0% mirstību. Diagnoze tika apstiprināta, izolējot MRSA no brūču un ādas bojājumu paraugiem. Šajā pētījumā (Pomba et al., 2010), tāpat kā mūsu izmeklētajā saimniecībā C, galvenokārt dominē MRSA *spa* tips t011 (10 MRSA izolātiem no

13), kas norāda uz to, ka, saimniecībā C neatšķirtajiem sivēniem strutojošo procesu ierosinātājs varētu būt MRSA.



**6. att. MRSA sastopamība (%) saimniecībās dažāda vecuma cūkām/
Fig. 6. Occurrence of MRSA (%) in farms of different ages of pigs**

Grupā – 3 līdz 3.5 mēnešus vecas cūkas - MRSA konstatēts tikai saimniecībā C (novietnē ar vislielāko dzīvnieku skaitu), turklāt ar ļoti augstu sastopamības rādītāju, t.i., 70.8% izmeklētām cūkām.

Kas attiecās uz pētāmā stafilocoka klātbūtni 4 - 4.5 mēnešus vecām cūkām, tad tas konstatēts visās pētījumā iekļautajās saimniecībās, taču MRSA sastopamība šīs grupas vecuma cūku vidū variē no 8.3% (saimniecībās A un B) līdz pat 79.2% (saimniecībā C).

Savukārt nobarojamo cūku vidū MRSA konstatēts visās saimniecībās apmēram vienādi, t.i., no 8.0% saimniecībā A līdz 12.4% un 12.5% attiecīgi saimniecībā C un B.

Dānijā veiktajā pētījumā (Agerso et al., 2012), analizējot vairāku tipu saimniecības – 1) saimniecības, kurās tiek turētas cūkas tikai nobarošanai, 2) saimniecības, kurās tiek turētas nobarojamās cūkas un atšķirtie sivēni, kā arī 3) pilna cikla saimniecības ar sivēnmātēm, atšķirtajiem sivēniem un nobarojamām cūkām ir konstatēts, ka vislielākā MRSA sastopamība ir tieši pilna cikla saimniecībās (20.9%), tad nobarojamo cūku saimniecībās – 12.2% un tad atšķirto sivēnu un nobarojamo cūku saimniecības – 9.9%. Mūsu pētījuma datus šādā griezumā ir grūti analizēt, jo vienas saimniecības ietvaros ir izveidotas vairākas cūku mītnes un pat novietnes, kur

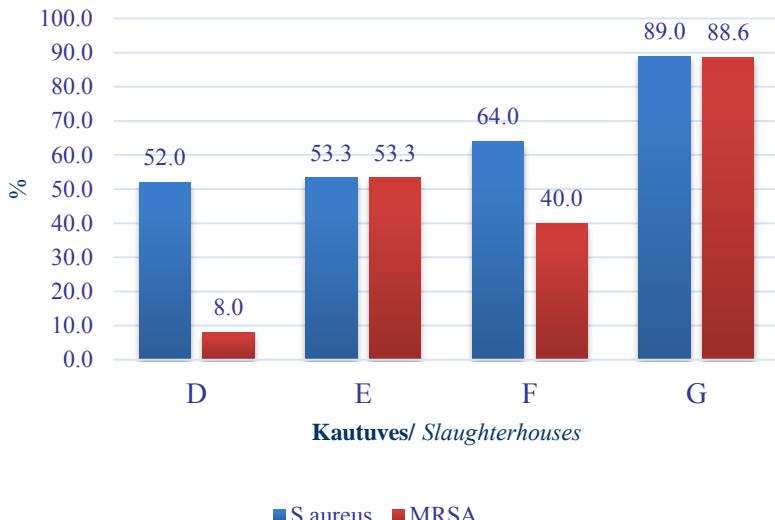
attiecīgā vecumā tiek pārvietoti atšķirtie sivēni vai pārvestas nobarojamās cūkas vienas saimniecības ietvaros, neveicot nobarojamo cūku ganāmpulka komplektāciju no dažādām saimniecībām un novietnēm, tādēļ mūsu skatījumā cūku vecuma grupas nav galvenais cēlonis MRSA sastopamības atšķirībām, jo saimniecībās tas ir ļoti dažāds.

MRSA sastopamība cūkās un cūku liemenos kautuvēs

MRSA sastopamība cūkās un cūku liemenos, kas paredzēti pārtikai, ir sabiedrības veselības problēma, jo MRSA saslimšanas gadījumi arvien turpina pieaugt (Witte et al., 2007). Citu zinātnieku analizētajos kautuvēs iegūtos paraugos konstatēts, ka MRSA prevalence dzīvās cūkās ir vidēji 39.0%, bet kautuvēs esošās cūkgalas partijas pat 81.0% gadījumu ir MRSA pozitīvas (De Neeling et al., 2007). Ir arī pretēji rezultāti, kad MRSA netika konstatēts nevienai no 440 izmeklētajām cūkām, kā arī netika izolēts no putekļu paraugiem ($n=15$) (Horgan et al., 2011).

Veicot pētījumā izvēlētajās kautuvēs no 100 cūkām iegūto nazālo un rektālo paraugu izmeklēšanu, konstatēts, ka *S. aureus* sastopamība variē (skat. 7. att.), un ir vērojamas būtiskas atšķirības gan saistībā ar kautuves lielumu, gan ar izmeklējamā parauga veidu. Izvērtējot stafilocoku sastopamību kautuvēs ar dažādu kaušanas jaudu, konstatēts, ka visbiežāk *S. aureus* iegūts tieši no kautuvēm ar lielāku kaušanas jaudu. Kautuvē D (ar mazu kaušanas jaudu) *S. aureus* sastopamība cūkām ir konstatēta vidēji 52.0% dzīvniekiem, turpretim kautuvē G (ar lielu kaušanas jaudu) – 89.6% cūku.

Arī **MRSA** sastopamība būtiski variē **atkāribā no kaušanas jaudas**. Kautuvē D (ar vismazāko kaušanas jaudu) MRSA sastopamība ir vidēji 8.0% dzīvniekiem, turpretim kautuvē G (ar vislielāko kaušanas jaudu) – 88.6% (skat. 7. att.). Kopumā novērojam sakarību: jo lielāka ir kaušanas jauda un lielāks dzīvnieku skaits koncentrējas kautuvē ūsākā laika periodā, jo augstāka ir pētāmo stafilocoku sastopamība. Tātad konstatējam vidēji lielāku (51.0%) rezistentā stafilocoka sastopamību nekā citi pētnieki, piem., Dānijā veiktajā pētījumā (Agerso et al., 2012) MRSA sastopamība kaujamo cūku vidū pirms plaucēšanas ir 13.0%. Savukārt Šveicē veiktie pētījumi (Overesch et al., 2012; Butner et al., 2014) 4 gadu dinamikā uzrāda krasu MRSA sastopamības kāpumu, t.i., 2009. gadā veiktajā pētījumā MRSA sastopamība kautuvēs bija 2%, bet 2013. gadā sasniedza jau 20.8%.



7. att. *S. aureus* un MRSA sastopamības salīdzinājums cūkām kautuvēs/
Fig.7. Comparison of *S. aureus* and MRSA occurrence in pigs in slaughterhouses

Kopīga tendence ar stafilokoka augsto sastopamību cūkām kautuvēs liecina par to, ka būtiska ietekme MRSA sastopamībai ir kontaminācijas faktors – kautuvē cūkām ir lielas saskarsmes iespējas ar dažādu saimniecību cūkām un nereti pārvadāšanas nolūkos tiek izmantoti vieni un tie paši transportlīdzekļi. Turklat par kontaminācijas lielo ietekmi liecina no kautuvju cūkām pētījumā izolēto MRSA spa tipu lielā dažādība.

Konstatējam, ka lielai daļai no MRSA negatīvajiem dzīvniekiem pēc pārvietošanas uz kautuvi - 35-95% no iepriekš testētajām cūkām pēc apdullināšanas izolē MRSA, kā arī vislielākā MRSA sastopamība šajā pētījumā konstatēta cūkām nobarošanas perioda sākuma posmā, kas savukārt atkal saistīts ar cūku pārgrupēšanu, jaunu grupu veidošanu un cūku pārvietošanu/transportēšanu no vienas mītnes vai novietnes uz otru. Līdz ar to transportēšana uz kautuvi un cūku uzturēšanās kautuvē ir uzskatāms par kritisko punktu MRSA sastopamībā (Bangerter et al., 2016; Broens et al., 2011; de Neeling et al., 2007).

Viens no galvenajiem iemesliem MRSA kontaminācijai varētu būt ciešais kontaktš ūrā, ierobežotā telpā dzīvnieku transportēšanas laikā uz kautuvi. Pētnieki norāda, ka visbiežāk MRSA kontaminācija cūkām notiek tieša kontakta ceļā ar deguna spoguli, ādu, vagīnu vai fekālijām (Moodley et al., 2011; Broens et al., 2011a). Broens (Broens et al., 2011a) ir norādījis, ka iepriekš pārbaudītas un mikrobioloģiski negatīvas cūkas uz MRSA pēc transportēšanas un uzturēšanās

kautuvē (kopā 3,5-16.5h) ciešā kontaktā ar citām cūkām no dažādām saimniecībām, 60% gadījumos apdullināšanas posmā jau ir MRSA pozitīvas. Iespējamais kontaminācijas avots transportēšanas laikā varētu būt arī automašīnu vadītāji un/vai kautuvju personāls (Broens et al., 2011a).

Šajā pētījumā konstatēts, ka, ievērojot kautuvēs labu higiēnas praksi, MRSA kontamināciju no dzīvām cūkām (sastopamība 40.0% - 88.6%) var samazināt (0.0% - 24.0%). Mūsu pētījumā kopumā no 105 izmeklētajiem liemeņiem, kautuvēs uz 6.7% liemeņu virsmas ir konstatēts MRSA.

Arī Dānijas zinātnieki (Agerso et al., 2012) kopumā konstatējuši, ka MRSA sastopamība dažādu valstu cūkgalā ir vidēji 7.5%, kas ir tuvs rādītājs mūsu pētījuma rezultātiem. Analizējot valstu datus ar izmeklēto paraugu skaitu virs 10, pētnieki tomēr visaugstāko MRSA sastopamību konstatē cūkgalā, kas ievesta no trešajām valstīm – 42.5%, no Nīderlandes – 19.0%, un būtiski zemāku – ar Dānijas (4.6%) un Vācijas (2.1%) izcelsmi (Agerso et al., 2012).

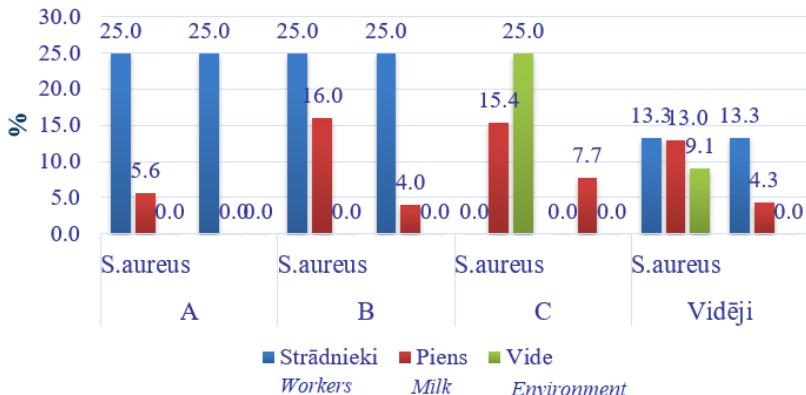
MRSA klātbūtne cūku liemeņos ir potenciāls pārtikas risks gan patērētājiem, gan nozarē strādājošiem, tādēļ būtiski ir to samazināt, ieviešot tādus pasākumus kā personāla apmācība biodrošības un labas higiēnas prakses jautājumos visos pārtikas ķēdes posmos, sākot jau no primārās ražošanas, līdz tirdzniecības vietām.

Zināms, ka ievērojot atbilstošus higiēnas un dezinfekcijas pasākumus (darba apgērba, apavu un cimdu tīrišana, virsmu un aprīkojuma mazgāšana un dezinfekcija), ir iespējams izvairīties no liemeņu kontaminācijas, tomēr atsarošana, izmantojot plaucēšanas metodi, šobrīd kautuvēs potenciāli ir viens no lielākajiem riska faktoriem cūku kautķermeņu virsmas un dabīgo atveru kontaminācijai. Kā pierādīts pētījumā (Yaniarti et al., 2017) par *S. aureus* izturību pienā pie dažādiem pasterizācijas laikiem un temperatūrām, *S. aureus* bojāeja ir novērota tikai sākot no 70 °C temperatūras izturēšanas 50 minūtes, savukārt pazeminot laika intervālu, šajā temperatūrā *S. aureus* saglabā džīvot un vairoties spēju. Cūku kautķermeņu atsarošanas tehnoloģijas ietvaros plaucēšanas vannas ūdens temperatūra parasti tiek uzturēta līdz 60 °C (FAO, 1991), lai izvairītos no termiskas ietekmes uz ādu. Tāpat kautuvēs plaucēšanas vannās ūdens tiek nomainīts tikai pēc vairāku kautķermeņu atsarošanas (mūsu pētījumā ieklautajās kautuvēs ūdens tika mainīts vidēji pēc 10-15 kautķermeņu apstrādes). Kā mēs to novērojām kautuvēs, plaucēšanas ūdens tiek mainīts tikai tad, ja vizuāli ir acīmredzami netīrs un putains. Biežāk ūdens tiek nomainīts tajās plaucēšanas vannās, kurām nav atsevišķs nodalījums, kurā tiek savākti liela izmēra netīrumi un sari, savukārt tām plaucēšanas vannām, kurām ir šis atsevišķais nodalījums, nereti darba gaitā tiek iztukšots tikai tas un plaucēšanas ūdens tikai papildināts. No iepriekš minētā secināms, ka kautķermeņu atsarošanas tehnoloģija, kurā izmanto ūdeni ar temperatūru līdz 60 °C vairāku kautķermeņu atsarošanai, kalpo kā viens no potenciālajiem *S. aureus* cūku kautķermeņu kontaminācijas avotiem.

MRSA sastopamība saimniecību un kautuvju vidē un darbiniekos

Zināms, ka MRSA klātbūtne gaisā un putekļos apgrūtina baktērijas sastopamības samazināšanu, veicina mikroorganisma sastopamību gaisā, turklāt MRSA putekļos spēj izdzīvot līdz pat septiņiem mēnešiem (Fries et al., 2012).

Lai arī pētījuma laikā izmeklētajos cūku **novietņu gaisa paraugos** *S. aureus* sastopamība videjī bija 9.1% gadījumu (skat. 8. att.), tomēr pētāmo stafilokoku konstatējam tikai vienā novietnē (lielajā saimniecībā C 3-3.5 mēnešus vecu cūku mītnēs) 25.0% gadījumu (2 no 8 testētiem paraugiem), pie tam, šajā C saimniecībā cūkām videjī konstatējām visaugstāko MRSA sastopamību. Kā galvenais cēlonis te varētu būt bieža šī vecuma dzīvnieku pārgrupēšana un pārvietošana. No saimniecībām A un B visi testēšanai iegūtie paraugi uzrāda negatīvus rezultātus. Atšķirībā no *S. aureus* klātbūtnes cūku novietņu gaisa paraugos, MRSA pētījuma laikā tomēr nekonstatējam, lai arī citi zinātnieki ir novērojuši, ka saimniecībās MRSA pozitīvo cūku attiecība ir cieši saistīta ar MRSA pozitīvo gaisa paraugu attiecību mītnēs. Tas liecina par to, ka lielāks skaits MRSA pozitīvo cūku palielina arī MRSA izplatību gaisā un apkārtējā kūts vide. Tāpat neliels MRSA kopskaits cūku nazālajos paraugos, kas korelē ar baktēriju skaitu vides paraugos, liecina par MRSA cūku nazālo kontamināciju nevis par persistentu MRSA nēsāšanu (Fries et al., 2012). No iepriekš minētā varam spriest, ka mūsu pētījumā izvēlētajās saimniecībās tomēr dzīvnieki ir MRSA persistenti inficēti.

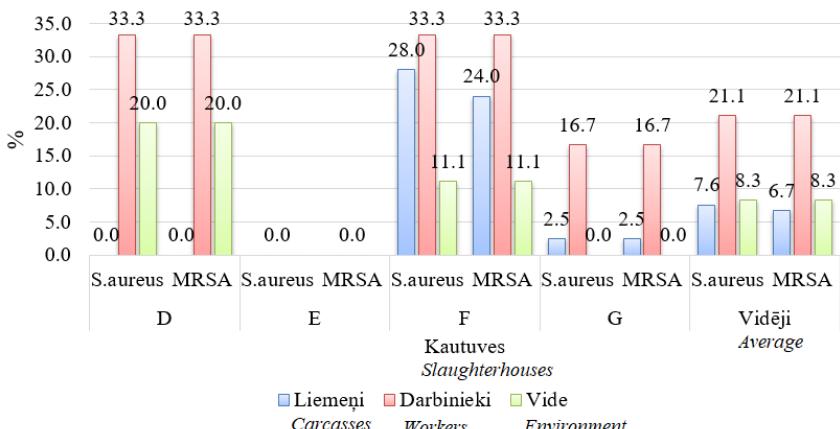


8. att. *S. aureus* un MRSA sastopamības salīdzinājums saimniecībā piena, vides un no darbiniekiem iegūtos paraugos/

Fig. 8. Comparison of *S. aureus* and MRSA occurrence in milk, environmental and employee samples

Salīdzinot citu pētnieku datus, MRSA sastopamība ir atšķirīga. Vides paraugos, kas iegūti aizgaldos (Friese et al. 2012), MRSA ir konstatēts 85.2% paraugu, bet MRSA prevalence putekļu paraugos ir pat 100%, turpretī EFSA (2009) ziņojuši MRSA prevalenci putekļu paraugos 0.0%, kamēr Šveices zinātniekus (Masclaux et al., 2013) pētījumā *S. aureus* konstatēts 32.4% cūkkopības saimniecību gaisa paraugos. Daļēji rezultātus varētu izskaidrot ar atšķirīgām paraugu iegūšanas metodēm, jo augstāk minētie pētnieki izmantojuši gaisa un putekļu analīzēm filtrācijas un gaisa saspiešanas metodi ar speciālu aprīkojumu, bet mēs pētījumā izmantojām Koha sedimentācijas metodi (Boucher et al., 2010), kas varētu būt par cēloni zemajai MRSA prevalencei (4.0%) mūsu iegūtajos vides paraugos.

Lai pēc iespējas samazinātu MRSA izplatību vidē un mītnēs, kā arī jauno klātievesto cūku kolonizāciju ar iepriekšējo dzīvnieku grupu MRSA, ļoti svarīga ir efektīvas tīrīšanas un dezinfekcijas programmas ieviešana cūku mītnēs pirms jauno dzīvnieku grupu ievietošanas. Dezinfekcijas programmā būtu nepieciešams iekļaut ne tikai kūts virsmu un konstrukciju dezinfekciju, bet arī ventilācijas sistēmu dezinfekciju. Atkarībā no katras saimniecības ventilācijas sistēmas uzbūves un cūku mītnu savstarpējā izvietojuma un kontakta iespējām, MRSA izplatība (gan vienā mītnē un ēkā, gan vairākās) ir iespējama pa ventilācijas sistēmu, jo MRSA klābtūne gaisā var izraisīt neskartu dzīvnieku kolonizāciju pat bez tieša kontakta iespējas ar jau kolonizētiem dzīvniekiem (Gibbs et al., 2004; Friese et al., 2012; Bos et al., 2014).



9. att. *S. aureus* un MRSA sastopamības salīdzinājums darbinieku, vides un liemeņu paraugos kautuvēs/

*Fig. 9. Comparison of *S. aureus* and MRSA occurrence in samples of workers, the environment and carcasses in slaughterhouses*

Mūsu pētījumā kautuvju **vides paraugos** (skat. 9. att.) (darba virsmas, aprīkojums un dažādi priekšmeti, kas saskaras ar liemeņiem, kautuvju grīda un gaiss) MRSA pozitīvi uzrādījas tikai 2 paraugi (8.3%), t.i., paraugs, kas tika paņemts no plaucēšanas vannas lieljaudas kautuvē (D), un paraugs, kas tika iegūts no grīdas kautuvē F.

Mūsu pētījumā konstatētā zemā MRSA sastopamība virsmu paraugos (aprīkojums, darba galdi, cimdi, grīdas, plūču kastes) un MRSA nekonstatēšana, izmantojot Koha sedimentācijas metodi, tomēr norāda, ka MRSA nav sastopams kautuvju gaisā, lai arī zināms, ka putekļi ir viens no galvenajiem faktoriem, kas veicina baktēriju sastopamību vidē (Feld et al., 2018).

Konstatēts, ka MRSA cūku audzēšanas saimniecībās konstatēts ne tikai vidē un dzīvniekiem, bet arī tur esošiem grauzējiem, suņiem, kaķiem, kā arī saimniecības apkalpojošiem veterinarārstiem un saimniecību darbinieku ģimenes locekļiem (Pletinckx et al., 2013).

Augstas attīstības un industrializācijas valstīs MRSA infekcijas cilvēkiem ir viens no biežāk sastopamajiem nāves cēloņiem. Papildus jau tradicionālajiem inficēšanās ceļiem ar MRSA, pēdējā laikā arvien biežāk tiek konstatēta MRSA pārnese tieša kontakta ceļā starp cilvēkiem un produktīvajiem dzīvniekiem (Wendlandt et. al., 2013b), kā arī pieaug inficēšanās risks no dzīvnieku izcelsmes neapstrādātas pārtikas produktiem, it īpaši jēlas gaļas (EFSA 2009; Kock et al., 2013).

Nīderlandē 2011. gadā veiktajā pētījumā 39% no slimnīcu pacientiem iegūtajiem MRSA izolātiem, konstatēts, ka tiem ir mājdzīvnieku izcelsmes (Heten et al., 2013.). Vācijā joprojām turpina pieaugt MRSA mājdzīvnieku izcelsmes prevalences rādītāji (Schaumburg et al., 2012; Kocket al., 2013). Veicot ģenētiskā materiāla apmaiņu ar virulentākām baktērijām, mājdzīvnieku izcelsmes MRSA tātad var kļūt par nopietnu sabiedrības veselības draudu (Cunny et al., 2013).

Kas attiecas uz pētījuma cūkkopības **saimniecībās strādājošiem** kā iespējamiem stafilocoku nēsātājiem, jo zināms, ka MRSA sastopamība gaisā ir potenciāls risks cūkkopības nozarē strādājošajiem (Friese et al., 2012), tad kopumā no iegūtajiem 15 nazālajiem paraugiem, pozitīvus rezultātus uzrāda vidēji 13.3% strādājošo darbinieku (skat. 7. att.). Citu autoru pētījumi šajā ziņā krasī kontrastē ar mūsu datiem – Austrālijā veiktajā pētījumā (Shabizada et al., 2018) MRSA konstatēts 60.0% cūku audzēšana saimniecību darbinieku nazālajos paraugos, kamēr Itālijā veiktajā pētījumā (Mascaro et al., 2018) – tikai 7.3% darbinieku. Mūsu veiktajā pētījumā saimniecības C (ar vislielāko dzīvnieku skaitu) darbiniekim *S.aureus* nav konstatēts vispār, turpretim saimniecībās A un B strādājošie 25% gadījumos (1 no 4 paraugiem) uzrāda *S.aureus* pozitīvus rezultātus, pie tam, visi no darbinieku elpošanas ceļiem izolētie stafilocoki uzrāda arī rezistenci pret meticilīnu. Pretēji mūsu iegūtajiem rezultātiem citu zinātnieku pētījumos (Smith. et al., 2013; Reynaga et al., 2016) biežāka MRSA sastopamība cūkkopības industrijā iesaistīto darbinieku vidū ir tieši saimniecībās ar visaugstāko MRSA prevalenci cūku vidū,

tomēr Vācijā veiktajos pētījumos (Anwar et al., 2001; Kock et al., 2011) konstatēts, ka tieši augstāka MRSA sastopamība konstatēta kopējai cilvēku populācijai nekā tiem cilvēkiem, kas nodarbināti cūkkopības industrijā. Arī ārstēšanai noteiktu antibiotiku izvēle saimniecībā var kalpot kā veicinošs vai ierobežojošs faktors MRSA izplatībai cūku un tālāk arī darbinieku vidū (Schmitthausen et al., 2015). To apstiprina arī fakts, ka, lai arī mūsu pētītajā saimniecībā B antibiotikas cūkām tiek pielietotas arī profilaktiskos nolūkos, ne darbinieku, ne dzīvnieku vidū nav novērotas būtiskas atšķirības, salīdzinot ar saimniecību A, kur antibiotikas tiek lietotas tikai ārstnieciskos nolūkos. *S. aureus* nekonstatēšana darbinieku vidū saimniecībā C iespējams skaidrojama ar to, ka cūku mītnes bija izbūvētas un tajās izvietotas cūkas vien dažus mēnešus pirms mūsu izmeklējumu veikšanas, kā arī organoleptiski vērtējot, mītnes gaiss, salīdzinot ar abām iepriekšējām saimniecībām, bija mazāk puteklainis un sastāvējies, gaisā bija jūtama zemāka amonjaka koncentrācija, kā arī saimniecības C darbinieki rūpīgāk ievēroja higiēnas pasākumus (roku dezinfekcija un mazgāšana pēc katras cūku grupas apmeklējuma).

Literatūrā minēts, ka augstā MRSA sastopamība kautuvju cūku vidū ir potenciāli augsts riska faktors arī cūkkopības industrijā strādājošajiem (saimniecību un kautuvju personāls, kā arī šo nozari apkalpojošie veterinārārsti). Ir pierādīts, ka cūkkopības nozarē strādājošie cilvēki, kuri vairākas stundas nedēļā pavada ciešā kontaktā ar MRSA kolonizētām vai inficētām cūkām, ir pakļauti augstam MRSA nazālās kolonizācijas riskam (Voss et al., 2005; Witte et al., 2007; Moodley et al., 2008; Denis et al., 2009). Kopumā cilvēku populācijā ir vērojama augsta *S. aureus* kolonizācija (apmēram 30.0%), kamēr MRSA nazālās kolonizācijas līmenis ir zemāks (0.7-1.5%) atkarībā no ģeogrāfiskā areāla (Wertheim et al.. 2004; Gorwitz et al., 2008; Munckhow et al., 2009). Cilvēku kolonizācija ar stafilocokiem nozīmē, ka šādi nēsātāji kļūst par rezervuāriem un tieša kontakta ceļā var nodot šo infekciju citiem, var kontaminēt pārtiku un virsmas, kas ir kontaktā ar pārtiku. Turklat, subklīniska MRSA nēsāšana cilvēku vidū ir viens no riska faktoriem infekcijas klīniskai izpausmei (Cohn, Middleton, 2010; Jordan et al., 2011). MRSA no produktīvajiem dzīvniekiem var tikt pārnests uz kautuvju vidi, tādējādi kalpojot kā kontaminācijas avots kautuvēs strādājošajam personālam (Wendlandt et al., 2013a).

Pētot MRSA klātbūtni **kautuvēs strādājošā personāla** augšējos elpošanas ceļos, konstatējam, ka mazas jaudas kautuvē D 21.1% darbinieku ir pētāmā stafilocoka nēsātāji, bet lieljaudas kautuvē F - 24.0% un G - 16.7% (skat. 8. att.). Vidēji šajā pētījumā 21.1% kautuvju strādniekiem ir konstatēts MRSA nazālajos paraugos, kas ir augstāks rādītājs nekā vairums citu valstu pētījumos: Īrijā (Horgan et al., 2011) MRSA konstatēts tikai diviem no 100 izmeklētajiem kautuvju darbiniekiem, Itālijā (Normanno et al., 2015) MRSA konstatēts 9 no 113 pētījumā iekļautajiem kautuvju strādniekiem, Šveicē – nevienam no 179 pētījumā iekļautajiem darbiniekiem (Huber et al., 2009), Ķīnā – nevienam no 107 kautuvju darbiniekiem (Cui et al., 2009), Nīderlandē - 5.6% kautuvēs strādājošajiem, kas ir augstāk nekā prevalence vidēji cilvēku populācijā (0.1%) (van Cleef et al., 2010). Līdzīgi dati ir

publicēti arī citā Nīderlandes zinātniekus pētījumā (Gilbert et al., 2012), kur norādīts, ka 11 no 341 (3.2%) kautuvju darbinieki ir dzīvnieku izcelsmes MRSA (LA-MRSA) nēsātāji. Spānijā veiktajā pētījumā konstatēts, ka 14.3% kautuvju darbinieku ir MRSA nēsātāji (Morcillo et al., 2011), savukārt Vācijā (Mutters et al., 2016) MRSA konstatēts 61.9% cūkkopības industrijā iesaistīto personu, tai skaitā, saimniecību darbiniekiem, veterīnārīstiem un veterīnārmēdicīnas studentiem. Augsta MRSA koncentrācija cūku mītnēs un kautuvēs var būt viens no šīs nozares arodslimību riskiem.

Citu autoru pētījumi cūku kautuvēs uzrāda MRSA sastopamību 5.6% darbinieku vidū un 22% automašīnu vadītāju vidū, kas veic cūku pārvadājumus (Mulders et al., 2010; van Cleef et al., 2010). Tāpat ir pieejami dati par to, ka 45.7% saimniecību darbinieku ir persistenti MRSA kolonizēti pat laika periodos, kad tiem nav bijusi saskarsme ar mājlopiem, savukārt 54.3% ir periodiski MRSA nēsātāji vai negatīvi visu testēšanas periodu (Kock et al., 2012).

Nemot vērā, ka MRSA klātbūtne konstatēta kautuvē esošajās cūkās, liemeņos un vidē, ir tikai likumsakarīgi, ka MRSA ir sastopams arī paraugos no kautuvju personāla, jo darbinieki nevalkā respiratorās maskas un ir ciešā kontaktā ar cūkām, turklāt to rokas, cimdi, aprīkojums, drēbes un apavi var kalpot kā vektori infekcijas pārnešanai un tālākai izplatībai.

Salīdzinot HA-MRSA (humānās (cilvēku) izcelsmes MRSA) sastopamību Eiropā ir konstatēts, ka vismazākā HA-MRSA sastopamība slimnīcās ir Ziemeļeiropā (no 0.0% Zviedrijā, Norvēģijā, Igaunijā, Dānijā un Nīderlandē) un pakāpeniski paaugstinās Centrāleiropas virzienā, augstākos rādītājus sasniedzot Dienvideiropas valstis Portugālē – 49.1% un Grieķijā – 55.6% (Borg et al., 2012). Tomēr šie rādītāji attiecībā uz Latviju (4.5%) (Borg et al., 2012) ir vairākkārt zemāki nekā mūsu pētījuma dati par MRSA sastopamību cūkkopības industrijā iesaistītajam personālam – vidēji 17.4% cilvēku.

Ir pierādīts, ka mūsdienās līdz pat 30% cilvēku populācijas ir pastāvīgi *S. aureus* nēsātāji, kamēr otra daļa populācijas neuzrāda persistentu *S. aureus* nēsāšanu (Kaspar et al., 2016).

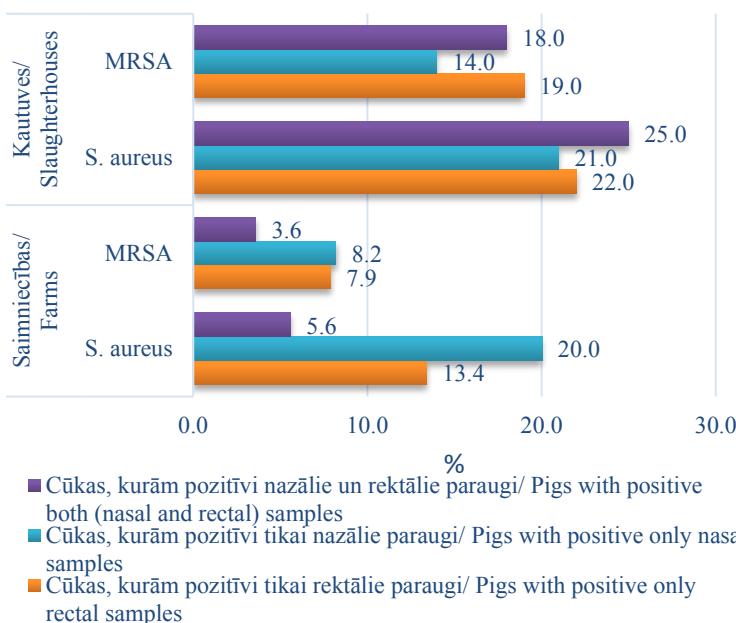
Tā cilvēku vidū vidēji tikai 20% ir persistenti MRSA nēsātāji, 60% - periodiski nēsātāji, bet 20% ir brīvi no MRSA kolonizācijas (Wertheim et al., 2005). MRSA kolonizācijas statuss darbiniekiem, kas neatrodas regulārā kontaktā ar mājdzīvniekiem, ir apskatīts vairākos pētījumos (Van Cleef et al., 2010; Kock et al., 2012). Van Cleef et al. (2011) rezultāti norāda, ka īslaicīgs cilvēku kontakts ar MRSA kolonizētiem dzīvniekiem izraisa to kolonizāciju ar MRSA, bet lielākajai daļai organisms no MRSA atbrīvojas 24 stundu laikā.

Tāpat MRSA sastopamības samazināšanu, manuprāt, varētu panākt, izslēdzot vai līdz minimumam samazinot kontaktu ar cūkām, kas nākušas no dažādām novietnēm un saimniecībām, vai veicot tikai MRSA negatīvu cūku transportēšanu.

MRSA diagnostikas iespējas atkarībā no paraugu veida (nazālie, rektālie, piena paraugui)

Lai arī mikrobioloģijas jomā daudz un plaši tiek pētīta MRSA sastopamības un izolēšanas iespējas, tomēr ir maz pētījumu par MRSA izolēšanu no dažādiem paraugu veidiem un efektīvāko paraugu ņemšanas vietu. Līdz šim lielākoties MRSA diagnosticēšana cūkām tiek veikta, iegūstot nazālos paraugus. Francijas zinātnieku veiktajā pētījumā (Jouy et al., 2010) MRSA nav konstatēts rektālajos paraugos, bet ir konstatēts nazālajos paraugos, savukārt citu zinātnieku pētījumos (Moodlay et al., 2011; Broens et al., 2011 b; Szabo et al., 2012) MRSA tika konstatēts arī rektālajos paraugos, tomēr ievērojami mazāk nekā nazālajos paraugos – tā Szabo pētījumā (Szabo et al., 2012) MRSA ir izolēts 77.0% gadījumu no nazālajiem paraugiem un 40.0% gadījumu no rektālajiem paraugiem. Tomēr iepriekš minētie pētījumi liecina tikai par mikrobioma sastopamību un tā iespēju iekļūt dažādās organismā sistēmās, nesaistot tos ar MRSA sastopamību vidē un lielākajiem kolonizācijas riska faktoriem, jo pētījumi un paraugu iegūšana veikta pēc intaktu dzīvnieku nazālas inokulācijas ar MRSA suspensiju, un dzīvniekus izvietojot MRSA neskartā vidē. Savukārt Belģijas zinātnieku (Dewaele et al., 2011) veiktajā pētījumā bez dzīvnieku iepriekšējas eksperimentālas kolonizācijas ar MRSA, kur pētīta MRSA izolēšana no nazālajiem, *perineum* apvidus, ādas un rektālajiem paraugiem, konstatēts, ka visaugstākā MRSA sastopamība ir tieši nazālajos paraugos (83.0%), *perineum* apvidus paraugos (71.0%) un ādas paraugos (69.0%), savukārt viszemākā MRSA sastopamība novērota rektālajos paraugos (47.0%), kas norāda, ka mikrobioloģiskā paraugu iegūšana cūkām no deguna dobuma priekšejās daļas ir viens no efektīvākajiem paņēmieniem, lai noteiktu, vai dzīvnieks ir kolonizēts ar MRSA. Turklat, palielinot izmeklējamo apvidu un orgānu sistēmu skaitu, palielinās MRSA izolēšans iespējas, kā arī iespēja noteikt vienlaicīgi dažādu sekvenču un *spa* tipu MRSA klātbūtni vienā dzīvniekā (Dewaele et al., 2011).

Pētījumā, izvērtējot MRSA sastopamību **saimniecībās cūkām dažādās organismā** (t.i., **elpošanas un gremošanas**) **sistēmās**, konstatējam, ka vidēji bieži (8.2% dzīvnieku (n=25)) rezistentais stafilokoks ir atrodams dzīvniekiem tikai augšējos elpošanas ceļos vai arī vienlaicīgi gan elpošanas, gan gremošanas sistēmu paraugos (vidēji 7.9% dzīvnieku (n=24)). Būtiski mazāk ir cūkas (vidēji 3.6%), kurām MRSA sastopamība ir konstatējama tikai zarnu trakta paraugos (skat. 10. att.).



10. att. **MRSA un S. aureus sastopamības cūku populācijā dažādās organisma sistēmās salīdzinājums starp saimniecībām un kautuvēm/**

Fig. 10. Comparison of MRSA and S. aureus occurrence in pigs in different body systems between farms and slaughterhouses

Saimniecībā A (ar vismazāko dzīvnieku skaitu) cūkām MRSA biežāk ir atrasts elpošanas sistēmas paraugos (3.1% jeb n=3), saimniecībā B (ar vidēju dzīvnieku skaitu) - augstāka MRSA sastopamība dzīvniekiem ir konstatēta gremošanas sistēmā (4.8% jeb n=5), bet elpošanas sistēmā (3.8% jeb n=4 dzīvniekiem) – nedaudz mazāk, savukārt saimniecībā C - ar vislielāko dzīvnieku skaitu un vislielāko izolēto MRSA izolātu skaitu - rezistentais stafilocoks visbiežāk ir konstatēts dzīvniekiem vienlaicīgi gan elpošanas, gan gremošanas sistēmā – 22.1% (n=23), un nedaudz retāk tikai elpošanas sistēmā – 16.3% (n=17). Pielietojot Beijesa teorēmu, pierādās, ka, ja cūka ir MRSA nēsātāja, tad iespējamība šo rezistento stafilocoku diagnosticēt, izmeklējot tikai rektālos paraugus, ir 18.0%, savukārt, izmeklējot tikai nazālos paraugus – jau 42.0%, bet, ja izmeklē cūkai vienlaicīgi gan rektālos, gan nazālos paraugus, tad MRSA konstatēšanas iespējamība ir 40.0%.

Nemot vērā, ka MRSA ir sastopams gaisā un putekļos, kā arī cūku sugas īpatnību ar šūkuru/deguna spoguli apostīt un iizzināt virsmas, dažādus materiālus un citus dzīvniekus, kā arī to, ka, lai izietu cauri gremošanas traktam, mikrobiomam ir

jāiztur dažādu gremošanas sulu, kas satur fermentus, kā arī sastopamība rektālajos paraugos ir krietni zemāka nekā nazālajos paraugos.

Salīdzinoši augstā MRSA sastopamība gremošanas sistēmas paraugos, kas konstatēta saimniecībā C, kur sivēniem novēroti arī strutojoši procesi uz ādas, varētu liecināt par samazinātu imunitāti, persistentu kolonizāciju un pat klīnisku saslimšanu, jo MRSA dzīvniekiem var būt par cēloni eksudatīvam dermatītam, urīnceļu infekcijām un mastīta-metrīta agalaktijas sindromam (vanDuijkeren et al., 2007).

Analizējot pētījumā iekļautajās saimniecībās iegūtos **sivēnmāšu piena paraugus** (skat. 8. att.), konstatējam, ka *S. aureus* sastopamība vidēji ir 13.0% paraugu, bet MRSA - 4.3% gadījumu. Izvērtējot sastopamību saimniecībās, rezistentais stafilocoks sivēnmāšu pienā nav konstatēts mazajā saimniecībā (A), bet, palielinoties novietnē esošo dzīvnieku skaitam, pieaug arī MRSA sastopamība, respektīvi, saimniecībās B un C stafilocoka klātbūtne ir konstatējama pienā attiecīgi 4.0% un 7.7% sivēnmāšu. Nemot vērā, ka vairāku autoru pētījumos (Jouy et al., 2010; Garzoni, Kelley et al., 2009; Sinha, Fraunholz et al., 2010, Szabo et al., 2011) konstatēts, ka MRSA kopā ar asinīm pa audiem izplatās ar makrofāgiem (jo spēj pretdarboties makrofāgu funkcijai), kā arī ir izolēts no mandelēm un limfmezgliem, tai skaitā arī no aklās un gūžas zarnas limfmezgliem, ir iespējama MRSA migrācija uz piena dziedzeriem un izdalīšanās ārvidē kopā ar pienu.

Analizējot MRSA sastopamību **cūkām kautuvēs** iegūtajos **dažādos organismā sistēmu** paraugos, konstatējam, ka vidēji visbiežāk rezistentais stafilocoks sastopams tieši gremošanas sistēmā (19.0%), nedaudz zemāka MRSA sastopamība ir vērojama vienlaicīgi gan gremošanas, gan elpošanas sistēmu paraugos (18.0% cūku), bet elpošanas sistēmā – 14.0% kautuvēs izmeklēto dzīvnieku (skat. 10. att.).

Taču, salīdzinot MRSA sastopamību cūkām dažādu jaudu kautuvēs, konstatējam, ka pastāv variācijas. MRSA cūkām elpošanas sistēmā visbiežāk konstatēts mazas jaudas kautuvē E – 40.0% dzīvnieku, savukārt gremošanas sistēmā vai vienlaicīgi abās organismā sistēmās – biežāk ir lieljaudas kautuvē G (attiecīgi 34.3% un 45.7% izmeklēto dzīvnieku). MRSA lielāka sastopamība kautuvēs cūkām rektālajos paraugos, iespējams, skaidrojama ar to, ka paraugi ir iegūti cūkām pēc apdullināšanas un atasiņošanas. Lieljaudas kautuvēs ir novērots, ka cūkām pēc apdullināšanas atasiņošanas brīdī no nāsu atverēm izdalījās asiņains šķidrums, kas varēja daļu deguna dobumā esošo MRSA izskalot ārvidē, kādēļ daļai cūku nazālajos paraugos nav konstatēts MRSA.

Viens no galvenajiem iemesliem MRSA kontaminācijai varētu būt ciešais kontakts šaurā, ierobežotā telpā dzīvnieku transportēšanas laikā uz kautuvi. Arī citi pētnieki norāda, ka visbiežāk MRSA kontaminācija cūkām notiek tieša kontakta ceļā ar deguna spoguli, ādu, vagīnu vai fekālijām (Moodley et al., 2011; Broens et al., 2011a). Broens (Broens et al., 2011a) ir norādījis, ka iepriekš pārbaudītas un mikrobioloģiski negatīvas cūkas uz MRSA pēc transportēšanas un uzturēšanās

kautuvē (kopā 3,5-16.5h) ciešā kontaktā ar citām cūkām no dažādām saimniecībām, 60% gadījumos apdullināšanas posmā jau ir MRSA pozitīvas. Vēl viens iespējamais kontaminācijas veids transportēšanas laikā ir automašīnu vadītāji un/vai kautuvju personāls (Broens et al., 2011a).

Saimniecībās izolētā MRSA antimikrobiālās rezistences analīze

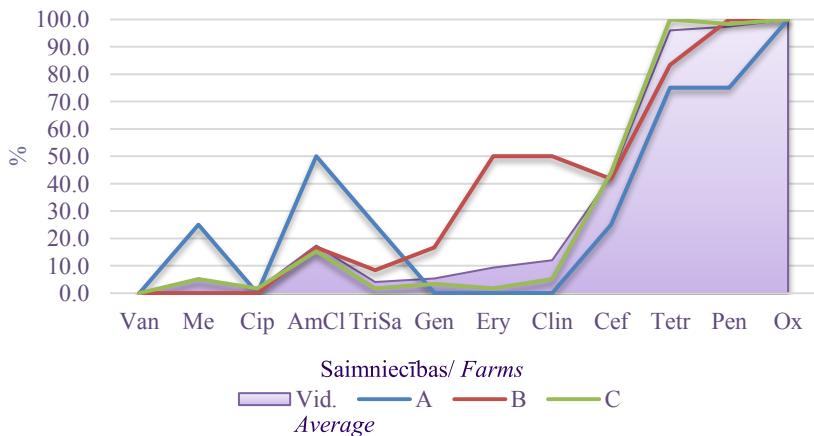
Antimikrobiālā rezistence pasaulei arvien pieauga kā cilvēku un dzīvnieku patogēnu, tā arī zoonotisko aģēntu vidū, līdz ar to rodas arvien lielāks infekciju ārstēšanas risks cilvēkiem un dzīvniekiem (Batisti et al., 2010; Jackson et al., 2013).

Pētījumā iegūto MRSA izolātu vidū ir konstatējama multi-antimikrobiālā rezistence. Lielākā daļa no izolātiem uzrāda rezistenci pret divām vai vairāk dažādām antibiotiku klasēm, turklāt daļa no izolātiem uzrādīja rezistenci pret meropenem un vidēju jutību pret vankomicīnu, kas liecina par antimikrobiālās rezistences palielināšanos. Mūsu pētījuma dati ir saskaņā arī ar citu autoru rezultātiem, kuros norādīts, ka ir vērojama augsta MRSA prevalence un rezistence izolātiem, kas iegūti no cūkām, cūkgaļas un šajā industrijā strādājošajiem (Batisti et al., 2010; Jackson et al., 2013).

Kopumā antimikrobiālās rezistences tendences saimniecībās izpaužas līdzīgi

- 98.2% MRSA izolātu mūsu pētījumā uzrādīja rezistenci pret penicilīnu un 89.1% - pret tetraciklīnu. Salīdzinoši augsta rezistence ir novērojama arī pret eritromicīnu (69.1%), klindamicīnu (65.5%), gentamicīnu (50.9%) un trimetoprīma sulfonamīdiem (40.0%) (skat. 11. att.).

Arī citu zinātnieku (van Duijkeren et al., 2008; Batisti et al., 2010; Fesler et al., 2012; Crombe et al., 2012; Pletinckx et al., 2013) pētījumi ir uzrādījuši mūsu konstatējumiem līdzīgas tendences, t.i., augstu rezistenci pret trimetoprīmu, linkomicīnu un ciprofloksacīnu. Līdzīgi kā Burns (Burns et al., 2014), arī mūsu pētījumā rezistence pret tetraciklīnu ir konstatēta 89.1% MRSA izolātiem un pret eritromicīnu - 69.1%. Interesanti, ka pētījumā 50.9% MRSA uzrāda rezistenci pret gentamicīnu un 29.1% - pret cefaleksīnu, kas netika izmantoti pētāmajās saimniecībās cūku ārstēšanai. Rezistence pret penicilīnu un tetraciklīnu, kas apmēram piecus līdz desmit gadus atpakaļ un daļā novietētu vēl joprojām tiek izmantotas kā pirmās izvēles antibiotikas lielos apjomos Latvijā, pētījumā izolētajiem MRSA sasniedza attiecīgi 98.2% un 89.1%.



*Pen – penicilīns, AmCl – amoksicilīns ar klavulānskābi, Cef – cefaleksīns, Cip – ciprofloksacīns, Clin – klindamicīns, Ery – eritromiċīns, Gen – gentamicīns, Me – meropenem, Tetr – tetraciklīns, TriSa – trimetoprim-sulfonamīdi, Ox – oksaciklīns, Van – vankomicīns/

**Pen - penicillin, AmCl - amoxicillin with clavulanic acid, Cef - cefalexin, Cip - ciprofloxacin, Clin - clindamycin, Ery - erythromycin, Gen - gentamicin, Me - meropenem, Tetr - tetracycline, TriSa - trimethoprim - sulfonamides, Ox - oxacycline, Van - vancomycin

11.att. MRSA antimikrobiālā rezistence saimniecībās/
Fig. 11. MRSA antimicrobial resistance in farms

Līdzīgas tendences saistībā ar antimikrobiālo rezistenci kā mūsu pētījumā, konstatētas arī Itālijā (Normanno et al., 2015), kur MRSA izolāti lielākoties ir multirezistenti, visbiežāk uzrādot rezistenci pret klindamicīnu, tetraciklīnu un eritromiċīnu. Salīdzinot mūsu iegūtos datus ar Ķīnas (Li et al., 2017), Taivānas (Lo et al., 2012), Itālijas (Batisti et al., 2010) un Vācijas (Mutters et al., 2016) zinātnieku pētījuma datiem, konstatēts, ka Latvijas cūku novietnēs no dzīvniekiem iegūtajiem MRSA piemīt zemāka rezistence nekā iepriekš minētajās citās valstīs. Tā mūsu pētījumā iegūtie MRSA uzrāda rezistenci pret ciprofloksacīnu 4.5% paraugu, savukārt Vācijā - 13.0% (Mutters et al., 2016), Itālijā 41.7% (Batisti et al., 2010), Taivānā 98.8% (Lo et al., 2012), bet Ķīnā – 100% (Li et al., 2017). Līdzīgi situācija antimikrobiālās rezistences ziņā šajās valstīs novērota arī pret citām antibiotikām, salīdzinot ar mūsu pētījumu.

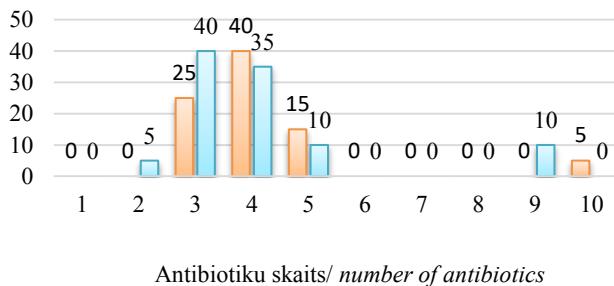
Mēs pētījumā MRSA izolātiem 20.0% gadījumu novērojām rezistenci pret gentamicīnu, 42.8% - pret eritromiċīnu, 33.6% - pret klindamicīnu un 92.5% - pret tetraciklīnu. Savukārt iepriekš minētajās valstīs – Vācijā – pret gentamicīnu – 20.0%, pret eritromiċīnu – 73.0%, pret klindamicīnu – 75.0%, pret tetraciklīnu – 100%;

Itālijā pret gentamicīnu – 42.0%, pret eritromicīnu – 75.7%, pret klindamicīnu – 80.0%, pret tetraciklīnu – 100%; Ķīnā – pret gentamicīnu – 80.4%, pret eritromicīnu – 97.0%, pret klindamicīnu un tetraciklīnu – 100% (Batisti et al., 2010; Mutters et al., 2014; Li et al., 2017) un Taivānā – 99.4% pret gentamicīnu, 100% pret klindamicīnu, 99.4% pret tetraciklīnu, pret eritromicīnu – 83.7, kā arī 90% pret trimetoprim-sulfonamīdiem (Lo et al., 2012), pret ko ir rezistenti 20.1% mūsu MRSA izolātu.

Ķīnas MRSA augstās rezistences rādītāju fenomens, atšķirībā no Eiropas datiem, ir skaidrojams ar to, ka Ķīnā antimikrobiālie līdzekļi tiek pielietoti ne tikai profilakses un ārstniecības nolūkos, bet arī kā augšanas veicinātāji, it īpaši enrofloksacīns, tetraciklīni, linkomicīns un tiamulīns (Li et al., 2016). Lai arī dažas no antibiotikām Taivānā tika aizliegts lietot produktīvajiem dzīvniekiem terapeitiskos nolūkos (klindamicīns, ciprofloksacīns), tomēr MRSA antimikrobiālā rezistence joprojām saglabājas ļoti augsta, tāpat kā pret tām antibiotikām (gentamicīns, tetraciklīns, eritromicīns un trimetoprim-sulfonamīdi), kurās atļauts izmantot kā barības piedevas ķermeņa masas pieauguma stimulēšanai (Li et al., 2017).

Visbiežāk antimikrobiālā rezistence mūsu pētījumā ir novērota pret piecām (24.6% no visiem MRSA izolātiem), sešām (19.3%) un septiņām (15.8%) dažādām antibiotikām, bet ASV veiktajā pētījumā pret piecu veidu antibiotikām rezistenci uzrāda 9.3% izolātu, pret četru veidu antibiotikām – 32.7%, bet pret trīs veidu antibiotikām – 57.9% (Ge et al., 2017).

Salīdzinot antimikrobiālo rezistenci MRSA izolātiem, kuri iegūti no dzīvnieka augšējiem elpošanas ceļiem un gremošanas sistēmas, konstatēts, ka visbiežāk tieši izolāti no gremošanas sistēmas uzrāda rezistenci pret lielāku antibiotiku skaitu nekā MRSA izolāti no augšējiem elpošanas ceļiem (skat. 12. att.).



12. att. **MRSA nazālo un rektālo izolātu antimikrobiālā rezistence pret noteiktu antibiotiku skaitu/**

Fig. 12. Antimicrobial resistance of MRSA nasal and rectal isolates to a certain number of antibiotics

Antimikrobiālo rezistenci esam noteikuši arī **no saimniecību darbiniekiem** izolētajiem MRSA. Tā no mazās grupas saimniecības (A) darbinieka izolētais MRSA uzrāda rezistenci pret penicilīnu, cefelaksīnu, tetraciklīnu un meropenem, taču izolāts no vidējā lieluma saimniecības (B) darbinieka - pret penicilīnu, tetraciklīnu un cefaleksīnu. Pētījumā nav konstatēts identisks MRSA *spa* tips cilvēkiem un dzīvniekiem, kas liecinātu par kopējas izcelsmes MRSA.

Tomēr interesanti ir tas, ka saimniecībā A cūkām MRSA visaugstāko rezistenci arī uzrādīja tieši pret cefaleksīnu, tetraciklīnu, penicilīnu un vidēju rezistenci - pret meropenem, bet saimniecībā B – pret penicilīnu, tetraciklīnu un vidēju rezistenci - pret cefaleksīnu.

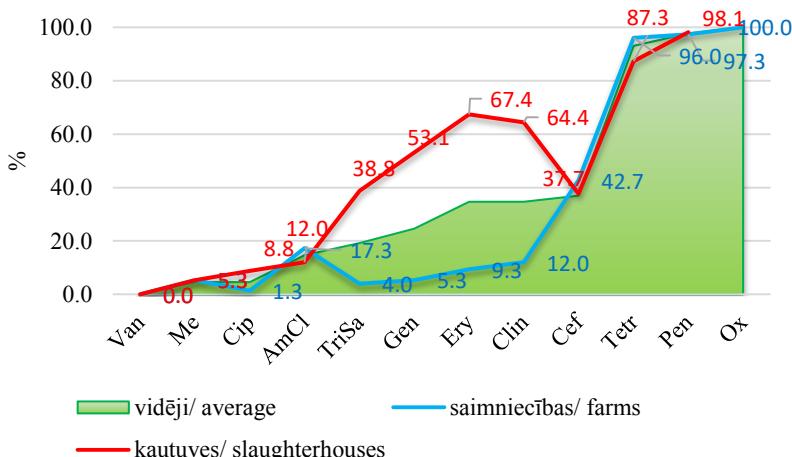
Kautuvēs izolētā MRSA antimikrobiālās rezistences analīze

Mūsu veiktajā pētījumā **kautuvēs** iegūtie MRSA, visbiežāk rezistenci uzrādīja vienlaicīgi pret sešām (26.1% no visiem MRSA izolātiem), septiņām (21.7%) un astoņām (19.6% no visiem MRSA izolātiem) dažādām antibiotikām. MRSA izolāti 32.8% uzrādīja rezistenci pret eritromicīnu, 92.5% pret tetraciklīnu un 98.5% pret penicilīnu (skat. 13. att.), savukārt ASV veiktajā pētījumā (Ge et al., 2017) MRSA izolātiem novēro zemāku rezistenci – tikai 12.6% rezistenti pret eritromicīnu, 54.1% pret tetraciklīnu un 69.8% pret penicilīnu. Tāpat arī šajā pētījumā atšķirībā no mūsu izolātiem, kas 25.4% rezistenti pret trimetoprim-sulfonamīdiem, rezistenci pret šo antibiotiku nenovēroja, bet novēroja vidēju jutību pret vankomicīnu, ko konstatējam arī mēs pētījumā 6 MRSA izolātiem.

Salīdzinot humānās (HA) un dzīvnieku izcelsmes (LA) MRSA izolātu antimikrobiālo rezistencei, secinām, ka lielas atšķirības nav novērojamas, izņemot dažus antimikrobiālos līdzekļus. Tā mūsu pētījumā HA-MRSA izolātiem konstatēta augstāka rezistence pret penicilīnu (100.0%), cefaleksīnu (50.0%), gentamicīnu (33.3%) un meropenem (16.7%) nekā LA-MRSA izolātiem (rezistence pret penicilīnu – 98.8%, cefaleksīnu – 38.8%, meropenem – 7.5%). Savukārt LA-MRSA konstatēta augstāka rezistence pret tetraciklīnu (92.5%) un trimetoprim-sulfonamīdiem (23.0%) nekā HA-MRSA (rezistence pret tetraciklīnu (83.3%, pret trimetoprim-sulfonamīdiem 20.1%), bet pret pārējiem antimikrobiālajiem līdzekļiem rezistencē krasas atšķirības nenovēro.

Iepriekš minētā situācija antimikrobiālās rezistences izpausmēs pret atsevišķiem līdzekļiem ir cieši saistīta ar šo preparātu izmantošanas apjomu atšķirību humānajā un veterinārajā medicīnā. Tā produktīvajiem dzīvniekiem (īpaši cūkām), saskaņā ar Regulas 37/2010 prasībām, ir aizliegts ārstēšanā izmantot tādas antibiotikas kā cefaleksīnu, meropenem, ciprofloxacīnu un klinidamicīnu, savukārt novērots, ka tetraciklīns un penicilīns tiek izmantots ļoti bieži (Mutters et al., 2016). Līdzīgs rezistences līmenis LA-MRSA un HA-MRSA vidū novērojams pret tām antibiotikām, kuras lieto vienlaicīgi gan humānajā, gan veterinārajā medicīnā –

trimetoprim-sulfonamīdi un amoksicilīns kopā ar klavulānskābi. Arī citi pētnieki (Mutters et al., 2016) konstatējuši, ka viskrasākās antimikrobiālās rezistences atšķirības atrodamas starp HA-MRSA un LA-MRSA, jo pret ciprofloxacīnu LA-MRSA izolātiem konstatēta rezistence vairāk nekā 80.0% izolātiem, bet izolātiem no cūkām un cūku industrijā iesaistītajiem darbiniekiem - nedaudz vairāk tikai kā 10% gadījumu.



*Pen – penicilīns, AmCl – amoksicilīns ar klavulānskābi, Cef – cefaleksīns, Cip – ciprofloxacīns, Clin – klindamicīns, Ery – eritromīcīns, Gen – gentamicīns, Me – meropenem, Tetr – tetraciklīns, TriSa – trimetoprim-sulfonamīdi, Ox – oksaciklīns, Van – vankomicīns/

**Pen - penicillin, AmCl - amoxicillin with clavulanic acid, Cef - cefalexin, Cip - ciprofloxacin, Clin - clindamycin, Ery - erythromycin, Gen - gentamicin, Me - meropenem, Tetr - tetracycline, TriSa - trimethoprim - sulfonamides, Ox - oxacycline, Van - vancomycin

13. att. Cūkkopības saimniecībās un kautuvēs iegūtā MRSA antimikrobiālās rezistences salīdzinājums/

Fig. 13. Comparison of MRSA antimicrobial resistance in pig farms and slaughterhouses

Līdzīgi kā mūsu pētījumā, arī Mutters ar līdzautoriem (Mutters et al., 2016) nenovēro krasas antimikrobiālās rezistences atšķirības starp LA-MRSA un HA-MRSA izolātiem pret eritromīcīnu un klindamicīcīnu, bet ievērojami atšķirīgāki rezistences rezultāti ir pret gentamicīnu, kur rezistenti mazāk nekā 5% ir HA-MRSA izolātu, bet 15-20% rezistenti LA-HA-MRSA un LA-MRSA izolātu. Savukārt mūsu pētījumā LA-MRSA izolātiem novēro mazāku rezistenci pret gentamicīnu (23.0%) nekā HA-MRSA (33.3%). Tāpat krasas atšķirības redzamas Mutters pētījumā

(Mutters et al., 2016) rezistencē pret trimetoprim-sulfonamīdiem, kur rezistenti ir 45% LA-MRSA izolātu un 52% HA-LA-MRSA izolātu, bet mūsu pētījumā šīs atšķirības ir nelielas, t.i., LA-MRSA izolātu vidū rezistenci pret trimetoprim-sulfonamīdiem novēro tikai par 3.4% vairāk nekā HA-LA-MRSA izolātiem.

Vērojamas gan kopējas, gan atšķirīgas tendences **saimniecībās un kautuvēs** (skat. 13. att.). Antimikrobiālā rezistence vidēji bija augstāka kautuvju izolātiem, tomēr saimniecībās iegūtajiem MRSA augstāka rezistence konstatēta pret amoksicilīnu kombinācijā ar klavulānskābi (17.3%), cefaleksīnu (42.7%) un tetraciklīnu (96.0%), kamēr kautuvju MRSA izolātiem lielāka rezistence konstatēta pret trimetoprim sulfonamīdiem – 38.8%, gentamicīnu – 53.1%, pret klindamicīnu – 64.4% un eritromicīnu – 67.4%.

Netika novērotas krasas atšķirības starp saimniecībām un kautuvēm – saimniecībās rezistence tika novērota vienlaicīgi pret septiņām līdz vienpadsmit antibiotikām, bet kautuvēs pret deviņām līdz vienpadsmit testētajām antibiotikām.

Izolētā MRSA genotipiskā analīze

Jaunākie pētījumi ir pierādījuši, ka MRSA nēsāšanas fenomens ir saistīts ar produktīvo dzīvnieku kontaktu (Kock et al., 2016). Nīderlandē, kur cilvēku inficēšanos ar MRSA novēro reti, LA-MRSA no visiem MRSA izolātiem 2006. gadā konstatēts 20% gadījumu, bet šī procentuālā attiecība arvien turpina pieaugt (van Rijen et al., 2008). Savukārt Nīderlandē 97% no visiem MRSA, kas izdalīti no cūkgaļas, ietilpst klonālajā kompleksā ST398 (Buyukcangaz et al., 2013; Hanson et al., 2011; Molla et al. 2012; O'Brien et al., 2012).

Pētījumā mēs konstatējām, ka MRSA un to *spa* tipu sastopamība variē atkarībā no kautuves kaušanas jaudas un labas higiēnas prakses nosacījumiem, no saimniecības lieluma, kā arī cūku skaita un blīvuma.

Mūsu pētījumā iekļautās cūkas ir no dažādiem Latvijas reģioniem, kas var būt par iemeslu augstai MRSA *spa* tipu heterogenitātei, jo **cūkkopības saimniecībās** iegūtajiem cūku, piena un darbinieku MRSA izolātiem konstatējām 10 dažādus *spa* tipus (skat. 1. tab.) – t.i., t011, t899, t693, t1333, t400, t1255, t808, t1580, t1985, t2383, kas norāda, ka varētu būt MRSA pārnese starp saimniecībām ar darbinieku, inventāra un tehnikas starpniecību. Turklat vissastopamākais cūku populācijā ir t011 (69.0%), kas dominē visās pētījumā iekļautajās saimniecībās, kamēr pārējie konstatētie MRSA *spa* tipi ir izolēti tikai atsevišķās saimniecībās. MRSA izolāts no sivēnmātes piena pieder *spa* tipam t400. MRSA izolāts no saimniecības A darbinieka pieder *spa* tipam t693, bet B saimniecības darbinieka MRSA izolāts – *spa* tipam t1255.

Mūsu pētījumā iekļautajās **kautuvēs** MRSA izolātiem konstatēti 15 dažādi *spa* tipi (skat. 1. tab.), t.i., t011, t127, t318, t337, t421, t808, t899, t1333, t1250, t2421, t1255, t2451, t11744 un divi jauni *spa* tipi (A un B). Tādējādi, konstatētā

MRSA *spa* tipu lielā variabilitāte norāda uz to, ka pastāv atšķirības MRSA genomā starp dažādām saimniecībām, no kurām cūkas nonāk kautuvēs. Savukārt izmaiņas MRSA genomā var veicināt tādi faktori kā dažādu antibakteriālo un dezinfekcijas līdzekļu izmantošana un atšķirīgs saimniecību menedžments (Becker et al., 2017). Lai arī mēs pētījumā ieguvām lielu MRSA *spa* tipu dažādību (kopumā 21 *spa* tips uz 131 parauga), tomēr citu valstu zinātnieku pētījumi (Becker et al., 2017) rāda, ka šī variabilitāte var būt arī augstāka (131 *spa* tips uz 331 MRSA izolātu), kaut gan ir arī pētījumi, kur šī variabilitāte ir būtiski zema – 453 MRSA izolātiem konstatēti tikai 7 dažādi *spa* tipi (Pletinckx et al., 2013).

1. tabula/ *Table 1*

**MRSA *spa* tipu sastopamība cūkkopības saimniecībās un kautuvēs/
Occurrence of MRSA *spa* types in pig farms and slaughterhouses**

Saimniecība/ Farm Kautuve/ Slaughterhouse		Spa tips/ Spa type
Saimniecības/ <i>Farms</i>	A	t011 (n=1), t899 (n=3), t693 (n=1)
	B	t011 (n=3), t1333 (n=3), t400 (n=4), t1255 (n=1)
	C	t011 (n=47), t808 (n=5), t1580 (n=1), t1985 (n=4), t2383 (n=1)
Kautuves/ <i>Slaughterhouses</i>	D	t899 (n=2), jauns B (n=1)
	E	t011 (n=4), t1250 (n=1), t318 (n=3)
	F	t1333 (n=13), t011 (n=2), t2451 (n=1), t127 (n=2), t1255 (n=1)
	G	t1333 (n=2), t337 (n=12), t808 (n=1), t11744 (n=7), t1250 (n=1), t2421 (n=2), t421 (n=1), jaunais A (n=1)

Līdzīgi kā mūsu veiktajā pētījumā, arī citi pētnieki (Friese et al., 2012; Pletinckx et al., 2013; Peeters et al., 2015) gan no cūkām, gan no vides paraugiem visbiežāk izolējuši MRSA t011 *spa* tipu, kā arī izolējuši t1255 izolātu no nazālajiem paraugiem, ko mēs izolējām no kautuves darbinieka.

Kopumā pētījumā ir izolēts MRSA *spa* tips **t011**, kurš saimniecībās konstatēts 68.9%, bet kautuvēs – 10.5%, un starp visiem MRSA izolātu *spa* tipiem sastopamība sastāda 43.5%. Otrs biežākais MRSA tips ir **t1333**, kas sastopams kautuvēs 26.3% un saimniecībās – 4.1%, bet starp visiem MRSA izolātu *spa* tipiem kopumā sastopamība sastāda 26.3%. Tips **t127** ir sastopams tikai kautuvēs 2 MRSA izolātiem, t.i., 1.5% no visiem MRSA izolātu *spa* tipiem.

Salīdzinot citu autoru publicēto, Itālijā (Batisti et al., 2010) un Taivānā (Lo et al., 2012) veiktajā pētījumā no saimniecībām iegūtajiem MRSA izolātiem visbiežāk konstatēts MRSA *spa* tips t899 (48.9% novietētu), savukārt mūsu pētījumā šis *spa*

tips konstatēts vienā saimniecībā (4.1% no visiem saimniecību *spa* tipētajiem MRSA izolātiem jeb 3.8% no visiem *spa* tipētajiem MRSA izolātiem). Kā otru biežāk sastopamāko MRSA *spa* tipu itālu pētnieki konstatē t127, kas mūsu pētījumā konstatēts tikai 1 kautuvē (3.5% no visiem MRSA *spa* tipētajiem izolātiem kautuvēs jeb 1.5% no visiem MRSA *spa* tipētajiem izolātiem). Savukārt mūsu pētījumā visbiežāk sastopamais MRSA *spa* tips ir t011, kas konstatēts visās cūkkopības saimniecībās (68.9% no visiem saimniecību *spa* tipētajiem MRSA izolātiem jeb 43.5% no visiem *spa* tipētajiem MRSA izolātiem) un divās kautuvēs (10.5% no visiem MRSA *spa* tipētajiem izolātiem kautuvēs), bet itālu pētījumā tas ir konstatēts tikai 8.9% cūku novietu. Tāpat MRSA *spa* tips t899 ir konstatēts Taivānā MRSA cūku izolātiem (Lo et al., 2017).

MLST ir balstīta uz gēniem, kuros izmaiņas notiek lēnām līdz ar to sniedz informāciju par *S. aureus* evolpcionārām izmaiņām un globālo sastopamību (Feil et al., 2003; O'Hara et al., 2016). Zinātniskajā literatūrā tiek uzsvērts, ka *S. aureus* ģenētiskā tipa izvērtēšanai tomēr precīzāka informācija tiek iegūta, ja tiek izmantotas genotipiskās metodes (*spa* tipēšana, MLST) kombinācijā (Dhawan et al., 2014).

Analizējot MRSA *spa* tipu sekvenču rezultātus (skat. 2. tab.), mēs konstatējām, ka pētījumā biežāk konstatētajam MRSA *spa* tipam t011 mūsu pētījumā ir konstatēts **ST398** raksturīgais klonālais komplekss (tāpat kā itālu pētījumā (Batisti et al., 2010)), kā arī ST398 komplekss pieder arī t808 *spa* tipam. Lai arī lielākā daļa Eiropas MRSA izolātu nepieder pie sekvoences ST9 (Mutters et al., 2016), mūsu pētījumā ir pierādās, ka MRSA *spa* tipi t11744, t337 un t899 pieder klonālajam kompleksam ST9, kura citu autoru publikācijās lielākoties norādīta kā raksturīga Āzijas un itāpaši Japānas MRSA cūku izcelsmes izolātiem, savukārt sekvoence ST398, kas vairāk raksturīga Eiropai, sastopams Japānā krieti vien retāk (Asai et al., 2012; Cui et al., 2009).

Ukārt, mūsu pētījumā no cūkām iegūtie MRSA *spa* tipi t808 un t011 pieder pie sekvoences tipa ST398, kas literatūrā tiek minēta kā viena no biežāk sastopamajām sekvencēm Eiropā MRSA izolātiem no mājdžīvniekiem (Becker et al., 2017; George et al., 2017).

Konstatējām, ka pētījumā nevienam no 6 MRSA cūku industrijā iesaistītajiem darbiniekiem nav konstatēts MRSA *spa* tips, kas iekļautos ST398 klonālajā kompleksā. LA-MRSA CC398 klonālais komplekss, līdzīgi kā citi HA-MRSA raksturīgie klonālie kompleksi no dažādām biofilmām, spēj izraisīt cilvēkiem epitēlijšunu inficēšanos un izraisīt citotokskisku ietekmi (Nicholson et al., 2013; Witte et al., 2007).

2. tabula/ Table 2

MRSA saimniecību un kautuvju izolātu spa tipu piederība sekvencēm/
Affiliation of MRSA isolates from farms and slaughterhouses to sequences

Izolāta izceļums/ Type of isolate	Spa	MLST
	Tips/ Type	ST
Saimn. A, nobarojamie, rektālais paraugs/ <i>Farm A, fattening pigs, rectal sample</i>	t899	9
Saimn. C, 3-3.5 mēn., rektālais paraugs. <i>Farm C, 3-3.5 month, rectal sample</i>	t808	398
Saimn. C., 3-3.5 mēn., rektālais paraugs/ <i>Farm C, 3-3.5 month, rectal sample</i>	t011	398
Saimn. B, neatšķ., nazālais paraugs/ <i>Farm B, sueling piglets, nasal sample</i>	t400	528
Kautuve G, nazālais paraugs/ <i>Slaughterhouse G, nasal sample</i>	t11744	9
Kautuve G, nazālais paraugs/ <i>Slaughterhouse G, nasal sample</i>	t337	9

Lai arī zinātnieku (epidemiologu) domas jautājumā par LA-MRSA pārneses iespējām cilvēku vidū dalās un tiek uzskatīts, ka šajā ziņā risks ir minimāls (Wassenberg et al., 2011; Hetem et al., 2013) un LA-MRSA ir mazāk virulents nekā hospitālās izceļsmes MRSA (HA-MRSA) (Bootsma et al., 2011; Wassenberg et al., 2011; Garcia-Graels et al., 2012; van de Sande-Bruinsma et al., 2015), tomēr ir pierādīts, ka klonālās līnijas CC398 MRSA, kas arī tiek pieskaitīts pie LA-MRSA, var tikt viegli pārnests no cilvēka uz cilvēku (McCarthy et al., 2012; Price et al., 2012; David et al., 2013), cieša kontakta ceļā ar produktīvajiem dzīvniekiem, izraisot riskam pakļauto personu kolonizāciju vai pat inficēšanos (Layer et al., 2012; Nair et al., 2016). Tādējādi veterinārārsti, veterinārmedicīnas studenti, kautuvju darbinieki un lauksaimniecības dzīvnieku industrijā nodarbinātie, kā arī citi ciešā kontaktā esošie indivīdi ar iepriekš minētajām grupām, ir riskam visvairāk pakļautās personas (Frana et al., 2013; Bos et al., 2014; Verstappen et al., 2014; Smyth, Wardyn et al., 2015), jo galvenokārt šo cilvēku vidū netiek novēroti kliniskie simptomi (Smyth, Wardyn et al., 2015). Tomēr MRSA ST398 uzliesmojumi slimnīcās novērojami reti (Verkade et al., 2012), kas skaidrojams ar lielo ST398 MRSA spa tipu variabilitāti un līdz ar to arī ar loti atšķirīgo genoma un fenotipisko raksturojumu, tai skaitā, virulenci un antimikrobiālo rezistenci (McCarthy et al., 2012; Price et al., 2012; David et al., 2013). Savukārt Nīderlandē veiktajā pētījumā - no pacientiem izolētajiem MRSA bija raksturīgs LA-MRSA tips (Hetem et al., 2013). Arī Vācijā veiktie pētījumi liecina, ka turpina pieaugt slimnīcās izolēto LA-MRSA proporcija attiecībā pret HA-MRSA sastopamību (Schaumburg et al., 2012; Kock et al., 2013). Tāpat ir

pierādīts, ka tiem indivīdiem, kas ir nazālie MRSA nēsātāji, ir arī augstāks MRSA infekcijas risks nekā pārējai populācijai (Kluytmans et al., 1997).

Nemot vērā augstos MRSA nazālos kolonizācijas rādītājus cūkkopības industrijas darbinieku vidū, šis varētu būt viens no profesionālās darbības riskiem (LA-MRSA kolonizācija darbiniekiem), kas pat ir augstāks nekā HA-MRSA kolonizācijas risks. Tāpat ir norādīta informācija, ka vairākās valstīs laika posmā no 2006. gada līdz 2015. gadam ir konstatēti LA-MRSA inficēšanās gadījumi personām, kas iesaistītas lauksaimniecības dzīvnieku audzēšanas industrijā (Albrich, Harbarth et al., 2008).

Izolēto MRSA *spa* tipu un antimikrobiālās rezistences savstarpējais raksturojums

Veicot MRSA *spa* tipu un antimikrobiālās rezistences analīzi, konstatēts, ka pētāmajam stafilocokam rezistence variē pat viena *spa* tipa ietvaros. Tāpat konstatēts, ka no cūkkopības **saimniecībās** izolētiem MRSA vienam *spa* tipam novēro no diviem līdz vienpadsmīt dažādiem antimikrobiālās rezistences profiliem un galvenokārt divos biežāk izplatītākajos rezistences profilos (Pen-Tetr un Pen-Cef-Tetr) ietilpst 63.5% no visiem MRSA izolātiem. (skat. 3. tab.)

Savukārt **kautuvēs** (skat. 3. tab.) MRSA viena *spa* tipa ietvaros novēro no diviem līdz astoņiem dažādiem antimikrobiālās rezistences profiliem un piecos no biežāk izplatītākajiem antimikrobiālās rezistences profiliem (Pen-Tetr-Clin-Ery-Gen-TriSa, Pen-Tetr, Pen-Cef-Tetr-Clin-Ery-Gne-TriSa, Pen, Pen-Tetr-Clin-Ery-Ge) ietilpst kopumā 52.5% MRSA izolāti.

3. tabula/ Table 3

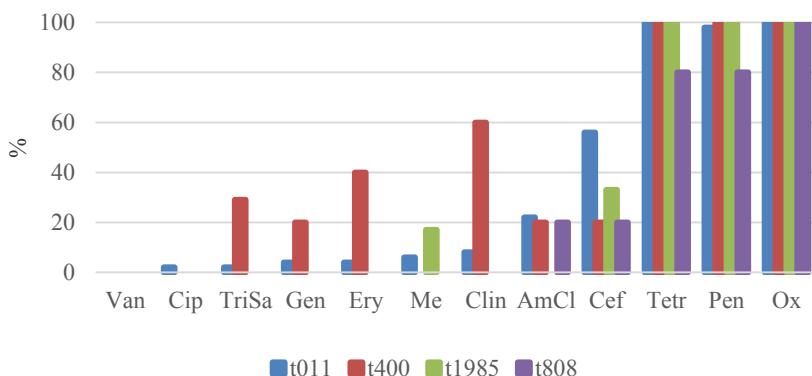
Saimniecībā un kautuvēs sastopamo MRSA spa tipu raksturojums/
Characteristics of MRSA spa types on farms and slaughterhouses

Saimniecība/ Farm Kautuve/ Slaughterhouse	spa tips/ spa type	MRSA izolātu skaita atbilstošajam spa tipam/ Number of MRSA isolates for the appropriate spa type	% no visiem MRSA izolātiem/ % of all MRSA isolates	Antibiotikas, pret kurām konstatēta visaugstākā rezistēnci* / Antibiotics with the highest resistance **	Antimikrobiālās rezistēnces profilu skaita/ Number of antimicrobial resistance profiles
Saimniecību MRSA izolātu raksturojums/ <i>The characteristics of MRSA isolates from farms</i>	t1985 t011	5 51	5.4 68.9	Pen, Tetr, Cef, Me AmCl	3 11
	t808	5	6.8	Pen, Tetr, Cef, AmCl	2
	t400	4	5.4	Pen, Tetr, Clin, Ery	4
Kautuvju MRSA izolātu raksturojums/ <i>The characteristics of MRSA isolates from slaughterhouses</i>	t318 t011	3 6	5.2 10.5	Cef, Gen, Ery, Clin, Tet, Pen Pen, Tetr, Cef, AmCl	2 6
	t11744	7	12.2	Ery, Clin, Tetr, Pen, Gen	6
	t337 t1333	12 15	21.0 26.3	Pen, Tetr, Ery, Clin Pen, Tetr, Ery, Clin	7 8

*Pen – penicilins, AmCl – amoksicilins ar klavulānskābi, Cef – cefaleksins, Cip – ciproflokacins, Clin – klindamicins, Ery – eritromicins, Gen – gentamicins, Me – meropenem, Tetr – tetraklins, TriSa – trimetoprim-sulfonamidi, Ox – oksaciklins, Van – vankomicins
 **Pen – penicillin, AmCl – amoxicillin with clavulanic acid, Cef – cefalexin, Cip – ciprofloxacin, Clin – clindamycin, Ery – erythromycin, Gen – gentamicin, Me – meropenem, Tetr – tetracycline, TriSa – trimethoprim - sulfonamides, Ox – oxacycline, Van – vancomycin

Līdzīgas paralēles ar mūsu pētījuma rezultātiem atrodamas arī Beļģijā veiktajā pētījumā (Pletinckx et al., 2013), kur pavisam konstatēts 51 antimikrobiālās rezistences profils un piecos no biežāk izplatītākajiem antimikrobiālās rezistences profiliem (Cip-Tetr-Tri, Cip-Tetr-Tri-Sa, Tetr-Tri-Ery-Lin-Tyl, Tetr-Tri-Gen-Cip-Kan-Lin-Tobr, Tetr-Cip-Clr-Lin-AmCl) ietilpst 54.3% visu MRSA izolātu. Savukārt Itālijā veiktajā pētījumā (Batisti et al., 2010) MRSA *spa* tipu izolātiem t011, t2899 un t127 konstatēta augstāka antimikrobiālā rezistence nekā mūsu pētījumā.

Mūsu rezultātos iegūtajiem MRSA **t011** *spa* tipa izolātiem rezistenci pret ciprofloxacīnu konstatē 3.4% gadījumu, pret trimetoprim-sulfonamīdiem – 5.2%, pret gentamicīnu – 10.3%, pret eritromicīnu – 21.0, pret klindamicīnu – 13.8%, bet pret tetraciklīnu – 98.3%. Savukārt Itālijas zinātnieki (Batisti et al., 2010) pret ciprofloxacīnu rezistenci konstatē 25.0% gadījumu, pret trimetoprim-sulfonamīdiem – 75.0%, pret gentamicīnu – 50.0%, pret eritromicīnu – 75.0, pret klindamicīnu – 75.0%, bet pret tetraciklīnu – 100%, tomēr kautuvju un saimniecību ietvaros rezistence ir nedaudz atšķirīga (skat. 14. un 15. att.).



*Pen –penicilīns, AmCl – amoksicilīns ar klavulānskābi, Cef – cefaleksīns, Cip – ciprofloxacīns, Clin – klindamicīns, Ery – eritromicīns, Gen – gentamicīns, Me – meropenem, Tetr – tetraciklīns, TriSa – trimetoprim-sulfonamīdi, Ox – oksaciklīns, Van – vankomicīns

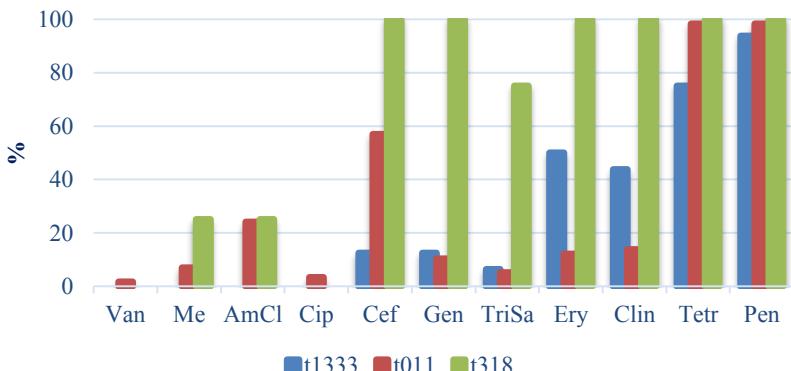
**Pen - penicillin, AmCl - amoxicillin with clavulanic acid, Cef - cefalexin, Cip - ciprofloxacin, Clin - clindamycin, Ery - erythromycin, Gen - gentamicin, Me - meropenem, Tetr - tetracycline, TriSa - trimethoprim - sulfonamides, Ox - oxacycline, Van - vancomycin

14. att. Saimniecībās visbiežāk sastopamo MRSA *spa* tipu antimikrobiālā rezistence/

*Fig. 14. The antimicrobial resistance of most common MRSA *spa* types on farms*

Tāpat zemāka antimikrobiālā rezistence nekā citu zinātnieku rezultātos (Batisti et al., 2010) mūsu pētījumā ir novērota arī citiem MRSA *spa* tipiem. Tā

MRSA *spa* tipam **t899** mūsu pētījumā nav novērota rezistence pret ciprofloksacīnu, bet 20.0% gadījumos rezistenci uzrāda pret gentamicīnu, trimetoprim-sulfonamīdiem, eritromicīnu un klindamicīnu, bet pret tetraciklīnu – 100%. Savukārt Itālijas zinātnieku pētījumā (Batisti et al., 2010) augstāka novērota rezistence pret trimetoprim-sulfonamīdiem – 65.0%, gentamicīnu 26.0%, eritromicīnu – 52.0%, klindamicīnu – 52.0%, bet pret tetraciklīnu – arī 100%.



*Pen – penicilīns, AmCl – amoksicilīns ar klavulānskābi, Cef – cefaleksīns, Cip – ciprofloksacīns, Clin – klindamicīns, Ery – eritromicīns, Gen – gentamicīns, Me – meropenem, Tetr – tetraciklīns, TriSa – trimetoprim-sulfonamīdi, Ox – oksaciklīns, Van – vankomicīns

**Pen - penicillin, AmCl - amoxicillin with clavulanic acid, Cef - cefalexin, Cip - ciprofloxacin, Clin - clindamycin, Ery - erythromycin, Gen - gentamicin, Me - meropenem, Tetr - tetracycline, TriSa - trimethoprim - sulfonamides, Ox - oxacycline, Van - vancomycin

15. att. Kautuvēs visbiežāk sastopamo MRSA *spa* tipu antimikrobiālā rezistence/

*Fig. 15. The antimicrobial resistance of most common MRSA *spa* types in slaughterhouses*

Viskrasākās atšķirības starp mūsu un citu autoru konstatēto (Batisti et al., 2010) ir novērotais MRSA *spa* tipa t127 izolātiem. Mēs to pētījumā izolējām no kautuvēm, un rezistenci 100% gadījumos uzrāda tikai pret tetraciklīnu, savukārt itāļu pētījumā (Batisti et al., 2010) rezistence ir novērota 50.0% gadījumos pret trimetoprim-sulfonamīdiem un ciprofloksacīnu, bet pret gentamicīnu, eritromicīnu, klindamicīnu un tetraciklīnu – 100% gadījumu. Krasās atšķirības antimikrobiālajā rezistencē ar mūsu iegūtajiem rezultātiem varētu būt skaidrojams ar to, ka Dienvideiropas reģiona valstīs ir daudz augstāka MRSA izplatība, līdz ar to

konsekventi ir arī lielāks antimikrobiālo līdzekļu patēriņš, kas savukārt kā atgriezeniskā saite noved pie antimikrobiālās rezistences palielināšanās.

Dažu pētnieku (Tenhagen et al., 2009) rezultāti ļauj secināt, ka visizplatītākais MRSA *spa* tips ir **t1333**. Savukārt mūsu pētījumā MRSA *spa* tipa t1333 visi izolāti uzrāda rezistenci arī pret klindamicīnu (43.0%), eritromicīnu (50.0%), tetraciklīnu (75.0%) un penicīlinu (93.0%) (skat. 15. att.). Tātad, no mūsu rezultātiem ir redzams, ka antimikrobiālā rezistence MRSA *spa* tipam t1333 ir augusi.

Pētījumā (Gonzalez-Dominguez et al., 2012) no slimnīcas pacientiem izolētajiem MRSA izolātiem konstatēta rezistence pret klindamicīnu (17.2%), eritromicīnu (44.8%) un gentamicīnu (27.6%), turpretim mūsu pētījumā no saimniecību darbiniekiem izolētie MRSA ($n=2$) neuzrāda rezistenci pret iepriekš minētajām antibiotikām, bet MRSA izolāti no kautuvju darbiniekiem ($n=3$) divos gadījumos uzrāda rezistenci pret klindamicīnu, eritromicīnu un gentamicīnu. Lai arī kopumā mūsu iegūtie MRSA izolāti uzrāda nedaudz augstāku rezistenci pret klindamicīnu (40.8%), taču pret eritromicīnu (40.1%) un gentamicīnu (29.4%) rezistences līmenis krasī neatšķiras.

Literatūrā minēts, ka ST398 klonālā līnija kļūst arvien biežāk sastopama slimnīcu vidē (Verkade et al., 2014; Williamson et al., 2014). Ir noskaidrots, ka rezistence pret tetraciklīnu (Tet^R) var kalpot kā viens no agrīnajiem (ekspress) CC398 un citiem ar produktīvajiem dzīvniekiem saistīto MRSA klonālo līniju rādītājiem. Pētījumos MRSA CC398 proporcionāli uzrāda jau loti augstu MRSA- Tet^R (67.3%) rezistenci (Lozano et al., 2012b). Konstatēts, ka 25.5% slimnīcas pacientiem, kuriem izolēts MRSA- Tet^R, tie atradušies kontaktā ar cūkām vai putniem, bet 42.9% pacientiem nebija iepriekš bijis kontakt ar produktīvajiem dzīvniekiem (Benito et al., 2014). Tāpat pētījuma grupā iekļauto pacientu, kuriem bijis kontakt ar produktīvajiem dzīvniekiem, MRSA izolātiem ST398 klonālo līniju novēro par 14.0% biežāk nekā to pacientu grupas MRSA izolātiem, kuriem nav bijis kontakt ar produktīvajiem dzīvniekiem. Savukārt mūsu pētījumā no kautuvē strādājošā darbinieka izolētais MRSA izolāts uzrāda rezistenci tikai pret penicīlinu.

Lai arī mūsu MRSA ST398 izolātiem arī ir novērota rezistence pret eritromicīnu (t011 – 12.0%; t808 – 20.0%) un klindamicīnu (t011 – 13.8%; t808 – 20.0%) iepriekš minēto autoru pētījumā pret šīm antibiotikām ir konstatēta augstāka rezistence – respektīvi 58.0% un 63.0%, kaut gan pret gentamicīnu mūsu MRSA izolāti uzrāda augstāku rezistenci (t011 – 10.3%; t808 – 20.0%) nekā Benito (Benito et al., 2014) pētījumā – 7.0%.

MRSA klonālai CC398 līmijai lielākoties piemīt multirezistences fenotips, tādējādi būtiski ierobežojot šo infekciju ārstēšanas iespējas (Cunny et al., 2013). Zinātnieku vidū pastāv arī viedoklis, ka MRSA-CC398 var kalpot kā antimikrobiālo rezistenci noteicošo gēnu rezervuārs (Kadlec et al., 2012), un, līdzīgi kā Benito (Benito et al., 2014) pētījumā, arī mūsu MRSA *spa* tipu t011 un t808 izolātiem, kas pieder pie ST398 klonālās līnijas, ir novērota multirezistence, jo *spa* tips t011 vienlaicīgi ir rezistents pret 11 antibiotikām, bet *spa* tips t808 - pret 8 antibiotikām.

Līdzīgi kā citur veiktajos pētījumos (Cunny et al., 2013), arī mūsu izolētajiem MRSA ST398 izolātiem konstatēta ļoti zema antimikrobiālā rezistence pret kvinoloniem - tikai *spa* tipam t011 pret ciprofloxacīnu 3.4% izolātu, bet kopumā visiem MRSA izolātiem - tikai 4.5% gadījumos. Tomēr jāatzīmē, ka mūsu pētījumā konstatētā samērā nelielā rezistence pret kvinoloniem un vēl jo vairāk ievērojami lielākā rezistence pret makrolīdiem (rezistence pret eritromicīnu 32.8% MRSA izolātu) un tetraciklīniem (rezistence pret tetraciklīnu 92.5% MRSA izolātu) rada pamatotas bažas par MRSA infekciju ārstēšanas iespējām, jo makrolīdi, kvinoloni un tetraciklīni saskaņā ar Pasaules Veselības organizācijas klasifikāciju humānajā medicīnā tiek dēvēti par ļoti svarīgajām antibiotikām, tādēļ šo antibiotiku izmantošanu dzīvniekiem ir rekomendējams samazināt (Collignon et al., 2009).

Pētījuma rezultātā arī konstatēts, ka, lai arī lielākā daļa MRSA izolātu ir jutīgi pret vankomicīnu, tomēr deviņi MRSA izolāti no saimniecībām – t011 (n=5), t693 (n=1), t899 (n=2) un t400 (n=1) un seši izolāti no kautuvēm – t011 (n=1), t2337 (n=2), t11744 (n=2), t2421 (n=1), uzrāda vidēju jutību pret vankomicīnu. Zinātnieki (Moreno et al., 2016) ir ziņojuši, ka MRSA izolātam ar *spa* tipu t953 (ST398 sekvoences piederība), kas iegūts no cūkas ar eksudatīvu epidermītu, konstatēta vidēja jutība pret vankomicīnu, bet, tai pat laikā, konstatēta rezistence pret 20 citām antibiotikām. Interesanti, ka mūsu MRSA (ar vidēju jutību pret vankomicīnu) izolātiem, tāpat kā pētījumā (Bhattacharyya et al., 2016) no kazu un aitu piena izolētajiem MRSA vankomicīna rezistentajiem izolātiem, piemīt ļoti variabla antimikrobiālā rezistence. Mūsu MRSA izolātiem esam konstatējuši antimikrobiālo rezistenci gan pret vienu antibiotiku (penicilīns), gan līdz pat deviņām antibiotikām vienlaicīgi (penicilīns, amoksicilīns un klavulānskābe, cefaleksīns, tetraciklīns, klindamicīns, eritromicīns, gentamicīns, trimetoprim-sulfonamīdi un meropenem), savukārt citi pētnieki (Bhattacharyya et al., 2016) rezistenci konstatē vienlaicīgi pret divām (co-trimaxazole un piperacillin ar tazobaktāmu vai ceftriaksons ar klindamicīnu) līdz pat astoņām antibiotikām (amikacīns, amoksicilīns un klavulānskābe, ceftriaksons, ciprofloxacīns, polimiksīns B, piperacillin ar tazobaktāmu, tetraciklīns). Indijas MRSA vankomicīna rezistentajiem izolātiem, atšķirībā no mūsu MRSA vankomicīna vidēji jutīgajiem izolātiem, ir raksturīgi t527, t267, t362 un 2800 *spa* tipi. Tāpat rezistence pret vankomicīnu konstatēta MRSA ST9 sekvoences izolātiem, kas iegūti no nokautajām cūkām Ķīnā (Kwok et al., 2013). Interesanti, ka mūsu pētījumā vankomicīna vidēji jutīgajiem MRSA izolātiem konstatēta tās pašas sekvoences, kas iepriekš minētajos pētījumos (ST398 un ST9) un vēl papildus arī ST528 sekvence. Neapšaubāmi baktērijas šūnas sieniņas uzbiezināšanās kalpo par galveno rādītāju, kas liecina par baktērijas rezistences palielināšanos pret vankomicīnu. Nereti vēl pat pirms *vanA* gēna, kurš nosaka rezistenci pret vankomicīnu, noteikšanas/klātbūtnes MRSA genomā, uzbiezinās baktērijas šūnas sieniņa, kas ir viens no rezistences mehānismiem pret šo baktēriju (Howden et al., 2010). Kā zināms, pret antibiotikām vidēji jutīgi mikroorganismi grūti pakļaujas ārstēšanai (EUCAST, 2013), arī Kwok norāda (Kwok et al., 2013)

savā pētījumā, ka LA-MRSA var praksē uzrādīt samazinātu jutību pret vankomicīnu un ietekmēt ārstēšanas rezultātus. Tā kā vēl joprojām nav noteikti vienoti ģenētiskie markieri zemas vankomicīna rezistences MRSA, ir apgrūtināta vankomicīna vidēji jutīgo MRSA noteikšana (Kwok et al., 2013). LA-MRSA vankomicīna rezistencei zinātnieku vidū pastāv divas teorijas. Tieks skaidrots (Bhattacharyya et al., 2016), ka šie izolāti dzīvnieku vidū ir cilvēku izcelsmes (iespējama augsns fekālā kontaminācija) vai arī vankomicīna rezistence veidojas LA-MRSA lauksaimniecības dzīvniekiem, nepārtraukti dodot antibiotikas.

Enterotoksīnu kodējošo gēnu sastopamība MRSA

Staphylococcus aureus producē dažādus eksoproteīnus, kas palielina tā spēju kolonizēt zīldītājus un veicina dzīvnieku saslimšanu. Visiem stafilocoku enetrotoksīniem piemīt tādas īpašības, kā spēja izraisīt vemšanu un gastroenterītu primātu modelī, superantigēnisms un vidēja izturība pret karsēšanu un fermenta pepsīna ietekmi (Dinges et al., 2000).

Daudzi pārtikas produkti var būt piemērota vide *S. aureus* augšanai un līdz ar to var būt par cēloni pārtikas toksikoinfekcijai. Galvenais kontaminācijas avots ir cilvēki (pārtikas industrijā iesaistītie darbinieki baktēriju iegūst tieša kontakta vai respiratorā ceļā – šķaudot, klepojot), kas var kontaminēt jau gatavu pārtikas produktu pēc apstrādes augstās temperatūrās. Savukārt termiski neapstrādāta pārtikas produkta, it īpaši galas kontaminācija, ir sastopama visbiežāk, un tās galvenie avoti ir MRSA kolonizēti vai inficēti dzīvnieki (le Loir et al., 2003).

Līdzīgi Ķīnā veiktajam pētījumam (Chao et al., 2015), kur 54.4% *S. aureus* izolātu satur enterotoksīnus kodējošos gēnus (EG), mūsu pētījumā 53.5% no visiem MRSA satur EG. Nemot vērā faktu, ka genotipiskā analīze mūsu pētījumā ir veikta tikai MRSA, iespējams, EG sastopamības rezultāti, analizējot arī *S. aureus* izolātus, būtu krietiņi lielāki.

Literatūrā minēti vairāk nekā 20 dažādi stafilocoku enterotoksīni (SEA līdz SEI, SER līdz SET un SEW līdz SET) un SE līdzīgie proteīni (SE/J līdz SE/Q, SE/U, SE/U2 un SE/V). Biežāk sastopamie SE ir SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEF, SEG, SEH un SEI (Argudin et al., 2010).

Mēs pētījuma laikā enterotoksīnu kodējošos gēnus no cūkkopības saimniecībām un kautuvēm izolētajiem MRSA konstatējam dažādās attiecībās - *sea* (48.4%), *seh* (9.7%), *sec* (5.9%) un *seb* (2.4%). Salīdzinot, Ķīnā (Chao et al., 2015) cūkām un citiem dzīvniekiem *sec* gēns nav konstatēts, bet *seh* gēns konstatēts tikai vistām un pīlēm (1.13% abām sugām), turpretī mēs MRSA cūku izcelsmes izolātiem atradām *sec* gēnu 7.3% un *seh* gēnu - 10.8% gadījumu. Literatūrā *sea* gēns tiek minēts kā viens no biežāk sastopamajiem SE kodējošie gēniem, kas konstatēts stafilocoku izolātiem, kas saistīti ar pārtikas toksikoinfekcijām (Argudin et al., 2010).

Analizējot pētījumā enerotoksīnu kodējošo gēnu sastopamību saimniecībās, konstatēts, ka pretēji MRSA sastopamībai, kas palielinās pieaugot saimniecības lielumam un cūku blīvumam, kopumā visu testēto enterotoksīnu lielāka sastopamība MRSA pozitīvajām cūkām ir novērota tieši mazajās saimniecībās (skat. 16. att.).

Kas attiecās uz *sea* gēnu, tad to mazajā saimniecībā konstatē visām MRSA pozitīvajām cūkām, bet lielajā - 50.0% dzīvnieku. Pie tam, enterotoksīnus kodējošā gēna *sea* sastopamība variē no 30.0% nobarojamo cūku vidū līdz 60.9% 4-4.5 mēnešu vecu cūku vidū. Arī mazjaudas kautuvē pētāmais EG ir konstatēts visām MRSA pozitīvajām cūkām, bet 41.9% - lieljaudas kautuvē. Tādējādi pētījumā konstatētā *sea* gēna klātbūtnē norāda uz cūkkopības industriju kā būtisku pārtikas toksikoinfekciju avotu (Argudin et al., 2010).



16. att. *sea*, *sec*, *seh* gēnu un MRSA sastopamība saimniecībās un kautuvēs/
Fig. 16. The occurrence of *sea*, *sec*, *seh* and MRSA in farms and slaughterhouses

SEA ir bijis arī viens no visbiežāk konstatētajiem enterotoksīniem toksikoinfekciju uzliesmojumā Francijā (69.7% gadījumu) dažāda veida pārtikā laika posmā no 1981. gada līdz 2002. gadam (Kerouanton, 2007), kā arī uzliesmojumos Austrijā, ASV (Schmid et al., 2007), Brazīlijā (Veras et al., 2008), Taivānā (laika periodā no 2001. gada līdz 2003. gadam). Korejā pat *sea* gēns konstatēts 90.0% no MRSA pārtikas izcelsmes izolātiem (Chiang et al., 2008), Itālijā MRSA izolātiem no sieriem 42.8% gadījumu konstatēts *sea* gēns un 42.8% gadījumu - *sec* gēns (Basanisi et al., 2016).

Kas attiecās uz cūku audzēšanas industriju iesaistītiem darbiniekiem, tad autoru (Mutters et al., 2014) veiktajā pētījumā tikai 3.0% cūkām un 6.3% darbiniekiem MRSA izolātos konstatēta *sea* gēna klātbūtnē, kamēr mūsu pētījumā *sea* gēns tika konstatēts 50.4% izmeklēto cūku un 66.7% - darbiniekiem.

Augsts *sea* gēnu sastopamības rādītājs konstatēts arī Vācijā slimīcu pacientiem, tomēr no cūkām iegūtajos paraugos - tikai 3%, bet personu, kam

profesionālā joma saistīta ar cūku industriju un ir ciešā kontaktā ar cūkām, izolātos - 6.3% (2 no 32) (Mutters et al., 2016). Mūsu pētījumā *sea* gēns ir konstatēts 5 no 7 MRSA pozitīvo darbinieku izolātiem. Savukārt citu valstu dati uzrāda augstāku *sea* gēna sastopamību MRSA izolātu vidū – 33.0% Ķīnā (Wang et al., 2013), 17.5% - Malaizijā (Kim et al., 2006), 27.0% - Korejā (Peck et al., 2009), 12.0% - Čehijā (Sila et al., 2009) un 30.0% - Turcijā (Demir et al., 2011).

Pretēji citu autoru atradēm (Holtfreter et al., 2007; Varshney et al., 2009; Chao et al., 2015), kur lielākoties ir multipla EG klātbūtne apmēram 80.0% MRSA izolātu, mūsu pētījumā tikai 22.2% no visiem MRSA satur divus un vairāk EG (biežāk *sea* un *seh* gēnus).

Pretēji apgalvojumam (Pinchuk et al., 2010), ka *sec* gēns ir visbiežāk konstatētais enterotoksīnu gēns MRSA dzīvnieku izcelsmes izolātos, mēs atradām *sec* gēnu 5.9% no visiem testētajiem MRSA izolātiem un 7.2% - MRSA pozitīvo cūku.

Mūsu pētījuma rezultāti atšķiras no citiem pētījumiem (Smyth et al., 2005; Monecke et al., 2007; Ikawaty et al., 2010), kur MRSA nav sastopams dzīvnieku izcelsmes LA-MRSA izolātos (no govīm), bet savukārt augsti sastopamības rādītāji ir konstatēti *sec* gēnam – no 30% līdz 100% govju. Citi zinātnieki (Hallin et al., 2011; Huber et al., 2011) savos pētījumos nav konstatējuši *sec* gēna klātbūtni MRSA cūku un govju izolātos. Ķīnas zinātnieki (Chao et al., 2015) - 10.7% un citi - 5.9% MRSA cūku izolātos konstatējuši *sea* gēnu (Huber et al., 2010), vai to nav konstatējuši nemaz (Wendlandt et al., 2013b).

Mūsu pētījumā kopumā enterotoksīnu gēnu sastopamība variē no nulles līdz pat 100.0%. Novērots, ka *sea* gēna sastopamība dažādu MRSA *spa* tipu vidū variē, t.i., no 42.9% (*spa* tips t1174) līdz pat 100.0% (*spa* tips t127, t899, t1255, t2421, t2451 un jaunais A); bet *sec* gēna sastopamība variē no 8.3% (*spa* tips t337) līdz 50.0% (*spa* tipi t33127 un t400). Savukārt *seh* gēna sastopamība variē no 25.0% (*spa* tips t337) līdz 100% (*spa* tipi t127 un t2451). Interesanti, ka visiem MRSA *spa* tipa t127 izolātiem ir konstatēts enterotoksīnus kodējošais gēns *seb*.

MRSA *spa* tipu izolātiem t1580, t2383 un t1580, kas tika konstatēti cūkkopības saimniecībās, un izolātiem t318, t1250, t421, kas tika iegūti no kautuvēm, genomā nav konstatēta entertoksīnus kodējošo gēnu klātbūtne. Neskatoties uz to, ka MRSA *spa* tipa t899 visiem izolātiem ir novērota *sea* gēna klātbūtne, minētā tipa izolātiem tomēr konstatēta viszemākā antimikrobiālā rezistence, t.i., stafilocoka izolāti ir rezistenti tikai pret penicilīnu un tetraciklīnu, kamēr citi MRSA *spa* tipu izolāti vienlaicīgi ir rezistenti pret vismaz astoņu veidu antibiotikām. MRSA *spa* tipu t1744 un t1333 izolāti, kam novēro augstu antimikrobiālo rezistenci pret trimetoprim-sulfonamīdiem, gentamicīnu, klindamicīnu un eritromicīnu, vienlaicīgi satur *sea*, *sec* un *seh* gēnus, bet *spa* tips t127, kam piemita zema antimikrobiālā rezistence, neuzrāda rezistenzi pret meropenem, amoksicilīnu un klavulānskābi, ciprofloxacinu,

trimetoprimsfonamīdiem, klindamicīnu, gentamicīnu un eritromicīnu, tomēr satur ne tikai *sea*, *sec* un *seh* gēnus, bet arī *seb* gēnu.

Ari Ķīnas zinātnieki (Chao et al., 2015) konstatējuši, ka pat viena MRSA *spa* tipa ietvaros atšķiras virulences gēni, piemēram, MRSA *spa* tipa t127 izolāti satur *sea*, *seb* un *seh* gēnus, kas ir novērojams arī mūsu pētījumā. Pretēji Ķīnas zinātnieku konstatējumam (Chao et al., 2015), mēs parādījām, ka MRSA *spa* tipu t011 un t899 izolāti satur arī *sec* gēnu.

Līdzīgi kā Vācijas zinātnieki (Becker et al., 2017), arī mēs konstatējām, ka MRSA *spa* tipa t127 izolātiem (izolātam no kautuves F grīdas virsmas un izolātam no liemeņa) atrodams *sea* gēns, savukārt MRSA *spa* tipa t011 izolātiem (tos konstatējām visās vidēs kautuvēs un saimniecībās) *sec* gēna klātbūtnes nav.

Pētījumā cūku liemeņos un darbiniekos visbiežāk tika konstatēts enterotoksīns (ET) kodējošais gēns *sea*, savukārt sivēnmāšu pienā – *sec* (skat. 5. tab.). Vides paraugos konstatēts MRSA, kura genomā atrodami gan *sea*, gan *sec*, gan *seh* ET kodējošie gēni. Tāpat liemeņos atrodami arī MRSA, kuru genomā ir pārējie testētie ET gēni – *seb*, *seh* un *sec*, kas liecina par liemeņu kontamināciju apstrādes procesā un iespējamo risku patērētājiem.

5. tabula/ *Table 5*

MRSA enterotoksīnu kodējošie gēni liemeņu, vides, sivēnmāšu piena un darbinieku izolātos/
MRSA enterotoxin-encoding genes in carcass, environment, sow milk and workers

Paraugu ieguvēs avots/ <i>Source of samples</i>	Izmeklēto MRSA pozitīvo skaits (n)/ <i>Number of positive MRSA (n)</i>	Konstatēts <i>sea</i> / <i>Detected sea</i>	Konstatēts <i>seb</i> / <i>Detected seb</i>	Konstatēts <i>seh</i> / <i>Detected seh</i>	Konstatēts <i>sec</i> / <i>Detected sec</i>
Liemeņi/ <i>Carcasses</i>	7 (105)	4 (57.1%)	1 (14.3%)	1 (14.3%)	1 (14.3%)
Vide/ <i>Environment</i>	1 (46)	1 (100.0%)	1 (100.0%)	1 (100%)	0
Sivēnmāšu piens/ <i>Sows milk</i>	3 (69)	1 (33.3%)		0	2 (66.7%)
Darbinieki/ <i>Workers</i>	6 (34)	4 (66.7%)		1 (16.7%)	0

Izvērtējot ET kodējošo gēnu klātbūtni MRSA genomā, konstatējām, ka *sea* gēns lielākoties sastopams izolātos viens pats (70.4% no visiem MRSA izolātiem, kuriem konstatēti ET kodējošie gēni) vai kopā ar *seh* gēnu (14.8%); *seh* gēnam ir tendence izolātos būt kopā ar citiem ET kodējošiem gēniem – *sea* un *seb*; bet gēns *sec* izolātos sastopams gan viens pats, gan kopā ar *sea* gēnu (skat. 6. tab.).

Arī citi autori ir konstatējuši faktu, ka dažādu vēl līdz šim nezināmu iemeslu dēļ stafilocoku enterotoksīnu kodējošie gēni vienas izcelsmes kliniskajiem stafilocoku izolātiem ir ļoti atšķirīgi un būtiski variē atkarībā no stafilocoka genotipa (Honeyman et al., 2006)). MRSA izolāti, kuri vienlaicīgi satur vairākus enterotoksīnu kodējošos gēnus, spēj izraisīt komplikētākas saslimšanas un radīt

6. tabula/ *Table 6*
Enterotoksīnu kodējošo gēnu sastopamība un kombinācija/
The occurrence and combination of enterotoxin encoding genes

ET gēnu kombinācijas/ <i>Combination of ET gene</i>	ET pozitīvie MRSA/ <i>ET positive MRSA</i> n=83	%
sea	57	70.4
sec	5	6.2
seh	1	1.2
sea, sec	4	4.9
sea, seh	12	14.8
sea, seb, seh	1	1.2
sea, seb, sec, seh	1	1.2

Tāpat vēl aizvien nav pierādīts, ka pastāv izteikta korelācija starp *S. aureus* antimikrobiālo rezistenci un enteropatogenitāti (spēja producēt enterotoksīnus), proti nav pierādījumu, ka atšķiras enteropatogenitāte starp meticilīnsensitīvo *S. aureus* un MRSA (Ortega et al., 2010), tomēr mūsu pētījumā konstatējām, ka nebūt ne tie MRSA izolāti, kas uzrāda rezistenci pret lielāku skaitu antibiotiku, satur arī vairākus enterotoksīnu kodējošos gēnus.

SECINĀJUMI

1. Pētījumā iekļautajās novietnēs vidēji 19.7% cūku ir MRSA pozitīvas, taču saimniecībās ar lielu dzīvnieku skaitu MRSA konstatējams biežāk (vidēji 44.2% dzīvniekiem). Rezistentais stafilocoks biežāk ir konstatējams 3 līdz 4.5 mēnešus veciem sivēniem (31.9%), kā arī sivēnmāšu pienā (4.3% paraugos). Saimniecību ietvaros konstatēta identisku MRSA *spa* tipu (t011, t400) sastopamība vienlaicīgi gan sivēnmātēm, sivēnmāšu pienā, gan zīdējsivēniem, kas liecina par MRSA pārnesi jau agrīnā vecumā. Tādējādi noteikts dzīvnieku vecuma posms nav MRSA sastopamību noteicošs faktors.
2. Pētījumā iekļautajās kautuvēs vidēji 51.0% cūku ir MRSA pozitīvas. Lielāka kautuves jauda uzrāda tendenci arī palielinātai MRSA sastopamībai (lieljaudas kautuvēs MRSA konstatēts vidēji 88.6%, bet mazjaudas – 8.0% dzīvniekiem).
3. Kautuvēs izmantotā atsarošanas metode var ietekmēt MRSA nokļūšanu liemeņos. Izmantojot plaucēšanas un svilināšanas metodi, MRSA pozitīvi vidēji ir attiecīgi 8.9% un 2.9% cūku liemeņu. Pētījumā iekļautajās kautuvēs konstatēta identisku MRSA *spa* tipu (t1333 un t127) klātbūtne gan cūkās, gan liemeņos un vidē, tādējādi norādot uz liemeņu kontaminācijas pārnesi no MRSA pozitīvām cūkām un vides.
4. Lai arī kautuvju darbiniekiem pastāv augstāka iespējamība (MRSA pozitīvi 21.1% cilvēku un 8.3% vides paraugu) inficēties ar MRSA nekā cūku novietņu personālam (MRSA pozitīvi 13.3% cilvēku un negatīvi vides paraugi), tomēr pētījumā (gan saimniecībās, gan kautuvēs) iegūtajiem humānās un cūku izcelsmes MRSA tika konstatēts atšķirīgs genoms, līdz ar to nepierādās endēmiska cūku izcelsmes MRSA nēsāšana cūkkopības industrijā nodarbinātajam personālam.
5. Saimniecībās cūkām MRSA biežāk konstatē nazālajos (vidēji 8.2% dzīvniekiem), taču kautuvēs – rektālajos (19% dzīvniekiem) paraugos, tādējādi, tradicionāli kautuvēs iegūstot tikai nazālos paraugus, samazinās MRSA diagnostēšanas iespējas.
6. Pētījumā HA-MRSA izolāti uzrādīja augstāku rezistenci pret penicilīnu (100.0%), cefaleksīnu (50.0%) un meropenem (16.7%) nekā LA-MRSA izolāti (penicilīna rezistence - 98.8%, cefaleksīns - 38.8%, meropenem - 7.5%), turpretim LA-MRSA bija augstāka rezistence pret tetraciklīnu (92.5%) un trimetoprima-sulfonamīdiem (23.0%) nekā HA-MRSA (rezistence pret tetraciklīnu 83.3%, trimetoprima-sulfonamīdi 20.1%). Augstā MRSA-Tet rezistence cūkām saimniecībās rāda, ka tas nākotnē varētu klūt par izplatītāko HA-MRSA tipu mūsu reģionā.
7. Kautuvju MRSA izolātiem lielāku rezistenci konstatējām pret eritromicīnu (67.4%), klindamicīnu (64.4%), gentamicīnu (53.1%) un trimetoprim-

sulfonamīdiem (38.8%), norādot, ka arī šajā cūkkopības industrijas posmā sastopamais rezistentais stafilocoks var radīt potenciālu apdraudējumu patēriņtāju veselībai.

8. MRSA visbiežāk sastopamajiem *spa* tipiem (t011, t1333, t337, t1985, t808, t400) novēro zemāku antimikrobiālo rezistenci nekā retāk konstatētajiem *spa* tipiem, turklāt MRSA *spa* tipam t011 (7.9%) konstatēta vidēja jutība pret vankomicīnu (kopumā 19.8% MRSA izolātukonstatēta vidēja jutība pret vankomicīnu), kas norāda uz visaugstāko tendenci *spa* tipam t011 kļūt rezistentam pret vankomicīnu un apgrūtinātu ārstniecību cilvēkiem un dzīvniekiem nākotnē.
9. Eiropai raksturīgais LA-MRSA klons ST398 ir endēmiski konstatējams Latvijā cūkkopības saimniecībās, bet Āzijas valstīm raksturīgais ST9 – kautuvēs. Kautuvēs ir lielāka MRSA *spa* tipu dažādība (n= 18) nekā saimniecībās (n=12), tādējādi kautuves varētu kalpot kā vide MRSA pārnesei un izmaiņu veicināšanai genomā. Saimniecībās sastopamākie MRSA *spa* tipi ir t808, t1985 un t400, bet kautuvēs - t337, t11744 un t318.
10. Pētījumā nekonstatējām saistību starp MRSA AMR un enterotoksīnu kodējošo gēnu klātbūtni stafilocoka genomā. MRSA vidēji 53.5% gadījumos satur enterotoksīnu gēnus - biļežāk *sea* (48.8%) un retāk *seh* (9.7%), *sec* (5.9%) un *seb* (2.4%). Novērojām, ka, samazinoties cūku saimniecību lielumam, palielinās enterotoksīnu saturošo MRSA daudzums. MRSA *spa* tipiem t1333 un t127 konstatēta visu testēto enterotoksīnu kodējošo gēnu (*sea*, *seb*, *sec*, *seh*) klātbūtne genomā, kā arī visi šie enterotoksīnius kodējošie gēni konstatēti MRSA izolātos no liemeņiem, tādējādi norādot, ka liemeņi var būt toksikoinfekcijas avots patēriņtajam.

PRIEKŠLIKUMI

1. Nemot vērā to, ka *S. aureus* un MRSA sastopamību veicina cūku pārgrupēšana un kontakts ar cūkām no citiem ganāmpulkiem, ieteicams cūku novietnēs pēc iespējas samazināt cūku pārgrupēšanu dažādās grupās, kā arī cūku kontaktēšanās iespējas kautuvēs no dažādām novietnēm. Tāpat būtiski ir nodrošināt mītnu, transperta un aizgaldu (it īpaši kautuvēs, kur ir liela dzīvnieku mainība un koncentrācija) efektīvu tīrīšanu un dezinfekciju, lai pēc iespējas samazinātu MRSA pārnešanu no apkārtējās vides uz dzīvniekiem, darbiniekiem un liemeņiem.
2. Veikt regulāru un biežu plaucēšanas vannu ūdens nomaiņu, lai samazinātu liemeņu kontaminācijas risku ar *S. aureus* un MRSA.
3. Lai nodrošinātu efektīvāku *S. aureus* un MRSA diagnostikas iespējas, ieteicams no viena dzīvnieka iegūt mikrobioloģiskos paraugus no vairākām orgānu (gan elpošanas, gan gremošanas) sistēmām.
4. Pēc iespējas samazināt cūkkopības industrijā iesaistītā personāla tuva kontakta laiku ar cūkām gan saimniecībās, gan kautuvēs. Tā kā MRSA ir sastopams elpošanas sistēmā, ieteicams lietot respiratorās maskas.
5. Profilaktiskos nolūkos, it īpaši sivēnmāšu mastītu gadījumos, kā arī gadījumos, kad novēro masveida purulentus patoloģiskos procesus cūkām un vienlaicīgi šo slimu dzīvnieku palielinātu mirstību, ieteicams noņemt un izmeklēt mikrobioloģiskos paraugus uz MRSA.

INTRODUCTION

Topicality of the work

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) is an important initiator of food toxicoinfections, pneumonia, wound infections and hospital-acquired infections that often pass into septicemia (Graveland et al., 2011). It is able to genetically alter its cellular protein, making microorganisms susceptible to antibiotic exposure (Bocher, 2008). Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) is one of the most common highly pathogenic microorganisms that acquired resistance to β-lactam antibiotics due to the *mecA* gene. MRSA has been found to be multidrug resistant and has resistance to cephalosporins, tetracyclines, aminoglycosides, macrolides, chloramphenicol and fluoroquinolones (Lee, 2003) as well as vancomycin (Tenover, Goering, 2009), one of the most effective and frequently used antibiotics for the treatment of MRSA infections (Boucher et al., 2010), thus creating problem situations in the treatment of disease (both in veterinary medicine and in human medicine) (Otter, French, 2010).

MRSA produces enterotoxins (SE) that causes toxicoinfections usually with nausea, vomiting, abdominal cramps and diarrhea (Nitzsche et al., 2007; Argudin et al., 2010; Chao et al., 2015). SEA, SEB, SEC and SEH have emetic effect (Argudin et al., 2010). SEA mostly is found in cases of toxicoinfections, while SEC most often is detected in MRSA from animal isolates, but SEB has even been studied as a "biological weapon" (Pinchuk et al., 2010). SEH is one of the toxins found in the last five years and its research is still ongoing.

MRSA is found in both farm animals and pets and exotic animals, but most often in pigs (Graveland et al., 2011; Cunny et al., 2013). MRSA poses a potential risk of infection in the pig industry (Wulf et al., 2008; Wettstein Rosenkranz et al., 2014). During the slaughter and carcass processing MRSA can be transferred from colonized pigs to carcasses, environment and workers. Conversely, if carcasses and meat are contaminated with MRSA, the microbe may enter the food chain further (Kluytmans et al., 2010).

In studies of different European countries, the occurrence of MRSA in pig holdings varies from 0.0% to 51.2% (EFSA, 2009). Studies have shown that MRSA is widely found in the pig industry - both for animals and for the employees working in pig industry, but there are no data available on the situation in Latvia concerning the pathogenicity of MRSA and its genotypic characteristics, the occurrence of MRSA in different body systems, as well as the relationship between the *spa* types of MRSA isolates and their antimicrobial resistance, and the presence of staphylococcal enterotoxins in the genome.

Hypothesis of the study

The prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and variability in genome could vary depending on the labour intensity and production capacity of the slaughterhouse and farm, and the presence of enterotoxin coding genes in the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genome could indicate a higher antimicrobial resistance.

Research thesis

The hypotheses of the doctoral thesis must be proved by the following theses.

1. The main factor influencing occurrence of MRSA in the herd is the age of the pigs, as well as the transfer of resistant staphylococci may occur from suckling sows to MRSA positive lactating sows, from MRSA positive slaughter pigs to carcasses, as well as from pigs to the staff involved in pig industry.
2. Slaughterhouses have a higher occurrence of MRSA and genome diversity than pig farms
3. In farms and slaughterhouses with high production capacity the occurrence of MRSA is higher as in farms and slaughterhouses with low production capacity.
4. MRSA is most common detected in pigs respiratory system.
5. There is no correlation between the antimicrobial resistance of MRSA, the type of *spa* and the presence of genes encoding enterotoxin in the genome.
6. Less common MRSA *spa* types have lower antimicrobial resistance.

The aim of the research

The aim of the study is to investigate the occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the pig-breeding industry - the domestic pig population, the environment, people working in the industry, and to identify isolated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* antimicrobial resistance and genotype.

The objectives of the doctoral thesis

In order to achieve this goal, the following research tasks have been set.

1. identify the occurrence of MRSA:
 - 1.1. in farms of different age groups of pigs;
 - 1.2. in slaughterhouses for pigs and their carcasses depending on dehairing method;
 - 1.3. in the environment of herds and slaughterhouses.

2. identify the occurrence of MRSA among workers employed in porc production industry (farms, slaughterhouses).
3. asses the diagnostic effectivness depending from sample type (nazal, rectal, milk).
4. assess the resistance of MRSA isolates to other group antibiotics and compare isolated MRSA in AMR farms and slaughterhouses.
5. evaluate the genotype of isolated MRSA and compare between herds and slaughterhouses.
 - 5.1. determine the *spa* type of isolated MRSA.
 - 5.2. determine the enterotoxin encoding genes in the genome of isolated MRSA.
6. asses wether is there a relationship between *spa* types and eneterotoxin encoding genes in genome of isolated MRSA.
7. determine wether workers employed in pig production industry are carriers of MRSA from pig origin.

Scientific novelty of the research

1. For the first time in Latvia, MRSA isolation and assessment of incidence in pig farms and slaughterhouses, as well as in their environment and in the pig industry were performed. Compared to studies in other European countries (40.0% of pigs in the Netherlands (de Neeling et al., 2007; van Duijkeren et al., 2008), Germany - 50.0% (Mutters et al., 2016), Italy - 39.8% - 83.7% (EFSA, 2009; Batisti et al., 2010), Belgium - 40.0% - 84.0% (Pletnickx et al., 2013; Peeters et al., 2015)) in Latvia a medium high MRSA occurence (on farms - 19.7 % of pigs in slaughterhouses - 51.0%) was detected.
2. For the first time in Latvia, antimicrobial resistance detection, genotypic evaluation and detection of staphylococcal enterotoxins of MRSA isolates from the pig industry were performed. Similarly, studies by other authors have shown that one MRSA observes different antimicrobial resistance within the *spa* type, however, contrary to studies by other authors, which indicate that MRSA belonging to the ST398 sequence type is mostly found in Europe, we found MRSA belonging to ST9. According to other authors, it is characteristic of the Asian region.
3. For the first time, the relationship between MRSA *spa* type, antimicrobial resistance and the presence of enterotoxin genes was assessed and there was find no binding tendency for MRSA antimicrobial resistance and enterotoxin-encoding genes, but marked diversity in AMR and enterotoxin-encoding genes within one MRSA *spa* type.
4. For the first time in Latvia, the effectiveness of MRSA diagnostics for pigs has been evaluated depending on the type of sample. Given that there is currently little / no research available on the potential for MRSA isolation in animals in the world,

depending on the type of sample, especially on the presence of MRSA in samples of sows milk, research in this area provides additional information on diagnostic capabilities of MRSA.

Personal contribution

1. Compilation and analysis of literature.
2. Planning of work progress and methodology.
3. Survey of farms and slaughterhouses involved in the study, evaluation of their activities and conditions.
4. Gathering of the samples.
5. Survey of staff working on farms and slaughterhouses.
6. Microbiological examination of the obtained samples and determination of antimicrobial resistance.
7. Statistical processing and analysis of the data obtained.

Structure and volume of doctoral thesis

The doctoral thesis is summarized on 151 pages including 51 figures and 35 tables. It consists of annotation, introduction, literature review, material and methods, research results, discussion, 12 conclusions, thesis for defense, recommendations for practice, list of references (277 sources of literature) and 4 appendices.

MATERIAL AND METHODS

Location and time of the research

The study has been performed from 2013 to 2017 at the Latvia University of Life Sciences and Technologies Faculty of Veterinary Medicine Microbiological Laboratory of Institute of Food and Environmental Hygiene and Biotechnology Scientific Laboratory, as well as at the Riga Stradiņš University Institute of Oncology.

Samples were obtained from 3 farms of different sizes and 4 different capacity slaughterhouses in different regions of Latvia (see Fig.1). 405 pigs, farm and slaughterhouse environment and workers were surveyed (see Fig.2 for sample distribution).

Sampling and workflow patterns are shown in the Scheme of the study (see Fig. 3).

Samples from transport media or petri dishes (ambient air samples obtained by the Koch sedimentation method) were taken from the microbiological examination on Baird-Parker agar. The most characteristic colonies were colored by Gram, microscoped. Mannitol salt agar (MSA), plasma coagulation test, selective medium for *S. aureus* CHROMagar Staph aureus, selective medium for MRSA CHROMagar MRSA were used for further isolation and confirmation of isolates.

Using molecular biology techniques, DNA isolation, detection of MRSA (confirmation by *mecA* gene), detection of enterotoxin-encoding genes, typing of MRSA isolates by the *spa* gene and by MLST were performed.

PCR-approved MRSA isolates were tested for antimicrobial resistance against 12 antibiotics - penicillin, amoxicillin, clavulanic acid, cefalexin, ciprofloxacin, tetracycline, clindamycin, erythromycin, gentamicin, meropenem, oxacillin, trimethoprim-sulfonamides, and vancomycin using Kirby Bauer Disc Diffusion method.

Statistical processing of the data was performed using SPSS 16 program (SPSS, INC., Chicago, IL, USA). There were used a contingency analysis and a χ^2 test to determine differences in staphylococcal occurrence between pigs in farms and slaughterhouses. Differences were assessed as significant if value of p was <0.05 . We used the V-coefficient of the Cramer, ranging from 0 to 1, for the determination of the characteristics of the tightness. As the value is closer to 1, as there was a closer link between the signs, or the distribution of microorganisms differs significantly between different farms / slaughterhouses. Using the Bayesian theorem, the results of the work on staphylococcal diagnostics in pigs were shown to be dependent on the type of sample investigated.

RESULTS OF THE RESEARCH AND DISCUSSION

The occurrence of MRSA in pigs on farms

S. aureus is one of the most important source of food toxicoinfections, pneumonia, wound infections and nosocomial infections (Tiemersma et al., 2004). Among all farm animals, it has been found that pigs are a potential source of MRSA infection in people who are in frequent contact with these MRSA colonized animals, particularly in the pig farming sector - sheds and slaughterhouses and veterinarians (Huijsdens et al., 2006; Voss et al., 2005; Wulf et al., 2006). A study conducted in the Netherlands found that 40.0% of pigs were carrying MRSA CC398 (MRSA found in the nostrils) (de Neeling et al., 2007; van Duijkeren et al., 2008). Similar reports have been reported in other countries - Belgium (Denis et al., 2009), Denmark (Guardbasssi et al., 2009), Germany (Witte et al., 2007), USA (Smith et al., 2009), and Singapore (Sergio et al., 2007).

Studies have shown that MRSA is relatively common among pigs, with an increase in occurrence. In Germany, in 2015, MRSA was positive for 40.0% of pigs tested (Idelevich et al., 2015), and in 2016 - 50.3% (Mutters et al., 2016). The average occurrence of MRSA in the small (farm A) and medium-sized farm (B) included in our study is 4.2% and 9.5%, respectively (see Fig.4), which is lower than that reported in other countries. For example, the prevalence of MRSA in pig herds varies from 39.8% to 83.7% in Italy (EFSA, 2009; Batisti et al., 2010) and in Belgium from 40.0% to 84.0% (Pletnickx et al., 2013; Peeters et al., 2015). Of course, as other scientists have pointed out, the occurrence of resistant staphylococci depends from **the size of the farm** and housing (Batisti et al., 2010), the type of farm and the purchase of pigs from other farms, and the higher occurrence is observed in larger farms (Crombe et al. , 2012), which also coincides with our results, because on a farm with a small number of animals, the occurrence of MRSA is on average 4.2% in animals, while on C, with the highest number of animals, the occurrence of MRSA in pigs is already 44.2%.

Compared to studies carried out in other countries, MRSA has been found in all pig farms included in our study, while in other cases only half of the farms, i.e. 52.0% in Germany and 56.0% in the Netherlands (Alt et al., 2011). Meanwhile, in Italy (Batisti et al., 2010), MRSA was found in 38.1% of pigs tested, but in China only 3.3% of pigs tested (Guo et al., 2018).

The results of our study allow us to compare the presence of *S. aureus* and MRSA in pig farms. We find that the higher occurrence and lower proportionality between these staphylococci is observed in farms with higher animal density and higher number of animals. On the farm A (with the smallest number of animals), the occurrence of MRSA in pigs is on average 26% lower than that of *S. aureus*, while on farm C (with the highest number of animals), 21% less than *S. aureus*. In general, we also observe a relationship: as the more intensive porc industry became and the

higher the density of pigs and the number of animals in the shed is, as the more frequent also is MRSA.

The higher occurrence of MRSA in large farms could be explained by the higher number of MRSA colonized workers, as well as other vectors - rodents and insects, with nearby farm / room air flowing out of ventilation systems outside (Alt et al., 2011; Friese et al., 2012; Shulz et al., 2012). It is known that MRSA spreads through animals through direct contact with the swine herd, while the dust and contaminated surfaces of the barn serve as an essential reservoir for MRSA (Broens et al., 2011a).

There are still relatively few long-term studies of the dynamics of MRSA in pigs, and most of these studies have been conducted to determine the presence of MRSA in pigs until slaughter age (Broens et al., 2011a, Burns et al., 2014, Verhegghen et al., 2013) or even for a shorter period of time, ie up to 70 days of age (Weese et al., 2011). In addition, these studies do not reflect the results of individual animals (Bangerter et al., 2016), whereas studies by other authors (Burns et al., 2014; Weese et al., 2011) have been conducted on only one holding but Broens (Broens et al., 2011)) in his research gathered microbiological samples from the pigs before and after transport to the slaughterhouse.

In our study, the occurrence of *S. aureus* and MRSA in animal **age groups** varies. On average, the highest incidence of *S. aureus* was found in piglets between 4 to 4.5 months old (on average 52.8% in animals) and lowest in piglets to weaning (on average 33.3%) (see Fig. 5). A total of 39.3% of the animals showed the presence of *S. aureus*.

We observed the highest occurrence of MRSA in pigs not only in 4-4.5 months (on average 31.9% in animals), but also in 3-3.5 months old pigs (on average 26.6% in animals). Burns with co-authors (Burns et al., 2014) has stated in his study that the highest occurrence of MRSA is observed in piglets 2 days after weaning, but reduced - before weaning. Similar results can be found in studies by other authors (Smith et al., 2009; Weese et al., 2010; Broens et al., 2011; Verhegghen et al., 2011). Also in Belgium (Pletinckx et al., 2013), the highest occurrence of MRSA was found in weaned piglets - 86.3% and in fattening pigs - 86.3%, but lowest – in suckling piglets.

We also found the lowest MRSA occurrence in weaning piglets (12.5% of cases) and fattening pigs (10.9% on average), while in Germany (Alt et al., 2011) - 52% and in the Netherlands - 56% (Broens et al., 2011). Mutters and co-authors (Mutters et al., 2016) have also obtained different results from us, with a higher incidence of MRSA in fattening pigs (59.8%), suckling piglets (49.0%) and sows (25.6%).

In total, 19.7% of animals in *S. aureus* exhibit methicillin resistance. The results of the study show that the occurrence of MRSA is increasing in proportion to the presence of *S. aureus* and the age of piglets up to 4 - 4.5 months.

According to the authors (Weese et al., 2010; Dewaele et al., 2014), the increase in MRSA prevalence during the weaning period is associated with the mixing of the positive and negative pigs of MRSA with the formation of new groups; as well as the stress of the separation period; decreased age-related immunity (loss of maternal antibodies); new premises and contamination from previous animals.

In the farms included in our study, depending on the peculiarities of pig breeding, pigs were moved to fattening houses at the age of 3 to 4.5 months, where new groups were formed. New housing, facilities and equipment, as well as the relocation and regrouping itself, cause significant stress to the animals, so they are risk factors that should be more closely controlled to avoid the possibility of MRSA transmission.

Analyzing the occurrence of MRSA in **pigs in different age groups and farms of different sizes** (see Fig. 6), we find that the occurrence of MRSA in suckling piglets ranged from zero (holding A) to 21.9% (holding C). Although our MRSA occurrence rates are lower than in Mutters et al., 2016, however, pigs tested on farm C for suckling piglets (MRSA prevalence of 21.9%) were purulent processes on the skin.

Although the most common purulent processes on skin, abscesses and exudative epidermitis in pigs are caused directly by *Staphylococcus hyicus*, however, as shown by the experience of other scientists and veterinarians (Pomba et al., 2010), three pig farms found exudative epidermitis of MRSA of 15.0% in six-week-old piglets, which resulted in 20.0% mortality. The diagnosis was confirmed by isolating MRSA from samples of wounds and skin lesions. In this study (Pomba et al., 2010), as in our investigated farm C, predominantly MRSA *spa* type t011 (10 MRSA isolates from 13) dominates, suggesting that MRSA may be the initiator of the process of purulent piglets on farm C.

In the group of 3 to 3.5 months old pigs, MRSA was found only on holding C (the holding with the highest number of animals), with a very high occurrence rate, i.e. 70.8% of the pigs tested.

Regarding the presence of the study staphylococci in 4 - 4.5 months old pigs, this was found in all farms included in the study, but the occurrence of MRSA among pigs in this age group ranged from 8.3% (farms A and B) to 79.2% (holding C).

Meanwhile, in the case of fattening pigs, MRSA was found to be approximately the same on all holdings, i.e. from 8.0% on farm A to 12.4% and 12.5% on farm C and B respectively.

In a Danish study (Agerso et al., 2012), analyzing several types of farms - 1) holding pigs for fattening only, 2) farms keeping pigs for fattening and suckling piglets, and 3) full-cycle farms with sows, isolated piglets and pigs for fattening have been found to have the highest incidence of MRSA in full-cycle farms (20.9%), in pig farms for fattening - 12.2% and then in piglets and fattening pigs - 9.9%. In this section, it is difficult to analyze the data of our research, because within the same farm there are several pig houses and even sheds, where at the respective age the

weaned piglets are moved or the fattening pigs are transported within one farm without fattening pig stocking from different farms and herds, therefore from the our point of view the age groups of pigs are not the main cause of the differences in the occurrence of MRSA, as it is very different on farms.

The occurrence of MRSA in pigs and pig carcasses in slaughterhouses

The occurrence of MRSA in pigs and carcasses intended for food is a public health problem as the sases of ilnesses of MRSA continue to grow (Witte et al., 2007). Other scientists analyzing samples from slaughterhouses have found that the occurrence of MRSA in live pigs is 39.0% on average and that in pigs in slaughterhouses, 81.0% are MRSA positive (De Neeling et al., 2007). There are also opposite results when MRSA was not detected in any of the 440 pigs studied, nor was it isolated from dust samples ($n = 15$) (Horgan et al., 2011).

During the study of nasal and rectal samples from 100 pigs in the selected slaughterhouses, it was found that the occurrence of *S. aureus* varies (see Fig.6), and there are significant differences in both the size of the slaughterhouse and the type of sample being investigated. When assessing the occurrence of staphylococci in slaughterhouses with different slaughter capacity, it was found that *S. aureus* was most often obtained directly from slaughterhouses with higher slaughter capacity. In slaughterhouse D (with low slaughter capacity), the prevalence of *S. aureus* in pigs was found to be on average 52.0% in animals, while in slaughterhouse G (with high slaughter capacity), 89.6% of pigs.

Also, the occurence of **MRSA** varies significantly **depending on the slaughter capacity**. In slaughterhouse D (with the lowest slaughter capacity), the occurrence of MRSA is on average 8.0% in animals, while in slaughterhouse G (with the highest slaughter capacity) it is 88.4% (see Fig.7). In general, there is a relationship: the higher the slaughter capacity and the higher the number of animals concentrated in the slaughterhouse in the shorter period, the higher the occurrence of staphylococci is. Thus, we find a higher average (51.0%) prevalence of resistant staphylococci than other researchers, eg in a Danish study (Agerso et al., 2012), the prevalence of MRSA in slaughter pigs before scalding is 13.0%. In Switzerland, however, studies (Overesch et al., 2012; Butner et al., 2014) show a dramatic increase in the occurence of MRSA in 4-year dynamics, ie, in a 2009 study, the occurrence of MRSA in slaughterhouses was 2%, but in 2013 reached 20.8%.

The common tendency for staphylococcal high occurrence in pigs at slaughterhouses shows that a significant impact on the occurrence of MRSA is a contamination factor - the pigs in the slaughterhouse have great contact with pigs from different farms and often the same vehicles for transport purposes are used. In

addition, the large variety of MRSA *spa* types isolated from slaughterhouse pigs indicates the high impact of contamination.

We find that most of the MRSA negative animals after moving to the slaughterhouse - 35-95% of the previously tested pigs after stunning are isolated by MRSA, and the highest incidence of MRSA in this study was found in pigs at the start of the fattening period, which in turn is associated with the regrouping of pigs, grouping and moving/transporting pigs from one establishment to another. Consequently, transportation to the slaughterhouse and the stay of the pigs in the slaughterhouse can be considered a critical point in the occurrence of MRSA (Bangerter et al., 2016; Broens et al., 2011; de Neeling et al., 2007).

One of the main causes of contamination of MRSA could be close contact in a narrow, limited space during transport of animals to the slaughterhouse. Researchers point out that the most common contamination of MRSA in pigs occurs through direct contact with the nose mirror, skin, vagina or faeces (Moodley et al., 2011; Broens et al., 2011a). Broens (Broens et al., 2011a) has indicated that pre-tested and microbiologically negative pigs on MRSA after transport and stay in a slaughterhouse (total of 3.5-16.5h) in close contact with other pigs from different farms, 60% in the stunning phase is MRSA positive. Drivers and/or slaughterhouse staff (Broens et al., 2011a) may also be a potential source of contamination during transportation.

This study found that MRSA contamination from live pigs (occurrence 40.0% - 88.6%) can be reduced (0.0% - 24.0%), taking into account good hygiene practices in slaughterhouses. In our study, on surface of 6.7% carcasses (in total investigated 105) was found MRSA.

Also, Danish scientists (Agerso et al., 2012) have generally found that the prevalence of MRSA in pork from various countries is on average 7.5%, which is close to the results of our study. However, when analyzing national data with the number of samples tested above 10, researchers find the highest occurrence of MRSA in pork imported from third countries - 42.5%, the Netherlands - 19.0%, and significantly lower - with Danish (4.6%) and German (2.1%) origin (Agerso et al., 2012).

The presence of MRSA in pig carcasses is a potential food risk for both consumers and industry, and it is therefore important to reduce it by introducing measures such as personnel training on biosecurity and good hygiene practices at all stages of the food chain, from primary production to sales outlets.

It is known that, with appropriate hygiene and disinfection measures (cleaning of working clothes, footwear and gloves, washing and disinfecting surfaces and equipment), it is possible to avoid contamination of carcasses, however, dehairing using the scalding method is currently one of the biggest risk factors for contamination of carcass surfaces and natural openings. As demonstrated in a study (Yaniarti et al., 2017) on *S. aureus* resistance to milk at various pasteurisation times and temperatures, *S. aureus* death has been observed only from a temperature of 70

° C for 50 minutes, while lowering the time interval at this temperature *S. aureus* keeps living and reproducing ability. As part of the pig carcass technology, the water temperature of the scalding bath is usually maintained at 60 ° C (FAO, 1991) to avoid thermal effects on the skin. In the slaughterhouses, the water in the scalding baths is replaced only after the removal of several carcasses (in the slaughterhouses included in our research, the water was changed on average after 10-15 carcasses). As we observed in the slaughterhouses, scalding water is only changed when it is obviously visually dirty and foamy. More often water is replaced in scalding baths that do not have a separate compartment, where large dirt and bristles are collected, while in slaughterhouses where scalding baths have this separate compartment, often are emptied only apartament and water is added. From the above it can be concluded that the carcass dehairing technology using water with a temperature of up to 60 ° C for multi-carcase scalding serves as one of the potential sources of contamination of *S. aureus*.

The occurrence of MRSA in farms and slaughterhouses, environment and workers

It is known that the presence of MRSA in air and dust makes it difficult to reduce the occurrence of bacteria, contributes to the presence of the microorganism in the air, and MRSA can survive in dust for up to seven months (Friese et al., 2012).

Although the prevalence of *S. aureus* in the air samples of the pig farms investigated during the study was on average 9.1% (see Fig. 8), however, we detect the staphylococci under study in only one holding (large farm C 3-3.5 months old pig housing) in 25.0% of cases (2 out of 8 samples tested), meanwhile, we found the highest occurrence of MRSA in pigs in this C farm. The main reason for this could be the frequent regrouping and relocation of animals in this age. From the farms A and B all samples obtained for the test show negative results. Unlike the presence of *S. aureus* in swine air samples, however, MRSA does not detect during the study that other scientists have observed that the MRSA positive pig ratio is closely related to MRSA positive air sample ratios in housing. This suggests that a larger number of MRSA positive pigs also increase the spread of MRSA in the air and in the ambient shed environment. The small total number of MRSA in pig nasal samples correlated with the number of bacteria in environmental samples indicates nasal contamination of MRSA pigs rather than the persistent wearing of MRSA (Friese et al., 2012). From the above, we can judge that in the farms selected in our study, however, animals are MRSA persistently infected.

When comparing data from other researchers, the occurrence of MRSA varies. In environmental samples from farms (Friese et al. 2012), MRSA has been detected in 85.2% of samples, while MRSA prevalence in dust samples is as high as 100%, whereas EFSA (2009) reported the prevalence of MRSA in dust samples of

0.0% while Swiss scientists (Masclaux et al., 2013) 32.4% of air samples from pig farms were found *S. aureus*. Partial results could be explained by different sampling methods, as the above-mentioned researchers used a filtration and air compression method with special equipment for air and dust analysis, but we used the Koch sedimentation method (Boucher et al., 2010), which could be the cause of the low MRSA prevalence (4.0%) in our environmental samples.

In order to minimize the spread of MRSA in the environment and housing, as well as the colonization of the new live pigs with the previous animal group MRSA, it is very important to implement an effective cleaning and disinfection program in the pig housing before the introduction of the new animal groups. The disinfection program should include not only disinfection of shed surfaces and structures, but also disinfection of ventilation systems. Depending on the design of each farm's ventilation system and the placement and contact capabilities of the pig housing, the distribution of MRSA (both in the same housing and in the building and in several) is possible through the ventilation system, as the presence of MRSA in the air can cause intact colonization of animals even without the possibility of direct contact to colonized animals (Gibbs et al., 2004; Friese et al., 2012; Bos et al., 2014).

In our study of **environmental samples** of slaughterhouses (see Fig. 9) (work surfaces, equipment and various objects that come into contact with carcasses, slaughterhouse floor and air), only 2 samples (8.3%) were positive for MRSA (sample taken from a scalding bath at a heavy duty slaughterhouse (D) and a sample from a floor in slaughterhouse F).

The low incidence of MRSA in surface samples (equipment, work tables, gloves, flooring, plank boxes) and MRSA not detected by the Koch sedimentation method, however, indicates that MRSA is not present in the air of slaughterhouses, although it is known that dust is one of the main factors that increases the prevalence of bacteria in the environment (Feld et al., 2018).

MRSA has been found in pig farms not only in the environment and animals, but also in rodents, dogs, cats and farm veterinarians and family members (Pletinckx et al., 2013).

In countries of high development and industrialization, MRSA is one of the most common causes of death in humans. In addition to the traditional routes of infection with MRSA, the transfer of MRSA through direct contact between humans and food-producing animals has recently been increasing (Wendlandt et al., 2013b) and the risk of contamination from unprocessed food of animal origin, especially raw meat, is increasing. (EFSA 2009; Kock et al., 2013).

In a study conducted in the Netherlands in 2011, 39% of MRSA isolates from hospital patients were found to have domestic animal origin (LA-MRS) (Heten et al., 2013). In Germany, the prevalence rates of MRSA in domestic animals continue to grow (Schaumburg et al., 2012; Kocket al., 2013). Thus, when exchanging genetic material with more virulent bacteria, LA-MRSA can become a serious threat to public health (Cunny et al., 2013).

As regards the study of **pig farmers** working as potential staphylococci carriers, as the prevalence of MRSA in air is known to be a potential risk for workers in the pig breeding sector (Friese et al., 2012), a total of 13.3% of workers in the workforce show positive results on the whole (see Fig. 7). Research by other authors in this respect contrasts sharply with our data – in a study conducted in Australia (Shabizada et al., 2018), MRSA was found in 60.0% of nasal samples taken from pig farm workers, while in Italy (Mascaro et al., 2018) - only 7.3% of workers. In our study, in farm C (with the highest number of animals) we did not detect *S. aureus* in workers at all, while on the farm A and B in 25% of cases (1 in 4 samples) showed positive results for *S. aureus*, all isolated from workers' respiratory tract staphylococci also showed resistance to methicillin. Contrary to our results in other scientists' research (Smith. Et al., 2013; Reynaga et al., 2016), the more frequent occurrence of MRSA among pig workers in the pig industry is in farms with the highest prevalence of MRSA in pigs, but in German studies (Anwar et al. , 2001; Kock et al., 2011) found that a higher occurrence of MRSA was found in the overall human population than in those employed in the pig industry. The choice of treatment antibiotics on the farm can also be a contributing or limiting factor for the spread of MRSA among pigs and also among workers (Schmitthaussen et al., 2015). This is also confirmed by the fact that although antibiotics are also used for preventive purposes in the farm B we studied, no significant differences have been observed between workers and animals compared to farm A, where antibiotics are only used for therapeutic purposes. The non-detection of *S. aureus* among workers at farm C may be explained by the fact that pigs were built and housed in pigs just a few months before our examinations, and the organoleptic evaluation was less dusty and stale than the two previous farms, air ammonia concentrations were lower, as well as hygienic measures (hand disinfection and washing after each group of pigs) were carried out by the stuff in farm C.

It is reported in the literature that the high occurrence of MRSA among slaughter pigs is a potentially high risk factor for those working in the pig industry (farm and slaughterhouse staff as well as veterinarians in the sector). It has been shown that people working in the pig sector who spend several hours a week in close contact with MRSA colonized or infected pigs are at high risk of MRSA nasal colonization (Voss et al., 2005; Witte et al., 2007; Moodley et al. 2008; Denis et al., 2009). In general, a high level of *S. aureus* colonization (about 30.0%) is observed in the human population, while the MRSA level of nasal colonization is lower (0.7-1.5%) depending on the geographical range (Wertheim et al. 2004; Gorwitz et al., 2008; Munckhow et al. al., 2009). Colonization of humans with staphylococci means that such carriers become reservoirs and can directly pass this infection on to others, contaminating food and surfaces that are in contact with food. In addition, human MRSA carrying is one of the risk factors for clinical manifestation of infection (Cohn, Middleton, 2010; Jordan et al., 2011). MRSA can be transferred from

productive animals to the slaughterhouse environment, thus serving as a source of contamination for slaughterhouse personnel (Wendlandt et al., 2013a).

When studying the presence of MRSA in the upper respiratory tract of **slaughterhouse staff**, we find that 21.1% of the staff in the low-capacity slaughterhouse are carriers of staphylococci, while in high-capacity slaughterhouses F - 24.0% and G - 16.7% (see Fig. 8). On average, in this study, 21.1% of slaughterhouse workers have been detected MRSA positive by nasal samples, which is higher than in most other countries: in Ireland (Horgan et al., 2011) MRSA was found only in two out of 100 slaughterhouse workers investigated, in Italy (Normanno et al., 2015) MRSA was found in 9 out of 113 slaughterhouse workers included in the study, in Switzerland - none of the 179 workers included in the study (Huber et al., 2009), China - none of the 107 slaughterhouse workers (Cui et al., 2009), in the Netherlands - 5.6% of slaughterhouse workers, which is higher than the prevalence in the average human population (0.1%) (van Cleef et al., 2010). Similar data have also been published in another study by Dutch scientists (Gilbert et al., 2012), which states that 11 of 341 (3.2%) slaughterhouse workers are carriers of MRSA (LA-MRSA) of animal origin. A Spanish study found that 14.3% of slaughterhouse workers are MRSA carriers (Morcillo et al., 2011), whereas in Germany (Mutters et al., 2016), MRSA found 61.9% of pig farmers, including farm workers, veterinarians and veterinary medicine students. High concentrations of MRSA in pigs and slaughterhouses can be one of the risks of occupational diseases in this sector.

Research by other authors in pig slaughterhouses shows the occurrence of MRSA in 5.6% of workers and 22% of car drivers carrying pigs (Mulders et al. 2010; van Cleef et al., 2010). Data are also available that 45.7% of farm workers are persistently MRSA colonized even during periods of non-contact with livestock, while 54.3% are periodic MRSA carriers or negatively throughout the testing period (Kock et al., 2012).

Given that the presence of MRSA has been detected in pigs, carcasses and the environment in the slaughterhouse, it is only natural that MRSA is also present in samples from slaughterhouse staff, as workers do not wear respiratory masks and are in close contact with pigs. Moreover their hands, gloves, equipment, clothes and shoes can serve as vectors for the transmission and further spread of infection.

Comparing the prevalence of HA-MRSA (human MRSA) in Europe, the lowest prevalence of HA-MRSA is in hospitals in northern Europe (from 0.0% in Sweden, Norway, Estonia, Denmark and the Netherlands) and gradually rising to Central Europe has been observed, reaching the highest rates in southern Europe countries in Portugal - 49.1% and Greece - 55.6% (Borg et al., 2012). However, these numbers for Latvia (4.5%) (Borg et al., 2012) are several times lower than the data of our study on the incidence of MRSA in the pig industry - an average of 17.4%.

It has been shown that up to 30% of human populations are permanent carriers of *S. aureus*, while the other part does not show persistent carrying of *S. aureus* (Kaspar et al., 2016).

On average, only 20% of MRSA carriers are persistent, 60% are periodic carriers, and 20% are free from MRSA colonization (Wertheim et al., 2005). The status of MRSA colonization for non-regular workers is discussed in several studies (Van Cleef et al., 2010; Kock et al., 2012). Van Cleef et al. (2011) shows that short-term human contact with MRSA in colonized animals causes their colonization with MRSA, but most of the body releases MRSA within 24 hours.

Likewise, the reduction of MRSA's occurrence could, in my opinion, be achieved by excluding or minimizing contact with pigs coming from different holdings and farms or by carrying only MRSA negative pigs.

MRSA diagnostic options based on sample type (nasal, rectal, milk samples)

Although there is a great deal of research into the potential for occurrence and isolation of MRSA in the field of microbiology, there is little research on the isolation of MRSA from different sample types and the most efficient sampling site. To date, most of the diagnosis of MRSA in pigs is carried out by obtaining nasal samples. In a study by French scientists (Jouy et al., 2010), MRSA has not been detected in rectal samples, but has been detected in nasal samples, while other scientists (Moodlay et al., 2011; Broens et al., 2011b; Szabo et al., 2012) MRSA also found in rectal samples, but significantly less than in nasal samples - in the Szabo study (Szabo et al., 2012) MRSA was isolated in 77.0% of nasal samples and 40.0% of rectal samples. However, the above-mentioned studies only show the occurrence of microbiota and its ability to enter various body systems without linking them to the MRSA occurrence in the environment and major colonization risk factors, because the studies and sampling were done by nasal inoculation of intact animals with MRSA suspension, and placing the animals in an MRSA-free environment. In contrast, a study conducted by Belgian scientists (Dewaele et al., 2011) without prior experimental colonization of animals with MRSA, which investigated the isolation of MRSA from nasal, perineum, skin and rectal samples, found the highest incidence of MRSA in nasal samples (83.0%), perineum samples (71.0%) and skin samples (69.0%), while the lowest MRSA prevalence was observed in rectal samples (47.0%), indicating that obtaining microbiological samples from the front of the nasal cavity is one of the most effective ways to determine whether the animal is colonized with MRSA. In addition, increasing the number of investigated areas and organ systems increases the potential for MRSA isolation, as well as the ability to detect the simultaneous presence of different sequences and types of MRSA in one animal (Dewaele et al., 2011).

In a study evaluating the occurrence of MRSA **in farms in pigs in different body (respiratory and digestive) systems**, we find that on average (8.2% of animals (n=25)) resistant staphylococci are found in animals only in the upper respiratory tract or at the same time in both respiratory and digestive systems (on average 7.9% of animals (n=24)). There are significantly fewer pigs (3.6% on average) for which the presence of MRSA can only be detected in rectal samples (see Fig. 10).

In the holding A (with the smallest number of animals) in pigs, MRSA was found more frequently in the samples of the respiratory system (3.1% or n=3), the holding B (with the average number of animals) - the higher incidence of MRSA in animals was found in the digestive system (4.8% or n=5), but in the respiratory system (3.8% or n=4 animals) - slightly less, while on farm C - with the highest number of animals and the highest number of isolated MRSA isolates - resistant staphylococcus is most commonly found in animals both in the respiratory and digestive systems - 22.1% (n = 23) and slightly less in the respiratory system - 16.3% (n = 17). When using the Bayesian theorem, it was shown that if the pig is a carrier of MRSA, the probability of diagnosing these resistant staphylococci by examining only rectal samples is 18.0%, while by examining only nasal specimens - 42.0%, but if a pig is investigated simultaneously in rectal, and nasal specimens, the probability of finding MRSA is 40.0%.

Considering that MRSA is present in air and dust, as well as the peculiarities of the pig species with a snout/nose mirror inhale and explore surfaces, various materials and other animals, and that the microbiome has to withstand various digestive fluids to pass through the digestive tract containing enzymes and the occurrence of rectal samples is much lower than in nasal samples.

The relatively high occurrence of MRSA in samples of digestive system found in farm C, where the piglets also have purulent processes on the skin, could indicate reduced immunity, persistent colonization, and even clinical disease as MRSA in animals can cause exudative dermatitis, urinary tract infections and mastitis-metritis agalactic syndrome (vanDuijkeren et al., 2007).

Analyzing the samples of **sows milk** obtained from the farms included in the study (see Fig. 7), we find that the average occurrence of *S. aureus* is 13.0%, while MRSA is 4.3%. When assessing the occurrence on farms, resistant staphylococci in sow milk have not been detected in the small farm (A), but with the increase in the number of animals in the holding, the occurrence of MRSA is also increasing, the presence of staphylococci in farm B and C in milk is 4.0% and 7.7% respectively. Considering that in several authors' studies (Garzoni, Kelley et al., 2009; Jouy et al., 2010; Sinha, Fraunholz et al., 2010, Szabo et al., 2011), it has been found that MRSA is spread by blood in the tissues with macrophages (able to counteract macrophage function), as well as isolated from *tonsilla* and lymph nodes, including from the *caecum* and *ileum* lymph nodes, migration of the MRSA to the mammary glands and excretion into the milk together with milk is possible.

Analyzing the occurrence of MRSA samples **from different body systems of slaughtered pigs**, we find that the most common resistant staphylococci occurs directly in the digestive system (19.0%), while the somewhat lower prevalence of MRSA is observed in both digestive and respiratory samples (18.0% of pigs) and in the respiratory system - 14.0% of the slaughtered animals (see Fig. 10).

However, when comparing MRSA to pigs in different capacity slaughterhouses, we find that there are variations. MRSA in the respiratory system were most often found in a low-capacity slaughterhouse E - 40.0% in animals, while in the digestive system or in both systems of the body - more often in a high-capacity slaughterhouse G (34.3% and 45.7%, respectively). The higher prevalence of MRSA in pigs in rectal samples may be explained by the fact that the samples were obtained from pigs after stunning and bleeding. In high-capacity slaughterhouses, it has been observed that pigs had a bloody fluid from the nostrils following stunning bleeding, which could rinse some of the MRSA present in the nasal cavity, so that some of the pig nasal specimens did not detect MRSA.

One of the main causes of contamination of MRSA could be close contact in a narrow, limited space during transport of animals to the slaughterhouse. Other researchers also report that the most common contamination of MRSA in pigs occurs through direct contact with the nose mirror, skin, vagina or faeces (Moodley et al., 2011; Broens et al., 2011a). Broens (Broens et al., 2011a) has indicated that pre-tested and microbiologically negative pigs on MRSA after transport and stay in a slaughterhouse (total of 3.5-16.5h) in close contact with other pigs from different farms, 60% in the stunning phase is MRSA positive.). Another possible form of contamination during transportation is for car drivers and/or slaughterhouse staff (Broens et al., 2011a).

Analysis of antimicrobial resistance of MRSA isolated from farms

Antimicrobial resistance in the world is increasing among human and animal pathogens as well as zoonotic agents, resulting in an increased risk of infection treatment for humans and animals (Batisti et al., 2010; Jackson et al., 2013).

Multi-antimicrobial resistance is found among MRSA isolates obtained in the study. Most isolates exhibit resistance to two or more different antibiotics, and some of the isolates showed meropenem resistance and moderate sensitivity to vancomycin, suggesting an increase in antimicrobial resistance. The data from our study are also consistent with the results of other authors, which show a high prevalence of MRSA and resistance to isolates from pigs, pork and workers in this industry (Batisti et al., 2010; Jackson et al., 2013).

Overall, antimicrobial resistance trends on farms are similar - 98.2% of MRSA isolates in our study showed penicillin resistance and 89.1% against

tetracycline. Relatively high resistance is also observed for erythromycin (69.1%), clindamycin (65.5%), gentamicin (50.9%) and trimethoprim sulfonamides (40.0%) (see Fig.11).

Research by other scientists (van Duijkeren et al., 2008; Batisti et al., 2010; Fesler et al., 2012; Crombe et al., 2012; Pletinckx et al., 2013) has also shown trends similar to our findings, ie high resistance to trimethoprim, lincomycin and ciprofloxacin. Similar to Burns (Burns et al., 2014), in our study, resistance to tetracycline has also been found in 89.1% of MRSA isolates and 69.1% of erythromycin. Interestingly, in the study, 50.9% of MRSA showed gentamicin resistance and 29.1% of cefalexine, which was not used in the investigated farms for pig treatment. Resistance to penicillin and tetracycline, which are still used as first-choice antibiotics in large quantities in Latvia for about five to ten years ago and in part of the housing, reached 98.2% and 89.1%, respectively, of MRSAs isolated in the study.

Similar trends in antimicrobial resistance as in our study were also found in Italy (Normanno et al., 2015), where MRSA isolates are mostly multi-resistant, most often showing resistance to clindamycin, tetracycline and erythromycin. Comparing our data with the data from a Chinese (Li et al., 2017), Taiwan (Lo et al., 2012), Italian (Batisti et al., 2010), and German (Mutters et al., 2016) study, found that that the MRSA of animal pigs in Latvia has lower resistance than the other countries mentioned above. Thus, the MRSA obtained in our study shows resistance to ciprofloxacin in a 4.5% sample, while in Germany - 13.0% (Mutters et al., 2016), 41.7% in Italy (Batisti et al., 2010), 98.8% in Taiwan (Lo et al., 2012), but in China - 100% (Li et al., 2017). Similarly, the antimicrobial resistance situation in these countries has also been observed against other antibiotics compared to our study.

In a study of MRSA isolates, 20.0% of cases showed gentamicin resistance, 42.8% erythromycin, 33.6% clindamycin and 92.5% tetracycline. In contrast, in the previous mentioned countries - Germany - gentamicin - 20.0%, erythromycin - 73.0%, clindamycin - 75.0%, tetracycline - 100%; in Italy against gentamicin - 42.0%, erythromycin - 75.7%, clindamycin - 80.0%, tetracycline - 100%; in China - gentamicin - 80.4%, erythromycin - 97.0%, clindamycin and tetracycline - 100% (Batisti et al., 2010; Mutters et al., 2014; Li et al., 2017) and Taiwan - 99.4% gentamicin , 100% against clindamycin, 99.4% against tetracycline, erythromycin 83.7, and 90% against trimethoprim-sulfonamides (Lo et al., 2012), against which 20.1% of our MRSA isolates are resistant.

The phenomenon of high MRSA resistance indicators in China, unlike European data, can be explained by the fact that in China antimicrobials are used not only for prevention and treatment purposes, but also as growth promoters, especially enrofloxacin, tetracyclines, lincomycin and tiamulin (Li et al. , 2016). Although some of the antibiotics in Taiwan were banned for use in food-producing animals for therapeutic purposes (clindamycin, ciprofloxacin), however, the antimicrobial resistance of MRSA remains very high, as do the antibiotics (gentamicin,

tetracycline, erythromycin and trimethoprim-sulfonamides) permitted as feed supplements to stimulate weight gain (Li et al., 2017).

The most common antimicrobial resistance in our study has been observed against five (24.6% of all MRSA isolates), six (19.3%) and seven (15.8%) of different antibiotics, but in the US study of five types of antibiotics, 9.3% isolates, four types of antibiotics show resistance - 32.7%, but against three types of antibiotics - 57.9% (Ge et al., 2017)

Comparing antimicrobial resistance to MRSA isolates derived from the animal's upper respiratory tract and digestive system, it has been found that isolates from the digestive system most often show resistance to a higher number of antibiotics than MRSA isolates from the upper respiratory tract (see Fig. 12).

We have also identified antimicrobial resistance in MRSA isolated from farm workers. MRSA, isolated from a small group farm (A) worker, shows resistance to penicillin, cefalexin, tetracycline, and meropenem, but isolate from a medium-sized farm (B) worker – to penicillin, tetracycline, and cefalexin. The study did not identify the identical MRSA *spa* type for humans and animals that would indicate MRSA of common origin.

However, interestingly, the highest resistance of MRSA in pigs in farm A was also shown directly against cefalexin, tetracycline, penicillin and moderate resistance to meropenem, and on farm B against penicillin, tetracycline and medium resistance to cefalexin.

Analysis of antimicrobial resistance of MRSA isolated in slaughterhouses

In our study, MRSA from slaughterhouses most often showed resistance to six (26.1% of all MRSA isolates), seven (21.7%) and eight (19.6% of all MRSA isolates) different antibiotics. MRSA isolates showed 32.8% resistance to erythromycin, 92.5% to tetracycline and 98.5% to penicillin (see Fig. 13), whereas in the US study (Ge et al., 2017) MRSA isolates show lower resistance - only 12.6% resistant erythromycin, 54.1% tetracycline and 69.8% penicillin. In this study, in contrast to our isolates 25.4% resistant to trimethoprim-sulfonamides, no resistance to this antibiotic was observed, but there was a moderate susceptibility to vancomycin, which we also found in our study in six of MRSA isolates.

Comparing the human (HA) and animal (LA) MRSA isolates to antimicrobial resistance, we conclude that there are no major differences except for some antimicrobial agents. In our study, HA-MRSA isolates showed higher resistance to penicillin (100.0%), cefalexin (50.0%), gentamicin (33.3%) and meropenem (16.7%) than LA-MRSA isolates (penicillin resistance - 98.8%, cefalexin - 38.8%, meropenem - 7.5%). In contrast, LA-MRSA showed higher resistance to tetracycline (92.5%) and trimethoprim-sulfonamides (23.0%) than HA-MRSA (resistance to

tetracycline 83.3%, trimethoprim-sulfonamides 20.1%), but no significant differences in resistance to other antimicrobials were observed.

The above-mentioned situation in the form of antimicrobial resistance against certain agents is closely related to the difference in the use of these preparations in human and veterinary medicine. It is forbidden to use antibiotics such as cefalexin, meropenem, ciprofloxacin and clindamycin for the treatment of food-producing animals (especially pigs) in accordance with the requirements of the EC Regulation 37/2010. Similar levels of resistance among LA-MRSA and HA-MRSA are observed with antibiotics used concurrently in both human and veterinary medicine - trimethoprim-sulfonamides and amoxicillin with clavulanic acid. Other researchers (Mutters et al., 2016) have also found that the strongest differences in antimicrobial resistance can be found between HA-MRSA and LA-MRSA, as more than 80.0% of isolates were resistant to ciprofloxacin LA-MRSA isolates, but isolated from pigs and in pigs industry involved staff - just over 10% of cases. Similarly, there are drastic differences in the Mutters study (Mutters et al., 2016) in resistance to trimethoprim-sulfonamides, which are resistant to 45% of LA-MRSA isolates and 52% of HA-LA-MRSA isolates, but in our study these differences are small, ie LA Among MRR isolates, resistance to trimethoprim-sulfonamides is only 3.4% higher than for HA-LA-MRSA isolates.

There are both common and different trends in **farms and slaughterhouses** (see Fig. 13). On average, antimicrobial resistance was higher in slaughterhouse isolates, but higher levels of MRSA resistance in farms were found against amoxicillin in combination with clavulanic acid (17.3%), cefalexin (42.7%), and tetracycline (96.0%), whereas the MRSA isolates found a higher resistance to trimethoprim sulfonamides - 38.8%, gentamycin - 53.1%, clindamycin - 64.4% and erythromycin - 67.4%.

There were no marked differences between farms and slaughterhouses - resistance was observed at farm level against seven to eleven antibiotics at the same time, and in the slaughterhouses at nine to eleven tested antibiotics.

Genotypic analysis of isolated MRSA

Recent studies have shown that the carrying of MRSA is associated with the contact of productive animals (Kock et al., 2016). In the Netherlands, where MRSA infections are rare, LA-MRSA from all MRSA isolates was detected in 20% of cases in 2006, but this percentage continues to increase (van Rijen et al., 2008). In the Netherlands, however, 97% of all MRSA excreted from porc belongs to the clonal complex ST398 (Buyukcangaz et al., 2013; Hanson et al., 2011; Molla et al. 2012; O'Brien et al., 2012).

In the study, we found that the occurrence of MRSA and its *spa* types varies depending on slaughterhouse slaughter capacity and good hygiene practices, farm size, and number and density of pigs.

The pigs included in our study are from different regions of Latvia, which can cause high heterogeneity of MRSA *spa* types. MRSA isolates from pigs, milk and workers from pig farms found 10 different types of *spa* (see Table 1) - ie, t011, t899, t693, t1333, t400, t1255, t808, t1580, t1985, t2383, indicating that there might be a transfer of MRSA between farms through personnel, inventory, and technique. In addition, the most prevalent in pig population is t011 (69.0%), which dominates in all farms included in the study, while the other MRSA *spa* types found are isolated only on separate holdings. The MRSA isolate from sows milk belongs to the *spa* type t400. The MRSA isolate from the farm worker A belongs to the *spa* type t693, while the B farm worker MRSA is a *spa* type t1255.

In our study at slaughterhouses we detected 15 different MRSA *spa* types (see Table 1) - t011, t127, t318, t337, t421, t808, t899, t1333, t1250, t2421, t1255, t2451, t11744 and two new *spa* types (A and B). Thus, the high diversity of the detected MRSA *spa* types indicates that there are differences in the MRSA genome between the different farms from where pigs come to slaughterhouses. Conversely, changes in the MRSA genome can be facilitated by factors such as the use of various antibiotics and disinfectants and different farm management (Becker et al., 2017).

Although we obtained a large variety of MRSA *spa* types in the study (a total of 21 *spa* types on 131 samples), research from other countries (Becker et al., 2017) shows that this variability can also be higher (131 *spa* types on 331 MRSA isolates), although there are also studies where this variability is significantly low - 453 MRSA isolates showed only 7 different types of *spa* (Pletinckx et al., 2013).

Similar to our study, other researchers (Friese et al., 2012; Pletinckx et al., 2013; Peeters et al., 2015) isolated the MRSA t011 *spa* type from pigs and environmental samples and isolated t1255 isolate from nasal specimens, that we isolated from a slaughterhouse worker.

Overall, in this study has isolated MRSA *spa* type **t011**, which was found in farms 68.9%, but in slaughterhouses - 10.5%, and among all types of MRSA isolates the occurrence is 43.5%. The second most common *spa* type of MRSA is **t1333**, which is found in slaughterhouses of 26.3% and in farms - 4.1% of samples, but among all *spa* types of MRSA isolates, the prevalence is 26.3%. Type t127 is found only in slaughterhouses in two MRSA isolates, i.e. 1.5% of all MRSA isolate *spa* types.

Comparing the results of the MRSA isolates obtained from farms in Italy (Batisti et al., 2010) and Taiwan (Lo et al., 2012), the most commonly detected was MRSA *spa* type t899 (48.9% of farms), whereas in our study this *spa* type was found on a single farm (4.1% of all MRSA isolates in the farm *spa*, or 3.8% of all *spa*-typed MRSA isolates).

As the second most common MRSA *spa* type, Italian researchers find t127 which in our study is found in only one slaughterhouse (3.5% of all MRSA *spa* types isolated in slaughterhouses, or 1.5% of all isolated MRSA *spa* types). In our study, the most common of MRSA *spa* type is t011 found in all pig farms (68.9% of all MRSA isolates in farms or 43.5% of all *spa* typed MRSA isolates) and two slaughterhouses (10.5% of all MRSA *spa* typed isolates in slaughterhouses) but in the Italian study it is found in only 8.9% of pig farms. Similarly, MRSA *spa* type t899 is found in Taiwan for MRSA pig isolates (Lo et al., 2017).

MLST is based on genes in which changes occur slowly, providing information on evolutionary changes and global incidence of *S. aureus* (Feil et al., 2003; O'Hara et al., 2016). Scientific literature highlights, that more accurate information is obtained when genotypic methods are combined (*spa* typing, MLST) (Dhawan et al., 2014).

Analyzing the results of the MRSA *spa* type sequences (see Table 2), we found that the most frequent MRSA *spa* type t011 in our study has the characteristic clonal complex of ST398 (as in the Italian study (Batisti et al., 2010)) as well. The ST398 complex also belongs to the t808 *spa* type. Although most of the European MRSA isolates do not belong to the ST9 sequence (Mutters et al., 2016), our study has shown that the MRSA *spa* types t11744, t337 and t899 belong to the clone complex ST9, which in other authors' publications is mostly referred to as characteristic of Asia, especially the Japanese MRSA pig isolates, while the ST398 sequence, which is more specific to Europe, is much less common in Japan (Asai et al., 2012; Cui et al., 2009).

In our study from pigs, MRSA *spa* types t808 and t011 belong to the sequence type ST398, which is cited in literature as one of the most frequent sequences in Europe for MRSA isolates from domestic animals (Becker et al., 2017; George et al., 2017).

We found that none of the 6 workers in the MRSA pig industry had MRSA with *spa* type that belongs to ST398 clonal complex. The clonal complex of LA-MRSA CC398, like other HA-MRSA-specific clonal complexes from different biofilms, is capable of inducing human epithelial cells and causing cytotoxic effects (Nicholson et al., 2013; Witte et al., 2007).

Although the opinion of epidemiologists about the transferability of LA-MRSA among people are divided and the risk is considered to be minimal in this respect (Wassenberg et al., 2011; Hetem et al., 2013) and LA-MRSA are less virulent than hospital origin MRSA (HA-MRSA) (Bootsma et al., 2011; Wassenberg et al., 2011; Garcia-Graels et al., 2012; van de Sande-Bruinsma et al., 2015), however, it has been shown that MRSA of clonal lines CC398, also counted as LA-MRSA, can be easily transferred from person to person (McCarthy et al., 2012; Price et al., 2012; David et al., 2013), in close contact with productive animals, causing colonization or even infection of at-risk individuals (Layer et al., 2012; Nair et al., 2016). Thus, veterinarians, veterinary medical students, slaughterhouse workers, and the livestock

industry, as well as other people in close contact with the above-mentioned groups, are the most exposed to risk (Frana et al., 2013; Bos et al., 2014; Verstappen et al., 2014; Smyth, Wardyn et al., 2015), since no clinical symptoms are primarily observed among these people (Smyth, Wardyn et al., 2015). However, the outbreaks of MRSA ST398 in hospitals are rare (Verkade et al., 2012), which can be explained by the high variability of the ST398 MRSA *spa* types and, consequently, by the very different genome and phenotypic characteristics, including virulence and antimicrobial resistance (McCarthy et al., 2012; Price et al., 2012; David et al., 2013). In the Netherlands, on the other hand, the type of MRSA isolated from patients was characterized by the type of LA-MRSA (Heten et al., 2013). Studies in Germany also show that the proportion of LA-MRSA isolated in hospitals in relation to the prevalence of HA-MRSA continues to increase (Schaumburg et al., 2012; Kock et al., 2013). It has also been shown that individuals who are nasal MRSA carriers also have a higher risk of MRSA infection than the rest of the population (Kluytmans et al., 1997).

Considering the high MRSA nasal colonization rates among pig workers, this could be one of the occupational risks (colonization of LA-MRSA for workers), which is even higher than the risk of HA-MRSA colonization. It is also reported that in several countries between 2006 and 2015, cases of LA-MRSA infection have been detected in persons involved in the livestock farming industry (Albrich, Harbarth et al., 2008).

Characteristics of isolated MRSA *spa* types and antimicrobial resistance

In the MRSA *spa* type and antimicrobial resistance analysis, it was found that the staphylococcal resistance varies even within one *spa* type. Also, MRSA isolated from pig farms was found to have two to eleven different antimicrobial resistance profiles for one *spa* type and 63.5% of all MRSA isolates are mainly found in the two most common resistance profiles (Pen-Tetr and Pen-Cef-Tetr) (see Table 3).

On the other hand, in slaughterhouses (see Table 3) MRSA within one *spa* type are evident two to eight different antimicrobial resistance profiles and five of the most common antimicrobial resistance profiles (Pen-Tetr-Clin-Ery-Gen-TriSa, Pen-Tetr, Pen-Cef-Tetr-Clin-Ery-Gne-TriSa, Pen, Pen-Tetr-Clin-Ery-Ge) comprises a total of 52.5% MRSA isolates.

Similar parallels with the results of our study can also be found in a study conducted in Belgium (Pletinckx et al., 2013), where a total of 51 antimicrobial resistance profiles and five of the most common antimicrobial resistance profiles (Cip-Tetr-Tri, Cip-Tetr-Tri, Sa) were found. Tetr-Tri-Ery-Lin-Tyl, Tetr-Tri-Gen-Cip-Kan-Lin-Tobr, Tetr-Cip-Clr-Lin-AmCl) comprise 54.3% of all MRSA isolates. Meanwhile, a study conducted in Italy (Batisti et al., 2010) found higher

antimicrobial resistance in MRSA *spa* type isolates t011, t2899 and t127 than in our study.

In our results, MRSA *spa* type t011 isolates were found to be resistant to ciprofloxacin in 3.4% of cases, trimethoprim-sulfonamides - 5.2%, gentamicin - 10.3%, erythromycin - 21.0, clindamycin - 13.8% and tetracycline - 98.3%. In contrast, Italian scientists (Batisti et al., 2010) detect ciprofloxacin resistance in 25.0% of cases, trimethoprim-sulfonamides 75.0%, gentamicin 50.0%, erythromycin 75.0%, clindamycin 75.0%, and clindamycin 75.0%, and tetracycline 100% however, resistance within slaughterhouses and farms is slightly different (see Fig.14 and 15).

Lower antimicrobial resistance than other scientists ((Batisti et al., 2010) has been observed in other MRSA *spa* types in our study. MRSA *spa* type t899 do not shows resistance to ciprofloxacin in our study, 20.0% shows resistance to gentamicin, trimethoprim-sulfonamides, erythromycin and clindamycin, and 100% to tetracycline.

The most striking differences between our and other authors (Batisti et al., 2010) are observed in MRSA *spa* type t127 isolates. We isolated it from slaughterhouses in the study, and resistance to 100% was reported only against tetracycline, while in the Italian study (Batisti et al., 2010), resistance was observed in 50.0% of trimethoprim-sulfonamides and ciprofloxacin, but against gentamicin, erythromycin, clindamycin and tetracycline - 100% of cases. The sharp differences in antimicrobial resistance with our results could be explained by the much higher prevalence of MRSA in the countries of the southern European region, and consequently the increased use of antimicrobials, which in turn leads to increased antimicrobial resistance.

The results of some researchers (Tenhagen et al., 2009) suggest that the most common *spa* type of MRSA is **t1333**. In our study, all isolates of the MRSA *spa* type t1333 show resistance to clindamycin (43.0%), erythromycin (50.0%), tetracycline (75.0%) and penicillin (93.0%) (see Fig.15). So, our results show that antimicrobial resistance to MRSA *spa* type t1333 has grown.

In a study (Gonzalez-Dominguez et al., 2012), MRSA isolates isolated from hospital patients showed resistance to clindamycin (17.2%), erythromycin (44.8%) and gentamycin (27.6%), whereas in our study MRSA isolated from farm workers (n=2) does not show resistance to the antibiotics mentioned before, but MRSA isolates from slaughterhouse workers (n=3) show resistance to clindamycin, erythromycin and gentamicin in two cases. Although our MRSA isolates generally show slightly higher resistance to clindamycin (40.8%), resistance to erythromycin (40.1%) and gentamicin (29.4%) does not differ significantly.

In the literature, the ST398 clonal complex is becoming more common in hospitals (Verkade et al., 2014; Williamson et al., 2014). It has been found that resistance to tetracycline (TetR) can serve as one of the early (express) CC398 and other MRSA indicators of clonal line associated with productive animals. In studies,

MRSA CC398 exhibits a relatively high MRSA-TetR (67.3%) resistance already (Lozano et al., 2012b). 25.5% of hospital patients with MRSA-TetR isolated were found to be in contact with pigs or poultry, while 42.9% had no previous contact with productive animals (Benito et al., 2014). Similarly, in the MRSA isolates of the study-treated patients, the ST398 clonal complex was observed to be 14.0% more frequent than the MRSA isolates of non-productive animals. In our study, however, the isolated MRSA isolate from a slaughterhouse worker shows resistance to penicillin only.

Although our MRSA ST398 isolates also have resistance to erythromycin (t011 - 12.0%; t808 - 20.0%) and clindamycin (t011 - 13.8%; t808 - 20.0%), the authors mentioned before declare the higher resistance to these antibiotics – respectively - 58.0% and 63.0%, although our MRSA isolates show higher resistance to gentamicin (t011 - 10.3%; t808 - 20.0%) than in Benito (Benito et al., 2014) study - 7.0%.

The MRSA clonal CC398 line largely possesses a multidrug phenotype, thus significantly limiting the treatment options for these infections (Cunny et al., 2013). There is also an opinion among scientists that MRSA-CC398 can serve as a reservoir for antimicrobial resistance-determining genes (Kadlec et al., 2012), and, as in Benito (Benito et al., 2014) study, also our MRSA *spa* type t011 and t808 isolates belonging to the ST398 clonal line have multiple resistance, as *spa* type t011 is at the same time resistant to 11 antibiotics, and *spa* type t808 - to 8 antibiotics.

Similarly to studies carried out elsewhere (Cunny et al., 2013), our isolated MRSA ST398 isolates also showed very low antimicrobial resistance to quinolones - only *spa* type t011 against ciprofloxacin 3.4% of isolates, but overall for all MRSA isolates - only 4.5%. However, it should be noted that the relatively low resistance to quinolones found in our study and, in particular, the higher resistance to macrolides (resistance to erythromycin 32.8% MRSA isolates) and tetracyclines (resistance to tetracycline 92.5% MRSA isolates) raise justified concerns about treatment options for MRSA infections, because macrolides, quinolones and tetracyclines are referred to as very important antibiotics by the World Health Organization classification in human medicine, therefore the use of these antibiotics in animals is recommended to be reduced (Collignon et al., 2009).

The study also found that although the majority of MRSA isolates are sensitive to vancomycin, nine MRSA isolates from farms - t011 (n=5), t693 (n=1), t899 (n=2) and t400 (n=1) and six isolates from slaughterhouses - t011 (n=1), t2337 (n=2), t11744 (n=2), t2421 (n=1) show intermediate sensitivity to vancomycin. Scientists (Moreno et al., 2016) have reported that MRSA isolate with *spa* type t953 (ST398 sequence) derived from pigs with exudative epidermitis has a intermediate sensitivity to vancomycin, while at the same time shows resistance to other 20 antibiotics. Interestingly, our MRSA (with intermediate sensitivity to vancomycin) isolates, as in the study (Bhattacharyya et al., 2016) of MRSA vancomycin-resistant isolates isolated from goats and sheep's milk, have very variable antimicrobial

resistance. Our MRSA isolates have shown antimicrobial resistance against one antibiotic (penicillin) and up to nine antibiotics at the same time (penicillin, amoxicillin and clavulanic acid, cefalexin, tetracycline, clindamycin, erythromycin, gentamicin, trimethoprim-sulfonamides and meropenem), while other researchers (Bhattacharyya et al., 2016) detected resistance against two (co-trimoxazole and piperacillin with tazobactam or ceftriaxone with clindamycin) up to eight antibiotics (amikacin, amoxicillin and clavulanic acid, ceftriaxone, ciprofloxacin, polymyxin B, piperacillin with tazobactam, tetracycline). In contrast to our MRSA vancomycin intermediate sensitive isolates, MRSA vancomycin-resistant isolates in India are characterized by the t527, t267, t362 and t2800 spa types. Resistance to vancomycin has also been found in isolates of MRSA ST9 derived from slaughtered pigs in China (Kwok et al., 2013). Interestingly, in our study, vancomycin's intermediate sensitivie MRSA isolates showed the same sequences as in the above-mentioned studies (ST398 and ST9) and in addition to the ST528 sequence. Undoubtedly, bacterial cell wall swelling is the main indicator of bacterial resistance to vancomycin. Often even before the detection/presence of the *vanA* gene for resistance to vancomycin in the MRSA genome, the bacterial cell wall thickening is one of the mechanisms of resistance to this bacterium (Howden et al., 2010). As is known, the microorganisms with intermediate sensitivity to antibiotics are hardly treated (EUCAST, 2013), and Kwok also states (Kwok et al., 2013) in his study that LA-MRSA can show reduced susceptibility to vancomycin in practice and in the same time influence treatment results. Since there are still no common genetic markers for low vancomycin resistance MRSA, it is difficult to detect intermediate vancomycin sensitive MRSA (Kwok et al., 2013). There are two theories of LA-MRSA vancomycin resistance among scientists. It is explained (Bhattacharyya et al., 2016) that these isolates in animals are of human origin (possible soil faecal contamination) or vancomycin resistance is formed in LA-MRSA farm animals by continuous administration of antibiotics.

The occurrence of enterotoxin-encoding genes in MRSA

Staphylococcus aureus produces a variety of exoproteins that increase its ability to colonize mammals and promote animal disease. All staphylococcal enterotoxins have properties such as the ability to induce vomiting and gastroenteritis in the primate model, superantigenicity and moderate resistance to heating, and the effect of enzyme pepsin (Dinges et al., 2000).

Many foods may be suitable for the growth of *S. aureus* and may therefore be the cause of food contamination. The main source of contamination is humans (food industry workers get the bacteria in direct contact or respiratory - sneezing, coughing), which can contaminate already finished foods after treatment at high temperatures. In contrast, not processed food, in particular meat contamination, is

most common, and its main sources are MRSA colonized or infected animals (le Loir et al., 2003).

Similar to a Chinese study (Chao et al., 2015), where 54.4% of *S. aureus* isolates contain enterotoxin-encoding genes (EG), in our study, 53.5% of all MRSA contains EG. Considering the fact that genotypic analysis in our study has only been performed with MRSA, the incidence of EG in the analysis of *S. aureus* isolates might be much higher.

More than 20 different staphylococcal enterotoxins (SEA to SEI, SER to SET and SEW to SET) and SE-like proteins (SEIJ to SEIQ, SEIU, SEIU2 and SEIV) are mentioned in the literature. The most common SEs are SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEF, SEG, SEH and SEI (Argudin et al., 2010).

During the study, we find the enteric toxin-encoding genes from MRSA isolated from pig farms and slaughterhouses in different proportions - *sea* (48.4%), *seh* (9.7%), *sec* (5.9%) and *seb* (2.4%). In comparison, in China (Chao et al., 2015), no *sec* gene has been detected in pigs and other animals, but the *seh* gene has been detected only in chickens and ducks (1.13% for both species), whereas we found the *sec* gene for *sec* gene in MRSA pigs 7.3% and *seh* 10.8% of cases. In the literature, the *sea* gene is referred to as one of the most common SE coding genes found in staphylococcal isolates associated with food toxic infections (Argudin et al., 2010).

Analyzing the prevalence of enterotoxin-encoding genes in farms, it was found that, contrary to the prevalence of MRSA, which increases with increasing farm size and pig density, overall the prevalence of all tested enterotoxins in MRSA positive pigs was observed in small farms (see Fig. 16).

As for the *sea* gene, it is found in the small farm for all MRSA positive pigs, but in the large - 50.0% of the animals. In addition, the occurrence of enterotoxin-encoding gene *sea* ranges from 30.0% in fattening pigs to 60.9% in 4- 4.5 months old pigs. Also in a low-capacity slaughterhouse, the investigated EG has been found in all MRSA positive pigs and 41.9% in a high-capacity slaughterhouse. Thus, the presence of the *sea* gene found in the study points to the pig industry as an important source of food toxic infections (Argudin et al., 2010).

The SEA has also been one of the most commonly found enterotoxin in the outbreak of toxic infections in France (69.7% of cases) for various types of food between 1981 and 2002 (Kerouanton, 2007) and outbreaks in Austria, USA (Schmid et al., 2007), Brazil (Veras et al., 2008), Taiwan (2001-2003). In Korea, even *sea* gene was detected in 90.0% of MRSA food isolates (Chiang et al., 2008), in Italy, 42.8% of cases of MRSA isolates were found in porcine and 42.8% in *sec* (Basanisi et al., 2016).

In the case of workers involved in pig industry, in a study conducted by authors (Mutters et al., 2014), only 3.0% of pigs and 6.3% of workers in MRSA isolates found the presence of *sea* while in our study, the *sea* gene was detected in 50.4% of pigs and 66.7% - for employees.

A high occurrence of *sea* genes was also found in hospital patients in Germany, but only 3% in pigs and 6.3% in pigs (2 out of 32) (in Mutters et al. al., 2016). In our study, the *sea* gene has been detected in 5 of 7 isolates of MRSA positive workers. In contrast, data from other countries show a higher incidence of *sea* gene among MRSA isolates - 33.0% in China (Wang et al., 2013), 17.5% in Malaysia (Kim et al., 2006), 27.0% in Korea (Peck et al., 2009), 12.0% in the Czech Republic (Sila et al., 2009) and 30.0% in Turkey (Demir et al., 2011).

In contrast to the findings of other authors (Holtfreter et al., 2007; Varshney et al., 2009; Chao et al., 2015), where the majority of multiplex EG presence is about 80.0% of MRSA isolates, in our study, only 22.2% of all MRSA contains two and more EG (more often *sea* and *seh* genes).

Contrary to the claim (Pinchuk et al., 2010), the ***sec* gene** is the most commonly found enterotoxin gene in MRSA animal isolates, we found a 5.9% *sec* gene from all tested MRSA isolates and 7.2% MRSA positive pig.

The results of our study differ from other studies (Smyth et al., 2005; Monecke et al., 2007; Ikawaty et al., 2010), where MRSA is not present in animal-derived LA-MRSA isolates (cows), but high rates of occurrence have been found in the *sec* gene - from 30% to 100% cows.

Other scientists (Hallin et al., 2011; Huber et al., 2011) have not identified the presence of *sec* gene in MRSA pig and cow isolates in their studies. Chinese scientists (Chao et al., 2015) - 10.7% and others - 5.9% in MRSA isolates from pigs have identified a *sea* gene (Huber et al., 2010) or have not found it at all (Wendlandt et al., 2013b).

In our study, the overall occurrence of enterotoxin genes ranges from zero to 100.0%. It has been observed that the occurrence of *sea* gene variation among different MRSA *spa* types varies - from 42.9% (*spa* type t1174) to 100.0% (*spa* type t127, t899, t1255, t2421, t2451 and new A); but the occurrence of *sec* gene varies from 8.3% (*spa* type t337) to 50.0% (*spa* types t33127 and t400). In turn, the prevalence of the *seh* gene varies from 25.0% (*spa* type t337) to 100% (*spa* types t127 and t2451). Interestingly, all MRSA *spa* type t127 isolates have been found to have enterotoxin-encoding gene *seb*.

In the genome of MRSA *spa* types isolates t1580, t2383 and t1580, which were detected in pig farms and isolates t318, t1250, t421, obtained from slaughterhouses, the presence of enterotoxin-encoding genes has not been detected in the genome. Despite the presence of *sea* gene in all isolates of the MRSA *spa* type t899, the lowest antimicrobial resistance was found in this type of isolates - staphylococcal isolates are resistant only to penicillin and tetracycline, while other MRSA *spa* type isolates are resistant to at least eight types of antibiotics. The MRSA *spa* type t1744 and t1333 isolates, which show high antimicrobial resistance to trimethoprim-sulfonamides, gentamicin, clindamycin and erythromycin, in the same time contain *sea*, *sec* and *seh* genes, but *spa* type t127 with low antimicrobial resistance does not show resistance to meropenem, amoxicillin and clavulanic acid,

ciprofloxacin, trimethoprimulfonamides, clindamycin, gentamicin and erythromycin, however, contain not only the *sea*, *sec* and *seh* genes, but also the *seb* gene.

Also, Chinese scientists (Chao et al., 2015) have found that even within one MRSA *spa* type, virulence genes, such as MRSA *spa* type t127 isolates, contain *sea*, *seb* and *seh* genes that are also present in our study. Contrary to the findings of Chinese scientists (Chao et al., 2015), we showed that the isolates of the MRSA *spa* type t011 and t899 also contain a *sec* gene.

Similar to German scientists (Becker et al., 2017), we also found that the MRSA *spa* t127 isolates (isolate from the slaughterhouse F floor and from the carcass) contain a *sea* gene, while the MRSA *spa* type t011 isolates (found in all environments in slaughterhouses and farms) had no *sec* gene.

In our study in pig carcasses and workers we mostly find EG – *sea*, while in sows' milk - *sec* (see Table 5). MRSA was found in environmental samples, which contain both *sea*, *sec* and *seh* ET genes in their genome. Also found in carcasses are MRSA, whose genome contains other tested ET genes - *seb*, *seh* and *sec*, which indicate carcass contamination in the process and the potential risk to consumers.

When evaluating the presence of ET-encoding genes in the MRSA genome, we found that the *sea* gene is mostly found in isolates alone (70.4% of all MRSA isolates that contained ET-encoding genes) or with the *seh* gene (14.8%); *seh* gene tends to be in isolates with other ET encoding genes - *sea* and *seb*; but *sec* gene is present in isolates both alone and in combination with the *sea* gene (see Table 6).

Other authors have also found that for various reasons still unknown, the staphylococcal enterotoxin-encoding genes of the same staphylococcal isolates of the same origin are very different and vary widely depending on the staphylococcal genotype (Honeyman et al., 2006). MRSA isolates that contain multiple enterotoxin-encoding genes are capable of causing more complex illnesses and more severe health problems.

There is still no evidence of a strong correlation between antimicrobial resistance and enteropathogenicity of *S. aureus* (the ability to produce enterotoxins) - there is no evidence that there is a difference in enteropathogenicity between methicillin-sensitive *S. aureus* and MRSA (Ortega et al., 2010), but in our study we found that not all MRSA isolates that show resistance to a larger number of antibiotics also contain several enterotoxin-encoding genes.

CONCLUSIONS

1. On average, 19.7% of pigs in the holdings included in the study are MRSA positive, but in farms with a high number of animals, MRSA can be found more frequently (on average 44.2% in animals). Resistant staphylococci is more common in 3 to 4.5 months old piglets (31.9%) as well as is found in sow milk (4.3% in samples). Within the holdings, identical MRSA *spa* types (t011, t400) was observed at the same time in sows, sow milk and suckling piglets, indicating that MRSA was transmitted at an early age. Thus, a certain age of the animals is not a determining factor for the occurrence of MRSA.
2. On average, 51.0% of pigs are MRSA positive in slaughterhouses. Greater slaughterhouse capacity shows a tendency for increased MRSA occurrence (MRSA found in large-capacity slaughterhouses averaged 88.6% and low-capacity- 8.0%).
3. The dehairing method used in slaughterhouses may affect the contamination process of carcasses. Using the scalding and whistling method, MRSA has a positive average of 8.9% and 2.9% of pig carcasses respectively. In the slaughterhouses included in the study, the presence of identical MRSA *spa* types (t1333 and t127) was detected in both pigs and carcasses and the environment, indicating the transfer of carcass contamination from MRSA positive pigs and the environment.
4. Slaughterhouse workers have a higher tendency (MRSA positive 21.1% of people and 8.3% of environmental samples) to get infected with MRSA than pigs servicing staff (MRSA positive 13.3% of human and negative environmental samples), and there is a likelihood of contamination of MRSA carcasses with HA-MRSA. A different genome has been observed in the human and porcine MRSA, both on farms and in slaughterhouses, and consequently there has been no endemic detection of MRSA in pigs in the pig industry.
5. In pigs on farms, MRSA is more commonly found in nasal (on average 8.2% in animals), but in slaughterhouses - in rectal (19% in animals) samples, thus, by conventional nasal sampling in slaughterhouses, the diagnostic capabilities of MRSA are reduced.
6. In the study, HA-MRSA isolates showed higher resistance to penicillin (100.0%), cefalexin (50.0%) and meropenem (16.7%) than LA-MRSA isolates (penicillin resistance - 98.8%, cefalexin - 38.8%, meropenem-7.5%), whereas LA-MRSA had higher resistance to tetracycline (92.5%) and trimethoprim-sulfonamides (23.0%) than HA-MRSA (resistance to tetracycline 83.3%, trimethoprim sulfonamides 20.1%). High MRSA-Tet resistance in pig farms shows that it could become the most common type of HA-MRSA in our region in the future.
7. MRSA isolates in slaughterhouses showed greater resistance to erythromycin (67.4%), clindamycin (64.4%), gentamicin (53.1%), and trimethoprim-

- sulfonamides (38.8%), indicating that this strain of staphylococci occurring in this pig-breeding industry may also pose a potential health hazard to consumers.
- 8. MRSA for the most common *spa* types (t011, t1333, t337, t1985, t808, t400) exhibits lower antimicrobial resistance than the less common *spa* types, and MRSA *spa* type t011 (7.9%) has a moderate susceptibility to vancomycin (a total of 19.8% MRSA isolates found in medium sensitivity) vancomycin), which indicates the highest tendency for *spa* type t011 to become resistant to vancomycin and to make future treatment difficult for humans and animals.
 - 9. Europe-specific LA-MRSA clone ST398 is endemic in pig farms in Latvia, but Asian-specific ST9 - in slaughterhouses. In slaughterhouses is a greater variety of MRSA *spa* types (n = 18) than on farms (n = 12), so slaughterhouses could serve as an environment for MRSA transfer and change of genome. The most common MRSA *spa* types on farms are t808, t1985 and t400, but in slaughterhouses - t337, t11744 and t318.
 - 10. There was no relationship between the presence of MRSA AMR and enterotoxin-encoding genes in the staphylococcal genome. On average, MRSA contained enterotoxin genes in 53.5% of cases, most often *sea* (48.8%) and less frequently *seh* (9.7%), *sec* (5.9%) and *seb* (2.4%). We observed that with the decrease in the size of pig farms, the amount of enterotoxin-containing MRSA increases. MRSA *spa* types t1333 and t127 showed the presence of all tested enterotoxin-encoding genes (*sea*, *seb*, *sec*, *seh*) in the genome as well as all these enterotoxin-encoding genes found in MRSA isolates from carcasses, indicating that carcasses may be a source of toxic infection for the consumer.

RECOMENDATIONS FOR PRACTICE

1. Given that the occurrence of *S. aureus* and MRSA is facilitated by the regrouping of pigs and by contact with pigs from other herds, it is advisable to minimize the regrouping of pigs in different groups in pig holdings as well as the possibility of pig contact in slaughterhouses from different holdings should be avoided. It is also important to ensure efficient cleaning and disinfection of housing, transport and pens (especially in slaughterhouses with high animal turnover and concentration) in order to minimize the transfer of MRSA from the environment to animals, workers and carcasses.
2. Perform regular and frequent replacement of scalding water to reduce the risk of contamination of carcasses by *S. aureus* and MRSA.
3. In order to provide more effective diagnostic for *S. aureus* and MRSA, it is recommended to obtain several microbiological samples (both respiratory and digestive systems) from one animal.
4. To minimize the time of close contact with the pigs in the pig-breeding industry, both on the farm and in the slaughterhouse. As MRSA is present in the respiratory system, respiratory masks are recommended.
5. For prophylactic purposes, especially in cases of sow mastitis, and in cases of massive purulent pathological processes in pigs and at the same time increased mortality of these sick animals, it is recommended to take and investigate microbiological samples on MRSA.