



UNIwersytet  
PRZYRODNICZY  
WE WROCLAWIU

SZKOŁA DOKTORSKA  
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ  
KATEDRA EPIZOOTIOLOGII Z KLINIKĄ PTAKÓW I ZWIERZĄT EGZOTYCZNYCH

Lek. wet. Marta Miszczak

**Charakterystyka epidemiologiczna gronkowców izolowanych  
od ludzi oraz psów i kotów, ze szczególnym uwzględnieniem  
*Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus pseudintermedius***

Promotorzy

Prof. dr hab. Krzysztof Rypuła  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Prof. dr hab. Leszek Szenborn  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Wrocław 2023

## Streszczenie

Wzrost lekooporności bakterii obserwowany jest zarówno w medycynie ludzkiej, jak i weterynaryjnej. W ostatnich latach poważnym problemem stała się nieefektywna antybiotykoterapia zakażeń. Problem ten dotyczy wielu rodzajów bakterii, w tym gronkowców (*Staphylococcus spp.*) - ubikwitalnych, Gram-dodatnich ziarniaków. Większość z nich stanowi oportunistyczną mikrobiotę zasiedlającą skórę i błony śluzowe ludzi i zwierząt. Uważa się, że największe ryzyko dla zdrowia związane jest z nosicielstwem gronkowców koagulazododatnich (CoPS) - *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty - *S. aureus*) i *Staphylococcus pseudintermedius* (*S. pseudintermedius*), natomiast gronkowce koagulazo-ujemne (CoNS) były dotychczas uważane wyłącznie za gatunki niepatogenne lub za środowiskowe zanieczyszczenie próbek. Podczas, gdy gatunki koagulazo-dodatnie, zwłaszcza gronkowiec złocisty, są dobrze poznane, wiedza o gronkowcach nieprodukujących koagulazy jest nadal fragmentaryczna. W ostatnich latach zaobserwowano wzrost znaczenia CoNS w aspekcie klinicznym, z uwagi na występowanie u ludzi i zwierząt poważnych zakażeń wywołanych przez te bakterie.

W związku z powyższym, celem badań była charakterystyka epidemiologiczna gronkowców izolowanych od ludzi i zwierząt towarzyszących, identyfikacja gatunkowa uzyskanych szczepów bakteryjnych z wykorzystaniem nowoczesnych metod, takich jak spektrometria masowa MALDI-TOF MS z dodatkową genotypizacją wybranych szczepów zaawansowanymi metodami molekularnymi wraz z oceną ich lekooporności. W węższym zakresie celem było określenie oporności na metycylinę na poziomie genetycznym i fenotypowym, a także oznaczenie typów *spa* badanych szczepów gronkowca złocistego. Dodatkowym aspektem projektu było badanie ankietowe, dzięki któremu pozyskano informacje na temat charakterystyki grup badanych, środowiska pracy i zamieszkania oraz innych potencjalnych czynników ryzyka kolonizacji przez gronkowce.

Materiał w postaci wymazów bakteriologicznych pozyskano od ludzi oraz psów i kotów. Od każdej osoby pobrano wymazy ze skóry za małżowiną uszną i w zgięciu łokciowym, przedsionka jamy nosowej i jamy ustnej. Materiał od zwierząt pochodził z zewnętrznego przewodu słuchowego, worka spojówkowego, przedsionka jamy nosowej, jamy ustnej, skóry w pachwinie oraz odbytu. Jeśli zwierzę posiadało ranę lub rany, dodatkowy wymaz pobierany był także z tej lokalizacji. Badane osoby oraz właściciele zwierząt proszeni byli o wypełnienie ankiet, w których pytano o cechy osobnicze, leczenie w ciągu ostatnich 12 miesięcy (z uwzględnieniem przypadków hospitalizacji i antybiotykoterapii), możliwość kontaktu ze zwierzętami, a także warunki środowiskowe, w których żyją badani ludzie i zwierzęta. Celem identyfikacji gatunkowej uzyskanych szczepów bakteryjnych wykonano badanie bakteriologiczne, test próbówkowy na wytwarzanie koagulazy oraz badanie metodą MALDI-

TOF MS. Przynależność gatunkową *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus pseudintermedius* potwierdzono odpowiednio poprzez detekcję genów *nuc*, *spa* oraz *pta* z wykorzystaniem metody PCR-RFLP zgodnie z wytycznymi literatury. Lekowrażliwość szczepów z rodzaju *Staphylococcus* na poziomie fenotypowym określono z wykorzystaniem metody dyfuzyjno-krażkowej oraz MIC w oparciu o standardy CLSI. Genetyczne determinanty oporności na wybrane grupy chemioterapeutyków przeciwdrobnoustrojowych wykrywano metodą PCR. Wykonano również badanie metycylinyoporności szczepów CoNS pochodzących od zwierząt metodą MIC.

W badaniu wzięło udział 161 kotów, 113 psów i 261 osób, a szczegółowym analizom laboratoryjnym poddano 165 szczepów *S. pseudintermedius*, 202 szczepy *S. aureus* oraz 413 szczepów CoNS. Najczęściej izolowanymi gatunkami gronkowców były od badanych ludzi – *S. epidermidis* i *S. aureus*, od kotów – *S. felis* i *S. epidermidis* oraz od psów – *S. pseudintermedius* i *S. epidermidis*. Wśród badanych izolatów CoPS dominowała oporność na penicylinę, ampicylinę, klindamycynę, erytromycynę i amoksycylinę z kwasem klawulanowym. Częstość izolacji metycylinyopornych gronkowców była znacznie wyższa w przypadku CoNS (18%) niż CoPS (2%). Stwierdzono również znaczny odsetek (niemal 16%) szczepów *S. aureus* i *S. pseudintermedius*, u których obecne były geny *vanA* i *vanB*. Analiza statystyczna danych uzyskanych z ankiet wykazała, że wśród istotnych czynników ryzyka kolonizacji badanych ludzi i zwierząt przez gronkowce należy wymienić m.in. ekspozycję na środowisko medyczne (zarówno w ramach wykonywanej pracy, jak i w roli pacjenta), leczenie w poprzednim roku (włączając terapie przeciwdrobnoustrojowe) i kontakt ze zwierzętami (w życiu zawodowym oraz prywatnym).

Rezultatem przeprowadzonych badań własnych są sformułowane wnioski, stanowiące odpowiedzi na postawione pytania badawcze, ale także implikacje praktyczne. Potwierdzono, że gronkowce powszechnie kolonizują ludzi i zwierzęta, a opisana lekooporność stanowi wskazówkę dla klinicystów przy podejmowaniu decyzji terapeutycznych. Wysoki odsetek u zwierząt szczepów CoNS opornych na metycylinę jest niepokojący i skłania do refleksji nad potencjalnym zagrożeniem dla zdrowia publicznego, jakie ze sobą niesie, zważywszy na częstość i bliskość kontaktu ludzi z towarzyszącymi im zwierzętami. Poznanie czynników ryzyka kolonizacji ludzi oraz psów i kotów przez gronkowce pozwala na opracowanie i wdrożenie działań edukacyjnych i profilaktycznych.