



UNIwersytet
Przyrodniczy
we Wrocławiu

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

Rozprawa została przygotowana w ramach kształcenia w Interdyscyplinarnej Szkole Doktorskiej „ProHum - utworzenie Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich - planowanie badań eksperymentalnych, tworzenie i optymalizacja zwierzęcych modeli doświadczalnych z umiejętnościami transferowania ich do badań klinicznych w medycynie człowieka” w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020; Osi III Szkolnictwo wyższe dla gospodarki i rozwoju; Działania 3.2. Studia doktoranckie (Umowa nr POWR.03.02.00-00 -I008/17) zawarta pomiędzy Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu (Lider), a Uniwersytetem Medycznym im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (Partner).



Rzeczpospolita
Polska

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Część opisanych w dysertacji analiz została sfinansowana przez Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu z projektu badawczego o numerze N020/0005/20, w ramach programu “Bon doktoranta Szkoły Doktorskiej UPWr”.

*Mojej Mamie,
bez której ta rozprawa nigdy by nie powstała.*

Serdeczne podziękowania składam:

Promotorom rozprawy – Panu Profesorowi Krzysztofowi Rypule oraz Panu Profesorowi Leszkowi Szenbornowi – za nieocenione wsparcie merytoryczne, techniczne oraz pokłady cierpliwości i zrozumienia.

Pani Doktor Karolinie Bierowiec za objęcie opieką naukową jeszcze na etapie studiów weterynaryjnych, a także za każdą cenną wskazówkę, którą otrzymałam od tego czasu. To Pani pokazała mi, jak interesujące są gronkowce i skłoniła do ciągłego zadawania pytań i poszukiwania odpowiedzi w tym obszarze.

Panu Profesorowi Andrzejowi Gamianowi oraz całemu zespołowi Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu za umożliwienie przeprowadzenia etapu badań z wykorzystaniem metody MALDI-TOF MS.

Pracownikom Katedry Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, a w szczególności Paniom Magdalenie Karwańskiej i Magdalenie Siedleckiej, za wartościowe rady i poświęcony czas.

Pracownikom Katedry i Kliniki Pediatrii i Chorób Infekcyjnych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu za pomoc podczas realizacji badania z udziałem ludzi.

Wszystkim osobom, które pomogły mi w pozyskaniu materiału, a zwłaszcza koleżankom i kolegom lekarzom weterynarii i technikom weterynarii, diagnostom laboratoryjnym, lekarzom i pielęgniarce, którzy swoją uczynnością i życzliwością wsparli mnie w realizacji tej części badań.

Mojej Rodzinie – za cierpliwość, wyrozumiałość i dodawanie sił do pracy.

Autorka

Część wyników oraz niektóre informacje i wnioski zamieszczone w dysertacji zostały opublikowane w formie artykułów oraz doniesień konferencyjnych:

Artykuł przeglądowy:

MiszczaK, M., Lachowska, S. i Bierowiec, K. (2021). *Staphylococcus pseudintermedius*: Is it a real threat to human health? *Postępy Higieny I Medycyny Doświadczalnej*, 75, 980–986. <https://doi.org/10.2478/ahem-2021-0029>

Streszczenia opublikowane po wystąpieniach konferencyjnych:

MiszczaK, M., Prorok, P., Korzeniowska-Kowal, A., Wzorek, A., Gamian, A., Szenborn, L., Rypuła, K. i Bierowiec, K. (2023). Are Children with Pets at Greater Risk of Being Colonized by Staphylococci? – A Preliminary Report. *International Journal of Infectious Diseases*, 130, S53-S156. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2023.04.260>

MiszczaK, M., Korzeniowska-Kowal, A., Wzorek, A., Gamian, A., Szenborn, L., Rypuła, K. i Bierowiec, K. (2022). Prevalence of Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS) in Healthy and Sick Cat and Dog Populations in Poland. *International Journal of Infectious Diseases*, 116, S64–S65. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.12.152>

Prorok, P., **MiszczaK, M.** i Bierowiec, K. (2022). Antybiotykooporność szczepów *Staphylococcus aureus* izolowanych od ludzi i zwierząt. W M. Babicz, K. Kropiwiiec-Domańska i W. Chabuz (red.), *Wybrane zagadnienia produkcji zwierzecej* (T. 3, s. 155–162).

Prorok, P., **MiszczaK, M.**, Ściebura, D., Szenborn, L., Rypuła, K. i Bierowiec, K. (2021). *S. aureus* Colonization of Owners and Their Pets. W A. Satana, M. Göre, F. D. Gökalp, S. F. Arslanoglu i M. F. Baran (Red.), *Proceeding Book: 3rd World Conference on Sustainable Life Sciences WOCOLS 2021 E-Conference 19-20 October 2021 Online* (s. 24). Erciyes University.

MiszczaK, M., Korzeniowska-Kowal, A., Wzorek, A., Gamian, A., Rypuła, K., Prorok, P., Ściebura, D. i Bierowiec, K. (2021). Koagulazo-ujemne gronkowce izolowane od zwierząt – niedoceniane zagrożenie. W (red.), *XVI Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych: „Omnia Autem Animalia Sunt”* (s. 417).

Bierowiec, K., **MiszczaK, M.**, Biskupska, M., Korzeniowska-Kowal, A., Tobiasz, A., Rypuła, K. i Gamian, A. (2019). Prevalence of *Staphylococcus pseudintermedius* in cats population in Poland. *International Journal of Infectious Diseases*, 79, 70–71. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.11.180>

SPIS TREŚCI

Wykaz skrótów	1
Streszczenie w języku polskim	3
Streszczenie w języku angielskim (abstract)	5
WPROWADZENIE	7
PODSTAWY TEORETYCZNE BADAŃ	
1. <i>Staphylococcus aureus</i>	16
1.1. Charakterystyka gatunku	16
1.2. Występowanie i chorobotwórczość u ludzi	18
1.3. Występowanie i chorobotwórczość u zwierząt towarzyszących	19
1.4. Czynniki zjadliwości	20
1.5. Lekooporność	24
2. <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	25
2.1. Charakterystyka gatunku	25
2.2. Występowanie i chorobotwórczość u zwierząt towarzyszących	26
2.3. Występowanie i chorobotwórczość u ludzi	28
2.4. Czynniki zjadliwości	29
2.5. Lekooporność	29
PROBLEMATYKA I METODA BADAŃ WŁASNYCH	
3. Pytania i hipotezy badawcze oraz uzasadnienie celu badań	32
4. Materiały i metody	35
4.1. Organizacja i pobieranie materiału do badań	35
4.2. Przebieg badania ludzi	35
4.3. Przebieg badania zwierząt	37
4.4. Badana grupa ludzi i zwierząt	38
4.5. Badanie bakteriologiczne	39
4.6. Identyfikacja gatunkowa szczepów	41
4.6.1. Zdolność wytwarzania koagulazy	41
4.6.2. Identyfikacja metodą MALDI-TOF MS	41
4.7. Izolacja genomowego DNA	42
4.8. Wykrywanie genów metodą PCR	42
4.8.1. Wykrywanie genów potwierdzających przynależność gatunkową <i>S. aureus</i>	43
4.8.2. Weryfikacja przynależności gatunkowej <i>S. pseudintermedius</i> metodą PCR-RFLP	45
4.8.3. Identyfikacja genów odpowiadających za lekooporność	46

4.8.4. Wizualizacja otrzymanych produktów PCR	46
4.9. Określenie typów <i>spa S. aureus</i>	47
4.10. Określenie lekooporności szczepów metodą dyfuzyjno-krażkową	47
4.11. Określenie metycylooporności metodą MIC	48
4.12. Określenie czynników ryzyka kolonizacji badanych zwierząt i ludzi przez gronkowce	49
4.13. Opis zastosowanych analiz statystycznych	49
WYNIKI BADAŃ	
5. Charakterystyka próby	50
6. Izolacja i identyfikacja szczepów z rodzaju <i>Staphylococcus</i> u badanych ludzi i zwierząt	53
6.1. Występowanie gronkowców u zwierząt	53
6.2. Występowanie gronkowców u ludzi	55
6.3. Częstość występowania szczepów <i>S. aureus</i> i <i>S. pseudintermedius</i> z uwzględnieniem lokalizacji pobrania wymazu oraz gatunku gospodarza	56
7. Typowanie <i>spa Staphylococcus aureus</i>	59
8. Lekooporność	63
8.1. <i>Staphylococcus aureus</i> oraz <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	63
8.1.1. Występowanie genów determinujących lekooporność	63
8.1.2. Lekooporność oznaczona metodą dyfuzyjno-krażkową	66
8.1.3. Oznaczenie oporności na metycylinę metodą MIC	70
8.1.4. Szczepy metycylooporne	70
8.1.4.1. Częstość występowania szczepów opornych na metycylinę na poziomie fenotypowym w zależności od lokalizacji pobrania wymazu	71
8.1.4.2. Częstość występowania szczepów posiadających geny <i>mecA/mecC</i> w zależności od lokalizacji pobrania wymazu	73
8.1.5. Szczepy wielolekooporne	76
8.2. Metycylooporność gronkowców koagulazo-ujemnych oznaczona metodą MIC	78
9. Czynniki ryzyka związane z kolonizacją badanych ludzi i zwierząt przez gronkowce	79
9.1. Czynniki związane z kolonizacją zwierząt przez gronkowce	79
9.2. Czynniki związane z kolonizacją ludzi i zwierząt przez <i>Staphylococcus aureus</i> i <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	81

9.2.1. Czynniki determinujące występowanie szczepów metycylinoopornych	81
9.2.2. Czynniki determinujące występowanie szczepów wielolekoopornych na poziomie fenotypowym i genotypowym	87
10. Dyskusja wyników	92
11. Wnioski	108
PIŚMIENNICTWO	110
Spis tabel	129
Spis rycin	131
ZAŁĄCZNIKI	133

WYKAZ SKRÓTÓW

ACME	ang. arginine catabolic mobile element
AMR	ang. antimicrobial resistance
BHI	ang. brain-heart infusion
CA-MRSA	ang. community-acquired MRSA
CC	ang. clonal complex
CDC	Centre for Disease Prevention and Control
CoNS	ang. coagulase-negative staphylococci
CoNS-SCVs	ang. CoNS - small colony variants
CoPS	ang. coagulase-positive staphylococci
CF	ang. clumping factor
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
ETA	ang. exfoliative toxin; epidermolytic toxin A
ETB	ang. exfoliative toxin; epidermolytic toxin B
FA-MRSA	ang. farm-associated MRSA
FBR-BSIs	ang. foreign body-related bloodstream infections
F-PVL	ang. fast-Panton-Valentine Leucocidin
GISA	ang. glycopeptide-intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
HA-MRSA	ang. hospital-associated MRSA
HAIs	ang. hospital-acquired infections
HCCA	ang. alpha-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
HLMR	ang. high-level mupirocin resistance
IWG-SCC	International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements
LA-MRSA	ang. livestock-associated MRSA
LLMR	ang. low-level mupirocin resistance
LPSN	List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature
MALDI-TOF MS	ang. matrix-assisted laser desorption ionization — time of flight mass spectrometry
<i>Mdn</i>	mediana
MDR	ang. multidrug resistance
MDRSA	ang. multidrug resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MDRSP	ang. multidrug resistant <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
MEG	ang. mobile genetic elements
MIC	ang. minimal inhibitory concentration

MRSA	ang. methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MSCRAMMs	ang. Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
MSSA	ang. methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>N</i>	liczebność próbki
<i>n</i>	liczebność grupy, próbki
NPPc	ang. non-professional phagocytic cells
OR	iloraz szans (odds ratio)
<i>p, p-value</i>	wartość <i>p</i> testu statystycznego
<i>p_{gof}</i>	wartość <i>p</i> testu dobroci dopasowania χ^2
<i>p_{adj}</i>	wartość <i>p</i> skorygowana na porównania wielokrotne
PBP2a	ang. penicillin-binding protein 2a
PCR	ang. polymerase chain reaction
PCR-RFLP	ang. polymerase chain reaction – restriction fragments length polymorphism
PFT	ang. pore-forming toxins
PVIE	ang. early prosthetic valve infective endocarditis
PVL	ang. Panton-Valentine leucocidin
<i>Q1</i>	pierwszy kwartyl (25%)
<i>Q3</i>	trzeci kwartyl (75%)
S-PVL	ang. slow-Panton-Valentine Leucocidin
SAGs	ang. superantigen toxins
<i>SCC_{mec}</i>	ang. Staphylococcal Chromosomal Cassette <i>mec</i>
SCV	ang. small colony variants
SIG	ang. <i>Staphylococcus intermedius</i> group
SSTIs	ang. skin and soft tissue infections
STSS	ang. Staphylococcal Toxic Shock Syndrome
TSST-1	ang. Toxic Shock Syndrome Toxin -1
VRE	ang. vancomycin-resistant <i>Enterococcus</i>
VRSA	ang. vancomycin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
VISA	ang. vancomycin-intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
WBC	ang. white blood cells
WHO	World Health Organization
95% CI	95% przedział ufności

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 koagulazo-dodatnich (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.

Abstract

An alarming increase of antibiotic resistance in bacteria is observed both in human and veterinary medicine. The lack of effective antibiotic therapy has become a serious problem in recent years. This problem affects many genera of bacteria, including staphylococci (*Staphylococcus spp.*) - ubiquitous, Gram-positive cocci. Most of them belong to the opportunistic microbiota that inhabit the skin and mucous membranes of humans and animals. It is believed that the most significant risk to humans and animals is associated with carrying of coagulase-positive staphylococci (CoPS) - *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Staphylococcus pseudintermedius* (*S. pseudintermedius*), while coagulase-negative staphylococci (CoNS) were considered exclusively as non-pathogenic species or environmental contamination of the sample. While CoPS, especially *Staphylococcus aureus*, are well known, the knowledge of the coagulase-negative staphylococci is still rather limited. In recent years, there has been an increase in the importance of CoNS in the clinical aspect, due to severe infections caused by these bacteria in humans and animals.

Therefore, the aim of the study was the epidemiological characterization of staphylococci isolated from humans and companion animals, species identification of the obtained bacterial strains using modern methods, such as mass spectrometry, the MALDI-TOF MS method with additional genotyping of selected strains using advanced molecular methods along with the assessment of their drug resistance. More narrowly, the aim was to determine methicillin resistance at the genetic and phenotypic level, as well as to determine the *spa* types of the tested strains of *S. aureus*. An additional aspect of the project was a survey, from which information on the characteristics of the study groups, working and living environment, and other potential risk factors for colonization by staphylococci was obtained.

The study material consists of bacteriological swabs taken from humans and dogs and cats. From every person, the swabs from the skin behind the auricle and in the elbow bend, nasal atrium and oral cavity were taken. The material from animals was collected from the external auditory canal, conjunctival sac, nasal atrium, oral atrium, skin in the groin, rectum and possible wounds or skin lesions (if present). The people and animal owners were asked to complete questionnaires in which they were asked about personal characteristics, treatment in the last 12 months (including cases of hospitalization and antibiotic therapy), the possibility of contact with animals, as well as the environmental conditions in which the tested people and animals live. To identify the species of the obtained bacterial strains, a bacteriological test, a coagulase tube test and MALDI-TOF MS method were performed. Species affiliation of *S. aureus* and *S. pseudintermedius* was confirmed by detection of *nuc*, *spa* and *pta* genes, respectively, using the PCR-RFLP method in accordance with the guidelines of the literature.

The drug susceptibility of *Staphylococcus spp.* strains at the phenotypic level was determined using the disc diffusion and MIC methods based on the CLSI standards. Genetic determinants of resistance of selected groups of antimicrobial chemotherapeutics were detected by PCR. Methicillin resistance of CoNS strains derived from animals was also tested using the MIC method.

161 cats, 113 dogs and 261 people participated in the study, and 165 strains of *S. pseudintermedius*, 202 strains of *S. aureus* and 413 strains of CoNS were selected to detailed laboratory analyses. The most frequently isolated staphylococcal species were *S. epidermidis* and *S. aureus* from humans, *S. felis* and *S. epidermidis* from cats, and *S. pseudintermedius* and *S. epidermidis* from dogs. Among the tested CoPS isolates, resistance to penicillin, ampicillin, clindamycin, erythromycin, and amoxicillin with clavulanic acid prevailed. The isolation rate of methicillin-resistant staphylococci was visibly higher for CoNS (18%) than for CoPS (2%). A significant percentage (nearly 16%) of *S. aureus* and *S. pseudintermedius* strains were also found to contain the *vanA* and *vanB* genes. Statistical analysis of the data obtained from the surveys showed that among the significant risk factors of colonization of testes people and animals by staphylococci, one should mention, among others: exposure to the medical environment (both as job and as a patient), treatment in the previous year (including antimicrobial treatments) and contact with animals (in professional and private life).

The results of the conducted own research are formulated conclusions, which are answers to the research questions, but also practical implications. It has been confirmed that staphylococci commonly colonize humans and animals, and the described drug resistance is a guideline for clinicians when making therapeutic decisions. The high percentage of methicillin-resistant CoNS strains in animals is alarming given the frequency and proximity of human contact with companion animals. Understanding the risk factors of colonization of humans, dogs and cats by staphylococci allows for the development and implementation of educational and preventive measures.

WPROWADZENIE

143 lata temu, 36-letni szkocki chirurg Alexander Ogston (1844-1929), zaniepokojony wysoką śmiertelnością pooperacyjną, zaczął badać przyczyny zakażeń ran i bakteriemii u swoich pacjentów (Lyell, 1989; Newsom, 2008). Wykonywał rozmazy z ropy, poszukując mikroorganizmu odpowiedzialnego za ten proces. W ten sposób odkrył, że w ropie obecne były ziarniaki. Zaobserwował, że czasami ułożone były w łańcuchy nazywane już wcześniej „*Streptococcus*”, a czasami w skupiska, grona – te właśnie nazwał „*Staphylococcus*”. Powiązał również żółtawą barwę ropy pochodzącej z ostrych zakażeń z kolorem niektórych kolonii gronkowców, które określał „the deepest orange-yellow” (Newsom, 2008). Jednak w literaturze nadanie nazwy rodzaju „*Staphylococcus*” oraz gatunku „*Staphylococcus aureus*” przypisywane jest niemieckiemu lekarzowi Friedriechowi Juliusowi Rosenbachowi, który zaobserwował wzrost dwóch typów kolonii gronkowców – białych i żółtawych, które w 1884 roku nazwał odpowiednio *Staphylococcus pyogenes albus* i *Staphylococcus pyogenes aureus* (Rosenbach, 1884; Newsom, 2008), wspominając jednak Ogstona następująco: „I will here adopt the name proposed by Ogston” (F.J. Rosenbach; cyt. za Newsom 2008; Rosenbach 1884). Ostatecznie określono, że obserwowane przez Rosenbacha gatunki gronkowców to *Staphylococcus aureus* oraz *Staphylococcus epidermidis* (Welch, 1891; Becker i wsp., 2014). W obrębie rodzaju dokonano licznych reklasyfikacji, a mimo to nazwa gatunku gronkowca złocistego pozostaje nadal niezmienną. Sto lat później wykazano, że niektóre szczepy rosną tylko w warunkach beztlenowych; wyodrębniono więc dwa podgatunki: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* oraz *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* (De La Fuente i wsp., 1985; Kmieciak i wsp., 2017).

Cały rodzaj *Staphylococcus*, z gronkowcem złocistym na czele stał się przedmiotem licznych opracowań naukowych i prac badawczych, traktujących o problematyce zakażeń z udziałem tych bakterii, a także ich szczegółowej budowy i metabolizmu komórki, czynników zjadliwości i patogenności, miejsc bytowania, a nawet budowy genomu. Po wpisaniu hasła „*Staphylococcus*” w bazie PubMed, pojawia się 18 519 wyników, zaś w Google Scholar jest to aż 2 430 000 rezultatów, w tym od 2022 roku do dziś aż 35 600 (dostęp: 9.04.2023). Liczby te zaledwie dwóch baz obrazują skalę zainteresowania tym obszarem, odzwierciedlającą ciągle poszukiwania nowej wiedzy, rozwiązań diagnostycznych i sposobów terapii. Tak duża liczba doniesień mogłaby sugerować, że gronkowce nie mogą nas już niczym zaskoczyć. Co zatem wiadomo, a czego jeszcze nie wiemy o gronkowcach?

Gronkowce to ubikwitarne, Gram-dodatnie bakterie, spośród których większość zaliczana jest do składu mikrobioty oportunistycznej, zasiedlającej skórę i błony śluzowe różnych gatunków ssaków (Gómez-Sanz i wsp., 2013 (b); Elmoslemany i wsp., 2021; Rana i wsp., 2022; Wegener i wsp., 2022). Skład ten jest gatunkowo, a nawet osobniczo zmienny, ale

kilka gatunków gronkowców częściej kolonizuje ludzi i zwierzęta. Są to m.in. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus* - gronkowiec złocisty), *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. saprophyticus* u ludzi (Murray i wsp., 2018), *S. felis*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. xylosum*, *S. aureus* u kotów (Bierowiec, 2019) oraz *S. pseudintermedius*, *S. aureus*, *S. haemolyticus* i *S. lentus* u psów (Ruzauskas i wsp., 2015; Bean i wsp., 2016; Kizerwetter-Świda i wsp., 2018; Ma i wsp., 2020). Klasyfikację systematyczną gronkowców przedstawiono na rycinie 1.



Ryc. 1. Systematyka bakterii z rodzaju *Staphylococcus* (opracowanie na podstawie Szewczyk, 2019).

Kulisty lub owalny kształt komórek i tworzenie pakietów przypominających kiść winogron to wspólne cechy gronkowców (Szewczyk, 2019). Są szeroko rozpowszechnione i mogą stanowić przyczynę zakażeń w obrębie wszystkich układów, zarówno u ludzi, jak i u zwierząt (Szewczyk, 2019; Cocca i wsp., 2021; Rana i wsp., 2022). O tym, jak szybko gronkowce ewoluują świadczyć może fakt, że obecnie zidentyfikowanych jest już 85 gatunków i 30 podgatunków tego rodzaju (za: LPSN – List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature; www.lpsn.dsmz.de; dostęp: 9.04.2023). W 2017 roku było to odpowiednio 47 gatunków i 23 podgatunki (Josse i wsp., 2017). Zróżnicowanie gatunków w obrębie rodzaju w pewnym zakresie pozwala na identyfikację i ułatwia prowadzenie diagnostyki (Szewczyk, 2019).

Ze względu na obecność enzymu koagulazy i zdolność do wykrzepiania osocza, gronkowce dzielone są na koagulazo-ujemne (ang. coagulase-negative staphylococci, CoNS) oraz koagulazo-dodatnie (ang. coagulase-positive staphylococci, CoPS), które uważane są za

bardziej patogenne (Szewczyk, 2019; Elmoslemany, 2021; Abusleme, 2022; Thomson i wsp., 2022; Burke i wsp., 2023; Silva, 2023).

Przez wiele lat CoNS uznawano za niegroźnych komensali (Becker i wsp., 2014). Bakterie te powszechnie kolonizują skórę i błony śluzowe ludzi i zwierząt, a w określonych okolicznościach mogą powodować zakażenia miejscowe lub choroby ogólnoustrojowe (Pałkiewicz, 2003; Wos-Oxley i wsp., 2010; Becker i wsp., 2014). Aktualnie uważane są za istotne zagrożenie w kontekście zakażeń szpitalnych (ang. hospital-acquired infections; HAIs), powodowane przez gatunki *S. epidermidis* i *S. haemolyticus*, a także *S. saprophyticus* jako przyczyny ostrego zapalenia dróg moczowych, *S. lugdunensis* odpowiadającego za *endocarditis* i inne schorzenia (Becker i wsp., 2014; Abdel-Moein i wsp., 2020). Podobnie jak w przypadku CoPS, zakażenia powodowane przez gronkowce koagulazo-ujemne stanowią szczególne ryzyko u pacjentów po zabiegach wszczepienia implantów, osób przechodzących przez procedury medyczne (w tym hospitalizację) i mających kontakt ze środowiskiem przychodni czy szpitali (Becker i wsp., 2014).

S. epidermidis to jeden z najlepiej poznanych gronkowców koagulazo-ujemnych bytujących u ludzi i zwierząt, należący do *S. epidermidis* Group (Becker i wsp., 2014). W jej skład wchodzi również *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. hominis*, *S. pettenkoferi*, *S. simulans* i *S. warneri*. U ludzi kolonizuje najczęściej skórę pach, pachwin, krocza i przestrzeni między palcami u stóp oraz nozdrza przednie i spojówkę (Schleifer i wsp., 1975). Podobnie jest u zwierząt – najczęściej wymieniane miejsca kolonizowane przez te bakterie to skóra oraz rany (Gómez-Beltrán i wsp., 2020; Moon i wsp., 2022a; Moon i wsp., 2022b). Od chorych kotów i psów CoNS izolowane są m.in. z przypadków ropni, zapalenia ucha środkowego czy zapalenia spojówek (Bierowiec i wsp., 2019; Abdel-Moein i wsp., 2020). Wiedza na temat epidemiologii CoNS pochodzących od zwierząt są znacznie mniej obszerna niż CoPS (Elmoslemany i wsp., 2021). Gatunki te charakteryzuje wysoki stopień zmienności genetycznej, a badania wskazują, że niektóre klonów częściej niż inne powiązane są z zakażeniami, zarówno w środowisku szpitalnym jak i pozaszpitalnym u osób dorosłych i dzieci (Jamaluddin i wsp., 2008; Widerström i wsp., 2011; Gordon i wsp., 2012). Dzięki transferowi zmiennych struktur genetycznych, takich jak *SCCmec*, rozprzestrzenianie się szczepów o potencjale epidemicznym zachodzi bardzo szybko (Kozitskaya i wsp., 2005; Miragaia i wsp., 2007). W porównaniu do metycylinoopornych gronkowców złocistych (ang. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) mniej wiadomo na temat epidemiologii CoNS w placówkach ochrony zdrowia, a także o ich czynnikach wirulencji (Becker i wsp., 2014). Opiszano izolację klonów wielolekoopornych *S. epidermidis* i *S. haemolyticus* z zakażeń u noworodków (zwłaszcza dzieci przedwcześnie urodzonych), a także pacjentów intensywnej opieki medycznej (Wang i wsp., 1999; Krediet i wsp., 2004; Monsen i wsp., 2005; Foka i wsp., 2006; Widerström i wsp., 2006; Liakopoulos i wsp., 2008; Brito i wsp., 2009; Mazzariol i wsp., 2012; Røken i wsp., 2022).

Rozprzestrzeniane się pozaszpitalne *S. epidermidis* zostało udokumentowane również u osób zdrowych, które nie były hospitalizowane (Widerström i wsp., 2011).

Izolacja bakterii z grupy *S. epidermidis* w próbkach pochodzenia klinicznego każdorazowo wymaga podjęcia decyzji, czy odpowiadają za objawy kliniczne pacjenta jako źródło zakażenia, czy też stanowią jedynie kontaminację próbki jako mikrobiota komensalna (Becker i wsp., 2014). Pomimo, iż zakażenia z udziałem CoNS charakteryzują się głównie przebiegiem podoстрыm lub przewlekłym z nieswoistymi, często łagodnymi objawami klinicznymi (von Eiff i wsp., 2002), opisano również przypadki zachorowań o przebiegu ciężkim, niekiedy nawet ze skutkiem śmiertelnym, zwłaszcza u noworodków lub osób z osłabionym układem immunologicznym (np. leukopenią) (Becker i wsp., 2014). Zapalenie wsierdza, opon mózgowych, stawów, ropnie, a także lokalne objawy takie jak rumień, opuchlizna, ocieplenie, tkliwość tkanek i ropny wysięk to przykłady stanów wywołanych obecnością *S. epidermidis* (Hugonnet i wsp., 2004; Becker i wsp., 2014). Opisano również przypadki bakteriemii związanej z obecnością ciał obcych (ang. foreign body-related bloodstream infections; FBR-BSIs) (np. kateterów dożylnych lub portów naczyniowych) oraz zapalenia wsierdza (ang. early prosthetic valve infective endocarditis; PVIE) wywołanych przez *S. epidermidis*. Co ciekawe, w tym drugim przypadku *S. epidermidis* odpowiadał za zakażenie w 37-47% przypadków, a *S. aureus* tylko za 11-21% z nich (Moreillon i wsp., 2004; Hill i wsp., 2006; Alonso-Valle i wsp., 2010). Również przypadki zakażeń powodowanych przez małe warianty CoNS (ang. small colony variants; CoNS-SCVs) dotyczyły głównie zakażeń związanych z obecnością ciał obcych w organizmie (Baddour i wsp., 1990; von Eiff i wsp., 1999). Możliwość kolonizacji powierzchni biotycznych i abiotycznych, tworzenie biofilmu, produkcja enzymów, a nawet zdolność do internalizacji do wybranych komórek gospodarza i „ukrywanie się” przed jego mechanizmami obronnymi to wybrane czynniki zjadliwości CoNS (Peters i wsp., 1981; Christensen i wsp., 1982; Peters i wsp., 1982; Patti i wsp., 1994; Costerton i wsp., 1999; Chavakis i wsp., 2005; Clarke i wsp., 2006; Hirschhausen i wsp., 2010; Heilmann, 2011; Becker i wsp., 2014; Foster i wsp., 2014). Uważa się także, że szczepy CoNS będące komensalami na skórze i błonach śluzowych ludzi i zwierząt, mogą stanowić rezerwuar genów oporności i innych czynników wirulencji dla bardziej patogennych CoPS (Gómez-Beltrán i wsp., 2020). Z obserwacji własnych wynika, że w wielu laboratoriach komercyjnych, w przypadkach izolacji z materiału klinicznego gronkowców koagulazo-ujemnych, traktowane są one jako mikrobiota komensalna i dla tych szczepów nie jest rutynowo wykonywany antybiogram. Pacjent otrzymuje wówczas wynik o treści: „wynik ujemny” lub „nie stwierdzono obecności drobnoustrojów patogennych” (ryc. 2) i pozostaje w trudnej sytuacji. Występują uciążliwe objawy kliniczne (np. zapalenia zatok przynosowych), wskazujące na powikłanie bakteryjne procesu chorobowego, ale jednocześnie ujemny wynik badania uniemożliwia lekarzowi odpowiedzialny dobór leku. Wówczas albo wypisuje pacjentowi receptę na antybiotyki metodą

„w ciemno”, bazując na własnej wiedzy i doświadczeniu klinicznym, albo leczy pacjenta objawowo, bez stosowania antybiotyków. Pojawia się wtedy pytanie – która z dróg jest właściwa? Uzyskanie informacji o gatunkach bakterii, które zostały wyhodowane z próbki, ale nie zostały uznane przez laboratorium za patogenne jest zwykle niemożliwe, podobnie jak zlecenie laboratorium na własną prośbę oznaczenia oporności tych szczepów. Z drugiej strony stosowanie antybiotyków bez znajomości antybiogramu stwarza ryzyko nie tylko rozwoju lekooporności drobnoustrojów, ale także przedłużania lub niepowodzenia terapii. Biorąc pod uwagę powyższe aspekty, epidemiologia oraz charakterystyka czynników zjadliwości CoNS, a zwłaszcza *S. epidermidis* wydaje się szczególnie interesująca, zarówno u ludzi, jak i zwierząt.

Rodzaj badania: **Wymaz z nosogardzieli (bad. bakter.)**

wymaz / nosogardziel

Wynik badania:

Badanie wykonano metodą hodowlaną.

Nie stwierdzono obecności drobnoustrojów patogennych.

Legenda w przypadku wystąpienia antybiogramu:

O - oporny, W - wrażliwy, S (WZE) - wrażliwy przy zwiększonej ekspozycji drobnoustroju na lek, NO - naturalna oporność

Uwaga! S (WZE) - oznacza, że szczep jest wrażliwy w oparciu o wysoką dawkę leku i zmieniony sposób podawania (odstęp między dawkami, czas wlewu, dystrybucja, wydalanie) lub wynikającej z wysokiego stężenia leku w miejscu zakażenia. Tylko wtedy terapia może być skuteczna.

Interpretacja wyniku oznaczenia wrażliwości na antybiotyki zgodnie z aktualnymi zaleceniami EUCAST wersja 10.0 z dnia 01.01.2020 r. (www.eucast.org)

Autoryzował:

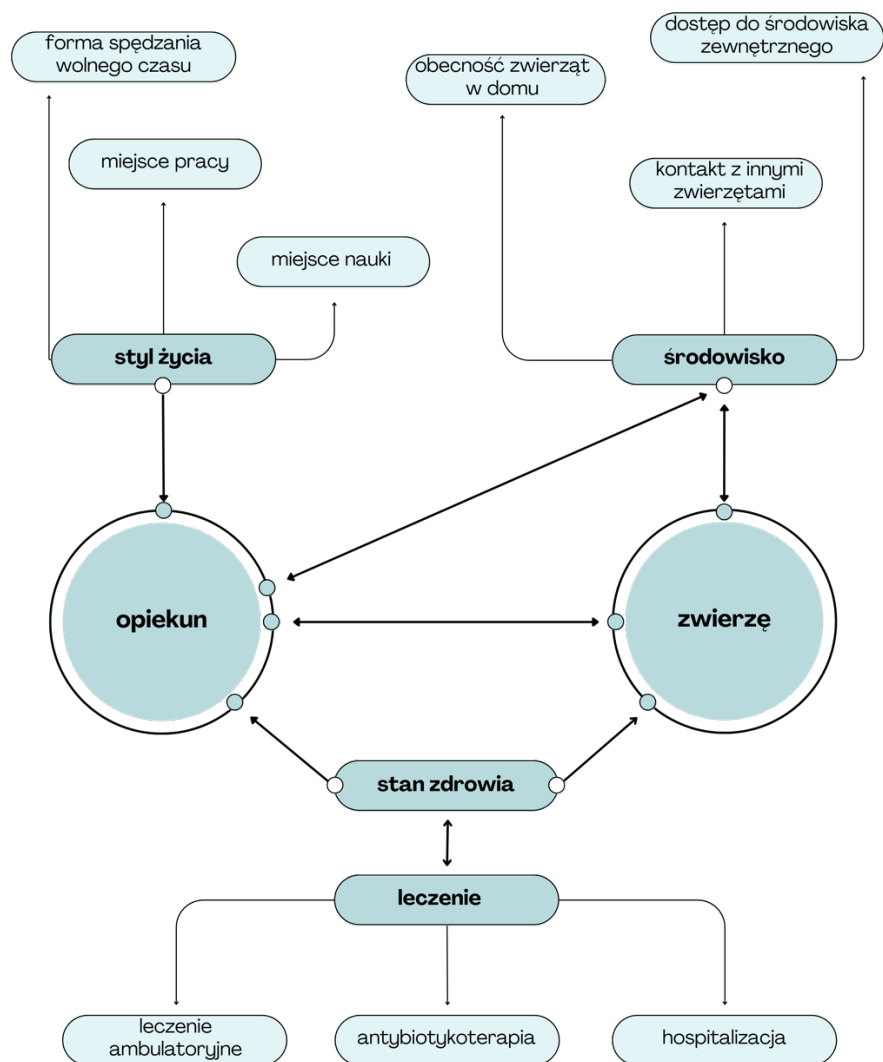
Ryc. 2. Przykład wyniku badania bakteriologicznego wymazu z nosogardzieli człowieka (archiwum własne).

Do grupy gronkowców koagulazo-dodatnich należą m.in. *S. aureus* oraz *S. pseudintermedius*. Uważa się, że największe zagrożenie dla ludzi związane jest z nosicielstwem gronkowca złocistego. W przypadku psów i kotów, równie alarmująca wydaje się rosnąca prewalencja i lekooporność *S. pseudintermedius* (Ma i wsp., 2020). Dotychczas uważano, że *S. pseudintermedius* to gatunek typowo zwierzęcy, o marginalnym znaczeniu dla człowieka. Jednak prawdopodobnie częstość występowania tego gronkowca u ludzi jest niedoszacowana, ze względu na mylną identyfikację szczepów *S. pseudintermedius* jako *S. aureus* (Gómez-Sanz i wsp., 2013 (b); Abusleme i wsp., 2022; Wegener i wsp., 2022). Wskazuje się, że potencjał chorobotwórczy *S. pseudintermedius* u ludzi jest wysoki i porównywalny z *S. aureus* (Darlow i wsp., 2017). Poza zdolnością kolonizacji ludzkich tkanek, gatunek ten może również

ograniczać wzrost bakterii będących naturalną mikrobiotą ludzi i zwierząt (Kmieciak i wsp., 2018). Bezobjawowa kolonizacja ludzi zarówno wariantami metycylooopornymi (MRSA), jak i wrażliwymi (ang. methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, MSSA) gronkowca złocistego stanowi istotny czynnik predysponujący do zakażeń, a także rozwoju bakteriemii (Bierowiec i wsp., 2014). Uważa się, że ryzyko zakażeń u nosicieli MSSA jest trzykrotnie wyższe niż u osób nieskolonizowanych, a w przypadku MRSA nawet czterokrotnie wyższe niż u nosicieli MSSA (Szymanek-Majchrzak i wsp., 2019). Ponadto, MRSA są zaliczane do jednych z najbardziej niebezpiecznych ludzkich patogenów (Faires i wsp., 2009; CDC, 2019; Szymanek-Majchrzak i wsp., 2019; Røken i wsp., 2022; Fitranda i wsp., 2023).

W stanach obniżonej odporności gronkowce mogą być przyczyną zakażeń endogennych, począwszy od stanów zapalnych skóry nawet do stanów zagrożenia życia, takich jak: zastoinowa niewydolność serca, cukrzyca, choroby płuc, uszkodzenie nerek czy bakteriemia (Oliveira i wsp., 2002; McKinell i wsp., 2013, Bierowiec i wsp., 2014, D'Août i wsp., 2022; Rana i wsp., 2022; Thomson i wsp., 2022, Wegener i wsp., 2022; Saud i wsp., 2023). O przebiegu zakażenia decydować mogą lekooporność oraz inne czynniki wirulencji, charakteryzujące dany szczep bakterii. Problem narastającej oporności (ang. antimicrobial resistance, AMR) i występowanie szczepów opornych na wszystkie lub niemal wszystkie powszechnie stosowane grupy leków mają znaczący wpływ na przebieg terapii zakażeń oraz powikłań chorób podstawowych pacjentów (Cocca i wsp., 2021). Wielolekooporność (ang. multidrug-resistance, MDR) niejednokrotnie odpowiada za przedłużające się leczenie, zmęczenie i osłabienie pacjentów, nawracające zakażenia i stosowanie kolejnych chemioterapeutyków, a czasami nawet zupełnie niepowodzenie w terapii. Stanowi również obciążenie dla systemu opieki zdrowotnej, zwiększa koszty pracy oraz obniża wydolność pracownika lub wyklucza go z pracy (Nowakowicz-Dębek i wsp., 2016; Kozińska i wsp., 2017; Yaovi i wsp., 2022). Jest to również problem dla ochrony zdrowia publicznego (Elmoslemany i wsp., 2021).

Potencjał zoonotyczny *S. aureus* i *S. pseudintermedius* nie został jeszcze do końca wyjaśniony. Tematyka transmisji gronkowców pomiędzy człowiekiem i zwierzęciem zasługuje na uwagę zwłaszcza w kontekście możliwości szerzenia genów oporności na chemioterapeutyki przeciwdrobnoustrojowe. Możliwość transmisji bakterii pomiędzy ludźmi i zwierzętami, a także wymiany informacji genetycznej pomiędzy różnymi gatunkami drobnoustrojów oznacza, że bakteryjne szczepy zwierzęce i ludzkie mogą nabywać geny oporności na leki przeciwdrobnoustrojowe poprzez horyzontalny transfer genów i stawać się bardziej zjadliwe (Władyka i wsp., 2015; Kizerwetter-Świda i Pławińska-Czarnak, 2017). Proponowany model potencjalnej transmisji drobnoustrojów i zależności między zwierzęciem, jego opiekunem oraz wybranymi czynnikami ryzyka przedstawiono na rycinie 3.



Ryc. 3. Teoretyczny model potencjalnej transmisji drobnoustrojów oraz zależności między zwierzęciem i jego opiekunem oraz wybranymi czynnikami ryzyka kolonizacji przez gronkowce (opracowanie własne).

Niewrażliwość drobnoustrojów na chemioterapeutyki jest przedmiotem zainteresowania nie tylko naukowców, ale również klinicystów. Może bowiem skutkować wydłużeniem czasu leczenia, dodatkowym obciążeniem organizmu pacjenta, ryzykiem wystąpienia działań niepożądanych, trudnościami technicznymi w prowadzeniu terapii lub nawet całkowitym jej niepowodzeniem i zgonem pacjenta (Faires i wsp., 2009, Fitrandu i wsp., 2023). Jest to szczególnie istotne zwłaszcza w przypadku medycyny weterynaryjnej, ze względu na mniejszą niż w medycynie człowieka liczbę dostępnych preparatów. Wynika to z faktu, iż stosowanie pewnych grup leków zostało w weterynarii ograniczone w ubiegłym roku na mocy Rozporządzenia Wykonawczego Komisji (UE) 2022/1255 z dnia 19 lipca 2022 roku określającego środki przeciwdrobnoustrojowe lub grupy środków przeciw-

drobnoustrojowych zarezerwowanych do leczenia niektórych zakażeń u ludzi zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/6 (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32022R1255>).

Zakażenia lekoopornymi szczepami gronkowców wiążą się również ze wzrostem kosztów leczenia (obecność MRSA wiąże się z ok. 1,5-3 razy droższym leczeniem niż w przypadku MSSA), nakładów ponoszonych w związku z nieobecnością lub mniejszą produktywnością pracownika oraz istotnym zagrożeniem dla zdrowia publicznego (Kościńska i Sitkiewicz, 2017, Abusleme i wsp., 2022, Yaovi i wsp., 2022; Fitrandi i wsp., 2023). Szacuje się, że jeśli aktualną sytuację epidemiologiczną pozostawi się bez kontroli, lekooporność bakterii do 2050 roku może stać się główną przyczyną śmiertelności pacjentów, niosąc za sobą koszty rzędu 100 bilionów dolarów (Yaovi i wsp., 2022).

Oporność komórki bakteryjnej może być efektem stałej ekspresji odpowiednich genów (oporność konstytutywna) lub indukowanej obecnością innych substancji np. antybiotyków (Stefańska, 2003). Geny oporności znajdować mogą się na chromosomie, plazmidach (pozachromosomalnych cząsteczkach DNA zdolnych do samodzielnej replikacji) lub genetycznych elementach translokacyjnych (transpozonach, sekwencjach insercyjnych) (Stefańska, 2003; Ong i wsp., 2023). Z punktu widzenia pracy klinicznej, istotnym aspektem utrudniającym terapię jest także zjawisko oporności krzyżowej (dotyczącej leków z jednej lub różnych grup chemicznych) oraz sprzężenie genów w obrębie jednego plazmidu lub transpozonu (może to dotyczyć jednoczesnej oporności na leki i środki dezynfekcyjne) (Stefańska, 2003).

Bakterie bronią się przed substancjami stosowanymi w medycynie do ich zwalczania na wiele sposobów, będących odpowiedzią na mechanizmy działania poszczególnych leków. Zgodnie z klasyfikacją wg Davisa i Maasa (Markiewicz i wsp., 2008; Kubica i wsp., 2012), wyróżnia się kilka podstawowych mechanizmów oporności: modyfikacja miejsca docelowego dla leku (np. zmiany w białkach wiążących penicylinę PBP), inaktywacja leku poprzez enzymy bakteryjne (np. β -laktamazy), zahamowanie transportu leku do komórki bakteryjnej (np. poprzez pogrubienie ściany komórkowej), wytworzenie alternatywnej drogi umożliwiającej ominięcie etapu wrażliwego na lek (np. nowe białka wiążące penicylinę), zwiększenie stężenia enzymu, który ulega inaktywacji (np. enzymy szlaku biosyntezy tryptofanu), wzrost produkcji substancji antagonistycznej w stosunku do inhibitora, zmniejszenie zapotrzebowania na produkt szlaku metabolicznego, który hamowany jest przez lek, synteza pomp usuwających lek z komórki, wytworzenie systemów regulacyjnych dwuskładnikowych (niezwiązanych bezpośrednio z mechanizmem działania leku), czy też zmniejszenie poziomu enzymu przeprowadzającego lek do formy aktywnej w komórce bakteryjnej (Stefańska, 2003; Markiewicz i wsp., 2008; Kubica i wsp., 2012).

W leczeniu zakażeń gronkowcowych lekami pierwszego wyboru są często penicyliny. Pierwsze przypadki oporności na nie związane były z obecnością penicylinazy (β -laktamazy) kodowanej przez geny plazmidowe (Markiewicz i wsp., 2008). Oporność komórek bakteryjnych na antybiotyki β -laktamowe może także wynikać z produkcji dodatkowego białka PBP2a (ang. penicillin-binding protein) o zmniejszonym powinowactwie do cząsteczek antybiotyku (Stefańska, 2003). Obecnie odnotowuje się oporność gronkowców na penicyliny rzędu nawet 76-90% (Stefańska, 2003; Feßler i wsp., 2022). Genem kodującym β -laktamazy jest *blaZ* (Feßler i wsp., 2022), natomiast metycylinooporność warunkuje obecność genu *mecA* lub *mecC*, znajdujący się na mobilnym elemencie genetycznym, nazywanym *SCCmec* (ang. Staphylococcal Chromosomal Cassette) (Abusleme i wsp., 2022).

Mupirocyna jest składnikiem wielu leków do stosowania miejscowego w terapii zakażeń skóry w postaci kremów lub maści. Wykorzystywana jest również do kontrolowania rozprzestrzeniania się szczepów MRSA u ludzi (Markiewicz i wsp., 2008; Kizerwetter-Świda i wsp., 2019). Wyróżnia się dwa fenotypy szczepów opornych na mupirocynę – oporność niskiego stopnia (ang. low-level mupirocin resistance, LLMR) związaną z mutacjami w genie *ileS* (chromosomalnym) oraz prezentowaniem niskich wartości MIC (ang. minimal inhibitory concentration), a także wysokiego stopnia (ang. high-level mupirocin resistance, HLMR) wynikającą z obecności plazmidowego genu *ileS2* (*mupA*), kodującego enzym o obniżonym powinowactwie do mupirocyny (Kizerwetter-Świda i wsp., 2019). Pierwszy w Polsce przypadek wystąpienia HLMR u wielolekoopornych MRSA wyizolowanych od zwierząt towarzyszących opisały Kizerwetter-Świda i wsp. w 2019 roku.

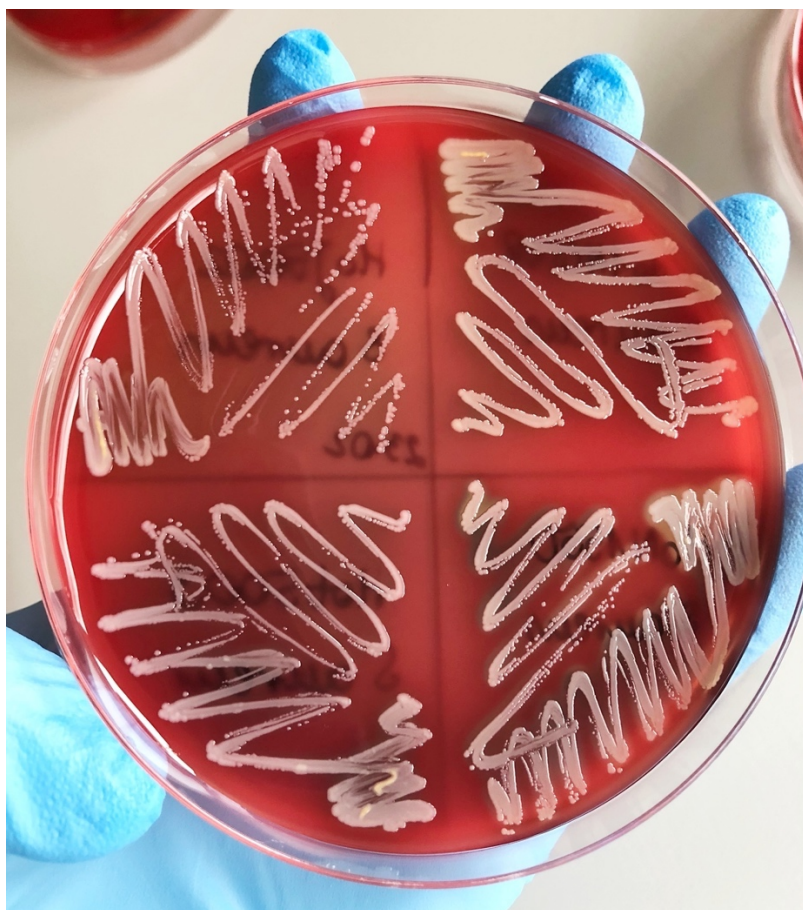
Szeroko rozpowszechniona oporność na pozostałe grupy leków spowodowała, że niejednokrotnie wankomycyna okazuje się lekiem ostatniej szansy dla pacjentów z ciężkimi zakażeniami (Markiewicz i wsp., 2008). Pierwsze izolaty CoNS opornych na glikopeptydy opisano w USA i w Wielkiej Brytanii w 1986 roku (Markiewicz i wsp., 2008), natomiast w 2002 roku w USA wykryto pierwsze szczepy gronkowca złocistego odporne na wankomycynę (vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, VRSA), z obecnym transpozonom Tn1546 niosącym operon *vanA* (Stefańska, 2003; Kubica i wsp., 2012). Opisano również wankomycynooporność klasy B, a warunkujące ją geny *vanB* mogą znajdować się na chromosomie bakteryjnym (Kubica i wsp., 2012). Szczepy o pośredniej oporności określane są mianem GISA (ang. glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus*) lub VISA (ang. vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*) (Markiewicz i wsp., 2008; Kubica i wsp., 2012).

PODSTAWY TEORETYCZNE BADAŃ

1. *Staphylococcus aureus*

1.1. Charakterystyka gatunku

Staphylococcus aureus to jeden z lepiej poznanych i opisanych mikroorganizmów (Harris i wsp., 2002; Barbuti i wsp., 2023), zasiedlających skórę i błony śluzowe ludzi i zwierząt (Mashayamombe i wsp., 2023; Monecke i wsp., 2023; Nikolic i Mudgil, 2023; Silva i wsp., 2023). Są to nieprzetrwalnikujące, względnie beztlenowe, niezdolne do ruchu, Gram-dodatnie ziarniaki, produkujące enzym katalazę (rozkładający nadtlenek wodoru do wody i tlenu) (Harris i wsp., 2002; Murray i wsp., 2018; Rasheed i Hussein, 2021; Silva i wsp., 2023). Pod mikroskopem obserwowane są jako ułożone pojedynczo, w parach lub w gronach kuliste komórki (Gnanamani i wsp., 2017). Charakteryzuje je zdolność wzrostu w pożywce zawierającej wysokie stężenie soli (tolerują 7,5 - 10% stężenie chlorku sodu), w zakresie temperatur 18 - 40°C (Gnanamani i wsp., 2017; Murray i wsp., 2018; Rasheed i Hussein, 2021; Taylor i Unakal, 2022; Silva i wsp., 2023). Kolonie gronkowca złocistego są okrągłe, gładkie, lśniące, o odcieniu żółtawym do złocistego, dzięki pigmentom karotenoidowym (stafyloksantynom) wytwarzanym w trakcie wzrostu bakterii i chroniącym je jednocześnie przez fagocytozę (Murray i wsp., 2018; Rasheed i Hussein, 2021; Thomer i wsp., 2016). Rozmiar pojedynczych kolonii wynosi od 0,5 do 1,5 μm średnicy (Harris i wsp., 2002; Gnanamani i wsp., 2017; Bitrus i wsp., 2018; Rasheed i Hussein, 2021). Na podłożu wzbogaconym krwią rosną zwykle powodując hemolizę ze strefą przejaśnienia dookoła kolonii (Plata i wsp., 2009; Gnanamani i wsp., 2017; Bitrus i wsp., 2018; Rasheed i Hussein, 2021), natomiast podczas wzrostu na selektywnym podłożu Chapmana (ang. mannitol-salt agar) rosną w postaci żółtych kolonii i zmieniają kolor pożywki z różowej na żółtą, co jest wynikiem fermentacji mannitolu z zakwaszeniem podłoża w obecności czerwieni fenolowej (wskaźnika pH) (Vandepitte i wsp., 2003; Rasheed i Hussein, 2021). Opisano również wzrost *S. aureus* jako tzw. „small colony variants” (SCV) (Proctor i wsp., 2006), który charakteryzuje mniejszy rozmiar kolonii (około 10% wielkości standardowych kolonii tego gatunku), brak pigmentacji, brak hemolizy, ograniczenie pewnych reakcji biochemicznych (np. brak zmiany koloru podłoża Chapmana), a także wydłużenie czasu hodowli do 72h (Proctor i wsp., 2006; Abidemi Ayeni, 2019). Wzrost kolonii *S. aureus* zaobserwowany w niniejszym badaniu przedstawiono na rycinie 4.



Ryc. 4. Wzrost czterech szczepów gronkowca złocistego na agarze z dodatkiem krwi baraniej (archiwum własne).

Ściana komórkowa *S. aureus* złożona jest z wielu warstw o łącznej grubości ok. 20-40 nm (Barbuti i wsp., 2023; Nikolic i Mudgil, 2023), ale główne elementy stanowią warstwa peptydoglikanu, błona cytoplazmatyczna z lipidami, kwasy teichojowe zintegrowane z warstwą lipidową oraz ścianą komórkową (Waldvogel, 2000; Bitrus i wsp., 2018; Rasheed i Hussein, 2021; Barbuti i wsp., 2023; Nikolic i Mudgil, 2023). Komórki bakteryjne produkują zewnątrzkomórkową śluzową substancję, złożoną z monosacharydów, białek i peptydów, która wiąże bakterie do tkanek oraz powierzchni sztucznych (Murray i wsp., 2018). Peptydoglikan, czyli polimer złożony z warstw łańcuchów glikanowych zbudowanych z ułożonych naprzemiennie podjednostek kwasu N-acetylmuraminowego i N-acetylglukozaminy (Murray i wsp., 2018) ma aktywność endotoksyczną, wpływa na produkcję czynników zapalnych, aktywuje system dopełniacza, wytwarzanie interleukin przez monocyty i agregację neutrofilów (proces tworzenia ropnia) (Murray i wsp., 2018). Syntezę peptydoglikanu katalizują enzymy nazywane białkami PBP. Obecność zmienionego białka PBP2a warunkuje oporność na penicyliny, bowiem jego budowa nie pozwala antybiotykowi β -laktamowemu na wiązanie się do niego, czyniąc komórki opornymi na te leki. Białko PBP2a

kodowane jest przez gen *mecA* znajdujący się na chromosomie kasetowym (nazywanym *SCCmec*) gronkowca (Murray i wsp., 2018; Abusleme i wsp., 2022; Adiguzel i wsp., 2022). Dotychczas opisano 14 typów *SCCmec* (<https://www.sccmec.org/index.php/en/sccmmcc-list-smn-en>). W skład ściany komórkowej gronkowców wchodzi również kwasy teichojowe, stymulujące odpowiedź humoralną (Murray i wsp., 2018, Rasheed i Hussein, 2021), a większość szczepów *S. aureus* posiada w ścianie komórkowej również białko A (SpA), będące przedstawicielem białek powierzchniowych odpowiadających za adhezję, określanym mianem MSCRAMMs (ang. Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) (Kowalska-Krochmal, 2017; Murray i wsp., 2018). Jego obecność wykorzystywana jest w testach serologicznych do identyfikacji tego gatunku gronkowców (Murray i wsp., 2018). Białko A jest ważnym czynnikiem wirulencji gronkowca złocistego (Kowalska-Krochmal, 2017).

Według niektórych autorów, testy biochemiczne pozwalają odróżnić *S. aureus* od innych Gram-dodatnich ziarniaków (Rasheed i Hussein, 2021). Inni badacze twierdzą, że podobieństwo pomiędzy poszczególnymi gatunkami gronkowców może być na tyle duże, że rozróżnienie wyłącznie na podstawie właściwości biochemicznych jest niemożliwe (Kmieciak i wsp., 2017; Kizerwetter-Świda i wsp., 2018; Abusleme i wsp., 2022). Ponieważ oparta na cechach fenotypowych identyfikacja może być nieprecyzyjna, obecnie coraz powszechniej stosowane są metody molekularne, technika PCR (ang. polymerase chain reaction) czy MALDI-TOF MS (ang. matrix-assisted laser desorption ionization — time of flight mass spectrometry) (Kizerwetter-Świda i wsp., 2018; Moon i wsp., 2022b; Abidemi Ayeni, 2019). *S. aureus* jest katalazo-dodatni (co odróżnia go od katalazo-ujemnych *Streptococcus*), oksydazo-ujemny, koagulazo-dodatni (Harris i wsp., 2002; Thomer i wsp., 2016; Gnanamani i wsp., 2017; Rasheed i Hussein, 2021).

1.2. Występowanie i chorobotwórczość u ludzi

Obecność gronkowca złocistego u ludzi ma charakter nosicielstwa stałego lub przejściowego (Nowakowicz-Dębek i wsp., 2016; Szymanek Majchrzak i wsp., 2019). Szacuje się, że 10 - 37% zdrowych ludzi jest stałymi nosicielami *S. aureus* (Feingold i wsp., 2012; Nowakowicz-Dębek i wsp., 2016; Gnanamani i wsp., 2017; Szymanek-Majchrzak i wsp., 2019; Rasheed i Hussein, 2021). Nawet 70-90% populacji to nosiciele tymczasowi tych bakterii (Habeb i wsp., 2014; Tong i wsp., 2015; Nowakowicz-Dębek i wsp., 2016; Bierowiec i wsp., 2016 (a); Szymanek-Majchrzak i wsp., 2019; Rasheed i Hussein, 2021). Gronkowce złociste najczęściej izolowane są od ludzi z przedsiionka jamy nosowej (10-48% nosicieli), gardła (4-64%), przewodu pokarmowego (17-31%) oraz skóry w okolicy pach i pachwin (8-63%) (Szymanek-Majchrzak i wsp., 2019; Lisowska-Łysiak i wsp., 2019; Rasheed i Hussein, 2021).

Prewalencja szczepów *S. aureus* jako przyczyny zakażeń u dzieci wynosi od 2,7 do nawet 69,9% (Nowakowicz-Dębek i wsp., 2016; Salazar-Ospina i Jiménez, 2018; Ladhani i wsp., 2019; Vogel i wsp., 2019). W Wielkiej Brytanii, gronkowiec złocisty był raportowany jako główna przyczyna sepsy noworodków (od 0 do 28 dnia życia) i izolowany z 13% posiewów krwi pobranych od tych dzieci (Shane i Stoll, 2014). W badaniach Shane i Stoll (2014) pomimo, że *S. aureus* były odpowiedzialne za jedynie 1% przypadków zapalenia opon mózgowych lub bakteriemii u dzieci, śmiertelność z ich powodu wyniosła odpowiednio aż 26 i 24% (Ilczyszyn i wsp., 2016). Odsetek izolacji MRSA u ludzi zależy od regionu to od 1,9 do nawet 69,9% (Wertheim i wsp., 2005; Shore i wsp., 2011; Abidemi Ayeni 2019).

Niektóre grupy ludzi są bardziej narażone na kolonizację *S. aureus* (nawet do 80%). Szczególnie osoby mające z racji wykonywanego zawodu kontakt z pomieszczeniami szpitalnymi oraz pacjentami są szczególnie narażone – lekarze, pielęgniarki, położne, ratownicy medyczni, studenci medycyny czy diagnosty laboratoryjni (Szymanek-Majchrzak i wsp., 2019). *S. aureus* charakteryzuje zdolność do wywoływania stanów chorobowych począwszy od zakażeń niewielkiego obszaru tkanek i umiarkowanej uciążliwości, aż po stany zagrażające życiu (Ilczyszyn i wsp., 2016; Abidemi Ayeni, 2019; Vogel i wsp., 2019; Rana i wsp., 2022). Gatunek ten znany jest jako jedna z głównych przyczyn zakażeń skóry i tkanek miękkich (ang. skin and soft tissue infections; SSTIs) (Kaplan, 2016). Zapalenie ucha środkowego, zapalenie płuc, zakażenia układu mięśniowo-szkieletowego, zapalenie wsierdza, bakteremia, zakażenia u noworodków (zmiany skórne, zapalenie płuc, zapalenie opon mózgowych, bakteremia) czy zespół wstrząsu toksycznego (ang. Staphylococcal Toxic Shock Syndrome, STSS) to tylko nieliczne z przytaczanych w literaturze zachorowań wywołanych przez *S. aureus* (Kaplan, 2016; Nowakowicz-Dębek i wsp., 2016; Abidemi Ayeni, 2019; Vogel i wsp., 2019). Gronkowce złociste najczęściej kojarzone są jednak z tzw. zakażeniami szpitalnymi (HAIs), zwłaszcza związanymi z wykorzystaniem cewników, stentów itp. (Sebola i wsp., 2023; Abidemi Ayeni, 2019; Thomsen i wsp., 2019; Kizerwetter-Świda i Pławińska-Czarnak, 2017).

1.3. Występowanie i chorobotwórczość u zwierząt towarzyszących

U zwierząt towarzyszących prewalencja *S. aureus* wynosi 1,5 - 25%, przy czym u psów jest to 1,5-16%, a u kotów od 3,2 do nawet 54,5% w przypadkach zapalenia skóry (Quekwana i wsp., 2017; Li i wsp., 2021; Rana i wsp., 2022; Andrade i wsp., 2022; Burke i Santoro, 2023). Opisywana w literaturze częstość izolacji MRSA u psów wynosi 0,5 – 9%, a u kotów 0-4% (Rynhoud i wsp., 2021; Rana i wsp., 2022). Do niedawna sądzono, że *S. aureus* to gatunek typowy dla człowieka, sporadycznie izolowany od zwierząt domowych. Obecnie zwraca się uwagę na psy i koty jako bezobjawowych nosicieli tych bakterii, a także jako pacjentów zmagających się z zakażeniami wywołanymi przez te bakterie. Nosicielstwo tych bakterii może

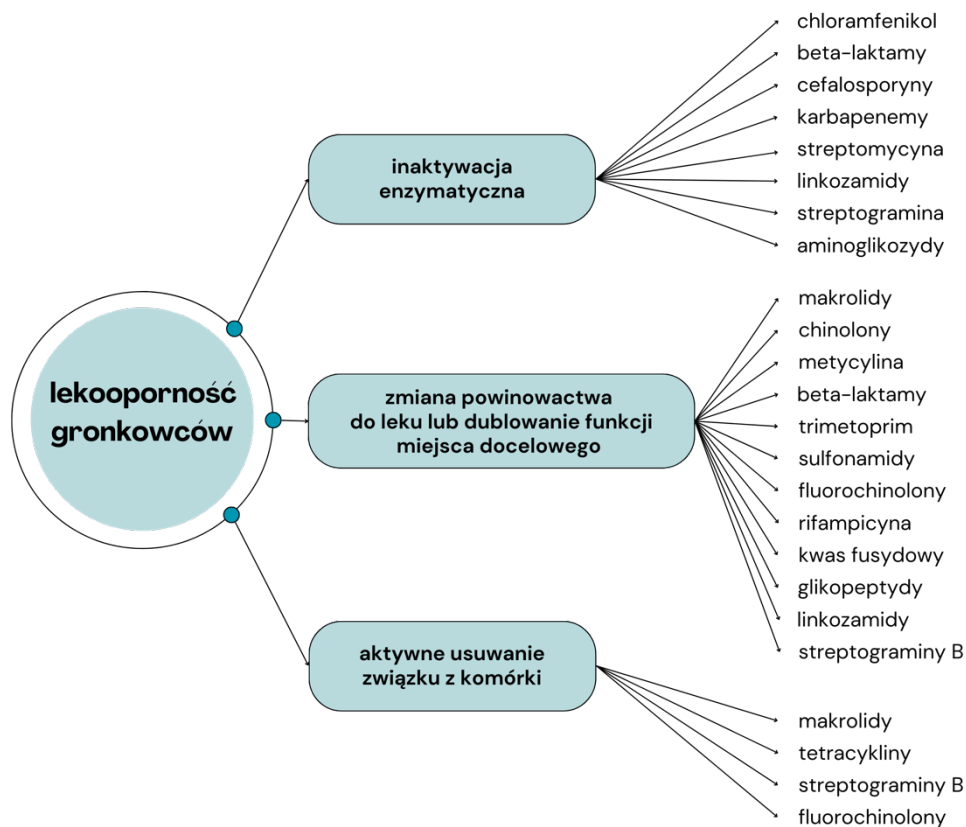
mieć charakter trwały, okresowy lub krótkotrwały (Hartmann i wsp., 2005), przy czym rodzaje nosicielstwa nie zostały sprecyzowane i są definiowane przez badaczy na potrzeby konkretnych badań. W przypadku zwierząt, częściej nosicielami gronkowców koagulazo – dodatnich były osobniki chore oraz będące pod opieką osób wykonujących zawód o charakterze medycznym (Bierowiec i wsp., 2019 (b)). W odniesieniu do zwierząt chorych, *S. aureus* najczęściej izolowany był z przypadków zakażeń ran (w tym pooperacyjnych), zakażeń skóry, zapalenia uszu, septycznego zapalenia stawów, zapalenia górnych dróg oddechowych, zapalenia płuc, zakażeń dróg moczowych oraz zapalenia wsierdza (Wipf i Perreten, 2016; Li i wsp., 2021; Andrade i wsp., 2022; D'Août i wsp., 2022; Feßler i wsp., 2022; Rana i wsp., 2022; Burke i Santoro, 2023; Sebola i wsp., 2023). Również wizyty w gabinetach weterynaryjnych, leczenie miejscowe uszu, podawanie glikokortykosteroidów i antybiotyków były czynnikami ryzyka kolonizacji zwierząt gronkowcem złocistym (Cocca i wsp., 2021; Elmoslemany i wsp., 2021; Burke i Santoro, 2023).

1.4. Czynniki zjadliwości

„Once established the micrococci are hard to kill – the only thing I found effective was cauterization with a strong solution of chloride of zinc” – Alexander Ogston
(cyt. za: Newsom, 2008)

Dzięki szerokieму zasobowi czynników zjadliwości, *S. aureus* w określonych warunkach może stawać się patogenem wysokiego ryzyka (Lisowska-Łysiak i wsp., 2019). Szereg toksyn i enzymów w połączeniu z różnymi strategiami unikania działania antybiotyków czy mechanizmów obronnych gospodarza sprawiają, że walka z gronkowcem złocistym bywa bardzo trudna (Murray i wsp., 2018; Lisowska-Łysiak i wsp., 2019; Rasheed i Hussein, 2021). Mechanizmy oporności gronkowców na wybrane substancje przedstawiono na rycinie 5.

Już same komponenty strukturalne gronkowców wywierają istotne z punktu widzenia przebiegu zakażenia efekty biologiczne. Otoczka komórki bakteryjnej hamuje chemotaksję i fagocytozę oraz proliferację neutrofilii; śluz na powierzchni komórki ułatwia przyleganie do ciał obcych (np. stentów czy implantów medycznych); peptydoglikan zapewnia stabilność osmotyczną, stymuluje produkcję endogennych czynników ropotwórczych, działa jako chemoatraktant dla leukocytów i hamuje fagocytozę; kwas teichojowy wiąże się do fibronektyny, a białko A (SpA) hamuje odpowiedź immunologiczną związaną z przeciwciałami, wiążąc się z receptorami IgG1, IgG2, IgG4 Fc, wabi leukocyty i hamuje działanie białek dopełniacza (Murray i wsp., 2018; Rasheed i Hussein, 2021).



Ryc. 5. Mechanizmy oporności gronkowców na wybrane środki przeciwdrobnoustrojowe (opracowanie własne).

Enzymy

Wytwarzana przez *S. aureus* koagulaza to białko, które ścina osocze na drodze przekształcenia fibrynogenu w nierozpuszczalną fibrynę, warunkując powstanie zakrzepu. Proces ten zachodzi z udziałem aktywatora koagulazy, znajdującego się w osoczu (Murray i wsp., 2018). CF (ang. clumping factor, koagulaza związana) zmienia fibrynogen w fibrynę bez udziału tego aktywatora. Działanie obydwu mechanizmów sprawia, że bakteria staje się niedostępna dla fagocytów (Murray i wsp., 2018). Gronkowce produkują również inne enzymy, tj. hialuronidazy, fibrylizynę (stafylokinazę), lipazy i nukleazy, dzięki którym są w stanie rozkładać tkanki gospodarza i DNA komórek oraz rozpuszczać skrzepy fibrynowe, co ułatwia im rozprzestrzenianie się i przetrwanie w organizmie (Murray i wsp., 2018; Lisowska-Łysiak i wsp., 2019).

Toksyny tworzące kanały w błonie komórkowej (Pore-forming toxins, PFT)

Toksyna Panton-Valentine (PVL) to leukotoksyna złożona z dwóch komponentów białkowych – S-PVL (ang. slow-pvl) (LukS-PV) oraz F-PVL (ang. fast-pvl) (LukF-PV) (Woodin, 1960). Białka te są kodowane przez geny *LukS-LukF* (Oliveira i wsp., 2018). Dokładna rola leukocydyny Panton-Valentine (PVL; Panton-Valentine leukocidin) w patogenezie zakażeń gronkowcowych wciąż pozostaje niejasna (Yoong i Torres, 2013; Oliveira i wsp., 2018). Zwykle występuje u szczepów CA-MRSA (ang. community-acquired MRSA) (Vandenesch i wsp., 2003; Shallcross i wsp., 2013). Wiadomo, że PVL mają działanie cytotoksyczne, uszkadzają komórki układu odpornościowego (białe krwinki, komórki fagocytyjace) (Shallcross i wsp., 2013; Oliveira i wsp., 2018), ponieważ uszkadzają błonę komórkową leukocytów (Woodin, 1960). Badania wykazują, że PVL izolowana była z przypadków martwicy skóry, ropni, czyraków, ale nie występowała w przypadkach zapalenia wsierdza, płuc, śródpiersia, dróg moczowych czy STSS (Prevost i wsp., 1995; Oliveira i wsp., 2018). Kolejna toksyna to LukE-LukD, która złożona jest z podjednostek LukE i LukD (Rasheed i Hussein, 2021). Jak wynika z danych literatury, wywiera efekt bólczy wobec króliczych erytrocytów i leukocytów, fagocytów mysich i ludzkich neutrofilii (Van der Goot, 2001; Alonzo i wsp., 2012; Oliveira i wsp., 2018). Uważa się, że produkcja LukE-LukD związana jest z ekspresją genu *LukED* i ma znaczącą rolę w patogenności *S. aureus* (Al-Hassnawi i wsp., 2013; Rasheed i Hussein, 2020).

Ważną grupą toksyn produkowanych przez gronkowce złociste są hemolizyny α i β (Rasheed i Hussein, 2021). Hemolizyna- α (Hla), kodowana przez gen *hla* (Burnside i wsp., 2010) jest cytotoksyczna wobec erytrocytów, zwłaszcza króliczych (Burnside i wsp., 2010; Saleem, 2017). Ma też szkodliwy wpływ na komórki ludzkie – nabłonki, makrofagi, limfocyty T, komórki endotelium czy monocyty (Oliveira i wsp., 2018). *S. aureus* posiadające gen *hla* izolowane były z przypadków zapalenia płuc, ropni mózgu, septycznego zapalenia stawów, zakażeń rogówki czy sepsy (Burnside i wsp., 2010). Hemolizyna- β (Hlb), kodowana przez gen *hlb*, nazywana również sfingomielinazą C (Hayashida i wsp., 2009; Flores-Díaz i wsp., 2016), jest wysoce specyficzna wobec pewnych gatunków komórek gospodarzy, co może być związane ze specyficzną budową sfingomieliny u różnych gatunków – jest toksyczna dla ludzkich komórek skóry, białych krwinek wielojądrzastych (ang. white blood cells, WBC), limfocytów T i monocytów. Hlb hamuje sekrecję interleukiny 8 (IL-8) przez komórki endotelium, co chroni *S. aureus* przez fagocytozę oraz sprzyja budowaniu biofilmu (Walev i wsp., 1996; Tajima i wsp., 2009; Katayama i wsp., 2013; Oliveira i wsp., 2018). *S. aureus* z genem *hlb* izolowano z przypadków zapalenia płuc, *endocarditis* czy zakażeń rogówki (Burnside i wsp., 2010; Oliveira i wsp., 2018).

Superantygeny

Toksyna-1 Syndromu Szoku Toksycznego (ang. Toxic Shock Syndrome Toxin - 1, TSST-1) jest jednym z superantygenów (ang. superantigen toxins, SAgS) i może powodować wielonarządowe zakażenia sama lub w kombinacji z enterotoksynami gronkowcowymi (Greenwood i wsp., 2011; Murray i wsp., 2018). Zakażenia z jej udziałem przebiegają z gorączką, wysypką, złuszczeniem skóry, hipotensją oraz uszkodzeniami wielonarządowymi (Holtfreter i wsp., 2006; Oliveira i wsp., 2018).

Toksyny eksfoliatywne (ang. exfoliative toxin; epidermolytic toxin A, B; ETA, ETB) to enzymy o wysokim powinowactwie do seryny, które niszczą komórki nabłonka przerywając połączenia pomiędzy keratynocytami a komórkami naskórka, skutkując złuszczeniem skóry i formowaniem pęcherzy (Murray i wsp., 2018; Oliveira i wsp., 2018). Produkowane są przez nieliczne szczepy *S. aureus* (około 5%), a ich epidemiologia różni się w różnych obszarach geograficznych (Rasheed i Hussein, 2021). ETB jest wariantem dominującym w Japonii, a ETA jest bardziej rozpowszechniona w Europie, USA i Afryce (Oliveira i wsp., 2018). Wydzielanie toksyn eksfoliatywnych prowadzi do miejscowych lub uogólnionych ciężkich stanów chorobowych, takich jak liszajec pęcherzykowy oraz gronkowcowy zespół poparzonej skóry (ang. Staphylococcal scalded skin syndrome, SSSS) (Mariutti i wsp., 2017; Murray i wsp., 2018; Rasheed i Hussein, 2021).

Element ACME

Element ACME (ang. arginine catabolic mobile element) to ruchomy element genetyczny, w obrębie którego zidentyfikowano dwie grupy genów *arc* (*arcA*, *arcB*, *arcC*, *arcD*) oraz *opp* (*opp3-A*, *opp3-B*, *opp3-C*, *opp3-D*) (Otto, 2013; Podkowiak i wsp., 2014; Xue i wsp., 2017; Rasheed i Hussein, 2021). Wyróżnia się 3 allotypy ACME w zależności od obecności genów *opp-3* oraz *speG* (Rasheed i Hussein, 2021), przy czym u szczepów MRSA opisuje się głównie allotyp I (Shore i wsp., 2011). Geny obecne na elemencie ACME kodują enzymy dodatkowego szlaku deiminacji argininy i system permeaz oligopeptydowych (Diep i wsp., 2006; Podkowiak i wsp., 2014). Uważa się, że szczepy *S. aureus* uzyskały ACME na drodze horyzontalnego transferu genów od *S. epidermidis* (Diep i wsp., 2006; Otto, 2013). Jego obecność zwiększa szanse przetrwania gronkowców złocistych na skórze człowieka i środowisku, które ją przypomina, a także takim o obniżonej zawartości tlenu (Diep i wsp., 2006; Alonzo i Torres, 2013; Thurlow i wsp., 2013).

System globalnej regulacji genów *agr* (accessory gene regulator)

Wytwarzanie czynników wirulencji *S. aureus* kontrolowane jest przez trzy globalne regulatory: accessory gene regulator (*agr*), staphylococcal accessory regulator (*sar*) oraz ekspresję egzoproteiny *S. aureus* (*sae*) (Giraud i wsp., 1994; Traber i wsp., 2008; Rasheed i Hussein, 2021). Locus *agr* zawiera 4 elementy transkrypcyjne: *agrA*, *agrC*, *agrD* i *agrB* (Rasheed i Hussein, 2021). Locus *agr* reguluje ekspresję m.in. hemolizyn α i β , toksyny TSST-1, enterotoksyn B i C, eksfoliatyn A i B, leukocydyny PVL oraz białek powierzchniowych wiążących kolagen, fibrynogen i fibronektynę (Takeuchi i wsp., 2001; Harris i wsp., 2002; Bronner i wsp., 2004; Robinson i wsp., 2005; Xie i wsp., 2011; Zeidler, 2012; Rasheed i Hussein, 2021). Locus *agr* jest polimorficzny i zawiera zróżnicowane regiony, co pozwoliło na wyróżnienie czterech grup specyficzności (*agrI*, *agrII*, *agrIII* i *agrIV*) w populacji *S. aureus* (Harris i wsp., 2002; Shopsin i wsp., 2003; Garbacz i wsp., 2009; Rasheed i Hussein, 2021). Przynależność izolatu do danej grupy wiąże się ze zdolnością do produkcji czynników wirulencji, a co za tym idzie również zakresem wywoływanego zakażenia i uszkodzeń tkanek (Zeidler, 2012; Rasheed i Hussein, 2021).

1.5. Lekooporność

Metycylinooporne szczepy *S. aureus* (MRSA) zaliczane są na całym świecie do najbardziej niebezpiecznych ludzkich patogenów (Szymanek-Majchrzak i wsp., 2019). Światowe dane przedstawiane są m.in. przez European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Z generowanych na stronie www.ecdc.europa.eu raportów dowiedzieć się można, że w Polsce, w latach 2016-17, czwartym co do częstości izolacji mikroorganizmem u pacjentów poddawanych długoterminowemu leczeniu w szpitalach był właśnie *S. aureus* (<https://www.ecdc.europa.eu/en/all-topics-z/healthcare-associated-infections-long-term-care-facilities/surveillance-and-disease-5>). Jak podaje Surveillance Atlas of Infectious Diseases ECDC, w 2021 roku w Polsce odnotowano prevalencję dla szczepów MRSA w wysokości 16,5% (<https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>; dostęp 10.04.2023). W porównaniu do roku 2020 (13,8%) jest to niestety tendencja wzrostowa. Oporne na metycylinę, glikopeptydy lub oksazolidynony szczepy gronkowca złocistego zajmują w Polsce pierwsze miejsce na liście czynników alarmowych zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 23 grudnia 2011 roku w sprawie listy czynników alarmowych, rejestrów zakażeń szpitalnych i czynników alarmowych oraz raportów o bieżącej sytuacji epidemiologicznej szpitala (Dz.U. 2011 nr 294 poz. 1741). Światową rangę zagrożenia podkreśla również fakt, że World Health Organization (WHO) uznało w 2017 roku o umieszczeniu MRSA na liście dwunastu najbardziej

niebezpiecznych patogenów, stanowiących zagrożenie dla zdrowia publicznego (World Health Organization, 2017; Szymanek-Majchrzak i wsp., 2019).

W Polsce, w zależności od badania, częstość występowania szczepów MRSA jako przyczyny zakażeń szpitalnych waha się od 2,7 % do nawet 60% (Nowakowicz-Dębek i wsp., 2016). Dane dotyczące prevalencji szczepów MRSA w Polsce są bardzo zróżnicowane i zależą między innymi od organizacji badania, ograniczeń w postaci poboru prób (np. wyłącznie z jednego oddziału szpitalnego lub określonej grupy wiekowej), przez co znaczne są różnice w specyfice schorzeń, a co za tym idzie duża zmienność uzyskiwanych wartości procentowych (Nowakowicz-Dębek i wsp., 2016). Szczepy gronkowca złocistego odporne na metycylinę cechuje brak wrażliwości na wszystkie antybiotyki β -laktamowe, co jest związane najczęściej z obecnością genu *mecA* (Kizerwetter-Świda i Pławińska-Czarnak, 2017). Ze względu na źródło pochodzenia szczepów, dokonano podziału metycylinoopornych gronkowców złocistych na kilka grup. Izolaty pochodzące ze środowisk szpitalnych określa się jako szczepy szpitalne (ang. hospital-associated MRSA, HA-MRSA) i są one uważane za bardziej zjadliwe. Szczepy, które wywołują zakażenia w środowisku pozaszpitalnym określa się mianem CA-MRSA (ang. community acquired MRSA). Kolejną grupą są szczepy pochodzenia odzwierzęcego, czyli tzw. LA-MRSA (ang. livestock-associated MRSA) (Kizerwetter-Świda i Pławińska-Czarnak, 2017). Niektórzy autorzy szczepy odzwierzęce klasyfikują jako FA-MRSA (ang. farm-associated MRSA); najczęściej dotyczy to gronkowców pochodzących od zwierząt gospodarskich i osób, które z nimi pracują (Nowakowicz-Dębek i wsp., 2016; Empel i wsp., 2021). Niestety dane dotyczące oporności szczepów pochodzących od zwierząt wciąż są fragmentaryczne.

2. *Staphylococcus pseudintermedius*

2.1. Charakterystyka gatunku

Taksonomicznie gatunek ten zaliczany jest do *Staphylococcus Intermedius Group* (SIG), w skład której wchodzi jeszcze trzy inne koagulazo-dodatnie gatunki: *S. delphini* i *S. intermedius* oraz niedawno opisany *S. cornubiensis* (Lee i wsp., 2018; Worthing i wsp., 2018 (b)). Wszystkie gronkowce zaliczane do SIG mają wiele wspólnych cech, takich jak wygląd kolonii (w zależności od podłoża hodowlanego najczęściej okrągłe, gładkie, lśniące, nieprzezroczyste, białe lub szare kolonie do 1-2 mm średnicy po 24 godzinach inkubacji), zdolność do wywołania hemolizy na agarze z dodatkiem krwi (obecność α - i β -hemolizyn), szybki wzrost na podłożach nieselektywnych (np. agar odżywczy - inkubacja w 37°C w ciągu 18-24 godzin) oraz selektywnych (np. podłoże Chapmana - wzrost w 37 °C w 24-48 godzin)

i są właściwie nierozróżnialne w standardowym badaniu bakteriologicznym (Tanner i wsp., 2000; Paul i wsp., 2011; Ruzauskas i wsp., 2015; Worthing i wsp., 2018 (b)). Dlatego też przez wiele lat określano występowanie tylko jednego gatunku - *S. intermedius*. Dopiero w 2005 r., po analizie różnic genetycznych między poszczególnymi izolatami, wyodrębniono oddzielne gatunki, w tym *S. pseudintermedius* (Robb i wsp., 2017). Właściwości biochemiczne, które umożliwiają rozróżnienie szczepów *S. intermedius* od pozostałych gatunków SIG to m.in. zdolność do wytwarzania dihydrolazy argininy i kwasu z β -gentiobiozy w warunkach tlenowych oraz z D-mannitolu w warunkach beztlenowych (Wettstein i wsp., 2008; Ruzauskas i wsp., 2015; Quekwana i wsp., 2017). Wobec tego do określenia gatunków z grupy SIG niezbędne są metody biologii molekularnej, takie jak łańcuchowa reakcja polimerazy — polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (PCR-RFLP) z wykorzystaniem enzymu restrykcyjnego *MboI* (Kawamura i wsp., 1998) lub multiplex-PCR wykrywający gen kodujący termonukleazę (*nuc*) gronkowców koagulazododatnich (Lehner i wsp., 2014). Opisane jest również wykorzystanie spektrofotometrii masowej (ang. matrix-assisted laser desorption ionization — time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS) do oznaczeń *S. pseudintermedius* od zwierząt, choć niektórzy autorzy wykazali wciąż niewielką czułość tej metody (Espadale i wsp., 2018).

2.2. Występowanie i chorobotwórczość u zwierząt towarzyszących

Nawet do 92% zdrowych psów jest nosicielami *S. pseudintermedius* (Worthing i wsp., 2018 (a); Feng i wsp., 2012). Gronkowiec ten może być izolowany z wielu miejsc anatomicznych zdrowych zwierząt, w tym: uszu, worków spojówkowych, nozdrzy, jamy ustnej, skóry pachwin i krocza (van Duijkeren i wsp., 2011; Kuan i wsp., 2016; Somayaji i wsp., 2016 (a); Robb i wsp., 2017). Szczepy MRSP były najczęściej izolowane od psów z nosa i odbytu, ale były to jednocześnie najczęstsze miejsca pobierania próbek (van Duijkeren i wsp., 2011). Nosicielstwo *S. pseudintermedius* może mieć charakter trwały, okresowy lub krótkotrwały (Hartmann i wsp., 2005), przy czym rodzaje nosicielstwa nie zostały sprecyzowane i są definiowane przez badaczy na potrzeby konkretnych badań. Hartman i wsp. (2005) przy określaniu nosicielstwa u psów uwzględniali liczbę izolacji szczepów *S. pseudintermedius* w ciągu 12 miesięcy i pokrewieństwo tych bakterii. Przyjęto, że jednokrotna izolacja *S. pseudintermedius* w zakładanym czasie świadczy o krótkotrwałym nosicielstwie, przynajmniej dwukrotna izolacja bakterii (ale nie w kolejno pobieranych wymazach) została zdefiniowana jako nosicielstwo okresowe, a dwukrotna lub większa liczba izolowanych szczepów w kolejnych pobraniach z tej samej okolicy ciała interpretowana była jako nosicielstwo trwałe. Co ważne, badania te wykazują również, że zwierzęta kolonizowane przez *S. pseudintermedius* w sposób trwały lub okresowy zasiedlane są większą liczbą komórek tego

gronkowca, niż te kolonizowane w sposób krótkotrwały, co zwiększa ryzyko zakażeń spowodowanych przez *S. pseudintermedius* u tych psów oraz możliwość przenoszenia bakterii na inne zwierzęta i ludzi (Tanner i wsp., 2000).

W zależności od badań i schematu pobrań materiału, częstość izolacji *S. pseudintermedius* u zdrowych psów waha się 24,4-92%, natomiast odsetek szczepów MRSP wynosi 0-36,84 (Griffeth i wsp., 2008; Hanselmann i wsp., 2009; Han i wsp., 2018; Rubin i Chirino-Trejo, 2011; Lee i wsp., 2018). Uznaje się, że gronkowiec ten jest najczęstszą przyczyną ropnego zapalenia skóry u psów (van Duijkeren i wsp., 2011; Feng i wsp., 2012; Chrobak-Chmiel i wsp., 2023), izolowany jest również z materiału klinicznego w przypadku zakażeń ran, ran pooperacyjnych, ucha zewnętrznego, górnych dróg oddechowych, dróg moczowych i rodnych oraz kości i szpiku kostnego (Chrobak i wsp., 2013; Maluping i wsp., 2014; Marques i wsp., 2018; Marszałik i wsp., 2018; Kalhor i wsp., 2019; Krapf i wsp., 2019). Badania wykazują, że niektóre stany chorobowe, np. atopowe zapalenie skóry u psów, sprzyjają częstszej kolonizacji przez *S. pseudintermedius* nie tylko skóry, ale również zewnętrznego kanału słuchowego i worków spojówkowych (Fazakerley i wsp., 2009; Furiani i wsp., 2011; Chrobak i wsp., 2013). Odnotowano także przypadki śmierci szceniąt w wyniku sepsy z powodu zakażenia *S. pseudintermedius* w pierwszych dwóch tygodniach życia. Dowiedziono również, że siara i mleko suk mogą być potencjalnym źródłem tych bakterii dla szceniąt (Corrò i wsp., 2018; Zakošek Pipan i wsp., 2019).

Nosicielstwo *S. pseudintermedius* u kotów opisywane jest rzadziej niż u psów (Hanselman i wsp., 2009; Gandolfi-Decristophoris i wsp., 2013). Według niektórych autorów kotowate (*Felidae*) nie są naturalnymi gospodarzami *S. pseudintermedius* (Chrobak i wsp., 2013). Dane dotyczące częstości izolacji tego gatunku gronkowców u kotów są nadal fragmentaryczne. Hanselman i wsp. (2009) opisali izolację *S. pseudintermedius* u 6,8% badanych kotów, z czego odsetek zwierząt nosicieli szczepów MRSP wynosił 1,2%. W badaniach Bierowiec i wsp. (2019) gronkowiec ten częściej izolowany był od kotów z bakteryjnymi zakażeniami skóry i błon śluzowych niż kotów klinicznie zdrowych. Według dotychczasowych doniesień, *S. pseudintermedius* był izolowany u kotów m.in. z przypadków zakażeń górnych i dolnych dróg oddechowych, spojówek, dróg moczowych, zewnętrznego kanału słuchowego, skóry oraz ran (Wettstein i wsp., 2008; Hanselman i wsp., 2009; Bierowiec i wsp., 2019 (a); Quekwana i wsp., 2017; Maali i wsp., 2018).

Zarówno u psów, jak i kotów opisano czynniki ryzyka, które mają wpływ na zakażenie *S. pseudintermedius* i jego przebieg, w tym zakażenia szczepami MRSP. Wykazano m.in. silny związek między zakażeniem zwierząt a ich wcześniejszą hospitalizacją (w tym związaną z zabiegami chirurgicznymi), częstymi wizytami w gabinecie weterynaryjnym, podawaniem glikokortykoidów oraz leczeniem chemioterapeutykami przeciwdrobnoustrojowymi (Sasaki i wsp., 2007; Lehner i wsp., 2014; Krapf i wsp., 2019). Istnieją także doniesienia o możliwości

kontaminacji gronkowcami placówek weterynaryjnych oraz ich wyposażenia medycznego. Sugeruje to konieczność zwrócenia szczególnej uwagi na higienę i dezynfekcję powierzchni i sprzętów w placówkach weterynaryjnych, aby zmniejszyć ryzyko transmisji patogenu na pacjentów oraz lekarzy (Youn i wsp., 2014; Paul, 2015; Espadale i wsp., 2018; Feßler i wsp., 2018).

2.3. Występowanie i chorobotwórczość u ludzi

Pojawia się coraz więcej doniesień o izolacji *S. pseudintermedius* u ludzi, niemniej jednak zakażenia ludzi powodowane przez *S. pseudintermedius* odnotowywane są rzadko (Van Hoovels i wsp., 2006; Somayaji i wsp., 2016 (a)). Częściej opisywana jest kolonizacja osób mających kontakt z psami lub kotami i dotyczy 0,4-8,9% właścicieli lub osób zawodowo zajmujących się zwierzętami (Paul i wsp., 2011; Robb i wsp., 2017; Rodrigues i wsp., 2017; Ference i wsp., 2019). Przeważa opinia, że kolonizacja ludzi tym gronkowcem ma charakter przejściowy (Ference i wsp., 2019) i dotyczy głównie osób z immunosupresją lub w starszym wieku (Kuan i wsp., 2016; Somayaji i wsp., 2016 (b); Rodrigues i wsp., 2017). Są jednak prace, w których podkreśla się możliwość długookresowej kolonizacji skóry i błon śluzowych ludzi przez szczepy MRSP (Paul i wsp., 2011) oraz zakażenia osób bez deficytów odporności (Ference i wsp., 2019). Prawdopodobnie jednak częstość występowania tego gronkowca u ludzi jest niedoszacowana, ze względu na mylną identyfikację szczepów *S. pseudintermedius* jako *S. aureus* (Paul i wsp., 2011; Kuan i wsp., 2016; Somayaji i wsp., 2016 (b); Gagetti i wsp., 2020).

Najczęściej opisywanym miejscem izolacji *S. pseudintermedius* u ludzi była jama nosowa oraz tkanki miękkie (Kuan i wsp., 2016; Somayaji i wsp., 2016 (b); Ference i wsp., 2019). Może to wynikać z faktu, że znaczna część zakażeń wywołanych tym patogenem przebiegała z ostrym lub przewlekłym zapaleniem nosa i zatok (Paul i wsp., 2011; Kuan i wsp., 2016; Ference i wsp., 2019). Bakterie te izolowano również z przypadków zapalenia wsierdza, sepsy, głębokich ropni, zakażenia ran powstałych w wyniku pogryzień przez psy, zapalenia płuc, zapalenia stawów, zakażeń skóry i tkanek miękkich z owrzodzeniami i martwicą (Van Hoovels i wsp., 2006; Börjesson i wsp., 2015; Kuan i wsp., 2016; Somayaji i wsp., 2016 (a); Darlow i wsp., 2017; Lozano i wsp., 2017; Robb i wsp., 2017; Diaz i wsp., 2019; Ference i wsp., 2019; Gagetti i wsp., 2020). Badacze wskazują na wysoki potencjał chorobotwórczy *S. pseudintermedius* u ludzi, porównywalny z opisanym u *S. aureus* (Darlow i wsp., 2017). Poza zdolnością kolonizacji ludzkich tkanek, gatunek ten może również ograniczać wzrost innych bakterii będących składowymi naturalnej mikrobioty skóry i błon śluzowych (Kmieciak i Szewczyk, 2018). Pojawiła się też sugestia, że MRSP może częściej kolonizować ludzi niż MSSP (Paul i wsp., 2011). Alarmująca jest także znaczna oporność na chemioterapeutyki

przeciwdrobnoustrojowe i zdolność do wytwarzania biofilmu szczepów *S. pseudintermedius* izolowanych od ludzi (FERENCE i wsp., 2019), związana również z szybkim rozprzestrzenianiem się wśród ludzi dominującego w Europie klonu ST71 (Paul i wsp., 2011; Pompilio i wsp., 2015; Somayaji i wsp., 2016 (b)).

Wielu autorów podkreśla, że znacznie częściej kolonizowane są osoby mające kontakt ze zwierzętami, a zwłaszcza z psami (Paul, 2015; Somayaji i wsp., 2016 (b); Robb i wsp., 2017; Diaz i wsp., 2019; FERENCE i wsp., 2019; Krapf i wsp., 2019). Niemniej jednak, opisano także przypadki zakażenia *S. pseudintermedius* u osób, które nie miały wcześniej kontaktu ze zwierzętami (Lozano i wsp., 2017; Gagetti i wsp., 2020). Wskazuje się także na zwiększone ryzyko kolonizacji wśród lekarzy weterynarii oraz personelu pomocniczego (Paul i wsp., 2011; Silva i wsp., 2015; Rodrigues i wsp., 2017). Wykazano również, że kurz i sierść zwierząt mogą mieć udział w przenoszeniu MRSP na ludzi w obrębie gospodarstwa domowego (FERENCE i wsp., 2019).

2.4. Czynniki zjadliwości

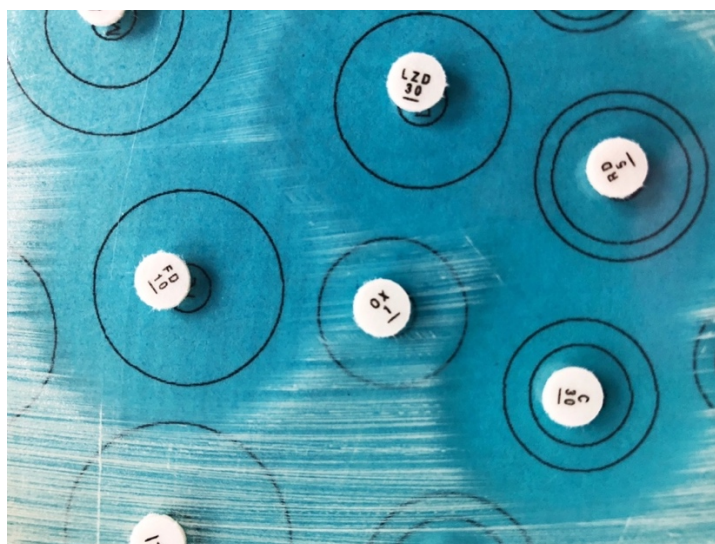
Omawiany gatunek wytwarza różne czynniki zjadliwości; niektóre są podobne do wytwarzanych przez *S. aureus*. Czynniki te sprzyjają kolonizacji różnych okolic ciała oraz zakażeniom (van Duijkeren i wsp., 2011; Marszałik i wsp., 2018). Determinanty chorobotwórczości *S. pseudintermedius* to m.in.: czynniki adhezyjne - białka powierzchniowe biorące udział w adhezji do komórek gospodarza, a także białka wiążące (białko A, clumping factor - CF), egzoenzymy, egzotoksyny oraz superantygeny. Spośród superantygenów na szczególną uwagę zasługują: TSST-1, toksyny eksfoliatywne, koagulaza, stafylokinaza, hialuronidaza, hemolizyny, proteazy i nukleazy. Leukotoksyna (Luk-I) wytwarzana przez *S. pseudintermedius*, która przypomina wytwarzaną przez *S. aureus* leukocydynę Panton-Valentine, wykazuje toksyczność wobec komórek wielojądrzastych i makrofagów, a także komórek mieloidalnych prezentujących receptor CXCR2 (Fitzgerald, 2009; van Duijkeren i wsp., 2011; Maali i wsp., 2018; Marszałik i wsp., 2018). Luk-I składa się z białek LukS-I oraz LukF-I, które indukują lizę komórek (Maali i wsp., 2018). Maali i wsp. (2018) wskazują także na wytwarzanie toksyn δ -toxin oraz PSM ϵ , wykazujących silną aktywność cytotoksyczną wobec "non-professional phagocytic cells" (NPPc), np. psich keratynocytów, ludzkich komórek epitelialnych i osteoblastów.

2.5. Lekooporność

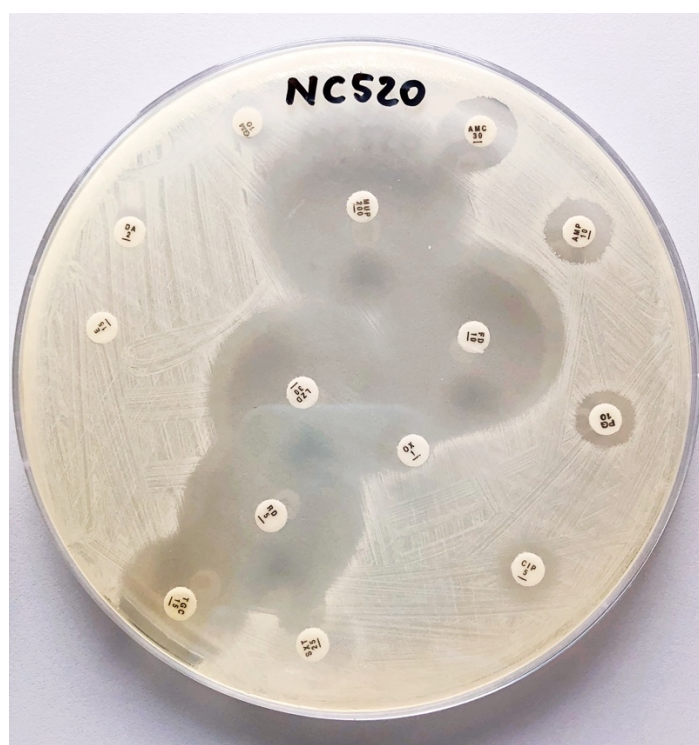
Podobnie jak w przypadku *S. aureus*, wśród szczepów *S. pseudintermedius* obserwuje się w ostatnich latach narastanie oporności na powszechnie stosowane chemioterapeutyki.

Zarówno od ludzi, jak i od zwierząt izolowane są szczepy odporne na metycylinę (van Duijkeren i wsp., 2011; Somayaji i wsp., 2016 (a); Grönthal i wsp., 2017; Rodrigues i wsp., 2017; Worthing i wsp., 2018 (a); Meroni i wsp., 2019; Wegener i wsp., 2020). Oporność na antybiotyki β -laktamowe najczęściej jest związana z obecnością genu *mecA* w obrębie kasyety chromosomowej *mec* (staphylococcal chromosomal cassette *mec* - *SCCmec*). Jako mobilny element genetyczny (mobile genetic elements - MEG) może być przenoszona w wyniku transferu horyzontalnego między szczepami tego samego lub różnych gatunków gronkowców (Fitzgerald, 2009; van Duijkeren i wsp., 2011; Chrobak i wsp., 2013; Wegener i wsp., 2020). Kasetę *SCCmec* jest zbudowana z determinanty oporności na metycylinę (*mecA*, *mecB* lub *mecC*) zawartej w kompleksie genu *mec* i obejmuje geny rekombinazy *ccr* swoistej dla miejsca, które są odpowiedzialne za insercję kasyety do genomu. Może także obejmować szeroki zakres genów dodatkowych (International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC), 2009; Duim i wsp., 2018; Worthing i wsp., 2018 (a); Krapf i wsp., 2019). Typy *SCCmec* początkowo zdefiniowano ze względu na ich kombinację kompleksu klasy genów *mec* oraz genu rekombinazy *ccr*. Jednak klasyfikacja elementów *SCCmec* i zastosowanie nomenklatury zostały utrudnione przez istnienie kompozytowych kaset i elementów pseudo-*SCCmec*, które nie zawierają genów *ccr* (Worthing i wsp., 2018 (a)). Obecnie w bazie danych International Working Group on the Staphylococcal Cassette Chromosome (IWG-SCC) znajduje się czternaście kaset *SCCmec*. Zostały ponumerowane zgodnie z kolejnością ich opisanie (Worthing i wsp., 2018 (a)). Mimo, że sekwencje kaset chromosomowych pochodzące od szczepów innych niż *S. aureus* często różnią się od identyfikowanych u gronkowca złocistego, wszystkie są klasyfikowane jako *ccrA*, *ccrB* lub *ccrC* (International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC), 2009). U gronkowców innych niż gronkowiec złocisty opisano kilka dodatkowych allotypów *ccr*. Na przykład u *S. pseudintermedius* KM241 zidentyfikowano *ccrA5* jako odpowiednik genu *ccrA* (International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC), 2009). Opisano kilka kaset *SCCmec* MRSP, włączając *SCCmec* III (wcześniej znany jako II-III), który występuje w globalnie dominującym typie ST71 oraz ST316 i ST25, warianty *SCCmec*_{V_T} (ST496, ST64 i ST751) oraz nowo zgłoszony *SCCmec*_{NA45}, który zawiera gen *mec* klasy C1 oraz gen rekombinazy *ccrC*. U *S. pseudintermedius* opisywano również inne elementy *SCCmec*, które nie są odnotowywane przez IWG-SCC, takie jak: ψ *SCCmec*_{C57395}, który nie zawiera genów *ccr* oraz *SCCmec*_{KM241} i *SCCmec*_{CA116} (Duum i wsp., 2018; Worthing i wsp., 2018 (a)). Jak opisuje Krapf i wsp. (2019) w Środkowej Europie większość izolatów MRSP zawiera elementy *SCCmec* III, w dalszej kolejności *SCCmec* IV oraz najrzadziej *SCCmec* V/VT. Wykazano ponadto, że elementy *SCCmec* występujące u *S. pseudintermedius* wykazują znaczne podobieństwo do tych zidentyfikowanych w szczepach MRSA, co wskazuje, że zachodzi międzygatunkowy transfer

mobilnych elementów genetycznych (van Duijkeren i wsp., 2011; Worthing i wsp., 2018 (a)). Przykład szczepów *S. pseudintermedius* prezentujących oporność na oksacylinę na poziomie fenotypowym oraz wielolekooporność przedstawiono na rycinach 6 oraz 7.



Ryc. 6. Fragment płytki, na której wykonano badanie lekooporności szczepu *S. pseudintermedius* z widocznym wzrostem bakterii przy krążku nasączonym oksacyliną (archiwum własne).



Ryc. 7. Szczep *S. pseudintermedius* pochodzący od zdrowego klinicznie psa, prezentujący wielolekooporność (MDR) (archiwum własne).

PROBLEMATYKA I METODA BADAŃ WŁASNYCH

Podjęta w pracy problematyka dotyczy częstości występowania bakterii z rodzaju *Staphylococcus* u zwierząt domowych (kotów i psów) oraz ludzi, charakterystyki ich potencjału chorobotwórczego, a zatem także próby oceny, jakie zagrożenie stanowią te drobnoustroje dla badanych ludzi i zwierząt. Zagadnieniem równie istotnym jest poznanie czynników, które mogą mieć związek z kolonizacją organizmów ludzi i ich najbliższych towarzyszy przez gronkowce, a czasem również z występowaniem u nich zakażeń i niebezpiecznych stanów chorobowych. Wiedza na ten temat może pomóc określić zasady bezpiecznego postępowania i zachowania stanu zdrowia zarówno w pracy zawodowej, jak i w życiu prywatnym.

3. Pytania i hipotezy badawcze oraz uzasadnienie celu badań

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.

Wobec powyższego, za cel badań przyjęto w szczególności:

1. Sprawdzenie, z jaką częstością występują gronkowce u psów oraz kotów i ludzi, uwzględniając zarówno szczepy koagulazo-ujemne, jak i koagulazo-dodatnie;
2. Określenie lekooporności szczepów na poziomie fenotypowym oraz genetycznym ze szczególnym uwzględnieniem oporności na metycylinę;
3. Oznaczenie typów *spa Staphylococcus aureus*;
4. Weryfikację związku potencjalnych czynników ryzyka z kolonizacją badanych ludzi i zwierząt przez gronkowce, ze szczególnym uwzględnieniem szczepów koagulazo-dodatnich (*S. aureus*, *S. pseudintermedius*).

Jedną z przesłanek do podjęcia badań w wybranym obszarze jest obserwowany od lat wzrost oporności gronkowców na stosowane w medycynie zwierząt i człowieka leki

przeciwdrobnoustrojowe. Znajomość czynników zjadliwości i skali problemu lekooporności w badanej puli szczepów pozwoli na lepsze zrozumienie obecnej sytuacji oraz odpowiednie dostosowanie wyborów terapeutycznych w codziennej praktyce lekarzy medycyny i weterynarii. Scharakteryzowanie typów *spa* izolatów gronkowca złocistego umożliwi prześledzenie doniesień literaturowych na ich temat i wskazanie kolejnych, interesujących z punktu widzenia nauki i praktyki klinicznej zagadnień i wniosków. Wyjątkowo interesujący wydaje się być aspekt potencjalnej transmisji gronkowców między ludźmi i ich zwierzętami. Wiedza o obszarach ciała, w których najczęściej izolowane są gronkowce umożliwi stwierdzenie, jaką drogą ludzie i zwierzęta mogą dzielić się drobnoustrojami. Czy zwyczajowy, tak często widziany w praktyce klinicznej autorki całus w psi lub koci pyszczek udzielany przez właściciela na pocieszenie podczas wizyty lekarskiej to istotne zagrożenie dla człowieka? A może dla zwierzęcia? Niewątpliwie, bliski kontakt międzygatunkowy sprzyjać może transmisji bakterii - i tych niepatogennych, i tych zjadliwych. Utrzymywany może być nie tylko w gospodarstwach domowych z własnymi pupilami, ale także w pracy zawodowej – zwłaszcza lekarzy weterynarii i personelu zakładów leczniczych dla zwierząt. Oczywiście nie tylko zwierzęta mogą stanowić rezerwuuar drobnoustrojów patogennych – narażeni na zwiększoną ekspozycję na nie są również pracownicy sektora ochrony zdrowia, m.in. lekarze, pielęgniarki, ratownicy, osoby sprzątające – wszyscy mający styczność z pacjentami oraz ich wydzielinami i wydaliniami. Powstaje zatem pytanie, czy istotnie częściej osoby wykonujące takie zawody są kolonizowane przez gronkowce? Czy zwierzęta, których opiekunowie mają taką pracę również? W badaniach odnoszących się do zagadnienia prewalencji i zjadliwości gronkowców u człowieka i zwierząt widoczny jest deficyt tych, w których przedstawiono by obszernie i szczegółowo dane dotyczące kolonizacji w wielu lokalizacjach anatomicznych jednocześnie, w grupie psów, kotów i ludzi (w tym w parach „człowiek-zwierzę”) oraz tak szeroko ujmujących czynniki ryzyka.

Nakreślona powyżej problematyka wraz ze sformułowanymi celami badań stały się podstawą do postawienia następujących pytań badawczych:

1. Czy *S. aureus* dominuje u ludzi, a *S. pseudintermedius* u psów, u kotów stanowiąc gatunek marginalny?
2. Czy lekooporność obu powyższych gatunków kształtuje się na podobnym poziomie?
3. Czy lekooporność CoNS jest niska i w istocie nie zwiastuje trudności dla pacjentów?
4. Czy któryś z typów *spa* dominuje w badanej puli *S. aureus*?
5. Czy rodzaj wykonywanej pracy ma związek z częstszą kolonizacją przez gronkowce?
6. Czy wcześniejsza historia leczenia, w tym hospitalizacji ma związek z wyższą prewalencją gronkowców u badanych osób i zwierząt?

7. Czy stosowanie antybiotyków ma związek z większą częstością występowania szczepów lekoopornych (w tym metycylinoopornych) i wielolekoopornych u ludzi i zwierząt?

W odniesieniu do postawionych powyżej pytań badawczych sformułowano następujące hipotezy badawcze:

Hipoteza 1

Organizmy ludzi i zwierząt mogą być kolonizowane przez te same genotypy bakterii.

Hipoteza 2

Czynnikami ryzyka związanymi z kolonizacją przez gronkowce koagulazo-dodatnie zwierząt są: stan zdrowia i wcześniejsze leczenie, kontakty właścicieli ze służbą zdrowia oraz warunki utrzymania zwierząt (w tym możliwość kontaktu z innymi zwierzętami).

Hipoteza 3

Czynnikami ryzyka w odniesieniu do kolonizacji przez badane bakterie ludzi są: kontakty z sektorem ochrony zdrowia (np. praca o charakterze medycznym lub związanym z medycyną i ekspozycją na czynniki zakaźne), hospitalizacja, stan zdrowia, posiadanie zwierzęcia lub praca związana z bezpośrednim kontaktem ze zwierzętami.

W Polsce brakuje badań, które w tak szerokim ujęciu podejmowałyby temat oddziaływania drobnoustrojów na organizmy ludzi i zwierząt oraz możliwości ich transmisji międzygatunkowej, zwłaszcza w kontekście utrzymywania bliskiego kontaktu ludzi ze zwierzętami domowymi. Określenie rozpowszechnienia gronkowców u ludzi i zwierząt uzupełni wiedzę na temat epidemiologii tych bakterii, a uwzględnienie typów genetycznych *spa* będzie szczególnym wkładem. Określenie profilu lekooporności izolowanych szczepów, ze szczególnym uwzględnieniem metycylinooporności nie tylko postrzeganych za najgroźniejsze gatunków koagulazo-dodatnich, ale także gatunków nie produkujących koagulazy, pozwoli na skuteczne leczenie przyczynowe, a być może unowocześnienie standardów diagnostyki laboratoryjnej, co będzie realną pomocą w pracy lekarzy klinicyistów, a także ograniczy niewłaściwe stosowanie antybiotyków w dobie rosnącej oporności bakterii. Znajomość genotypów szczepów wniesie wiedzę o gronkowcach w badanym środowisku. Określenie czynników ryzyka dla transmisji międzygatunkowej bakterii, zwłaszcza dla osób pracujących ze zwierzętami, osób o obniżonej odporności oraz hospitalizowanych, stanowić będzie wskazówkę bezpiecznego postępowania w pracy zawodowej i opiece nad zwierzętami

towarzyszącymi. Uzyskane wyniki mogą mieć szczególne znaczenie w kontekście dzieci, które pozostają w stałym, bliskim kontakcie ze zwierzętami domowymi.

4. Materiały i metody

4.1. Organizacja i pobieranie materiału do badań

Materiał pozyskiwano od ludzi i zwierząt zgodnie z procedurą postępowania zaakceptowaną przez Komisję Bioetyczną przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu oraz Lokalną Komisję do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach we Wrocławiu przy Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda, Polskiej Akademii Nauk (opinie Komisji stanowią załączniki nr 1 i 2 do dysertacji).

Miejszem pozyskiwania próbek do badań było ambulatorium Katedry i Kliniki Pediatrii i Chorób Infekcyjnych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, a także Kliniki Weterynaryjne Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Zważywszy na miejsca pobierania materiału i szczególnie trudny okres (pandemia COVID-19) okazało się wówczas, że uzyskanie wymazów od ludzi z zachowaniem standardów bezpieczeństwa zarówno osoby badanej, jak i pobierającej materiał było przez pewien czas niemożliwe. Utrudniony był również dostęp do laboratoriów, czasowo niemożliwa była identyfikacja gatunkowa metodą MALDI-TOF MS, skończywszy na problemach z dostępnością podstawowych produktów, takich jak pałeczki do wymazów czy rękawiczki ochronne. Wskutek tego nie było możliwe uzyskanie zadowalającej liczby wymazów wyłącznie w planowanych placówkach ochrony zdrowia ludzi i zwierząt i ostatecznie badania zostały przeprowadzone dodatkowo w zakładach leczniczych dla zwierząt na terenie Wrocławia oraz wśród zgłaszających się samodzielnie ochotników – dzieci wraz z rodzicami lub opiekunami prawnymi.

4.2. Przebieg badania ludzi

Osoby dorosłe wraz z dziećmi po zgłoszeniu się do Poradni Chorób Zakaźnych Dzieci lub Oddziału Klinicznego Zakaźnego Katedry i Kliniki Pediatrii i Chorób Infekcyjnych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Personel medyczny informował szczegółowo opiekunów prawnych dzieci o możliwości wzięcia udziału w badaniu. Osoby, które wyraziły taką wolę otrzymywały formularz świadomej zgody na udział w badaniu dla osoby dorosłej oraz w odniesieniu do nieletnich – formularz świadomej zgody na udział w badaniu dziecka (w przypadku dzieci, które ukończyły 16 rok życia również ich pisemnej zgody) i formularz zgody na przetwarzanie danych osobowych w związku z udziałem w badaniu i ubezpieczeniem badania (załączniki 3-6). Następnie pobrano wymazy od

badanych osób przez uprawniony personel z czterech lokalizacji anatomicznych: przedsionka jamy nosowej, gardła w okolicy migdałków, skóry za małżowiną uszną oraz skóry w zgięciu łokciowym. Na koniec rodzic lub opiekun prawny dziecka przy pomocy personelu medycznego wypełniał ankietę dotyczącą osoby badanej i środowiska, w którym żyje (załączniki 8-9). Osoby, które zdecydowały o udziale dzieci (oraz ewentualnie także swoim) w badaniu, posiadające w domu zwierzę (psa lub kota) informowano o możliwości wykonania analogicznego badania u zwierzęcia. Do tego celu przygotowano broszury informacyjne, które osoby otrzymają na własność, aby miały możliwość zapoznać się z zawartymi informacjami. W broszurach zamieszczono informację o możliwości wykonania badania zwierzęcia wraz z danymi kontaktowymi Przychodni Katedry Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, gdzie po uprzednim umówieniu wizyty, właściciele będą mogli przybyć ze zwierzęciem celem pobrania wymazów. Formularze świadomej zgody pacjentów na udział w badaniu wraz z ich danymi osobowymi są przechowywane przez Katedrę Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych. Anonimowe ankiety oraz pobrany materiał (wymazy) zostały opisane poprzez indywidualny kod danego pacjenta uniemożliwiający identyfikację badanej osoby.

W badaniu zastosowano kryteria włączenia i wyłączenia z badania. Kryteria włączenia były następujące:

- Pacjenci Kliniki Pediatrii i Chorób Infekcyjnych, Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.
 - Wiek od 0 do 18 lat.
 - Wyrażenie świadomej i dobrowolnej zgody na udział w badaniu.
- Rodzice lub opiekunowie prawni pacjentów zainteresowani swoim udziałem w badaniu.
 - Wyrażenie świadomej i dobrowolnej zgody na udział w badaniu.

Przyjęto poniższe kryteria wykluczenia z badania:

- Brak zgody na udział w badaniu.
- Pacjent będący w trakcie antybiotykoterapii miejscowej w lokalizacjach pobierania wymazów lub antybiotykoterapii ogólnoustrojowej.
- Pacjent będący w okresie tuż po zakończeniu antybiotykoterapii miejscowej w lokalizacjach pobierania wymazów lub antybiotykoterapii ogólnoustrojowej – za czas wykluczający możliwość udziału w badaniu przyjęto 7 dni od momentu zakończenia działania zastosowanego leku.

Materiał mikrobiologiczny od ludzi pobierany był za pomocą jałowych pałeczek z wacikiem wiskozowym umieszczanych niezwłocznie po pobraniu wymazu w probówce transportowej z podłożem Amies (Deltalab, Barcelona, Hiszpania). Probówki opisano indywidualnym kodem

pacjenta wraz z oznaczeniem miejsca pobrania wymazu. Tak zabezpieczony materiał oraz zakodowane ankiety odbierane były bezpośrednio z ambulatorium.

4.3. Przebieg badania zwierząt

Analogiczne zasady przeprowadzenia badania zastosowano w odniesieniu do zwierząt. Każdy ze zgłaszających się ze zwierzęciem do gabinetu weterynaryjnego właściciele miał możliwość zapoznania się z informacją o prowadzonym badaniu poprzez plakaty informacyjne, broszury oraz informację ustną od personelu medycznego. Osoby zainteresowane udziałem zwierzęcia w badaniu były szczegółowo informowane o planowanym przebiegu badania, miejscach pobierania materiału bakteriologicznego i odczuciach, które może powodować dotykaniem pałeczką do wymazów wybranych okolic ciała zwierzęcia, celem oceny czy zwierzę pozwoli na pobranie materiału, a także o kwestionariuszu dotyczącym badanego psa lub kota i środowiska, w którym żyje. Osoby zostały poinformowane także o możliwości rezygnacji z badania w dowolnym momencie bez żadnych konsekwencji. Następnie właściciele, którzy zaakceptowali te informacje wyrażali ustną zgodę na wypełnienie kwestionariusza i pobranie od zwierzęcia przez wykwalifikowany personel weterynaryjny wymazów z sześciu lokalizacji anatomicznych – zewnętrznego przewodu słuchowego, nozdrzy przednich, worka spojówkowego, jamy ustnej, skóry w pachwinie oraz odbytu. Jeśli zwierzę miało ranę lub zmiany skórne – dodatkowy wymaz pobierany był także z tej lokalizacji. W trakcie pobierania wymazów od pacjenta właściciel wypełniał kwestionariusz. Właściciele zwierząt poinformowani zostali również o możliwości wzięcia przez nich udziału w badaniu w parze ze zwierzęciem. W tym celu udostępniono dane kontaktowe do wyznaczonych osób z ramienia Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, gdzie po wcześniejszym umówieniu wizyty właściciele mogli przybyć celem dopełnienia formalności i pobrania od nich wymazów przez uprawniony personel medyczny. Uzyskany materiał mikrobiologiczny przekazywany był niezwłocznie do laboratoriów Katedry Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych. Zgromadzone kwestionariusze przechowywane są w Katedrze Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych. Zarówno materiał kliniczny jak i kwestionariusze dotyczące zwierząt zakodowane zostały tożsamymi oznaczeniami.

Również w przypadku psów i kotów zastosowano kryteria włączenia pacjentów do badania:

- Pacjent zakładu leczniczego dla zwierząt
- Wyrażenie przez właściciela zwierzęcia świadomej i dobrowolnej zgody na udział zwierzęcia w badaniu

Nie wszystkie zwierzęta mogły zostać zakwalifikowane do udziału w projekcie. Kryteria wykluczenia to:

- Brak zgody właściciela na udział zwierzęcia w badaniu
- Pies lub kot będący w trakcie antybiotykoterapii miejscowej w lokalizacjach pobierania wymazów lub antybiotykoterapii ogólnoustrojowej.
- Pacjent będący w okresie tuż po zakończeniu antybiotykoterapii miejscowej w lokalizacjach pobierania wymazów lub antybiotykoterapii ogólnoustrojowej – za czas wykluczający możliwość udziału w badaniu przyjęto 7 dni od momentu zakończenia działania zastosowanego leku.

Materiał mikrobiologiczny od zwierząt pobierany był za pomocą jałowych pałeczek z wacikiem wiskozowym (Deltalab, Barcelona, Hiszpania) umieszczanych niezwłocznie po pobraniu wymazu w jałowej probówce polistyrenowej (F.L. Medical, Torreglia, Włochy) z podłożem płynnym BHI w ilości 2 ml (Oxoid, Basingstoke, Wielka Brytania). Probówki opisano indywidualnym kodem pacjenta wraz z oznaczeniem miejsca pobrania wymazu. Tak zabezpieczony materiał oraz zakodowane ankiety przekazywane były do dalszych etapów prac.

4.4. Badana grupa ludzi i zwierząt

W pierwszym etapie badania, w latach 2019 – 2021 przebadano łącznie 274 zwierzęta. Koty i psy były przydzielane do 4 grup na podstawie danych zawartych w kwestionariuszach oraz badania klinicznego.

Wyodrębniono następujące grupy:

- Koty zdrowe (n=120)
- Koty chore (n=41)
- Psy zdrowe (n=64)
- Psy chore (n=49)

Na potrzeby niniejszego projektu badawczego, poprzez zwierzęta chore rozumiano osobniki, u których stwierdzono w badaniu klinicznym objawy przynajmniej jednego z wymienionych poniżej stanów chorobowych:

- Zapalenie spojówek
- Zapalenie przewodu słuchowego
- Nieżyt górnych dróg oddechowych
- Zmiany skórne lub rany
- Inne objawy kliniczne (inne, niewymienione wyżej objawy wskazujące na możliwość występowania zakażeń bakteryjnych w organizmie)

W latach 2019 – 2021 w badaniu udział wzięło 261 osób, w tym 36 dzieci oraz 225 osób dorosłych. W grupie badanej były 23 osoby chore (4 dzieci oraz 19 osób dorosłych), tj. posiadające objawy bakteryjnego zapalenia skóry, górnych dróg oddechowych, spojówek i/lub ran. Strukturę badanej grupy ludzi i zwierząt przedstawiono w tabeli 1. W drugim etapie badań analizie poddano szczepy *S. aureus* oraz *S. pseudintermedius* pochodzące od badanych ludzi i zwierząt.

Tabela 1

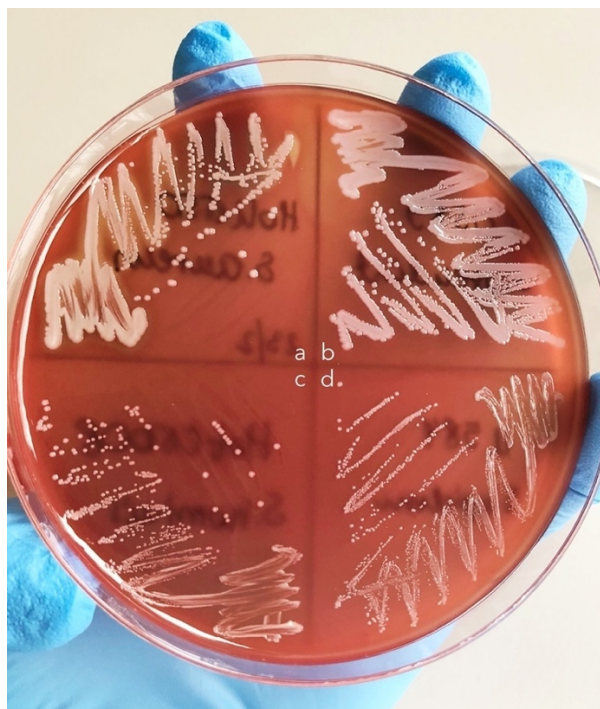
Charakterystyka badanych zwierząt i ludzi

Zmienna	Zwierzęta		Zmienna	Ludzie	
	Koty	Psy		Dorośli	Dzieci
Zdrowe	120	64	Zdrowi	206	32
Chore	41	49	Chorzy	19	4
Łączna liczba badanych	161	113	Łączna liczba badanych	225	36

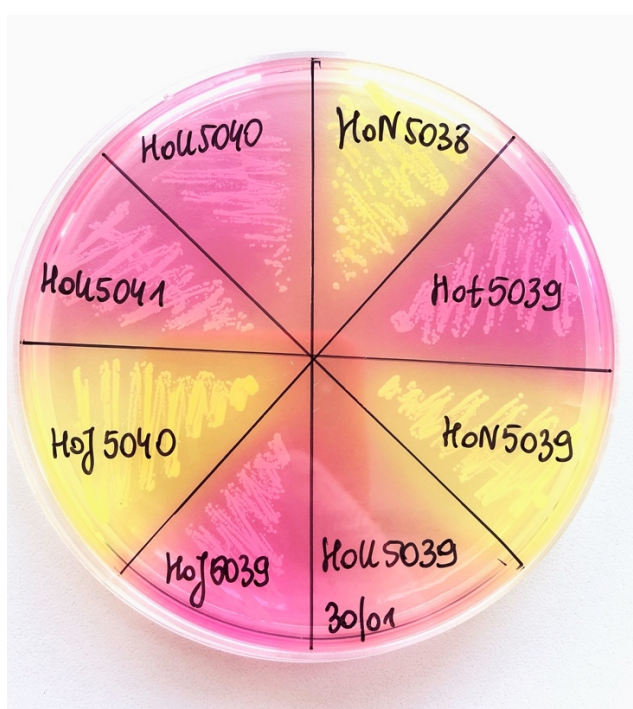
4.5. Badanie bakteriologiczne

Materiał pochodzący od ludzi przenoszono z podłoża transportowego do probówki z podłożem płynnym BHI i namnażano przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Próbkę od zwierząt bezpośrednio po pobraniu umieszczano w podłożu płynnym BHI i inkubowano w taki sam sposób. Po inkubacji, 1 µl uzyskanej hodowli bakteryjnej posiewano za pomocą jałowej ezy (F.L. Medical, Torreglia, Włochy) na podłoża stałe: agar z krwią baranią, podłoże Chapmana oraz agar z eskuliną (Oxoid, Basingstoke, Wielka Brytania) i inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Po tym czasie dokonano oceny morfologii obecnych na płytkach kolonii bakteryjnych. Wszystkie kolonie, które odpowiadały cechom opisywanym dla gronkowców przesiewano ponownie. Po kolejnej dobie inkubacji, oceniano morfologię i stopień odseparowania kolonii. Jeśli wynik oceny był niejednoznaczny (widoczne były tylko pojedyncze kolonie lub nadal nie były odpowiednio odizolowane od innych), wykonywano dodatkowy posiew redukcyjny na agar z krwią baranią i podłoże Chapmana przy wydłużonym czasie inkubacji do 48 godzin w 37°C. W przypadku uzyskania wzrostu czystych kolonii bakteryjnych, podejrzanych o reprezentowanie rodzaju *Staphylococcus*, kolonie przesiewano ponownie na agar z krwią baranią. Za kolonie przynależne do rodzaju *Staphylococcus* uznawano kolonie spełniające następujące kryteria: na podłożu z krwią baranią - okrągłe, gładkie, lśniąco, w odcieniach bieli, szarości i żółci, bez i ze strefą hemolizy β (ryc. 8.),

na podłożu Chapmana – okrągłe, lśniące, gładkie, w odcieniach żółci lub czerwieni (ryc. 9.),
na agarze z eskuliną – niepowodujące zmiany zabarwienia podłoża na czarno lub brązowo.



Ryc. 8. Porównanie wyglądu kolonii *S. aureus* (a), *S. pseudintermedius* (b), *S. hominis* (c) oraz *S. epidermidis* (d) na agarze z dodatkiem krwi baraniej (archiwum własne).



Ryc. 9. Wzrost bakterii z rodzaju *Staphylococcus* na podłożu Chapmana (archiwum własne).

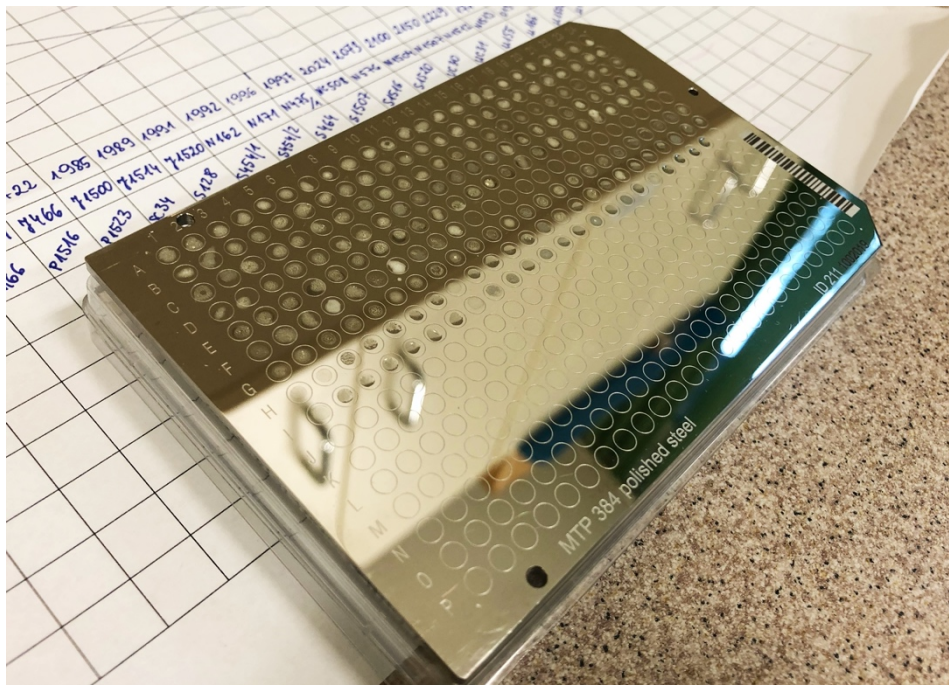
4.6. Identyfikacja gatunkowa szczepów

4.6.1. Zdolność wytwarzania koagulazy

Celem weryfikacji produkcji koagulazy wolnej, dla wyselekcjonowanych uprzednio szczepów wykonano test probówkowy (Pałkiewicz i wsp., 2003). W jałowej probówce (F.L. Medical, Torreglia, Włochy) umieszczono 0,5 ml liofilizowanej plazmy króliczej i dodano kilka kolonii bakteryjnych, celem utworzenia zawiesiny. Probówki inkubowano w 35°C przez 18 godzin, a następnie obserwowano obecność skrzepu. Szczepy, które powodowały wytworzenie skrzepu oznaczono jako wytwarzające koagulazę wolną. Kontrolę negatywną stanowiła probówka z 0,5 ml plazmy króliczej i dwoma kroplami sterylnej zawiesiny podłoża BHI.

4.6.2. Identyfikacja metodą MALDI-TOF MS

Wybrane na podstawie morfologii pojedyncze kolonie bakterii z podłoża z krwią baranią poddano ekstrakcji celem identyfikacji metodą MALDI-TOF MS. Procedura przygotowania ekstraktów została wykonana w oparciu o schemat opisany wcześniej w literaturze (Paściak i wsp., 2015; Król i wsp., 2016; Wanecka i wsp., 2019), zgodnie z instrukcją producenta (Bruker Daltonics, Bremen, Niemcy). Zawiesinę próbki badanej o objętości 1 µl naniesiono na dedykowaną do spektrometru Bruker Daltonics UltrafleXtreme płytkę o 384 polach (ryc. 10), po czym pokryto je 1 µl roztworu matrycy zawierającego kwas α -cyjano-4-hydroksycynamonowy (HCCA) w rozpuszczalniku organicznym (50% acetonitryl i 2,5% kwas trifluorooctowy). Po osuszeniu, płytka umieszczana była w komorze analizatora, a następnie wynik pomiaru uwalnianych cząsteczek rejestrowany w postaci widma mas odczytywany był z użyciem oprogramowania The Biotyper 3.1 (Bruker Daltonics). Zgodnie z wytycznymi producenta zastosowano następujące kryteria identyfikacji gatunkowej: wynik <1,7 oznaczał brak wiarygodnej identyfikacji, wynik 1,7-1,999 oznaczał prawdopodobną identyfikację na poziomie rodzaju, wynik 2,0-2,200 oznaczał wiarygodną identyfikację rodzaju i prawdopodobną identyfikację gatunku oraz wynik 2,3-3,0 oznaczał wysoce prawdopodobną identyfikację gatunku. W badaniu własnym przyjęto wyniki równe lub wyższe 2,0 jako akceptowalny poziom identyfikacji gatunkowej. Dla izolatów, które uzyskały wynik w zakresie między 1,7 a 1,999 badanie wykonywano ponownie. Wszystkie szczepy gronkowców, dla których określono gatunek były gromadzone do dalszych etapów prac poprzez zamrożenie 1 ml zawiesiny bakteryjnej w wyciągu mózgowo-sercowym z dodatkiem 15% glicerolu w temperaturze -80°C (Sanyo TwinGuard Ultra Low Freezer -86°C MDF-U700VX, Sanyo Electric Co. Ltd., Osaka, Japonia).



Ryc. 10. Płytkę do identyfikacji gatunkowej szczepów bakteryjnych w spektrometrze Bruker Daltonics UltrafleXtreme (próbki naniesiono na polach w wierszach od A do I) (archiwum własne).

4.7. Izolacja genomowego DNA

Dla wszystkich szczepów *S. aureus* oraz *S. pseudintermedius* wykonano izolację DNA genomowego wykorzystując zestawy Genomic Mini AX Staphylococcus Spin (A&A Biotechnology, Gdańsk, Polska), a izolacja wykonywana była zgodnie z instrukcją producenta. W trakcie izolacji wykorzystywano następujący sprzęt laboratoryjny: wirówkę Centrifuge 5425 (Eppendorf Poland Sp. z o.o., Warszawa, Polska), wortex LP Vortex Mixer (Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA), pipety Eppendorf Research Plus (Eppendorf Poland Sp. z o.o., Warszawa, Polska), Biometra TS1 ThermoShaker (Analytik Jena, Jena, Niemcy). Procedura izolacji przebiegała zgodnie z instrukcją producenta zestawu. Uzyskane izolaty DNA bakteryjnego zostały umieszczone w jałowych mikroprobówkach (SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Niemcy), posegregowane w kriopudełkach do mrożenia (Biologix Group Limited, Shandong, China) i zabezpieczone w zamrażarce w temperaturze -20°C .

4.8. Wykrywanie genów metodą PCR

W celu określenia przynależności gatunkowej szczepów oraz określenia u nich obecności genów oporności na chemioterapeutyki przeciwdrobnoustrojowe wykonano badanie metodą PCR.

Do przeprowadzenia reakcji zastosowano mieszaninę reakcyjną o łącznej objętości 25 μ l i następującym składzie:

- 19,9 μ l H₂O
- 2,5 μ l buforu 10X DreamTaq Green Buffer (zawierającego 20mM MgCl₂) (Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA)
- 0,5 μ l dNTP NZYMix 10mM (Nzytech, Lizbona, Portugalia)
- 0,2 μ l startera R
- 0,2 μ l startera F
- 0,2 μ l (1U) polimerazy DreamTaq Green DNA Polymerase (5U/ μ L) (Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA)
- 1,5 μ l DNA

Matrycę stanowiło DNA izolowane ze szczepów *S. aureus* i *S. pseudintermedius*, a także ze szczepów referencyjnych, użyczonych przez Panią Doktor Karolinę Bierowiec z Katedry Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu i szczegółowo opisanych we wcześniejszych badaniach wykonywanych w tej Katedrze (Bierowiec i wsp., 2016 (b)). W każdej reakcji zastosowano kontrolę pozytywną, negatywną oraz próbę kontrolną, którą stanowiła mieszanina z DNA zastąpionym jałową, destylowaną H₂O (A&A Biotechnology, Gdańsk, Polska) w objętości 1,5 μ l. Warunki reakcji PCR dla poszczególnych produktów ustalono w oparciu o literaturę źródłową (Harmsen i wsp., 2003; Martin i wsp., 2003; García-Álvarez i wsp., 2011; Bierowiec i wsp., 2016 (b); Mališová i wsp., 2019). Reakcje przeprowadzono z wykorzystaniem następujących sprzętów i aparatury: termocyklera Bio-Gener Technology model GE9612T-S, wortexu LP Vortex Mixer (Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA), pipet Eppendorf Research Plus (Eppendorf Poland Sp. z o.o., Warszawa, Polska).

4.8.1. Wykrywanie genów potwierdzających przynależność gatunkową *S. aureus*

Wszystkie izolaty DNA *S. aureus* poddano reakcjom PCR wykrywającym obecność genów *spa* oraz *nuc* w oparciu o dane literaturowe (Martin i wsp., 2003, Harmsen i wsp. 2003). Sekwencje zastosowanych w badaniu oligonukleotydów przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2

Zestawienie sekwencji starterów wykorzystanych w reakcjach PCR

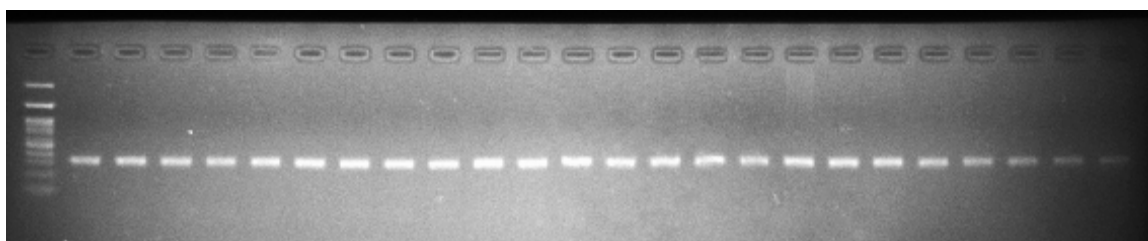
Gen	Startery	Sekwencja 5'-3'	Wielkość produktu (pz)	Literatura źródłowa	
<i>aac(6')le-aph(2'')la</i>	aph-F	GAGCAATAAGGGCATAACAAAAATC	480	Rizzotti i wsp., 2005	
	aph-R	CCGTGCATTTGTCTTAAAAAACTGG			
<i>blaZ</i>	blaZ-F	ACTTCAACACCTGCTGCTTTC	173		
	blaZ-R	TGACCSCSTTTTATCAGCAACC			
<i>ermA</i>	ermA-F	TCTAAAAAGCATGTAAAAGAA	645		
	ermA-R	CTTCGATAGTTTATTAATATTAGT			
<i>ermB</i>	ermB-F	GAAAAGGTACTCAACCAAATA	639		
	ermB-R	AGTAACGGTACTTAAATTGTTTAC			
<i>ermC</i>	ermC-F	TCAAAACATAATATAGATAAA	642		
	ermC-R	GCTAATATTGTTTAAATCGTCAAT			
<i>fusB</i>	fusB-F	CCGTCAAAGTTATTCAATCG	492		Chen i wsp., 2010
	fusB-R	ACAATGAATGCTATCTCGACA			
<i>mecA</i>	mecA-F	TCACCAGGTTCAAC[Y]CAAAA	162		García-Álvarez i wsp., 2011; Oliveira i Lencastre, 2002
	mecA-R	CCTGAATC[W]GCTAATAATATTTTC			
<i>mecC</i>	mecC-F	TCACCAGGTTCAAC[Y]CAAAA	356		García-Álvarez i wsp., 2011
	mecC-R	CCTGAATC[W]GCTAATAATTTTC			
<i>mupA</i>	mupA-F	TATATTATGCGATGGAAGGTTGG	457		Seah i wsp., 2012
	mupA-R	AATAAAATCAGCTGGAAGTGTTG			
<i>nuc</i>	nucF	GAAGATCCAACAGTATATAGTGC	468		Martin i wsp., 2003
	nucR	ATTGACCTGAATCAGCGTTGTCTT			
<i>pta</i>	pta-F	AAA GAC AAA CTT TCA GGT AA	320	Mališová i wsp., 2019	
	pta-R	GCA TAA ACA AGC ATT GTA CCG			
<i>spa</i>	1095F	AGACGATCCTTCGGTGAGC	250 - 637	Harmsen i wsp., 2003; Shopsin i wsp., 1999	
	1517R	GCTTTTGCAATGTCATTTACTG			
<i>tet(K)</i>	tetK-F	TCGATAGGAACAGCAGTA	169	Rizzotti i wsp., 2005	
	tetK-R	CAGCAGATCCTACTCCTT			
<i>tet(L)</i>	tetL-F	ATAAATTGTTTCGGGTCGGTAAT	1077	Emaneini i wsp., 2013	
	tetL-R	AACCAGCCAATAATGACAATGAT			

<i>tet(M)</i>	tetM-F	GTGGACAAAGGTACAACGAG	406	Rizzotti i wsp., 2005
	tetM-R	CGGTAAAGTTCGTCACACAC		
<i>tet(O)</i>	tetO-F	AACTTAGGCATTCTGGCTCAC	515	
	tetO-R	TCCCCTGCTCCATATCGTCA		
<i>vanA</i>	vanA-F	GGGAAAACGACAATTGC	732	
	vanA-R	GTACAATGCGGCCGTTA		
<i>vanB</i>	vanB-F	ATGGGAAGCCGATAGTC	635	
	vanB-R	GATTCGTTCTCGACC		

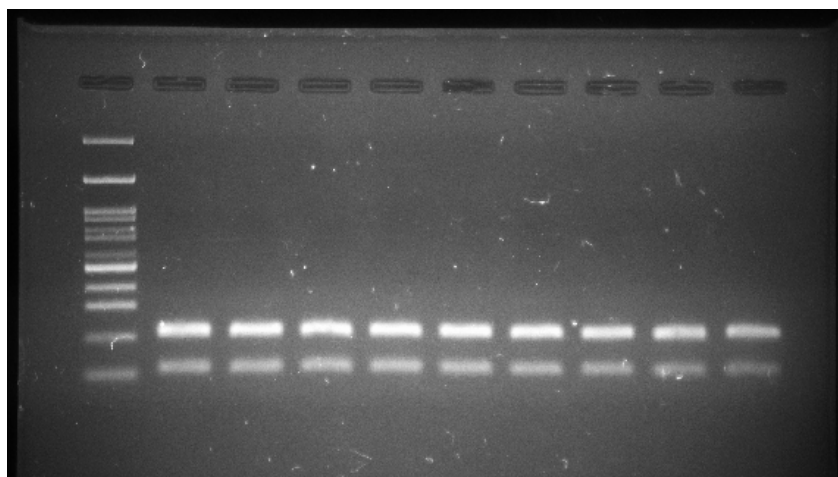
Adnotacje: pz – par zasad

4.8.2. Weryfikacja przynależności gatunkowej *S. pseudintermedius* metodą PCR-RFLP

W celu potwierdzenia przynależności gatunkowej izolatów *S. pseudintermedius*, wykonano badanie metodą PCR-RFLP według Mališová i wsp. (2019) dla genu *pta*. Po potwierdzeniu obecności genu *pta*, otrzymane mieszaniny reakcyjne inkubowano z enzymem *MboI* w dedykowanym przez producenta buforze (Nzytech, Lizbona, Portugalia) w temperaturze 37°C przez 2 godziny. Produkty trawienia naniesiono na żel elektroforetyczny oraz obserwowano efekty procedury zgodnie z procedurą opisaną w punkcie 4.8.4. Obraz żelu elektroforetycznego po wizualizacji obecności genu *pta* oraz produktów po trawieniu enzymatycznym przedstawiono na rycinach 11 i 12.



Ryc. 11. Wizualizacja produktów reakcji PCR dla genu *pta* dla szczepów *S. pseudintermedius* po rozdiale w żelu elektroforetycznym. Widoczne są produkty wielkości ok. 320 par zasad (archiwum własne).



Ryc. 12. Wizualizacja produktów trawienia enzymatycznego w przebiegu procedury PCR-RFLP według Mališová i wsp. (2019) dla szczepów *S. pseudintermedius*. Obecność po trawieniu enzymem *MboI* dwóch prążków potwierdza przynależność do gatunku *S. pseudintermedius* (archiwum własne).

4.8.3. Identyfikacja genów odpowiadających za lekooporność

Obecność genów oporności na penicyliny (*blaZ*), β -laktamy (*mecA* i *mecC*), aminoglikozydy (*aac(6')Ie-aph(2'')Ia*), glikopeptydy (*vanA*, *vanB*), makrolidy, linkozamidy i streptograminy (*ermA*, *ermB* i *ermC*), tetracykliny (*tet[K]*, *tet[L]*, *tet[M]* i *tet[O]*), mupirocyny (*mupA*) oraz kwas fusydowy (*fusB*) określono metodą PCR z wykorzystaniem starterów i warunków reakcji określonych w literaturze (Bierowiec i wsp., 2016 (b)). Na podstawie danych źródłowych przyjęto, iż szczep wielolekooporny (MDR) to taki, który prezentuje obecność genów na 3 lub więcej klas substancji przeciwdrobnoustrojowych (Schwarz i wsp., 2010; Bierowiec i wsp., 2016 (b)).

4.8.4. Wizualizacja otrzymanych produktów PCR

Otrzymane produkty poddawano rozdzielowi w 1,5% żelu agarozowym (Prona Agarose EU) z użyciem barwnika Midori Green Advance DNA Stain (Nippon Genetics Europe GmbH, Düren, Niemcy) oraz markera mas FastGene 100 bp DNA Marker ready-to-use (orange G & xylene cyanol FF) (Nippon Genetics Europe GmbH, Düren, Niemcy) w buforze TAE (Tris-Acetate-EDTA, Nippon Genetics Europe GmbH, Düren, Niemcy) z wykorzystaniem aparatu Sub-Cell GT Cell model 192 (Bio-Rad, California, USA) oraz zasilacza PowerPac™ Basic Power Supply (Bio-Rad, California, USA). Po rozdziale elektroforetycznym wykonano wizualizację żelu w aparacie

ChemiDoc™ XRS+ z oprogramowaniem Image Lab™ oraz Gel Doc XR+ i Quantity One 4.6.8. (Bio-Rad, California, USA) w środowisku Windows XP (Microsoft, Waszyngton, USA).

4.9. Określenie typów *spa* *S. aureus*

Celem powielenia fragmentu genu *spa* wykonano reakcje PCR z zastosowaniem swoistych starterów i warunków reakcji według Harmsen i wsp. (2003). Otrzymane produkt przesłano do sekwencjonowania (Macrogen Europe BV, Amsterdam, Holandia), a uzyskane sekwencje analizowano przy użyciu The Ridom SpaServer (<http://spa.ridom.de/>).

4.10. Określenie lekooporności szczepów metodą dyfuzyjno-krażkową

Wszystkie izolaty *S. aureus* i *S. pseudintermedius* oceniano pod kątem lekooporności na poziomie fenotypowym z wykorzystaniem metody dyfuzyjno-krażkowej zgodnie z procedurą i wytycznymi Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals, supplement VET01S ED6:2023 oraz Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing' 31st Edition. CLSI document M100:ED31:2021. Substancje, dla których wykonano oznaczenie przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3

Wykaz substancji i stężeń zastosowanych do oznaczeń lekooporności metodą dyfuzyjno-krażkową

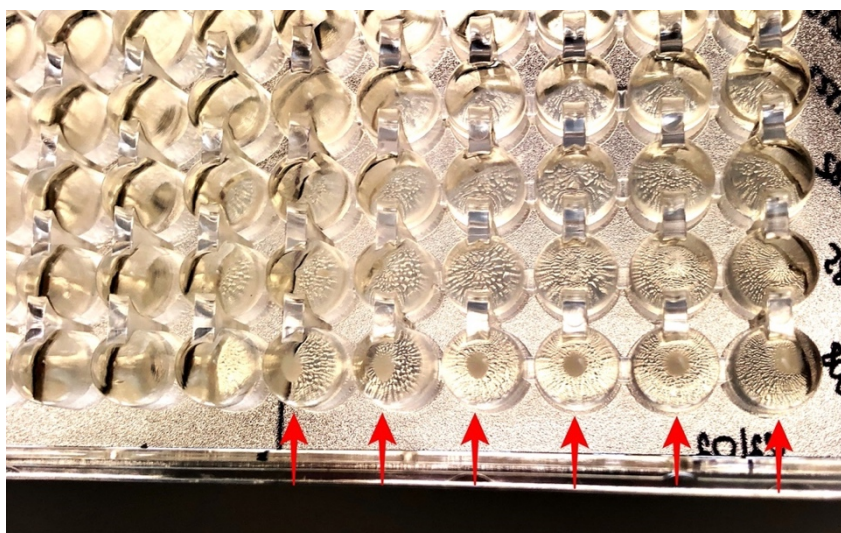
Substancja	Oznaczenie	Stężenie/krażek	Producent
amoksylicyna z kwasem klawulanowym	AMC 30	30 µg	Oxoid™ (Oxoid Ltd., Basingstoke, Wielka Brytania)
ampicylina	AMP 10	10 µg	
cefoksytyna*	FOX 30	30 µg	
chloramfenikol	C 30	µg	
ciprofloksacyna	CIP 5	5 µg	
erytromycyna	E 15	15 µg	
gentamycyna	CN 10	10 µg	
klindamycyna	DA 2	2 µg	
kwas fusydowy	FD 10	µg	
linezolid	LZD 30	µg	
marbofloksacyna	MAR 5	5 µg	MASTDISCS® AST (Mast Group Ltd., Liverpool, Wielka Brytania)
mupirocyna	MUP 200	200 µg	

oksacylina*	OX 1	1 µg	Oxoid™ (Oxoid Ltd., Basingstoke, Wielka Brytania)
penicylina G	P 10	10 IU	
rifampicyna	RD 5	5 µg	
sulfametoksazol/trimetoprimem	SXT 25	25 µg	
tetracyklina	TE 30	30 µg	
tigecyklina	TGC 15	15 µg	
tobramycyna	TOB 10	10 µg	

Adnotacje: *szczypty *S. aureus* badano z wykorzystaniem krążków z cefoksytyną, a *S. pseudintermedius* z oksacyliną

4.11. Określenie metycylinyoporności metodą MIC

Wszystkie izolaty gronkowców pochodzące od zwierząt (zarówno CoPS, jak i CoNS) były oceniane pod kątem oporności na metycylinę na poziomie fenotypowym z wykorzystaniem metody MIC zgodnie z procedurą i wytycznymi zawartymi w Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals, supplement VET01S ED6:2023 oraz Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing' 31st Edition. CLSI document M100:ED31:2021. Badane szczepy inkubowano w płynnym podłożu Mueller-Hinton broth cation-adjusted (Oxoid Ltd., Basingstoke, Wielka Brytania) w serii rozcieńczeń: 4, 2, 1, 0,5, 0,25 i 0,125 µg/mL roztworu oksacyliny (TOKU-E, Gent, Belgia). Zgodnie z rekomendacjami wymienionych wyżej opracowań CLSI, przygotowano zawiesinę kolonii będącą ekwiwalentem 0,5 według standardu McFarlanda, inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37°C, a następnie zidentyfikowano szczepy metycylinyoporne. Wykonanie metody zaprezentowano na rycinie 13.



Ryc. 13. Płytkę titracyjną zastosowaną w metodzie MIC, widziana od spodu. Strzałki wskazują wzrost bakterii w kolejnych roztworach oksacyliny (archiwum własne).

4.12. Określenie czynników ryzyka kolonizacji badanych zwierząt i ludzi przez gronkowce

W celu określenia czynników ryzyka, właściciele zwierząt byli proszeni o wypełnienie ankiet dotyczących cech osobniczych badanego psa lub kota, jego obecnego stanu zdrowia oraz historii leczenia z ostatnich 12 miesięcy (ze szczególnym uwzględnieniem stosowania w terapii antybiotyków), a także warunków środowiska, w którym żyje. Badane osoby dorosłe otrzymywały do wypełnienia odpowiedni kwestionariusz uwzględniający analogiczne kwestie, a także pytania o warunki wykonywanej pracy (oraz czy ma związek z kontaktem ze zwierzętami) i codzienne czynności mogące być potencjalnym czynnikiem ryzyka kolonizacji przez gronkowce. W przypadku dzieci, właściwą wersję ankiety uzupełniali rodzice lub opiekunowie prawni. Dane pozyskane z wypełnionych kompletnych ankiet porównano z wynikami badania mikrobiologicznego i PCR dotyczącymi występowania gronkowców u tych osób i zwierząt, z uwzględnieniem szczepów lekoopornych, celem weryfikacji przyjętych hipotez badawczych oraz określenia czynników ryzyka do kolonizacji przez gronkowce. Wzory ankiet dostępne są w załącznikach dysertacji (załączniki 8-10).

4.13. Opis zastosowanych analiz statystycznych

Do wykonania analizy statystycznej w I etapie badań zastosowano język statystyczny R statistical package (wersja 3.6.3.). Prewalencję oraz przedziały ufności w odniesieniu do bakterii z rodzaju *Staphylococcus* (w tym szczepów metycylooopornych) obliczono za pomocą metody Bootstrap. Wszystkie dane analizowano z wykorzystaniem testu Shapiro-Wilka, testu Wilcozona, testu Kruskala-Wallisa, testu chi-kwadrat oraz testu Fishera. Za istotne statystycznie uznano $p < 0,05$.

W drugim etapie badań, dla dwóch zmiennych kategoryalnych istotność oceniano za pomocą testu chi-kwadrat Pearsona (test chi-kwadrat niezależności) lub dokładnego testu Fishera (test Fishera zastosowano, gdy liczebność oczekiwana wynosiła mniej niż 5). Wielokrotne porównania w przypadku testów post hoc przeprowadzono z zastosowaniem metody Benjamini i Hochberga (Benjamini i Hochberg, 1995). Dodatkowo w analizach określających czynniki ryzyka wystąpienia metycyloooporności szczepów oraz wielolekooporności (MDR) uwzględniono iloraz szans (OR) wraz z 95% przedziałem ufności. Dodatkowo, dla ilościowych czynników ryzyka wykorzystano analizę regresji logistycznej i na jej podstawie określono OR.

Oszacowanie istotności różnic pomiędzy obserwowanymi proporcjami a oczekiwanymi prawdopodobieństwami (zakładając równe prawdopodobieństwa dla każdej kategorii) w obrębie jednej zmiennej przeprowadzono w oparciu o test dobroci dopasowania chi-kwadrat. Rozkład miar tendencji centralnych dla zmiennych liczbowych wyrażono za pomocą mediany (*Mdn*) i rozstępu ćwiartkowego (*Q1*, *Q3*). Dla zmiennych nominalnych, rozkład określono poprzez podanie częstości każdej kategorii oraz udziału procentowego w stosunku do liczebności ogółem, *n* (%). Istotność różnic między średnimi dwóch grup niezależnych dla zmiennych ilościowych określono za pomocą testu sumy rang Wilcoxon. Analizy przeprowadzono przy użyciu języka statystycznego R (wersja 4.1.1; R Core Team, 2021) w systemie Windows 10 Pro 64 bit (build 19044), z wykorzystaniem pakietów *report* (wersja 0.5.1.3; Makowski i wsp., 2021), *rcompanion* (wersja 2.4.18; Mangiafico, 2022), *gtsummary* (wersja 1.6.2; Sjoberg i wsp., 2021), *readxl* (wersja 1.3.1; Wickham i wsp., 2019) i *dplyr* (wersja 1.0.10; Wickham i wsp., 2022). Poziom istotności testów statystycznych w niniejszej analizie ustalono na $\alpha = 0,05$.

WYNIKI

5. Charakterystyka próby

Badaniu poddano 165 szczepów *S. pseudintermedius* pochodzących od 7 ludzi i 75 zwierząt oraz 202 szczepy *S. aureus* pochodzące od 109 ludzi i 30 zwierząt. Charakterystykę badanych ludzi zaprezentowano w tabeli 4, natomiast w tabeli 5 przedstawiono charakterystykę badanych zwierząt. Większość badanych to dorośli – stanowili oni ponad 85% w przypadku obu analizowanych gatunków gronkowców. Odsetek badanych kobiet będących nosicielami *S. pseudintermedius* wynosił ok. 70%, natomiast w przypadku *S. aureus* było to ok. 50%. Większość badanych ludzi była zdrowa. Wszystkie osoby badane skolonizowane przez *S. pseudintermedius* były leczone w ostatnim roku i przyjmowały antybiotyki. Dodatkowo, jedna osoba była hospitalizowana. U osób posiadających *S. aureus* w ostatnim roku leczonych było niespełna 40% badanych, a niecałe 30% przyjmowało chemioterapeutyki przeciwdrobnoustrojowe. Siedem osób było hospitalizowanych. Dzieci były obecne w domu u ok. 30-40% badanych posiadających gronkowca, a u ok. 70% badanych obecne w gospodarstwie domowym było zwierzę. 3,8% dorosłych nosicieli *S. aureus* wykonywało zawód związany z ochroną zdrowia. Czterdzieści procent badanych posiadających *S. pseudintermedius* oraz 16,5% badanych posiadających *S. aureus* wykonywało pracę związaną z bezpośrednim kontaktem zwierzętami.

Tabela 4

Charakterystyka badanych ludzi

Zmienna	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	N	N (%)	N	N (%)
Dorosły	7	6 (85,7%)	107	91 (85,1%)
Dziecko	7	1 (14,3%)	107	16 (14,9%)
Wiek ¹	5	29,40 (6,58)	92	33,65 (17,33%)
Płeć	6		95	
Mężczyzna		2 (33,3%)		48 (50,5%)
Kobieta		4 (66,7%)		47 (49,5%)
Stan zdrowia	7		96	
zdrowy		7 (100,0%)		88 (80,7%)
chory		0		8 (8,3%)
Leczenie w ostatnim roku	5	5 (100,0%)	93	41 (37,6%)
Chemioterapeutyki przeciwdrobnoustrojowe w ostatnim roku	5	5 (100,0%)	90	24 (26,7%)
Hospitalizacja w ostatnim roku	5	1 (20,0%)	93	7 (7,5%)
Dzieci w domu	6	2 (33,3%)	94	36 (38,3%)
Zwierzę w miejscu zamieszkania	7	5 (71,4%)	104	77 (74,0%)
Praca w sektorze medycznym	5	0	79	3 (3,8%)
Praca ze zwierzętami	5	2 (40,0%)	79	18 (16,5%)

Adnotacje: ¹ dla wieku podano M i SD

Wśród zwierząt nosicieli *S. pseudintermedius* dominowały psy (88%), natomiast u zwierząt posiadających *S. aureus* – koty (66,7%). U gatunków posiadających *S. pseudintermedius* proporcje płci zwierząt były wyrównane – ok. 50% samic i samców. Dla *S. aureus* odnotowano przewagę samców (68,4%). Większość analizowanych zwierząt dla obu gatunków gronkowca była starsza niż 36 miesięcy (ok. 70%).

Do najczęściej występujących objawów klinicznych u zwierząt będących nosicielami *S. pseudintermedius* zaliczono zapalenie skóry lub obecność ran (23,3%) oraz zapalenie spojówek (13,7%). U zwierząt posiadających *S. aureus* na tym samym poziomie częstotliwości odnotowano występowanie zapalenia spojówek, zapalenia skóry lub obecność ran. Nie odnotowano występowania zapalenia przewodu słuchowego. Bezpośredni kontakt z innymi zwierzętami miało 80-90% badanych zwierząt niezależnie od gatunku wyizolowanych bakterii. Około 60% badanych zwierząt w obu grupach było leczonych w ostatnim roku. Wszystkie zwierzęta miały bezpośredni kontakt z domownikami – częsty bliski lub sporadyczny bliski. U około połowy badanych zwierząt, niezależnie od gatunku gronkowca, w gospodarstwie domowym mieszkały dzieci do 12 r.ż. U ok. 11-16% zwierząt opiekun pracował w ochronie zdrowia a u ok. 38-39% - pracował ze zwierzętami. U 30,4% zwierząt posiadających *S. pseudintermedius* oraz u 16,7% zwierząt posiadających *S. aureus* odnotowano hospitalizację opiekuna w ostatnim roku. Zakażenie gronkowcem (stwierdzone kiedykolwiek wcześniej u danego osobnika i potwierdzone wynikiem laboratoryjnym) wystąpiło u 7,2% zwierząt posiadających *S. pseudintermedius* oraz u 23,5% posiadających *S. aureus*.

Tabela 5

Charakterystyka badanych zwierząt

Zmienna	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>N</i>	<i>N (%)</i>	<i>N</i>	<i>N (%)</i>
Gatunek	75		30	
kot		9 (12,0%)		20 (66,7%)
pies		66 (88,0%)		10 (33,3%)
płeć	71		19	
Samiec		35 (49,3%)		13 (43,3%)
Samica		36 (50,7%)		6 (20,0%)
Wiek (miesiące)	68		19	
0-6		6 (8,8%)		1 (5,3%)
7-36		14 (20,7%)		6 (31,8%)
Powyżej 36		48 (70,9%)		12 (68,7%)
Objawy kliniczne	73		26	
Zapalenie spojówek		10 (13,7%)		3 (11,5%)
Zapalenie przewodu słuchowego		9 (12,3%)		0
Wypływ z nosa		4 (5,5%)		1 (3,8%)

Zmienna	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	N	N (%)	N	N (%)
Zapalenie skóry/rany		17 (23,3%)		3 (11,5%)
Inne objawy kliniczne		7 (9,6%)		3 (11,5%)
Bezpośredni kontakt z innymi zwierzętami	71	61 (85,9%)	19	17 (89,5%)
Leczenie w ostatnim roku	70	44 (62,9%)	19	11 (57,9%)
Bezpośredni kontakt z domownikami	72	72 (100,0%)	2	2 (100,0%)
Sporadyczny i daleki		0		0
Sporadyczny bliski		10 (13,9%)		0
Częsty bliski		62 (86,1%)		2 (100,0%)
Dzieci do lat 12 w domu zwierzęcia	72	32 (44,4%)	2	1 (50,0%)
Opiekun pracujący w sektorze medycznym	69	11 (15,9%)	18	2 (11,1%)
Opiekun pracujący ze zwierzętami	69	26 (37,7%)	18	7 (38,9%)
Opiekun hospitalizowany w ostatnim roku	69	21 (30,4%)	18	3 (16,7%)
Zakażenie gronkowcem u badanego zwierzęcia (kiedykolwiek wcześniej)	69	5 (7,2%)	17	4 (23,5%)

6. Izolacja i identyfikacja szczepów z rodzaju *Staphylococcus* u badanych ludzi i zwierząt

6.1. Występowanie gronkowców u zwierząt

Bakterie z rodzaju *Staphylococcus* wyizolowano z 36,81% próbek pochodzących od zdrowych kotów, 32,75% próbek od kotów chorych, 36,46% próbek od zdrowych psów oraz z 34,69% próbek uzyskanych od psów chorych. Szczegółowe dane odnośnie do izolacji gronkowców od badanych zwierząt przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6*Izolacja gronkowców od badanych zwierząt*

Grupa zwierząt	Liczba badanych	Liczba pozyskanych próbek	Liczba uzyskanych izolatów <i>Staphylococcus</i>	Próbki pozytywne (CI 95%)
Koty zdrowe	120	720	265	36,81% (33,28-40,33)
Koty chore	41	287	94	32,75% (27,32-38,18)
Psy zdrowe	64	384	140	36,46% (31,64-41,27)
Psy chore	49	343	119	34,69% (29,66-39,73)
Suma	274	1734	618	35,64% (33,39-37,89)

Adnotacje: CI – przedział ufności

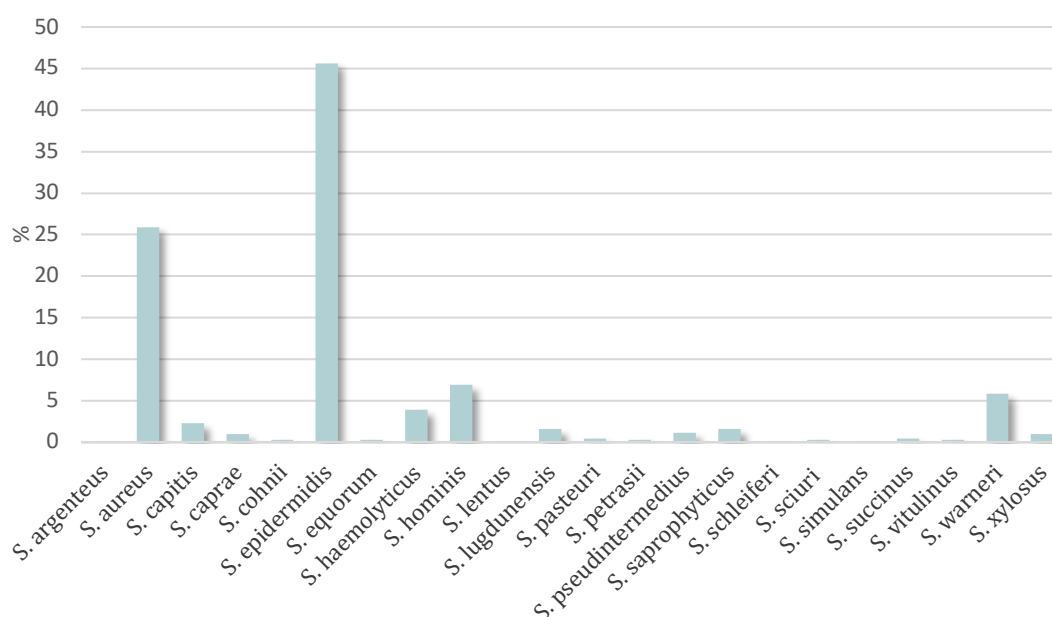
Przynajmniej jeden gatunek gronkowców wyizolowano od 81,75% zwierząt. Łącznie od psów i kotów uzyskano 23 gatunki tych bakterii. Największą różnorodność gatunkową obserwowano w grupie kotów zdrowych (19 gatunków). Najczęściej obserwowane gatunki w stosunku do liczby wszystkich uzyskanych szczepów *Staphylococcus spp.* (od zwierząt zdrowych i chorych) to *S. felis* (n=90; 25,07%; CI 95%: 20,59-29,55%) and *S. epidermidis* (n=65; 18,11%; CI 95%: 14,12-22,09%) u kotów oraz *S. pseudintermedius* (n=138; 53,28%; CI 95%: 47,21-59,36%) and *S. epidermidis* (n=42; 16,22%; CI 95%: 11,73-20,71%) u psów. Jedynie *S. felis* u kotów i *S. pseudintermedius* u psów występowały we wszystkich badanych lokalizacjach anatomicznych. Zestawienie wyników izolacji badanych bakterii przedstawia tabela 7. Dane dotyczące izolacji poszczególnych gatunków gronkowców w badanych lokalizacjach anatomicznych psów i kotów przedstawiono odpowiednio w załącznikach 11 i 12 do niniejszej dysertacji.

Tabela 7*Izolacja gronkowców koagulazo-dodatnich i koagulazo-ujemnych od badanych kotów i psów*

Izolaty	Koty		Psy		Suma
	Zdrowe	Chore	Zdrowe	Chore	
CoPS	28	18	80	79	205
CoNS	237	76	60	40	413
Suma	265	94	140	119	618

6.2. Występowanie gronkowców u ludzi

Nosicielami co najmniej jednego gatunku gronkowców było 91,19% badanych osób (CI 95%: 87,75-94,63). Osoby skolonizowane przez tylko jeden gatunek stanowiły 36%, przez dwa gatunki 39% osób, a przez 3 lub więcej gatunków 16% badanych. Łącznie wyizolowano od ludzi 618 szczepów reprezentujących 22 gatunki gronkowców, w tym 20 CoNS i 2 CoPS. Najczęściej występowały *S. epidermidis* (n=282; 45,63%; CI 95%: 41,70-49,56%), *S. aureus* (n=160; 25,89%; CI 95%: 22,44-29,34%) oraz *S. hominis* (n=43; 6,96%; CI 95%: 4,95-8,96%). Strukturę szczepów bakterii z rodzaju *Staphylococcus* uzyskanych z populacji badanych ludzi przedstawia rycina 14, a szczegółowe dane dotyczące pozyskanych od nich próbek zestawiono w tabeli 8.



Ryc. 14. Częstość izolacji gronkowców od ludzi.

Tabela 8

Szczegółowe dane dotyczące próbek pozyskanych od ludzi

Grupa badanych	Liczba osób	Liczba pozyskanych próbek	Liczba uzyskanych izolatów <i>Staphylococcus</i>	% próbek pozytywnych (CI 95%)
Dorośli	225	900	537	59,67 (56,46-62,87)
Dzieci	36	144	81	56,25 (48,15-64,35)
Suma	261	1044	618	59,20 (56,21-62,18)

Adnotacje: CI 95% - przedział ufności

6.3. Częstość występowania szczepów *S. aureus* i *S. pseudintermedius* z uwzględnieniem lokalizacji pobrania wymazu oraz gatunku gospodarza

W tabeli 9 przedstawiono częstość występowania szczepów *S. pseudintermedius* uwzględniając lokalizację pobrania wymazu oraz gatunek gospodarza. Wykazano, że u człowieka najczęściej izolowano drobnoustroj z wymazów ze skóry w zgięciu łokciowym i przedsionka jamy nosowej, u kotów najczęściej z przedsionka jamy nosowej oraz worka spojówkowego, natomiast u psów – z jamy ustnej, przedsionka jamy nosowej i odbytu.

Tabela 9

Częstość występowania szczepów *S. pseudintermedius* z uwzględnieniem lokalizacji pobrania wymazu oraz gatunku gospodarza

<i>Parametr</i>	<i>N</i>	<i>człowiek,</i> <i>N=71</i>	<i>kot,</i> <i>N=17¹</i>	<i>pies,</i> <i>N=141¹</i>
miejsce wymazu	165			
jama ustna		0	3 (17,6%)	29 (20,6%)
przedsionek jamy nosowej		3 (42,9%)	5 (29,4%)	26 (18,4%)
worek spojówkowy		Nie dotyczy	4 (23,5%)	23 (16,3%)
ucho		1 (14,2%)	2 (11,8%)	17 (12,1%)
skóra w zgięciu łokciowym		3 (42,9%)	Nie dotyczy	Nie dotyczy
skóra w pachwinie		Nie dotyczy	2 (11,8%)	17 (12,1%)
odbyt		Nie dotyczy	1 (5,9%)	26 (18,4%)
rana		Nie dotyczy	0	3 (2,1%)

Adnotacje: ¹ n (%); ucho – u ludzi = skóra za małżowiną uszną, u zwierząt = zewnętrzny przewód słuchowy;

W tabeli 10 przedstawiono częstość występowania poszczególnych szczepów *S. aureus* z uwzględnieniem lokalizacji pobrania wymazu oraz gatunku gospodarza. Wykazano, że u ludzi najwięcej szczepów wyizolowano z przedsionka jamy nosowej – stanowiły one 43,8% pobranych wymazów. U kotów największy odsetek wymazów pobrano z jamy ustnej oraz z przedsionka jamy nosowej – w obu lokalizacjach po 35,7% wszystkich wymazów od tego gatunku. U psów największy odsetek próbek stanowiły te pobrane z przedsionka jamy nosowej (36,8%).

Tabela 10

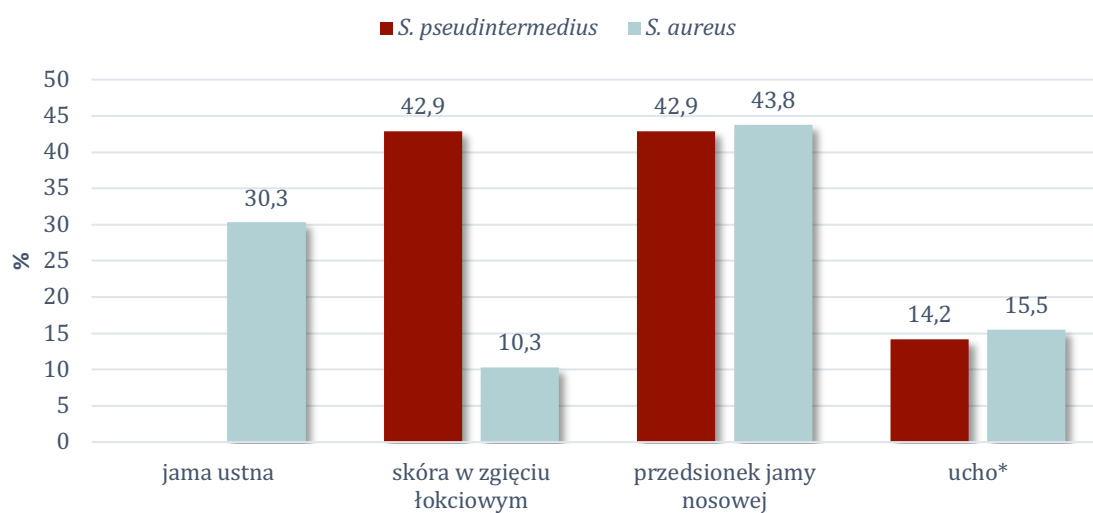
Częstość występowania szczepów *S. aureus* z uwzględnieniem lokalizacji pobrania wymazu oraz gatunku gospodarza

<i>Parametr</i>	<i>N</i>	<i>człowiek, N=155¹</i>	<i>kot, N=28¹</i>	<i>pies, N=19¹</i>
miejsce wymazu	202			
jama ustna		47 (30,3%)	10 (35,7%)	4 (21,1%)
przedsionek jamy nosowej		68 (43,8%)	10 (35,7%)	7 (36,8%)
worek spojówkowy		Nie dotyczy	4 (14,3%)	2 (10,5%)
ucho		24 (15,5%)	1 (3,6%)	1 (5,3%)
skóra w zgięciu łokciowym		16 (10,3%)	Nie dotyczy	Nie dotyczy
skóra w pachwinie		Nie dotyczy	2 (7,1%)	2 (10,5%)
odbyt		Nie dotyczy	0	1 (5,3%)
rana		Nie dotyczy	1 (3,6%)	2 (10,5%)

Adnotacje: ¹ n (%)

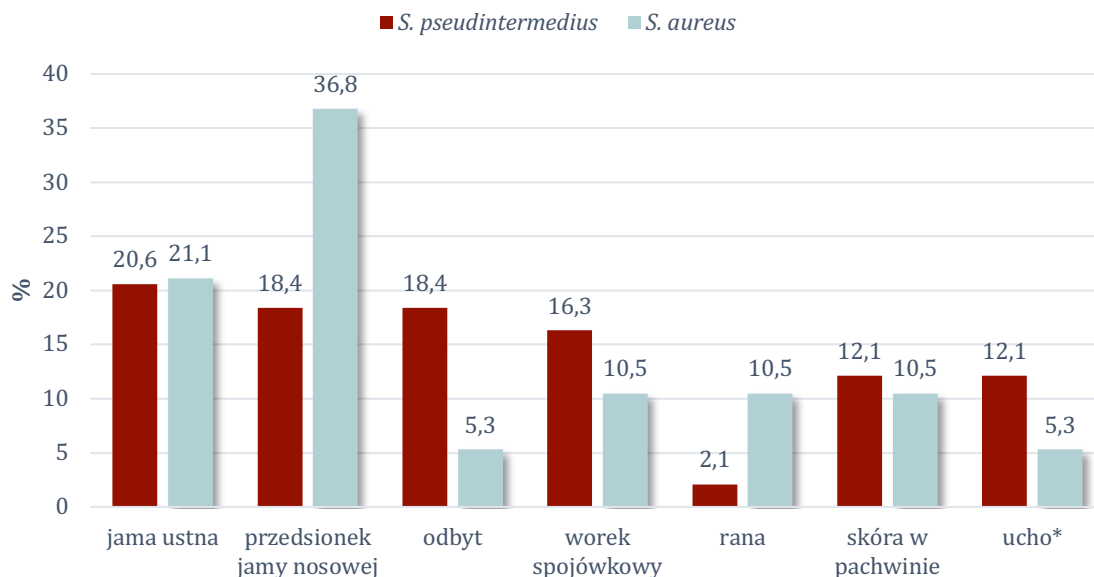
ucho – u ludzi = skóra za małżowiną uszną, u zwierząt = zewnętrzny przewód słuchowy;

Dane dotyczące częstości występowania gronkowców w poszczególnych lokalizacjach anatomicznych dla każdego z gatunków gospodarzy zaprezentowano na rycinach 15-17.



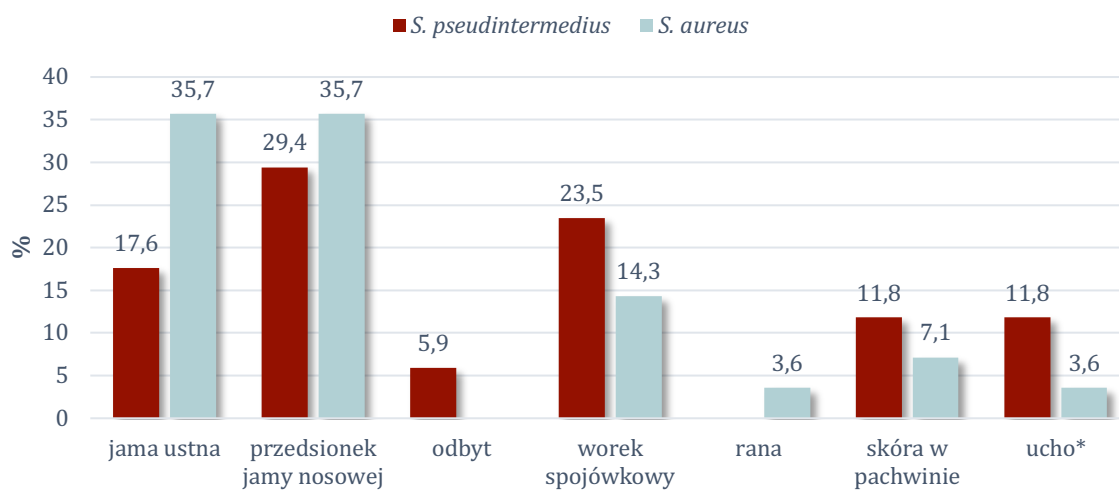
Ryc. 15. Procentowy rozkład szczepów *S. pseudintermedius* i *S. aureus* u ludzi z uwzględnieniem lokalizacji wymazu

(*ucho – u ludzi = skóra za małżowiną uszną, u zwierząt = zewnętrzny przewód słuchowy)



Ryc. 16. Procentowy rozkład szczepów *S. pseudintermedius* i *S. aureus* u psów z uwzględnieniem lokalizacji wymazu

(*ucho – u ludzi = skóra za małżowiną uszną, u zwierząt = zewnętrzny przewód słuchowy)



Ryc. 17. Procentowy rozkład szczepów *S. pseudintermedius* i *S. aureus* u kotów z uwzględnieniem lokalizacji wymazu

(*ucho – u ludzi = skóra za małżowiną uszną, u zwierząt = zewnętrzny przewód słuchowy)

7. Typowanie *spa S. aureus*

W tabeli 11 zaprezentowano dane dotyczące częstości występowania poszczególnych typów *spa* szczepów *S. aureus*. Wykazano występowanie 99 różnych typów *spa*. Z danych zaprezentowanych w tabeli wynika, że najliczniejszym wśród określonych typów *spa* był typ t091 – występował on w przypadku 11% szczepów *S. aureus*. Na drugim miejscu pod względem częstości wystąpień odnotowano typ t1451 (wystąpił u 4,3% szczepów), natomiast na trzecim miejscu zaklasyfikowano trzy typy: t065, t084 oraz t338 – wystąpiły one u 3,2% szczepów. W przypadku 7,9% szczepów nie udało się oznaczyć typu *spa*.

Tabela 11

Częstość występowania typów spa S. aureus

<i>Typ spa</i>	<i>N=202¹</i>
t003	1 (0,5%)
t005	2 (1,1%)
t008	2 (1,1%)
t015	1 (0,5%)
t018	2 (1,1%)
t019	1 (0,5%)
t021	3 (1,6%)
t026	1 (0,5%)
t040	1 (0,5%)
t056	5 (2,7%)
t065	6 (3,2%)
t084	6 (3,2%)
t085	1 (0,5%)
t091	21 (11%)
t095	1 (0,5%)
t11112	1 (0,5%)
t11639	1 (0,5%)
t1171	1 (0,5%)

Typ spa	N=202¹
t1245	1 (0,5%)
t1322	1 (0,5%)
t13960	1 (0,5%)
t1445	1 (0,5%)
t1451	8 (4,3%)
T1451	1 (0,5%)
t15175	1 (0,5%)
t15543	1 (0,5%)
t18603	3 (1,6%)
t1869	1 (0,5%)
t1932	1 (0,5%)
t1944	2 (1,1%)
t19549	1 (0,5%)
t19664	1 (0,5%)
t19734	1 (0,5%)
t204	1 (0,5%)
t2045	1 (0,5%)
t20478	2 (1,1%)
T20478	1 (0,5%)
t209	3 (1,6%)
t2325	1 (0,5%)
t236	1 (0,5%)
t240	1 (0,5%)
t242	1 (0,5%)
t2422	2 (1,1%)
t2618	1 (0,5%)
t2632	1 (0,5%)
t316	3 (1,6%)

Typ spa	N=202¹
t3297	2 (1,1%)
t3307	4 (2,2%)
t331	2 (1,1%)
t3331	1 (0,5%)
t338	6 (3,2%)
t340	4 (2,2%)
t346	3 (1,6%)
t351	2 (1,1%)
t352	1 (0,5%)
t359	3 (1,6%)
t360	1 (0,5%)
t362	1 (0,5%)
t385	1 (0,5%)
t4326	1 (0,5%)
t433	1 (0,5%)
t4401	2 (1,1%)
t491	1 (0,5%)
t493	1 (0,5%)
t504	1 (0,5%)
t524	1 (0,5%)
t5386	3 (1,6%)
t5452	1 (0,5%)
t548	1 (0,5%)
t5634	1 (0,5%)
t571	2 (1,1%)
t605	1 (0,5%)
t6056	1 (0,5%)
t645	2 (1,1%)

Typ spa	N=202¹
t669	2 (1,1%)
t677	1 (0,5%)
t688	2 (1,1%)
t693	3 (1,6%)
t7200	1 (0,5%)
t737	1 (0,5%)
T771	1 (0,5%)
t796	1 (0,5%)
t853	1 (0,5%)
t854	1 (0,5%)
t8598	1 (0,5%)
t880	2 (1,1%)
t885	1 (0,5%)
t888	1 (0,5%)
t909	2 (1,1%)
t950	1 (0,5%)
t983	1 (0,5%)
t9833	1 (0,5%)
<i>Brak określonego typu</i>	16 (7,9%)

Adnotacje: ¹ n (%)

Dodatkowo sprawdzono, czy szczepy wykazujące oporność na cefoksytynę lub posiadające gen *mecA* i/lub *mecC* należały do konkretnych typów *spa*. W przypadku wystąpienia oporności na cefoksytynę ($n = 9$) nie wykazano powtarzających się typów *spa*. Dla szczepów posiadających gen *mecA* ($n = 17$) najczęściej wśród określonych typów *spa* występował t1451 ($n = 3, 23,1\%$) oraz t021 ($n = 2, 15,4\%$). Dla szczepów posiadających gen *mecC* ($n = 8$) wśród określonych typów *spa* najczęściej obserwowano występowanie typu t1451 ($n = 2, 28,6\%$).

8. Lekooporność

8.1. *Staphylococcus aureus* oraz *Staphylococcus pseudintermedius*

8.1.1. Występowanie genów determinujących lekooporność

W tabeli 12 zaprezentowano częstość występowania poszczególnych genów oporności u badanych szczepów *S. pseudintermedius* oraz *S. aureus*.

Tabela 12

Częstość występowania szczepów *S. pseudintermedius* oraz *S. aureus* posiadających dany gen oporności

<i>Gen</i>	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>N</i>	<i>Oporność</i> ¹	<i>N</i>	<i>Oporność</i> ¹
<i>mecA</i>	165	24 (14,5%)	195	17 (8,7%)
<i>mecC</i>	165	5 (3,0%)	195	8 (4,1%)
<i>blaZ</i>	165	139 (84,2%)	192	153 (79,7%)
<i>tet(L)</i>	165	8 (4,8%)	192	0 (0%)
<i>tet(K)</i>	165	44 (26,7%)	192	14 (7,3%)
<i>tet(O)</i>	165	1 (0,6%)	192	11 (5,7%)
<i>tet(M)</i>	165	88 (53,3%)	192	102 (53,1%)
<i>ermA</i>	165	17 (10,3%)	192	57 (29,7%)
<i>ermB</i>	165	63 (38,2%)	192	44 (22,9%)
<i>ermC</i>	165	10 (6,1%)	192	9 (4,7%)
<i>aac(6')le-aph(2'')la</i>	165	31 (18,8%)	192	9 (4,7%)
<i>mupA</i>	165	0 (0%)	192	0 (0%)
<i>vanA</i>	165	21 (12,7%)	192	24 (12,5%)
<i>vanB</i>	165	5 (3,0%)	192	6 (3,1%)
<i>fusB</i>	165	1 (0,6%)	191	6 (3,1%)

Adnotacje: ¹ n (%)

Jak wynika z danych zaprezentowanych w tabeli, u szczepów *S. pseudintermedius* najczęściej występującym genem był *blaZ* – wystąpił u 84,2% szczepów. U około połowy szczepów zaobserwowano występowanie *tet(M)*, a u niespełna 40% *ermB*. W przypadku

S. aureus analiza wykazała analogiczne wyniki dla dwóch pierwszych genów – u 79,7% szczepów odnotowano występowanie *blaZ*, a u 53,1% występowanie *tet(M)*. U 29,7% szczepów wyizolowano gen *ermA*.

W oparciu o uzyskane wyniki, wykonano analizy częstości współwystępowania oporności w zależności od posiadania poszczególnych grup genów. Jako pierwsze analizie poddano geny *mecA*, *mecC*, *blaZ* (tabela 13). Dla szczepów *S. pseudintermedius* oporność w przypadku występowania przynajmniej jednego genu z tej grupy wynosiła 87%, a u 3% szczepów oporność wystąpiła przy współwystępowaniu wszystkich trzech genów. Dla *S. aureus* uzyskano zbliżone rezultaty – w przypadku występowania przynajmniej jednego z analizowanych genów oporność odnotowano u 81% szczepów. U 3,6% odnotowano oporność przy współwystępowaniu wszystkich trzech genów.

Tabela 13

Częstość występowania szczepów S. pseudintermedius oraz S. aureus posiadających geny determinujące oporność na β-laktamy (blaZ, mecA, mecC)

<i>Liczebność</i>	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>N</i>	<i>Oporność</i> ¹	<i>N</i>	<i>Oporność</i> ¹
	165		195	
Brak oporności		22 (13,3%)		37 (19,3%)
Posiadanie jednego genu		123 (4,5%)		145 (74,0%)
Posiadanie 2 genów		15 (9,1%)		6 (3,1%)
Posiadanie 3 genów		5 (3,0%)		7 (3,6%)

Adnotacje:

¹ *n (%)*

Następnie analizie poddano oporność przy występowaniu genów *tet(L)*, *tet(K)*, *tet(O)* oraz *tet(M)* (tabela 14). Dla gatunku *S. pseudintermedius* wykazano występowanie oporności przy posiadaniu przynajmniej jednego z wymienionych genów u 65% przypadków, w tym u 21% wystąpiła przy współwystępowaniu dwóch genów jednocześnie. Podobne wyniki uzyskano dla *S. aureus*, gdzie oporność wykazano u 60% szczepów, z czego u 5% odnotowano oporność przy współwystępowaniu dwóch genów z grupy.

Tabela 14

Częstość występowania szczepów *S. aureus* oraz *S. pseudintermedius* posiadających geny determinujące oporność na tetracykliny (*tet(K)*, *tet(M)*, *tet(L)*, *tet(O)*)

Liczebność	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>N</i>	Oporność ¹	<i>N</i>	Oporność ¹
	165		192	
Brak oporności		58 (35,2%)		76 (39,6%)
Posiadanie jednego genu		73 (44,2%)		105 (54,7%)
Posiadanie 2 genów		34 (20,6%)		11 (5,7%)

Adnotacje: ¹ *n* (%)

Kolejna grupa genów to: *ermA*, *ermB*, *ermC*. Blisko połowa analizowanych bakterii, zarówno *S. pseudintermedius*, jak i *S. aureus*, nie wykazywała obecności powyższych genów. Oporność wykazywało 52,4% szczepów *S. pseudintermedius* i posiadały one przynajmniej jeden z analizowanych genów. Oporność przy współwystępowaniu dwóch genów odnotowano u 2,4% szczepów. Dla szczepów *S. aureus* oporność wykazano w 45% przypadków, przy czym u 12% odnotowano oporność przy współwystępowaniu dwóch genów. Wyniki analiz zestawiono w tabeli 15.

Tabela 15

Częstość występowania szczepów *S. pseudintermedius* oraz *S. aureus* posiadających geny determinujące oporność na erytromycynę (*ermA*, *ermB*, *ermC*)

Liczebność	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>N</i>	Oporność ¹	<i>N</i>	Oporność ¹
	165		192	
Brak oporności		79 (47,9%)		105 (54,7%)
Posiadanie jednego genu		82 (49,7%)		64 (33,3%)
Posiadanie 2 genów		4 (2,4%)		23 (12,0%)

Adnotacje: ¹ *n* (%)

Ostatnią badaną grupą były geny: *vanA* i *vanB*. Nie wykazano oporności przy współwystępowaniu dwóch genów. Zarówno dla szczepów *S. pseudintermedius*, jak i *S. aureus* oporność przy występowaniu jednego z tych genów wynosiła blisko 16% (tabela 16).

Tabela 16

Częstość występowania szczepów *S. pseudintermedius* oraz *S. aureus* posiadających geny determinujące oporność na wankomycynę (*vanA* i *vanB*)

Liczebność	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>N</i>	Oporność ¹	<i>N</i>	Oporność ¹
	165		192	
Brak oporności		139 (84,2%)		172 (84,4%)
Posiadanie jednego genu		26 (15,8%)		30 (15,6%)

Adnotacje: ¹ *n* (%)

8.1.2. Lekooporność oznaczona metodą dyfuzyjno-krażkową

W tabeli 17 przedstawiono częstość występowania szczepów *S. pseudintermedius* oraz *S. aureus* opornych na wybrane chemioterapeutyki przeciwdrobnoustrojowe.

Tabela 17

Częstość występowania szczepów *S. pseudintermedius* oraz *S. aureus* opornych na wybrane chemioterapeutyki przeciwdrobnoustrojowe

Substancja czynna	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>N</i>	Oporność ¹	<i>N</i>	Oporność ¹
AMP	165	105 (63,6%)	202	126 (62,4%)
AMC	165	13 (7,9%)	202	57 (28,2%)
PG	165	118 (71,5%)	202	124 (61,4%)
FD	165	1 (0,6%)	202	4 (2,0%)
MUP	165	0 (0%)	202	7 (3,5%)
GM	165	22 (13,3%)	202	1 (0,5%)
CIP	165	18 (10,9%)	202	10 (5,0%)
OX/FOX*	165	20 (12,1%)	202	9 (4,5%)
LZD	165	0 (0%)	202	2 (1,0%)
MAR	165	18 (10,9%)	202	10 (5,0%)
DA	165	68 (41,2%)	202	11 (5,4%)
C	165	39 (23,6%)	202	4 (2,0%)
RD	165	0 (0%)	202	3 (1,5%)

Substancja czynna	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	N	Oporność ¹	N	Oporność ¹
TOB	165	9 (5,5%)	202	1 (0,5%)
E	165	68 (41,2%)	202	59 (29,2%)
SXT	165	30 (18,2%)	202	1 (0,5%)
TGC	165	0 (0%)	202	1 (0,5%)
TE	165	42 (25,5%)	201	17 (8,5%)

Adnotacje:

¹ n (%)

AMP = ampicylina; AMC = amoksycylina z kwasem klawulanowym; PG = penicylina G; FD = kwas fusydowy; MUP = mupirocyna; GM = gentamycyna; CIP = ciprofloksacyna; OX/FOX* = oksacylina lub cefoksytyna (stosowane dla określenia metycylinooporności odpowiednio dla *S. pseudintermedius* i *S. aureus*); LZD = linezolid; MAR = marbofloksacyna; DA = klindamycyna; C = chloramfenikol; RD = rifampicylina; TOB = tobramycyna; E = erytromycyna; SXT = sulfonamid potencjonowany; TGC = tigecyklina; TE = tetracyklina

Największy odsetek opornych szczepów *S. pseudintermedius* odnotowano dla penicyliny (71,5%), ampicyliny (63,6%) oraz klindamycyny (41,2%) i erytromycyny (41,2%). Dla gatunku *S. aureus* najwyższy odsetek szczepów opornych wykazano w przypadku ampicyliny (62,4%), penicyliny (61,4%), erytromycyny (29,2%), a także amoksycyliny z kwasem klawulanowym (28,2%).

W kolejnym kroku przeprowadzono analizy częstości wskazujące na współwystępowanie oporności w poszczególnych grupach leków. Analizy przeprowadzono oddzielnie dla szczepów *S. aureus* oraz *S. pseudintermedius*.

Pierwszą grupą były: oksacylina lub cefoksytyna (w zależności od gatunku bakterii – dla *S. pseudintermedius* wykorzystano krążki z oksacyliną, dla *S. aureus* krążki z cefoksytyną), penicylina G, amoksycylina z kwasem klawulanowym i ampicylina.

Wykazano, że oporność szczepów *S. pseudintermedius* na przynajmniej jeden lek w tej grupie wystąpiła w 73% przypadków, w tym dla wszystkich 4 antybiotyków wystąpiła u 6,1% szczepów. Brak oporności na leki z tej grupy wystąpił u 27% przypadków.

Dla gatunku *S. aureus* oporność na przynajmniej jeden z wymienionych w grupie antybiotyków wykazano w 63% przypadków. Oporność na wszystkie cztery antybiotyki jednocześnie zaobserwowano u 4% szczepów. Brak oporności odnotowano u 37% przypadków. Szczegółowe wyniki przedstawiono w tabeli 18.

Tabela 18

Częstość występowania szczepów *S. pseudintermedius* oraz *S. aureus* opornych na oksacylinę/cefoksytynę*, penicylinę G, amoksyicylinę z kwasem klawulanowym oraz ampicylinę

Liczebność	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>N</i>	Oporność ¹	<i>N</i>	Oporność ¹
	165		202	
Brak oporności		45 (27,3%)		75 (37,1%)
Oporność na jeden lek		16 (9,7%)		4 (2,0%)
Oporność na dwa leki		82 (49,7%)		65 (32,2%)
Oporność na 3 leki		12 (7,3%)		50 (24,8%)
Oporność na wszystkie leki z grupy		10 (6,1%)		8 (4,0%)

Adnotacje: ¹ n (%); * - dla szczepów *S. pseudintermedius* oksacylinę, dla *S. aureus* cefoksytynę

Następnie, analizie poddano współwystępowanie oporności na gentamycynę i tobramycynę. Wykazano oporność na przynajmniej jeden chemioterapeutyk u 13,4% szczepów *S. pseudintermedius*. Oporność na oba wystąpiła u 5,5% przypadków.

Aż 99,5% szczepów *S. aureus* nie było opornych na żaden chemioterapeutyk z tej grupy. Na oba leki jednocześnie wykazano oporność jedynie u jednego szczepu (0,5%). Wyniki przeprowadzonych analiz zamieszczono w tabeli 19.

Tabela 19

Częstość występowania szczepów *S. pseudintermedius* i *S. aureus* opornych na gentamycynę i tobramycynę

Liczebność	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>N</i>	Oporność ¹	<i>N</i>	Oporność ¹
	165		202	
Brak oporności		143 (86,7%)		201 (99,5%)
Oporność na jeden lek		13 (7,9%)		0
Oporność na dwa leki		9 (5,5%)		1 (0,5%)

Adnotacje: ¹ n (%)

Kolejną grupę stanowiły tetracyklina i tigecyklina. Wykazano, że 74,5% szczepów *S. pseudintermedius* oraz 91,6% szczepów *S. aureus* było wrażliwych na substancje z tej grupy.

Oporność na jeden lek wystąpiła u 25% szczepów *S. pseudintermedius* i 7,9% szczepów *S. aureus*. Wyniki analiz zamieszczono w tabeli 20.

Tabela 20

Częstość występowania szczepów S. pseudintermedius oraz S. aureus opornych na tetracyklinę i tigecyklinę

Liczebność	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>N</i>	<i>Oporność</i>¹	<i>N</i>	<i>Oporność</i>¹
	165		202	
Brak oporności		123 (74,5%)		185 (91,6%)
Oporność na jeden lek		42 (25,5%)		16 (7,9%)
Oporność na dwa leki		0		1 (0,5%)

Adnotacje: ¹ *n* (%)

Następnie badane były ciprofloksacyna i marbofloksacyna. Dla gatunku *S. pseudintermedius* u 11% szczepów odnotowano oporność na obie substancje czynne jednocześnie. Dla pozostałych izolatów nie odnotowano oporności na żaden z analizowanych fluorochinolonów (89%). Dla *S. aureus* wykazano występowanie oporności na przynajmniej jedną z substancji czynnych u 6% szczepów, przy czym jednoczesna oporność na obie wystąpiła u 4%. Wyniki przeprowadzonych analiz zaprezentowano w tabeli 21.

Tabela 21

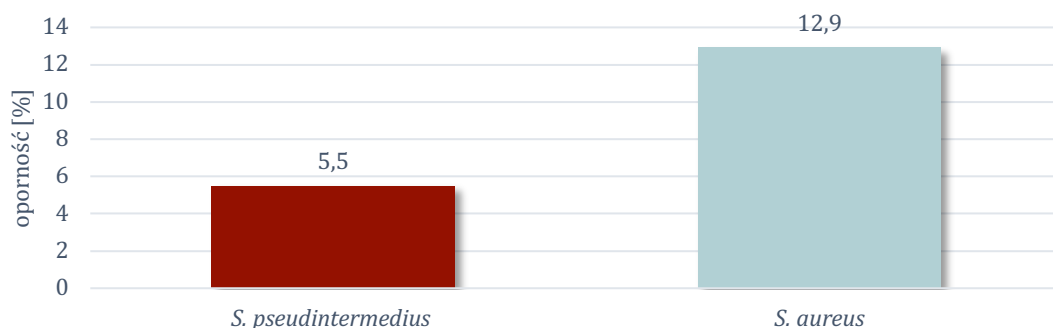
Częstość występowania szczepów S. pseudintermedius oraz S. aureus opornych na ciprofloksacyne i marbofloksacyne

Liczebność	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>N</i>	<i>Oporność</i>¹	<i>N</i>	<i>Oporność</i>¹
	165		202	
Brak oporności		147 (89,1%)		190 (94,1%)
Oporność na jeden lek		0		4 (2,0%)
Oporność na dwa leki		18 (10,9%)		8 (4,0%)

Adnotacje: ¹ *n* (%)

8.1.3. Oznaczenie oporności na metycylinę metodą MIC

Na rycinie 18 zaprezentowano procentowy udział szczepów metycylinoopornych *S. pseudintermedius* oraz *S. aureus*. Jak wynika z zaprezentowanych danych, spośród szczepów *S. pseudintermedius*, częstość występowania MRSP wyniosła 5,5% ($n = 9$), natomiast u *S. aureus*, 12,9% stanowiły szczepy MRSA ($n = 26$).



Ryc. 18. Udział szczepów MRSP oraz MRSA na podstawie badania MIC w odniesieniu do wszystkich badanych szczepów *S. pseudintermedius* i *S. aureus*.

8.1.4. Szczepy metycylinooporne

Analiza identyfikowanych szczepów gronkowców w aspekcie metycylinooporności przeprowadzona została po ustaleniu kryterium, jaki izolat uznawany będzie za metycylinooporny. Za taki uznawano, gdy spełniono przynajmniej jeden z warunków:

- Posiadanie genu *mecA*
- Posiadanie genu *mecC*
- Oporność na oksacylinę (*S. pseudintermedius*) / cefoksytynę (*S. aureus*)
- Oporność na oksacylinę w badaniu metodą MIC

W tabeli 22 zaprezentowano dane dotyczące częstości występowania szczepów metycylinoopornych. Wykazano występowanie oporności u 17% analizowanych szczepów *S. pseudintermedius*, które spełniały przynajmniej jeden z wyżej opisanych warunków, a 1,8% szczepów spełniło wszystkie kryteria jednocześnie. W przypadku *S. aureus* oporność na metycylinę wykazano u 19,8% szczepów, a u 2,5% szczepów spełnione zostały wszystkie warunki jednocześnie.

Tabela 22Częstość występowania metycylinyoporności wśród szczepów *S. pseudintermedius* oraz *S. aureus*

Liczebność	<i>S. pseudintermedius</i>		<i>S. aureus</i>	
	<i>N</i>	Oporność ¹	<i>N</i>	Oporność ¹
	165		192	
Brak oporności		137 (83,0%)		162 (80,2%)
Spełnienie jednego warunku		11 (6,7%)		25 (12,4%)
Spełnienie dwóch warunków		7 (4,2%)		10 (5,0%)
Spełnienie trzech warunków		7 (4,2%)		5 (2,5%)
Spełnienie czterech warunków		3 (1,8%)		0 (0%)

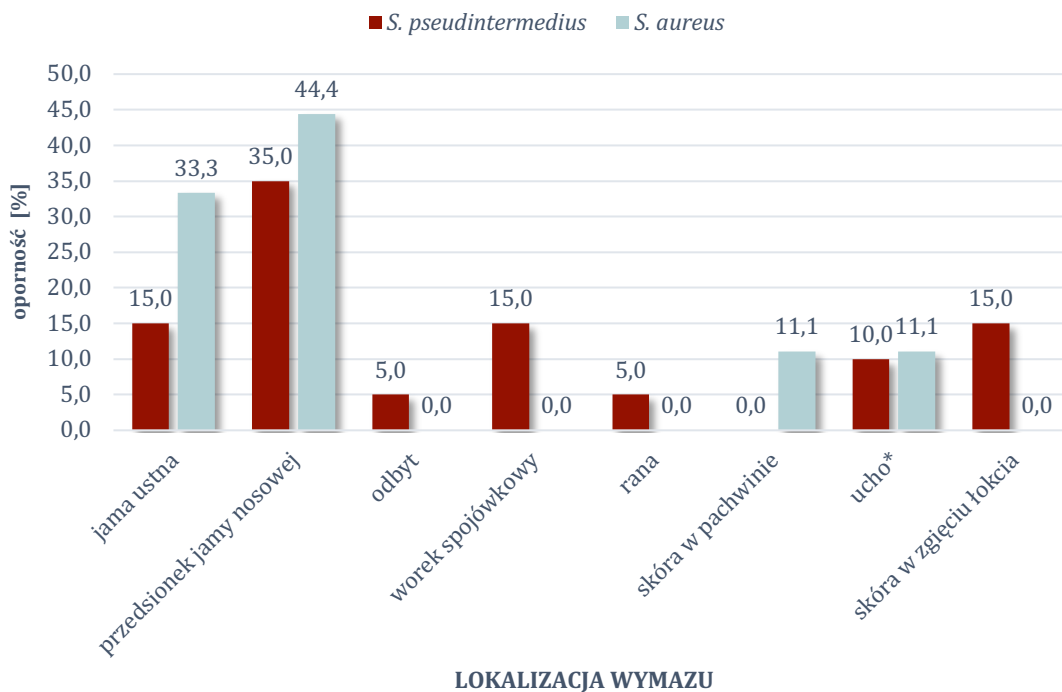
Adnotacje: ¹ *n* (%)

8.1.4.1. Częstość występowania szczepów opornych na metycylinę na poziomie fenotypowym w zależności od lokalizacji pobrania wymazu

Na rycinach 19 i 20 przedstawiono procentowy udział występowania szczepów opornych na metycylinę na poziomie fenotypowym, w zależności od lokalizacji pobrania wymazu.

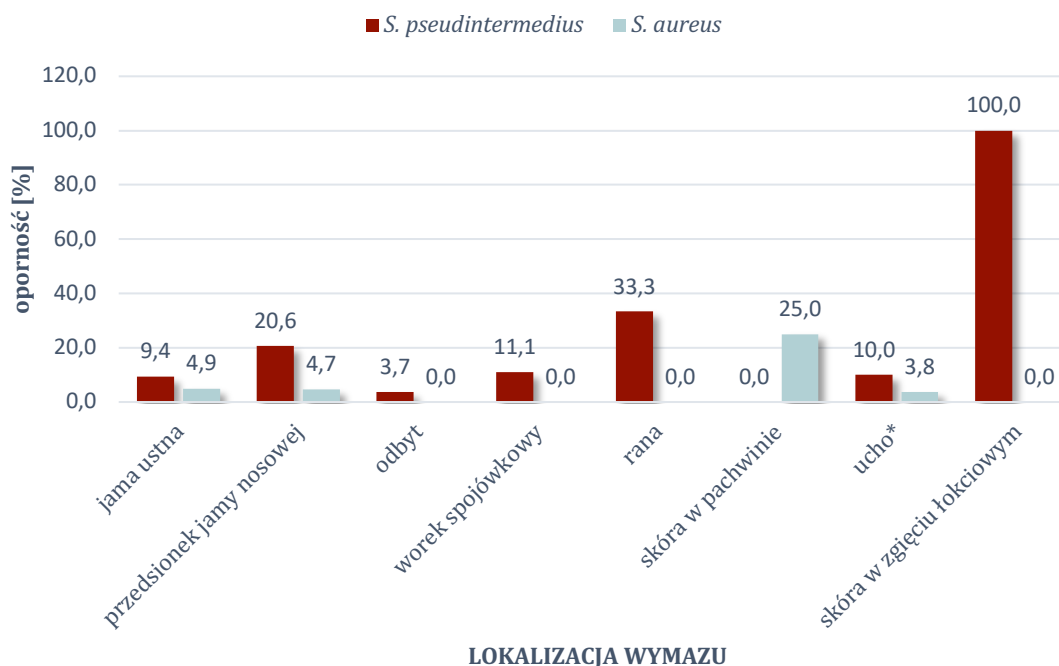
Dla *S. pseudintermedius* wykazano, że najwięcej szczepów opornych pozyskano z przedsionka jamy nosowej ($n = 7$), a następnie z jamy ustnej ($n = 3$) oraz skóry w zgięciu łokciowym ($n = 3$). Jednocześnie, wszystkie izolaty pobrane ze skóry w zgięciu łokciowym były odporne na oksacylinę ($n = 3$). Spośród izolatów pobranych z rany opornych okazało się 33% ($n = 1$), a z przedsionka jamy nosowej – 20,6% szczepów ($n = 7$). Szczepy MRSP stanowiły 11,1% ($n = 3$) izolatów pozyskanych z worka spojówkowego.

Wśród izolatów *S. aureus* opornych na cefoksytynę największy odsetek uzyskano z przedsionka jamy nosowej (44,4%; $n = 4$) i jamy ustnej (33,3%; $n = 3$). Natomiast 25% ($n = 1$) szczepów pobranych ze skóry oraz po 5% gronkowców pobranych z jamy ustnej (4,9%; $n = 3$) i przedsionka jamy nosowej (4,7%; $n = 4$) było opornych na cefoksytynę.



Ryc. 19. Procentowe zestawienie występowania szczepów opornych na metycylinę w zależności od lokalizacji (procent liczony w stosunku do wszystkich szczepów metycylinoopornych)

(*ucho – u ludzi = skóra za małżowiną uszną, u zwierząt = zewnętrzny przewód słuchowy)

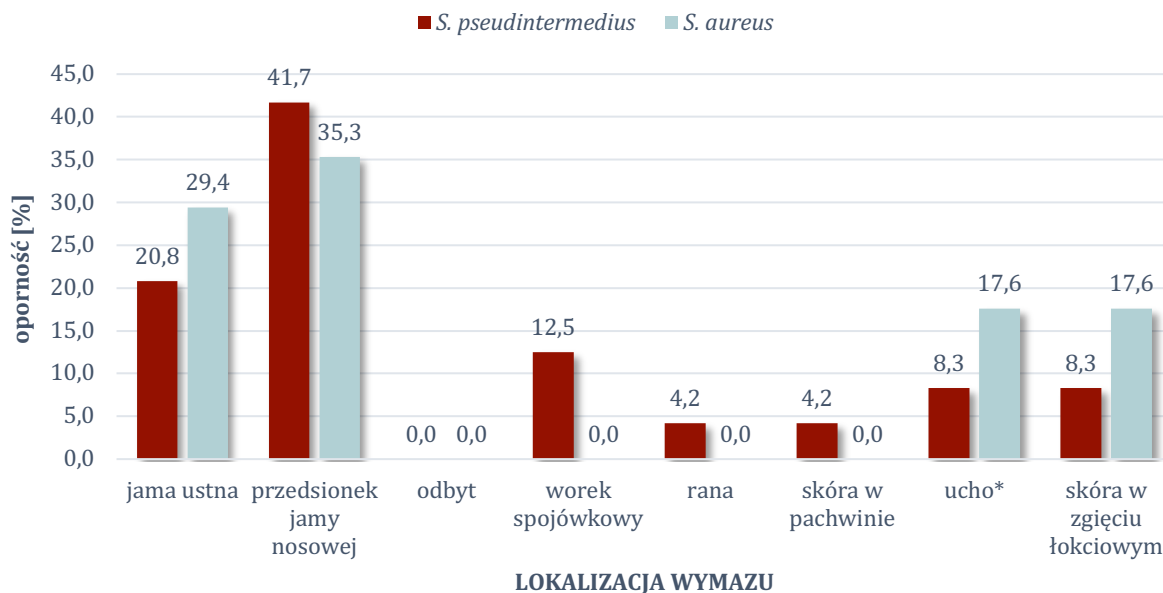


Ryc. 20. Procentowe zestawienie występowania szczepów metycylinoopornych w zależności od lokalizacji (procent wskazuje odsetek szczepów opornych w odniesieniu do wszystkich wymazów pobranych w danej lokalizacji)

(*ucho – u ludzi = skóra za małżowiną uszną, u zwierząt = zewnętrzny przewód słuchowy)

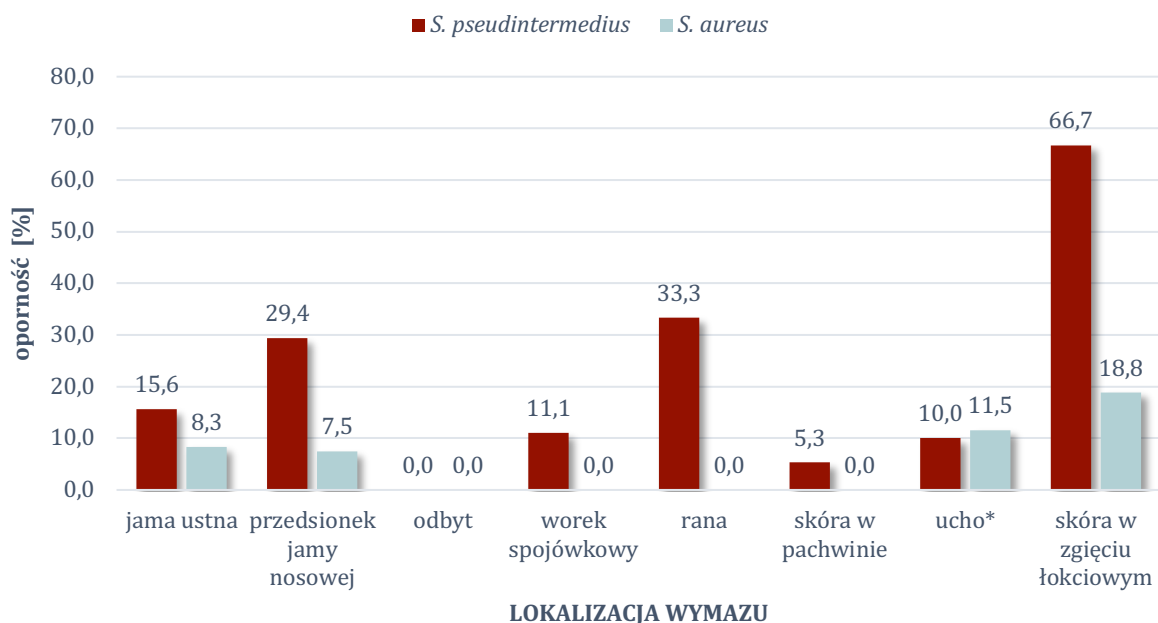
8.1.4.2. Częstość występowania szczepów posiadających geny *mecA/mecC* w zależności od lokalizacji pobrania wymazu

Na rycinach 21 i 22 zobrazowano procentowy udział występowania szczepów posiadających gen *mecA* dla obu analizowanych gatunków gronkowców. Analiza wykazała, że w przypadku *S. pseudintermedius* największy odsetek szczepów posiadających gen *mecA* pochodził z przedsionka jamy nosowej (41,7%; $n = 10$), a następnie z jamy ustnej (20,8%; $n = 5$). 12,5% ($n = 3$) pochodziło z worka spojówkowego, po 8,3% ($n = 2$) z ucha i skóry w zgięciu łokciowym, a po 4,2% ($n = 1$) z rany i skóry w pachwinie. 66,7% ($n = 2$) spośród wymazów pobranych ze skóry w zgięciu łokciowym, 33,3% ($n = 1$) spośród wymazów z rany oraz 29,4% ($n = 10$) wymazów z przedsionka jamy nosowej posiadało gen *mecA*. Szczepy posiadające gen *mecA* stanowiły 15,6% ($n = 5$) izolatów pobranych z jamy ustnej, 11,1% ($n = 3$) izolatów z worka spojówkowego, 10% ($n = 2$) izolatów z ucha oraz 5,3% ($n = 1$) izolatów ze skóry w pachwinie. Dla *S. aureus* wykazano, że spośród szczepów posiadających gen *mecA* największy odsetek pochodził z przedsionka jamy nosowej (35,3%; $n = 6$), a następnie z jamy ustnej (29,4%; $n = 5$). Po 17,6% ($n = 3$) przypadków pochodziło z ucha i skóry w zgięciu łokciowym. Analizując odsetek w stosunku do wszystkich wymazów w danej lokalizacji, najwięcej szczepów posiadających gen *mecA* pobrano ze skóry w zgięciu łokciowym – stanowiły one 18,8% ($n = 3$) wszystkich próbek pobranych z tej lokalizacji. 11,5% ($n = 3$) szczepów pobranych z ucha posiadało gen *mecA*. Spośród wymazów pobranych z jamy ustnej 8,3% posiadało analizowany gen, a spośród wymazów z przedsionka jamy nosowej – 7,5%. Analogiczne analizy przeprowadzono dla *mecC* (ryciny 23 i 24). Większość szczepów *S. pseudintermedius* posiadających ten gen pochodziła z przedsionka jamy nosowej (40,0%; $n = 2$), a następnie po 20% ($n = 1$) z jamy ustnej, worka spojówkowego i skóry w zgięciu łokciowym. Bakterie posiadające *mecC* nie wystąpiły w odbycie, ranie, skórze w pachwinie i w uchu. Bakterie posiadające gen *mecC* stanowiły 33,3% ($n = 1$) szczepów pobranych ze skóry w zgięciu łokciowym, 5,9% ($n = 2$) szczepów z przedsionka jamy nosowej, 3,7% ($n = 1$) szczepów z worka spojówkowego oraz 3,1% ($n = 1$) szczepów pobranych z jamy ustnej. Dla *S. aureus* wykazano, że po 25% ($n = 2$) bakterii posiadających gen *mecC* pochodziło z przedsionka jamy nosowej, ucha i skóry w zgięciu łokciowym. Po 12,5% pochodziło z jamy ustnej oraz z worka spojówkowego. Nie odnotowano występowania genu u szczepów pobranych z odbytu, rany i skóry w pachwinie. Analizując dane w stosunku do szczepów pobranych w danej lokalizacji najwyższy udział bakterii posiadających gen *mecC* stanowiły te pobrane z worka spojówkowego – stanowiły one 20% ($n = 1$) izolatów pobranych z tej lokalizacji. 12,5% ($n = 2$) szczepów pobranych ze skóry w zgięciu łokciowym posiadało *mecC*. 2,5% szczepów z przedsionka jamy nosowej i 1,7% z jamy ustnej posiadało analizowany gen.



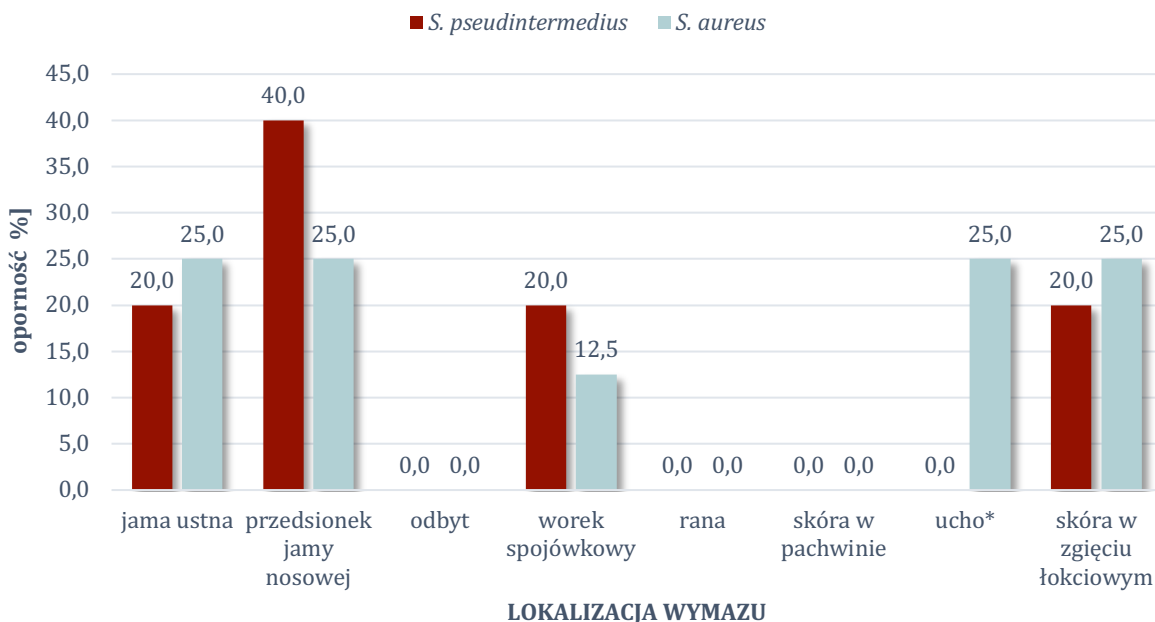
Ryc. 21. Procentowe zestawienie występowania szczepów posiadających gen *mecA* w zależności od lokalizacji pobrania wymazu (procent liczony w stosunku do wszystkich szczepów posiadających gen *mecA*)

(*ucho – u ludzi = skóra za małżowiną uszną, u zwierząt = zewnętrzny przewód słuchowy)



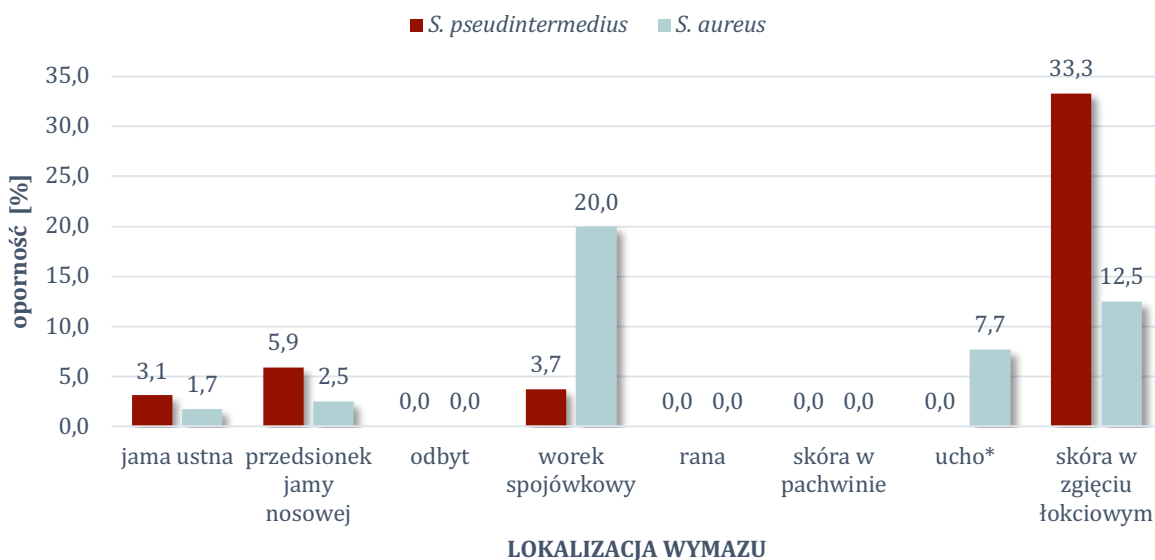
Ryc. 22. Procentowe zestawienie występowania szczepów posiadających gen *mecA* w zależności od lokalizacji (procent wskazuje odsetek szczepów opornych w odniesieniu do wszystkich szczepów pobranych z danej lokalizacji)

(*ucho – u ludzi = skóra za małżowiną uszną, u zwierząt = zewnętrzny przewód słuchowy)



Ryc. 23. Procentowe zestawienie występowania szczepów posiadających gen *mecC* w zależności od lokalizacji pobrania wymazu (procent liczony w stosunku do wszystkich szczepów posiadających gen *mecC*)

(*ucho – u ludzi = skóra za małżowiną uszną, u zwierząt = zewnętrzny przewód słuchowy)



Ryc. 24. Procentowe zestawienie występowania szczepów posiadających gen *mecC* w zależności od lokalizacji (procent wskazuje odsetek szczepów opornych w odniesieniu do wszystkich szczepów z danej lokalizacji)

(*ucho – u ludzi = skóra za małżowiną uszną, u zwierząt = zewnętrzny przewód słuchowy)

8.1.5. Szczepy wielolekooporne

W niniejszym rozdziale analizie poddano częstość występowania szczepów wielolekoopornych (MDR) na poziomie fenotypowym i genotypowym wśród izolatów *S. pseudintermedius* oraz *S. aureus*. Jako szczepy wielolekooporne traktowano te, które były odporne na 3 lub więcej klas chemioterapeutyków przeciwdrobnoustrojowych na poziomie fenotypowym lub genotypowym. Analizy przeprowadzono oddzielnie dla *S. pseudintermedius* i *S. aureus*. W tabeli 23 zaprezentowano prewalencję izolatów wraz z testem dokładnym Fishera dla występowania wielolekooporności na poziomie fenotypowym dla *S. pseudintermedius*. Nie wykazano związku pomiędzy gatunkiem gospodarza a częstością izolacji szczepów MDR. Oznacza to, że odsetek szczepów wielolekoopornych w analizowanych gatunkach gospodarzy był zbliżony – u ludzi stanowił on 42,8%, u kotów 47,1%, natomiast u psów – 41,1%.

Tabela 23

Częstość występowania szczepów S. pseudintermedius wielolekoopornych na poziomie fenotypowym z uwzględnieniem gatunku gospodarza

Parametr	N	Brak MDR, N=96¹	MDR, N=69¹	p-value²
Gatunek	165			0,939
człowiek		4 (57,2%)	3 (42,8%)	
kot		9 (52,9%)	8 (47,1%)	
pies		83 (58,9%)	58 (41,1%)	

Adnotacje:

¹ n (%), procent obliczono dla wierszy (dla danego gatunku)

² dokładny test Fishera

Analogiczne analizy przeprowadzono dla oceny procentowego udziału szczepów MDR na poziomie genotypowym dla *S. pseudintermedius*. Wykazano istotny związek między gatunkiem gospodarza a częstością izolacji szczepów MDR. Szczegółowa analiza post-hoc wykazała, że w przypadku kotów udział szczepów MDR był istotnie wyższy niż u psów (82,4% vs. 48,2%; $p_{adj.} = 0,028$). Częstość izolacji szczepów MDR u ludzi i kotów oraz u ludzi i psów była zbliżona ($p_{adj.} > 0,05$). Wyniki zaprezentowano w tabeli 24.

Tabela 24

Częstość występowania szczepów *S. pseudintermedius* wielolekoopornych na poziomie genotypowym z uwzględnieniem gatunku gospodarza

<i>Parametr</i>	<i>N</i>	<i>Brak MDR, N=96¹</i>	<i>MDR, N=69¹</i>	<i>p-value²</i>
Gatunek	165			0,025
człowiek		4 (57,1%)	3 (42,9%)	
kot		3 (17,6%)	14 (82,4%)	
pies		73 (51,8%)	68 (48,2%)	

Adnotacje:

¹ n (%), procent obliczono dla wierszy (dla danego gatunku)

² Dokładny test Fishera

Następnie, powyższe analizy powtórzono dla gatunku *S. aureus*. W tabeli 25 zaprezentowano rozkład częstości występowania szczepów MDR na poziomie fenotypowym w zależności od gatunku. Przeprowadzona analiza nie wykazała związku między częstością izolacji szczepów MDR a gatunkiem gospodarza. Najwyższy odsetek szczepów MDR uzyskano wśród izolatów pochodzących od psów.

Tabela 25

Rozkład częstości występowania szczepów *S. aureus* wielolekoopornych na poziomie fenotypowym z uwzględnieniem gatunku gospodarza

<i>Parametr</i>	<i>N</i>	<i>Brak MDR, N=96¹</i>	<i>MDR, N=69¹</i>	<i>p-value²</i>
Gatunek	202			0,788
człowiek		144 (92,9%)	11 (7,1%)	
kot		25 (96,2%)	1 (3,8%)	
pies		19 (90,5%)	2 (9,5%)	

Adnotacje:

¹ n (%), procent obliczono dla wierszy (dla danego gatunku)

² dokładny test Fishera

W tabeli 26 zaprezentowano rozkład częstości występowania szczepów gronkowca złocistego wielolekoopornych na poziomie genotypowym w zależności od gatunku gospodarza. Podobnie jak dla poziomu fenotypowego – nie odnotowano związku między częstością izolacji szczepów MDR a gatunkiem gospodarza. Najwyższy odsetek MDR odnotowano u szczepów pochodzących od psów.

Tabela 26

Rozkład częstości występowania szczepów *S. aureus* wielolekoopornych na poziomie genotypowym z uwzględnieniem gatunku gospodarza

Parametr	N	Brak MDR, N=96 ¹	MDR, N=69 ¹	p-value ²
Gatunek	192			0,553
człowiek		101 (68,2%)	47 (31,8%)	
kot		17 (65,4%)	9 (34,6%)	
pies		10 (55,6%)	8 (44,4%)	

Adnotacje:

¹ n (%), procent obliczono dla wierszy (dla danego gatunku)

² dokładny test Fishera

8.2. Metycylinooporność gronkowców koagulazo-ujemnych oznaczona metodą MIC

Dla 392 pochodzących od zwierząt izolatów CoNS, które wyrosły po archiwizacji w temperaturze -80°C wykonano badanie oporności na metycylinę metodą MIC zgodnie ze standardami CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing' 31st Edition; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals). 70 izolatów (17.86%; CI 95%: 14.07-21.65%) wykazało oporność na oksacylinę. W tabeli 27 przedstawiono szczegółowe rezultaty badania oporności badanych szczepów gronkowców koagulazo-ujemnych.

Tabela 27

Oporność na metycylinę szczepów gronkowców koagulazo-ujemnych pochodzących od zwierząt (badanie metodą MIC)

Gatunek	Liczba szczepów	Wartość graniczna R	Liczba szczepów opornych	% (CI 95%)
<i>S. capitis</i>	3	0,5 µg/mL	1	33,33 (0,00-86,68)
<i>S. caprae</i>	1		0	-
<i>S. cohnii</i>	10		4	40,00 (9,64-70,36)
<i>S. condimentii</i>	1		0	-
<i>S. epidermidis</i>	117		30	25,64 (17,73-33,55)
<i>S. equorum</i>	1		0	-
<i>S. felis</i>	92		1	1,09 (0,00-3,21)
<i>S. haemolyticus</i>	31		12	38,71 (21,56-55,86)
<i>S. hominis</i>	19		3	15,79 (0,00-32,19)

<i>S. lentus</i>	3		2	66,67 (13,32-100,00)
<i>S. lugdunensis</i>	1	4 µg/mL	0	-
<i>S. pettenkoferi</i>	1		0	-
<i>S. saprophyticus</i>	16		12	75,00 (53,78-96,22)
<i>S. schleiferi</i>	1		0	-
<i>S. sciuri</i>	1	0,5 µg/mL	1	100,00 (100,00-100,00)
<i>S. simulans</i>	33		0	-
<i>S. succinus</i>	1		0	-
<i>S. warneri</i>	52		4	7,69 (0,45-14,94)
<i>S. xylosum</i>	8		0	-
Suma	392	-	70	17,86 (14,07-21,65)

Adnotacje:

CI 95% - przedział ufności

Najwyższy odsetek szczepów opornych na oksacylinę odnotowano w przypadku gatunków *S. sciuri*, *S. saprophyticus*, *S. lentus*. Najliczniejszą grupę badanych szczepów pozyskano dla gatunku *S. epidermidis* (n=117), dla którego odsetek szczepów opornych wyniósł niespełna 26%. Całkowitą wrażliwość na oksacylinę wykazały szczepy gatunków *S. caprae*, *S. condimenti*, *S. equorum*, *S. lugdunensis*, *S. pettenkoferi*, *S. schleiferi*, *S. simulans*, *S. succinus* i *S. xylosum*.

9. Czynniki ryzyka związane z kolonizacją badanych ludzi i zwierząt przez gronkowce

9.1. Czynniki związane z kolonizacją zwierząt przez gronkowce

Kompletne kwestionariusze dotyczące czynników ryzyka w odniesieniu do badanych zwierząt zwróciło 80% właścicieli. Zwierzęta mieszkające w jednym domu z innymi zwierzętami były nosicielami większej liczby gatunków z rodzaju *Staphylococcus* niż osobniki utrzymywane indywidualnie (u kotów było to odpowiednio 17 i 11 gatunków, a u psów 16 i 12 gatunków).

Analiza pozyskanych danych wykazała, że wśród istotnych statystycznie czynników ryzyka należy wymienić obecność innych zwierząt w tym samym gospodarstwie domowym, leczenie badanego zwierzęcia w ciągu ostatnich 12 miesięcy, a także wykonywanie przez domownika zawodu o charakterze medycznym. Nie wykazano związku rasy, płci czy wieku zwierząt z częstszą kolonizacją przez gronkowce. Rezultaty analizy statystycznej przedstawiono w tabeli 28.

Tabela 28
Analiza statystyczna czynników ryzyka związanych z kolonizacją badanych zwierząt przez gronkowce

Zmienna	Test	Zwierzęta	Gatunek	p	OR	95%CI
Dzieci <12 r.ż. ¹	Wilcoxon	Koty	<i>S. xylosum</i>	0.01	-	-
		Psy	<i>S. epidermidis</i>	0.04		
			<i>S. aureus</i>	0.02		
Zawód medyczny ²	Fishera	Koty	<i>S. epidermidis</i>	0.04	0.27	0,05-1
			<i>S. warneri</i>	0.04	0	0-0,99
		Psy	<i>S. simulans</i>	0.01	13.12	1,69-158,59
Praca ze zwierzętami ³	Fishera	Psy	<i>S. simulans</i>	0	0	0-1,77
Hospitalizacja ⁴	Fishera	Psy	<i>S. simulans</i>	0.01	13.52	1,42-662,82
> 7 dni ⁵		Koty	<i>S. pseudintermedius</i>	0.02	8.26	1,13-48,63
Leczenie zwierzęcia ⁶	Chi-kwadrat*	Koty	<i>S. epidermidis</i>	0.04	2.35	1,01-5,54
	Fishera		<i>S. cohnii</i>	0.04	5.039	0,81-36,27
	Chi-kwadrat*	Psy	<i>S. hominis</i>	0.04	3.53	1-12,26
	Fishera		<i>S. saprophyticus</i>	0.05	0	0,87
Leczenie pozostałych zwierząt ⁷	Chi-kwadrat*	Koty	<i>S. felis</i>	0	4.36	1,7-11,58
	Fishera	Psy	<i>S. haemolyticus</i>	0.01	13.05	1,38-639,26
Pozostałe zwierzęta ⁸	Wilcoxon	Ogółem	Koty	<i>S. warneri</i>	0.02	-
			Psy	<i>S. simulans</i>	0	
		Psy	Psy	<i>S. haemolyticus</i>	0.03	
				<i>S. simulans</i>	0.01	
		Koty	Koty	<i>S. warneri</i>	0.01	
		Inne ⁹	Koty	<i>S. felis</i>	0.02	
Psy	<i>S. simulans</i>		0			
Kontakt ze zwierzętami ¹⁰	Chi-kwadrat*	Koty	<i>S. warneri</i>	0.01	0.2	0,05-0,78

	Fishera	Psy	<i>S. pseudintermedius</i>	0.01	0.1	0-0,76
Koty wychodzące ¹¹	Chi-kwadrat*	Koty	<i>S. xylosus</i>	0.01	5.12	1,37-21,33

Adnotacje: p: za istotne statystycznie uznano $p < 0,05$; Chi-kwadrat*: liczba stopni swobody wynosi 1; OR: iloraz szans; CI: przedział ufności; ¹ – obecność dzieci poniżej 12 roku życia w gospodarstwie domowym; ² – domownik pracuje w sektorze ochrony zdrowia; ³ – domownik wykonuje pracę związaną z bezpośrednim kontaktem ze zwierzętami; ⁴ – hospitalizacja domownika w ciągu ostatniego roku; ⁵ – hospitalizacja domownika trwała powyżej 7 dni; ⁶ – leczenie badanego zwierzęcia w ciągu ostatniego roku; ⁷ – leczenie pozostałych zwierząt w domu w ciągu ostatniego roku; ⁸ – Liczba pozostałych zwierząt utrzymywanych w tym samym gospodarstwie domowym co badane zwierzę; ⁹ – zwierzęta inne niż koty i psy utrzymywane w tym samym gospodarstwie domowym co badane zwierzę; ¹⁰ – badane zwierzę ma możliwość bezpośredniego kontaktu z innymi zwierzętami; ¹¹ – koty, które mają możliwość samodzielnego i swobodnego opuszczania gospodarstwa domowego bez nadzoru człowieka

9.2. Czynniki związane z kolonizacją ludzi i zwierząt przez *S. aureus* i *S. pseudintermedius*

9.2.1. Czynniki determinujące występowanie szczepów metycylinoopornych

W kolejnej części przeprowadzono szereg analiz testem chi-kwadrat niezależności bądź testem dokładnym Fishera wraz z określeniem ilorazu szans celem ustalenia czynników determinujących występowanie szczepów metycylinoopornych. Zbiorcze wyniki przeprowadzonych analiz dla *S. pseudintermedius* zamieszczono w tabeli 29.

Jak wynika z zaprezentowanych w tabeli danych, istotny związek z występowaniem metycylinooporności miał gatunek gospodarza, występowanie zapalenia spojówek, wpływu z nosa oraz innych objawów klinicznych. U psów szanse na wystąpienie szczepów opornych na metycylinę były o 98% mniejsze niż u człowieka. W przypadku wystąpienia zapalenia spojówek szanse na wystąpienie szczepów opornych wzrastały 3,12 razy, przy wpływie z nosa wzrastały ponad 7-krotnie, a przy występowaniu innych objawów klinicznych wzrastały 3,46 razy. Istotne znaczenie w kontekście występowania metycylinooporności miało także leczenie w ostatnim roku, przyjmowanie antybiotyków w ostatnim roku. W przypadku leczenia bądź przyjmowania antybiotyków w ostatnim roku szanse na wystąpienie oporności na metycylinę wzrastały ponad 6-krotnie.

Gdy domownik studiował kierunek medyczny lub inny związany z pracą w sektorze ochrony zdrowia szanse na wystąpienie metycylinooporności malały o 84%. Gdy domownik studiował kierunek związany z bezpośrednim kontaktem ze zwierzętami, wówczas szanse te wzrastały prawie 6-krotnie. Im większa była liczba kotów w domu, tym szanse na wystąpienie metycylinooporności były większe. Gdy zwierzęta pochodziły z hodowli szanse na wystąpienie oporności malały o 91%, natomiast gdy pochodziły z innego niż hodowle, fundacje i schroniska dla zwierząt źródła szanse na wystąpienie oporności wzrastały ponad 11-krotnie. Leczenie zwierząt w ciągu ostatnich 1-4 miesięcy również zwiększało szanse na wystąpienie oporności

na metycylinę. Fakt, że kot był swobodnie wychodzący zmniejszało szanse na wystąpienie oporności o 96%.

Na poziomie tendencji statystycznej odnotowano związek między występowaniem oporności a zakażeniem gronkowcem stwierdzonym wcześniej u domownika, posiadaniem kota oraz przyjmowaniem przez zwierzę antybiotyku w ostatnim roku. Szanse na wystąpienie oporności szczepu na metycylinę były 3,25 razy większe u badanych, u których domownik był kiedykolwiek wcześniej zakażony gronkowcem, a także 2,57 razy większe w sytuacji, gdy zwierzę w ostatnim roku przyjmowało antybiotyk.

Tabela 29

Rozkład częstości występowania szczepów MSSP i MRSP wraz z testem chi-kwadrat niezależności i OR dla czynników determinujących występowanie szczepów MRSP

Zmienna	MSSP	MRSP	OR	95% OR	p
	n (%)	n (%)			
Gatunek					
Człowiek ^a	1 (0,7)	6 (21,4)			
Kot	9 (6,6)	8 (28,6)	0,15	0,01-1,51	0,107
Pies	127 (92,7)	14 (50,0)	0,02	0,01-0,16	<0,001
Stan zdrowia badanego					
Chory	64 (46,7)	17 (60,7)	0,57	0,25-1,30	0,177
Zdrowy	73 (53,3)	11 (39,3)			
Zapalenie spojówek	20 (14,7)	7 (35,0)	3,12	1,11-9,78	0,025
Zapalenie przewodu słuchowego	23 (16,9)	3 (15,0)	0,87	0,23-3,20	0,830
Wpływ z nosa	6 (4,4)	5 (25,0)	7,22	1,96-26,54	<0,001
Zapalenie skóry/rany	37 (27,2)	6 (30,0)	1,15	0,41-3,21	0,794
Inne objawy kliniczne¹	15 (11,0)	6 (30,0)	3,46	1,15-10,35	0,020
Leczenie w ostatnim roku	84 (63,2)	23 (92,0)	6,71	1,52-29,68	0,005
Antybiotyki w ostatnim roku	21 (28,0)	15 (71,4)	6,43	2,20-18,79	<0,001
Przyjmuje antybiotyk częściej niż raz w roku	-	1 (20,0)	-	-	-
Hospitalizacja badanego w ostatnim roku	-	1 (20,0)	-	-	-
Hospitalizacja > 7 dni	-	-	-	-	-
Hospitalizacja domownika w ostatnim roku	46 (34,8)	7 (26,9)	0,69	0,27-1,76	0,434
Badany ma AZS ²	-	-	-	-	-
Badany ma suchą skórę wymagającą natłuszczenia	-	-	-	-	-
Zakażenie gronkowcem kiedykolwiek u badanego ³	12 (9,1)	4 (16,0)	1,90	0,56-6,47	0,295

Zakażenie gronkowcem u domownika ³	9 (6,8)	5 (19,2)	3,25	0,99-10,66	0,057
Badany – zawód ochrona zdrowia ⁴	-	-	-	-	-
Badany – studia ochrona zdrowia ⁵	-	1 (20,0)	-	-	-
Badany – praca ze zwierzętami ⁶	-	2 (40,0)	-	-	-
Badany – studia ze zwierzętami ⁷	-	3 (60,0)	-	-	-
Domownik – zawód ochrona zdrowia ⁴	21 (15,9)	1 (3,8)	0,21	0,03-1,65	0,129
Domownik – studia ochrona zdrowia⁵	0 (0)	1 (3,8)	0,16	0,11-0,23	0,024
Domownik – praca ze zwierzętami ⁶	40 (30,3)	8 (30,8)	1,02	0,41-2,54	0,962
Domownik – studia ze zwierzętami⁷	4 (3,0)	4 (15,4)	5,82	1,35-24,99	0,009
Badany – ma zwierzę	1 (100,0)	4 (66,7)	0,60	0,02-21,00	0,495
Badany – ma psa	-	4 (66,7)	-	-	-
Badany – ma kota	1 (100,0)	1 (16,7)	0,09	0,01-3,59	0,088
Badany – ma inne zwierzę	-	2 (33,3)	-	-	-
Liczba psów w domu			0,78	0,58-1,06	0,111
Liczba kotów w domu			1,76	1,09-2,86	0,022
Liczba innych zwierząt w domu ⁸			1,04	0,85-1,28	0,675
Zwierzę/ta są w domu od 1-3 miesięcy ⁹	3 (17,6)	1 (7,1)	0,36	0,03-3,90	0,385
Zwierzę/ta są w domu od 4-6 miesięcy ⁹	0 (0)	2 (14,3)	7,00	0,31-159,00	0,107
Zwierzę/ta są w domu od 7-12 miesięcy ⁹	5 (29,4)	5 (35,7)	1,33	0,29-6,04	0,709
Zwierzę/ta są w domu ponad rok ⁹	17 (100,0)	14 (100,0)	-	-	-
Zwierzę/ta pochodzą z hodowli	13 (92,9)	7 (53,8)	0,09	0,01-0,90	0,021
Zwierzę/ta pochodzą ze schroniska lub fundacji	-	-	-	-	-
Zwierzę/ta pochodzą „z ulicy”	4 (28,6)	1 (7,7)	0,21	0,02-2,18	0,163
Zwierzę/ta pochodzą z innego źródła¹⁰	1 (7,1)	6 (46,2)	11,14	1,11-112,01	0,021
Badany myje ręce po każdym kontakcie ze zwierzęciem	-	2 (66,7)	-	-	-
Badany głaszcze zwierzę	-	3 (100,0)	-	-	-
Badany całuje zwierzę	-	2 (66,7)	-	-	-

Badany śpi ze zwierzęciem w łóżku	-	1 (33,3)	-	-	-
Badany podaje zwierzęciu pokarm	-	3 (100,0)	-	-	-
Badany pielęgnuje zwierzę ¹¹	-	2 (66,7)	-	-	-
Badany sprząta kuwetę/odchody	-	2 (66,7)	-	-	-
Badane zwierzę było w ostatnim roku leczone	84 (63,2)	19 (79,2)	2,22	0,78-6,31	0,129
Badane zwierzę leczone w ostatnich 1-4 miesiącach	59 (44,4)	16 (80,0)	5,02	1,59-15,81	0,003
Badane zwierzę leczone w ostatnich 5-8 miesiącach	30 (22,6)	7 (35,0)	1,85	0,68-5,05	0,226
Badane zwierzę leczone w ostatnich 9-12 miesiącach	21 (15,8)	5 (25,0)	1,78	0,58-5,42	0,307
Badane zwierzę otrzymywało antybiotyki w ostatnim roku	21 (28,0)	10 (50,0)	2,57	0,94-7,07	0,062
Kot – wychodzący¹²	6 (66,7)	0 (0)	0,04	0,01-0,97	0,010
Pozostałe zwierzęta były leczone w ostatnim roku	33 (24,8)	7 (35,0)	1,63	0,60-4,43	0,334
Badane zwierzę ma bezpośredni kontakt z domownikami	133 (100,0)	20 (100,0)	-	-	-
Liczba dorosłych osób w domu zwierzęcia			0,85	0,57-1,25	0,410
Liczba dzieci do lat 12 w domu zwierzęcia			0,58	0,25-1,36	0,211

Adnotacje: ¹ kategoria odniesienia; ² – oznacza inne niż wymienione szczegółowo w kwestionariuszu objawy stwierdzone u pacjenta podczas badania klinicznego; ³ – AZS – atopowe zapalenie skóry; ⁴ – dotyczy zakażeń występujących kiedykolwiek w przeszłości i potwierdzonych wynikiem badania laboratoryjnego; ⁵ – osoba wykonuje zawód w sektorze ochrony zdrowia (np. lekarz, pielęgniarz, diagnosta i in.); ⁶ – osoba wykonuje pracę związaną z bezpośrednim kontaktem ze zwierzętami (np. lekarz weterynarii, technik weterynarii, behawiorysta i in.); ⁷ – osoba studiuje kierunek związany z bezpośrednim kontaktem ze zwierzętami (np. medycyna weterynaryjna, zootechnika i in.); ⁸ – liczba zamieszkujących z badanym zwierzęciem w jednym gospodarstwie domowym zwierząt gatunków innych niż pies lub kot; ⁹ – dotyczy czasu, w którym zwierzę zamieszkało z daną rodziną w jednym gospodarstwie domowym; ¹⁰ – zwierzę zostało adoptowane z innego źródła niż schronisko lub fundacja (np. otrzymane od znajomych i in.); ¹¹ – dotyczy zabiegów pielęgnacyjnych: skracanie pazurów, higiena uszu, oczu, skóry i okrywy włosowej; ¹² – kot, który ma możliwość samodzielnego i swobodnego opuszczania gospodarstwa domowego bez nadzoru człowieka

Analogiczne analizy przeprowadzono w celu ustalenia czynników determinujących występowanie oporności na metycylinę szczepów gatunku *S. aureus* (tabela 30). Jak wynika z zaprezentowanych danych, istotne znaczenie dla wystąpienia oporności miały trzy czynniki: posiadanie zwierząt w domu od 4-6 miesięcy, leczenie zwierzęcia w ciągu ostatniego roku oraz przyjmowanie przez zwierzę antybiotyków w ostatnim roku. Posiadanie zwierzęcia w domu od 4-6 miesięcy zwiększało szanse na wystąpienie szczepów metycylinoopornych prawie 7-krotnie. Z kolei leczenie zwierzęcia wraz z zastosowaniem u niego w ciągu ostatniego roku antybiotyków zmniejszało szanse na wystąpienie oporności odpowiednio o 62% i 72%.

Na poziomie tendencji statystycznej odnotowano relacje między wystąpieniem oporności na metycylinę a obecnością wypływu z nosa, posiadaniem przez badanego suchej skóry wymagającej natłuszczenia, posiadaniem zwierzęcia ze schroniska lub fundacji oraz leczeniem zwierząt w ostatnim roku. Obecność wypływu z nosa zwiększała szanse na wystąpienie szczepów metycylinoopornych ponad 19—krotnie, a leczenie zwierzęcia 6-krotnie. Pozostałe czynniki obniżały szanse wystąpienia szczepu MRSA od 67% do 84%.

Tabela 30

Rozkład częstości występowania szczepów MSSA i MRSA wraz z testem chi-kwadrat niezależności i OR dla czynników determinujących występowanie MRSA

Zmienna	MSSA	MRSA	OR	95% OR	p
	n (%)	n (%)			
Gatunek					
Człowiek ^a	1 (0,7)	6 (21,4)			
Kot	9 (6,6)	8 (28,6)	1,45	0,56-3,73	0,443
Pies	127 (92,7)	14 (50,0)	1,16	0,36-3,75	0,806
Stan zdrowia badanego					
Chory	20 (13,7)	8 (21,6)	0,57	0,23-1,43	0,304
Zdrowy	126 (86,3)	29 (78,4)			
Zapalenie spojówek	5 (15,6)	0 (0)	0,24	0,01-4,69	0,315
Zapalenie przewodu słuchowego	-	-	-	-	-
Wypływ z nosa	0 (0)	2 (20,0)	19,10	0,84-437,00	0,052
Zapalenie skóry/rany	4 (12,5)	2 (20,0)	1,75	0,27-11,36	0,616
Inne objawy kliniczne ¹	3 (9,4)	2 (20,0)	2,42	0,34-17,04	0,577
Leczenie w ostatnim roku	65 (48,5)	16 (50,0)	1,06	0,49-2,30	0,879
Antybiotyki w ostatnim roku	35 (27,6)	12 (41,4)	1,85	0,80-4,28	0,143
Przyjmuje antybiotyk częściej niż raz w roku	2 (1,9)	0 (0)	0,88	0,04-19,00	1,000
Hospitalizacja badanego w ostatnim roku	9 (8,3)	3 (12,5)	1,59	0,40-6,36	0,511
Hospitalizacja > 7 dni	-	-	-	-	-
Hospitalizacja domownika w ostatnim roku	39 (29,3)	10 (28,6)	0,96	0,42-2,19	0,931
Badany ma AZS ²	7 (6,5)	1 (4,2)	0,62	0,07-5,30	0,661
Badany ma suchą skórę wymagającą natłuszczenia	43 (41,3)	4 (19,0)	0,33	0,10-1,06	0,054
Zakażenie gronkowcem u badanego ³	14 (12,1)	6 (24,0)	2,30	0,79-6,74	0,121
Zakażenie gronkowcem u domownika ³	19 (27,1)	3 (14,3)	0,45	0,12-1,69	0,227
Badany – zawód ochrona zdrowia ⁴	4 (4,4)	0 (0)	0,41	0,02-7,87	0,580

Badany – studia ochrona zdrowia ⁵	4 (4,4)	1 (4,3)	0,98	0,10-9,19	1,000
Badany – praca ze zwierzętami ⁶	23 (25,6)	3 (13,0)	0,44	0,12-1,61	0,203
Badany – studia ze zwierzętami ⁷	6 (6,7)	3 (13,0)	2,10	0,48-9,13	0,313
Domownik – zawód ochrona zdrowia ⁴	11 (8,3)	0 (0)	0,16	0,01-2,77	0,087
Domownik – studia ochrona zdrowia ⁵	4 (3,0)	1 (3,0)	1,01	0,11-9,33	1,000
Domownik – praca ze zwierzętami ⁶	33 (24,8)	8 (24,2)	0,97	0,40-2,36	0,946
Domownik – studia ze zwierzętami ⁷	7 (5,3)	4 (12,1)	2,48	0,68-9,05	0,156
Badany – ma zwierzę	89 (73,0)	24 (85,7)	2,22	0,72-6,90	0,158
Badany – ma psa	55 (50,0)	14 (51,9)	1,08	0,46-2,50	0,863
Badany – ma kota	44 (36,7)	12 (42,9)	1,29	0,56-2,99	0,543
Badany – ma inne zwierzę	22 (20,0)	6 (22,2)	1,14	0,41-3,17	0,797
Liczba psów w domu			0,84	0,53-1,36	0,485
Liczba kotów w domu			1,14	0,82-1,59	0,429
Liczba innych zwierząt w domu ⁸			0,99	0,94-1,03	0,614
Zwierzę/ta są w domu od 1-3 miesięcy	9 (11,8)	1 (4,3)	0,34	0,04-2,82	0,296
Zwierzę/ta są w domu od 4-6 miesięcy	3 (3,9)	5 (21,7)	6,76	1,48-30,95	0,006
Zwierzę/ta są w domu od 7-12 miesięcy	5 (6,6)	3 (13,0)	2,13	0,47-9,69	0,319
Zwierzę/ta są w domu ponad rok	62 (81,6)	17 (73,9)	0,64	0,21-1,92	0,422
Zwierzę/ta pochodzą z hodowli	39 (51,3)	13 (56,5)	1,23	0,48-3,15	0,661
Zwierzę/ta pochodzą ze schroniska lub fundacji	20 (26,3)	2 (8,7)	0,27	0,06-1,24	0,075
Zwierzę/ta pochodzą "z ulicy"	15 (19,7)	6 (26,1)	1,43	0,48-4,26	0,514
Zwierzę/ta pochodzą z innego źródła ⁹	11 (14,5)	5 (21,7)	1,64	0,50-5,34	0,407
Badany myje ręce po każdym kontakcie ze zwierzęciem	18 (25,4)	7 (41,2)	2,06	0,68-6,22	0,194
Badany głaszcze zwierzę	68 (93,2)	20 (100,0)	3,29	0,17-62,10	0,581
Badany całuje zwierzę	40 (54,8)	14 (70,0)	1,92	0,67-5,56	0,222
Badany śpi ze zwierzęciem w łóżku	35 (47,9)	9 (45,0)	0,89	0,33-2,40	0,815

Badany podaje zwierzęciu pokarm	66 (90,4)	19 (95,0)	2,01	0,23-17,41	0,517
Badany pielęgnuje zwierzę ¹⁰	46 (63,0)	17 (81,0)	2,49	0,76-8,19	0,123
Badany sprząta kuwetę/odchody	54 (74,0)	17 (85,0)	1,99	0,52-7,57	0,304
Badane zwierzę było w ostatnim roku leczone	51 (51,5)	9 (29,0)	0,38	0,16-0,92	0,028
w ostatnich 1-4 miesiącach	12 (52,2)	6 (75,0)	2,75	0,46-16,59	0,412
w ostatnich 5-8 miesiącach	-	-	-	-	-
w ostatnich 9-12 miesiącach	2 (8,7)	0 (0)	0,51	0,02-11,70	1,000
Badane zwierzę otrzymywało antybiotyki w ostatnim roku	40 (42,6)	5 (17,2)	0,28	0,10-0,80	0,013
Kot – wychodzący ¹¹	6 (75,0)	2 (50,0)	0,33	0,03-4,19	0,547
Pozostałe zwierzęta w domu były w ostatnim roku leczone	3 (14,3)	4 (50,0)	6,00	0,94-38,08	0,068
Badane zwierzę ma bezpośredni kontakt z domownikami	23 (100,0)	8 (100,0)	-	-	-
Liczba dorosłych osób w domu zwierzęcia			1,13	0,44-2,89	0,794
Liczba dzieci do lat 12 w domu zwierzęcia			1,85	0,63-5,45	0,262

Adnotacje: ¹ kategoria odniesienia; ² – oznacza inne niż wymienione szczegółowo w kwestionariuszu objawy stwierdzone u pacjenta podczas badania klinicznego; ³ – AZS – atopowe zapalenie skóry; ⁴ – dotyczy zakażeń występujących kiedykolwiek w przeszłości i potwierdzonych wynikiem badania laboratoryjnego; ⁵ – osoba wykonuje zawód w sektorze ochrony zdrowia (np. lekarz, pielęgniarz, diagnosta i in.); ⁶ – osoba wykonuje pracę związaną z bezpośrednim kontaktem ze zwierzętami (np. lekarz weterynarii, technik weterynarii, behawiorysta i in.); ⁷ – osoba studiuje kierunek związany z bezpośrednim kontaktem ze zwierzętami (np. medycyna weterynaryjna, zootechnika i in.); ⁸ – dotyczy zamieszkujących z badanym zwierzęciem w jednym gospodarstwie domowym zwierząt gatunków innych niż pies lub kot; ⁹ – zwierzę zostało adoptowane z innego źródła niż schronisko lub fundacja (np. otrzymane od znajomych i in.); ¹⁰ – dotyczy zabiegów pielęgnacyjnych: skracanie pazurów, higiena uszu, oczu, skóry i okrywy włosowej; ¹¹ – kot, który ma możliwość samodzielnego i swobodnego opuszczania gospodarstwa domowego bez nadzoru człowieka

9.2.2. Czynniki determinujące występowanie szczepów wielolekoopornych na poziomie fenotypowym i genotypowym

W kolejnej części skoncentrowano się na ustaleniu czynników determinujących występowanie szczepów wielolekoopornych (MDR) na poziomie fenotypowym i genotypowym wśród badanych szczepów *S. pseudintermedius* oraz *S. aureus*.

W tabeli 31 zaprezentowano wyniki analiz uwzględniających wielolekooporność na poziomie fenotypowym u *S. pseudintermedius*. Wykazano, że jedynym istotnym czynnikiem związanym z występowaniem szczepów MDRSP (ang. multidrug resistant *Staphylococcus pseudintermedius*) było leczenie pozostałych zwierząt mieszkających w tym samym gospodarstwie domowym co badane zwierzę w ciągu ostatniego roku. Wystąpienie tego czynnika zwiększało szanse na obecność MDRSP ponad 2-krotnie. Dodatkowo – na poziomie

tendencji statystycznej odnotowano związek między hospitalizacją domownika w ostatnim roku a wystąpieniem MDR – hospitalizacja zwiększała szanse na wystąpienie MDR 1,83 razy.

Tabela 31

*Rozkład częstości występowania szczepów *S. pseudintermedius* wraz z testem dokładnym Fishera i OR dla czynników determinujących występowanie wielolekooporności na poziomie fenotypowym*

Zmienna	Brak MDR	MDR	OR	95% OR	p
	(n = 96)	(n = 69)			
	n (%)	n (%)			
Stan zdrowia badanego					
Chory	46 (47,9)	35 (50,7)	0,89	0,48-1,66	0,722
Zdrowy	50 (52,1)	34 (49,3)			
Leczenie w ostatnim roku	64 (68,8)	43 (66,2)	0,89	0,45-1,74	0,725
Antybiotyki w ostatnim roku	19 (36,5)	17 (38,6)	1,09	0,48-2,50	0,832
Hospitalizacja badanego w ostatnim roku	1 (33,3)	0 (0)	0,33	0,01-12,80	1,000
Hospitalizacja domownika w ostatnim roku	26 (28,0)	27 (41,5)	1,83	0,94-3,58	0,075
Badany – zawód ochrona zdrowia ¹	-	-	-	-	-
Badany – praca ze zwierzętami ²	1 (33,3)	1 (50,0)	2,00	0,05-78,25	1,000
Domownik – zawód ochrona zdrowia ¹	10 (10,8)	12 (18,5)	1,88	0,76-4,66	0,168
Domownik – praca ze zwierzętami ²	24 (25,8)	24 (36,9)	1,68	0,85-3,34	0,135
Badany – czy ma zwierzę	3 (75,0)	2 (66,7)	0,67	0,02-18,06	1,000
Badane zwierzę było w ostatnim roku leczone	62 (66,7)	41 (64,1)	0,89	0,46-1,74	0,736
Badane zwierzę otrzymywało antybiotyki w ostatnim roku	16 (30,8)	15 (34,9)	1,20	0,51-2,85	0,670
Pozostałe zwierzęta w domu były w ostatnim roku leczone	18 (20,0)	22 (34,9)	2,15	1,03-4,46	0,039
Badane zwierzę ma bezpośredni kontakt z domownikami	90 (100,0)	63 (100)	-	-	-

Adnotacje: ¹ - osoba wykonuje zawód w sektorze ochrony zdrowia (np. lekarz, pielęgniarz, diagnosta i in.); ² - osoba wykonuje pracę związaną z bezpośrednim kontaktem ze zwierzętami (np. lekarz weterynarii, technik weterynarii, behawiorysta i in.)

W tabeli 32 przedstawiono wyniki analiz dotyczących czynników ryzyka wystąpienia wielolekooporności szczepów *S. pseudintermedius* na poziomie genotypowym. Nie odnotowano istotnych czynników determinujących występowanie tego zjawiska. Jedynie hospitalizacja domownika w ostatnim roku była czynnikiem istotnie związanym z wystąpieniem MDRSP na poziomie tendencji statystycznej. Fakt hospitalizacji zmniejszało szanse na wystąpieniem MDRSP na poziomie genotypowym o 47%.

Tabela 32

Rozkład częstości występowania szczepów S. pseudintermedius wraz z testem chi-kwadrat niezależności i OR dla czynników determinujących występowanie wielolekooporności na poziomie genotypowym

Zmienna	Brak MDR	MDR	OR	95% OR	p
	(n = 96)	(n = 69)			
	n (%)	n (%)			
Stan zdrowia badanego					
Chory	35 (43,8)	46 (54,1)	0,66	0,36-1,22	0,183
Zdrowy	45 (56,3)	39 (45,9)			
Leczenie w ostatnim roku	49 (64,5)	58 (70,7)	1,33	0,68-2,60	0,401
Antybiotyki w ostatnim roku	14 (32,6)	22 (41,5)	1,47	0,63-3,40	0,368
Hospitalizacja badanego w ostatnim roku	1 (50,0)	0 (0)	0,33	0,01-12,80	0,361
Hospitalizacja domownika w ostatnim roku	31 (40,8)	22 (26,8)	0,53	0,27-1,04	0,063
Badany – zawód ochrona zdrowia ¹	-	-	-	-	-
Badany – praca ze zwierzętami ²	1 (50,0)	1 (33,3)	0,50	0,01-19,56	1,000
Domownik – zawód ochrona zdrowia ¹	8 (10,5)	14 (17,1)	1,75	0,69-4,44	0,235
Domownik – praca ze zwierzętami ²	24 (31,6)	24 (29,3)	0,90	0,45-1,77	0,752
Badany – ma zwierzę	3 (75,0)	2 (66,7)	0,67	0,02-18,06	1,000
Badane zwierzę było w ostatnim roku leczone	47 (61,8)	56 (69,1)	1,38	0,71-2,68	0,336
Badane zwierzę otrzymywało antybiotyki w ostatnim roku	12 (27,9)	19 (36,5)	1,49	0,62-3,56	0,372
Pozostałe zwierzęta w domu były w ostatnim roku leczone	15 (20,3)	25 (31,6)	1,82	0,87-3,81	0,110
Badane zwierzę ma bezpośredni kontakt z domownikami	74 (100,0)	79 (100,0)	-	-	-

Adnotacje: ¹ - osoba wykonuje zawód w sektorze ochrony zdrowia (np. lekarz, pielęgniarz, diagnosta i in.); ² - osoba wykonuje pracę związaną z bezpośrednim kontaktem ze zwierzętami (np. lekarz weterynarii, technik weterynarii, behawiorysta i in.)

Analogiczne analizy przeprowadzono dla szczepów *S. aureus*. Nie wykazano istotnych czynników determinujących występowanie MDRSA (ang. multidrug resistant *Staphylococcus aureus*) na poziomie fenotypowym. Jedynie posiadanie zwierzęcia było czynnikiem istotnie związanym na poziomie tendencji statystycznej z występowaniem wielolekooporności szczepów tego gatunku. Posiadanie przez badanego zwierzęcia zwiększało szanse na wystąpienie MDRSA 8,41 razy. Szczegółowe wyniki zamieszczono w tabeli 33.

Tabela 33

Rozkład częstości występowania S. aureus wraz z testem chi-kwadrat niezależności i OR dla czynników determinujących występowanie wielolekooporności na poziomie fenotypowym

Zmienna	Brak MDR	MDR	OR	95% OR	p
	(n = 96)	(n = 69)			
	n (%)	n (%)			
Stan zdrowia badanego					
Chory	26 (15,4)	2 (14,3)	1,09	0,23-5,16	1,000
Zdrowy	143 (84,6)	12 (85,7)			
Leczenie w ostatnim roku	75 (49,3)	6 (42,9)	0,77	0,25-2,32	0,642
Antybiotyki w ostatnim roku	44 (30,3)	3 (27,3)	0,86	0,22-3,40	0,830
Hospitalizacja badanego w ostatnim roku	11 (9,0)	1 (9,1)	1,01	0,12-8,64	0,993
Hospitalizacja domownika w ostatnim roku	46 (29,9)	3 (21,4)	0,64	0,17-2,40	0,506
Badany – zawód ochrona zdrowia ¹	4 (3,9)	0 (0)	0,95	0,05-18,80	1,000
Badany – praca ze zwierzętami ²	24 (23,5)	2 (18,2)	0,72	0,15-3,57	0,689
Domownik – zawód ochrona zdrowia ¹	11 (7,2)	0 (0)	0,42	0,02-7,58	0,601
Domownik – praca ze zwierzętami ²	35 (23,0)	6 (42,9)	2,51	0,81-7,71	0,100
Badany – ma zwierzę	102 (73,4)	11 (100,0)	8,41	0,48-146,00	0,066
Badane zwierzę było w ostatnim roku leczone	56 (48,3)	4 (28,6)	0,43	0,13-1,44	0,162
Badane zwierzę otrzymywało antybiotyki w ostatnim roku	43 (38,7)	2 (16,7)	0,32	0,07-1,51	0,132
Pozostałe zwierzęta w domu były w ostatnim roku leczone	7 (26,9)	0 (0)	0,37	0,02-8,09	0,557

Badane zwierzę ma bezpośredni kontakt z domownikami	28 (100,0)	3 (100,0)	-	-	-
---	------------	-----------	---	---	---

Adnotacje: ¹ - osoba wykonuje zawód w sektorze ochrony zdrowia (np. lekarz, pielęgniarz, diagnosta i in.); ² - osoba wykonuje pracę związaną z bezpośrednim kontaktem ze zwierzętami (np. lekarz weterynarii, technik weterynarii, behawiorysta i in.)

W tabeli 34 zaprezentowano wyniki analiz dla czynników determinujących występowanie wielolekooporności na poziomie genotypowym dla szczepów *S. aureus*. Istotny związek z występowaniem MDRSA odnotowano dla 6 zmiennych: leczenia w ostatnim roku, hospitalizacji badanego w ostatnim roku, domownika posiadającego zawód związany z ochroną zdrowia, domownika pracującego ze zwierzętami, leczenia zwierzęcia w ostatnim roku i przyjmowania przez niego antybiotyków. Jedynie obecność domownika pracującego w bezpośrednim kontakcie ze zwierzętami zwiększała szanse wystąpienia MDRSA na poziomie genotypowym. Pozostałe czynniki obniżały szanse wystąpienia wielolekooporności tego gatunku na poziomie genotypowym od 31% w przypadku hospitalizacji badanego aż do 91% dla domownika posiadającego zawód związany z ochroną zdrowia.

Tabela 34

Rozkład częstości występowania S. aureus wraz z testem chi-kwadrat niezależności i OR dla czynników determinujących występowanie MDR na poziomie genotypowym

Zmienna	Brak MDR	MDR	OR	95% OR	p
	(n = 96)	(n = 69)			
	n (%)	n (%)			
Stan zdrowia badanego					
Chory	22 (18,0)	6 (9,8)	2,02	0,77-5,27	0,266
Zdrowy	100 (82,0)	55 (90,2)			
Leczenie w ostatnim roku	62 (54,4)	19 (36,5)	0,48	0,25-0,95	0,033
Antybiotyki w ostatnim roku	35 (32,1)	12 (25,5)	0,72	0,34-1,56	0,411
Hospitalizacja badanego w ostatnim roku	12 (12,6)	0 (0)	0,69	0,61-0,77	0,022
Hospitalizacja domownika w ostatnim roku	35 (30,7)	14 (25,9)	0,79	0,38-1,63	0,525
Badany – zawód ochrona zdrowia ¹	4 (5,4)	0 (0)	0,20	0,01-3,78	0,297
Badany – praca ze zwierzętami ²	16 (21,6)	10 (25,6)	1,25	0,50-3,10	0,629
Domownik – zawód ochrona zdrowia¹	11 (9,6)	0 (0)	0,09	0,01-1,53	0,019
Domownik – praca ze zwierzętami²	23 (20,0)	18 (35,3)	2,18	1,05-4,54	0,035
Badany – ma zwierzę	73 (73,7)	40 (78,4)	1,29	0,58-2,89	0,528

Badane zwierzę było w ostatnim roku leczone	45 (52,9)	15 (33,3)	0,44	0,21-0,94	0,033
Badane zwierzę otrzymano antybiotyki w ostatnim roku	36 (43,4)	9 (22,5)	0,38	0,16-0,89	0,024
Pozostałe zwierzęta w domu były w ostatnim roku leczone	6 (31,6)	1 (10,0)	0,24	0,02-2,36	0,197
Badane zwierzę ma bezpośredni kontakt z domownikami	19 (100,0)	12 (100,0)	-	-	-

Adnotacje: ¹ - osoba wykonuje zawód w sektorze ochrony zdrowia (np. lekarz, pielęgniarz, diagnosta i in.); ² - osoba wykonuje pracę związaną z bezpośrednim kontaktem ze zwierzętami (np. lekarz weterynarii, technik weterynarii, behawiorysta i in.)

10. Dyskusja wyników

Celem prowadzonych badań było określenie częstości występowania gronkowców w badanej populacji ludzi i zwierząt, określenie poziomu lekooporności uzyskanych szczepów, a także poszukiwanie i określenie czynników ryzyka związanych z kolonizacją badanych ludzi i zwierząt przez bakterie z rodzaju *Staphylococcus*. Zasadniczym motywem podjętych badań było sprawdzenie, jaką rolę odgrywają te powszechnie występujące drobnoustroje w naszym życiu oraz z jakim zagrożeniem z ich strony należy się obecnie liczyć. Ponadto, uwagę skupiono na ocenie znaczenia czynników ryzyka w kontekście kolonizacji badanych przez gronkowce. Poniżej – w wybranym zakresie – dyskutowane są wyniki badań dotyczące wyżej wymienionych aspektów. Przeprowadzona dyskusja ma przede wszystkim na celu zwrócenie uwagi na ogólne prawidłowości ważne z punktu widzenia celu badania. Z tego powodu nie każdy z otrzymanych wyników będzie oddzielnie analizowany i interpretowany.

Izolacja bakterii z rodzaju *Staphylococcus* u ludzi i zwierząt

Rezultaty przeprowadzonego badania potwierdzają, że zarówno ludzie, jak i zwierzęta domowe są powszechnie kolonizowani przez gronkowce. Wysoka prewalencja bakterii z rodzaju *Staphylococcus* u zwierząt (82%) znajduje odzwierciedlenie w literaturze przedmiotu (Ruzauskas i wsp., 2015 (b); Bierowiec i wsp., 2019 (a)), ale przewyższa wartości rzędu 30-62% opisane przez niektórych badaczy (Li i wsp., 2021; Thomson i wsp., 2022). W przypadku badanych ludzi, częstość występowania tych drobnoustrojów była jeszcze wyższa (91,2%), co wyróżnia się na tle dostępnych danych źródłowych (Abdullahi i wsp., 2022; Cuny i wsp., 2022; Thomson i wsp., 2022; Saud i wsp., 2023). Co ciekawe, u kotów dominowały gatunki koagulazo-ujemne (87,2%). Podobne rezultaty uzyskali Abdel-Moein i wsp. (2020), a rozbieżne Sukur i Esendal (2020). Wysoka częstość izolacji CoPS od psów jest związana

z przewagą liczbową *S. pseudintermedius*, które u kotów występowały rzadziej. Przekłada się to na summaryczne efekty w postaci przewagi odsetka izolowanych szczepów CoNS u tych zwierząt. Od ludzi wyizolowano łącznie 22 gatunki gronkowców, od kotów 20 i od psów 16 gatunków. Wynik ten kontrastuje z doniesieniami Ma i wsp. (2020), w których to psy (a nie koty) były nosicielami większej liczby gatunków z rodzaju *Staphylococcus*. Różnica ta może wynikać z nadreprezentacji grupy badanych kotów zdrowych. W przypadku badanych osób uzyskano większą niż inni badacze liczbę gatunków gronkowców (Thomson i wsp., 2022). Rozbieżności te mogą być spowodowane również tym, że w niniejszym badaniu wymazy pobierano od każdej osoby z czterech miejsc, co mogło pozytywnie wpłynąć na czułość wykrywania tych bakterii, a zatem stwierdzenie obecności większej liczby gatunków gronkowców. Dominującymi u ludzi gatunkami były *S. epidermidis* i *S. aureus* (odpowiednio prawie 46% i 26%), u psów *S. pseudintermedius* i *S. epidermidis* (53% i 16%), a u kotów *S. felis* i *S. epidermidis* (25% i 18%). Uzyskane dane są spójne z danymi źródłowymi w odniesieniu do częstości izolacji tych drobnoustrojów u ludzi i zwierząt (Thomson i wsp., 2022; Moon i wsp., 2022 (a); Moon i wsp., 2022 (b)).

Ze względu na lokalizację pobranego wymazu, obecność *S. aureus* stwierdzano u ludzi, kotów i psów najczęściej w przedsionku jamy nosowej, a także u kotów w jamie ustnej. W przypadku *S. pseudintermedius* u wszystkich badanych grup był to również przedsionek jamy nosowej, a dodatkowo u ludzi skóra w zgięciu łokciowym, u kotów worek spojówkowy i u psów jama ustna oraz odbył. Przedsionek jamy nosowej to jedna z częściej weryfikowanych w badaniach lokalizacji anatomicznych bytowania gronkowców u ludzi i zwierząt. Nie zaskakuje zatem, że uzyskane wyniki w tym aspekcie znajdują odzwierciedlenie w literaturze przedmiotu (Abdullahi i wsp., 2022; Bierowiec i wsp., 2016 (c); Cuny i wsp., 2022). Często opisywanymi miejscami kolonizacji są również skóra i zewnętrzny przewód słuchowy, zwłaszcza gdy występuje stan zapalny (Haulisah i wsp., 2022; Moon i wsp., 2022 (b); Souza-Silva i wsp., 2022). Frosini i wsp. (2022) wskazują, że najlepszym miejscem wykrywania gronkowców w przypadku pobierania wymazów z jednego tylko miejsca jest nos (czułość rzędu 68%). Czułość badania zwiększa się jednak, gdy wymazy pobiera się jednocześnie z kilku lokalizacji – w przypadku uwzględnienia gardła, pachwiny i nosa sięga aż 95%. Taką czułość można uzyskać również pobierając materiał minimalnie z czterech miejsc, zawsze uwzględniając nos oraz śluzówkę policzka. Autorzy podają również, że u psów wymaz z nosa cechuje się mniejszą czułością wykrywania *S. pseudintermedius* niż jama ustna i krocze – zatem podobnie jak w niniejszym badaniu. Ze względu na to, iż u zwierzęcia przytomnego pobranie wymazu z przedsionka jamy nosowej może być w niektórych przypadkach utrudnione (brak przyzwolenia pacjenta na wykonanie wymazu), wiedza o dodatkowych lokalizacjach, które często kolonizowane są przez gronkowce może być przydatna w perspektywie prowadzenia dalszych badań naukowych zgodnie z zasadą uczynienia procesu pozyskiwania materiału jak

najmniej uciążliwym dla pacjentów. U badanych zwierząt chorych, *S. aureus* najczęściej izolowano z przypadków zapalenia spojówek, zapalenia skóry lub ran, a *S. pseudintermedius* od osobników z zapaleniem skóry lub ranami i zapaleniem spojówek. Inni badacze również wskazują na częstą izolację tych gatunków z zakażonych ran, ropni, przypadków zapalenia skóry i tkanki łącznej, zapalenia spojówek, ale także, czego nie stwierdzono w badaniu własnym, z zewnętrznego przewodu słuchowego psów i kotów z *otitis externa* (Frosini i wsp., 2022; Haulisah i wsp., 2022; Li i wsp., 2021; Moon i wsp., 2022 (b); Souza-Silva i wsp., 2022; Thomson i wsp., 2022). Wyjaśnieniem tej rozbieżności może być nierównoliczność grup zwierząt zdrowych oraz chorych, a relatywnie niewielka liczba badanych osobników z objawami klinicznymi zakażeń przewodu słuchowego mogła wpłynąć na wynik odmienny niż u innych autorów.

Fakt, że zwierzęta mieszkające w domach z innymi zwierzętami związany był z nosicielstwem większej liczby gatunków gronkowców niż u zwierząt utrzymywanych pojedynczo wskazuje na transmisję patogenów między osobnikami żyjącymi w grupach. Ponadto, wyższa prewalencja *S. warneri* i *S. felis* odpowiednio u indywidualnie utrzymywanych kotów i psów, powinna zostać zweryfikowana w dalszych badaniach ze względu na dysproporcje w liczebności grup badanych oraz brak informacji, jakie jest pochodzenie tych bakterii u psów i czy jest to nosicielstwo okresowe czy stałe. Istnieje teoretyczna możliwość zakażenia *S. felis*, jeśli pies lub jego właściciel mieli wcześniej kontakt na przykład z kotami, u których powszechnie występuje ten gatunek (Bierowiec i wsp., 2019 (a)). Z tego względu ten zaskakujący wynik wymaga rozszerzenia badań i wówczas podjęcia próby odpowiedzi na pytanie o źródło kolonizacji badanych psów przez te gronkowce.

Typowanie *spa* *Staphylococcus aureus*

Rezultaty genotypowania metodą *spa* wykazały, że spośród wszystkich uzyskanych szczepów *S. aureus* (n=202) najczęściej izolowany był typ t091 (11% szczepów), następnie t1451 (4,3% szczepów), w dalszej kolejności t065, t084 i t338. Jednocześnie typ t1451 był najczęściej izolowanym typem wśród szczepów metycylinoopornych, a obok niego t021. Z kolei analiza typów *spa* określonych dla 47 szczepów *S. aureus* pochodzących od zwierząt wykazała, że najczęściej izolowane były typy t091 (17% szczepów) i t056 (8,5% szczepów). Dominujący w tym badaniu typ t091 izolowany był przez innych badaczy m.in. od dzieci będących pacjentami szpitalnych oddziałów zakaźnych oraz intensywnej opieki medycznej i pacjentów z mukowiscydozą, a także od świń i mięsa wieprzowego, dzików, drobiu i mięsa drobiowego, mięsa króliczego, i były to zarówno szczepy MSSA, jak MRSA (Krupa i wsp., 2014; Krupa i wsp., 2015; Bierowiec i wsp., 2016 (c); Ilczyszyn i wsp., 2016; Merz i wsp., 2016; Becker i wsp., 2017; Ayeni i wsp., 2018; Garbacz i wsp., 2018; Richter i wsp., 2018; Ogundipe i wsp.,

2020; Karlsen i wsp., 2021; Banaszek i wsp., 2023). Typ t056 izolowano od ludzi zdrowych i manifestujących kliniczne objawy zakażeń w materiale z nozdrzy przednich oraz w przypadkach zatruc pokarmowych wywołanych przez gronkowce, a ponadto w mięsie króliczym i drobiowym (Wattinger i wsp., 2012; Ebner i wsp., 2013; Krupa i wsp., 2014; Merz i wsp., 2016; Langhanki i wsp., 2018). Występowanie typu t1451 opisano dotychczas m.in. w przypadku zakażenia MRSA rolnika opiekującego się świniami (a także w próbkach od jego rodzeństwa oraz świń z jego fermy), od świń w badaniu opisanym przez Habrun i wsp. (2011), a także od dzikich zwierząt, takich jak jelen szlachetny, koziorożec iberyjski, sęp płowy i dzik (Lozano i wsp., 2011; Porrero i wsp., 2013). Metycylinooporne szczepy reprezentujące typ t1451 izolowane były również od australijskich lekarzy weterynarii sprawujących opiekę medyczną nad świniami (Groves i wsp., 2016) oraz ludzi biorących udział w badaniu dotyczącym transmisji gronkowców pomiędzy ludźmi i psami (Gómez-Sanz i wsp., 2013 (a)). Zgodnie z danymi pochodzącymi z bazy Ridom Spa Server (<http://spa.ridom.de/frequencies.shtml>) spośród wymienionych wyżej typów *spa*, jedynie t084 i t021 były dotychczas stwierdzane w Polsce. W dostępnych zbiorach publikacji naukowych trudno jest znaleźć doniesienia na temat identyfikacji wymienionych powyżej typów *spa* od psów czy kotów. W badaniu własnym typy t091 i t056 występowały zarówno u ludzi, jak i psów i kotów, a typ t1451 występował jedynie u ludzi. Szczepy wymienionych typów prezentowały zarówno wrażliwość, jak oporność na metycylinę. Powyższe dane wskazują, że poszczególne typy *spa* *S. aureus* nie tylko występują powszechnie u ludzi, zwierząt czy w produktach spożywczych, ale także, że potencjalnie mogą one ulegać transmisji międzygatunkowej. Zastanawiający jest fakt, że doniesienia o izolacji tych typów od zwierząt dotyczą przede wszystkim gatunków będących producentami żywności dla człowieka oraz samych produktów mięsnych. Nie znaleziono publikacji dotyczących występowania tych typów u psów czy kotów, a przecież te pozostają w bliskim kontakcie z człowiekiem, co mogłoby sprzyjać transmisji międzygatunkowej. Wszystkie badane zwierzęta miały bezpośredni kontakt z domownikami (częsty i bliski lub sporadyczny i bliski), co potwierdza stopień zażyłości ludzi i ich podopiecznych. Równocześnie 80-90% zwierząt miało możliwość kontaktu z innymi zwierzętami (w jednym domu lub podczas spacerów i spotkań w plenerze). Niezbędne byłyby dalsze badania, aby odpowiedzieć na pytanie w jaki sposób ludzie zakażają się tymi bakteriami oraz czy psy i koty mogą zakazić się nimi od ludzi.

Lekooporność szczepów *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus pseudintermedius*

Rozważając aktualny stan oporności gronkowców na środki przeciwdrobnoustrojowe warto zwrócić uwagę na początki stosowania ich w medycynie. Era stosowania antybiotyków rozpoczęła się wraz z przypadkowym odkryciem Alexandra Fleminga w 1928 roku, który podczas pracy w laboratorium zauważył, że na szalce z koloniami gronkowca złocistego

wyrosta pleśń błękitna (*Penicillium notatum*) hamująca wzrost bakterii (Ubysz i Tobiasz, 2016; Kozińska i Sitkiewicz, 2017; Murray i wsp., 2018). Dzięki pracom prowadzonym przez Ernsta B. Chaina i Howarda W. Floreya, od 1941 roku penicylina dostępna jest na rynku komercyjnym (Markiewicz i Kwiatkowski, 2012; Kozińska i Sitkiewicz, 2017). W Polsce produkcja penicyliny rozpoczęła się dopiero w 1950 roku w zakładach produkcyjnych na warszawskim Tarchominie (Kozińska i Sitkiewicz, 2017). Niestety, na rozwój antybiotykooporności nie trzeba było długo czekać i już w 1942 roku pojawiły się pierwsze penicylinooporne szczepy gronkowca złocistego (Markiewicz i Kwiatkowski, 2012; Kozińska i Sitkiewicz, 2017). Analogiczna sytuacja miała miejsce w odniesieniu do metycyliny (Kozińska i Sitkiewicz, 2017) – po jej wprowadzeniu w 1959 roku minęły dwa lata do pojawienia się pierwszych przypadków MRSA (Markiewicz i Kwiatkowski, 2012). W Polsce obecność szczepów MRSA odnotowano w 1964 roku, czyli jeszcze przed wprowadzeniem tego leku w naszym kraju (Markiewicz i Kwiatkowski, 2012). Alexander Fleming zakończył swój wykład noblowski mówiąc: „... Mogą nadejść czasy, gdy penicylina będzie mogła być kupiona przez każdego w sklepie. Istnieje więc niebezpieczeństwo, że nieświadomy [...] człowiek będzie ją przyjmował w zbyt niskiej dawce i drobnoustroje poddawane nieodpowiednim dawkom leku staną się odporne. [...]” (Fleming, 1945; cyt. za: Kozińska i Sitkiewicz, 2017). Efekty zachodzącej od lat presji selekcyjnej i ukierunkowanej ewolucji bakterii widoczne są w postaci wzrostu częstości występowania szczepów wielolekoopornych, czyli wykazujących oporność na 3 lub więcej klas antybiotyków (Feßler i wsp., 2022). Nie jest zaskoczeniem, że Alexander Fleming nie pomylił się w swoim stwierdzeniu, ale skala problemu lekooporności wśród badanych szczepów już tak. Największy odsetek opornych szczepów *S. pseudintermedius* odnotowano w przypadku penicyliny (71,5%), ampicyliny (63,6%) oraz klindamycyny (41,2%) i erytromycyny (41,2%). Nie wykazano obecności szczepów opornych na mupirocynę, linezolid, rifampicynę i tigeicyklinę. Na poziomie genetycznym najczęściej występującym genem był *blaZ*, następnie *tet(M)* i *ermB*, a żaden szczep nie posiadał genu *mupA*. Izolaty MRSP najczęściej izolowane były z nosa i jamy ustnej. Zbliżone rezultaty w zakresie wysokiej oporności szczepów na penicylinę i ampicylinę uzyskali Lai i wsp. (2022), Scott i wsp. (2022) oraz Naziri i Majlesi (2023). Liczne szczepy odporne na klindamycynę i erytromycynę obserwowali Rynhoud i wsp. (2021), Lai i wsp. (2022), a także Naziri i Majlesi (2023). Bardzo wysoki wynik, jeśli chodzi o oporność na tetracyklinę uzyskali Wang i wsp. (2022) – odporne szczepy *S. pseudintermedius* stanowiły aż 96,6%. W tym samym badaniu prawie 80% izolatów wykazało oporność na erytromycynę. Badacze wskazują również na częstą oporność szczepów *S. pseudintermedius* na sulfonamidy potencjonowane, co nie znalazło potwierdzenia w badaniu własnym (Rynhoud i wsp., 2021; Haulisah i wsp., 2022; Naziri i Majlesi, 2023). Podczas poszukiwania przyczyn rozbieżności między uzyskanymi rezultatami, uwagę zwracają różnice między poszczególnymi badaniami w zakresie metodologii. Przykładowo, Naziri i Majlesi (2023) zbadali 100 psów (50 zdrowych

i 50 z objawami zakażeń skóry) zamieszkujących w Iranie, wymazy pobierano ze skóry w kilku lokalizacjach oraz z nosa, a oznaczenie oporności wykonano metodą dyfuzyjno-krażkową. W badaniu Wang i wsp. (2022), które miało miejsce w Chinach, udział wzięło łącznie 75 psów (w tym 35 zdrowych oraz 40 z objawami *keratitis*), wymazy pobierano jedynie z worka spojówkowego i uzyskano 29 szczepów *S. pseudintermedius*, dla których oznaczano lekooporność metodą dyfuzyjno-krażkową. Jak widać, na wskazane różnice wpływać mogło wiele czynników, m.in. liczebność grup badanych i uzyskanych izolatów bakteryjnych, lokalizacje, z których pobierano wymazy, ale także uwarunkowania środowiskowe oraz społeczno-kulturowe ze względu na obszar geograficzny, w którym prowadzono badania. Jak już wspomniano, w przypadku badań własnych wpływ na wyniki mogła mieć liczebność grup badanych.

W przypadku każdej z badanych substancji czynnych wykazano obecność niewrażliwych na nie szczepów gronkowców złocistych. Największą oporność izolatów *S. aureus* wykazano w przypadku ampicyliny (62,4%), penicyliny (61,4%), erytromycyny (29,2%) oraz amoksycyliny z kwasem klawulanowym (28,2%). Na poziomie genetycznym, wśród szczepów gatunku *S. aureus* najczęściej stwierdzano obecność genów *blaZ*, *tet(M)* i *ermA*, a nie wykazano obecności genów *tet(L)* i *mupA*. W badaniu przeprowadzonym przez Abdullahi i wsp. (2022), izolaty *S. aureus* pochodzące od psów wykazywały oporność najczęściej na tetracykliny, aminoglikozydy, rifampicynę i sulfonamidy potencjonowane, natomiast te od kotów na sulfonamidy potencjonowane, ciprofloksacynę, erytromycynę, klindamycynę, amikacynę, enrofloksacynę i tetracykliny. Podobne rezultaty uzyskali Liang i wsp. (2023) i Monecke i wsp. (2023). Wydaje się zatem, że niezależnie od regionu, szczepy najczęściej izolowanych gronkowców charakteryzuje rosnąca oporność w większości na te same grupy chemioterapeutyków przeciwdrobnoustrojowych, różniąc się jedynie wysokością odsetka izolowanych bakterii. Oczywiście, w niektórych badaniach obserwuje się częstsze występowanie szczepów niewrażliwych na wybrane klasy substancji czynnych, ale widoczna jest jednak spójna, niepokojąca tendencja rozwoju lekooporności, która postępuje do tego stopnia, że niektórzy autorzy izolowali już szczepy *S. aureus* odporne na wszystkie weryfikowane substancje czynne (Scott i wsp., 2022). Takie przypadki uwykupują konieczność monitorowania oporności tego gatunku celem ochrony zdrowia ludzi i zwierząt.

Uzyskana częstość występowania szczepów MRSA i MRSP nie odbiega znacząco od danych z literatury, ponieważ pozostaje w zakresie 0,8-9% opisanym przez innych naukowców (Faires i wsp., 2009; Kottler i wsp., 2010; Scott i wsp., 2022; Gómez-Sanz i wsp., 2013 (a); Rynhoud i wsp., 2021; Cuny i wsp., 2022; Rana i wsp., 2022). Wyższe wyniki opisali Saud i wsp. (2023), bo aż 47% w przypadku MRSA. Ponadto, Scott i wsp. (2022) oraz Morgan (2008) zaobserwowali częstszą izolację MRSA od psów niż od kotów, czego nie wykazano w badaniu własnym. Podobnie jak we wcześniej dyskutowanych aspektach, dysproporcja pomiędzy

liczebnością grup badanych kotów i psów mogła mieć wpływ na osiągnięte rezultaty i powstałe niezgodności z literaturą przedmiotu.

Co szczególnie alarmujące, częstość występowania szczepów posiadających przynajmniej jeden z genów determinujących oporność na wankomycynę (*vanA*, *vanB*) w analizach własnych wynosiła dla obu badanych gatunków CoPS prawie 16%. To dość wysoki wynik, zważywszy na fakt, że wankomycyna należy do leków ostatniej szansy stosowanych w leczeniu człowieka (Adiguzel i wsp., 2022). Tak wysoka prevalencja charakteryzowała dotychczas głównie bakterie z rodzaju *Enterococcus* - VRE (ang. vancomycin-resistant enterococci) (Trościańczyk i wsp., 2021; Afshari i wsp., 2022; Sacramento i wsp., 2022). Znaleźć można jednak doniesienia o potwierdzeniu obecności tych genów u gronkowców, lecz były to jak dotąd przypadki incydentalne (Leuthner i wsp., 2006; Al-Amery i wsp., 2019; Adiguzel i wsp., 2022; Afshari i wsp., 2022). Niemniej jednak, wynik ten jest wyjątkowo niepokojący i wskazuje, że należy kontrolować poziom oporności *Staphylococcus spp.* oraz każdorazowo, rozważnie decydować o stosowaniu środków przeciwdrobnoustrojowych w praktyce klinicznej, aby ograniczać rozwój lekooporności.

Wielolekooporność szczepów *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus pseudintermedius*

Wyniki wskazują, że szczepy MDRSP na poziomie fenotypowym izolowane były od badanych ludzi i zwierząt ze zbliżoną częstością (41-47%) bez istotnych różnic statystycznych, jeśli rozpatrywany jest gatunek gospodarza. Jednak na poziomie genotypowym, wielolekooporne szczepy *S. pseudintermedius* były istotnie statystycznie częściej stwierdzane u kotów niż psów. Zarówno na poziomie fenotypowym, jak i genotypowym, szczepy MDRSA występowały u badanych ludzi i zwierząt z podobną częstością – rzędu odpowiednio 4-10% oraz 32-45%. Zbliżoną częstość izolacji MDRSA oraz MDRSP opisali Thomson i wsp. (2022), Cocca i wsp. (2021) oraz Abdullahi i wsp. (2022) w przypadku *S. aureus* u psów (41%). Natomiast w badaniach Ferradas i wsp. (2022) stwierdzono wartości wyższe dla *S. aureus* (50%) oraz znacznie niższe u *S. pseudintermedius* (3,3%), z kolei u Saud i wsp. (2023) aż 74% izolatów gronkowców sklasyfikowano jako MDR. Burke i Santoro (2023) podkreślają, że zakres dystrybucji bakterii MDR u psów i kotów sięga od 2,5% w Wielkiej Brytanii, przez ok. 14% w Finlandii do nawet 66,5% w Japonii. Prawdopodobnie rozbieżności między otrzymanymi rezultatami wiążą się z liczebnością badanych grup ludzi i zwierząt oraz tym samym pul testowanych izolatów bakteryjnych.

Metycylinooporność gatunków CoNS izolowanych od zwierząt

Częstość izolacji CoNS od zwierząt i ludzi jest szczególnie istotna biorąc pod uwagę uzyskane rezultaty badania oporności nie tylko w niniejszej pracy, lecz także na całym świecie (Ruzauskas i wsp., 2015 (b); Sukur i Esendal, 2020; Elnageh i wsp., 2021). Wielu badaczy porównywało czynniki wirulencji CoPS i CoNS (França i wsp., 2021); obecnie obie grupy postrzegane są jako istotne patogeny z powodu lekooporności, możliwego horyzontalnego transferu genów i potencjału zoonotycznego (Becker i wsp., 2014; Sukur i Esendal, 2020; Elnageh i wsp., 2021; França i wsp., 2021). W badaniu własnym wyższą oporność na metycylinę odnotowano w przypadku szczepów CoNS (prawie 18%) niż CoPS (jedynie 2%). Wynik ten sugeruje, że zjadliwość CoNS może być niedoceniana w praktyce klinicznej. Inni autorzy określają CoNS jako rezerwuar mobilnych elementów genetycznych kodujących oporność na β -laktamy oraz wielolekooporność, genów, które mogą być transmitowane do *S. aureus*, a także związanych ze zdolnościami adhezji, tworzenia biofilmu, produkcji enzymów i superantygenów (Becker i wsp., 2014; Argemi i wsp., 2019; Abdel-Moein i Zaher, 2020). Dane te są niepokojące zwłaszcza w kontekście zakażeń pochodzenia szpitalnego (Becker i wsp., 2014; Argemi i wsp., 2019; Abdel-Moein i Zaher, 2020; Elnageh i wsp., 2021). Przeprowadzone badanie wykazało, że zawód o charakterze medycznym (zarówno ludzkim, jak i weterynaryjnym) właściciela zwierzęcia, jego hospitalizacja w ciągu ostatnich 12 miesięcy, a także leczenie badanego zwierzęcia w tym czasie miały istotny statystycznie związek z izolacją CoNS (*S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. warneri*) w porównaniu do CoPS. Znaczenie CoNS jako istotnego zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt podkreślają także niektórzy badacze (Gómez-Beltrán i wsp., 2020). Wskazuje to, że ekspozycja na środowisko medyczne, niezależnie czy wynikająca z wykonywanego zawodu, czy też przebywania w tych pomieszczeniach jako pacjent, zwiększa ryzyko kolonizacji badanych zwierząt przez CoNS. Dotychczas jako główne zagrożenie związane ze środowiskiem szpitalnym wskazywano *S. aureus*, tymczasem powinno być ono postrzegane również jako rezerwuar gronkowców koagulazo-ujemnych. Spośród gronkowców produkujących koagulazę, *Staphylococcus pseudintermedius* izolowany był częściej od kotów, które były leczone w ostatnim roku. Nie wykazano natomiast związku między izolacją *S. aureus* od badanych zwierząt a sprawdzanymi czynnikami ryzyka. Pozostaje to w kontraście z doniesieniami o tym, że gronkowiec złocisty jest najgroźniejszym związanym z zakażeniami szpitalnymi gatunkiem z rodzaju *Staphylococcus* (Weese i wsp., 2006; Kisani i wsp., 2016; Churak i wsp., 2021). Rośnie także liczba dowodów, że źródłem wysoce patogennych drobnoustrojów są zakłady lecznicze dla zwierząt (w tym te z oddziałami szpitalnymi) (Paul i wsp., 2011; van Duijkeren i wsp., 2011 (b); Espadale i wsp., 2018; Feßler i wsp., 2018; Worthing i wsp., 2018 (b); Tabatabaei i wsp., 2019). Rezultaty tego badania dowodzą, że nie

tylko CoPS, lecz także CoNS mogą być przenoszone z placówek weterynaryjnych do gospodarstw domowych oraz pomiędzy ludźmi i zwierzętami. Szczegółowa analiza genetyczna szczepów gronkowców pochodzących od ludzi oraz towarzyszących im zwierząt domowych może być implikacją do dalszych badań. Nie ulega wątpliwości, że wiedza na temat szczepów wielolekoopornych i kierunku ich ewoluowania, dystrybucji na danym obszarze geograficznym i zakresu substancji, na które pozostają niewrażliwe jest niezbędną dla zapewnienia prawidłowych decyzji terapeutycznych, zarówno z perspektywy lekarzy medycyny, jak i weterynarii. Jest to również konieczne z punktu widzenia ochrony zdrowia publicznego, tworzenia bieżących strategii profilaktyki, monitorowania i kontroli rozprzestrzeniania się groźnych patogenów.

Czynniki ryzyka związane z kolonizacją zwierząt przez gronkowce

Rezultaty badania własnego wskazują, że bliski kontakt pomiędzy zwierzętami i ich opiekunami jest istotnym czynnikiem ryzyka kolonizacji przez gronkowce, zarówno ludzi od zwierząt jak i odwrotnie. Jest to powszechnie znana z literatury zależność (Soares Magalhães i wsp., 2010; Elmoslemany i wsp., 2021; Li i wsp., 2021; Moon i wsp., 2022 (a); Moon i wsp., 2022 (b); Rana i wsp., 2022; Røken i wsp., 2022). Wyniki analiz własnych wskazują, że obecność w domu dzieci poniżej 12 roku życia związana jest z częstszą izolacją *S. aureus* od psów. Przyczyną takiego stanu może być utrzymywanie przez dzieci bliskiego, fizycznego kontaktu z psami (głaskanie, podawanie pokarmu, spanie w jednym łóżku, zabawa) przy jednoczesnym zachowaniu niewystarczających standardów higienicznych. Małe dzieci dopiero uczą się jak prawidłowo i jak często myć ręce oraz, że całowanie psa w pysk i jedzenie z jego miski może mieć swoje konsekwencje zdrowotne. Prawdopodobnie, *S. aureus* bytujący na błonach śluzowych i skórze dzieci podczas takiego kontaktu jest przenoszony na zwierzę. Wniosek ten koresponduje ze znaną literaturą przedmiotu (van Duijkeren i wsp., 2011 (b); Kwaszewska i wsp., 2015; Bierowiec i wsp., 2016 (a); Lozano i wsp., 2017; Ference i wsp., 2019). *Staphylococcus pseudintermedius* to gatunek powszechnie kolonizujący psy na całym świecie (Kuan i wsp., 2017; Corrà i wsp., 2018; Ference i wsp., 2019), co znajduje odzwierciedlenie w efektach tego badania. Wykazano dodatkowo, że gatunek ten był częściej izolowany od psów, które miały kontakt z innymi zwierzętami, co sugeruje, że spotkania np. na spacerach czy w psich parkach zabaw, sprzyjają szerzeniu tych gronkowców między psami. Co zaskakujące, koty, które miały możliwość swobodnego wychodzenia z domu, częściej były nosicielami *S. xylosum* niż koty niewychodzące (przebywające wyłącznie w domu). Sugeruje to, że mikrobiota tych dwóch grup kotów może się różnić, jak zostało wcześniej opisane przez Older i wsp. (2019). Wyjaśnieniem może być fakt, że koty swobodnie wychodzące do środowiska zewnętrznego mają większą możliwość zetknięcia się tam z innymi

zwierzętami, ludźmi oraz samą okoliczną przyrodą i zabudowaniami. Ponadto, analiza czynników ryzyka wykazała, że koty i psy utrzymywane w gospodarstwie domowym jako jedyne częściej były nosicielami odpowiednio *S. warneri* i *S. felis*. Jest to szczególnie interesujące, ponieważ *S. felis* to gatunek charakterystyczny dla kotów, a nie psów (Becker i wsp., 2014; Elnageh i wsp., 2021). Być może *S. warneri* i *S. felis* gorzej tolerują konkurencję z innymi, licznie występującymi u zwierząt żyjących w grupach gatunkami *Staphylococcus spp.* i z tego powodu obserwowane są częściej u osobników mieszkających indywidualnie. Jest to jednak kwestia warta rozszerzenia w dalszych badaniach, ponieważ dysproporcja badanych grup mogła mieć wpływ na uzyskane rezultaty. Natomiast kolonizacja zwierząt zamieszkujących w grupach przez większą liczbę gatunków gronkowców sugeruje zachodzenie transmisji bakterii między żyjącymi wspólnie zwierzętami.

Czynniki ryzyka związane z kolonizacją ludzi i zwierząt przez *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus pseudintermedius*

Jak wskazuje literatura, niektóre grupy ludzi i zwierząt są bardziej narażone na kolonizację i wystąpienie zakażeń wywołanych przez gronkowce. Wysokie ryzyko opisuje się u noworodków i dzieci do 6 miesiąca życia oraz tych, które były hospitalizowane lub miały wykonywane inwazyjne procedury medyczne (Ilcyszyn i wsp., 2016). Również bliskość i częstość kontaktu ze zwierzętami domowymi, wykształcane dopiero nawyki higieniczne, bezpośredni kontakt z wyposażeniem placówek opiekuńczych lub placów zabaw (eksplorowanie organoleptyczne) przemawiają za tym, że dzieci są grupą szczególnego ryzyka, mając dodatkowo na uwadze ich rozwijający się układ odpornościowy. W przypadku osób dorosłych jako czynniki ryzyka wymienia się stany immunosupresji, występowanie atopii, wykonywanie zawodu związanego z przebywaniem w środowisku szpitalnym lub własną hospitalizację i przyjmowanie antybiotyków (Faires i wsp., 2009; Kottler i wsp., 2010; Soares Magalhães i wsp., 2010; Cuny i wsp., 2022; Ferradas i wsp., 2022; Lai i wsp., 2022; Souza-Silva i wsp., 2022). W badaniu własnym niektóre z wymienionych czynników - leczenie badanych w ostatnim roku czy przyjmowanie w tym czasie antybiotyków - związane były z sześciokrotnie częstszą izolacją MRSP. Na poziomie tendencji statystycznej, występowanie MRSP u zwierząt miało związek z przyjmowaniem przez zwierzę antybiotyków w ciągu ostatniego roku oraz wcześniejszym stwierdzeniem u domownika zakażenia gronkowcem (potwierdzonym wynikiem laboratoryjnym). W odniesieniu do *S. aureus*, czynniki ryzyka, takie jak leczenie zwierzęcia w ciągu ostatniego roku oraz przyjmowanie przez nie w tym czasie antybiotyków związane były z częstszą izolacją MRSA. Na poziomie tendencji statystycznej, obecność wypływu z nosa zwiększała szanse izolacji MRSA 19-krotnie.

Wielu autorów podkreśla, że istotnie częściej zakażane są osoby mające kontakt ze zwierzętami, zwłaszcza z psami, a niekiedy również osoby mające koty (Somayaji i wsp., 2016 (a); Robb i wsp., 2017; Diaz i wsp., 2019; Ference i wsp., 2019; Krapf i wsp., 2019). U osób mających bliski kontakt z psami jako naturalnymi nosicielami *S. pseudintermedius*, coraz częściej odnotowywane są przypadki kolonizacji oraz zakażeń powodowanych przez ten gatunek (van Duijkeren i wsp., 2011 (b); Chrobak i wsp., 2013; Kuan i wsp., 2016; Somayaji i wsp., 2016 (a); Robb i wsp., 2017; Kmiecik i Szewczyk, 2018). Zaobserwowano również związek pomiędzy bliskim kontaktem z ludźmi a wyższym ryzykiem kolonizacji kotów przez *S. aureus* (Bierowiec i wsp., 2016 (a)). W związku z powyższym, współdzielenie miejsca zamieszkania przez ludzi i zwierzęta domowe, takie jak psy i koty, oraz utrzymywanie bliskiego kontaktu fizycznego (np. głaskanie, przytulanie, całowanie, spanie w jednym łóżku) stwarzają możliwość przenoszenia patogenów pomiędzy organizmami (Bierowiec i wsp., 2016 (a); Quekwana i wsp., 2017; Elmoslemany i wsp., 2021; Feßler i wsp., 2022; Rana i wsp., 2022; Burke i Santoro, 2023). Obecnie zwraca się szczególną uwagę na aspekt potencjalnej transmisji zjadliwych patogenów między ludźmi i zwierzętami, które postrzegane są jako ich rezerwuar (Quekwana i wsp., 2017; Jung i wsp., 2020; Elmoslemany i wsp., 2021; Li i wsp., 2021; Feßler i wsp., 2022; Haulisah i wsp., 2022; Moon i wsp., 2022 (a); Moon i wsp., 2022 (b); Yaovi i wsp., 2022). Podejrzewa się także, że to ludzie mogą być pierwotnym źródłem MRSA izolowanych od zwierząt domowych, a one mogą pełnić rolę kolejnego rezerwuaru tych klonów (Haenni i wsp., 2017). Wykazano bowiem, że typy klonalne gronkowców złocistych (CC – clonal complex) obserwowane dotychczas z przypadków HA-MRSA u ludzi krążą w populacji psów i kotów (Soares Magalhães i wsp., 2010; Haeni i wsp., 2017). Osoby będące nosicielami *S. aureus* stanowią także źródło zakażenia dla innych ludzi poprzez kontakt bezpośredni, współdzielenie przedmiotów osobistych, zanieczyszczenie żywności oraz często używane przedmioty takie jak kłamki (Rasheed i Hussein, 2021). Stanowią również zagrożenie dla samych siebie - nawet bezobjawowa kolonizacja *S. aureus* zwiększa ryzyko zakażenia danej okolicy, jeśli będzie ona w przyszłości osłabiona (na przykład poprzez zabieg operacyjny), ale także zwiększa ryzyko wystąpienia zakażeń dolnych dróg oddechowych czy bakteriemii (Szymanek-Majchrzak i wsp., 2019; Rasheed i Hussein, 2021).

Z przeprowadzonych analiz wynika, że im większa była liczba kotów w domu, tym szanse na wystąpienie MRSP były większe. Może to być efektem zachodzącego pomiędzy szczepami horyzontalnego transferu genów, co w licznych populacjach zwierząt może zachodzić częściej niż w niewielkich. Ponadto, stanowi to ryzyko szerzenia czynników zjadliwości dwukierunkowo również między ludźmi i zwierzętami. Dodatkowo, gdy zwierzęta pochodziły z hodowli szanse na wystąpienie MRSP malały o 91%, natomiast gdy pochodziły z innego źródła (przez co rozumiano m.in. adopcję od znajomych, podarowanie przez kogoś, ale nie pochodzenie ze schroniska ani fundacji) szanse na wystąpienie oporności na metycylinę

wzrastały ponad 11-krotnie. Prawdopodobnie jest to efektem tego, że przestrzenie hodowli, w których bytują zwierzęta rasowe z założenia powinny spełniać pewne standardy higieny, dezynfekcji i dbałości o czystość, o czym nie może być mowy w przypadku, gdy zwierzę jest bezdomne i ma nieograniczony kontakt z wszelkimi patogenami, które znajdują się w środowisku zewnętrznym.

Problematyka przenoszenia gronkowców z zoonotycznego rezerwuaru, jaki stanowią zwierzęta domowe na ich opiekunów (Władyka i wsp., 2015), jest szczególnie istotna, biorąc pod uwagę wyraźną zmianę zachodzącą w ostatnich latach w podejściu ludzi do zwierząt towarzyszących. Liczbę zwierząt współzamieszkujących z ludźmi szacowano w ostatnich latach w zależności od kraju nawet na 124 miliony, przy czym w Polsce w 2021 roku wartość ta wyniosła ponad 20 mln (Haenni i wsp., 2017; Jung i wsp., 2020; Euromonitor International, 2021; Cuny i wsp., 2022). Opiekunowie coraz częściej deklarują nie tylko utrzymywanie w domu psa lub kota, lecz przejawiają emocjonalne przywiązanie do zwierzęcia i traktują je jak równoprawnego członka rodziny (Faires i wsp., 2009; Cognosco Sp. z o.o., 2017). W związku z tym, wielu z nich (nawet 82%) utrzymuje codzienny, bliski fizyczny kontakt ze zwierzęciem (Bierowiec i wsp., 2016 (b); Daodu i wsp., 2016; Yaovi i wsp., 2022). W badaniu własnym, wszystkie zwierzęta miały bezpośredni kontakt z domownikami – albo częsty i bliski (codzienne, regularne podawanie pokarmu, przytulanie, głaskanie, spanie w jednym łóżku) lub sporadyczny i bliski (czynności wymienione wcześniej, ale mające miejsce rzadziej – na przykład raz na kilka dni lub tygodni). Współdzielenie przez ludzi gospodarstwa domowego, a czasami nawet jednego łóżka ze zwierzętami może być czynnikiem sprzyjającym międzygatunkowej transmisji gronkowców (Faires i wsp., 2009; Soares Magalhães i wsp., 2010; Elmoslemany i wsp., 2021; Li i wsp., 2021; Feßler i wsp., 2022; Rana i wsp., 2022; Røken i wsp., 2022).

Również osoby, które z powodu wykonywanego zawodu utrzymują bliski kontakt ze zwierzętami – lekarze i studenci weterynarii, weterynaryjny personel pomocniczy, zootechnicy, groomerzy czy behawiorysty mają częstą styczność z patogenami pochodzącymi od zwierząt (Kottler i wsp., 2010; Jung i wsp., 2020; Elmoslemany i wsp., 2021; Abusleme i wsp., 2022; Thomson i wsp., 2022; Sebola i wsp., 2023). Praca związana z kontaktem ze zwierzętami raportowana jest w ostatnich latach jako istotny czynnik ryzyka kolonizacji przez *S. aureus*. Badacze podkreślają, że lekarze weterynarii i pozostały personel lecznic weterynaryjnych są zatem bardziej narażeni na zakażenie niż właściciele zwierząt (Elmoslemany i wsp., 2021; Moon i wsp., 2022 (a); Moon i wsp., 2022 (b); Sebola i wsp., 2023). Co ciekawe, rezultaty tego badania wykazały, że studiowanie przez osoby badane kierunku medycznego wiązało się z mniejszą o 84% szansą izolacji MRSP, natomiast w przypadku kierunku związanego z kontaktem ze zwierzętami (np. medycyna weterynaryjna, zootechnika i inne) szanse rosły sześciokrotnie. Sugeruje to, że szczepy MRSP bytujące u tych ludzi biorą

swoje źródło u zwierząt, z którymi mają oni kontakt podczas studiów. W odniesieniu do szczepów MRSA nie potwierdzono, aby osoby wykonujące zawód związany z kontaktem ze zwierzętami były kolonizowane częściej niż inne. Jednak w przypadku wielolekoopornych izolatów *S. aureus*, szanse ich wystąpienia rosły, jeśli któryś z domowników wykonywał pracę w bezpośrednim kontakcie ze zwierzętami. Przedstawione dane sugerują, że obecność zwierząt w życiu ludzi, współdzielenie gospodarstwa domowego, a także utrzymywanie ze zwierzętami bliskiego i częstego kontaktu fizycznego mogą stanowić istotny czynnik ryzyka kolonizacji ludzi przez patogeny odzwierzęce, w tym *S. aureus* i *S. pseudintermedius*. Ekspozycja na bakterie oportunistyczne jest też zwiększona u osób wykonujących pracę w sektorze ochrony zdrowia m.in. lekarzy, pielęgniarek czy salowych (Kottler i wsp., 2010; Szymanek-Majchrzak i wsp., 2019; Saud i wsp., 2023; Seboła i wsp., 2023). Ta opisywana w literaturze tendencja nie znalazła jednak odzwierciedlenia w wynikach badań własnych.

Wnioski płynące z przeglądu literatury wskazują, że zakażenia gronkowcowe stanowią poważny problem na całym świecie, w związku z czym podlegają obserwacjom i kontroli WHO czy CDC, a także odpowiednich instytucji na poziomie krajowym (Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 grudnia 2011 r. w sprawie listy czynników alarmowych, rejestrów zakażeń szpitalnych i czynników alarmowych oraz raportów o bieżącej sytuacji epidemiologicznej szpitala (Dz. U. 2011 nr 294 poz. 1741; CDC, 2019). W statystykach międzynarodowych, zakażeniom szpitalnym ulega 5-10% hospitalizowanych pacjentów, co w odniesieniu do polskich warunków może stanowić kilkaset tysięcy osób rocznie (Szewczyk, 2019). W Ameryce na 94 tysiące przypadków zakażeń MRSA, śmierć z nimi związaną poniosło aż 18 650 osób, a najwyższą częstość zakażeń szpitalnych MRSA odnotowuje się w Azji, sięga bowiem aż 70% (Fitrandi i wsp., 2023). Na podstawie danych dotyczących obszaru Unii Europejskiej, autorzy szacują, że MRSA powoduje 150 tysięcy zakażeń rocznie oraz związanych z nimi 7 tysięcy zgonów (Røken i wsp., 2022). Regularny, bliski kontakt ludzi i zwierząt na gruncie zawodowym i prywatnym sprzyja transmisji drobnoustrojów, a wraz z nimi determinant zjadliwości. Monitorowanie epidemiologii szczepów, znajomość prewalencji izolatów AMR jest konieczna w perspektywie medycyny człowieka i medycyny weterynaryjnej dla zapewnienia możliwości kształtowania programów profilaktycznych, podejmowania właściwych decyzji terapeutycznych i tworzenia strategii zwalczania tego zjawiska (Faires i wsp., 2009; Soares Magalhães i wsp., 2010; Gómez-Beltrán i wsp., 2020; Li i wsp., 2021; Abusleme i wsp., 2022; Adiguzel i wsp., 2022).

Autorka rozprawy ma świadomość, że przedstawiona dyskusja wyników nie wyczerpuje podejmowanego tematu. Wiele interesujących wątków, mających źródło w wynikach badań własnych, mogłoby zostać rozwiniętych i pogłębionych, a te, które zostały podjęte mogą mieć także inne oblicza interpretacyjne, niż wskazane przez autorkę. Refleksje na ten temat mogą w przyszłości posłużyć jako inspiracja i wstęp do dalszej eksploracji tematu.

Ograniczenia badania

Przeprowadzone badanie nie było pozbawione mankamentów, zatem zasadne jest przedstawienie autorefleksji nad uchwyconymi niedoskonałościami. W dalszej części zostaną wymienione i scharakteryzowane ograniczenia badania.

Po pierwsze, z powodu nieproporcjonalnie dużej liczby prób pochodzących od kotów zdrowych, utrudnione jest porównywanie prewalencji gronkowców u nich oraz pozostałych grup badanych zwierząt. Niskie wartości mogą być spowodowane niewielką liczbą osobników badanych w pozostałych grupach. Nierównoliczność badanych grup ludzi również stanowi pewne ograniczenie badania – większość uczestników posiadała w domu zwierzę, a w badaniu wzięło udział relatywnie mało dzieci. Wskazane byłoby uzupełnienie grup i rozszerzenie projektu celem pozyskania pełnych danych na temat kolonizacji ludzi przez gronkowce. Wpłynęłoby to również pozytywnie na wyniki analiz czynników ryzyka w odniesieniu do badanych osób. Charakter badania i jednorazowe pobieranie materiału mikrobiologicznego nie pozwoliły także na określenie, czy badani byli nosicielami tymczasowymi czy stałymi tych bakterii. Jest to aspekt wart pogłębienia.

Z powodu znacznej liczby uzyskanych szczepów, dla gronkowców koagulazo-ujemnych nie wykonano dodatkowych oznaczeń lekooporności na poziomie fenotypowym oraz genetycznym. W związku z tym niewiadomą pozostaje to, jaką oporność na pozostałe chemioterapeutyki przeciwdrobnoustrojowe te gronkowce prezentują, a jest to bardzo interesujące zagadnienie ze względu na powszechne występowanie tych bakterii u ludzi i zwierząt.

Kolejnym aspektem jest testowanie oporności na metycylinę metodą MIC dla szczepów CoNS, które przeprowadzono w oparciu o wytyczne CLSI (CLSI document M100:ED31:2021; CLSI supplement VET01S ED6:2023). Zgodnie z nimi, niektóre gatunki *Staphylococcus spp.* (z wyłączeniem *S. aureus*, *S. lugdunensis*, *S. epidermidis*, *S. pseudintermedius* i *S. schleiferi*), które osiągnęły wartości graniczne oporności w metodzie MIC (0,5-2 µg/mL) mogą nie posiadać genu *mecA*, w związku z czym powinny być weryfikowane również pod tym względem. Jeśli nie wykaże się obecności genu *mecA* lub PBP2a, powinny być one raportowane jako wrażliwe na oksacylinę (metycylinę). W tym badaniu wymienione wyżej dodatkowe metody nie były dla tych izolatów wykonywane. Biorąc pod uwagę powyższe, wskazane byłoby dodatkowe wykonanie wspomnianych analiz i uzyskanie kompletnych wyników badania oporności. Ponadto, nie testowano lekooporności szczepów CoNS pochodzących od ludzi. Zdaniem autorki jest to jeden z ciekawszych poznawczo wątków, które zasługują na dalsze eksplorowanie w zależności od dostępnych źródeł finansowania. Perspektywicznie, porównanie rezultatów opisanych dla zwierząt, z wykonanymi w przyszłości dla szczepów

pochodzących od człowieka stanowiłoby cenny wkład w wiedzę na temat zjadliwości tych powszechnie występujących u ludzi i zwierząt bakterii.

Czynnikiem ograniczającym interpretację wyników badania jest również fakt, że dla szczepów *S. aureus* wykonano typowanie tylko metodą *spa*. Zdaniem autorki, zastosowanie dodatkowych metod, np. MLST (ang. Multi-Locus Sequence Typing) umożliwiłoby stworzenie pełniejszej charakterystyki badanych izolatów. Jest to zatem wskazówka, którą warto wykorzystać na potrzeby badań prowadzonych w przyszłości. Obecność u ludzi oraz psów i kotów typów *spa* gronkowców złocistych izolowanych wcześniej głównie od zwierząt-producentów żywności, z produktów spożywczych oraz od dzikich zwierząt wskazuje na transmisję międzygatunkową w szerokim zakresie. To bardzo interesujący aspekt, wart dalszej eksploracji w przyszłości.

Podczas interpretacji i dyskusji wyników badania zauważono, że uzupełnienie kwestionariuszy wypełnianych przez właścicieli zwierząt o pewne kwestie byłoby wartościowym dopełnieniem pozyskanych dotychczas informacji. Jak wspomniano wcześniej, bez wiedzy na temat wcześniejszej styczności badanych psów (lub ich właścicieli) z kotami (bezpośrednio lub poprzez kontakty właściciela), nie można jednoznacznie stwierdzić, czy były one nosicielami *S. felis* pierwotnie, czy nosicielstwo to powstało wskutek transmisji od kota. Oczywiście nie w każdym przypadku pytanie o możliwość kontaktu z kotem kiedykolwiek przed udziałem w badaniu pozwoli na wyciągnięcie klarownych wniosków. Przeszłość zwierzęcia może być bowiem nieznana w przypadku osobników adoptowanych czy znalezionych. Aczkolwiek, weryfikacja tego pomysłu w odniesieniu do zwierząt, których przeszłość jest właścicielom w pełni znana byłaby interesująca i być może pozwoliłaby odpowiedzieć na nurtujące pytania o prawdopodobne pochodzenie niektórych gatunków gronkowców u badanych zwierząt.

Implikacje praktyczne

Monitorowanie epidemiologii bakterii z rodzaju *Staphylococcus* i bieżące formułowanie wytycznych postępowania profilaktycznego, diagnostycznego i terapeutycznego nadal pozostają wyzwaniem dla badaczy. Rezultaty badań realizowanych w ramach projektu doktorskiego pozostawiają więcej pytań niż odpowiedzi i można przyjąć krytyczną postawę wobec pozyskanych wyników. Jednak uwzględniając z pokorą wyżej wymienione ograniczenia, można przyjąć, że efekty tej pracy pozwalają na lepsze poznanie samych gronkowców oraz na sformułowanie kilku wniosków praktycznych.

W pierwszej kolejności – uzyskana z badań wiedza to skromny, ale jednak - wkład do wiedzy o epidemiologii bakterii z rodzaju *Staphylococcus* u ludzi i zwierząt, które najczęściej towarzyszą im w codziennym życiu. Wykorzystanie tej wiedzy może mieć kluczowe znaczenie

podczas formułowania wytycznych postępowania diagnostycznego w laboratoriach mikrobiologicznych. Na szczególną uwagę w tym aspekcie zasługuje wysoki stopień oporności na metycylinę szczepów CoNS. W kontekście przypadków bagatelizowania obecności tych bakterii przez laboratoria komercyjne podczas hodowli, skłania to do refleksji nad wykorzystywanymi algorytmami diagnostycznymi. Jak wspomniano w części teoretycznej rozprawy, w przypadkach izolacji z materiału klinicznego jedynie gronkowców koagulazoujemnych, często nie są one uwzględniane ani w sprawozdaniu z badania, które otrzymuje pacjent, ani tym bardziej nie jest dla nich wykonywany antybiogram. Czy możemy być pewni, że widoczne na szalce Petriego gronkowce koagulazo-ujemne pozostają bez wpływu na stan kliniczny pacjenta i mogą być zignorowane? Pytanie to pozostaje otwarte. Zważywszy na poziom ich metycylinooporności nie wydaje się być to właściwym rozwiązaniem. Zdaniem autorki, w przypadkach, gdy materiał pochodzi od pacjenta z objawami zakażenia (a więc lekarz i pacjent oczekują na wynik celem zastosowania właściwego leczenia), wskazane byłoby przynajmniej rutynowe weryfikowanie oporności wyizolowanych szczepów CoNS. Wówczas, taka informacja byłaby podstawą do podjęcia decyzji o wprowadzeniu leczenia chemioterapeutykami przeciwdrobnoustrojowymi. Jednocześnie, pomogłoby to ograniczyć niecelowe stosowanie tych substancji tzw. metodą „w ciemno” (bez antybiogramu), a tym samym przyczyniłoby się, nawet jeśli tylko w niewielkim stopniu, do zahamowania rozwoju oporności drobnoustrojów. Ostatecznie, właściwie dobrane leczenie skróci czas zdrowienia pacjenta, poprawiając nie tylko jego samopoczucie, lecz także satysfakcję lekarza ze skutecznego postępowania.

Aktualna wiedza na temat oporności gronkowców koagulazo-dodatnich może stanowić przydatną wskazówkę dla klinicyстів w przypadkach, gdy nie ma możliwości wykonania antybiogramu lub oczekiwania na jego wynik przed podaniem chemioterapeutyku przeciwdrobnoustrojowego. Taka sytuacja może mieć miejsce m.in., gdy konieczne jest natychmiastowe wdrożenie leczenia lub gdy właściciel zwierzęcia znajduje się w trudnej sytuacji finansowej i w danym momencie nie może pozwolić sobie na dodatkowy wydatek rzędu kilkudziesięciu złotych. Z takimi przypadkami mierzą się niestety na co dzień lekarze weterynarii. Wówczas wiedza na temat skali oporności tych bakterii na powszechnie stosowane leki tzw. pierwszego wyboru pozwoli na ocenę, który lek będzie właściwy w danej sytuacji.

Rezultaty tego badania przyniosły implikacje praktyczne także w zakresie metodologii badań w poruszonym obszarze. Wnioski płynące z dyskusji wyników i analizy badania jako całości potwierdzają, że m.in. MALDI-TOF MS to relatywnie szybka w wykonaniu i skuteczna metoda identyfikacji drobnoustrojów, co przemawia za dalszym jej stosowaniem w badaniach. Niektóre, przytoczone wyżej ograniczenia badania również stanowią wskazówki do planowania i organizacji projektów badawczych w przyszłości. Celowe wydaje się zwrócenie

szczególnej uwagi na liczebność grup badanych, dobór badanych do próby, uwzględnienie dodatkowych metod badawczych czy określonych pytań w kwestionariuszach. Efekty badania mogą być wówczas bardziej satysfakcjonujące.

11. Wnioski

1. Gronkowce występują powszechnie u ludzi i zwierząt, a najczęściej izolowane w badanej populacji ludzi są *S. epidermidis* i *S. aureus*, u kotów *S. felis* i *S. epidermidis* oraz *S. pseudintermedius* i *S. epidermidis* u psów.
2. Wśród badanych szczepów *S. aureus* i *S. pseudintermedius* dominuje oporność na penicylinę, ampicylinę, klindamycynę, erytromycynę oraz amoksycylinę z kwasem klawulanowym, co stanowi ważną wskazówkę dla klinicystów przy podejmowaniu decyzji terapeutycznych.
3. Wysoka częstość izolacji metycylinoopornych gronkowców koagulazo-ujemnych od zwierząt najczęściej utrzymywanych w domach (psów i kotów) wskazuje na wysokie ryzyko międzygatunkowej transmisji tych bakterii oraz istotne zagrożenie dla zdrowia człowieka.
4. Znaczny odsetek szczepów *S. aureus* i *S. pseudintermedius* posiadających geny *vanA* i *vanB* wskazuje na międzygatunkowe rozprzestrzenianie się genów oporności i konieczność monitorowania ich obecności u powszechnie występujących gatunków bakterii.
5. Celem prawidłowego prowadzenia terapii zakażeń bakteryjnych, niezbędne jest wykonywanie badań lekowrażliwości szczepów, nie tylko CoPS, lecz także CoNS i postępowanie kliniczne zgodnie z wynikiem badania.
6. Pobieranie wymazów bakteriologicznych z kilku lokalizacji anatomicznych jednocześnie może zwiększać czułość wykrywania obecności gronkowców u ludzi i zwierząt.
7. Obecność u ludzi oraz psów i kotów typów *spa* gronkowców złocistych izolowanych wcześniej głównie od zwierząt-producentów żywności, z produktów spożywczych oraz od dzikich zwierząt wskazuje na transmisję międzygatunkową w szerokim zakresie.
8. Zawód o charakterze medycznym (zarówno ludzkim, jak i weterynaryjnym) właściciela zwierzęcia, jego hospitalizacja w ciągu ostatniego roku, a także leczenie badanego zwierzęcia w ostatnim roku to czynniki ryzyka izolacji gatunków CoNS od badanych zwierząt.
9. Leczenie w ostatnim roku było czynnikiem ryzyka kolonizacji kotów przez *Staphylococcus pseudintermedius*.
10. Zwierzęta zamieszkujące w grupach były kolonizowane przez większą liczbę gatunków gronkowców, co sugeruje zachodzenie transmisji bakterii między żyjącymi wspólnie zwierzętami.

11. Bliski kontakt pomiędzy zwierzętami i ich opiekunami jest istotnym czynnikiem ryzyka kolonizacji przez gronkowce, zarówno ludzi od zwierząt jak i odwrotnie.
12. Dla zachowania stanu zdrowia niezbędna jest dbałość o higienę i przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa w kontakcie ze zwierzętami domowymi oraz edukacja i uwrażliwianie na nie dzieci. W procesie tym istotną rolę mogą odgrywać lekarze medycyny oraz lekarze weterynarii edukując swoich pacjentów i ich opiekunów.

PIŚMIENICTWO

- Abdel-Moein, K. A. i Zaher, H. M. (2020). The Nasal Carriage of Coagulase-Negative Staphylococci Among Animals and Its Public Health Implication. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 20(12), 897–902. <https://doi.org/10.1089/vbz.2020.2656>
- Abdullahi, I. N., Zarazaga, M., Campaña-Burguet, A., Eguizábal, P., Lozano, C. i Torres, C. (2022). Nasal *Staphylococcus aureus* and *S. pseudintermedius* carriage in healthy dogs and cats: a systematic review of their antibiotic resistance, virulence and genetic lineages of zoonotic relevance. *Journal of applied microbiology*, 133(6), 3368–3390. <https://doi.org/10.1111/jam.15803>
- Abidemi Ayeni, F. (2019). Prevalence, Diagnosis and Local Susceptibility of Staphylococci Infections. *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.74619
- Abusleme, F., Galarce, N., Quezada-Aguiluz, M., Iragüen, D. i González-Rocha, G. (2022). Characterization and antimicrobial susceptibility of coagulase-positive *Staphylococcus* isolated in a veterinary teaching hospital in Chile. *Revista Argentina de microbiología*, 54(3), 192–202. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.12.001>
- Adiguzel, M. C., Schaefer, K., Rodriguez, T., Ortiz, J. i Sahin, O. (2022). Prevalence, Mechanism, Genetic Diversity, and Cross-Resistance Patterns of Methicillin-Resistant *Staphylococcus* Isolated from Companion Animal Clinical Samples Submitted to a Veterinary Diagnostic Laboratory in the Midwestern United States. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(5), 609. <https://doi.org/10.3390/anti-biotics11050609>
- Afshari, A., Taheri, S., Hashemi, M., Norouzy, A., Nematy, M. i Mohamadi, S. (2022). Methicillin- and Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Vancomycin-Resistant Enterococci Isolated from Hospital Foods: Prevalence and Antimicrobial Resistance Patterns. *Current microbiology*, 79(11), 326. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-03022-0>
- Al-Amery, K., Elhariri, M., Elsayed, A., El-Moghazy, G., Elhelw, R., El-Mahallawy, H., El Hariri, M. i Hamza, D. (2019). Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from camel meat and slaughterhouse workers in Egypt. *Antimicrobial resistance and infection control*, 8, 129. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0585-4>
- Al-Hassnawi, H.H., Al-Charrakh, A.H. i Al-Khafaji, J.K. (2013). Occurrence of *mecA*, *SCCmec IV*, *pvl*, *lukED* Genes in Community Acquired Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) from Hilla/Iraq. *Medical Journal of Babylon*, 10(1):179-191.
- Alonzo, F., 3rd, Benson, M. A., Chen, J., Novick, R. P., Shopsin, B. i Torres, V. J. (2012). *Staphylococcus aureus* leucocidin ED contributes to systemic infection by targeting neutrophils and promoting bacterial growth in vivo. *Molecular microbiology*, 83(2), 423–435. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2011.07942.x>
- Alonzo, F. i Torres, V. (2013). A lesson in survival: *S. aureus* versus the skin. *Cell Host Microbe*, 13, 35.
- Alonso-Valle, H., Fariñas-Alvarez, C., García-Palomo, J. D., Bernal, J. M., Martín-Durán, R., Gutiérrez Díez, J. F., Revuelta, J. M. i Fariñas, M. C. (2010). Clinical course and predictors of death in prosthetic valve endocarditis over a 20-year period. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 139(4), 887–893. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2009.05.042>
- Andrade, M., Oliveira, K., Morais, C., Abrantes, P., Pomba, C., Rosato, A. E., Couto, I. i Costa, S.S. (2022). Virulence Potential of Biofilm-Producing *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus coagulans* Causing Skin Infections in Companion Animals. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(10), 1339. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101339>
- Argemi, X., Hansmann, Y., Prola, K. i Prévost, G. (2019). Coagulase-Negative Staphylococci Pathogenomics. *Int J Mol Sci.*, 20(5):1215. doi:10.3390/ijms20051215
- Ayeni, F. A., Ruppitsch, W. i Allerberger, F. (2018). Molecular characterization of clonal lineage and staphylococcal toxin genes from *S. aureus* in Southern Nigeria. *PeerJ*, 6, e5204. <https://doi.org/10.7717/peerj.5204>

- Baddour, L. M., Barker, L. P., Christensen, G. D., Parisi, J. T. i Simpson, W. A. (1990). Phenotypic variation of *Staphylococcus epidermidis* in infection of transvenous endocardial pacemaker electrodes. *Journal of clinical microbiology*, 28(4), 676–679. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.4.676-679.1990>
- Banaszkiewicz, S., Tabiś, A., Wałęcki, B., Łyżwińska, K., Bystroń, J. i Bania, J. (2023). spa Types and Staphylococcal Enterotoxin Production of *Staphylococcus aureus* Isolated from Wild Boar. *Microbial ecology*, 10.1007/s00248-023-02236-4. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02236-4>
- Barbuti, M. D., Myrbråten, I. S., Morales Angeles, D. i Kjos, M. (2023). The cell cycle of *Staphylococcus aureus*: An updated review. *MicrobiologyOpen*, 12(1), e1338. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1338>
- Bean, D.C. i Wigmore, S.M. (2016). Carriage rate and antibiotic susceptibility of coagulase-positive staphylococci isolated from healthy dogs in Victoria, Australia. *Aust Vet J*, doi: 10.1111/avj.12528
- Becker, K., Heilmann, C. i Peters, G. (2014). Coagulase-negative staphylococci. *Clinical microbiology reviews*, 27(4), 870–926. <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>
- Becker, K., Schaumburg, F., Fegeler, C., Friedrich, A. W., Köck, R. i Prevalence of Multiresistant Microorganisms PMM Study (2017). *Staphylococcus aureus* from the German general population is highly diverse. *International journal of medical microbiology: IJMM*, 307(1), 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2016.11.007>
- Benjamini, Y. i Hochberg, Y. (1995). Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, 57(1), 289–300. <http://www.jstor.org/stable/2346101>
- Bierowiec, K., Korzeniowska-Kowal, A., Wzorek, A., Rypuła, K. i Gamian, A. (2019). Prevalence of *Staphylococcus* Species Colonization in Healthy and Sick Cats. *BioMed research international*, 2019, 4360525. <https://doi.org/10.1155/2019/4360525> - (a)
- Bierowiec, K., Miszczak, M., Biskupska, M., Korzeniowska-Kowal, A., Tobiasz, A., Rypuła, K. i Gamian, A. (2019). Prevalence of *Staphylococcus pseudintermedius* in cats population in Poland. Abstracts / *International Journal of Infectious Diseases*, 79(S1): 70-71 - (b)
- Bierowiec, K., Płoneczka-Janeczko, K. i Rypuła, K. (2014). Cats and dogs as a reservoir for *Staphylococcus aureus*. *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej* (Online). 68. 992-7. [10.5604/17322693.1117546](https://doi.org/10.5604/17322693.1117546).
- Bierowiec, K., Płoneczka-Janeczko, K. i Rypuła, K. (2016). Is the Colonisation of *Staphylococcus aureus* in Pets Associated with Their Close Contact with Owners? *PloS one*, 11(5), e0156052. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156052>
- 2 - (a)
- Bierowiec, K., Płoneczka-Janeczko, K. i Rypuła, K. (2016). Diversity of antimicrobial-resistant pheno- and genotypes of *Staphylococcus aureus* from clinically healthy cats kept in city households. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, <https://doi.org/10.2376/0005-9366-16043> - (b)
- Bierowiec, K., Płoneczka-Janeczko, K. i Rypuła, K. (2016). Prevalence and Risk Factors of Colonization with *Staphylococcus aureus* in Healthy Pet Cats Kept in the City Households. *BioMed research international*, 2016, 3070524. <https://doi.org/10.1155/2016/3070524> - (c)
- Bitrus, A.A., Olabode, M.P., Abbas, M.A. i Goni M.D. (2018). *Staphylococcus aureus*: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanism. *Veterinary Sciences: Research and Reviews*. 4. [10.17582/journal.vsr/2018/4.2.43.54](https://doi.org/10.17582/journal.vsr/2018/4.2.43.54).
- Börjesson, S., Gómez-Sanz, E., Ekström, K., Torres, C. i Grönlund, U. (2015). *Staphylococcus pseudintermedius* can be misdiagnosed as *Staphylococcus aureus* in humans with dog bite wounds. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 34:839-844.
- Brito, D. V., von Dolinger, E. J., Abdallah, V. O., Darini, A. L. i Gontijo Filho, P. P. (2009). Two outbreaks of mixed etiology associated with central venous catheters inserted by phlebotomy in critical neonates. *The Brazilian journal of infectious diseases: an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, 13(3), 177–182. <https://doi.org/10.1590/s1413-86702009000300005>

- Bronner, S., Monteil, H. i Prevost G. (2004). Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. *FEMS Microb. Rev.*, 28: 183-200.
- Burke, M. i Santoro, D. (2023). Prevalence of multidrug-resistant coagulase-positive staphylococci in canine and feline dermatological patients over a 10-year period: a retrospective study. *Microbiology (Reading, England)*, 169(2), 10.1099/mic.0.001300. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001300>
- Burnside, K., Lembo, A., de Los Reyes, M., Iliuk, A., Binhtran, N. T., Connelly, J. E., Lin, W. J., Schmidt, B. Z., Richardson, A. R., Fang, F. C., Tao, W. A. i Rajagopal, L. (2010). Regulation of hemolysin expression and virulence of *Staphylococcus aureus* by a serine/threonine kinase and phosphatase. *PloS one*, 5(6), e11071. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011071>
- CDC. (2019). Antibiotic Resistance Threats in the United States. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC.
- Chavakis, T., Wiechmann, K., Preissner, K. T. i Herrmann, M. (2005). *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: the role of bacterial "secretable expanded repertoire adhesive molecules" (SERAM) in disturbing host defense systems. *Thrombosis and haemostasis*, 94(2), 278–285. <https://doi.org/10.1160/TH05-05-0306>
- Chen, H. J., Hung, W. C., Tseng, S. P., Tsai, J. C., Hsueh, P. R. i Teng, L. J. (2010). Fusidic acid resistance determinants in *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(12), 4985–4991. <https://doi.org/10.1128/AAC.00523-10>
- Cheung, A. L., Koomey, J. M., Butler, C. A., Projan, S. J. i Fischetti, V. A. (1992). Regulation of exoprotein expression in *Staphylococcus aureus* by a locus (*sar*) distinct from *agr*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(14), 6462–6466. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.14.6462>
- Christensen, G. D., Simpson, W. A., Bisno, A. L. i Beachey, E. H. (1982). Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infection and immunity*, 37(1), 318–326. <https://doi.org/10.1128/iai.37.1.318-326.1982>
- Chrobak, D., Kizerwetter – Świda, M., Rzewuska, M. i Binek, M. (2013). *Staphylococcus pseudintermedius* – nowy, ale dobrze znany patogen. *Życie Wet.*, 88:625-628.
- Chrobak-Chmiel, D., Golke, A., Kwiecień, E., Biegańska, M. J., Dembele, K., Dziekiewicz-Mrugasiewicz, M., Czopowicz, M., Kizerwetter-Świda, M. i Rzewuska, M. (2023). Is Vitamin D3 a Worthy Supplement Protecting against Secondary Infections in Dogs with Atopic Dermatitis? *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 12(1), 145. <https://doi.org/10.3390/pathogens12010145>
- Churak, A., Poolkhet, C., Tamura, Y., Sato, T., Fukuda, A. i Thongratsakul, S. (2021). Evaluation of nosocomial infections through contact patterns in a small animal hospital using social network analysis and genotyping techniques. *Sci Rep.*, 18,11(1):1647. doi: 10.1038/s41598-021-81301-9.
- Clarke, S. R. i Foster, S. J. (2006). Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Advances in microbial physiology*, 51, 187–224. [https://doi.org/10.1016/S00652911\(06\)51004-5](https://doi.org/10.1016/S00652911(06)51004-5)
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals, CLSI supplement VET01S ED6:2023.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing' 31st Edition. CLSI document M100:ED31:2021.
- Cocca, G., Piva, S., Magno, S. D., Scarpellini, R., Giacometti, F., Serraino, A. i Giunti, M. (2021). Prevalence and Patterns of Antimicrobial Resistance among *Escherichia coli* and *Staphylococcus* spp. in a Veterinary University Hospital. *Veterinary sciences*, 8 (12), 308. <https://doi.org/10.3390/vetsci8120308>
- Cognosco Sp. z o.o. (2017). Populacja psów i kotów w gospodarstwach domowych w Polsce. <https://vetkompleksowo.pl/kategorie-tematyczne/koty-i-psy-w-polsce-oraz-charakterystyka-wlascicieli-i-ich-postaw-wzglem-zwierzat/2/> [dostęp: 22.05.2020, 13:44].

- Corrò, M., Skarin, J., Börjesson, S. i Rota, A. (2018). Occurrence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in successive parturitions of bitches and their puppies in two kennels in Italy. *BMC Vet. Res.*, 14:308.
- Costerton, J. W., Stewart, P. S. i Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science (New York, N.Y.)*, 284(5418), 1318–1322. <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>
- Cuny, C., Layer-Nicolaou, F., Weber, R., Köck, R. i Witte, W. (2022). Colonization of Dogs and Their Owners with *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in Households, Veterinary Practices, and Healthcare Facilities. *Microorganisms*, 10(4), 677. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040677>
- D'Août, C., Taylor, S. S., Gelendi, S., Atkinson, C. i Defauw, P. (2022). Bacteriuria in Cystocentesis Samples from Cats in the United Kingdom: Prevalence, Bacterial Isolates, and Antimicrobial Susceptibilities. *Animals: an open access journal from MDPI*, 12(23), 3384. <https://doi.org/10.3390/ani12233384>
- Daodu, O. B., Amosun, E. A. i Oluwayelu, D. O. (2016). Antibiotic Resistance Profiling and Microbiota of the Upper Respiratory Tract of Apparently Healthy Dogs in Ibadan, Southwest Nigeria. *African journal of infectious diseases*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.4314/ajid.v11i1.4533>
- Darlow, C. A., Paidakakos, N., Sikander, M. i Atkins, B. (2017). A spinal infection with *Staphylococcus pseudintermedius*. *BMJ case reports*, 2017, bcr2017221260. <https://doi.org/10.1136/bcr-2017-221260>
- De La Fuente, R., Suarez, G. i Schleifer, K.H. (1985). *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* subsp. nov., the causal agent of abscess disease of sheep. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 35:99-102.
- Diaz, M. A., Gardner, L. B. i Libertin, C. R. (2019). *Staphylococcus pseudintermedius* catheter-related bloodstream infection after exposure to domestic dogs and a cat. *BMJ case reports*, 12(12), e231489. <https://doi.org/10.1136/bcr-2019-231489>
- Diep, B., Gill, S., Chang, R., Phan, T., Chen, J., Davidson, M., Lin, F., Lin, J., Carleton, H., Mongodin, E., Sensabaugh, G. i Perdreau-Remington F. (2006). Complete genome sequence of USA300, an epidemic clone of community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*. 367, 731739.
- Duim, B., Verstappen, K.M.H.W., Kalupahana, R.S., Ranathunga, L., Fluit, A.C. i Wagenaar, J.A. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* among dogs in the description of novel SCCmec variants. *Vet. Microbiol.*, 213:136-141.
- Ebner, R., Johler, S., Sihto, H. M., Stephan, R., i Zweifel, C. (2013). Microarray-based characterization of *Staphylococcus aureus* isolates obtained from chicken carcasses. *Journal of food protection*, 76(8), 1471–1474. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-009>
- Elmoslemany, A., Elsohaby, I., Alorabi, M., Alkafafy, M., Al-Marri, T., Aldoweriej, A., Alaql, F. A., Almubarak, A. i Fayez, M. (2021). Diversity and Risk Factors Associated with Multidrug and Methicillin-Resistant Staphylococci Isolated from Cats Admitted to a Veterinary Clinic in Eastern Province, Saudi Arabia. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(4), 367. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040367>
- Elnageh, H.R., Hiblu, M.A., Abbassi, M.S., Abouzeed, Y.M. i Ahmed, M.O. (2021). Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus* species isolated from cats and dogs. *Open Vet J.*, 10(4):452-456. doi:10.4314/ovj.v10i4.13
- Emaneyni, M., Bigverdi, R., Kalantar, D., Soroush, S., Jabalameli, F., Noorazar Khoshnab, B., Asadollahi, P. i Taherikalani, M. (2013). Distribution of genes encoding tetracycline resistance and aminoglycoside modifying enzymes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from a burn center. *Annals of burns and fire disasters*, 26(2), 76–80.
- Empel, J., Żabicka, D. i Hryniewicz, W. (2021). Ziarenkowce Gram-dodatnie z rodzaju *Staphylococcus*. Oznaczanie wrażliwości i wykrywanie mechanizmów oporności na antybiotyki β-laktamowe. Narodowy Instytut Leków, Warszawa
- Espadale, E., Pinchbeck, G., Williams, N.J., Timofte, D., McIntyre, K.M. i Schmidt, V.M. (2018). Are the hands of veterinary staff a reservoir for antimicrobial-resistant bacteria?

- A randomized study to evaluate two hand hygiene rubs in a veterinary hospital. *Microb. Drug Resist.*, 24: 1607-1616.
- Euromonitor International (2021). Branża zoologiczna w Polsce. <https://zoobranza.com.pl/raport-euromonitora-branza-zoologiczna-w-polsce/> [dostęp 4.06.2022, 16:20]
- Faires, M. C., Tater, K. C. i Weese, J. S. (2009). An investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in people and pets in the same household with an infected person or infected pet. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235(5), 540–543. <https://doi.org/10.2460/javma.235.5.540>
- Fazakerley, J., Nuttall, T., Sales, D., Schmidt, V., Carter, S.D., Hart, C.A. i McEwan, N.A. (2009). Staphylococcal colonization of mucosal and lesional skin sites in atopic and healthy dogs. *Vet. Dermatol.*, 20:179-184.
- Feßler, A. T., Scholtzek, A. D., Schug, A. R., Kohn, B., Weingart, C., Schink, A. K., Bethe, A., Lübke-Becker, A. i Schwarz, S. (2022). Antimicrobial and Biocide Resistance among Feline and Canine *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* Isolates from Diagnostic Submissions. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(2), 127. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020127>
- Feßler, A.T., Schuenemann, R., Kadlec, K. Hensel, V., Brombach, J., Murugaiyan, J., Oechtering, G., Burgener, I.A i Schwarz, S. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) among employees and in the environment of a small animal hospital. *Vet. Microbiol.*, 221:153-158.
- Feingold, B.J., Silbergeld, E.K., Curriero, F.C., van Cleef, B.A., Heck, M.E. i Kluytmans, J.A. (2012). Livestock density as risk factor for livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, the Netherlands. *Emerg Infect Dis.*, 18(11):1841-9
- Feng, Y., Tian, W., Lin, D. Luo, Q., Zhou, Y., Yang, T., Deng, Y., Liu, Y.H. i Liu, J.H. (2012). Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseud-intermedius* in pets from South China. *Vet. Microbiol.*, 160: 517-524
- Ference, E. H., Danielian, A., Kim, H. W., Yoo, F., Kuan, E. C., i Suh, J. D. (2019). Zoonotic *Staphylococcus pseudintermedius* sinonasal infections: risk factors and resistance patterns. *International forum of allergy & rhinology*, 9(7), 724–729. <https://doi.org/10.1002/alr.22329>
- Ferradas, C., Cotter, C., Shahbazian, J. H., Iverson, S. A., Baron, P., Misic, A. M., Brazil, A. M., Rankin, S. C., Nachamkin, I., Ferguson, J. M., Peng, R. D., Bilker, W. B., Lautenbach, E., Morris, D. O., Lescano, A. G. i Davis, M. F. (2022). Risk factors for antimicrobial resistance among *Staphylococcus* isolated from pets living with a patient diagnosed with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Zoonoses and public health*, 69(5), 550–559. <https://doi.org/10.1111/zph.12946>
- Fitrandi, M., Salasia, S. I. O., Sianipar, O., Dewananda, D. A., Arjana, A. Z., Aziz, F., Wasissa, M., Lestari, F. B. i Santosa, C. M. (2023). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates derived from humans and animals in Yogyakarta, Indonesia. *Veterinary world*, 16(1), 239–245. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.239-245>
- Fitzgerald, J.R. (2009). The *Staphylococcus intermedius* group of bacterial pathogens: species re-classification, pathogenesis and the emergence of methicillin resistance. *Vet. Dermatol.*, 20:490-495.
- Fleming, A. (1945). Penicillin. Nobel Lecture. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1945/fleming/lecture/> [dostęp 4.06.2023, 10:55]
- Flores-Díaz, M., Monturiol-Gross, L., Naylor, C., Alape-Girón, A. i Flieger, A. (2016). Bacterial Sphingomyelinases and Phospholipases as Virulence Factors. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, 80(3), 597–628. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00082-15>
- Foka, A., Chini, V., Petinaki, E., Kolonitsiou, F., Anastassiou, E. D., Dimitracopoulos, G. i Spiliopoulou, I. (2006). Clonality of slime-producing methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci disseminated in the neonatal intensive care unit of a university hospital. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 12(12), 1230–1233. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01565.x>

- Foster, T. J., Geoghegan, J. A., Ganesh, V. K. i Höök, M. (2014). Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nature reviews. Microbiology*, 12(1), 49–62. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3161>
- França, A., Gaio, V., Lopes, N. i Melo, L.D.R. (2021). Virulence Factors in Coagulase-Negative Staphylococci. *Pathogens*, 10(2):170. doi:10.3390/pathogens10020170
- Frosini, S. M., Bond, R., King, R. H. i Loeffler, A. (2022). The nose is not enough: Multi-site sampling is best for MRSP detection in dogs and households. *Veterinary dermatology*, 33(6), 576–580. <https://doi.org/10.1111/vde.13118>
- Furiani, N., Scarampella, F., Martino, P.A., Panzini, I., Fabbri, E. i Ordeix, L. (2011). Evaluation of the bacterial microflora of the conjunctival sac of healthy dogs and dogs with atopic dermatitis. *Vet. Dermatol.*, 22:490-496.
- Gagetti, P., Errecalde, L., Wattam, A.R., De Belder, D., Ojeda Saavedra, M., Corso, A. i Rosato, A.E. (2020). Characterization of the First *mecA*-Positive Multidrug-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* Isolated from an Argentinian Patient. *Microb. Drug Resist.*, 26:717-721
- Gandolfi-Decristophoris, P., Regula, G., Petrini, O., Zinsstag, J. i Schelling, E. (2013). Prevalence and risk factors for carriage of multi-drug resistant Staphylococci in healthy cats and dogs. *J. Vet. Sci.*, 14:449-456
- Garbacz, K., Piechowicz, L., Podkowik, M., Mroczkowska, A., Empel, J. i Bania, J. (2018). Emergence and spread of worldwide *Staphylococcus aureus* clones among cystic fibrosis patients. *Infection and drug resistance*, 11, 247–255. <https://doi.org/10.2147/IDR.S153427>
- Garbacz, K., Piechowicz, L., Wiśniewska, K. i Dąbrowska-Szponar M. (2009). Zróźnicowanie locus *agr* wśród *Staphylococcus aureus* izolowanych od nosicieli oraz od chorych z objawami zakażenia. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 61: 5-9.
- García-Álvarez, L., Holden, M. T., Lindsay, H., Webb, C. R., Brown, D. F., Curran, M. D., Walpole, E., Brooks, K., Pickard, D. J., Teale, C., Parkhill, J., Bentley, S. D., Edwards, G. F., Girvan, E. K., Kearns, A. M., Pichon, B., Hill, R. L., Larsen, A. R., Skov, R. L., Peacock, S. J., Maskell, D.J. i Holmes, M. A. (2011). Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *The Lancet. Infectious diseases*, 11(8), 595–603. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70126-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70126-8)
- Giraud, A. T., Raspanti, C. G., Calzolari, A. i Nagel, R. (1994). Characterization of a Tn551-mutant of *Staphylococcus aureus* defective in the production of several exoproteins. *Canadian journal of microbiology*, 40(8), 677–681. <https://doi.org/10.1139/m94-107>
- Gnanamani, A., Hariharan, P. i Paul-Satyaseela, M. (2017). *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. doi:10.5772/67338
- Gordon, R. J., Miragaia, M., Weinberg, A. D., Lee, C. J., Rolo, J., Giacalone, J. C., Slaughter, M. S., Pappas, P., Naka, Y., Tector, A. J., de Lencastre, H. i Lowy, F. D. (2012). *Staphylococcus epidermidis* colonization is highly clonal across US cardiac centers. *The Journal of infectious diseases*, 205(9), 1391–1398. <https://doi.org/10.1093/infdis/jis218>
- Gómez-Beltrán, D. A., Villar, D., López-Osorio, S., Ferguson, D., Monsalve, L. K. i Chaparro-Gutiérrez, J. J. (2020). Prevalence of Antimicrobial Resistance in Bacterial Isolates from Dogs and Cats in a Veterinary Diagnostic Laboratory in Colombia from 2016-2019. *Veterinary sciences*, 7(4), 173. <https://doi.org/10.3390/vetsci7040173>
- Gómez-Sanz, E., Torres, C., Ceballos, S., Lozano, C. i Zarazaga, M. (2013). Clonal dynamics of nasal *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in dog-owning household members. Detection of MSSA ST (398). *PloS one*, 8(7), e69337. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069337> - (a)
- Gómez-Sanz, E., Torres, C., Lozano, C. i Zarazaga, M. (2013). High diversity of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* lineages and toxigenic traits in healthy pet-owning household members. Underestimating normal household contact? *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 36(1), 83–94. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.10.001> - (b)

- Greenwood, D., Slack R.C.B. i Peutherer J.F. (2011). Medical Microbiology: A Guide to microbial infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory diagnosis and Control. Ed. t. Elsevier.
- Griffeth, G.C., Morris, D.O., Abraham, J.L., Shofer, F.S. i Rankin, S.C. (2008). Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. *Vet. Dermatol.*, 19:142-149
- Groves, M. D., Crouch, B., Coombs, G. W., Jordan, D., Pang, S., Barton, M. D., Giffard, P., Abraham, S. i Trott, D. J. (2016). Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Australian Veterinarians. *PloS one*, 11(1), e0146034. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146034>
- Grönthal, T., Eklund, M., Thomson, K., Piiparinen, H., Sironen, T. i Rantala, M. (2017). Antimicrobial resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* and the molecular epidemiology of methicillin-resistant *S. pseudintermedius* in small animals in Finland [korekta opublikowano w: *J Antimicrob Chemother.* 2017 Jul 1;72(7):2141]. *J. Antimicrob. Chemother.*, 72:1021-1030
- Habeeb, A., Hussein, N.R., Assafi, M.S. i Al-Dabbagh, S.A. (2014). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization among secondary school students at Duhok City-Iraq. *JMID.*, 4(2):59-63.
- Habrun, B., Račić, I., Beck, R., Budimir, A., BeniĆ, M., Kompes, G., Spičić, S. i Cvetnić, Z. (2011). The presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on large pig breeding farms in Croatia. *Acta veterinaria Hungarica*, 59(4), 419-425. <https://doi.org/10.1556/AVet.2011.028>
- Haenni, M., Châtre, P., Dupieux-Chabert, C., Métayer, V., Bes, M., Madec, J. Y. i Laurent, F. (2017). Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Horses, Cats, and Dogs Over a 5-Year Period in France. *Frontiers in microbiology*, 8, 2493. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02493>
- Han, J.I., Rhim, H., Yang, C.H. i Park, H.M. (2018). Molecular characteristics of new clonal complexes of *Staphylococcus pseudintermedius* from clinically normal dogs. *Vet. Q.*, 38:14-20
- Hanselman, B.A., Kruth, S.A., Rousseau, J. i Weese, J.S. (2009). Coagulase positive staphylococcal colonization of humans and their household pets. *Can. Vet. J.*, 50:954-958
- Harmsen, D., Claus, H., Witte, W., Rothgänger, J., Claus, H., Turnwald, D. i Vogel, U. (2003). Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database management. *Journal of clinical microbiology*, 41(12), 5442-5448. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.12.5442-5448.2003>
- Harris, L.G., Foster, S.J., Richards, R.G. (2002). An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to biomaterials: review. *European cells&materials*, 4:39-60
- Hartmann, F.A., White, D.G., West, S.E., Walker, R.D. i Deboer, D.J. (2005). Molecular characterization of *Staphylococcus intermedius* carriage by healthy dogs and comparison of antimicrobial susceptibility patterns to isolates from dogs with pyoderma. *Vet. Microbiol.*, 108:119-131
- Haulisah, N. A., Hassan, L., Jajere, S. M., Ahmad, N. I. i Bejo, S. K. (2022). High prevalence of antimicrobial resistance and multidrug resistance among bacterial isolates from diseased pets: Retrospective laboratory data (2015-2017). *PloS one*, 17(12), e0277664. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277664>
- Hayashida, A., Bartlett, A. H., Foster, T. J. i Park, P. W. (2009). *Staphylococcus aureus* beta-toxin induces lung injury through syndecan-1. *The American journal of pathology*, 174(2), 509-518. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080394>
- Heilmann C. (2011). Adhesion mechanisms of staphylococci. *Advances in experimental medicine and biology*, 715, 105-123. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0940-9_7
- Hill, E. E., Herijgers, P., Herregods, M. C. i Peetermans, W. E. (2006). Evolving trends in infective endocarditis. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 12(1), 5-12. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01289.x>

- Hirschhausen, N., Schlesier, T., Schmidt, M. A., Götz, F., Peters, G. i Heilmann, C. (2010). A novel staphylococcal internalization mechanism involves the major autolysin Atl and heat shock cognate protein Hsc70 as host cell receptor. *Cellular microbiology*, 12(12), 1746–1764. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2010.01506.x>
- Holtfreter, S., Roschack, K., Eichler, P., Eske, K., Holtfreter, B., Kohler, C., Engelmann, S., Hecker, M., Greinacher, A. i Broker, B. M. (2006). *Staphylococcus aureus* carriers neutralize superantigens by antibodies specific for their colonizing strain: a potential explanation for their improved prognosis in severe sepsis. *The Journal of infectious diseases*, 193(9), 1275–1278. <https://doi.org/10.1086/503048>
- Hugonnet, S., Sax, H., Eggimann, P., Chevrolet, J. C. i Pittet, D. (2004). Nosocomial bloodstream infection and clinical sepsis. *Emerging infectious diseases*, 10(1), 76–81. <https://doi.org/10.3201/eid1001.030407>
- Ilczyszyn, W. M., Sabat, A. J., Akkerboom, V., Szkarlat, A., Klepacka, J., Sowa-Sierant, I., Wasik, B., Kosecka-Strojek, M., Buda, A., Miedzobrodzki, J. i Friedrich, A. W. (2016). Clonal Structure and Characterization of *Staphylococcus aureus* Strains from Invasive Infections in Paediatric Patients from South Poland: Association between Age, spa Types, Clonal Complexes, and Genetic Markers. *PloS one*, 11(3), e0151937. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151937>
- International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC) (2009). Classification of staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCCmec): guidelines for reporting novel SCCmec elements. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53:4961-4967
- Jamaluddin, T. Z., Kuwahara-Arai, K., Hisata, K., Terasawa, M., Cui, L., Baba, T., Sotozono, C., Kinoshita, S., Ito, T. i Hiramatsu, K. (2008). Extreme genetic diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strains disseminated among healthy Japanese children. *Journal of clinical microbiology*, 46(11), 3778–3783. <https://doi.org/10.1128/JCM.02262-07>
- Josse, J., Laurent, F. i Diot, A. (2017). Staphylococcal Adhesion and Host Cell Invasion: Fibronectin-Binding and Other Mechanisms. *Frontiers in microbiology*, 8, 2433. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02433>
- Jung, W. K., Shin, S., Park, Y. K., Lim, S. K., Moon, D. C., Park, K. T. i Park, Y. H. (2020). Distribution and antimicrobial resistance profiles of bacterial species in stray cats, hospital-admitted cats, and veterinary staff in South Korea. *BMC veterinary research*, 16(1), 109. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02326-2>
- Kalhor, D., Kalhor, M., Mangi, M., Kumbhar, A., Lochi, G., Mari, G., Kaka, A., Lund, A. i Liu, Y.J. (2019). Antimicrobial resistance of staphylococci and streptococci isolated from dogs. *Trop. Biomed*, 36:468-474
- Kaplan S. L. (2016). *Staphylococcus aureus* Infections in Children: The Implications of Changing Trends. *Pediatrics*, 137(4), e20160101. <https://doi.org/10.1542/peds.2016-0101>
- Karlsen, O. M., Sandbu, K. D. i Grøntvedt, C. A. (2021). Findings and measures to eradicate methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clonal complex 7 spa-type t091 in two Norwegian pig farms: a case report. *Porcine health management*, 7(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s40813-021-00218-x>
- Katayama, Y., Baba, T., Sekine, M., Fukuda, M. i Hiramatsu, K. (2013). Beta-hemolysin promotes skin colonization by *Staphylococcus aureus*. *Journal of bacterio-logy*, 195(6), 1194–1203. <https://doi.org/10.1128/JB.01786-12>
- Kawamura, Y., Hou, X.G., Sultana, F., Hirose, K., Miyake, M., Shu, S.E. i Ezaki, T. (1998). Distribution of *Staphylococcus* species among human clinical specimens and emended description of *Staphylococcus caprae*. *J. Clin. Microbiol.*, 36: 2038-2042
- Kisani, A.I., Awasum, A., Udegbunam, S., Nnaji, T., Muhammed, B., Melekwa, G. i wsp. (2016). Management of Nosocomial Diseases in Small Animal Practice: a Review. *Vom Journal of Veterinary Science.*, 11:94–100.
- Kizerwetter-Świda, M., Chrobak-Chmiel, D. i Rzewuska, M. (2018). Problemy weterynaryjnej diagnostyki mikrobiologicznej dotyczącej zakażeń gronkowcowych. *Życie Wet.*, 93(6): 373-376

- Kizerwetter-Świda, M., Chrobak-Chmiel, D. i Rzewuska, M. (2019). High-level mupirocin resistance in methicillin-resistant staphylococci isolated from dogs and cats. *BMC veterinary research*, 15(1), 238. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1973-y>
- Kizerwetter-Świda, M. i Pławińska-Czarnak, J. (2017). Odzwierzęce szczepy *Staphylococcus aureus* odporne na metycylinę (LA-MRSA) – obecny stan wiedzy. *Med. Weter.*, 73(2), 92-98.
- Kmieciak, W. i Szewczyk, E. (2017). Gatunki koagulazododatnie rodzaju *Staphylococcus* - taksonomia, chorobotwórczość. *Postepy Mikrobiologii*. 56. 233-244.
- Kmieciak, W. i Szewczyk, E. M. (2018). Are zoonotic *Staphylococcus pseudintermedius* strains a growing threat for humans?. *Folia microbiologica*, 63(6), 743-747. <https://doi.org/10.1007/s12223-018-0615-2>
- Kottler, S., Middleton, J. R., Perry, J., Weese, J. S. i Cohn, L. A. (2010). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in three populations. *Journal of veterinary internal medicine*, 24(1), 132-139. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0424.x>
- Kowalska-Krochmal, B. (2017). Gronkowiec złocisty metycylinowrażliwy – potencjał chorobotwórczy i lekowrażliwość. *Forum Zakażeń*, 8(4):253-259. [dx.doi.org/10.15374/FZ2017044](https://doi.org/10.15374/FZ2017044)
- Kozińska A. i Sitkiewicz I. (2017). „Nowe” i „stare” antybiotyki – mechanizmy działania i strategie poszukiwania leków przeciwbakteryjnych. *Kosmos* 66(1):109-124.
- Kozitskaya, S., Olson, M. E., Fey, P. D., Witte, W., Ohlsen, K. i Ziebuhr, W. (2005). Clonal analysis of *Staphylococcus epidermidis* isolates carrying or lacking biofilm-mediating genes by multilocus sequence typing. *Journal of clinical microbiology*, 43(9), 4751-4757. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.9.4751-4757.2005>
- Krapf, M., Müller, E., Reissig, A., Slickers, P., Braun, S.D., Müller, E., Ehrlich, R. i Monecke, S. (2019). Molecular characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs and the description of their SCCmec elements. *Vet. Microbiol.*, 233:196-203
- Krediet, T. G., Mascini, E. M., van Rooij, E., Vlooswijk, J., Paauw, A., Gerards, L. J., i Flier, A. (2004). Molecular epidemiology of coagulase-negative staphylococci causing sepsis in a neonatal intensive care unit over an 11-year period. *Journal of clinical microbiology*, 42(3), 992-995. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.992-995.2004>
- Król, J., Wanecka, A., Twardoń, J., Mrowiec, J., Dropińska, A., Bania, J., Podkowik, M., Korzeniowska-Kowal, A. i Paściak, M. (2016). Isolation of *Staphylococcus microti* from milk of dairy cows with mastitis. *Veterinary microbiology*, 182, 163-169. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.11.018>
- Krupa, P., Bystroń, J., Bania, J., Podkowik, M., Empel, J. i Mroczkowska, A. (2014). Genotypes and oxacillin resistance of *Staphylococcus aureus* from chicken and chicken meat in Poland. *Poultry science*, 93(12), 3179-3186. <https://doi.org/10.3382/ps.2014-04321>
- Krupa, P., Bystroń, J., Podkowik, M., Empel, J., Mroczkowska, A. i Bania, J. (2015). Population Structure and Oxacillin Resistance of *Staphylococcus aureus* from Pigs and Pork Meat in South-West of Poland. *BioMed research international*, 2015, 141475. <https://doi.org/10.1155/2015/141475>
- Kuan, E.C., Yoon, A.J., Vijayan, T., Humphries, R.M. i Suh, J.D. (2016). Canine *Staphylococcus pseudintermedius* sinonasal infection in human hosts. *Int. Forum Allergy Rhinol.*, 6:710-715
- Kubica, A. i Jatulewicz, I. (2012). Genetyczne podłoże oporności bakterii na antybiotyki glikopeptydowe i β-laktamowe. *Chemistry, environment, biotechnology*, XV: 7-17.
- Kwaszewska, A., Lisiecki, P., Szemraj, M. i Szewczyk, E.M. (2015). Zwierzęcy *Staphylococcus felis* o potencjale zakażenia skóry człowieka. *Med Dosw Mikrobiol.*, 67(2):69-78.
- Ladhani, S. N., Henderson, K. L., Muller-Pebody, B., Ramsay, M. E. i Riordan, A. (2019). Risk of invasive bacterial infections by week of age in infants: prospective national surveillance, England, 2010-2017. *Archives of disease in childhood*, 104(9), 874-878. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2018-316191>
- Lai, C. H., Ma, Y. C., Shia, W. Y., Hsieh, Y. L. i Wang, C. M. (2022). Risk Factors for Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus* Species Isolated from Dogs with Superficial Pyoderma

- and Their Owners. *Veterinary sciences*, 9(7), 306. <https://doi.org/10.3390/vetsci9070306>
- Langhanki, L., Berger, P., Treffon, J., Catania, F., Kahl, B. C. i Mellmann, A. (2018). In vivo competition and horizontal gene transfer among distinct *Staphylococcus aureus* lineages as major drivers for adaptational changes during long-term persistence in humans. *BMC microbiology*, 18(1), 152. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1308-3>
- Lee, C.H., Park, Y.K., Shin, S., Park, Y.H. i Park, K.T. (2018). Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs in veterinary hospitals in Korea. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.*, 16: 211-220
- Lehner, G., Linek, M., Bond, R., Lloyd, D.H., Prenger-Berninghoff, E., Thom, N., Straube, I., Verheyen, K. i Loeffler, A. (2014). Case control risk factor study of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) infection in dogs and cats in Germany. *Vet. Microbiol.*, 168: 154-160
- Leuthner, K. D., Cheung, C. M. i Rybak, M. J. (2006). Comparative activity of the new lipoglycopeptide telavancin in the presence and absence of serum against 50 glycopeptide non-susceptible staphylococci and three vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 58(2), 338-343. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl235>
- Li, Y., Fernández, R., Durán, I., Molina-López, R. A. i Darwich, L. (2021). Antimicrobial Resistance in Bacteria Isolated From Cats and Dogs From the Iberian Peninsula. *Frontiers in microbiology*, 11, 621597. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.621597>
- Liakopoulos, V., Petinaki, E., Efthimiadi, G., Klapsa, D., Giannopoulou, M., Dovas, S., Eleftheriadis, T., Mertens, P. R. i Stefanidis, I. (2008). Clonal relatedness of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci in the haemodialysis unit of a single university centre in Greece. *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 23(8), 2599-2603. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfn101>
- Liang, J., Hu, Y., Fu, M., Li, N., Wang, F., Yu, X. i Ji, B. (2023). Resistance and Molecular Characteristics of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Heterogeneous Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*. *Infection and drug resistance*, 16, 379-388. <https://doi.org/10.2147/IDR.S392908>
- Lisowska-Łysiak, K., Kosecka-Strojek, M., Białocka, J., Kasprówicz, A., Garbacz, K., Piechowicz, L., Kmet, V., Savini, V. i Międzobrodzki, J. (2019). New Insight into Genotypic and Phenotypic Relatedness of *Staphylococcus aureus* Strains from Human Infections or Animal Reservoirs. *Polish journal of microbiology*, 68(1), 93-104. <https://doi.org/10.21307/pjm-2019-011>
- Lozano, C., Aspiroz, C., Charlez, L., Gómez-Sanz, E., Toledo, M., Zarazaga, M. i Torres, C. (2011). Skin lesion by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398-t1451 in a Spanish pig farmer: possible transmission from animals to humans. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 11(6), 605-607. <https://doi.org/10.1089/vbz.2010.0226>
- Lozano, C., Rezusta, A., Ferrer, I., Pérez-Laguna, V., Zarazaga, M., Ruiz-Ripa, L., Revillo, M.J. i Torres, C. (2017). *Staphylococcus pseudintermedius* Human Infection Cases in Spain: Dog-to-Human Transmission. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 17:268-270
- Lyell, A. (1989). Alexander Ogston, micrococci, and Joseph Lister. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 20(2 Pt 1), 302-310. [https://doi.org/10.1016/s0190-9622\(89\)70035-9](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(89)70035-9)
- Ma, G. C., Worthing, K. A., Gottlieb, T., Ward, M. P. i Norris, J. M. (2020). Molecular characterization of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from pet dogs. *Zoonoses and public health*, 67(3), 222-230. <https://doi.org/10.1111/1/zph.12677> - (a)
- Ma, G.C., Worthing, K.A., Ward, M.P. i Norris, J.M. (2020). Commensal Staphylococci Including Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Dogs and Cats in Remote New South Wales, Australia. *Microb Ecol.*, 79(1):164-174. doi:10.1007/s00248-019-01382-y - (b)
- Maali, Y., Badiou, C., Martins-Simões, P., Hodile, E., Bes, M., Vandenesch, F., Lina, G., Diot, A., Laurent, F. i Trouillet-Assant, S. (2018). Understanding the Virulence of *Staphylococcus*

- pseudintermedius*: A Major Role of Pore-Forming Toxins. *Front Cell Infect Microbiol.*, 8:221
- Makowski, D., Ben-Shachar, M., Patil, I. i Lüdecke, D (2021). "Automated Results Reporting as a Practical Tool to Improve Reproducibility and Methodological Best Practices Adoption." *CRAN*. <URL:<https://github.com/easystats/report>>.
- Mališová, L., Šafránková, R., Kekláková, J., Petráš, P., Žemličková, H. i Jakubů, V. (2019). Correct species identification (reclassification in CNCTC) of strains of *Staphylococcus intermedius*-group can improve an insight into their evolutionary history. *Folia microbiologica*, 64(2), 231–236. <https://doi.org/10.1007/s12223-018-0647-7>
- Maluping, R.P., Paul, N.C. i Moodley, A. (2014). Antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from veterinary clinical cases in the UK. *Br J Biomed Sci.*, 71:55-57
- Mangiafico, S. (2022). rcompanion: Functions to Support Extension Education Program Evaluation. R package version 2.4.18, <URL: <https://CRAN.R-project.org/package=rcompanion>>.
- Mariutti, R. B., Tartaglia, N. R., Seyffert, N., Castro, T. L. de P., Arni, R. K., Azevedo, V. A., Le Loir, Y., Nishifuji, K. (2017). Exfoliative Toxins of *Staphylococcus aureus*. InTech. doi: 10.5772/66528
- Markiewicz, Z. i Kwiatkowski, Z. (2012). Bakterie, antybiotyki, lekooporność. Wyd. I. Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Marques, C., Belas, A., Franco, A., Aboim, C., Gama, L.T. i Pomba, C. (2018). Increase in antimicrobial resistance and emergence of major international high-risk clonal lineages in dogs and cats with urinary tract infection: 16 year retrospective study. *J. Antimicrob. Chemother.*, 73:377-384
- Marszałik, A., Chrobak – Chmiel, D., Golke, A., Sałamaszyńska – Guz, A. i Dembele, K. (2018). *Staphylococcus pseudintermedius* – czy wiemy o nim wszystko? *Życie Wet.*, 93:238-240
- Martin, M. C., Gonzalez-Hevia, M. A. i Mendoza, M. C. (2003). Usefulness of a two-step PCR procedure for detection and identification of enterotoxigenic staphylococci of bacterial isolates and food samples. *Food Microbiology*, 20:605-610.
- Mashayamombe, M., Carda-Diéguez, M., Mira, A., Fitridge, R., Zilm, P. S. i Kidd, S. P. (2023). Subpopulations in Strains of *Staphylococcus aureus* Provide Antibiotic Tolerance. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(2), 406. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020406>
- Mazzariol, A., Lo Cascio, G., Kocsis, E., Maccacaro, L., Fontana, R. i Cornaglia, G. (2012). Outbreak of linezolid-resistant *Staphylococcus haemolyticus* in an Italian intensive care unit. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 31(4), 523–527. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1343-6>
- McKinnell, J. A., Miller, L. G., Eells, S. J., Cui, E. i Huang, S. S. (2013). A systematic literature review and meta-analysis of factors associated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization at time of hospital or intensive care unit admission. *Infection control and hospital epidemiology*, 34(10), 1077–1086. <https://doi.org/10.1086/673157>
- Meroni, G., Soares Filipe, J.F., Drago, L. i Martino, P.A. (2019). Investigation on Antibiotic-Resistance, Biofilm Formation and Virulence Factors in Multi Drug Resistant and Non Multi Drug Resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Microorganisms.*, 7:702
- Merz, A., Stephan, R., i Johler, S. (2016). Genotyping and DNA microarray-based characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from rabbit carcasses. *Meat science*, 112, 86–89. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.11.002>
- Miragaia, M., Thomas, J. C., Couto, I., Enright, M. C. i de Lencastre, H. (2007). Inferring a population structure for *Staphylococcus epidermidis* from multilocus sequence typing data. *Journal of bacteriology*, 189(6), 2540–2552. <https://doi.org/10.1128/JB.01484-06>
- Monecke, S., Bedewy, A. K., Müller, E., Braun, S. D., Diezel, C., Elsheredy, A., Kader, O., Reinicke, M., Ghazal, A., Rezk, S. i Ehricht, R. (2023). Characterisation of Methicillin Resi-

- stant *Staphylococcus aureus* from Alexandria, Egypt. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(1), 78. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010078>
- Monsen, T., Karlsson, C. i Wiström, J. (2005). Spread of Clones of Multidrug-Resistant, Coagulase-Negative Staphylococci Within a University Hospital. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 26(1), 76-80. doi:10.1086/502490
- Moon, D. C., Choi, J. H., Bobby, N., Kim, S. J., Song, H. J., Park, H. S., Gil, M. C., Yoon, S. S. i Lim, S. K. (2022). Prevalence of Bacterial Species in Skin, Urine, Diarrheal Stool, and Respiratory Samples in Cats. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(3), 324. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030324> - (a)
- Moon, D. C., Choi, J. H., Bobby, N., Kang, H. Y., Kim, S. J., Song, H. J., Park, H. S., Gil, M. C., Yoon, S. S., i Lim, S. K. (2022). Bacterial Prevalence in Skin, Urine, Diarrheal Stool, and Respiratory Samples from Dogs. *Microorganisms*, 10(8), 1668. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081668> - (b)
- Moreillon, P. i Que, Y. A. (2004). Infective endocarditis. *Lancet (London, England)*, 363(9403), 139–149. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)15266-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)15266-X)
- Morgan M. (2008). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis? *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 62(6), 1181–1187. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn405>
- Murray, P.R., Rosenthal, K.S. i Pfaller, M.A. (2018). Mikrobiologia. Edra Urban&Partner, Wrocław, 205-218
- Naziri, Z. i Majlesi, M. (2023). Comparison of the prevalence, antibiotic resistance patterns, and biofilm formation ability of methicillin-resistant *Staphylococcus pseud-intermedius* in healthy dogs and dogs with skin infections. *Veterinary research communications*, 47(2), 713–721. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-10032-7>
- Newsom, S. W. (2008). Ogston's coccus. *The Journal of hospital infection*, 70(4), 369–372. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2008.10.001>
- Nikolic, P. i Mudgil, P. (2023). The Cell Wall, Cell Membrane and Virulence Factors of *Staphylococcus aureus* and Their Role in Antibiotic Resistance. *Microorganisms*, 11(2), 259. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020259>
- Nowakowicz-Dębek, B., Wlazło, Ł., Kasela, M. i Ossowski M. (2016). Epidemiologia wielolekoopornych szczepów *Staphylococcus aureus*. *Probl Hig Epidemiol* 97(2): 106 - 112
- Ogston, A. (1881). Micro-Organisms in Surgical Diseases. *The British Medical Journal* March 1881:369-75.
- Ogundipe, F. O., Ojo, O. E., Feßler, A. T., Hanke, D., Awoyomi, O. J., Ojo, D. A., Akintokun, A. K., Schwarz, S. i Maurischat, S. (2020). Antimicrobial Resistance and Virulence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Human, Chicken and Environmental Samples within Live Bird Markets in Three Nigerian Cities. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 9(9), 588. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090588>
- Older, C.E., Diesel, A.B., Lawhon, S.D., Queiroz, C.R.R., Henker, L.C. i Rodrigues Hoffmann, A. (2019). The feline cutaneous and oral microbiota are influenced by breed and environment. *PLoS One.*, 14(7):e0220463. doi:10.1371/journal.pone.0220463
- Oliveira, D., Borges, A. i Simões, M. (2018). *Staphylococcus aureus* Toxins and Their Molecular Activity in Infectious Diseases. *Toxins*, 10(6), 252. <https://doi.org/10.3390/toxins10060252>
- Oliveira, D. C. i de Lencastre, H. (2002). Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(7), 2155–2161. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.7.2155-2161.2002>
- Oliveira, D. C., Tomasz, A. i de Lencastre, H. (2002). Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet. Infectious diseases*, 2(3), 180–189. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(02\)00227-x](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(02)00227-x)
- Ong, Z. X., Kannan, B. i Becker, D. L. (2023). Exploiting transposons in the study of *Staphylococcus aureus* pathogenesis and virulence. *Critical reviews in microbiology*, 49(3), 297–317. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2022.2052794>

- Otto M. (2013). Coagulase-negative staphylococci as reservoirs of genes facilitating MRSA infection: *Staphylococcal* commensal species such as *Staphylococcus epidermidis* are being recognized as important sources of genes promoting MRSA colonization and virulence. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 35(1), 4–11. <https://doi.org/10.1002/bies.201200112>
- Pałkiewicz, A. (2003) Podstawowe procedury laboratoryjne w bakteriologii klinicznej. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005
- Paściak, M., Dacko, W., Sikora, J., Gurlaga, D., Pawlik, K., Miękiśiak, G. i Gamian, A. (2015). Creation of an In-House Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry *Corynebacterineae* Database Overcomes Difficulties in Identification of *Nocardia farcinica* Clinical Isolates. *Journal of clinical microbiology*, 53(8), 2611–2621. <https://doi.org/10.1128/JCM.00268-15>
- Patti, J. M., Allen, B. L., McGavin, M. J. i Höök, M. (1994). MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annual review of microbiology*, 48, 585–617. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.48.100194.003101>
- Paul, N.C. (2015). MRSP: prevalence in practice. *Vet. Rec.*, 176:170-171
- Paul, N.C., Moodley, A., Ghibaud, G. i Guardabassi, L. (2011). Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in small animal veterinarians: Indirect evidence of zoonotic transmission. *Zoonoses Public Health*, 58: 533-539.].
- Peters, G., Locci, R. i Pulverer, G. (1981). Microbial colonization of prosthetic devices. II. Scanning electron microscopy of naturally infected intravenous catheters. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. 1. Abt. Originale B, Hygiene*, 173(5), 293–299.
- Peters, G., Locci, R. i Pulverer, G. (1982). Adherence and growth of coagulase-negative staphylococci on surfaces of intravenous catheters. *The Journal of infectious diseases*, 146(4), 479–482. <https://doi.org/10.1093/infdis/146.4.479>
- Plata, K., Rosato, A. E. i Wegrzyn, G. (2009). *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta biochimica Polonica*, 56(4), 597–612.
- Podkowik, M., Bania, J., Schubert, J. i Bystron, J. (2014). Gronkowce koagulazo-ujemne: nowe zagrożenie dla zdrowia publicznego? *Życie Weterynaryjne*, 89(1):60-66.
- Pompilio, A., De Nicola, S., Crocetta, V., Guarnieri, S., Savini, V., Carretto, E. i Di Bonaventura, G. (2015). New insights in *Staphylococcus pseudintermedius* pathogenicity: antibiotic-resistant biofilm formation by a human wound-associated strain. *BMC Microbiol.*, 15:109
- Porrero, M. C., Mentaberre, G., Sánchez, S., Fernández-Llario, P., Gómez-Barrero, S., Navarro-Gonzalez, N., Serrano, E., Casas-Díaz, E., Marco, I., Fernández-Garayzabal, J. F., Mateos, A., Vidal, D., Lavín, S. i Domínguez, L. (2013). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriage in different free-living wild animal species in Spain. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 198(1), 127–130. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.06.004>
- Prevost, G., Couppie, P., Prevost, P., Gayet, S., Petiau, P., Cribier, B., Monteil, H. i Piemont, Y. (1995). Epidemiological data on *Staphylococcus aureus* strains producing synergohymenotropic toxins. *Journal of medical microbiology*, 42(4), 237–245. <https://doi.org/10.1099/00222615-42-4-237>
- Proctor, R. A., von Eiff, C., Kahl, B. C., Becker, K., McNamara, P., Herrmann, M. i Peters, G. (2006). Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. *Nature reviews. Microbiology*, 4(4), 295–305. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1384>
- Quekwana D.N., Sebola D., Oguttu J.W. i Odoi A. (2017). Antimicrobial resistance patterns of *Staphylococcus* species isolated from cats presented at a veterinary academic hospital in South Africa. *BMC Vet. Res.*, 13: 286
- R Core Team (2021). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <URL: <https://www.R-project.org/>>.
- Rana, E. A., Islam, M. Z., Das, T., Dutta, A., Ahad, A., Biswas, P. K. i Barua, H. (2022). Prevalence of coagulase-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus*

- pseudintermedius* in dogs in Bangladesh. *Veterinary medicine and science*, 8(2), 498–508. <https://doi.org/10.1002/vms3.701>
- Rasheed, N. A. i Hussein, N. R. (2020). Characterization of different virulent factors in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered from Iraqis and Syrian refugees in Duhok city, Iraq. *PLoS one*, 15(8), e0237714. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237714>
- Rasheed, N.A. i Hussein, N.R. (2021). *Staphylococcus aureus*: An Overview of Discovery, Characteristics, Epidemiology, Virulence factors and Antimicrobial Sensitivity. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 8(3).
- Recsei, P., Kreiswirth, B., O'Reilly, M., Schlievert, P., Gruss, A. i Novick, R. P. (1986). Regulation of exoprotein gene expression in *Staphylococcus aureus* by agar. *Molecular & general genetics: MGG*, 202(1), 58–61. <https://doi.org/10.1007/BF00330517>
- Richter, A., Eder, I., König, B., Lutze, B., Rodloff, A. C., Thome, U. H., Weiss, M. i Chaberny, I. F. (2018). Dekolonisation bei Nachweis von Methicillin-sensiblen *Staphylococcus aureus* bei Mitarbeitern einer neonatologischen Intensivstation [Decolonization of Health Care Workers In a Neonatal Intensive Care Unit Carrying a Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Isolate]. *Gesundheitswesen (Bundesverband der Ärzte des Öffentlichen Gesundheitsdienstes (Germany))*, 80(1), 54–58. <https://doi.org/10.1055/s-0043-122277>
- Rizzotti, L., Simeoni, D., Cocconcelli, P., Gazzola, S., Dellaglio, F. i Torriani, S. (2005). Contribution of enterococci to the spread of antibiotic resistance in the production chain of swine meat commodities. *Journal of food protection*, 68(5), 955–965. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.5.955>
- Robb, A.R., Wright, E.D., Foster, A.M.E., Walker, R. i Malone, C. (2017). Skin infection caused by a novel strain of *Staphylococcus pseudintermedius* in a Siberian husky dog owner. *JMM Case Rep.*, 4:jmmcr005087
- Robinson, D. A., Monk, A. B., Cooper, J. E., Feil, E. J. i Enright, M. C. (2005). Evolutionary genetics of the accessory gene regulator (*agr*) locus in *Staphylococcus aureus*. *Journal of bacteriology*, 187(24), 8312–8321. <https://doi.org/10.1128/JB.187.24.8312-8321.2005>
- Rodrigues, A.C., Belas, A., Marques, C., Cruz, L., Gama, L.T. i Pomba, C. (2017). Risk Factors for Nasal Colonization by Methicillin-Resistant Staphylococci in Healthy Humans in Professional Daily Contact with Companion Animals in Portugal. *Microb. Drug. Resist.*, 24:434-446
- Rosenbach, F. J. (1884). *Microorganismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen*. J.F. Bergmann, Wiesbaden.
- Røken, M., Iakhno, S., Haaland, A. H., Wasteson, Y. i Bjelland, A. M. (2022). Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus* spp. from Infected Dogs to the Home Environment and Owners. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(5), 637. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050637>
- Rubin, J.E. i Chirino-Trejo, M. (2011). Prevalence, sites of colonization, and antimicrobial resistance among *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from healthy dogs in Saskatoon, Canada. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 23:351-354
- Ruzauskas, M., Couto, N., Kerziene, S., Siugzdiniene, R., Klimiene, I., Virgailis, M. i Pomba, C. (2015). Prevalence, species distribution and antimicrobial resistance patterns of methicillin-resistant staphylococci in Lithuanian pet animals. *Acta veterinaria Scandinavica*, 57(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s13028-015-0117-z> (a)
- Ruzauskas, M., Couto, N.R.S., Klimienė, I., Virgailis, M., Vaskeviciute, L. i wsp. (2015). Methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococcus* spp. prevalence in lithuanian dogs: A cross-sectional study. *Veterinarski Arhiv*, 85:175-187. (b)
- Rynhoud, H., Forde, B. M., Beatson, S. A., Abraham, S., Meler, E., Soares Magalhães, R. J. i Gibson, J. S. (2021). Molecular Epidemiology of Clinical and Colonizing Methicillin-Resistant *Staphylococcus* Isolates in Companion Animals. *Frontiers in veterinary science*, 8, 620491. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.620491>
- Sacramento, A. G., D Andrade, A. C., Teotonio, B. N., de Oliveira Santos, L. M., da Silva, L. C. B. A., Lincopan, N. i Sellera, F. P. (2022). WHO critical priority van-type vancomycin-resistant

- Enterococcus* in dogs and cats. *Preventive veterinary medicine*, 202, 105614. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105614>
- Salazar-Ospina, L. i Jiménez, J. N. (2018). High frequency of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children under 1 year old with skin and soft tissue infections. *Jornal de pediatria*, 94(4), 380–389. <https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2017.06.020>
- Saleem, A. (2017). High Frequency of Hemolysin associated Genes among *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates in Iraq. *Journal of Global Pharma Technology*, 9:308–14.
- Sasaki, T., Kikuchi, K., Tanaka, Y., Takahashi, N., Kamata, S. i Hiramatsu, K. (2007). Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *J. Clin. Microbiol.*, 45:2770-2778
- Saud, B., Khatri, G., Amatya, N., Paudel, G. i Shrestha, V. (2023). Methicillin-Resistant and Biofilm-Producing *Staphylococcus aureus* in Nasal Carriage among Health Care Workers and Medical Students. *The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology = Journal canadien des maladies infectieuses et de la microbiologie medicale*, 2023, 8424486. <https://doi.org/10.1155/2023/8424486>
- Schleifer, K.H. i Kloos, W.E. (1975). Isolation and characterization of staphylococci from human skin. I. Amended descriptions of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* and descriptions of three new species: *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus haemolyticus*, and *Staphylococcus xylosus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 25:50 – 61.
- Scott, N., Seeraj, C., Satram, B., Sandy, N. M., Seuradge, K., Seerattan, B., Seeram, I., Stewart-Johnson, A. i Adesiyun, A. (2022). Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pets and their owners in rural and urban communities in Trinidad. *Journal of infection in developing countries*, 16(9), 1458–1465. <https://doi.org/10.3855/jidc.13597>
- Seah, C., Alexander, D. C., Louie, L., Simor, A., Low, D. E., Longtin, J. i Melano, R. G. (2012). MupB, a new high-level mupirocin resistance mechanism in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 56(4), 1916–1920. <https://doi.org/10.1128/AAC.05325-11>
- Sebola, D. C., Oguttu, J. W., Kock, M. M. i Qekwana, D. N. (2023). Hospital-acquired and zoonotic bacteria from a veterinary hospital and their associated antimicrobial-susceptibility profiles: A systematic review. *Frontiers in veterinary science*, 9, 1087052. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1087052>
- Shallcross, L. J., Fragaszy, E., Johnson, A. M. i Hayward, A. C. (2013). The role of the Pantone-Valentine leucocidin toxin in staphylococcal disease: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet. Infectious diseases*, 13(1), 43–54. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70238-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70238-4)
- Shane, A. L. i Stoll, B. J. (2014). Neonatal sepsis: progress towards improved outcomes. *The Journal of infection*, 68 Suppl 1, S24–S32. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2013.09.011>
- Shopsin, B., Gomez, M., Montgomery, S. O., Smith, D. H., Waddington, M., Dodge, D. E., Bost, D. A., Riehman, M., Naidich, S. i Kreiswirth, B. N. (1999). Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of clinical microbiology*, 37(11), 3556–3563. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.11.3556-3563.1999>
- Shopsin, B., Mathema, B., Alcabes, P., Said-Salim, B., Lina, G., Matsuka, A., Martinez, J. i Kreiswirth, B. N. (2003). Prevalence of *agr* specificity groups among *Staphylococcus aureus* strains colonizing children and their guardians. *Journal of clinical microbiology*, 41(1), 456–459. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.1.456-459.2003>
- Shore, A. C., Rossney, A. S., Brennan, O. M., Kinnevey, P. M., Humphreys, H., Sullivan, D. J., Goering, R. V., Ehricht, R., Monecke, S. i Coleman, D. C. (2011). Characterization of a novel arginine catabolic mobile element (ACME) and staphylococcal chromosomal cassette *mec* composite island with significant homology to *Staphylococcus epidermidis* ACME type II in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genotype ST22-MRSA-IV. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(5), 1896–1905. <https://doi.org/10.1128/AAC.01756-10>

- Silva, V., Araújo, S., Monteiro, A., Eira, J., Pereira, J. E., Maltez, L., Igrejas, G., Lemsaddek, T. S., i Poeta, P. (2023). *Staphylococcus aureus* and MRSA in Livestock: Antimicrobial Resistance and Genetic Lineages. *Microorganisms*, 11(1), 124. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010124>
- Silva, M.B., Ferreira, F.A., Garcia, L.N.N., Silva-Carvalho, M.C., Botelho, L.A., Figueiredo, A.M. i Vieira-da-Motta, O. (2015). An evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for the identification of *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from canine infections. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 27:231-235
- Sjoberg, D., Whiting, K., Curry, M., Lavery, J. i Larmarange, J. (2021). Reproducible Summary Tables with the gtsummary Package. *The R Journal*, 13, 570-580. doi: 10.32614/RJ-2021-053 <URL: <https://doi.org/10.32614/RJ-2021-053>>.
- Soares Magalhães, R. J., Loeffler, A., Lindsay, J., Rich, M., Roberts, L., Smith, H., Lloyd, D. H., i Pfeiffer, D. U. (2010). Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in dogs and cats: a case-control study. *Veterinary research*, 41(5), 55. <https://doi.org/10.1051/vetres/2010028>
- Somayaji, R., Priyantha, M.A., Rubin, J.E. i Church, D. (2016). Human infections due to *Staphylococcus pseudintermedius*, an emerging zoonosis of canine origin: report of 24 cases. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 85:471-476. – (a)
- Somayaji, R., Rubin, J.E., Priyantha, M.A. i Church, D. (2016). Exploring *Staphylococcus pseudintermedius*: an emerging zoonotic pathogen? *Future Microbiol.*, 11:1371-1374 – (b)
- Souza-Silva, T., Rossi, C. C., Andrade-Oliveira, A. L., Vilar, L. C., Pereira, M. F., Penna, B. A., i Giambiagi-deMarval, M. (2022). Interspecies transfer of plasmid-borne gentamicin resistance between *Staphylococcus* isolated from domestic dogs to *Staphylococcus aureus*. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 98, 105230. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105230>
- Stefańska, J. (2003). Oporność gronkowców złocistych na środki przeciwbakteryjne. *Prospects in Pharmaceutical Sciences*. 1., 18-24. 10.56782/ppp.42.
- Sukur, H. i Esendal, O. (2020). Presence and antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci isolated from animals in a Veterinary Teaching Hospital in Cyprus. *Veterinarni Medicina.*, 65:191-198.
- Szewczyk, E.M. (2019). Diagnostyka bakteriologiczna. Wyd. III. Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Szymanek-Majchrzak, K., Kosiński, J., Żak, K., Sułek, K., Młynarczyk, A. i Młynarczyk, G. (2019). Prevalence of methicillin resistant and mupirocin-resistant *Staphylococcus aureus* strains among medical students of Medical University in Warsaw. *Przegląd epidemiologiczny*, 73(1), 39–48. <https://doi.org/10.32394/pe.73.05>
- Tabatabaei, S., Najafifar, A., Askari Badouei, M., Zahraei Salehi, T., Ashrafi Tamai, I. i wsp. (2019). Genetic characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in pets and veterinary personnel in Iran: new insights into emerging methicillin-resistant *S. pseudintermedius* (MRSP). *J Glob Antimicrob Resist.*, 16:6-10. doi: 10.1016/j.jgar.2018.08.022.
- Tajima, A., Iwase, T., Shinji, H., Seki, K. i Mizunoe, Y. (2009). Inhibition of endothelial interleukin-8 production and neutrophil transmigration by *Staphylococcus aureus* beta-hemolysin. *Infection and immunity*, 77(1), 327–334. <https://doi.org/10.1128/IAI.00748-08>
- Takeuchi, S., Maeda, T., Hashimoto, N., Imaizumi, K., Kaidoh, T. i Hayakawa, Y. (2001). Variation of the *agr* locus in *Staphylococcus aureus* isolates from cows with mastitis. *Veterinary microbiology*, 79(3), 267–274. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(00\)00354-0](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(00)00354-0)
- Tanner, M.A., Everett, C.L. i Youvan, D.C. (2000). Molecular phylogenetic evidence for noninvasive zoonotic transmission of *Staphylococcus intermedius* from a canine pet to a human. *J. Clin. Microbiol.*, 38: 1628-1631
- Taylor, T. A. i Unakal, C. G. (2022). *Staphylococcus Aureus*. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Thomer, L., Schneewind, O. i Missiakas, D. (2016). Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections. *Annual review of pathology*, 11, 343–364. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012615-044351>

- Thomsen, I. P., Kadari, P., Soper, N. R., Riddell, S., Kiska, D., Creech, C. B. i Shaw, J. (2019). Molecular Epidemiology of Invasive *Staphylococcus aureus* Infections and Concordance with Colonization Isolates. *The Journal of pediatrics*, 210, 173–177. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2019.03.004>
- Thomson, P., García, P., Miles, J., Isla, D., Yáñez, C., Santibáñez, R., Núñez, A., Flores-Yáñez, C., Del Río, C. i Cuadra, F. (2022). Isolation and Identification of *Staphylococcus* Species Obtained from Healthy Companion Animals and Humans. *Veterinary sciences*, 9(2), 79. <https://doi.org/10.3390/vetsci9020079>
- Thurlow, L., Joshi, G., Clark, J., Spontak, J., Neely, C., Maile, R. i Richardson A. (2013). Functional modularity of the argi nine catabolic mobile element contributes to the success of USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Cell Host Microbe*. 13, 100107.
- Tong, S.Y., Davis, J.S., Eichenberger, E., Holland, T.L. i Fowler, V.G. Jr. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical microbiology reviews*, 28(3):603-61
- Traber, K. E., Lee, E., Benson, S., Corrigan, R., Cantera, M., Shopsin, B. i Novick, R. P. (2008). *agr* function in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *Microbiology (Reading, England)*, 154(Pt 8), 2265–2274. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/011874-0>
- Trościańczyk, A., Nowakiewicz, A., Gnat, S., Łagowski, D. i Osińska, M. (2021). Are dogs and cats a reservoir of resistant and virulent *Enterococcus faecalis* strains and a potential threat to public health? *Journal of applied microbiology*, 131(4), 2061–2071. <https://doi.org/10.1111/jam.15074>
- Ubysz, J. i Tobiasz, E. (2016). Penicylina-pleśń, która ratuje życie. *Analit 2*: 152-154.
- Van der Goot, G. (2001). Pore-forming toxins. Springer Science & Business Media.
- van Duijkeren, E., Catry, B., Greko, C., Moreno, M. A., Pomba, M. C., Pyörälä, S., Ruzauskas, M., Sanders, P., Threlfall, E. J., Torren-Edo, J., Törneke, K. i Scientific Advisory Group on Antimicrobials (SAGAM) (2011). Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 66(12), 2705–2714. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr367> - (a)
- van Duijkeren, E., Kamphuis, M., van der Mije, I.C., Laarhoven, L.M., Duim, B. i wsp. (2011). Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* between infected dogs and cats and contact pets, humans and the environment in households and veterinary clinics. *Vet Microbiol.*, 150(3-4):338-343. doi:10.1016/j.vetmic.2011.02.012 - (b)
- Van Hoovels, L., Vankeerberghen, A., Boel, A., Van Vaerenbergh, K. i De Beenhouwer, H. (2006). First case of *Staphylococcus pseudintermedius* infection in a human. *J. Clin. Microbiol.*, 44:4609-4612
- Vandenesch, F., Naimi, T., Enright, M. C., Lina, G., Nimmo, G. R., Heffernan, H., Liassine, N., Bes, M., Greenland, T., Reverdy, M. E. i Etienne, J. (2003). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerging infectious diseases*, 9(8), 978–984. <https://doi.org/10.3201/eid0908.030089>
- Vandepitte, J., Verhaegen, J., Engbaek, K., Rohner, P., Piot, P. i Heuck, C.C. (2003). Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. 2nd ed. World Health Organization.
- Vogel, A. M., Borland, A., van der Werf, B., Morales, A., Freeman, J., Taylor, S., Anderson, P., Horsfall, M., Drinkovic, D. i Lennon, D. R. (2020). Community-acquired invasive *Staphylococcus aureus*: Uncovering disparities and the burden of disease in Auckland children. *Journal of paediatrics and child health*, 56(2), 244–251. <https://doi.org/10.1111/jpc.14573>
- von Eiff, C., Peters, G. i Heilmann, C. (2002). Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *The Lancet. Infectious diseases*, 2(11), 677–685. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(02\)00438-3](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(02)00438-3)
- von Eiff, C., Vaudaux, P., Kahl, B. C., Lew, D., Emler, S., Schmidt, A., Peters, G. i Proctor, R. A. (1999). Bloodstream infections caused by small-colony variants of coagulase-negative staphylococci following pacemaker implantation. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 29(4), 932–934. <https://doi.org/10.1086/520462>

- Waldvogel, F.A. (2000) *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell, G.L., Bennett, J. E. and Dolin, R., Eds., *Principles and Practice of Infectious Diseases*, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2069-2092.
- Walev, I., Weller, U., Strauch, S., Foster, T. i Bhakdi, S. (1996). Selective killing of human monocytes and cytokine release provoked by sphingomyelinase (beta-toxin) of *Staphylococcus aureus*. *Infection and immunity*, 64(8), 2974–2979. <https://doi.org/10.1128/iai.64.8.2974-2979.1996>
- Wanecka, A., Król, J., Twardoń, J., Mrowiec, J., Korzeniowska-Kowal, A. i Wzorek, A. (2019). Efficacy of MALDI-TOF mass spectrometry as well as genotypic and phenotypic methods in identification of staphylococci other than *Staphylococcus aureus* isolated from intramammary infections in dairy cows in Poland. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 31(4), 523–530. <https://doi.org/10.1177/1040638719845423>
- Wang, S. M., Liu, C. C., Tseng, H. W., Yang, Y. J., Lin, C. H., Huang, A. H. i Wu, Y. H. (1999). *Staphylococcus capitis* bacteremia of very low birth weight premature infants at neonatal intensive care units: clinical significance and antimicrobial susceptibility. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*, 32(1), 26–32.
- Wattinger, L., Stephan, R., Layer, F. i Johler, S. (2012). Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates associated with food intoxication with isolates from human nasal carriers and human infections. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 31(4), 455–464. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1330-y>
- Weese, J.S., Dick, H., Willey, B.M., McGeer, A., Kreiswirth, B.N., Innis, B. i Leow, D.E. (2006). Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. *Vet Microbiol.*, 115(1-3):148-155. doi:10.1016/j.vetmic.2006.01.004
- Wegener, A., Damborg, P., Guardabassi, L., Moodley, A., Mughini-Gras, L., Duim, B., Wagenaar, J.A. i Broens, E.M. (2020). Specific staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) types and clonal complexes are associated with low-level amoxicillin/clavulanic acid and cefalotin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 75:508-511
- Wegener, A., Duim, B., van der Graaf-van Bloois, L., Zomer, A. L., Visser, C. E., Spaninks, M., Timmerman, A. J., Wagenaar, J. A. i Broens, E. M. (2022). Within-Household Transmission and Bacterial Diversity of *Staphylococcus pseudintermedius*. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(8), 850. <https://doi.org/10.3390/pathogens11080850>
- Welch, W. H. (1891). Conditions underlying the infection of wounds. *Am J Med Sci*, 102(5), 439-465.
- Wertheim, H. F., Verveer, J., Boelens, H. A., van Belkum, A., Verbrugh, H. A. i Vos, M. C. (2005). Effect of mupirocin treatment on nasal, pharyngeal, and perineal carriage of *Staphylococcus aureus* in healthy adults. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(4), 1465–1467. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.4.1465-1467.2005>
- Wettstein, K., Descloux, S., Rossano, A. i Perreten, V. (2008). Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Switzerland: Three cases of urinary tract infections in cats. *Schweiz Arch. Tierheilkd.*, 150: 339-343
- Wickham, H. i Bryan, J. (2019). readxl: Read Excel Files. *R package* version 1.3.1, <URL:<https://CRAN.R-project.org/package=readxl>>.
- Wickham, H., François, R., Henry, L. i Müller, K. (2022). dplyr: A Grammar of Data Manipulation. *R package* version 1.0.10, <URL: <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>>.
- Widerström, M., Monsen, T., Karlsson, C. i Wiström, J. (2006). Molecular epidemiology of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci in a Swedish county hospital: evidence of intra- and interhospital clonal spread. *The Journal of hospital infection*, 64(2), 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2006.06.013>
- Widerström, M., Wiström, J., Ek, E., Edebro, H. i Monsen, T. (2011). Near absence of methicillin-resistance and pronounced genetic diversity among *Staphylococcus epidermidis* isolated from healthy persons in northern Sweden. *APMIS: acta pathologica*,

- microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 119(8), 505–512. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2011.02757.x>
- Wipf, J. R. i Perreten, V. (2016). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from dogs and cats in Switzerland. Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* Stämme isoliert aus Hunden und Katzen in der Schweiz. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 158(6), 443–450. <https://doi.org/10.17236/sat00070>
- Władyka, B., Piejko, M., Bzowska, M., Pieta, P., Krzysik, M., Mazurek, Ł., Guevara-Lora, I., Bukowski, M., Sabat, A. J., Friedrich, A. W., Bonar, E., Międzobrodzki, J., Dubin, A. i Mak, P. (2015). A peptide factor secreted by *Staphylococcus pseudintermedius* exhibits properties of both bacteriocins and virulence factors. *Scientific reports*, 5, 14569. <https://doi.org/10.1038/srep14569>
- Woodin, A. M. (1960). Purification of the two components of leucocidin from *Staphylococcus aureus*. *The Biochemical journal*, 75(1), 158–165. <https://doi.org/10.1042/bj0750158>
- World Health Organization. (2017). WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> [dostęp: 29.05.2023; 10:15].
- Worthing K.A., Brown J., Gerber L., Trott D.J., Abraham S. i Norris J.M. (2018). Methicillin-resistant staphylococci amongst veterinary personnel, personnel-owned pets, patients and the hospital environment of two small animal veterinary hospitals. *Vet. Microbiol.*, 223: 79-85. - (a)
- Worthing, K.A., Schwendener, S., Perreten, V., Saputra, S., Coombs, G.W., Pang, S., Davies, M.R., Abraham, S., Trott, D.J. i Norris, J.M. (2018). Characterization of staphylococcal cassette chromosome *mec* elements from methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* infections in Australian animals. *mSphere*, 3: e00491- 18. - (b)
- Wos-Oxley, M. L., Plumeier, I., von Eiff, C., Taudien, S., Platzer, M., Vilchez-Vargas, R., Becker, K. i Pieper, D. H. (2010). A poke into the diversity and associations within human anterior nares microbial communities. *The ISME journal*, 4(7), 839–851. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.15>
- Xie, Y., He, Y., Gehring, A., Hu, Y., Li, Q., Tu, S. I. i Shi, X. (2011). Genotypes and toxin gene profiles of *Staphylococcus aureus* clinical isolates from China. *PloS one*, 6(12), e28276. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0028276>
- Xue, H., Wu, Z., Qiao, D., Tong, C. i Zhao, X. (2017). Global acquisition of genetic material from different bacteria into the staphylococcal cassette chromosome elements of a *Staphylococcus epidermidis* isolate. *International journal of antimicrobial agents*, 50(4), 581–587. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.06.015>
- Yaovi, A. B., Sessou, P., Tonouhewa, A. B. N., Hounmanou, G. Y. M., Thomson, D., Pelle, R., Farougou, S. i Mitra, A. (2022). Prevalence of antibiotic-resistant bacteria amongst dogs in Africa: A meta-analysis review. *The Onderstepoort journal of veterinary research*, 89(1), e1–e12. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v89i1.1970>
- Yoong, P. i Torres, V. J. (2013). The effects of *Staphylococcus aureus* leukotoxins on the host: cell lysis and beyond. *Current opinion in microbiology*, 16(1), 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.01.012>
- Youn, J.H., Park, Y.H., Hang'ombe, B. i Sugimoto, C. (2014). Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from companion animals and environment in the veterinary teaching hospital in Zambia, Africa. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 37:123-130
- Zakošek Pipan, M., Švara, T., Zdovc, I., Papić, B., Avberšek, J., Kušar, D. i Mrkun, J. (2019). *Staphylococcus pseudintermedius* septicemia in puppies after elective cesarean section: confirmed transmission via dam's milk. *BMC Vet. Res.*, 15:41
- Zeidler, A. (2012). Ocena odpowiedzi cytokinowej u osób dorosłych z przewlekłymi zakażeniami *Staphylococcus aureus* [Rozprawa doktorska]. Repozytorium Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Spis tabel

Tabela 1 Charakterystyka badanych zwierząt i ludzi	39
Tabela 2 Zestawienie sekwencji starterów wykorzystanych w reakcjach PCR	44
Tabela 3 Wykaz substancji i stężeń zastosowanych do oznaczeń lekooporności metodą dyfuzyjno-krażkową	47
Tabela 4 Charakterystyka badanych ludzi	51
Tabela 5 Charakterystyka badanych zwierząt	52
Tabela 6 Izolacja gronkowców od badanych zwierząt	54
Tabela 7 Izolacja gronkowców koagulazo-dodatnich i koagulazo-ujemnych od badanych kotów i psów	54
Tabela 8 Szczegółowe dane dotyczące próbek pozyskanych od ludzi	55
Tabela 9 Częstość występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> z uwzględnieniem lokalizacji pobrania wymazu oraz gatunku gospodarza	56
Tabela 10 Częstość występowania szczepów <i>S. aureus</i> z uwzględnieniem lokalizacji pobrania wymazu oraz gatunku gospodarza	57
Tabela 11 Częstość występowania typów <i>spa</i> <i>S. aureus</i>	59
Tabela 12 Częstość występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> oraz <i>S. aureus</i> posiadających gen oporności	63
Tabela 13 Częstość występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> oraz <i>S. aureus</i> posiadających geny determinujące oporność na β -laktamy (<i>blaZ</i> , <i>mecA</i> , <i>mecC</i>)	64
Tabela 14 Częstość występowania szczepów <i>S. aureus</i> oraz <i>S. pseudintermedius</i> posiadających geny detereminujące oporność na tetracykliny (<i>tet(K)</i> , <i>tet(M)</i> , <i>tet(L)</i> , <i>tet(O)</i>)	65
Tabela 15 Częstość występowania szczepów <i>S. aureus</i> oraz <i>S. pseudintermedius</i> posiadających geny determinujące oporność na erytromycynę (<i>ermA</i> , <i>ermB</i> , <i>ermC</i>)	65
Tabela 16 Częstość występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> oraz <i>S. aureus</i> posiadających geny determinujące oporność na wankomycynę (<i>vanA</i> i <i>vanB</i>)	66
Tabela 17 Częstość występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> oraz <i>S. aureus</i> opornych na wybrane chemioterapeutyki przeciwdrobnoustrojowe	66
Tabela 18 Częstość występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> oraz <i>S. aureus</i> opornych na oksacylinę/cefoksytynę*, penicylinę G, amoksycylinę z kwasem klawulanowym oraz ampicylinę	68
Tabela 19 Częstość występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> i <i>S. aureus</i> opornych na gentamycynę i tobramycynę	68
Tabela 20 Częstość występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> oraz <i>S. aureus</i> opornych na tetracyklinę i tigecyklinę	69
Tabela 21 Częstość występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> oraz <i>S. aureus</i> opornych na ciprofloksacynę i marbofloksacynę	69

Tabela 22 Częstość występowania metycylinooporności wśród szczepów <i>S. pseudintermedius</i> oraz <i>S. aureus</i>	71
Tabela 23 Częstość występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> wielolekoopornych na poziomie fenotypowym z uwzględnieniem gatunku gospodarza	76
Tabela 24 Częstość występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> wielolekoopornych na poziomie genotypowym z uwzględnieniem gatunku gospodarza	77
Tabela 25 Rozkład częstości występowania szczepów <i>S. aureus</i> wielolekoopornych na poziomie fenotypowym z uwzględnieniem gatunku gospodarza	77
Tabela 26 Rozkład częstości występowania szczepów <i>S. aureus</i> wielolekoopornych na poziomie genotypowym z uwzględnieniem gatunku gospodarza	78
Tabela 27 Oporność na metycylinę szczepów gronkowców koagulazo-ujemnych pochodzących od zwierząt (badanie metodą MIC)	78
Tabela 28 Analiza statystyczna czynników ryzyka związanych z kolonizacją badanych zwierząt przez gronkowce	80
Tabela 29 Rozkład częstości występowania szczepów MSSP i MRSP wraz z testem chi-kwadrat niezależności i OR dla czynników determinujących występowanie szczepów MRSP	82
Tabela 30 Rozkład częstości występowania szczepów MSSA i MRSA wraz z testem chi-kwadrat niezależności i OR dla czynników determinujących występowanie MRSA	85
Tabela 31 Rozkład częstości występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> wraz z testem dokładnym Fishera i OR dla czynników determinujących występowanie wielolekooporności na poziomie fenotypowym	88
Tabela 32 Rozkład częstości występowania szczepów <i>S. pseudintermedius</i> wraz z testem chi-kwadrat niezależności i OR dla czynników determinujących występowanie wielolekooporności na poziomie genotypowym	89
Tabela 33 Rozkład częstości występowania <i>S. aureus</i> wraz z testem chi-kwadrat niezależności i OR dla czynników determinujących występowanie wielolekooporności na poziomie fenotypowym	90
Tabela 34 Rozkład częstości występowania <i>S. aureus</i> wraz z testem chi-kwadrat niezależności i OR dla czynników determinujących występowanie MDR na poziomie genotypowym	91

Spis rycin

Rycina 1 Systematyka bakterii z rodzaju <i>Staphylococcus</i> (opracowanie na podstawie Szewczyk, 2019).	8
Rycina 2 Przykład wyniku badania bakteriologicznego wymazu z nosogardzieli człowieka (archiwum własne)	11
Rycina 3 Teoretyczny model potencjalnej transmisji drobnoustrojów oraz zależności między zwierzęciem i jego opiekunem oraz wybranymi czynnikami ryzyka kolonizacji przez gronkowce (opracowanie własne).	13
Rycina 4 Wzrost czterech szczepów gronkowca złocistego na agarze z dodatkiem krwi baraniej (archiwum własne).	17
Rycina 5 Mechanizmy oporności gronkowców na wybrane środki przeciwdrobnoustrojowe (opracowanie własne).	21
Rycina 6 Fragment płytki, na której wykonano badanie lekooporności szczepu <i>S. pseudintermedius</i> z widocznym wzrostem bakterii przy krążku nasączonym oksacyliną (archiwum własne).	31
Rycina 7 Szczep <i>S. pseudintermedius</i> pochodzący od zdrowego klinicznie psa, prezentujący wielolekooporność (MDR) (archiwum własne).	31
Rycina 8 Porównanie wyglądu kolonii <i>S. aureus</i> (a), <i>S. pseudintermedius</i> (b), <i>S. hominis</i> (c) oraz <i>S. epidermidis</i> (d) na agarze z dodatkiem krwi baraniej (archiwum własne).	40
Rycina 9 Wzrost bakterii z rodzaju <i>Staphylococcus</i> na podłożu Chapmana (archiwum własne).	40
Rycina 10 Płytki do identyfikacji gatunkowej szczepów bakteryjnych w spektrometrze Bruker Daltonics UltrafleXtreme (próbki naniesiono na polach w wierszach od A do I) (archiwum własne).	42
Rycina 11 Wizualizacja produktów reakcji PCR dla genu <i>pta</i> dla szczepów <i>S. pseudintermedius</i> po rozdziale w żelu elektroforetycznym. Widoczne są produkty wielkości ok. 320 par zasad (archiwum własne).	45
Rycina 12 Wizualizacja produktów trawienia enzymatycznego w przebiegu procedury PCR-RFLP według Mališová i wsp. (2019) dla szczepów <i>S. pseudintermedius</i> . Obecność po trawieniu enzymem <i>MboI</i> dwóch prążków potwierdza przynależność do gatunku <i>S. pseudintermedius</i> (archiwum własne).	46
Rycina 13 Płytki titracyjna zastosowana w metodzie MIC, widziana od spodu. Strzałki wskazują wzrost bakterii w kolejnych roztworach oksacyliny (archiwum własne).	48
Rycina 14 Częstość izolacji gronkowców od ludzi.	55
Rycina 15 Procentowy rozkład szczepów <i>S. pseudintermedius</i> i <i>S. aureus</i> u ludzi z uwzględnieniem lokalizacji wymazu.	57
Rycina 16 Procentowy rozkład szczepów <i>S. pseudintermedius</i> i <i>S. aureus</i> u psów z uwzględnieniem lokalizacji wymazu.	58

Rycina 17 Procentowy rozkład szczepów <i>S. pseudintermedius</i> i <i>S. aureus</i> u kotów z uwzględnieniem lokalizacji wymazu.	58
Rycina 18 Udział szczepów MRSP oraz MRSA na podstawie badania MIC w odniesieniu do wszystkich badanych szczepów <i>S. pseudintermedius</i> i <i>S. aureus</i> .	70
Rycina 19 Procentowe zestawienie występowania szczepów opornych na metycylinę w zależności od lokalizacji (procent liczony w stosunku do wszystkich szczepów metycylinoopornych)	72
Rycina 20 Procentowe zestawienie występowania szczepów metycylinoopornych w zależności od lokalizacji (procent wskazuje odsetek szczepów opornych w odniesieniu do wszystkich wymazów pobranych w danej lokalizacji)	72
Rycina 21 Procentowe zestawienie występowania szczepów posiadających gen <i>mecA</i> w zależności od lokalizacji pobrania wymazu (procent liczony w stosunku do wszystkich szczepów posiadających gen <i>mecA</i>)	74
Rycina 22 Procentowe zestawienie występowania szczepów posiadających gen <i>mecA</i> w zależności od lokalizacji (procent wskazuje odsetek szczepów opornych w odniesieniu do wszystkich szczepów pobranych z danej lokalizacji)	74
Rycina 23 Procentowe zestawienie występowania szczepów posiadających gen <i>mecC</i> w zależności od lokalizacji pobrania wymazu (procent liczony w stosunku do wszystkich szczepów posiadających gen <i>mecC</i>)	75
Rycina 24 Procentowe zestawienie występowania szczepów posiadających gen <i>mecC</i> w zależności od lokalizacji (procent wskazuje odsetek szczepów opornych w odniesieniu do wszystkich szczepów z danej lokalizacji)	75

ZAŁĄCZNIKI

Załącznik 1 Opinia Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu nr KB – 814/2019	134
Załącznik 2 Odpowiedź Lokalnej Komisji do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach we Wrocławiu w sprawie pisma nr 076/2019	136
Załącznik 3 Informacja o badaniu	137
Załącznik 4 Informacja o sposobie gromadzenia i przetwarzania danych osobowych	138
Załącznik 5 Informacja o ubezpieczeniu badania	139
Załącznik 6 Formularz świadomej zgody na udział w badaniu osoby dorosłej	140
Załącznik 7 Formularz świadomej zgody na udział w badaniu dziecka	141
Załącznik 8 Ankieta dla uczestnika badania - osoby dorosłe	142
Załącznik 9 Ankieta dla uczestnika badania - dzieci	144
Załącznik 10 Ankieta dotycząca badanego zwierzęcia	146
Załącznik 11 Prewalencja bakterii z rodzaju <i>Staphylococcus</i> u kotów	147
Załącznik 12 Prewalencja bakterii z rodzaju <i>Staphylococcus</i> u psów	150

Załącznik 1

KOMISJA BIOETYCZNA
przy
Uniwersytecie Medycznym
we Wrocławiu
ul. Pasteura 1; 50-367 WROCLAW

OPINIA KOMISJI BIOETYCZNEJ Nr KB – 814/2019

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu, powołana zarządzeniem Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu nr 133/XV R/2017 z dnia 21 grudnia 2017 r. oraz działająca w trybie przewidzianym rozporządzeniem Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. (Dz.U. nr 47, poz. 480) na podstawie ustawy o zawodzie lekarza z dnia 5 grudnia 1996 r. (Dz.U. nr 28 z 1997 r. poz. 152 z późniejszymi zmianami) w składzie:

prof. dr hab. Jacek Daroszewski (choroby wewnętrzne, endokrynologia, diabetologia)
prof. dr hab. Krzysztof Grabowski (chirurgia)
dr Henryk Kaczkowski (chirurgia szczękowa, chirurgia stomatologiczna)
mgr Irena Knabel-Krzyszowska (farmacja)
prof. dr hab. Jerzy Liebhart (choroby wewnętrzne, alergologia)
ks. dr hab. Piotr Mrzygłód, prof. nadzw. (duchowny)
mgr Luiza Müller (prawo)
dr hab. Sławomir Sidorowicz (psychiatria)
prof. dr hab. Leszek Szenborn, (pediatria, choroby zakaźne)
Danuta Tarkowska (pielęgniarstwo)
prof. dr hab. Anna Wiela-Hojeńska (farmakologia kliniczna)
dr hab. Andrzej Wojnar, prof. nadzw. (histopatologia, dermatologia) przedstawiciel
Dolnośląskiej Izby Lekarskiej)
dr hab. Jacek Zieliński (filozofia)

pod przewodnictwem
prof. dr hab. Jana Kornafela (ginekologia i położnictwo, onkologia)

Przestrzegając w działalności zasad Good Clinical Practice oraz zasad Deklaracji Helsińskiej,
po zapoznaniu się z projektem badawczym pt.

„Charakterystyka epidemiologiczna gronkowców koagulazo – dodatnich izolowanych od
ludzi i zwierząt”

zgłoszonym przez **lek. wet. Martę Miszczak** doktorantkę Szkoły Doktorskiej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz złożonymi wraz z wnioskiem dokumentami, w tajnym głosowaniu **postanowiła wyrazić zgodę** na przeprowadzenie badania w Katedrze i Klinice Pediatrii, Chorób Infekcyjnych Uniwersytetu Medycznego pod nadzorem **prof. dr hab. Leszka Szeborna** pod warunkiem zachowania anonimowości uzyskanych danych oraz w Zakładzie Chorób Zakaźnych i Administracji Weterynaryjnej Katedry Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu pod nadzorem **dr hab. Krzysztofa Ryguły, prof. nadzw.**

Pouczenie: W ciągu 14 dni od otrzymania decyzji wnioskodawcy przysługuje prawo odwołania do Komisji Odwoławczej za pośrednictwem Komisji Bioetycznej UM we Wrocławiu

Opinia powyższa dotyczy: projektu badawczego będącego podstawą rozprawy doktorskiej

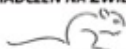
Wrocław, dnia 13 grudnia 2019 r.

BW

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KOMISJA BIOETYCZNA
Przewodniczący
prof. dr hab. Jan Komarfel

Załącznik 2

LOKALNA KOMISJA ETYCZNA DO SPRAW DOŚWIADCZEŃ NA ZWIERZĘTACH WE WROCŁAWIU



Institut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda, PAN
ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław
tel.: (071) 337-11-72 wew. 241 lub 370 99 39, fax: (071) 337-21-71

Wrocław, 20.11.2019

dr hab. Krzysztof Rypuła
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy
we Wrocławiu
ul. K.C. Norwida 31
50-375 Wrocław

Odpowiedź w sprawie pisma nr 076/2019

z prośbą o wyrażenie opinii związanej z koniecznością złożenia wniosku na przeprowadzenie doświadczenia „Charakterystyka epidemiologiczna gronkowców koagulazo-dodatnich izolowanych od ludzi i zwierząt” z dnia 12.11.2019, złożonego przez Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu Wydział Medycyny Weterynaryjnej, zaplanowanego przez dr hab. Krzysztofa Rypułę, prof. nadzw.

W odpowiedzi na pismo nr 076/2019 dotyczące pobierania wymazów od pacjentów lecznic weterynaryjnych, LKE informuje, iż zgodnie z art.2.1. Ustawy, pkt 6) za procedurę uznaje się „każdą formę wykorzystania zwierząt do celów określonych w art.3, która może spowodować u zwierzęcia ból, cierpienie, dystres lub trwałe uszkodzenie organizmu, w stopniu równym ukłuciu igłą lub intensywniejszym, a także czynności mające na celu lub mogące spowodować urodzenie się lub wylęg zwierzęcia albo powstanie i utrzymanie genetycznie zmodyfikowanej linii zwierząt w warunkach bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia organizmu, w stopniu równym ukłuciu igłą lub intensywniejszym; nie jest procedurą uśmiercenie zwierzęcia wyłącznie po to, aby wykorzystać jego narządy lub tkanki do celów określonych w art.3”. Ponadto, zgodnie z art.1.2 Ustawy nie stosuje się do:1) usług weterynaryjnych w rozumieniu ustawy z dnia 18 grudnia 2003r. o zakładach leczniczych dla zwierząt (Dz.U. z2019 r. poz. 24), a także czynności rolniczych, w tym chowu lub hodowli zwierząt prowadzonych zgodnie z przepisami o ochronie zwierząt, niemających na celu wykonywania procedur.

oraz 5) czynności, które zgodnie ze sztuką lekarsko-weterynaryjną nie powodują u zwierzęcia bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia organizmu, w stopniu równym ukłuciu igłą lub intensywniejszym.

LOKALNA KOMISJA ETYCZNA
DS. DOŚWIADCZEŃ NA ZWIERZĘTACH
WE WROCŁAWIU
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN
53-114 Wrocław, ul. Rudolfa Weigla 12
tel (71) 337 11 72 wew. 181, (71) 370 99 39 wew 181

Podpis przewodniczącego

dr hab. Joanna Wętrzyk

Przewodnicząca
Lokalnej Komisji Etycznej
ds. Doświadczeń na Zwierzętach
we Wrocławiu

Załącznik 3

INFORMACJA O BADANIU

Tytuł badania Charakterystyka epidemiologiczna gronkowców koagulazo – dodatnich izolowanych od ludzi i zwierząt.

Imię i nazwisko badacza **Lek. wet. Marta Miszczak**

Szanowna/y Pani/ie
poproszono Panią/a o udział w projekcie badawczym mającym na celu zbadanie bezobjawowego nosicielstwa bakterii u ludzi i zwierząt oraz transmisji zakażeń bakteryjnych między dziećmi, a ich domowymi zwierzętami. Przed wyrażeniem zgody należy zapoznać się z niniejszą 'Informacją' i upewnić się, że jest ona zrozumiała. Dokument ten opisuje cel badania, procedury, korzyści oraz zagrożenia wynikające z badania.
Badacz w razie potrzeby wyjaśni wszystkie wątpliwości.

Jeśli zdecyduje się Pani/Pan na udział swój lub dziecka w projekcie badawczym, zostanie Pani/Pan poproszona/y o podpisanie „Formularza Świadomej Zgody na udział w badaniu”.
Może Pani/Pan również zrezygnować z udziału swojego lub dziecka w dowolnym momencie bez podania przyczyny i bez żadnych konsekwencji.

I. Cel badania

Celem badania jest określenie częstości bezobjawowego występowania bakterii z rodzaju *Staphylococcus* (gronkowców), które w określonych warunkach mogą powodować choroby u ludzi i zwierząt. W badaniu, do którego został/a Pan/i zaproszony/a zbadana zostanie częstość występowania wyżej wymienionych bakterii u ludzi – dzieci oraz osób dorosłych. W przypadku wykrycia potencjalnie chorobotwórczych gronkowców w badanym materiale, zostanie określona ich lekowrażliwość, a także na podstawie danych zebranych w ankiecie, zostaną określone czynniki ryzyka związane z kolonizacją badanych osób przez te bakterie.

II. Przebieg badania

Po podpisaniu niezbędnych dokumentów dotyczących zgody na udział w badaniu, od badanego dziecka lub osoby dorosłej zostaną pobrane przez osobę uprawnioną wymazy z czterech lokalizacji anatomicznych:

1. Przedśionka jamy nosowej
2. Gardła (okolica migdałków)
3. Skóry za małżowiną uszną
4. Skóry w zgięciu łokciowym.

Pełnoletnia osoba badana (lub rodzic/opiekun prawny w przypadku osób niepełnoletnich) zostanie poproszony/a o wypełnienie ankiety dotyczącej badanej osoby oraz środowiska, w którym ona żyje. W przypadku wątpliwości pomocy w wypełnieniu ankiety udzieli personel medyczny.

III. Ryzyka związane z udziałem w badaniu

Wykonywane badanie jest nieinwazyjne, nieobciążające i nie niesie za sobą ryzyka związanego z udziałem.

IV. Korzyści z udziału w badaniu

Po zakończeniu procedury, lekarz prowadzący otrzyma informacje odnośnie wyniku badania. W przypadku izolacji gronkowców potencjalnie chorobotwórczych w badanym materiale, zostanie Pan/i poinformowany/a o tym przez lekarza prowadzącego. Wykrycie nosicielstwa gronkowców i ponowna analiza występowania czynników ryzyka u badanego mogą mieć korzystne znaczenie dla zachowania stanu zdrowia. Udział w badaniu nie wiąże się z odpłatnością uczestnika za wykonane badania ani konsultacje medyczne.

Załącznik 5

INFORMACJA O UBEZPIECZENIU BADANIA

Nazwisko i imię osoby badanej.....

lat.....

Adres:

Temat badań: Charakterystyka epidemiologiczna gronkowców koagulazo – dodatnich izolowanych od ludzi i zwierząt.

Niniejszym oświadczam, że zostałam/em poinformowana/y o ubezpieczeniu mojego udziału w badaniu wyżej wymienionym, zawartym w ubezpieczeniu działalności naukowej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Przyjmuję tę informację.

.....
podpis badacza

.....
podpis badanego

....., data

Załącznik 6

FORMULARZ ŚWIADOMEJ ZGODY NA UDZIAŁ W BADANIU

Tytuł badania Charakterystyka epidemiologiczna gronkowców koagulazo-dodatnich izolowanych od ludzi i zwierząt.

Imię i nazwisko badacza **lek. wet. Marta Miszczak**

1. Potwierdzam, że zapoznałam/em się z:
 - „Informacją o badaniu”
 - „Informacją o sposobie gromadzenia i przetwarzania danych osobowych”
 - „Informacją o ubezpieczeniu”

i wyrażam zgodę na udział w badaniu.

2. Miałam/em możliwości zadawania pytań oraz że udzielono mi niezbędnych odpowiedzi i wyjaśnień.
3. Jestem świadoma/y zagrożeń i korzyści związanych z udziałem w badaniu.
4. Rozumiem, że mój udział jest dobrowolny oraz, że mogę się wycofać z udziału w badaniu w dowolnym momencie bez podania przyczyny.
5. **Wyrażam zgodę**, by dla kontroli poprawności wykonania projektu badawczego przedstawiciele krajowych, zagranicznych lub międzynarodowych instytucji nadzorujących badanie, mieli wgląd w moje dane osobowe oraz dokumentację medyczną (dane dotyczące mego stanu zdrowia) pod warunkiem, że są oni związani z badaniem.
6. **Wyrażam zgodę na przetwarzanie danych** w tym badaniu zgodnie z obowiązującym w Polsce prawem (Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE).
7. **Zgadzam się** na przekazanie moich anonimowych danych do innych krajów, zarówno w obrębie Europy jak i poza nią.

Wiem, że przyszłości wyniki niniejszego projektu badawczego posłużą do przygotowania publikacji naukowych, a dane w nich dostępne będą użyte jedynie w postaci anonimowej.

.....
imię i nazwisko badacza

.....
data, podpis badacza

.....
imię i nazwisko badanego

.....
data, podpis badanego

Załącznik 7

Formularz świadomej zgody
RODZICÓW / PRZEDSTAWICIELI USTAWOWYCH DZIECKA
na udział w badaniu

Ja, niżej podpisana/y oświadczam, że przeczytałam/em i zrozumiałam/em

- „Informację o badaniu”
- „Informację o sposobie gromadzenia i przetwarzania danych osobowych”
- „Informację o ubezpieczeniu”

oraz otrzymałam/em satysfakcjonujące mnie odpowiedzi na zadane pytania.

Dobrowolnie i świadomie wyrażam zgodę na:

- udział dziecka w badaniu

„Charakterystyka epidemiologiczna gronkowców koagulazo-dodatnich izolowanych od ludzi i zwierząt.”

oraz na

- przetwarzanie danych osobowych dziecka w zakresie i celu niezbędnym do przeprowadzenia badania, a także celach archiwalnych i statystycznych.

Jestem świadoma/y, iż w każdej chwili mogę odwołać udzieloną zgodę na udział dziecka w badaniu i zrezygnować z jego udziału bez podania przyczyny, co nie spowoduje jakichkolwiek negatywnych skutków dla mojego dziecka.

Zostałam/em poinformowana/y o:

- planowanej formie i zakresie wykorzystania danych mojego dziecka
- zasadach i sposobie prowadzenia badania,
- warunkach ubezpieczenia uczestników badania,
- a także zasadach przetwarzania i wykorzystania danych osobowych dotyczących mojego dziecka zgromadzonych w toku prowadzenia badania,
- jak również, że podstawą ich przetwarzania będzie moja zgoda,
- a także, że złożenie niniejszego oświadczenia jest dobrowolne, podobnie jak udział w badaniu.

Imię i nazwisko **dziecka**

Wiek dzieckaadres.....

Imię i nazwisko **rodzica/opiekuna**

Adres.....

Stosunek prawny do badanego dziecka.....

Data i Podpis osoby składającej oświadczenie.....

Imię i nazwisko osoby przyjmującej zgodę

Data i Podpis osoby przyjmującej zgodę

Załącznik 8

Charakterystyka epidemiologiczna gronkowców koagulazo - dodatnich izolowanych od ludzi i zwierząt.
Ankieta dla uczestnika badania

Kod ankiety:
(kod ankiety należy utworzyć wpisując po numerze kombinację: pierwsza litera imienia + pierwsza litera nazwiska + dzień urodzenia + miesiąc urodzenia + ostatnie 3 cyfry numeru PESEL np. MM-30-05-202)

1. Płeć: K M 2. Wiek:

3. Liczba dzieci w domu oraz ich wiek:

4. Aktualny stan zdrowia: osoba zdrowa osoba chora:

5. Czy w ostatnim roku był/a Pan/i leczony/a? Tak Nie
Jeśli tak – proszę podać przyczynę leczenia:

6. Czy w ostatnim roku stosowano u Pana/i antybiotyki? Tak Nie Nie wiem
Kiedy po raz ostatni? 1-3 miesiące temu 4-6 miesięcy temu 7-12 miesięcy temu

7. Czy przyjmuje Pan/i antybiotyki częściej niż raz w roku? Tak Nie Nie wiem

8. Czy w ostatnim roku był/a Pan/i hospitalizowany/a? Tak Nie
Jeśli tak – czy był to pobyt w szpitalu powyżej 7 dni? Tak Nie

9. Czy zdiagnozowano u Pana/i atopowe zapalenie skóry (AZS)? Tak Nie Nie wiem

10. Czy ma Pan/i problem z suchą skórą wymagający natłuszczenia? Tak Nie Nie wiem

11. Czy kiedykolwiek stwierdzono u Pana/i zapalenie skóry i tkanki podskórnej? (np. liszajec/ czyrak/ ropień) Tak Nie Nie wiem

12. Czy kiedykolwiek stwierdzono u Pana/i zakażenie wywołane przez gronkowce? Tak Nie Nie wiem

13. Czy posiada Pan/i zwierzę/ta w miejscu zamieszkania? Tak Nie

Informacje odnośnie charakteru pracy i czynników ryzyka w codziennym życiu

14. Czy Pan/i wykonuje pracę w placówce ochrony zdrowia? Tak Nie
Jeśli tak – proszę wpisać rodzaj wykonywanej pracy:
(W przypadku lekarzy medycyny ze specjalizacją, proszę wpisać także nazwę specjalizacji.)

15. Czy studiuje Pan/i kierunek związany z ochroną zdrowia? Tak Nie
Jeśli tak – proszę wpisać nazwę kierunku oraz rok studiów:

16. Czy wykonuje Pan/i zawód związany z bezpośrednią pracą ze zwierzętami? Tak Nie
Jeśli tak – proszę wpisać, jaki to zawód:

17. Czy studiuje Pan/i kierunek związany z bezpośrednią pracą ze zwierzętami? Tak Nie
Jeśli tak – proszę wpisać nazwę kierunku oraz rok studiów:

18. Czy którykolwiek z domowników był w ostatnim roku hospitalizowany? Tak Nie
Jeśli tak – czy był to pobyt w szpitalu dłuższy niż 7 dni? Tak Nie
19. Czy którykolwiek z domowników cierpi na przewlekłą chorobę skóry? Tak Nie Nie wiem
20. Czy którykolwiek z domowników uczęszcza do klubu sportowego/siłowni/na basen? Tak Nie
Jeśli tak – jak często?

Informacje o zwierzęciu/zwierzętach mieszkającym/ch razem z osobą badaną

(jeśli nie posiada Pan/i zwierząt w miejscu zamieszkania proszę ominąć tę sekcję)

21. Gatunek zwierzęcia/zwierząt: Pies Kot Inne:(jakie?)
22. Liczba zwierząt: Psy: Koty: Inne:
23. Proszę określić, jak dawno zwierzę/ta zamieszkało/y w domu:
 1-3 miesiące temu 4-6 miesięcy temu 7-12 miesięcy temu minął ponad rok
24. Pochodzenie zwierząt:
 zakupione w hodowli adoptowane ze schroniska/fundacji przygarnięte „z ulicy”
 inne:(jakie?)
25. Czy zwierzę ma bezpośredni kontakt z innymi zwierzętami? Tak Nie Nie wiem
(podczas spacerów, mieszkając z innymi zwierzętami, podczas wizyt w gabinecie weterynaryjnym etc.)
26. Jak bliski jest Pana/i kontakt ze zwierzęciem/zwierzętami w domu: *(proszę zaznaczyć wszystkie odpowiedzi, które trafnie opisują Pański kontakt ze zwierzęciem)*
 głaskanie całowanie spanie w jednym łóżku
 podawanie jedzenia pielęgnacja (czyszczenie uszu, obcinanie pazurów)
 sprzątanie kuwety/ psich odchodów podczas spacerów
27. Czy myje Pan/i ręce po każdym kontakcie ze zwierzęciem? Tak Nie Nie wiem
28. Czy zwierzę było w ostatnim roku leczone? Tak Nie Nie wiem
Jeśli tak – proszę podać przyczynę:
29. Czy w ostatnim roku zwierzę otrzymywało antybiotyki? Tak Nie Nie wiem
Jeśli tak – proszę podać nazwę:
30. Czy u zwierzęcia kiedykolwiek stwierdzono atopowe zapalenie skóry (AZS)? Tak Nie Nie wiem

Osoby zainteresowane uzyskaniem informacji odnośnie rezultatów badań prosimy o czytelne wpisanie adresu e-mail w tym miejscu:

Załącznik 9

Charakterystyka epidemiologiczna gronkowców koagulazo - dodatnich izolowanych od ludzi i zwierząt.
Ankieta dla uczestnika badania

Kod ankiety:
(kod ankiety należy utworzyć wpisując po numerze kombinację: pierwsza litera imienia + pierwsza litera nazwiska + dzień urodzenia + miesiąc urodzenia + ostatnie 3 cyfry numeru PESEL np. MM-30-05-202)

1. Płeć: K M 2. Wiek:
(Dzieci powyżej 1r.ż. - proszę wpisać liczbę lat i liczbę miesięcy ukończoną w dniu badania np. 2 lata, 3 miesiące)

3. Liczba pozostałych dzieci w domu oraz ich wiek:

4. Aktualny stan zdrowia: dziecko zdrowe dziecko chore:

5. Czy w ostatnim roku dziecko było leczone? Tak Nie
Jeśli tak – proszę podać przyczynę leczenia:

6. Czy w ostatnim roku stosowano u dziecka antybiotyki? Tak Nie Nie wiem
Kiedy po raz ostatni? 1-3 miesiące temu 4-6 miesięcy temu 7-12 miesięcy temu

7. Czy dziecko przyjmuje antybiotyki częściej niż raz w roku? Tak Nie Nie wiem

8. Czy w ostatnim roku dziecko było hospitalizowane? Tak Nie
Jeśli tak – czy był to pobyt w szpitalu powyżej 7 dni? Tak Nie

9. Czy u dziecka zdiagnozowano atopowe zapalenie skóry (AZS)? Tak Nie Nie wiem

10. Czy dziecko ma problem z suchą skórą wymagający natłuszczenia? Tak Nie Nie wiem

11. Czy kiedykolwiek stwierdzono u dziecka zapalenie skóry i tkanki podskórnej? (np. liszajec/ czyrak/ ropień) Tak Nie Nie wiem

12. Czy kiedykolwiek stwierdzono u dziecka zakażenie wywołane przez gronkowce? Tak Nie Nie wiem

13. Czy którykolwiek z wymienionych nawyków dotyczy Pani/a dziecka? (proszę zaznaczyć wszystkie odpowiedzi, które trafnie opisują nawyki dziecka)

- dłubanie w nosie dłubanie w uszach ogryzanie paznokci
 drapanie okolic odbytu lizanie zabawek ogryzanie ust

14. Czy dziecko uczęszcza do którejś z wymienionych placówek lub miejsc? (proszę zaznaczyć te opcje, które dotyczą Pana/i dziecka)

- żłobek przedszkole szkoła podstawowa liceum
 hala zabaw plenerowe place zabaw świetlica szkolna zajęcia sportowe

15. Czy dziecko posiada zwierzę/ta w miejscu zamieszkania? Tak Nie
(Jeśli nie – proszę przejść do pytania nr 27.)

Informacje o zwierzęciu/zwierzętach mieszkającym/ch razem z dzieckiem:

16. Gatunek zwierzęcia/zwierząt: Pies Kot Inne:(jakie?)

17. Liczba zwierząt: Psy: Koty: Inne:

18. Proszę określić, jak dawno zwierzę/ta zamieszkało/y w domu:
 1-3 miesiące temu 4-6 miesięcy temu 7-12 miesięcy temu minął ponad rok

19. Pochodzenie zwierząt:
 zakupione w hodowli adoptowane ze schroniska/fundacji przygarnięte „z ulicy”
 inne:(jakie?)
20. Czy zwierzę ma bezpośredni kontakt z innymi zwierzętami? Tak Nie Nie wiem
21. Jak bliski jest kontakt dziecka ze zwierzęciem/zwierzętami w domu: (proszę zaznaczyć wszystkie odpowiedzi, które trafnie opisują kontakt dziecka ze zwierzęciem)
 głaskanie całowanie spanie w jednym łóżku
 podawanie jedzenia pielęgnacja (czyszczenie uszu, obcinanie pazurów)
 sprzątanie kuwety/ psich odchodów podczas spacerów
22. Czy dziecko myje ręce po kontakcie ze zwierzęciem? Tak Nie Nie wiem
23. Jak ocenia Pan/i dbałość dziecka o higienę? (np. mycie rąk przed jedzeniem, po powrocie do domu)
 Bardzo czyste Czasami pamięta, czasami nie Zazwyczaj wymaga przypominania
24. Czy zwierzę było w ostatnim roku leczone? Tak Nie Nie wiem
Jeśli tak – proszę podać przyczynę:
25. Czy w ostatnim roku zwierzę otrzymywało antybiotyki? Tak Nie Nie wiem
Jeśli tak – proszę podać nazwę:
26. Czy u zwierzęcia kiedykolwiek stwierdzono atopowe zapalenie skóry (AZS)? Tak Nie Nie wiem

Informacje odnośnie charakteru wykonywanej pracy rodziców/opiekunów prawnych dziecka

27. Czy którykolwiek z domowników wykonuje pracę w placówce ochrony zdrowia? Tak Nie
Jeśli tak – proszę wpisać rodzaj wykonywanej pracy:

 (W przypadku lekarzy medycyny ze specjalizacją, proszę wpisać także nazwę specjalizacji.)
28. Czy którykolwiek z domowników jest studentem kierunku związanego z ochroną zdrowia? Tak Nie
Jeśli tak – proszę wpisać nazwę kierunku:
29. Czy którykolwiek z domowników wykonuje zawód związany z bezpośrednią pracą ze zwierzętami? Tak Nie
Jeśli tak – proszę wpisać, jaki to zawód:
30. Czy którykolwiek z domowników jest studentem kierunku związanego z bezpośrednią pracą ze zwierzętami? Tak Nie
Jeśli tak – proszę wpisać nazwę kierunku:
31. Czy którykolwiek z domowników był w ostatnim roku hospitalizowany?
Jeśli tak – czy był to pobyt w szpitalu dłuższy niż 7 dni? Tak Nie Nie
32. Czy którykolwiek z domowników cierpi na przewlekłą chorobę skóry? Tak Nie Nie wiem
33. Czy którykolwiek z domowników uczęszcza do klubu sportowego/siłowni/na basen?
Jeśli tak – jak często?

Załącznik 10

Charakterystyka epidemiologiczna gronkowców koagulazo - dodatnich izolowanych od psów i kotów.
Ankieta dotycząca badanego zwierzęcia.

W razie pytań proszę o kontakt mailowy: marta.miszczak@upwr.edu.pl

WŁAŚCICIEL:	DATA POBRANIA:	NR: (uzupełnia laboratorium)
PACJENT:	Kot: <input type="checkbox"/> Wychodzący <input type="checkbox"/> Niewychodzący	OBJAWY KLINICZNE: <input type="checkbox"/> Zap. Spojówek <input type="checkbox"/> Zap. Przewodu słuch. <input type="checkbox"/> Wypływ z nosa <input type="checkbox"/> Zap. skóry/ Rany <input type="checkbox"/> Inne
<input type="checkbox"/> PIES <input type="checkbox"/> KOT <input type="checkbox"/> SAMIEC <input type="checkbox"/> SAMICA		
RASA: <input type="checkbox"/> MIX		
WIEK:		
1. Liczba pozostałych zwierząt mieszkających w tym samym gospodarstwie domowym:	Psy: Koty: Inne:(jaki?) <i>(Proszę podać liczbę pozostałych zwierząt)</i>	
2. Czy pacjent ma bezpośredni kontakt z innymi zwierzętami?	<input type="checkbox"/> TAK	<input type="checkbox"/> NIE
3. Czy pacjent był w ostatnim roku leczony? <input type="checkbox"/> W ostatnich 1-4 miesiącach <input type="checkbox"/> W ostatnich 5-8 miesiącach <input type="checkbox"/> W ostatnich 9-12 miesiącach	<input type="checkbox"/> TAK	<input type="checkbox"/> NIE
Przyczyna i rodzaj leczenia:		
Czy stosowano antybiotyki?	<input type="checkbox"/> TAK	<input type="checkbox"/> NIE
<i>Jeśli tak - jakie?</i>		
4. Czy pozostałe zwierzęta w domu były w ostatnim roku leczone? <input type="checkbox"/> W ostatnich 1-4 miesiącach <input type="checkbox"/> W ostatnich 5-8 miesiącach <input type="checkbox"/> W ostatnich 9-12 miesiącach	<input type="checkbox"/> TAK	<input type="checkbox"/> NIE
Przyczyna i rodzaj leczenia:		
Czy stosowano antybiotyki?	<input type="checkbox"/> TAK	<input type="checkbox"/> NIE
<i>Jeśli tak - jakie?</i>		
5. Czy zwierzę ma bezpośredni kontakt z domownikami? <input type="checkbox"/> sporadyczny daleki kontakt (tylko podawanie jedzenia) <input type="checkbox"/> sporadyczny ale bliski kontakt (głaskanie, lizanie...) <input type="checkbox"/> częsty bliski kontakt (lizanie po twarzy, rękach, spanie w łóżku, zabiegi pielęgnacyjne...)	<input type="checkbox"/> TAK	<input type="checkbox"/> NIE
6. Ilu jest dorosłych członków gospodarstwa domowego?	a) liczba dzieci do lat 12:	
7. Czy którykolwiek z domowników pracuje w służbie zdrowia? <i>Jeśli tak - proszę wpisać wykonywany zawód:</i>	<input type="checkbox"/> TAK	<input type="checkbox"/> NIE
8. Czy którykolwiek z domowników pracuje w lecznicy dla zwierząt? <i>Jeśli tak - proszę wpisać wykonywany zawód:</i>	<input type="checkbox"/> TAK	<input type="checkbox"/> NIE
9. Czy którykolwiek z domowników był w ostatnim roku hospitalizowany? <input type="checkbox"/> Pobyt w szpitalu dłuższy niż 7 dni	<input type="checkbox"/> TAK	<input type="checkbox"/> NIE
10. Czy w ostatnim roku zdiagnozowano zakażenie gronkowcem: <input type="checkbox"/> u badanego zwierzęcia <input type="checkbox"/> u pozostałych zwierząt w domu <input type="checkbox"/> u domownika	<input type="checkbox"/> TAK	<input type="checkbox"/> NIE

Proszę wpisać adres email, na który zostanie wysłana informacja, jeśli w badanym materiale zostanie wyizolowany gronkowiec:

Załącznik 11

Prevalencja bakterii z rodzaju *Staphylococcus* u kotów

Gatunek	n	Skóra w pachwinie % (CI 95%)		Przedśionek jamy nosowej % (CI 95%)		Worek spojówkowy % (CI 95%)		Zewnętrzny przewód słuchowy % (CI 95%)		Jama ustna % (CI 95%)		Odbyt % (CI 95%)		Rany % (CI 95%)	
		KZ	KCH	KZ	KCH	KZ	KCH	KZ	KCH	KZ	KCH	KZ	KCH	KZ	KCH
<i>S. aureus</i>	26	0,81 (0,27-1,49)	0	5,70 (4,07-7,46)	2,36 (0,79-4,33)	2,59 (1,49-3,80)	0	0,81 (0,27-1,49)	2,76 (0,79-4,73)	6,78 (5,02-8,68)	3,54 (1,57-5,91)	0	0	0	2,76 (0,79-5,12)
<i>S. caprae</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,95 (0,27-1,76)	0	0	0	0	0
<i>S. cohnii</i>	8	2,44 (1,36-3,66)	0	0,81 (0,27-1,49)	2,36 (0,79-4,33)	0,68 (0,14-1,36)	0	0,95 (0,27-1,76)	0	0	0	0	0	2,76 (0,79-4,72)	0
<i>S. condimentii</i>	1	0	0	0	0	0,95 (0,27-1,76)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	65	8,41 (6,38-10,45)	9,45 (5,91-12,99)	8,55 (6,65-10,58)	2,76 (0,79-5,12)	15,33 (12,89-17,91)	11,02 (7,48-14,96)	8,68 (6,78-10,72)	22,83 (17,72-27,95)	5,83 (4,21-7,60)	5,12 (2,76-7,87)	4,07 (2,71-5,56)	2,36 (0,79-4,33)	0	0
<i>S. equorum</i>	1	0,81 (0,27-1,49)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<i>S. felis</i>	90	2,44 (1,36- 3,66)	6,30 (3,54- 9,45)	10,85 (8,68- 13,16)	24,80 (19,69- 30,31)	8,27 (6,38- 10,31)	14,17 (10,24- 18,50)	12,21 (9,91- 14,65)	16,54 (12,20- 21,26)	5,56 (3,93- 7,33)	11,02 (7,48- 14,96)	7,46 (5,70- 9,50)	5,12 (2,76- 7,87)	0	5,12 (2,76- 7,87)
<i>S. haemolyticus</i>	19	1,63 (0,81- 2,58)	2,76 (0,79- 4,72)	2,44 (1,36- 3,66)	0	2,44 (1,36- 3,66)	5,12 (2,76- 7,87)	3,26 (2,04- 4,61)	2,76 (0,79- 5,12)	1,76 (0,81- 2,71)	0	0,81 (0,27- 1,49)	0	0	0
<i>S. hominis</i>	21	3,39 (2,17- 4,75)	5,91 (3,15- 9,06)	1,63 (0,81- 2,58)	2,76 (0,79- 5,12)	2,44 (1,36- 3,53)	5,12 (2,36- 7,87)	1,63 (0,81- 2,58)	2,36 (0,79- 4,33)	0	9,06 (5,51- 12,99)	0,81 (0,27- 1,49)	0	0	0
<i>S. lentus</i>	2	0	2,76 (0,79- 5,12)	0	0	0	0	0,95 (0,27- 1,76)	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. lugdunensis</i>	2	0	0	0	0	1,09 (0,41- 1,90)	0	0	0	0	0	0,81 (0,27- 1,49)	0	0	0
<i>S. pasteuri</i>	1	0	0	0,81 (0,27- 1,49)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. pettenkoferi</i>	1	0	0	0	0	0,81 (0,27- 1,49)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. pseudintermedius</i>	20	0,95 (0,27- 1,76)	2,76 (0,79- 5,12)	1,63 (0,81- 2,58)	5,12 (2,76- 7,87)	1,77 (0,95- 2,71)	5,12 (2,76- 7,87)	0	5,51 (2,76- 8,28)	0,81 (0,27- 1,49)	5,12 (2,76- 7,87)	0	2,76 (0,79- 4,72)	0	0
<i>S. saprophyticus</i>	12	1,76 (0,81- 2,71)	0	0	5,12 (2,76- 7,87)	0,95 (0,27- 1,76)	0	2,44 (1,36- 3,53)	0	0,81 (0,27- 1,49)	0	0	0	0	0
<i>S. sciuri</i>	1	0	0	0	2,36 (0,79- 4,33)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<i>S. simulans</i>	31	2,44 (1,36- 3,66)	2,36 (0,79- 4,33)	3,26 (2,04- 4,61)	6,30 (3,54- 9,45)	0,81 (0,27- 1,49)	2,76 (0,79- 5,12)	10,04 (7,87- 12,35)	0	2,44 (1,36- 3,66)	0	1,63 (0,81- 2,58)	2,76 (0,79- 5,12)	0	2,76 (0,79- 4,72)
<i>S. succinus</i>	1	0,81 (0,27- 1,49)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. warneri</i>	40	6,78 (5,02- 8,68)	7,48 (4,33- 11,02)	3,26 (2,04- 4,61)	2,36 (0,79- 4,33)	9,91 (7,87- 12,08)	0	2,58 (1,49- 3,80)	2,36 (0,79- 4,33)	3,93 (2,58- 5,43)	2,36 (0,79- 4,33)	0	0	0	0
<i>S. xylosus</i>	16	0	0	4,07 (2,71- 5,56)	2,76 (0,79- 4,73)	1,76 (0,95- 2,71)	2,76 (0,79- 4,72)	1,63 (0,81- 2,58)	0	3,26 (2,04- 4,61)	0	0	0	0	0

n: liczba wyizolowanych szczepów danego gatunku; KZ - koty zdrowe; KCH - koty chore; CI 95% - przedział ufności 95%.

Załącznik 12

Prevalencja bakterii z rodzaju *Staphylococcus* u psów

Gatunek	n	Skóra w pachwinie % (CI 95%)		Przedstonek jamy nosowej % (CI 95%)		Worek spojówkowy % (CI 95%)		Zewnętrzny przewód słuchowy % (CI 95%)		Jama ustna % (CI 95%)		Odbyt % (CI 95%)		Rany % (CI 95%)	
		PZ	PCH	PZ	PCH	PZ	PCH	PZ	PCH	PZ	PCH	PZ	PCH	PZ	PCH
<i>S. aureus</i>	19	0	4,18 (2,25-6,43)	4,52 (2,51-6,78)	8,68 (5,79-11,90)	1,51 (0,50-2,76)	2,25 (0,64-4,18)	1,76 (0,50-3,27)	0	1,51 (0,50-2,76)	6,43 (3,86-9,32)	1,76 (0,50-3,27)	0	0	4,50 (2,25-6,75)
<i>S. capitis</i>	4	1,51 (0,50-2,76)	1,93 (0,64-3,54)	1,51 (0,50-2,76)	0	0	0	1,51 (0,50-2,76)	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. cohnii</i>	3	0	0	0	0	0	0	3,02 (1,51-4,77)	0	0	0	0	0	0	2,25 (0,64-3,87)
<i>S. delphini</i>	2	0	0	0	0	0	0	1,51 (0,50-2,76)	0	0	0	0	0	0	2,25 (0,64-3,87)
<i>S. epidermidis</i>	42	10,55 (7,79-13,57)	8,04 (5,14-11,25)	4,52 (2,51-6,53)	6,11 (3,54-9,00)	8,79 (6,03-11,56)	10,61 (7,40-14,15)	4,52 (2,51-6,53)	6,11 (3,54-9,00)	4,52 (2,51-6,53)	1,93 (0,64-3,54)	0	0	0	4,18 (2,25-6,43)
<i>S. felis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1,93 (0,64-3,54)	0	0	0	0	0	0
<i>S. haemolyticus</i>	9	0	0	1,51 (0,50-2,76)	0	3,77 (2,01-5,78)	0	3,02 (1,51-4,77)	0	1,51 (0,50-2,76)	0	3,02 (1,51-4,77)	0	0	0
<i>S. hominis</i>	3	1,51 (0,50-2,76)	0	0	0	0	0	0	1,93 (0,64-3,54)	0	0	1,76 (0,50-3,27)	0	0	0

<i>S. lentus</i>	1	1,51 (0,50- 2,76)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. lugdunensis</i>	3	0	0	1,51 (0,50- 2,76)	0	1,51 (0,50- 2,76)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. pseudintermedius</i>	138	13,82 (10,55- 17,34)	14,79 (10,93- 18,97)	16,83 (13,32- 20,60)	28,94 (24,12- 34,08)	12,06 (9,05- 15,33)	29,90 (24,76- 35,05)	12,56 (9,30- 15,83)	17,36 (13,18- 21,54)	26,38 (22,11- 30,90)	22,83 (18,33- 27,33)	27,89 (23,62- 32,41)	17,36 (13,18- 21,54)	9,00 (6,10- 12,22)	0	0	0	0	0
<i>S. saprophyticus</i>	8	0	0	1,51 (0,50- 2,76)	1,93 (0,64- 3,54)	0	6,11 (3,54- 9,00)	1,51 (0,50- 2,76)	1,93 (0,64- 3,54)	0	0	0	0	2,25 (0,64- 3,86)	0	0	0	0	0
<i>S. schleiferi</i> ssp <i>schleiferi</i>	3	0	0	0	0	0	1,93 (0,64- 3,54)	0	1,93 (0,64- 3,54)	0	0	0	0	1,76 (0,50- 3,02)	0	0	0	0	0
<i>S. simulans</i>	10	1,51 (0,50- 2,76)	2,25 (0,64- 4,18)	3,02 (1,51- 4,77)	1,93 (0,64- 3,54)	1,51 (0,50- 2,76)	0	1,51 (0,50- 2,76)	1,93 (0,64- 3,54)	0	1,93 (0,64- 3,54)	1,51 (0,50- 2,76)	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. warneri</i>	9	4,52 (2,51- 6,78)	2,25 (0,64- 3,86)	0	2,25 (0,64- 4,18)	6,03 (3,77- 8,54)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. xyloso</i>	4	1,51 (0,50- 2,76)	0	3,02 (1,51- 4,77)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,93 (0,64- 3,54)	0	0	0	0	0

n: liczba wyizolowanych szczepów danego gatunku; PZ - psy zdrowe; PCH - psy chore; CI 95% - przedział ufności 95%;