

PRACA POGLĄDOWA

LEKOOPORNOŚĆ ORAZ POTENCJAŁ BIOFILMOTWÓRCZY SZCZEPÓW Z GRUPY GRONKOWCÓW KOAGULAZOUJEMNYCH IZOLOWANYCH Z POWIERZCHNI DOTYKOWYCH ODDZIAŁÓW SZPITALNYCH

ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND ABILITY TO FORM BIOFILM OF COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM TOUCH SURFACES IN POLISH HOSPITAL WARDS

✉ MAŁGORZATA BULANDA¹, EDYTA SYNOWIEC², AGNIESZKA CHMIELARCZYK¹, DOROTA ROMANISZYN¹, ANNA RÓŻAŃSKA¹

1 Katedra Mikrobiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

2 Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II w Krakowie



Anna Różańska
Katedra Mikrobiologii
Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
ul. Czysła 18,
31-121 Kraków
Tel.: 12 633 25 67
Fax: 12 423 39 24
a.rozanska@uj.edu.pl

Wpłynęło: 26.03.2018
Zaakceptowano: 25.05.2018
Opublikowano on-line: 30.05.2018

Cytowanie: Różańska A. Lekooporność oraz potencjał biofilmotwórczy szczepów z grupy gronkowców koagulazoujemnych izolowanych z powierzchni dotykowych oddziałów szpitalnych. 2018;1(2):73–78.

doi: 10.31350/zakazenia/2018/2/ZZ2018018

Copyright by MAVIPURO Polska Sp. z o.o., Warszawa, 2018.
Wszystkie prawa zastrzeżone. Żadna część niniejszej publikacji nie może być powielana i rozpowszechniana w jakiegokolwiek formie i w jakikolwiek sposób bez zgody wydawcy.

STRESZCZENIE:

Praca prezentuje wyniki badania lekooporności oraz potencjału biofilmotwórczego szczepów gronkowców koagulazoujemnych izolowanych z powierzchni dotykowych różnych oddziałów szpitalnych. Wśród 46 badanych izolatów zidentyfikowano przedstawicieli następujących gatunków: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus warnerii*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus pettenkoferii*, *Staphylococcus saprophyticus*. Większość szczepów (67%) wykazała oporność na metycylinę oraz na erytromycynę (67%), połowa na klindamycynę, nieco mniej (43%) na gentamycynę. Oporność nieprzekraczającą 40% odnotowano wobec ciprofloksacyliny, sulfametoksazolu z trimetoprimem i mupirocyny. Jeden szczep (2,2%) był oporny na wszystkie przebadane antybiotyki, a 11 (23,9%) na wszystkie z wyjątkiem mupirocyny. Potencjał biofilmotwórczy wykazało 26% izolatów. Oporne szczepy koagulazoujemnych gronkowców, izolowane najczęściej z powierzchni dotykowych oddziałów szpitalnych, mogą stanowić zagrożenie dla pacjentów w ciężkim stanie, w szczególności leczonych na oddziałach intensywnej terapii. Uzyskane wyniki potwierdzają konieczność wdrażania i przestrzegania skutecznych procedur mycia i dezynfekcji powierzchni w oddziałach szpitalnych.

SŁOWA KLUCZOWE: koagulazoujemne gronkowce, powierzchnie dotykowe, biofilm

ABSTRACT:

The study presents results from drug resistance and biofilm-forming potential testing for coagulase-negative staphylococcal strains isolated from hospital touch surfaces. Among the 46 isolates tested, representatives of the following species were identified: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus pettenkoferi*, *Staphylococcus saprophyticus*. The majority of strains (67%) demonstrated resistance to methicillin and

erythromycin, half were resistant to clindamycin, a bit less (43%) to gentamicin. Resistance of up to 40% was reported for ciprofloxacin, sulfamethoxazole/trimethoprim and mupirocin. One strain was resistant to all antibiotics studied, and 11 to all of them, except for mupirocin. As much as 26% of isolates demonstrated biofilm-forming potential. Resistant coagulase-negative staphylococci, most frequently isolated from hospital touch surfaces, may pose a threat to severely ill patients, in particular those treated in intensive care units. The results obtained confirm the necessity of implementing and complying with effective procedures for washing and disinfection of hospital surfaces.

KEY WORDS: coagulase-negative staphylococci, touch surfaces, biofilm

WSTĘP

Przenoszenie czynników etiologicznych (bakterii) zakażeń szpitalnych drogą kontaktową jest nadal – mimo stosowania reżimu sanitarnego – nader częste [1]. Problem przenoszenia drobnoustrojów nabiera szczególnej wagi w przypadku pojawiania się w środowisku szpitalnym drobnoustrojów wielolekoopornych – jak metycylinooporne gronkowce (MRSA, MRCNS), wankomycynooporne enterokoki (VRE) czy pałeczki niefermentujące [2]. Występowanie metycylinoopornych *S. aureus* (MRSA) czy *S. epidermidis* (MRSE) poza jednostkami szpitalnymi (hotele, autobusy) też jest opisywane, ale jednak największe znaczenie ma obecność lekoopornych bakterii w szpitalach [3–6]. Gronkowcowe szczepy metycylinooporne są często odporne nie tylko na antybiotyki beta-laktamowe, ale także na większość antybiotyków stosowanych w terapii. Szybkie narastanie oporności zarówno wśród gronkowców, jak i pałeczek Gram-ujemnych jest bardzo poważnym problemem w szpitalach, ogranicza bowiem skuteczne leczenie zakażeń, zwłaszcza pacjentów z ciężkimi zakażeniami leczonych na oddziałach intensywnej terapii [7, 8]. Najczęstszym wektorem pośredniczącym w przenoszeniu drobnoustrojów są ręce personelu i chorych, rezerwuarem zaś powierzchnie najczęściej dotykane (klamki, blaty szafek, wyłączniki światła i inne), na których drobnoustroje mogą przetrwać przez długi okres – wiele dni, a nawet miesięcy [2]. Czyszczenie i dezynfekcja tych powierzchni jest oczywistym stosowanym działaniem mającym znaczenie w kontroli rozprzestrzeniania się drobnoustrojów (w tym metycylinoopornych gronkowców) [9]. Jednak liczne badania pokazują, że współczynniki zgodności praktyki z założeniami procedur z obszaru higieny szpitalnej, a także wiedza dotycząca higieny rąk wśród pracowników medycznych są niezadowalające [10, 11, 12]. Badania dotyczące tego problemu w polskich warunkach są bardzo nieliczne, zarówno te poświęcone praktyce szeroko pojętej higieny rąk, jak i dotyczące kontaminacji powierzchni dotykowych w oddziałach szpitalnych. Kontaminacja powierzchni dotykowych różni się istotnie pomiędzy oddziałami szpitalnymi w różnych szpitalach, w szczególności

mieszczących się w krajach różnych stref klimatycznych czy o różnym poziomie rozwoju i organizacji ochrony zdrowia [13, 14]. W polskich oddziałach szpitalnych najczęściej izolowane z powierzchni dotykowych były gronkowce koagulazoujemne. Wiąże się to z całą pewnością z faktem, że stanowią one część naturalnej mikroflory skóry człowieka. Być może przetrwanie na powierzchniach dotykowych oddziałów szpitalnych wiąże się także z biofilmotórczymi właściwościami tej grupy drobnoustrojów [15].

Przedmiotem niniejszego badania była fenotypowa i genotypowa analiza lekooporności oraz określenie potencjału biofilmotwórczego szczepów koagulazoujemnych gronkowców reprezentujących grupę najliczniej izolowanych bakterii z powierzchni dotykowych polskich oddziałów szpitalnych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły szczepy wyhodowane z wymazów pobranych z powierzchni dotykowych różnych oddziałów wysokospecjalistycznego szpitala na południu Polski. Próbkę do badań pobierano za pomocą wymazów z następujących powierzchni mogących stanowić rezerwuuar drobnoustrojów: blat roboczy na sali chorych, blat stolika przyłóżkowego, stojak do kroplówek, rama łóżka, dozownik mydła, dozownik preparatu dezynfekcyjnego, włącznik światła, monitor respiratora, telefon komórkowy lekarza, słuchawka oddziałowego telefonu stacjonarnego, klawiatura komputera, blat wózka opatrunkowego (lub zabiegowego), klamka, pojemnik na rękawice ochronne, opakowanie na chusteczki. Próbkę pobierane były po nocy, przed rozpoczęciem zwykłej pracy oddziałów.

Pobrane materiały hodowano na stałym podłożu z dodatkiem krwi oraz na podłożu płynnym. Próbkę, z których wzrost obserwowany był tylko na podłożu płynnym, ponownie po namnożeniu wysiewano na agar krwawy.

W przypadkach, gdy uzyskiwany był wzrost na podłożu stałym po 24 h inkubacji, wynik oceniano półilościowo wg następujących kryteriów: wzrost liczny – powyżej 10 kolonii na płytce, wzrost średnio liczny – pomiędzy

Gen	Primersequences 5'-3'	Produkt amplifikacji	Referencje
<i>mecA</i>	TAG AAA TGA CTG AAC GTC CG TTG CGA TCA ATG TTA CCG TAG	154bp	Pereira [17]
<i>mup</i>	TAT ATT ATG CGA TGG AAG GTT GG AAT AAA ATC AGC TGG AAA GTG TTG	458bp	Anthony [18]
<i>ermA</i>	TCT AAA AAG CAT GTA AAA GAA CTT CGA TAG TTT ATT AAT ATT AGT	645 bp	Sutcliffe [19]
<i>ermB</i>	GAA AAG GTA CTC AAC CAA ATA AGT AAC GGT ACT TAA ATT GTT TAC	639 bp	Sutcliffe [19]
<i>ermC</i>	TCA AAA CAT AAT ATA GAT AAA GCT AAT ATT GTT TAA ATC GTC AAT	642 bp	Sutcliffe [19]
<i>msrA/B</i>	GCA AAT GGT GTA GGT AAG ACA ACT ATC ATG TGA TGT AAA CAA AAT	399 BP	Sutcliffe [19]

Tab. 1. Sekwencje starterów wykorzystanych w detekcji genów oporności.

Zabarwienie kolonii	Potencjał biofilmotwórczy
Bardzo czarny, czarny	Zdolność do produkcji biofilmu
Prawie czarny	Słaba zdolność do produkcji biofilmu
Bordo, czerwony i bardzo czerwony	Brak zdolności do produkcji biofilmu

Tab. 2. Skala oceny zdolności biofilmotwórczej.

6 a 10 kolonii na płycie oraz wzrost nieliczny: 1–5 kolonii na płycie.

Identyfikację gatunkową przeprowadzono z wykorzystaniem nowoczesnej metody jonizacji próbki połączonej z pomiarem jej masy (system MALDI-Tof-MS, przy użyciu aparatu Bruker Daltonic MALDI Biotyper).

OZNACZENIE LEKOOPORNOŚCI

Oznaczenie lekowrażliwości zostało wykonane dla wszystkich badanych szczepów metodą dyfuzyjno-krążkową Kirby-Bauera na podłożu Mueller-Hintona, zgodnie z zaleceniami the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST Tabela v. 6.0; <http://www.eucast.org> v.6.0, dostęp 1.12.2016). W badaniu stosowano następujące krążki antybiotykowe: erytromycynę (2 µg), klindamycynę (15 µg), gentamycynę (10 µg), ciprofloksacynę (5 µg), sulfametoksazol z trimetoprimem (1,25/23,75 µg), mupirocynę (200 µg). Wszystkie krążki zakupiono w firmie Oxoid (Basingstoke, United Kingdom).

Oznaczenie fenotypu oporności gronkowców na metycylinę wykonano, stosując krążki z cefoksytyną (30 µg), zgodnie z zaleceniami EUCAST. Oznaczenie fenotypu oporności na makrolidy-linkozamidy-streptograminy B (tzw. mechanizm MLSB) wykonano z wykorzystaniem metody dwóch krążków z erytromycyną oraz klindamycyną [16].

BADANIE PRZESIEWOWE WYBRANYCH GENÓW OPORNOŚCI METODĄ ŁAŃCUCHOWEJ REAKCJI POLIMERAZY (PCR)

Izolację DNA wykonano metodą kolumnkową za pomocą testów Genomic Mini kit (A&A Biotechnology, Gdynia, Poland), zgodnie z instrukcją producenta.

Fenotyp oporności gronkowców na metycylinę został potwierdzony przez wykrycie genu *mecA* metodą PCR przy użyciu wcześniej opublikowanych starterów (tabela 1) [11]. Geny oporności na erytromycynę (*ermA*, *ermB*, *ermC*, i *msrA/B*) były wykrywane przy użyciu metody multipleks PCR, a obecność genu oporności na mupirocynę *mup* za pomocą pojedynczej reakcji PCR (tabela 1) [12]. Jako kontrolę dodatnią zastosowano szczepy *S. aureus* ATCC 33591 oraz ATCC BAA 1708.

POTENCJAŁ BIOFILMOTWÓRCZY

Zdolność szczepów do tworzenia biofilmu została przebadana przy użyciu metody z zastosowaniem podłoża agarowego z czerwienią Kongo (CRA). Agar CRA przygotowano, dodając 0,8 g czerwieni kongo i 36 g sacharozy (Sigma, Missouri, USA) do 1 l agaru z wyciągiem mózgowo-sercowym (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Anglia). Płytki po wysianiu badanych izolatów inkubowano przez 24 godziny w 37°C, a następnie przez noc w temperaturze pokojowej. Na CRA szczepy wytwarzające śluz tworzą czarne kolonie, podczas gdy szczepy, które go nie produkują, rosną jako kolonie czerwone. Aby uzyskać dokładną ocenę wszystkich możliwych odmian chromatycznych wykazywanych przez hodowane kolonie, zastosowano sześciokolorową skalę wg Arciola (tabela 2) [20].

WYNIKI

Badaniom poddano 46 szczepów gronkowców koagulazoujemnych wyhodowanych ze środowiska szpitalnego z powierzchni dotykowych. Oznaczono 8 różnych gatunków koagulazoujemnych gronkowców: *Staphylococcus epidermidis*,

Staphylococcus haemolyticus, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus pettenkoferii*, *Staphylococcus saprophyticus*. Najczęściej izolowano: *S. epidermidis* (34,8%), *S. haemolyticus* (23,9%) i *S. warneri* (10,9%).

W większości przypadków 31 (67,4%) obserwowano nieznaczny wzrost, w 11 (23,9%) średnio liczny i liczny w 4 przypadkach (8,7%).

LEKOOPORNOŚĆ

Wśród badanych metodą fenotypową gronkowców 63% (n=29) szczepów było metycylinoopornych, co jest jednoznaczne z opornością na wszystkie antybiotyki beta-laktamowe.

Spśród pozostałych antybiotyków najwyższy poziom oporności całej badanej grupy szczepów zaobserwowano wobec erytromycyny (67,4%) oraz wobec klindamycyny (52,2%). Oporność na gentamycynę wykazywało 45,6% izolatów. Oporność nieprzekraczającą 40% odnotowano wobec ciprofloksacyliny, sulfametoksazolu z trimetoprimem i mupirocyny. Szczepy zaliczone do kategorii MRCNS charakteryzowała zwiększona oporność na pozostałe grupy antybiotyków (tabela 3). Jeden szczep (2,2%) był oporny na wszystkie przebadane antybiotyki, a 11 (23,9%) na wszystkie z wyjątkiem mupirocyny.

Dane dotyczące udziału fenotypów oporności oraz odsetek genów oporności z uwzględnieniem gatunków uzyskanych izolatów przedstawiono w tabeli 4. Obecność genu *mecA* stwierdzono u 67,4% izolatów (n=31). Dwa izolaty *S. epidermidis* miały gen *mecA*, wykazując *in vitro* wrażliwość na cefoksytynę.

POTENCJAŁ BIOFILMOTWÓRCZY

Zdolność do produkcji biofilmu przebadano wśród wyizolowanych 46 szczepów środowiskowych (tabela 5). Zgodnie z przyjętą skalą przeszło ¼ badanych szczepów posiadała potencjał tworzenia biofilmu, natomiast 74% z tej puli nie posiadała tej zdolności.

DYSKUSJA

Szczepy gronkowców, które wykryto na powierzchniach dotykowych, należały głównie do grupy CNS, znaleziono tylko 3% izolatów koagulazododatnich z gatunku *S. aureus*. Szczepy gronkowców na powierzchniach dotykowych mogą pochodzić zarówno z mikrobioty skóry człowieka (skóry rąk), jak i środowiska, przede wszystkim powietrza. CNS nie są groźne dla ludzi z odpowiednio funkcjonującym systemem immunologicznym, ale w szpitalach mogą stanowić zagrożenie przede wszystkim dla pacjentów ciężko chorych, starszych, z upośledzoną odpornością, hospitalizowanych

np. w oddziałach intensywnej terapii dorosłych oraz noworodków [21, 22]. Gatunki: *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* i *S. hominis* są najczęściej z grupy CNS odpowiedzialne za wywoływanie zarówno zakażeń skóry, jak i ciężkich zakażeń inwazyjnych [23, 24]. W dodatku leczenie zakażeń wywołanych przez CNS może być trudne z powodu występującej wśród nich lekooporności [25, 26].

W naszym badaniu wśród gatunków CNS dominowały *S. epidermidis* i *S. haemolyticus*, co różniło się od badań dotyczących powietrza również przeprowadzanych na obszarze południowej Polski, gdzie dominowały głównie *S. saprophyticus* i *S. warneri* [27]. Powodem tego mogą być nie tylko inne miejsca izolacji (powierzchnie dotykowe, a nie powietrze), ale także metoda zastosowana do identyfikacji gatunkowej. W tej pracy stosowaliśmy najnowocześniejszą i najbardziej zalecaną do identyfikacji metodę, czyli spektrometrię masową MALDI-TOF MS opartej na desorpcji/ionizacji laserowej próbki wspomaganą wykorzystaniem matrycy oraz analizatora przelotu jonów. W innych pracach, gdzie autorzy stosowali do badań środowiskowych metodę MALDI, najwięcej było szczepów z gatunku *S. haemolyticus*, *S. hominis* [4], *S. haemolyticus* i *S. epidermidis* [28]. Także inni autorzy wykazali, że przy stosowaniu różnych metod identyfikacji wyniki mogą być inne [29].

Wśród izolowanych w niniejszym badaniu szczepów CNS, aż 63% stanowiły szczepy metycylinooporne, co w przypadku możliwych zakażeń oportunistycznych wywołanych przez nie mocno ogranicza możliwości terapeutyczne z racji niemożności stosowania całej grupy antybiotyków beta-laktamowych [30]. U wszystkich izolatów potwierdzono fenotypową oporność poprzez wykrycie genu *mecA*. Dodatkowo dwa szczepy *S. epidermidis* miały gen *mecA* przy zachowanej wrażliwości na cefoksytynę.

Zaskakująco dużo izolatów było także opornych na erytromycynę (ponad 2/3) i klindamycynę (połowa). Dodatkowo prawie 55% izolatów miało jednocześnie oporność na metycylinę i mechanizm oporności MLSB.

Najczęściej wykrywanym fenotypowo mechanizmem oporności na antybiotyki makrolidowe, linkozamidy i streptograminy B był konstytutywny mechanizm MLSB (35,8%), co jest zgodne z badaniami Lina (tu było 36,6%) i nieco mniej niż u Castro-Alarcon (47%), a inaczej niż u Lenart-Boroń (gdzie występował tylko u 4% szczepów, a dominował mechanizm indukowalny) [27, 31, 32]. Fenotyp oporności na erytromycynę i zachowanej wrażliwości na klindamycynę (MSB) został potwierdzony u 17 izolatów (17,9%), u Lenart-Boroń u 28%.

Różnice pomiędzy detekcją genów a fenotypowym wykrywaniem mechanizmów oporności mogą wynikać stąd, że przebadaliśmy tylko kilka wybranych genów – nie szukaliśmy np. różnych wariantów genu *msr*, genów *mph* (kodujących fosfotransferazy), genów *lnu* (odpowiadających za oporność na linkozamidy) [32].

Antybiotyk	Szczepy odporne		
	wśród wszystkich CNS (n, %)	Szczepy odporne wśród MRCNS (n, %)	Szczepy odporne wśród MSCNS (n, %)
erytromycyna	31 (67,4)	25 (54,3)	6 (13,1)
klindamycyna	24 (52,2)	20 (43,5)	4 (8,7)
ciprofloksacyna	17 (37,0)	16 (34,8)	1 (2,2)
gentamycyna	21 (45,6)	17 (36,9)	4 (8,7)
trimetoprim/sulfametoksazol	16 (34,8)	15 (32,6)	1 (2,2)
mupirocyna	4 (8,7)	3 (6,5)	1 (2,2)

Tab. 3. Oporność na poszczególne antybiotyki wśród gronkowców izolowanych z powierzchni dotykowych.

Tab. 4. Udział fenotypów oporności oraz odsetek wykrytych genów oporności w podziale na poszczególne gatunki CNS.

Gatunek	Liczba szczepów (n, %)	Fenotyp metacyliooporny (n, %)	Gen mecA (n, %)	Fenotyp oporności na makrolity (n, %)	Geny erm oraz msr (n, %)	Fenotyp mupirocynooporności (n, %)	Gen mup (n, %)
<i>S. epidermidis</i>	16 (34,8)	8 (17,4)	10 (21,7)	10 (21,7)	8 (17,2)	2 (4,3)	2 (4,3)
<i>S. haemolyticus</i>	11 (23,9)	11 (23,9)	11 (23,9)	11 (23,9)	7 (15,2)	2 (4,3)	3 (6,5)
<i>S. hominis</i>	5 (10,9)	4 (8,7)	4 (8,7)	3 (6,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (4,3)
<i>S. capitis</i>	4 (8,7)	2 (4,3)	2 (4,3)	1 (2,2)	1 (2,2)	0 (0,0)	1 (2,2)
<i>S. warneri</i>	6 (13,0)	1 (2,2)	1 (2,2)	3 (6,5)	2 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>S. simulans</i>	1 (2,2)	1 (2,2)	1 (2,2)	1 (2,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>S. pettenkoferi</i>	2 (4,3)	2 (4,3)	2 (4,3)	2 (4,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>S. saprophyticus</i>	1 (2,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Razem	46 (100)	29 (63,0)	31 (67,4)	31 (67,4)	18 (39,1)	4 (8,6)	8 (17,2)

Tab. 5. Zdolność badanych szczepów do tworzenia biofilmu.

Zabarwienie kolonii	Liczba (%)	Posiada zdolność tworzenia biofilmu
Bardzo czarna	0 (0)	–
Czarna	3 (6,5)	TAK
Prawie czarna	9 (19,5)	TAK
Bordo	30 (65,2)	NIE
Czerwony	0 (0)	–
Bardzo czerwony	4 (8,8)	NIE

Wrażliwość na mupirocynę dotyczyła największej liczby szczepów, gen mup znaleziono u 8 szczepów (17,2%), chociaż fenotypowo tę oporność stwierdzono tylko u 4 szczepów.

Jedną z istotnych cech wirulencji szczepów CNS jest zdolność do tworzenia biofilmu. Zastosowana tutaj metoda badania biofilmu jest metodą skринingową – pozwoliła jednak ocenić, że około 1/3 szczepów jest potencjalnie biofilmotwórczych, mniej niż w badaniach Szczuki, w przypadku których 64% szczepów CNS tworzyło biofilm [33]. Znaczny odsetek szczepów gronkowców koagulazoujemnych izolowanych z powierzchni dotykowych oddziałów szpitalnych potwierdza znaczenie przestrzegania procedur dezynfekcji powierzchni oraz generalnie utrzymania czystości oddziałów szpitalnych, a także przestrzegania procedur higieny rąk przez pracowników medycznych mających kontakt z pacjentami. Niestety raportowane przez polskich badaczy jak dotąd współczynniki zgodności praktyki higieny rąk

z zaleceniami, a także wiedza w tym zakresie są niepokojąco niskie [10–12]. Wobec powyższego zarządzający jednostkami ochrony zdrowia powinni rozważyć wyposażenie oddziałów w powierzchnie dotykowe zawierające materiały o dowiedzionych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych, na co wskazują m.in. zapisy, które znalazły się także w obwieszczeniu Ministra Zdrowia z 28 października 2015 r. w sprawie standardów akredytacyjnych w zakresie udzielania świadczeń zdrowotnych oraz funkcjonowania podmiotów leczniczych wykonujących inwazyjne procedury zabiegowe i operacyjne (wydanym na podst. art. 5 ust. 2 ustawy z 6 listopada 2008 r. o akredytacji w ochronie zdrowia). W szczególności mogą być to elementy wyposażenia wykonane ze stopów miedzi (Cu⁺) o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych, potwierdzonych laboratoryjnie (certyfikaty Environmental Protection Agency), a także klinicznie [34].

Szczególnie uzasadnione może to być w oddziałach kardiologii, neurochirurgii i ortopedii implantacyjnej, w których zakażenia miejsca operowanego wywołane przez koagulazoujemne gronkowce, w tym odporne na metycylinę, stanowią istotny problem.

KONFLIKT INTERESÓW: nie zgłoszono.

DEKLARACJA PRZEJRZYSTOŚCI: praca była realizowana w ramach zadań badawczych na utrzymanie potencjału badawczego CM UJ nr K/ZDS/007040

PIŚMIENICTWO

1. Rampling A, Wiseman S, Davis L, Hyett AP, Walbridge AN, Payne GC, Cornaby AJ. Evidence that hospital hygiene is important in the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect* 2001;49(2):109–116 [doi: 10.1053/jhin.2001.1013].
2. Dancer SJ. Controlling hospital-acquired infection: focus on the role of the environment and new technologies for decontamination. *Clin Microbiol Rev* 2014;27(4):665–690 [doi: 10.1128/CMR.00020-14].
3. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. *Am J Infect Control* 2007;35(Suppl 2):S165–193 [doi: 10.1016/j.jaic.2007.10.006].
4. Xu Z, Mkrtchyan HV, Cutler RR. Antibiotic resistance and mecA characterization of coagulase-negative staphylococci isolated from three hotels in London, UK. *Front Microbiol*. 2015;9:6:947 [doi: 10.3389/fmicb.2015.00947].
5. Roberts MC, Soge OO, No D, Helgeson SE, Meschke JS. Characterization of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from public surfaces on a university campus, student homes and local community. *J Appl Microbiol*. 2011;110(6):1531–1537 [doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.05017.x].
6. Simões RR, Aires-de-Sousa M, Conceição T, Antunes F, da Costa PM, de Lencastre H. High prevalence of EMRSA-15 in Portuguese public buses: a worrisome finding. *PLoS One* 2011;6(3):e17630 [doi: 10.1371/journal.pone.0017630].
7. Shurland S, Zhan M, Bradham DD, Roghmann MC. Comparison of mortality risk associated with bacteremia due to methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28(3):273–9 [doi: 10.1086/512627].
8. Chmielarczyk A, Pomorska-Wesotowska M, Szczypka A, Romaniszyn D, Pobiega M, Wójkowska-Mach J. Molecular analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from different types of infections from patients hospitalized in 12 regional, non-teaching hospitals in southern Poland. *J Hosp Infect* 2017;95(3):259–267 [doi: 10.1016/j.jhin.2016.10.024].
9. Dancer SJ, White LF, Lamb J, Girvan EK, Robertson C. Measuring the effect of enhanced cleaning in a UK hospital: a prospective cross-over study. *BMC Med* 2009;7:28 [doi: 10.1186/1741-7015-7-28].
10. Garus-Pakowska A, Sobala W, Szatko F. Observance of hand washing procedures performed by the medical personnel before patient contact. Part I. *Int J Occup Med Environ Health* 2013;26(1):113–21 [doi: 10.2478/s13382-013-0092-4].
11. Garus-Pakowska A, Sobala W, Szatko F. Observance of hand washing procedures performed by the medical personnel after the patient contact. Part II. *Int J Occup Med Environ Health* 2013;26(2):257–64 [doi: 10.2478/s13382-013-0094-2].
12. Wałaszek M, Kołpa M, Wolak Z, Różańska A and Wójkowska-Mach J. Poor Hand Hygiene Procedure Compliance among Polish Medical Students and Physicians-The Result of an Ineffective Education Basis or the Impact of Organizational Culture? *Int J Environ Res Public Health* 2017;14(9):1026 [doi: 10.3390/ijerph14091026].
13. Garcia-Cruz CP, Aguilar MJN, Arroyo-Helguera OE. Fungal and bacterial contamination on indoor surfaces of a hospital in Mexico. *Jundishapur J Microbiol* 2015;5(3):460–464 [doi.org/10.5812/jjm.2625].
14. Różańska A, Romaniszyn D, Chmielarczyk A, Bulanda M. Bacteria contamination of touch surfaces in Polish hospital wards. *Med Pr* 2017;68(4):459–467 [doi: 10.13075/mp.5893.00575].
15. Hu H, Johani K, Gosbell IB, Jacombs ASW, Almatroudi A, Whiteley GS i wsp. Intensive care unit environmental surfaces are contaminated by multidrug-resistant bacteria in biofilms: Combined results of conventional culture, pyrosequencing, scanning electron microscopy, and confocal laser microscopy. *J Hosp Infect* 2015;91(1):35–44 [doi: 10.1016/j.jhin.2015.05.016].
16. Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis* 2002;34(4):482–492 [doi: 10.1086/324626].
17. Pereira EM, Schuenck RP, Malvar KL, Iorio NL, Matos PD, Olendzki AN i wsp. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus*: methicillin-resistant isolates are detected directly in blood cultures by multiplex PCR. *Microbiol Res* 2010;165(3):243–249 [doi: 10.1016/j.micres.2009.03.003].
18. Anthony RM, Connor AM, Power EG, French GL. Use of the polymerase chain reaction for rapid detection of high-level mupirocin resistance in staphylococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18(1):30–34.
19. Sutcliffe J, Grebe T, Tait-Kamradt A, Wondrack L. Detection of erythromycin-resistant determinants by PCR. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40(11):2562–2566.
20. Arciola CR, Campoccia D, Gamberini S, Cervellati M, Donati E, Montanaro L. Detection of slime production by means of an optimised Congo red agar plate test based on a colourimetric scale in *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates genotyped for ica locus. *Biomaterials* 2002;23(21):4233–4239.
21. Bouchami O, Achour W, Mekni MA, Rolo J, Ben Hassen A.(2011a). Antibiotic resistance and molecular characterization off clinical isolates of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci isolated from bacteremic patients in oncohematology. *Folia Microbiol (Praha)* 2011;56:122–130 [doi: 10.1007/s12223-011-0017-1].
22. Klingenberg C, Rønnestad A, Anderson AS, Abrahamsen TG, Zorman J, Villaruz A, Flaegstad T, Otto M, Sollid JE. Persistent strains of coagulase-negative staphylococci in a neonatal intensive care unit: virulence factors and invasiveness. *ClinMicrobiol Infect* 2007;13(11):1100–1111 [doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01818.x].
23. Huebner J, Goldmann DA. Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens. *Annu Rev Med* 2009;50(1):223–236 [doi: 10.1146/annurev.med.50.1.223].
24. Basaglia G, Moras L, Bearz A, Scalone S, Paoli PD. *Staphylococcus cohnii* septicaemia in a patient with colon cancer. *J Med Microbiol*. 2003;52:101–102 [doi: 10.1099/jmm.0.05002-0].
25. Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-negative staphylococci. *ClinMicrobiol Rev* 2014;27(4):870–926 [doi: 10.1128/CMR00109-13].
26. Monsen T, Karlsson C, Wiström J. Spread of clones of multidrug-resistant, coagulase-negative staphylococci within a university hospital. *Infect Control HospEpidemiol* 2005;26(1):76–80 [doi: 10.1086/502490].
27. Lenart-Boroń A, Wolny-Kotadka K, Stec J, Kasprovic A. Phenotypic and Molecular Antibiotic Resistance Determination of Airborne Coagulase Negative *Staphylococcus* spp. Strains from Healthcare Facilities in Southern Poland. *Microb Drug Resist* 2016;22(7):515–522 [doi: 10.1089/mdr.2015.0271].
28. Singh S, Dhawan B, Kapil A, Kabra SK, Suri A, Sreenivas V, Das BK. Coagulase-negative staphylococci causing blood stream infection at an Indian tertiary care hospital: Prevalence, antimicrobial resistance and molecular characterisation. *Indian J Med Microbiol* 2016;34(4):500–505 [doi: 10.4103/0255-0857.195374].
29. Mkrtchyan HV, Russell CA, Wang N, Cutler RR. Could public restrooms be an environment for bacterial resistomes? *PLoS One* 2013;8(1):e54223 [doi: 10.1371/journal.pone.0054223].
30. Talebi M, Shafiee M, Sadeghi J, Moghadam NA, Saifi M, Pourshafie MR. Genotypic Diversity of Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Inpatients and Outpatients. *Microb Drug Resist* 2016;22(2):147–154 [doi: 10.1089/mdr.2014.0195].
31. Lina G, Quaglia A, Reverdy ME, Leclercq R, Vandenesch F, Etienne J. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(5):1062–1066.
32. Castro-Alarcón N, Ribas-Aparicio RM, Silva-Sánchez J, Calderón-Navarro A, Sánchez-Pérez A, Parra-Rojas I, Aparicio-Ozores G. Molecular typing and characterization of macrolide, lincosamide and streptogramin resistance in *Staphylococcus epidermidis* strains isolated in a Mexican hospital. *J Med Microbiol* 2011;60:730–736 [doi: 10.1099/jmm.0.027847-0].
33. Szczuka E, Jabłońska L, Kaznowski A. Coagulase-negative staphylococci: pathogenesis, occurrence of antibiotic resistance genes and *in vitro* effects of antimicrobial agents on biofilm-growing bacteria. *J Med Microbiol* 2016;65(12):1405–1413 [doi: 10.1099/jmm.0.000372].
34. Salgado CD, Sepkowitz KA, John JF, Cantey JR, Attaway HH, Freeman KD, Sharpe PA, Michels HT, Schmidt MG. Copper surfaces reduce the rate of healthcare-acquired infections in the intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013;34(5):479–486 [doi: 10.1086/670207].