

Gronkowce koagulazo-ujemne: nowe zagrożenie dla zdrowia publicznego?

Magdalena Podkowiak, Jacek Bania, Justyna Schubert, Jarosław Bystron

z Katedry Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta Wydziału Medycyny
Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

Gronkowce koagulazo-ujemne: systematyka i występowanie

Do rodzaju *Staphylococcus* zaliczane są kuliste, nieruchliwe bakterie, widoczne w preparatach mikroskopowych barwionych

metodą Grama w postaci gron. Zgodnie z aktualną wiedzą rodzaj *Staphylococcus* obejmuje 48 gatunków (<http://www.bacterio.net/s/staphylococcus.html>), które ze względu na zdolność do wytwarzania koagulazy zostały podzielone na gronkowce

koagulazo-dodatnie (coagulase-positive staphylococci – CPS) i koagulazo-ujemne (coagulase-negative staphylococci – CNS). Mikroorganizmy te często występują na skórze oraz błonach śluzowych ludzi i zwierząt oraz w środowisku ich bytowania (1, 2, 3, 4). W przypadku ludzi kolonizacja dotyczy głównie dróg oddechowych oraz przewodu pokarmowego i z reguły jest bezobjawowa (5). Spośród siedmiu gatunków gronkowców koagulazo-dodatnich najlepiej poznanym i scharakteryzowanym gatunkiem jest gronkowiec złocisty – *Staphylococcus aureus* (Rosenbach 1884). Gatunek ten uznawany jest za jeden z najważniejszych czynników etiologicznych zakażeń szpitalnych. Może on

wywoływać zarówno zakażenia miejscowe, ograniczone do miejsca wniknięcia patogenu, jak też rozprzestrzeniać się w organizmie, wywołując procesy patologiczne, dotyczące wielu tkanek i narządów, np. zapalenie płuc (*pneumonia*), wsierdzia (*endocarditis*) lub szpiku kostnego (*osteomyelitis*; 2, 6). Wytwarzane przez *S. aureus* enterotoksyny stanowią jedną z najczęstszych przyczyn bakteryjnych zatruc pokarmowych, mających nierzadko masowy charakter (7, 8).

W przeciwieństwie do gronkowca złocistego, gronkowce koagulazo-ujemne przez dziesięciolecia uważane były za drobnoustroje umiarkowanie bądź zupełnie niepatogenne (5, 9, 10, 11). Jeszcze w latach 80. XX wieku gronkowce koagulazo-ujemne izolowane z materiału klinicznego traktowano przeważnie jako zanieczyszczenie pobieranych od chorych wymazów i popłuczyn. Klasyfikowano je jako mikroflorę saprofityczną, niezdolną do wywołania zachorowań. Nawet etymologia nazw gatunkowych, takich jak np. *Staphylococcus epidermidis* (*epiderma* – zewnętrzna powłoka, skóra) czy *Staphylococcus saprophyticus* (*sapros* – gnijący; *pyton* – roślina; *saprophyticus* wzrastający na martwych tkankach), sugeruje ich niepatogenny charakter. Obecnie fakt, że gronkowce koagulazo-ujemne mogą powodować poważne zachorowania ludzi i zwierząt nie budzi już wątpliwości (9).

Udział gronkowców koagulazo-ujemnych w zachorowaniach ludzi i zwierząt

Coraz więcej wiadomo jest o udziale takich gatunków gronkowców koagulazo-ujemnych, jak: *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* czy *S. saprophyticus*, w zakażeniach szpitalnych (12, 13, 14, 15, 16), a według niektórych badaczy potencjał chorobotwórczy wymienionych gatunków zdaje się zbliżony do *S. aureus*. Szereg czynników wirulencji, pierwotnie scharakteryzowanych w szczepach gronkowca złocistego, takich jak: hemolizyny α , β , δ i γ , leukocydyny, toksyny złuszczające A i B oraz geny determinujące antybiotykooporność, wykryto także w genomach koagulazo-ujemnych szczepów *Staphylococcus* spp. (17, 18, 19, 20, 21).

Według aktualnych danych bakterie zaliczane do rodzaju *Staphylococcus* należą do kluczowych czynników etiologicznych zakażeń szpitalnych (11, 22). Już kilka dekad wcześniej udowodniono ich znaczący udział w rozwoju zespołu wstrząsu toksycznego (12), zapaleniu wsierdzia (23) oraz powikłaniach ran pooperacyjnych (24). Od kilkunastu lat obserwowany jest systematyczny wzrost liczby poważnych zakażeń wywołanych przez tę grupę drobnoustrojów, zwłaszcza wśród osób o obniżonej odporności (16). Do gatunków

gronkowców koagulazo-ujemnych o szczególnym znaczeniu w medycynie człowieka zalicza się: *S. epidermidis*, *S. lugdunensis*, *S. saprophyticus* i *S. haemolyticus* (9). Dane zebrane na przestrzeni ostatniej dekady XX wieku w Stanach Zjednoczonych Ameryki, w ramach National Nosocomial Infections Surveillance System (NNIS) wskazują, że aż 38% patogenów izolowanych z krwi chorych na oddziałach intensywnej terapii stanowiły gronkowce inne niż *S. aureus* (NNIS 1999, <http://www.cdc.gov/nhsn>).

Zakażenia gronkowcowe u zwierząt, ze względu na możliwość transmisji czynnika chorobotwórczego na człowieka, stanowią zagrożenie dla zdrowia publicznego (4, 25). Zagrożeniem to związane jest głównie ze zwierzętami wykorzystywanymi do produkcji żywności, ale ryzyko transmisji stwarza także kolonizacja zwierząt towarzyszących (25, 26, 27). Zakażenia gronkowcowe zwierząt przyczyniają się do poważnych strat ekonomicznych, zwłaszcza w przemyśle mleczarskim. *Staphylococcus aureus* spotykany jest w mleku krów i innych gatunków przeżuwaczy, stanowiąc najważniejszą przyczynę zapalenń wymienia (28, 29). Zakażenia wymienia wywołane przez gronkowce koagulazo-ujemne mają przeważnie charakter subkliniczny (30), jednak wzrost liczby komórek somatycznych w mleku podczas zakażenia jest porównywalny ze wzrostem w zakażeniach wywołanych przez gronkowca złocistego. Do koagulazo-ujemnych gronkowców najczęściej izolowanych z przypadków *mastitis* należą takie gatunki, jak: *S. chromogenes*, *S. xylosum*, *S. cohnii* oraz *S. simulans* (31). Zapalenia wymienia, w których czynnikiem etiologicznym są gronkowce koagulazo-ujemne, cechuje przewlekłość przebiegu (29). Niepowodzenia w leczeniu wynikają m.in. z wielolekooporności często obserwowanej wśród izolatów *Staphylococcus* spp. (32, 33) oraz zdolności do adherencji do komórek gruczołu mlekowego (34).

Staphylococcus epidermidis – występowanie i czynniki wirulencji

Staphylococcus epidermidis to najczęściej izolowany gatunek bakterii z powierzchni ciała człowieka. Kolonizuje zwykle skórę w okolicy pach, skórę głowy oraz przedsionek nosa (35). *Staphylococcus epidermidis* określany bywa drobnoustrojem „na granicy patogenności i komensalizmu”. Ujawnienie się jego chorobotwórczego charakteru może być jednak przyczyną zakażeń zagrażających życiu ludzi (11, 36).

Uważa się, iż obserwowany w ostatnich kilkunastu latach wzrost częstości zakażeń z udziałem *S. epidermidis* może wynikać z coraz powszechniejszego stosowania

Coagulase-negative staphylococci: an emerging threat to public health?

Podkowiak M., Bania J., Schubert J., Bystron J., Department of Food Hygiene and Consumer Health, Wrocław University of Environmental and Life Sciences

This paper aims at the presentation of emerging threat for public health exerted by coagulase-negative staphylococci. These staphylococci comprise over 40 species and subspecies of different pathogenicity and biochemical properties. Many of them are well known commensals of mucocutaneous sites in humans and animals. Recent findings indicate that the pathogenic potential of certain coagulase-negative staphylococci is comparable to that represented by coagulase-positive *Staphylococcus aureus*. Nowadays, coagulase-negative staphylococci are the leading cause of nosocomial infections. The virulence factors, antibiotic resistance and genotypes of *S. aureus* are well characterised, whereas population genetics, prevalence of virulence factors and antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci, especially those derived from food, remain poorly recognized. Coagulase-negative staphylococci in food can be indirectly hazardous for consumer health, serving as reservoir of resistance and virulence genes contributing to the evolution of *S. aureus* virulence. The presence of enterotoxin genes in food-derived, coagulase-negative staphylococci can constitute the direct food safety hazard.

Keywords: coagulase-negative staphylococci, food safety, enterotoxins, antibiotic resistance.

w leczeniu takiego sprzętu medycznego, jak: porty naczyniowe, cewniki, implanty czy protezy stawów, które mogą stanowić wektor przenoszenia się tej bakterii. Istotną przyczyną problemów związanych z przebiegiem zakażeń z udziałem *S. epidermidis* może być także narastanie zjawiska antybiotykooporności wśród klinicznych izolatów tego gatunku (37).

W przeciwieństwie do *S. aureus*, którego chorobotwórczość w znacznej mierze opiera się na wytwarzaniu toksyn i egzoenzymów, wirulencja *S. epidermidis* związana jest głównie z wytwarzaniem czynników warunkujących adhezję do powierzchni nieożywionych oraz tkanek, a także z czynnikami warunkującymi ochronę przed systemem odpornościowym gospodarza (11).

Zakażenia *S. epidermidis* dotyczą głównie osób o obniżonej odporności, np. chorych poddawanych chemioterapii, pacjentów po transplantacji, przewlekle chorych i osób w podeszłym wieku. Patogen ten odpowiada za blisko 70% zakażeń uroligacyjnych ze stosowaniem cewników urologicznych i naczyniowych (38). Wysoki odsetek zakażeń wynika z powszechnego występowania tego mikroorganizmu na skórze

ludzi oraz zdolności do wytwarzania przezeń wielowarstwowych aglomeracji zespolonych zewnątrzkomórkowymi polimerami, tj. biofilmu (39, 40).

Biofilm

Zdolność wytwarzania biofilmu uważana jest za istotny czynnik zjadliwości mikroorganizmów. Zakażenia związane z tworzeniem biofilmu bakteryjnego są trudne w leczeniu, ponieważ jego obecność radykalnie obniża wrażliwość drobnoustrojów na stosowane leki przeciwbakteryjne oraz chroni bakterie przed oddziaływaniem układu immunologicznego gospodarza. W konsekwencji leczenie takich zakażeń wymaga stosowania wyższych dawek antybiotyków niż w przypadku zakażeń wywołanych przez patogeny nieprodukujące biofilmu (41, 42).

Zdolność wytwarzania biofilmu, po raz pierwszy zidentyfikowana w szczepach *S. epidermidis*, zdaje się być istotnym markerem różnicującym szczepy komensalne i inwazyjne (43, 44). Ziebuhr i wsp. (45) w swoich badaniach wykazali, że 87% izolatów wyodrębnionych z przypadków zakażeń wytwarzało biofilm, natomiast wśród szczepów komensalnych zjawisko to dotyczyło zaledwie 11% izolatów.

Głównym komponentem biofilmu jest cząsteczka PIA (polysaccharide intercellular adhesin), będąca cukrowym polimerem zbudowanym z glukozaminoglukozy. Enzymy biorące udział w syntezie PIA kodowane są przez geny tworzące operon *icaADBC* (46, 47). Występowanie operonu *icaADBC* w genomie *S. epidermidis* uznaje się za charakterystyczne dla szczepów odpowiedzialnych za rozwój zakażenia (45).

Sekwencja IS256

Za kolejny marker patogenności uznaje się insercyjną sekwencję *IS256*, występującą w genomach wielolekoopornych bakterii z rodzaju *Enterococcus* i *Staphylococcus* (48). Korelacja pomiędzy chorobotwórczością a obecnością sekwencji *IS256* szczególnie wyraźnie zaznacza się w szczepach *S. epidermidis* (49). Wykazano, że *IS256* może wyzwać produkcję biofilmu w szczepach *S. epidermidis* poprzez odwracalną transpozycję w obszar genów odpowiedzialnych za produkcję biofilmu, bądź regulujących jego wytwarzanie (50). Insercja *IS256* może też modulować antybiotykooporność *S. epidermidis* (51, 52). *IS256*, występująca w genomie w wielu kopiach, tworzy miejsca, w których dochodzi do rekombinacji homologicznej, podczas której może dochodzić do nabywania przez mikroorganizm nowych cech (50, 53).

Element ACME

ACME (arginine catabolic mobile element) to ruchomy element genetyczny zaliczany do niedawno opisanej klasy wysp patogenności. W obrębie ACME zidentyfikowano dwie grupy genów: *arcA* oraz *opp-3A* kodujące enzymy dodatkowego szlaku deiminy argininy oraz system permeaz oligopeptydowych (54).

Obecność ACME po raz pierwszy stwierdzono w genomie metycylinoopornego szczepu *S. aureus* USA300 związanego ze środowiskiem pozaszpitalnym. Uważa się, iż *S. aureus* otrzymał ACME na drodze horyzontalnego transferu od *S. epidermidis* (54). ACME zwiększa szanse przeżycia *S. aureus* w środowisku przypominającym warunki panujące na powierzchni skóry człowieka (55). Wspomniany element genetyczny prawdopodobnie przyczynił się do rozprzestrzenienia klonu MRSA USA300 poza środowiskiem szpitalnym. Wykazano, iż obecność ACME w genomie jest korzystna także dla *S. epidermidis*, sprzyjając długotrwałej kolonizacji oraz przetrwaniu tego gatunku w środowisku o niskiej zawartości tlenu (54, 56). Określenie typu ACME jest pomocne w badaniach zróżnicowania genetycznego szczepów *S. epidermidis*. W połączeniu z określeniem typu kasy oporności na metycylinę oraz przynależności do kompleksu klonalnego (CC, Clonal Complex) umożliwia identyfikację szczepów *S. epidermidis* (57).

Struktura populacji *S. epidermidis*

Badania struktury populacji gronkowców rozpoczęły się w latach pięćdziesiątych XX wieku i dotyczyły gronkowca złocistego (58). W ostatnich latach techniki oparte na analizie DNA, takie jak MLST (multi locus sequence typing), PFGE (pulsed field gel electrophoresis) i RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) wykorzystywane są także do określania genetycznego zróżnicowania populacji *S. epidermidis* (21, 59, 60). Techniki te pozwalają na ustalanie powiązań pomiędzy szczepami pochodzącymi z różnych rejonów geograficznych oraz izolatami ze środowiska szpitalnego i pozaszpitalnego (61). Wyzwaniem nadal pozostaje różnicowanie komensalnych i patogennych szczepów *S. epidermidis*, choć powiązanie analizy genomu z badaniami epidemiologicznymi stwarza szanse na postęp w tej dziedzinie (62).

Badania nad epidemiologią *S. epidermidis* prowadzone są od stosunkowo niedawna. Stąd dane na temat struktury populacji *S. epidermidis* są uboższe niż w przypadku *S. aureus*.

Znaczenie *S. epidermidis* w ewolucji *S. aureus*

Uważa się, iż *S. epidermidis* może pełnić rolę rezerwuaru genów dla bardziej patogennego gatunku, gronkowca złocistego (36, 63). Opisywano zdolność *S. epidermidis* do akumulacji determinant antybiotykooporności (57), a międzygatunkowy transfer mobilnych elementów genetycznych pomiędzy *S. epidermidis* i *S. aureus* nie budzi wątpliwości (64). Co ciekawe, o ile *S. aureus* uznawany jest za gatunek często pobierający materiał genetyczny od różnych gatunków gronkowców koagulazo-ujemnych, o tyle *S. epidermidis* zdaje się być jedynie donorem genów, o czym świadczyć może brak szerokiego repertuaru toksyn i agresywnych czynników wirulencji w genomie tego gatunku (63, 65). Zgodnie z nowymi koncepcjami, ten jednokierunkowy przepływ genów może być uwarunkowany obecnością w genomie *S. epidermidis* krótkich, powtarzających się elementów genetycznych o charakterze palindromowym, określanym mianem CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeat loci). Sekwencje te rozpoznają obce DNA, wiążą się do niego i kierują do degradacji. Mechanizm ten chroni komórki *S. epidermidis* przed wbudowaniem się obcego DNA do genomu. Sekwencje CRISPR występują także w genomie *S. aureus*, ale ze znacznie mniejszą częstością (63, 66).

Patogenność innych gatunków gronkowców koagulazo-ujemnych

Lista gatunków gronkowców koagulazo-ujemnych, których patogenność została udokumentowana stale się powiększa. Przyczyniają się do tego coraz lepsze techniki identyfikacji mikroorganizmów, a zwłaszcza połączenie metod bazujących na analizie fenotypu i genotypu. Jeszcze istotniejszymi przyczynami zdają się: coraz powszechniejsze stosowanie chemioterapeutyków o szerokim spektrum działania przeciwbakteryjnego oraz procedur i zabiegów medycznych związanych z rozwojem chirurgii transplantacyjnej i implantacyjnej. Pozwala to na ujawnienie się chorobotwórczego potencjału mikroorganizmów uważanych dotąd za niezdolne do wywołania zakażeń (15).

Trudności w identyfikacji dotyczą m.in. *Staphylococcus lugdunensis*, zaliczane do tzw. nowych patogenów. Zakażenia *S. lugdunensis* mają często gwałtowny przebieg i w swym charakterze przypominają bardziej zakażenia wywołane przez gronkowca złocistego, niż przez inne gatunki gronkowców koagulazo-ujemnych. *Staphylococcus lugdunensis* był izolowany z przypadków zapalenia opon

mózgowych, zapalenia wsierdza, bakteriemii oraz z ropni (67, 68).

Staphylococcus saprophyticus jest drugim, obok *Escherichia coli*, najczęstszym czynnikiem etiologicznym zakażeń układu moczowego u kobiet w wieku rozrodczym (69). Istotnym czynnikiem zjadliwości *S. saprophyticus* jest zdolność do wytwarzania znacznych ilości ureazy, co wspomaga rozprzestrzenianie się patogenu i kolonizację układu moczowego (70).

Staphylococcus haemolyticus jest drugim po *S. epidermidis* najczęściej izolowanym gatunkiem gronkowców koagulazo-ujemnych w posiewach z krwi u chorych z bakteriami (11). W obrębie tego gatunku stwierdzono szczepy o obniżonej wrażliwości na wankomycynę (71), antybiotyki stosowane w lecznictwie zamkniętym, zarezerwowane do leczenia najcięższych zakażeń. Znane są także szczepy *S. haemolyticus* wykazujące oporność na linezolid (72). Linezolid, podobnie jak wankomycyna, zaliczany jest do grupy „leków ostatniej szansy” i stosowany do klinicznego zwalczania zakażeń wielolekoopornymi gronkowcami (73).

Antybiotykooporność gronkowców koagulazo-ujemnych

Antybiotykooporność stanowi aktualnie jedno z najistotniejszych zagrożeń dla zdrowia publicznego. Obniża skuteczność leczenia, zwiększa jego koszty, a także stwarza ryzyko niepowodzenia w przypadku procedur, takich jak: transplantacje, zabiegi chirurgiczne czy chemioterapia nowotworów.

Gronkowce koagulazo-ujemne znane są ze zdolności do nabywania oporności na różnorodne chemioterapeutyki (74). Narastające zjawisko antybiotykooporności wśród gronkowców koagulazo-ujemnych związane jest z powszechnym, często nadmiernym stosowaniem chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych w medycynie, weterynarii oraz rolnictwie (75, 76, 77, 78, 79). Istotnym problemem jest warunkowana obecnością genu *mecA* oporność koagulazo-ujemnych gronkowców na metycylinę i inne penicyliny przeciwgronkowcowe i cefalosporyny. Przypuszcza się, iż pojawienie się pierwszych szczepów gronkowców opornych na metycylinę (MRSA) w 1961 r., a więc zaledwie kilka lat po wprowadzeniu do lecznictwa metycyliny, zapoczątkowane było przeniesieniem genu *mecA* z genomu koagulazo-ujemnego *S. sciuri* (80). Oporne na metycylinę gronkowce koagulazo-ujemne (methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci – MRCNS) są izolowane z żywności częściej niż metycylineooporny gronkowiec złocisty (19, 81), a wśród klinicznych izolatów *S. epidermidis* odsetek

szczepów metycylineoopornych sięga nawet 90% (24, 82). Również geny warunkujące oporność na leki zaliczane do grupy makrolidów, tetracyklin oraz aminoglikozydów są stwierdzane z wysoką częstością w genomach gronkowców koagulazo-ujemnych izolowanych z wielu środowisk (4, 19, 83). Od połowy lat osiemdziesiątych obserwowane jest pojawianie się szczepów gronkowców koagulazo-ujemnych o obniżonej wrażliwości na leki zarezerwowane wyłącznie do użycia w lecznictwie szpitalnym (84, 85). Coraz częściej wyosabiane są szczepy o obniżonej wrażliwości na wankomycynę oraz odporne na tetracyklinę (86, 87).

Ze względu na lokalizację większości determinantów lekooporności na mobilnych elementach genetycznych są one łatwo i często przekazywane na drodze horyzontalnego transferu pomiędzy bakteriami kolonizującymi określone środowiska (88, 89). Znaczenie antybiotykoopornych gatunków gronkowców koagulazo-ujemnych wybiega poza ich uczestnictwo w wywołaniu zakażeń, gdyż mogą one być dawcami genów oporności dla znacznie bardziej patogennych przedstawicieli *Staphylococcus* spp., jak *S. aureus* czy *S. epidermidis* (16, 90, 91). Rola środowiskowego rezerwuaru genów przypisywana jest *S. xyloso*, *S. sciuri* oraz *S. caprae* (92).

Enterotoksyczność gronkowców koagulazo-ujemnych

Gronkowcowe zatrucia pokarmowe są chorobami związanymi ze spożyciem żywności zawierającej enterotoksyny (7). Od wielu lat zatrucia te należą do grupy najczęstszych chorób powiązanych z żywnością, których czynnikiem etiologicznym są bakterie (8). Wedle aktualnych statystyk, każdego roku w samych Stanach Zjednoczonych gronkowiec złocisty odpowiada za ponad 240 tys. przypadków zatruc pokarmowych (74), jakkolwiek ze względu na krótki czas trwania choroby prawdopodobnie dane te są znacząco zaniżone (94). Centrum Zwalczania i Zapobiegania Chorobom USA (Centers for Disease Control and Prevention – CDC) w 2011 r. zaliczyło *S. aureus* do grupy 5 najważniejszych, spośród 31 znanych patogenów wywołujących zatrucia pokarmowe. Żywnością najczęściej powiązaną z gronkowcowymi zatruciami pokarmowymi jest mięso i jego przetwory (7).

Gronkowcowe zatrucia pokarmowe cechują: krótka inkubacja (od 30 min do 8 godz.) oraz gwałtowny przebieg. Główne objawy to: nasilone wymioty, bolesne skurcze mięśni gładkich przewodu pokarmowego, czasem biegunka, osłabienie i zawroty głowy. Spontaniczna remisja następuje zwykle w ciągu 24–36 godz. (7, 8).

Przez dziesięciolecia koagulazo-dodatni *S. aureus* uważany był za jedyny gatunek zdolny do wytwarzania enterotoksyn gronkowcowych. W szczepach *S. aureus* zidentyfikowano 23 czynniki zaliczone do rodziny enterotoksyn (8, 94, 95, 96). Enterotoksyny gronkowcowe mają ujednoczoną nomenklaturę, ich nazwy tworzone są poprzez dodanie do skrótu SE (staphylococcal enterotoxin) kolejnych liter alfabetu (SEA-SEE, SEG-SEIU, SEIV2, SEIX). Enterotoksyny gronkowcowe są białkami o wysoce stabilnej strukturze, opornymi na działanie niskiego pH oraz większości enzymów proteolitycznych, w tym trypsyny i pepsyny, co zapewnia utrzymywanie ich aktywności w przewodzie pokarmowym. Ich znaczna termooporność sprawia, że nie ulegają inaktywacji podczas obróbki termicznej żywności (97). Wszystkie znane enterotoksyny zaliczane są do superantygenów. W odróżnieniu od antygenów konwencjonalnych nie muszą być one przetwarzane przez komórki prezentujące antygen, zdolne są więc do niskospecyficznego stymulacji limfocytów T. Szacuje się, iż enterotoksyny gronkowcowe w stężeniach rzędu kilku pg/ml mogą aktywować nawet 50% wszystkich limfocytów T w organizmie. Wysokie stężenia prozapalnych cytokin, takich jak: interleukina-2 (IL-2), interferon- γ (IFN- γ) i czynnik martwicy nowotworu (TNF- α), wydzielanych przez pobudzone limfocyty T, mogą prowadzić do rozwoju objawów, takich jak: niewydolność wielonarządowa, wysoka gorączka, spadek ciśnienia krwi i większa przepuszczalność naczyń krwionośnych, określanych mianem zespołu wstrząsu toksycznego (98).

Pierwsze prace informujące, że także koagulazo-ujemne gatunki gronkowców mogą produkować enterotoksyny wraz z opisem związanych z nimi przypadków zatruc pokarmowych pojawiły się w latach 50. i 70. dwudziestego wieku (99, 100), jednak ze względu na brak dokładnych danych do doniesień tych podchodzono sceptycznie.

Znaczenie gronkowców koagulazo-ujemnych w patogenezie zostało najwcześniej rozpoznane w medycynie ludzi, stąd też większość studiów nad enterotoksycznością tych mikroorganizmów dotyczy szczepów powiązanych z zachorowaniami człowieka. Udział tej grupy gronkowców w zatruciach pokarmowych oraz zachorowaniach zwierząt został dostrzeżony dopiero później (101). Pierwszego opisu udziału gronkowców koagulazo-ujemnych w rozwoju zespołu wstrząsu toksycznego dokonano w latach 80. XX wieku (12). Wyizolowane koagulazo-ujemne gronkowce były zdolne do wytworzenia toksyny zespołu wstrząsu toksycznego – TSST-1 (toxic shock

syndrome toxin 1), SEA oraz SEC (12). Zdolność do wytwarzania enterotoksyn oraz TSST-1 potwierdzają badania prowadzone przez da Cunha i wsp. (14, 102), w których analizowano szczepy koagulazo-ujemnych gronkowców pochodzących od hospitalizowanych noworodków i osób dorosłych. Analiza danych doświadczalnych wykazała, że pirogenne i toksyczne oddziaływanie enterotoksyn koagulazo-ujemnych gronkowców może wywierać większy wpływ na przebieg zakażeń z udziałem wspomnianych patogenów, niż ich wielolekooporność (103). Zdolne do produkcji enterotoksyn zdają się być koagulazo-ujemne gronkowce powiązane ze zwierzętami, jak psy (104) i przeżuwacze (105, 106). Valle i wsp. (105) używając testów serologicznych potwierdził wytwarzanie SEC oraz innych enterotoksyn przez 22% szczepów gronkowców koagulazo-ujemnych pochodzących od zdrowych kóz. Analiza 263 izolatów gronkowców koagulazo-ujemnych powiązanych z zakażeniami wymienia u krów przeprowadzona przez Park i wsp. (107) wykazała, iż 31% z nich, w tym aż połowa izolatów *S. xylosum* (11/24) oraz wszystkie wyizolowane *S. hyicus*, posiadało przynajmniej jeden gen homologiczny do genów enterotoksyn *S. aureus*.

Według niektórych autorów ryzyko wystąpienia zatruc powiązanych z obecnością gronkowców koagulazo-ujemnych w mleku i produktach mlecznych jest niskie (17), gdyż jak dotąd nie istnieją wiarygodnie udokumentowane opisy takich przypadków. Jednak powszechne występowanie tych mikroorganizmów w środowisku związanym z pozyskiwaniem i przetwarzaniem mleka, a także na powierzchni ciała przeżuwaczy oraz fakt, że gronkowce koagulazo-ujemne są drobnoustrojami najczęściej izolowanymi z przypadków *mastitis* u tych zwierząt, (108, 109, 110) skłania wielu badaczy do podejmowania badań nad ich enterotoksycznością. W ostatnim czasie Oliveira i wsp. (111) w surowym mleku krów stwierdzili obecność koagulazo-ujemnych gronkowców produkujących enterotoksyny, występujących w próbkach mleka obok enterotoksycznego gronkowca złościstego. Koagulazo-ujemne gronkowce należą do gatunków *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. haemolyticus* oraz *S. xylosum* pozyskane z mleka kóz były analizowane przez Bautista i wsp. (112). Testy ELISA wykazały, że szczepy te produkują enterotoksyny. Mleko kozie i owcze w procesie produkcji wielu rodzajów serów nie jest poddawane obróbce termicznej. Contreras i wsp. (113) podkreślają potrzebę oceny zagrożenia, jakie stwarza obecność enterotoksycznych gronkowców koagulazo-ujemnych w mleku przeżuwaczy, zwłaszcza owiec i kóz (114, 115).

Enterotoksyczny potencjał oceniany był również w szczepach gronkowców koagulazo-ujemnych izolowanych z dojrzewających hiszpańskich szynek (116, 117). *Staphylococcus piscifermentans*, *S. equorum*, czy też *S. succinus* subsp. *casei* wchodzi w skład kultur starterowych, dodawanych często w wysokich stężeniach do surowców mięsnych podczas produkcji kiełbas dojrzewających (118). Zdolność wytwarzania enterotoksyn SEC i SED potwierdzono w przypadku szczepów *S. epidermidis* i *S. xylosum* wyosobnionych z wędlin dojrzewających (116). Badania Zell i wsp. (119), pokazują możliwość wytworzenia enterotoksyn, najczęściej SEH, przez 6 gatunków gronkowców koagulazo-ujemnych, spotykanych w składzie kultur starterowych. Przytoczone dane obrazują konieczność podjęcia oceny bezpieczeństwa stosowanych w przemyśle spożywczym kultur starterowych zawierających szczepy koagulazo-ujemnych gronkowców.

Informacje na temat przypadków zatruc pokarmowych wywołanych przez gronkowce koagulazo-ujemne są skąpe i niejednoznaczne. Rozpatrując jednak dotychczasowe dane na temat gronkowców zatruc pokarmowych, nie sposób wykluczyć możliwości udziału gronkowców koagulazo-ujemnych. W wielu przypadkach tych zatruc wyosobnienie gronkowców z próbek żywności przetworzonej termicznie jest niemożliwe ze względu na ich niską termooporność. Analiza takich przypadków musi opierać się na detekcji termostabilnych enterotoksyn w próbkach (8). Zatem ustalenie, czy wykryte w próbce enterotoksyny zostały wytworzone przez gronkowce koagulazo-ujemne, czy przez *S. aureus* nie jest w zasadzie możliwe (101).

W badaniach Udo i wsp. (120) udział enterotoksycznych gronkowców koagulazo-ujemnych wśród bakterii wyosobnionych z powierzchni skóry dłoni pracowników przemysłu spożywczego przewyższał udział *S. aureus*. Pozwala to przypuszczać, że w warunkach niespełniających wymogów higienicznych ryzyko transmisji enterotoksycznych gronkowców koagulazo-ujemnych od ludzi do żywności jest realne.

Detekcja enterotoksyn w szczepach gronkowców koagulazo-ujemnych prowadzona była dotychczas zarówno na poziomie kwasów nukleinowych, jak i białek. W detekcji homologicznych do enterotoksyn sekwencji DNA stosowano metody biologii molekularnej, jak PCR oraz hybrydyzacja kwasów nukleinowych. Obecność białek enterotoksyn badana była takimi technikami, jak ELISA, immunoblotting, immunodyszufacja oraz RPLA. W przypadku większości badań prowadzonych na poziomie kwasów nukleinowych wyników nie potwierdzano poprzez sekwencjonowanie otrzymanych w PCR ampliconów.

Rezultaty badań DNA nie były potwierdzane technikami identyfikacji białek, zaś wyniki testu ELISA lub Western blottingu nie były weryfikowane na poziomie DNA i RNA (101).

Ujemne wyniki detekcji enterotoksyn gronkowców koagulazo-ujemnych uzyskane przez wielu badaczy, mogą być związane z różnicami w sekwencji nukleotydowej genów oraz aminokwasowej białek, jakie mogą istnieć pomiędzy *S. aureus* a gronkowcami koagulazo-ujemnymi.

Pomimo upływu kilkudziesięciu lat od pierwszych doniesień, dane dotyczące znaczenia enterotoksycznych gronkowców koagulazo-ujemnych w patogenie zatruc pokarmowych są nadal skąpe. Dlatego też kwestia ta wymagać będzie dalszych badań.

Piśmiennictwo

- Kloos W., Schleifer K.: *Staphylococcus*. W: Holt J. (red.): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins. USA 1986.
- Lowy F.: *Staphylococcus aureus* infections. *N. Engl. J. Med.* 1998, **339**, 520-532.
- Otto M.: Basis of virulence in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Annu. Rev. Microbiol.* 2010, **64**, 143-162.
- Bhargava K., Zhang Y.: Multidrug-resistant coagulase-negative *Staphylococci* in food animals. *J. Appl. Microbiol.* 2012, **113**, 1027-1036.
- Wertheim H., Melles D., Vos M., van Leeuwen W., van Belkum A., Verbrugh H., Nouwen J.: The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect. Dis.* 2005, **5**, 751-762.
- Rehm S.: *Staphylococcus aureus*: the new adventures of a legendary pathogen. *Cleve. Clin. J. Med.* 2008, **75**, 177-192.
- Le Loir Y., Baron F., Gautier M.: *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* 2003, **2**, 63-76.
- Hennekinne J., de Buyser M., Dragacci S.: *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol. Rev.* 2012, **36**, 815-836.
- Kloos W., Bannerman T.: Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clin. Microbiol. Rev.* 1994, **7**, 117-140.
- Gottlieb G., Fowler V. Jr, Kong L., McClelland R., Gopal A., Marr K., Li J., Sexton D., Glower D., Corey G.: *Staphylococcus aureus* bacteremia in the surgical patient: a prospective analysis of 73 postoperative patients who developed *Staphylococcus aureus* bacteremia at a tertiary care facility. *J. Am. Coll. Surg.* 2000, **190**, 50-57.
- Queck S., Otto M.: *Staphylococcus epidermidis* and other Coagulase-Negative Staphylococci. W: Lindsay J. (red.): *Staphylococcus. Molecular Genetics*. Caister Academic Press, Norfolk, UK 2008.
- Crass B., Bergdoll M.: Involvement of coagulase-negative staphylococci in toxic shock syndrome. *J Clin Microbiol.* 1986, **23**, 43-45.
- von Eiff C., Proctor R., Peters G.: Coagulase-negative staphylococci. Pathogens have major role in nosocomial infections. *Postgrad Med.* 2001, **110**:63-76.
- Da Cunha M., Rugolo L., Lopes C.: Study of virulence factors in coagulase-negative staphylococci isolated from newborns. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2006, **101**, 661-668.
- von Eiff C., Arciola C., Montanaro L., Becker K., Campoccia D.: Emerging *Staphylococcus* species as new pathogens in implant infections. *Int. J. Artif. Organs.* 2006, **29**, 360-367.
- Piette A., Verschraegen G.: Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. *Vet. Microbiol.* 2009, **134**, 45-54.
- Irlinger F.: Safety assessment of dairy microorganisms: Coagulase-negative staphylococci. *Int. J. Food. Microbiol.* 2008, **126**, 302-310.
- Podkowik M., Bystron J., Bania J.: Genotypes, antibiotic resistance and virulence factors of staphylococci from ready-to-eat food. *Foodborne Pathog. Dis.* 2012a, **9**, 91-93.
- Podkowik M., Bystron J., Bania J.: Prevalence of antibiotic resistance genes in staphylococci isolated from

- ready-to-eat meat products. *Pol. J. Vet. Sci.* 2012b, **15**, 233-237.
20. Saising J., Singdam S., Ongsakul M., Voravuthikunchai S.: Lipase, protease, and biofilm as the major virulence factors in staphylococci isolated from acne lesions. *Biosci. Trends*. 2012, **6**, 160-164.
 21. Begović J., Jovčić B., Papić-Obradović M., Veljović K., Lučić J., Kojić M., Topisirović L.: Genotypic diversity and virulent factors of *Staphylococcus epidermidis* isolated from human breast milk. *Microbiol. Res.* 2013, **168**, 77-83.
 22. Hidron A., Edwards J., Patel J., Horan T., Sievert D., Pollock D., Fridkin S.: NHSN (National Healthcare Safety Network) annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2008, **29**, 996-1011.
 23. Hoen B., Alla F., Selson-Suty C., Béguinot I., Bouvet A., Briancón S., Casalta J., Danchin N., Delahaye F., Etienne J., Le Moing V., Lepout C., Mainardi J., Ruimy R., Vandenesch F.: Changing profile of infective endocarditis: results of a 1-year survey in France. *JAMA*. 2002, **288**, 75-81.
 24. Rupp M., Archer L.: Coagulase-negative staphylococci: pathogens associated with medical progress. *Clin. Infect. Dis.* 1994, **9**, 231-243.
 25. Weese J.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals. *ILAR J.* 2010, **51**, 233-244.
 26. Huber H., Ziegler D., Pflüger V., Vogel G., Zweifel C., Stephan R.: Prevalence and characteristics of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from livestock, chicken carcasses, bulk tank milk, minced meat, and contact persons. *BMC Vet. Res.* 2011, **7**, 6.
 27. Kern A., Perreten V.: Clinical and molecular features of methicillin-resistant, coagulase-negative staphylococci of pets and horses. *J. Antimicrob. Chemother.* 2013, **68**, 1256-1266.
 28. Pyörälä S., Taponen S.: Coagulase-negative staphylococci-emerging mastitis pathogens. *Vet. Microbiol.* 2009, **134**, 3-8.
 29. Mørk T., Jørgensen H., Sunde M., Kvite B., Sviland S., Waage S., Tollersrud T.: Persistence of staphylococcal species and genotypes in the bovine udder. *Vet. Microbiol.* 2012, **159**, 171-180.
 30. Reyher K., Haine D., Dohoo L., Revie C.: Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens—a systematic review and meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 2012, **95**, 6483-6502.
 31. Supré K., Haesebrouck F., Zadoks R., Vaneechoutte M., Piepers S., de Vliegher S.: Some coagulase-negative *Staphylococcus* species affect udder health more than others. *J. Dairy Sci.* 2011, **94**, 2329-2340.
 32. Moniri R., Dastehgoli K., Akramian A.: Increasing resistant coagulase negative staphylococci in bovine clinical mastitis. *Pak. J. Biol. Sci.* 2007, **10**, 2465-2469.
 33. Taponen S., Pyörälä S.: Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis – not so different from *Staphylococcus aureus*? *Vet. Microbiol.* 2009, **134**, 29-36.
 34. Almeida R., Oliver S.: Interaction of coagulase-negative *Staphylococcus* species with bovine mammary epithelial cells. *Microb. Pathog.* 2001, **31**, 205-212.
 35. Kloos W., Musselwhite M.: Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin. *Appl. Microbiol.* 1975, **30**, 381-385.
 36. Otto M.: *Staphylococcus epidermidis* – the 'accidental' pathogen. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009, **7**, 555-567.
 37. Raad I., Alrahwan A., Rolston K.: *Staphylococcus epidermidis*: emerging resistance and need for alternative agents. *Clin. Infect. Dis.* 1998, **26**, 1182-1187.
 38. von Eiff C., Peters G., Heilmann C.: Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect. Dis.* 2002, **2**, 677-685.
 39. Cho S., Naber K., Hacker J., Ziebuhr W.: Detection of the *icaADBC* gene cluster and biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* isolates from catheter-related urinary tract infections. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2002, **19**, 570-575.
 40. Otto M.: Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity. *Annu. Rev. Med.* 2013b, **64**, 175-188.
 41. Gagnon R., Richards G., Kostiner G.: Time-kill efficacy of antibiotics in combination with rifampin against *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Adv. Perit. Dial.* 1994, **10**, 189-192.
 42. Curtin J., Cormican M., Fleming G., Keelehan J., Collieran E.: Linezolid compared with eperzolid, vancomycin, and gentamicin in an in vitro model of antimicrobial lock therapy for *Staphylococcus epidermidis* central venous catheter-related biofilm infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003, **47**, 3145-3148.
 43. De Silva G., Kantzanou M., Justice A., Massey R., Wilkinson A., Day N., Peacock S.: The *ica* operon and biofilm production in coagulase-negative *Staphylococcus* associated with carriage and disease in a neonatal intensive care unit. *J. Clin. Microbiol.* 2002, **40**, 382-388.
 44. Vandecasteele S., Peetermans W., Merckx R., Van Eldere J.: Expression of biofilm-associated genes in *Staphylococcus epidermidis* during in vitro and in vivo foreign body infections. *J. Infect. Dis.* 2003, **188**, 730-737.
 45. Ziebuhr W., Heilmann C., Götz F., Meyer P., Wilms K., Straube E., Hacker J.: Detection of the intercellular adhesion gene cluster (*ica*) and phase variation in *Staphylococcus epidermidis* blood culture strains and mucosal isolates. *Infect. Immun.* 1997, **65**, 890-896.
 46. Heilmann C., Hussain M., Peters G., Götz F.: Evidence for autolysin-mediated primary attachment of *Staphylococcus epidermidis* to a polystyrene surface. *Mol. Microbiol.* 1997, **24**, 1013-1024.
 47. Mack D., Davies A., Harris L., Rohde H., Horstkotte M., Knobloch J.: Microbial interactions in *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Anal. Bioanal. Chem.* 2007, **387**, 399-408.
 48. Byrne M., Rouch D., Skurray R.: Nucleotide sequence analysis of *IS256* from the *Staphylococcus aureus* gentamicin-tobramycin-kanamycin-resistance transposon Tn4001. *Gene*. 1989, **81**, 361-367.
 49. Gu J., Li H., Li M., Vuong C., Otto M., Wen Y., Gao Q.: Bacterial insertion sequence *IS256* as a potential molecular marker to discriminate invasive strains from commensal strains of *Staphylococcus epidermidis*. *J. Hosp. Infect.* 2005, **61**, 342-348.
 50. Ziebuhr W., Krimmer V., Rachid S., Lössner I., Götz F., Hacker J.: A novel mechanism of phase variation of virulence in *Staphylococcus epidermidis*: evidence for control of the polysaccharide intercellular adhesin synthesis by alternating insertion and excision of the insertion sequence element *IS256*. *Mol. Microbiol.* 1999, **32**, 345-356.
 51. Couto I., Wu S., Tomasz A., de Lencastre H.: Development of methicillin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus sciuri* by transcriptional activation of the *mecA* homologue native to the species. *J. Bacteriol.* 2003, **185**, 645-653.
 52. Jansen A., Türck M., Szeekat C., Nagel M., Clever I., Bierbaum G.: Role of insertion elements and *ycyFG* in the development of decreased susceptibility to vancomycin in *Staphylococcus aureus*. *Microbiol. Infect.* 2003, **9**, 114-119.
 53. Ziebuhr W., Dietrich K., Trautmann M., Wilhelm M.: Chromosomal rearrangements affecting biofilm production and antibiotic resistance in a *Staphylococcus epidermidis* strain causing shunt-associated ventriculitis. *Int. J. Med. Microbiol.* 2000, **290**, 115-120.
 54. Diep B., Gill S., Chang R., Phan T., Chen J., Davidson M., Lin F., Lin J., Carleton H., Mongodin E., Sensabaugh G., Perdreaux-Remington F.: Complete genome sequence of USA300, an epidemic clone of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*. 2006, **367**, 731-739.
 55. Thurlow L., Joshi G., Clark J., Spontak J., Neely C., Maile R., Richardson A.: Functional modularity of the arginine catabolic mobile element contributes to the success of USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Cell Host Microbe*. 2013, **13**, 100-107.
 56. Alonzo F., Torres V.: A lesson in survival: *S. aureus* versus the skin. *Cell Host Microbe*. 2013, **13**, 3-5.
 57. Miragaia M., de Lencastre H., Perdreaux-Remington F., Chambers H., Higashi J., Sullam P., Lin J., Wong K., King K., Otto M., Sensabaugh G., Diep B.: Genetic diversity of arginine catabolic mobile element in *Staphylococcus epidermidis*. *PLoS One*. 2009, **4**, e7722.
 58. Rountree P., Freeman B.: Infections caused by a particular phage type of *Staphylococcus aureus*. *Med. J. Aust.* 1955, **42**, 157-161.
 59. Wang X., Noble L., Kreiswirth B., Eisner W., McClements W., Jansen K., Anderson A.: Evaluation of a multilocus sequence typing system for *Staphylococcus epidermidis*. *J. Med. Microbiol.* 2003, **52**, 989-998.
 60. Thomas J., Vargas M., Miragaia M., Peacock S., Archer G., Enright M.: Improved multilocus sequence typing scheme for *Staphylococcus epidermidis*. *J. Clin. Microbiol.* 2007, **45**, 616-619.
 61. Miragaia M., Couto I., de Lencastre H.: Genetic diversity among methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE). *Microb. Drug Resist.* 2005, **11**, 83-93.
 62. Miragaia M., Couto I., Pereira S., Kristinsson K., West H., Jarlov J., Carrão J., Almeida J., Santos-Sanches L., de Lencastre H.: Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* clones: evidence of geographic dissemination. *J. Clin. Microbiol.* 2002, **40**, 430-438.
 63. Otto M.: Coagulase-negative staphylococci as reservoirs of genes facilitating MRSA infection: *Staphylococcus* commensal species such as *Staphylococcus epidermidis* are being recognized as important sources of genes promoting MRSA colonization and virulence. *Bioessays*. 2013a, **35**, 4-11.
 64. Jaffe H., Sweeney H., Nathan C., Weinstein R., Kabins S., Cohen S.: Identity and interspecific transfer of gentamicin-resistance plasmids in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *J. Infect. Dis.* 1980, **141**, 738-747.
 65. Otto M.: Virulence factors of the coagulase-negative staphylococci. *Front. Biosci.* 2004, **9**, 841-863.
 66. Marraffini L., Sontheimer E.: CRISPR interference limits horizontal gene transfer in staphylococci by targeting DNA. *Science*. 2008, **322**, 1843-1845.
 67. Bellamy R., Barkham T.: *Staphylococcus lugdunensis* infection sites: predominance of abscesses in the pelvic girdle region. *Clin. Infect. Dis.* 2002, **35**, 32-34.
 68. Choi S., Chung J., Lee E., Kim T., Lee M., Kang J., Song E., Jun J., Kim M., Kim Y., Woo J., Choi S.: Incidence, characteristics, and outcomes of *Staphylococcus lugdunensis* bacteremia. *J. Clin. Microbiol.* 2010, **48**, 3346-3349.
 69. Ronald A.: The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Am. J. Med.* 2002, **113**, 14-19.
 70. Gatermann S., Marre R.: Cloning and expression of *Staphylococcus saprophyticus* urease gene sequences in *Staphylococcus carnosus* and contribution of the enzyme to virulence. *Infect. Immun.* 1989, **57**, 2998-3002.
 71. Veach L., Pfäller M., Barrett M., Koontz F., Wenzel R.: Vancomycin resistance in *Staphylococcus haemolyticus* causing colonization and bloodstream infection. *J. Clin. Microbiol.* 1990, **28**, 2064-2068.
 72. Rodriguez-Aranda A., Daskalaki M., Villar J., Sanz F., Otero J., Chaves F.: Nosocomial spread of linezolid-resistant *Staphylococcus haemolyticus* infections in an intensive care unit. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2009, **63**, 398-402.
 73. Shinabarger D.: Mechanism of action of oxazolidinone antibacterial agents. *Expert. Opin. Investig. Drugs*. 1999, **8**, 1195-2002.
 74. Doyle M., Hartmann F., Lee Wong A.: Methicillin-resistant staphylococci: implications for our food supply? *Anim. Health Res. Rev.* 2012, **13**, 157-180.
 75. Aarestrup F.: Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 1999, **12**, 279-285.
 76. Mazel D., Davies J.: Antibiotic resistance in microbes. *Cell. Mol. Life. Sci.* 1999, **56**, 742-754.
 77. Aarestrup F., Wegener H., Collignon P.: Resistance in bacteria of the food chain: epidemiology and control strategies. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 2008, **6**, 733-750.
 78. Simeoni D., Rizzotti L., Cocconcelli P., Gazzola S., Dellaglio F., Toriani S.: Antibiotic resistance genes and identification of staphylococci collected from the production chain of swine meat commodities. *Food Microbiol.* 2008, **25**, 196-201.
 79. Kluytmans J., van Leeuwen W., Goessens W., Hollis R., Messer S., Herwaldt L., Bruining H., Heck M., Rost J., van Leeuwen N.: Food-initiated outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* analyzed by phenol and genotyping. *J. Clin. Microbiol.* 1995, **33**, 1121-1128.
 80. Wu S., Piscitelli C., de Lencastre H., Tomasz A.: Tracking the evolutionary origin of the methicillin resistance gene: cloning and sequencing of a homologue of *mecA* from a methicillin susceptible strain of *Staphylococcus sciuri*. *Microb. Drug Resist.* 1996, **2**, 435-441.
 81. Resch M., Nagel V., Hertel C.: Antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci associated with food and used in starter cultures. *Int. J. Food Microbiol.* 2008, **127**, 99-104.
 82. Urdez-Hernández E., Sifuentes-Osornio J., Calva J., Villalobos-Zapata Y.: Epidemiological and biological characteristics of methicillin-resistant staphylococcal infections in a Mexican hospital. *Arch. Med. Res.* 1999, **30**, 325-331.
 83. Fontes C., Silva V., de Paiva M., Garcia R., Resende J., Ferreira-Machado A., Diniz C.: Prevalence, antimicrobial resistance, and virulence characteristics of *mecA*-encoding coagulase-negative staphylococci isolated from soft cheese in Brazil. *J. Food Sci.* 2013, **78**, 594-599.
 84. Watanakunakorn C.: Antibiotic tolerance of *Staphylococcus epidermidis*. *Scand. J. Infect. Dis.* 1985, **17**, 59-61.
 85. Walsh T., Bolmström A., Qwärnström A., Ho P., Wootton M., Howe R., MacGowan A., Diekema D.: Evaluation of current methods for detection of staphylococci with reduced susceptibility to glycopeptides. *J. Clin. Microbiol.* 2001, **39**, 2439-2444.

86. Natoli S., Fontana C., Favaro M., Bergamini A., Testore G., Minelli S., Bossa M., Casapulla M., Broglio G., Beltrame A., Cudillo L., Cerretti R., Leonardi F.: Characterization of coagulase-negative staphylococcal isolates from blood with reduced susceptibility to glycopeptides and therapeutic options. *BMC Infect. Dis.* 2009, **9**, 83.
87. Ma X., Wang E., Liu Y., Luo E.: Antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci (CoNS): emergence of teicoplanin-non-susceptible CoNS strains with inducible resistance to vancomycin. *J. Med. Microbiol.* 2011, **60**, 1661-1668.
88. Forbes B., Schaberg D.: Transfer of resistance plasmids from *Staphylococcus epidermidis* to *Staphylococcus aureus*: evidence for conjugative exchange of resistance. *J. Bacteriol.* 1983, **153**, 627-634.
89. Hanssen A., Kjeldsen G., Sollid J.: Local variants of Staphylococcal cassette chromosome mec in sporadic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative Staphylococci: evidence of horizontal gene transfer? *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004, **48**, 285-296.
90. Kassem I.: Chinks in the armor: the role of the non-clinical environment in the transmission of Staphylococcus bacteria. *Am. J. Infect. Control.* 2011, **39**, 539-541.
91. Pantosti A.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with animals and its relevance to human health. *Front. Microbiol.* 2012, **3**, 127.
92. Perreten V., Schwarz F., Cresta L., Boeglin M., Dasen G., Teuber M.: Antibiotic resistance spread in food. *Nature.* 1997, **389**, 801-802.
93. Scallan E., Hoekstra R., Angulo F., Tauxe R., Widdowson M., Roy S., Jones J., Griffin P.: Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerg. Infect. Dis.* 2011, **17**, 7-15.
94. Thomas D., Jarraud S., Lemerrier B., Cozon G., Echasseriau K., Etienne J., Gougouon M., Lina G., Vandenesch F.: Staphylococcal enterotoxin-like toxins U2 and V, two new staphylococcal superantigens arising from recombination within the enterotoxin gene cluster. *J. Immunol.* 2006, **74**, 4724-4734.
95. Ortega E., Abriouel H., Lucas R., Gálvez A.: Multiple roles of *Staphylococcus aureus* enterotoxins: pathogenicity, superantigenic activity, and correlation to antibiotic resistance. *Toxins.* 2010, **2**, 2117-2131.
96. Wilson G., Seo K., Cartwright R., Connelley T., Chuang-Smith O., Merriman J., Guinane C., Park J., Bohach G., Schlievert P., Morrison W., Fitzgerald J.: A novel core genome-encoded superantigen contributes to lethality of community-associated MRSA necrotizing pneumonia. *PLoS Pathog.* 2011, **7**, e1002271.
97. Bergdoll M.: Enterotoxins. W: Easman C., Adlam C. (red.) *Staphylococci and Staphylococcal Infections*. Academic Press London, UK 1983.
98. Fraser J., Proft T.: The bacterial superantigen and superantigen-like proteins. *Immunol. Rev.* 2008, **225**, 226-243.
99. Omori G., Kato Y.: A staphylococcal food poisoning caused by a coagulase-negative strain. *Bilken's J.* 1959, **2**, 92.
100. Breckinridge J., Bergdoll M.: Outbreak of food-borne gastroenteritis due to a coagulase-negative enterotoxin-producing staphylococcus. *N. Engl. J. Med.* 1971, **284**, 541-543.
101. Podkowiak M., Park J., Seo K., Bystron J., Bania J.: Enterotoxigenic potential of coagulase-negative staphylococci. *Int. J. Food. Microbiol.* 2013, **163**, 34-40.
102. Da Cunha M., Calsolari R., Júnior J.: Detection of enterotoxin and toxic shock syndrome toxin 1 genes in *Staphylococcus*, with emphasis on coagulase-negative staphylococci. *Microbiol. Immunol.* 2007, **51**, 381-390.
103. Barretti P., Montelli A., Batalha J., Caramori J., da Cunha M.: The role of virulence factors in the outcome of staphylococcal peritonitis in CAPD patients. *BMC Infect Dis.* 2009, **9**, 212.
104. Adesiyun A., Usman B.: Isolation of enterotoxigenic strains of staphylococci from dogs. *Vet. Microbiol.* 1983, **8**, 459-468.
105. Valle J., Gomez-Lucia E., Piriz S., Goyache J., Orden J., Vadillo S.: Enterotoxin production by staphylococci isolated from healthy goats. *Appl. Environ. Microbiol.* 1990, **56**, 1323-1326.
106. Unal N., Cinar O.: Detection of staphylococcal enterotoxin, methicillin-resistant and Pantone-Valentine leukocidin genes in coagulase-negative staphylococci isolated from cows and ewes with subclinical mastitis. *Trop. Anim. Health. Prod.* 2012, **44**, 369-375.
107. Park J., Fox L., Seo K., McGuire M., Park Y., Rurangirwa F., Sicho W., Bohach G.: Detection of classical and newly described staphylococcal superantigen genes in coagulase-negative staphylococci isolated from bovine intramammary infections. *Vet. Microbiol.* 2011, **147**, 149-154.
108. Bergeron D., de Crémoux R., Rupp R., Lagriffoul G., Berthelot X.: Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.* 2003, **34**, 689-716.
109. Taponen S., Simojoki H., Haveri M., Larsen H., Pyörälä S.: Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP. *Vet. Microbiol.* 2006, **115**, 199-207.
110. Unal N., Yildirim M.: Antibiotic resistance profiles of staphylococci species isolated from milks, teat skins and noses mucous of cows. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2010, **16**, 389-396.
111. Oliveira A., Padovani C., Miya N., Sant'Ana A., Pereira J.: High incidence of enterotoxin D producing *Staphylococcus spp.* in Brazilian cow's raw milk and its relation with coagulase and thermoluclease enzymes. *Foodborne Pathog. Dis.* 2011, **8**, 159-163.
112. Bautista L., Gaya P., Medina M., Nuñez M.: A quantitative study of enterotoxin production by sheep milk staphylococci. *Appl Environ Microbiol.* 1988, **54**, 566-569.
113. Contreras A., Luengo C., Sánchez A., Corrales J.: The role of intramammary pathogens in dairy goats. *Livest. Prod. Sci.* 2003, **79**, 273-283.
114. Harvey J., Gilmore A.: Application of current methods for isolation and identification of staphylococci in raw bovine milk. *J. Appl. Bacteriol.* 1985, **59**, 207-221.
115. De Buyser M., Dilasser F., Hummel R., Bergdoll M.: Enterotoxin and toxic shock syndrome-1 production by staphylococci isolated from goat's milk. *Int. J. Food. Microbiol.* 1987, **5**, 301-309.
116. Marín M., de la Rosa M., Cornejo I.: Enterotoxigenicity of *Staphylococcus* strains isolated from Spanish dry-cured hams. *Appl. Environ. Microbiol.* 1992, **58**, 1067-1069.
117. Rodríguez M., Núñez F., Córdoba J., Bermúdez E., Asensio M.: Gram-positive, catalase-positive cocci from dry cured Iberian ham and their enterotoxigenic potential. *Appl. Environ. Microbiol.* 1996, **62**, 1897-1902.
118. Hammes W., Hertel C.: New developments in meat starter cultures. *Meat Sci.* 1998, **49**, 5125-5138.
119. Zell C., Resch M., Rosenstein R., Albrecht T., Hertel C., Götz F.: Characterization of toxin production of coagulase-negative staphylococci isolated from food and starter cultures. *Int. J. Food Microbiol.* 2008, **127**, 246-251.
120. Udo E., Al-Bustan M., Jacob L., Chugh T.: Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci in restaurant workers from Kuwait City may be a potential cause of food poisoning. *J. Med. Microbiol.* 1999, **48**, 819-823.