

PIASKOWNICE JAKO POTENCJALNE ŹRÓDŁO ZAGROŻENIA LEKOOPORNymi SZCZEPAMI *ESCHERICHIA COLI* ORAZ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Edyta Mazur^{1*}, Maria Jolanta Chmiel²

¹ Grupa Ewolucji i Interakcji Organizmalnych, Instytut Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk

² Katedra Mikrobiologii i Biomonitoringu, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Wpłynęło w sierpniu, zaakceptowano w listopadzie 2020 r.

Streszczenie: Piaskownice obecne są prawie na każdym placu zabaw. Cieszą się niesłabnącą popularnością wśród najmłodszych. Zastanawiamy się czasem kto odpowiada za ich stan sanitarny albo czy zabawa w nich może być zagrożeniem dla dzieci? W niniejszym artykule poruszony zostanie temat monitorowania stanu sanitarnego piaskownic. Przedstawione zostanie również zagrożenie mikrobiologiczne jakie niesie za sobą kontakt ze skażonym piaskiem. Bateriai, które stanowią zagrożenie dla zdrowia i mogą zasiedlać piaskownice są m.in. *Escherichia coli* oraz *Staphylococcus aureus*. Oba te mikroorganizmy nie powinny występować w środowisku naturalnym. Ich obecność świadczy o skażeniu piasku, a kontakt z nim może być niebezpieczny dla zdrowia człowieka. Co więcej bakterie te coraz częściej wykazują oporność na antybiotyki stosowane rutynowo w leczeniu zakażeń. Problem oporności mikroorganizmów na terapeutyki jest bardzo istotny, gdyż liczba lekoopornych szczepów rośnie alarmująco. Pula skutecznych antybiotyków maleje, a nowych nie przybywa. W niniejszej pracy zostaną przedstawione antybiotyki, wykorzystywane podczas leczenia, są to aminoglikozydy, ansamycyny, antybiotyki β -laktamowe, chinolony, fusydany, grupa MLS, sulfonamidy oraz tetracykliny. W pracy przedstawiono również informacje dotyczące poznanych dotychczas mechanizmów działania antybiotyków: W artykule przedstawiono również mechanizmy oporności pałeczek *Enterobacteriaceae*; mechanizm ESBL (extended-spectrum β -lactamases), produkcja MBL (metallo- β -lactamase), CRE (carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*) oraz mechanizmy oporności *Staphylococcus aureus* na penicylinę, MRSA – methicillin-resistant *S. aureus* i wankomycynę VRSA – vancomycin-resistant *S. aureus*. Lekooporność stała się problemem o znaczeniu globalnym. Obecność szczepów lekoopornych niesie za sobą ryzyko rozprzestrzeniania się opornych na działanie antybiotyków szczepów mikroorganizmów w środowiskach naturalnych m.in. wodzie, powietrzu, glebie a także w piasku. Zakażenia powodowane przez takie drobnoustroje są bardzo trudne w leczeniu, gdyż maleje pula antybiotyków możliwych do zastosowania w czasie kuracji, a tym samym zmniejsza się skuteczność terapii.

1. Wstęp. 2. Monitorowanie stanu sanitarnego piaskownic. 3. Bakterie *E. coli* i *S. aureus* jako potencjalny czynnik zagrożenia dla zdrowia. 4. Charakterystyka antybiotyków. 4.1. Grupy antybiotyków. 4.2. Mechanizm działania antybiotyków. 5. Oporność bakterii na antybiotyki. 5.1. Oporność pałeczek *Enterobacteriaceae*. 5.2. Oporność *S. aureus*. 6. Oporność jako problem o znaczeniu globalnym. 7. Podsumowanie. 8. Bibliografia

SANDBOXES AS A POTENTIAL SOURCE OF DANGEROUS DRUG-RESISTANT *ESCHERICHIA COLI* AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* STRAINS

Abstract: Sandboxes are present on almost every playground. They enjoy constant popularity among the youngest. Are we sometimes wonder who is responsible for their sanitary condition? Play in them can be a threat to children? This article will discuss the subject of monitoring the sanitary condition of sandboxes. The microbiological threat of contact with contaminated sand will also be presented. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* are bacteria that can inhabit sandboxes and pose a threat to health. Both of these microorganisms should not be found in the environment. Their presence means contamination of sand, and contact with it can be hazardous to human health. What's more, these bacteria increasingly show resistance to antibiotics routinely used to treat infections. The problem of microorganism resistance to therapeutics is very important because the number of drug-resistant strains is growing alarmingly. The pool of effective antibiotics is contracting and new ones are not developing. In this work, antibiotics used during the treatment will be presented: aminoglycosides, ansamycins, β -lactam antibiotics, quinolones, fusidans, MLS group, sulfonamides, and tetracyclines. The paper also presents information concerning so far known mechanisms of antibiotic action. The article also presents the resistance mechanisms of *Enterobacteriaceae*; ESBL mechanism (extended-spectrum β -lactamases), production of MBL (metallo- β -lactamase), CRE (carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*) and resistance mechanisms of *S. aureus*, to penicillin, MRSA – methicillin-resistant *S. aureus*, and for vancomycin VRSA resistant *S. aureus*. Drug resistance has become a global problem. The presence of drug-resistant strains carries the risk of spreading antibiotic-resistant strains of microorganisms in natural environments like water, air, soil and sand. Infections caused by such microorganisms are very difficult to treat, because the small pool of antibiotics that can be used during treatment, and thus reduces the effectiveness of therapy.

1. Introduction. 2. Monitoring of the sandboxes sanitary condition. 3. Bacteria *E. coli* and *S. aureus* as a potential health hazard factor. 4. Antibiotics characteristic. 4.1. Antibiotics groups. 4.2. Mechanism of antibiotics action. 5. Antibiotic resistance. 5.1. Resistance of *Enterobacteriaceae*. 5.2. Resistance of *S. aureus*. 6. Resistance as a global problem. 7. Conclusions. 8. Bibliography

Słowa kluczowe: *Escherichia coli*, lekooporność, piaskownice, *Staphylococcus aureus*

Keywords: *Escherichia coli*, drug-resistance, sandboxes, *Staphylococcus aureus*

* Autor korespondencyjny: mgr inż. Edyta Mazur, Zakład Lichenologii, Instytut Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk, Lubicz 46, 31-512 Kraków; 880958096; e-mail: e.mazur@botany.pl

1. Wstęp

Piaskownice są stałym elementem większości placów zabaw, chętnie wykorzystywanym przez bawiące się dzieci. Spotykane są bardzo często na osiedlowych placach zabaw oraz w parkach, gromadząc wokół dużą ilość chętnie bawiących się dzieci. Warto jednak zadać pytanie, czy piaskownice są bezpieczne? W powszechnej świadomości rodziców i opiekunów piaskownice są dla dzieci bezpieczne, a ewentualne obawy budzi czasem możliwość zanieczyszczenia piasku odchodami zwierząt i przenoszonymi w nich pasożytami. Panujące w piaskownicach warunki: podwyższona wilgotność oraz temperatura pomiędzy 22–30°C, sprzyjają wzrostowi bakterii i grzybów w tym dermatofitów. Wśród tych mikroorganizmów mogą być patogeny wywołujące grzybice, które nie tylko zmieniają powierzchnię skóry wywołując dyskomfort ale również są trudne w leczeniu. Coraz częściej w miejscach użyteczności publicznej pojawiają się mikroorganizmy, których obecność wydaje się być niepokojąca. Przykładem są bakterie *Escherichia coli*, których naturalnym miejscem bytowania jest jelito grube ludzi i zwierząt oraz *Staphylococcus aureus* zasiedlający najczęściej gardło oraz jamę nosową. Pojawienie się tych mikroorganizmów oznacza, iż kontakt ze skażonym piaskiem stanowi zagrożenie dla zdrowia. Pałeczka okrężnicy może być przyczyną dolegliwości żołądkowych, biegunek, wymiotów, złego samopoczucia, jak również ogólnego osłabienia organizmu, zakażenie następuje najczęściej drogą pokarmową. Szacunki na rok 2010 przedstawiły, iż na całym świecie wystąpiło 320 mln infekcji bakterią *E. coli*, a aż 200 000 zakończyło się śmiercią pacjentów [39]. Natomiast *S. aureus* wywołuje różnego rodzaju infekcje skórne, infekcje dróg oddechowych oraz zapalenia, a sam proces zakażenia może przebiegać przez kontakt zranionej skóry z zakażoną powierzchnią. Niestety leczenie jest bardzo utrudnione z racji tego, iż duża liczba szczepów jest zdolna do produkcji penicylinazy, przez co zastosowanie penicyliny w leczeniu jest nieskuteczne. Zjawisko to zostało zaobserwowane już w 1944 roku [40]. Co więcej obie badane bakterie są zdolne do produkcji niebezpiecznych dla zdrowia enterotoksyn. Kolejnym istotnym problemem jest lekooporność drobnoustrojów. Wzrasta udział szczepów opornych na działanie antybiotyków, z których znaczną część cechuje wielolekooporność. Oznacza to, iż maleje pula skutecznych antybiotyków, co utrudnia leczenie i powrót do zdrowia. Niestety antybiokooporność wśród szczepów *S. aureus* jest przyczyną chorób, a niekiedy śmierci na szpitalnych oddziałach intensywnej terapii [40]. W celu zapobiegania szerzącej się lekooporności państwa członkowskie Unii Europejskiej 18 listopada obchodzą Dzień Wiedzy o Antybiotykach (European Awareness Day). Przedsięwzięcie to

ma na celu rozpowszechnienie wiedzy o narastającym problemie oraz uświadamianie społeczeństwa, iż nadmierne i niewłaściwe stosowanie antybiotyków stanowi poważny problem. Czas poświęcony na odkrycie, syntezę oraz wprowadzenie nowego antybiotyku jest znacznie dłuższy niż nabycie przez mikroorganizmy lekooporności. Ostatni odkryty po 15 latach antybiotyk – tejskobaktyna został opisany w 2014 przez Ling i in. [45]. Naukowcy coraz częściej starają się odkryć nowe antybiotyki, ponieważ wzrastająca liczba wielolekoopornych szczepów utrudnia, czasami wręcz uniemożliwia leczenie. W 2013 roku została odkryta, a w 2018 dokładnie opisana nowa grupa antybiotyków odilorhabdiny, która w badaniach na myszach wykazuje działanie przeciw drobnoustrojom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym [65]. Niestety problem lekooporności jest bardzo poważny, dlatego tak istotne jest monitorowanie środowiska pod kątem występowania opornych szczepów *E. coli* oraz *S. aureus*.

2. Monitorowanie stanu sanitarnego piaskownic

Istnieją dwa akty prawne, które pomagają gminom zachować odpowiedni standard higieniczny piaskownic. W artykułe 22 ustawy 1 z 5 grudnia 2008 r. mówiącym o zapobieganiu zakażeniom oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi, wskazane jest, iż właściciel, posiadacz lub zarządzający mieniem jest zobowiązany utrzymać je w odpowiednim stanie higieniczno-sanitarnym, aby zapobiegać szerzącym się zakażeniom i chorobom zakaźnym. W tym celu winien zadbać o prawidłową gospodarkę odpadów, usuwać odchody zwierząt z nieruchomości jak również martwe zwierzęta, a także zwalczać pojawiające się gryzonie i insekty (Dz.U. Nr 234, poz. 1570). Również mając na względzie ochronę zdrowia publicznego w Obwieszczeniu Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 28 listopada 2005 roku w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o utrzymaniu czystości i porządku w gminach (Dz.U. z 2005 r. Nr 236, poz. 2008 z późniejszymi zmianami) został ujęty zapis mówiący o usuwaniu zanieczyszczeń z części nieruchomości służącej do użytku publicznego. Jednocześnie właściciel powinien zapewnić zabezpieczenia przed dostępem zwierząt np. w postaci ogrodzeń, bramek lub siatek, w celu zapobiegnięcia pojawienia się odchodów. Niestety Ministerstwo Zdrowia nie opracowało żadnego rozporządzenia, w którym znajdują się normy lub wartości referencyjne dotyczące dopuszczalnego zanieczyszczenia mikrobiologicznego piasku przez grzyby czy bakterie – w tym wskaźnikowe *E. coli* oraz *S. aureus*, których przekroczenie zakazywałoby korzystania z piaskownicy. Według zalecenia Głównego Inspektora Sanitarnego z dnia 05.05.2009 r. (89) piasek powinien zostać

wymieniony przed sezonem letnio-jesiennym oraz co najmniej dwukrotnie w czasie jego trwania. Zabiegi te mają na celu zmniejszenie zagrożenia zakażenia chorobami pasożytniczymi, odzwierzęcymi oraz zakaźnymi. Jest to tylko zalecenie, nie ma przepisów sanitarno-epidemiologicznych przez co Państwowa Inspekcja Sanitarna nie przeprowadza kontroli tak jak ma to miejsce np. w przypadku kąpielisk. Warto również zaznaczyć, iż norma PN-EN 1176:2009 [69] dotycząca placów zabaw nie określa właściwości piasku wykorzystanego do wypełnienia piaskownic. Jest zawarta jedynie adnotacja, która dotyczy granulacji piasku. Wielkość ziarna powinna mieścić się w przedziale od 0,2 do 2 mm, ponadto nie może zawierać cząstek pyłowych i ilowych. W 2003 roku została stworzona klasyfikacja wg Zmysłowskiej, dzięki której piasek w piaskownicach pod względem liczebności bakterii można zakwalifikować do czterech grup. Jeśli liczba bakterii nie przekracza 10^6 [jtk·g⁻¹] piasek uznawany jest za czysty, jeśli liczba mieści się w granicach $1-2,5 \cdot 10^6$ [jtk·g⁻¹] piasek określany jest jako średnio zanieczyszczony, z kolei za piasek zanieczyszczony uznaje się taki, z którego izoluje się od $2,5 \cdot 10^6$ do $10 \cdot 10^6$ [jtk·g⁻¹], natomiast przekroczenie tej wartości oznacza, iż piasek jest mocno zanieczyszczony. Również według Zmysłowskiej występowanie grzybów w badanym piasku jest uzasadnione, gdy obecne są zanieczyszczenia organiczne, z kolei pojawienie się *E. coli* świadczy o świeżym zanieczyszczeniu fekalnym piasku [90].

3. Bakterie *E. coli* i *S. aureus* jako potencjalny czynnik zagrożenia mikrobiologicznego

Bakteria *E. coli* została po raz pierwszy opisana w 1885 przez austriackiego pediatrę Teodora Escherichia, który prowadził badania nad kałem niemowląt [25]. Bakteria ta należy do rzędu *Enterobacteriales*, rodziny *Enterobacteriaceae* oraz rodzaju *Escherichia*. Około 120–160 mln lat temu *Escherichia* i *Shigella* wyodrębniły się od wspólnego przodka, zdarzenie to zbiegło się w czasie z pojawieniem ssaków [61]. Bakteria ta posiada zdolność do wymiany materiału genetycznego nie tylko w obrębie rodzaju *Escherichia*, ale także z innymi gatunkami takimi jak *Salmonella* spp., *Shigella* ssp. [66]. *E. coli* to Gram-ujemna, zdolna do ruchu, bakteria urzęsiona perytrichalnie, nie produkująca spor. Jest fakultatywnym anaerobem mającym zdolność do metabolizowania tlenu oraz przeprowadzania fermentacji, dlatego uważana jest za pierwszy organizm, który skolonizował przewód pokarmowy niemowląt. Optymalna temperatura wzrostu *E. coli* to około 37°C, ale występują również szczepy potrafiące rosnąć nawet w temperaturze przekraczającej 49°C. Bakteria ta jest zdolna do podziałów co 30 minut.

Komórka *E. coli* składa się w 55% z białek, 25% kwasów nukleinowych, 9% lipidów, 6% to ściana komórkowa, 2,5% glikogen natomiast 3% to pozostałe metabolity [58]. Szerokość komórki to 0,5 μm, natomiast długość to 1–3 μm. Komórki *E. coli* mogą być dłuższe gdy nastąpi insercja Tn10 w genach *ybdN* oraz *ybdM*, przy zachowaniu aktywności metabolicznej oraz zdolności do podziałów [22]. *E. coli* posiada plastyczny genom. Jest on zapewniony przez utrzymanie równowagi między rdzeniem genomu, czyli stałym zestawem genów odpowiadających za podstawowe procesy życiowe oraz ruchomą pulą genów, odpowiadającą za przystosowanie mikroorganizmów do środowiska. Elementy te mogą być przenoszone na inne bakterie podczas horyzontalnego transferu genów (HGT), a platformami niosącymi są ruchome elementy genetyczne [5]. Właśnie podczas tego procesu *E. coli* może nabrać zdolność do produkcji toksyn Shiga, bardzo podobnych do tych, które produkuje *Shigella* spp. [66]. *E. coli* ma wysoce zorganizowany genom, posiada pozostałości po fagach oraz sekwencje insercyjne, a co więcej cechuje się wysoką zdolnością transportową w obrębie cytoplazmy. W 1997 roku zsekwencjonowano pierwszy genom ze szczepu *E. coli* K-12. Zawiera on pojedynczą, okrągłą cząsteczkę składającą się z 4 639 221 par zasad, gdzie 87,8% to regiony kodujące białka, 11% sekwencje regulatorowe genów oraz inne funkcyjne, 0,8% regiony kodujące stabilne RNA oraz 0,7% niekodujących elementów powtórzeniowych. Około 34% (1431) białek nie ma jeszcze zdefiniowanych funkcji, ale istnieje prawdopodobieństwo, że mogą brać udział w szlakach molekularnych [Hu i in. 2009]. Naturalnym miejscem bytowania *E. coli* jest przewód pokarmowy ludzi i zwierząt. Występują również patogenne szczepy *E. coli*, które ze względu na miejsce infekcji zostały podzielone na dwie grupy. Pierwsza z nich to grupa powodująca zakażenia oraz zespoły chorobowe w przewodzie pokarmowym IPEC (intestinal pathogenic *E. coli*). Druga grupa to organizmy powodujące choroby w innych układach niż przewód pokarmowy są nazywane pozajelitowymi szczepami EXPEC (extra-intestinal *E. coli*). Większość patogennych szczepów przenosi się drogą fekalno-oralną z materiałów spożywczych, wody, zwierząt oraz środowiska. W zależności od patotypu *E. coli* może powodować wodnistą, śluzową lub krwawą biegunkę, skurcze brzuszne, infekcje dróg moczowych, a w najcięższych przypadkach zapalenie opon mózgowych. Wyróżniono 6 patogennych szczepów *E. coli* są to szczepy: enterotoksynogenne (ETEC), enteropatogenne (EPEC), enteroinwazyjne (EIEC), enteroagregacyjne (EAEC), enterokrwotoczne (EHEC), adhezyjne (DAEC). Szczep uropatogeny (UPEC) powoduje zakażenia układu moczowego, natomiast szczep NMEC (neonatal meningitis *E. coli*) jest związany z zapaleniem opon mózgowych, które rozpoczyna się od infekcji

krwi dzięki czemu bakterie zyskują dostęp do centralnego układu nerwowego [36]. *E. coli* są powszechnie wykorzystywane jako bakterie wskaźnikowe przy wykrywaniu zanieczyszczeń pochodzenia fekalnego. Obecność tych bakterii odnotowano także w piaskownicach. W pracy Gotkowskiej-Pachty i Korzeniowskiej [31] zostały zaprezentowane wyniki badań liczebności bakterii m.in. *E. coli* oraz *S. aureus*, a także pleśni i drożdży. Analizy przedstawiają stopień skażenia mikrobiologicznego piasku w piaskownicach na terenie Olsztyna. Łącznie poddano analizie piasek z 16 piaskownic w tym 4 piaskownic znajdujących się na terenie przedszkoli. Pozostałe 12 to piaskownice dostępne w parkach oraz na osiedlach. W pracy uwzględniono także obecność i brak ogrodzenia piaskownic. Zaobserwowano, iż piaskownice na obszarze ogrodzonym oraz te zlokalizowane w okolicy nieopodal drzew były mniej zanieczyszczone niż piasek zebrany z piaskownic nieogrodzonych. Odnotowano ilość *E. coli* mieszczący się w przedziale od 0 do $2,1 \cdot 10^3$ jtk \cdot g⁻¹, najwięcej kolonii odnotowano podczas analiz w czerwcu. Bakteria ta była izolowana tylko sporadycznie, ale w miejscach gdzie występowały pałeczki okrężnicy pojawiały się również izolaty *Salmonella* sp. Z kolei w 42 piaskownicach na terenie Krakowa ilość bakterii kałowych mieściła się w przedziale od 10 do $3,36 \cdot 10^4$ jtk \cdot g⁻¹ [24]. Również austriaccy naukowcy przebadali w lipcu 45 publicznych piaskownic znajdujących się w Grazu pod kątem obecności bakterii z grupy coli oraz *E. coli*. Odnotowano, iż pałeczka okrężnicy zasiedla 49% badanych piaskownic. Otrzymane wyniki mieszczą się w przedziale $2,6 \cdot 10^2$ do $3,0 \cdot 10^3$ jtk \cdot g⁻¹ [4]. Przeprowadzono również analizę stanu higienicznego dziesięciu piaskownic znajdujących się w parkach oraz na osiedlach w Tarnowie [53]. Badania prowadzono w okresie od maja do lipca. Pałeczka okrężnicy została zidentyfikowana w każdej z badanych piaskownic. Liczba bakterii *E. coli* mieściła się w przedziale od 0 do 700 jtk. Najwięcej bakterii odnotowano podczas analiz w czerwcu. Obecność *E. coli* w piaskownicach jest zwykle spowodowana odchodami zwierząt, które w 1 gramie mogą nieść od $2,3 \cdot 10^7$ (kał psów) do $7,9 \cdot 10^7$ (kał kotów) bakterii [63]. Z kolei nasłonecznienie wpływa na spadek liczebności *E. coli*. Do piaskownic pozbawionych zadaszienia dociera więcej promieni słonecznych, które efektywnie mogą obniżyć ilość występujących w piasku *E. coli* [9]. W ciągu ostatniej dekady pojawienie się oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe wśród *Enterobacteriaceae*, częste nadużywanie antybiotyków zarówno u ludzi, w celach leczniczych jak i u zwierząt jako dodatek do pasz [19], doprowadziło do ograniczenia możliwości leczenia w przypadku zakażeń wywołanych bakteriami tej rodziny i zostało uznane za poważny problem sięgający skali globalnej [12, 83]. Austriaccy naukowcy nie wykryli izolatów *E. coli* opornych na działanie aztre-

onomu, ceftazydymu, imipenemu oraz meropenemu. Co więcej wyniki uzyskane w Austrii przedstawiają stu-procentową wrażliwość na amikacynę, cefepin, cefotaksym, gentamycynę. Najwyższą oporność sięgającą 12% odnotowano dla ampicyliny, z kolei drugi najwyższy procent oporności wynoszący 10,4% odnotowano dla pipericyliny, a dla amoksycyliny/kwasu klawulanowego oporność wynosiła 9,4%. Natomiast dla tetracykliny odnotowano 6,3% odporność, a dla cefuroksymu 3,1%. W badaniach tych nie wykryto szczepów *E. coli* zdolnych do produkcji β -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym [4].

Z kolei *S. aureus* jest Gram-dodatnią, kulistą bakterią zidentyfikowaną w 1884 roku [30]. Podczas obserwacji pod mikroskopem świetlnym często można zaobserwować skupiska w charakterystycznym kształcie kiści winogron. Nazwa *Staphylococcus* wywodzi się z greki, gdzie *staphyle* oznacza kiść winogron, a *kokkos* to jagoda, natomiast *aureus* z łaciny oznacza złoto [44]. Podczas obserwacji pod skaningowym mikroskopem elektronowym *S. aureus* ma kształt bardziej sferyczny, można również dostrzec gładką powierzchnię bakterii [32]. Średnica komórek waha się od 0,5 do 1,0 μ m. Transmisyjna mikroskopia elektronowa pozwala zaobserwować grubą ścianę komórkową, charakterystyczną błonę komórkową oraz amorficzną cytoplazmę [79]. *S. aureus* może żyć zarówno w warunkach tlenowych jak i beztlenowych. Na podłożu agarowym, bogatym w składniki odżywcze tworzy żółte lub białe kolonie o dużej średnicy. Żółty kolor pochodzi od syntetyzowanych przez tą bakterię karotenoidów [46]. Organizm ten jest zdolny do produkcji katalazy, toleruje także wysokie stężenia soli (7,5% NaCl) [8]. Kilkadziesiąt lat temu *S. aureus* był wiodącym patogenem szpitalnym, wywołującym poważne infekcje w niektórych przypadkach kończące się nawet zgonem na szpitalnych oddziałach intensywnej terapii, niestety obecnie wraz z szerzącym się wzrostem lekoopornych szczepów *S. aureus* obecny jest także poza murami szpitala stając się niezwykle niebezpieczną bakterią. Co gorsza zdolność *S. aureus* do nabywania lekooporności na wiele klas antybiotyków sprawiła, że jest bardzo trudnym do leczenia patogenem. Proces infekcji gronkowcem złocistym obejmuje 5 stadiów. Pierwszy etap to kolonizacja, drugi to infekcja lokalna, trzeci rozsiewanie bakterii i/lub sepsa, czarty to infekcje przerzutowe i ostatnie stadium to toksykoza [30]. Należy zaznaczyć, iż znaczna część społeczeństwa 25–30% jest tylko nosicielami *S. aureus* w jamie nosowo-gardłowej, który sporadycznie powoduje ciężkie infekcje [50]. Przejście ze stanu nosicielstwa do kolonizacji ma miejsce, w szczególnych przypadkach po długotrwałej hospitalizacji, poważnym zabieg, po stosowaniu leków antysupresyjnych oraz przy chronicznych chorobach metabolicznych. *S. aureus* wywołuje wiele poważnych i ciężkich do leczenia chorób zakaźnych.

Ważne kliniczne infekcje *S. aureus* to infekcyjne zapalenie wsierdzia, infekcje skóry i tkanek miękkich, infekcje kostno-stawowe i infekcje opłucnej i płucnej. Inne stany zapalne to ropień zewnątrzoponowy, zapalenie opon mózgowych, wstrząs toksyczny i infekcje dróg moczowych. Zakażenie ze względu na pochodzenie infekcji zostały podzielone na dwie grupy zakażenia społeczne i szpitalne. Te dwa typy są odmienne pod względem lekooporności, a także tła genetycznego [30]. Gronkowiec złocisty w próbkach piasku z Olsztyna pojawiał się niezależnie od czasu poboru jak i miejsca. Odnotowano tylko od 0 do $5 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ *S. aureus* podczas analiz przeprowadzonych w lipcu [31]. Z kolei analizy piasku z Krakowa wykryły od 0 do $5,1 \cdot 10^2 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ *Staphylococci* [24]. W badania prowadzonych na terenie Tarnowa odnotowano wartości średnie jtk mieszczące się w przedziale od $1,10 \cdot 10^2$ do $2,67 \cdot 10^3 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ [53]. Najwyższe wartości jtk odnotowano podczas analizy w czerwcu. Tak wysokie zanieczyszczenie mikrobiologiczne jest alarmujące, ponieważ piaskownice nie są naturalnym miejscem bytowania *S. aureus*. Wzrost *S. aureus* jest zależy od wielu czynników środowiskowych takich jak temperatura, wilgotność, nasłonecznienie, pH oraz dostępności składników pokarmowych [24]. Piasek spełnia wszystkie te wymogi, dlatego wzrost *S. aureus*, który odnotowano jest wysoki. Co więcej bakterie te stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego co spowodowało podwyższone zainteresowanie nowymi siedliskami ich bytowania [75]. *S. aureus* jest przyczyną poważnych, a niekiedy zagrażającym życiu infekcjom. Oporność na metycylinę wśród szczepów gronkowców pojawiła się zaledwie rok po wprowadzeniu do leczenia tego antybiotyku w Anglii w 1961 roku [35]. W ciągu ostatnich lat częstotliwość występowania szczepów opornych na metycylinę znacznie wzrosła, a to za sprawą zakażeń MRSA nabytych przez społeczeństwo (community-acquired MRSA) [21]. Około 90% zakażeń CA-MRSA to infekcje skóry lub tkanek miękkich, ale zdarzają się przypadki bardziej poważnych, a niekiedy nawet śmiertelnych zakażeń [21, 56]. Na podstawie tych danych można wnioskować, iż oporność *S. aureus* izolowanego z piasku jest alarmująca.

4. Charakterystyka antybiotyków

4.1. Grupy antybiotyków

Aminoglikozydy – to związki bakteriobójcze skuteczne przeciwko bakteriom Gram-ujemnym. Należą do niskocząsteczkowych związków chemicznych. W swojej budowie zawierają aminocukier połączony wiązaniem glikozydowym z pierścieniem heksozy, najczęściej w postaci streptominy, streptydiny bądź 2-deoksystreptominy. Większość antybiotyków z tej

grupy jest pochodzenia naturalnego, produkowana przez promieniowce z rodzaju *Streptomyces* oraz *Microspora*. Najpopularniejszym związkiem z grupy aminoglikozydów jest amikacyna [62].

Ansamycyny – posiadają szerokie spektrum substratowe wobec bakterii Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnym. Rifampicynę B – pierwszy antybiotyk z tej grupy otrzymano z promieniowca *Nocardia mediterranei*. Najpopularniejszym przedstawicielem jest rifampicyna RMP, będąca półsyntetyczną pochodną rifampicyny B, wprowadzona do leczenia w 1967 roku. Działa bakteriobójczo na *Mycobacterium leprae* (prątki trądu), a także *Mycobacterium tuberculosis* (prątki gruźlicy) poprzez hamowanie polimerazy RNA bakterii [80]. Przyjmowanie rifampicyny powoduje, w okresie stosowania, występowanie czerwonego moczu u pacjenta oraz pomarańczowego zabarwienia płynów ustrojowych np. łez czy potu [51].

Antybiotyki β -laktamowe – ich nazwa pochodzi od cyklicznego amidu kwasowego tj. pierścienia β -laktamowego. Rozerwanie tej struktury skutkuje utratą właściwości antybiotycznych [51]. Mechanizm działania β -laktamów polega na blokowaniu transpeptydaz – kluczowych enzymów biorących udział w syntezie peptydoglikanu ściany komórkowej bakterii [57]. β -laktamy wykazują wyższą skuteczność terapeutyczną w stosunku do bakterii Gram-dodatnich. Mają niewielki wpływ na bakterie Gram-ujemne ze względu na obecność otoczki zbudowanej z lipopolisacharydów, która ochrania cienką ścianę komórkową [72]. Jest to pierwsza grupa antybiotyków, która została odkryta i wprowadzona do leczenia. Była powszechnie stosowana podczas terapii ze względu na łatwą dostępność, niską cenę jak również brak ubocznych efektów działania. To przyczyniło się do oporności dużej liczby bakterii na tą grupę antybiotyków. Kiedy problem braku wrażliwości na penicylinę, który miał miejsce stosunkowo szybko po jej odkryciu i wprowadzeniu do leczenia, stał się poważny opracowano syntetyczne antybiotyki β -laktamowe np. ampicylina, amoksycylina oraz metycylina. Został również odkryty naturalny antybiotyk z tej grupy – cefalosporyna (pierwszej generacji) stosowana przeciwko Gram-dodatnim ziarniakom, w znacznie mniejszym stopniu działająca na Gram-ujemne pałeczki. Natomiast druga oraz trzecia generacja cefasporyn wykazuje wyższą skuteczność przeciwko Gram-ujemnym bakteriom. Z kolei czwartą generację cechuje szerokie spektrum substratowe wobec bakterii Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych. W cefalosporynach piątej generacji medycyna pokłada ogromne nadzieje w leczeniu zakażeń wywołanych przez szczepy wielolekooporne. Do grupy β -laktamów należą również karbapenemy o szerokim spektrum działania oraz monopenemy, do których zaliczany jest aztreonam, aktywny wobec tlenowych bakterii Gram-ujemnych

[28]. Do syntezy β -laktamów są zdolne grzyby *Penicillium* sp., *Cephalosporium* sp. oraz *Aspergillus* sp., jak również promieniowce i bakterie z rodzajów *Streptomyces*, *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Gluconobacter*, *Nocardia* oraz *Pseudomonas* [51].

Chinolony – to antybiotyki wzbudzające spore zainteresowanie już od ponad 40 lat, kiedy zostały zsyntetyzowane. Jest to grupa związków, która przez lata była doskonalona, aby lepiej zrozumieć mechanizm działania, poprawić zdolność modyfikowania jądra chinolonu w celu zwiększenia siły działania i spektrum aktywności przeciwbakteryjnej, uzyskać możliwość wydłużenia okresu półtrwania w fazie eliminacji oraz poprawić właściwości farmakokinetyczne i farmakodynamiczne, po to aby skuteczne okazało się dawkowanie raz na dobę, a także zrozumieć znaczenie zależności struktura-aktywność chinolonów pod względem podatności na rozwój oporności bakterii i możliwości wywoływania efektów niepożądanych u leczonych pacjentów. Związki te są wysoko mutagenne, co przyczyniło się do pojawienia dużej ilości opornych na ich działanie szczepów. W celu uzyskania nowej grupy związków i obniżenia częstotliwości pojawiania się opornych szczepów wprowadzono fluor do cząsteczki antybiotyku. Nową grupę nazwano fluorochinolonami. Niektóre z pierwszych chinolonów wchodziły w interakcję z teofiliną i kofeiną oraz związkami chinolonowymi mającymi fluor w pozycji C-8 co przyczyniło się do pojawienia fototoksyczności od umiarkowanej do ciężkiej, ponieważ gromadziły się w wysokich stężeniach w skórze. Fototoksyczność przejawia się częściej przy stosowaniu lewoskłodacyny, fleroksacyny i sparfloksacyny, natomiast jest znacznie rzadsza podczas stosowania ofloksacyny oraz cyprofloksacyny [3].

Fusydany – antybiotyki steroidowe otrzymywane z grzyba *Fusidium coccineum*. Najpopularniejszym przedstawicielem tej grupy jest kwas fusydowy, stosowany przeciwko *S. aureus*. Hamuje on syntezę białek bakterii, ale podczas leczenia szybko dochodzi do selekcji szczepów opornych na jego działanie, dlatego zaleca się łączoną terapię z wankomycyną [51]. Najlepiej poznanym mechanizmem odporności na kwas fusydowy jest mutacja w genie *fusA*, kodującym białka translokazy i czynnika elongacyjnego EF-G. Odporność może wynikać również z horyzontalnego transferu genu *fusB* związanego z plazmidem, którego białka chronią układ translacyjny bakterii przed działaniem antybiotyku [16]

Grupa MLS – makrolidy, linkozamidy, streptograminy – każda z wymienionych podgrup cechuje się inną budową, ale mają wspólny mechanizm działania, ponieważ przyłączają się one do podjednostki 50S rybosomu [51]. Działanie to prowadzi do dysocjacji tRNA, co uniemożliwia wydłużenie łańcucha peptydowego, a w konsekwencji zaburza syntezę białka i hamuje wzrost bakterii.

Makrolidy w swojej budowie posiadają pierścień laktonowy, są związkami 14 – węglowymi (erytromycyna, roksyromycyna, klarytromycyna) oraz 16 – węglowymi (spiramycyna). Funkcjonuje również podział makrolidów na generacje – do I zalicza się pierwszy, wzorcowy antybiotyk tej grupy – erytromycynę oraz generację II do której należą nowe antybiotyki (azytromycyna, klarytromycyna, roksyromycyna, spiramycyna, tobramycyna). Makrolidy są jednymi z najczęściej stosowanych antybiotyków, gdyż posiadają szerokie spektrum substratowe obejmujące Gram-dodatnie ziarniaki oraz Gram-ujemne pałeczki. Najczęściej stosowanym antybiotykiem z tej grupy jest erytromycyna, uważana za bezpieczny lek, gdyż bardzo rzadko powoduje reakcje alergiczne. Do najczęstszych efektów ubocznych należą zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego [41]. Linkozamidy (klindamycyna i linkomycyna) w przeciwieństwie do makrolidów są pozbawione pierścienia laktonowego. Do tej grupy zaliczana jest linkomycyna oraz jej chlorowcowa pochodna klindamycyna [51]. Ta podgrupa jest głównie aktywna wobec bakterii Gram-dodatnich, stosowana również przeciwko wybranym beztlenowcom Gram-ujemnym. Wykazano także, iż linkozamidy są skuteczne wobec *S. aureus*, niestety bakteria ta stała się oporna na ich działanie poprzez modyfikacje i/lub mutacje w rRNA [54]. Do grupy streptogramin zaliczane są pristynamycyna, mająca zastosowanie przy leczeniu rzeżączki, piostacyna będąca skutecznym lekiem przeciwko dwoince zapalenia płuc oraz wirginiamycyna, która jest dodatkiem do pasz [51].

Sulfonoamidy – jest to klasa antybiotyków, w której grupa funkcyjna jest bezpośrednio związana z częścią aromatyczną, heterocykliczną, alifatyczną lub cukrową. Może być również dołączona do tej części za pomocą heteroatomu, najczęściej tlenu lub azotu, co prowadzi do powstania odpowiednio sulfaminianów i sulfamidów [76].

Tetracykliny – cechują się szerokim spektrum substratowym wobec bakterii Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych. Pierwsze odkrycia dotyczące tetracyklin sięgają lat 40. XX wieku. Są one syntetyzowane przez *Streptomyces aureofaciens* oraz *S. rimosus*. Najnowszym antybiotykiem tej grupy jest tigecyklina, będąca syntetycznym analogiem minocykliny powstałym poprzez wprowadzenie w pozycję C-9 grupy t-butyloglicyloamidowej. Zabieg ten spowodował rozszerzenie zakresu działania przeciwbakteryjnego, jak również spowodował nabycie zdolności do przełamania oporności na wszystkie antybiotyki tetracyklinowe. Działanie bakteriobójcze związane jest z wiązaniem antybiotyku do obu podjednostek rybosomów (w większym stopniu do podjednostki 30S) oraz mRNA co skutkuje blokowaniem syntezy białek. Obecnie stosowanie tego antybiotyku spadło, ponieważ wiele bakterii uodporniło się na jego działanie [51].

4.2. Mechanizmy działania antybiotyków

W celu stworzenia nowej klasy antybiotyków niezbędne jest dokładnie poznanie celów komórkowych leków oraz mechanizmu działania obronnego bakterii skierowanego na dany lek. Od lat prowadzi się badania mające na celu odkrycie tych czynników. Dotychczas poznano następujące schematy działania antybiotyków [42]:

– blokowanie syntezy ściany komórkowej

Różne klasy antybiotyków działają na poszczególne etapy tego procesu. Przykładem są antybiotyki β -laktamowe, blokują one transpeptydazę (białka PBP), która łączy oligonukleotydy zawierające D-alanylo-D-alaninę. Proces ten jest ostatnim etapem syntezy ściany komórkowej mającym na celu sieciowanie peptydoglikanu. D-alanylo-D-alanina jest również substratem dla antybiotyków z klasy glikopeptydów, po związaniu się białka z antybiotykiem następuje zablokowanie dostępności D-alanylo-D-alaniny dla kolejnych etapów syntezy [1]. Na syntezę ściany komórkowej bakterii działa również izoniazyd. Jest on inhibitorem szlaku syntezy kwasów mykoloowych stanowiący niezbędny element ściany komórkowej prątków gruźlicy przeciwko którym znalazł zastosowanie [73]. Także jeden z najnowszych antybiotyków – tejskobaktyna hamuje syntezę ściany komórkowej poprzez wiązanie się z silnie konserwowanym motywem lipidu II (prekursor peptydoglikanu) i lipidu III (prekursor kwasu teichojowego ściany komórkowej) [45].

– zaburzanie funkcjonowania błony komórkowej

Przykładem jest zaburzenie szczelności błony powodowane przez antybiotyki polipeptydowe posiadające specyficzną strukturę, która umożliwia im łączenie się z lipidowymi składnikami błony komórkowej. Ponadto są to peptydy kationowe, zdolne do depolaryzacji ujemnie naładowanej błony komórkowej [47]. Również depomycyna, antybiotyk po raz pierwszy zsyntetyzowany w latach 80. XX. wieku, ale zastosowany dopiero w 2003, zaburza funkcjonowanie błony komórkowej bakterii na drodze wiązania monomerów bądź oligomerów do błony komórkowej, następnie ich polimeryzacji – co skutkuje utworzeniem w błonie kanału, przez który wypływa zawartość komórki. Proces ten jest zależny od jonów wapnia [77].

– zaburzenie syntezy białek bakteryjnych

Zaburzenie syntezy białek bakteryjnych to najbardziej rozpowszechniony cel dla działania antybiotyków. Istnieje stosunkowo duża liczba związków blokujących syntezę białek bakteryjnych na różnych etapach począwszy od inicjacji translacji aż po prawidłowe wydłużanie łańcucha polipeptydowego. Do tej grupy

należą aminoglikozydy, makrolidy czy tetracykliny. Z racji tego, iż liczba związków jest tak duża, istnieje także wiele mechanizmów działania, z których najpopularniejszy to wiązanie się cząsteczek leku do różnych cząsteczek białek rybosomalnych lub rybosomalnego RNA (podjednostki 30S oraz 50S). Mechanizm działania aminoglikozydów polega na wiązaniu się antybiotyku z podjednostką 30S rybosomu oraz zakłóceniu interakcji kodonu z mRNA z antykodonem w tRNA rybosomy. Z kolei tetracykliny blokują podjednostkę 30S, a także hamują wydłużanie łańcucha polipeptydowego. Natomiast makrolidy, linkozamidy są inhibitorami podjednostki 50S. Zakłócają proces transpeptydacji oraz translokacji, co skutkuje hamowaniem biosyntezy białek bakteryjnych [42].

– zaburzenie syntezy DNA

Chinolony oraz ich pochodne fluorochinolony (II i III generacja leków), a także naftyrydynochinolony to podstawowa grupa związków zaburzających syntezę DNA. Ich działanie przyczynia się do fragmentacji DNA w komórce. Dzieje się tak ponieważ związki te są specyficznymi inhibitorami domen ligazy topoizomerazy II (gyrazy) oraz topoizomerazy IV. Efektem aktywności domen nukleolitycznych, bez działania ligazy, jest fragmentacja kwasu deoksyrybonukleinowego [82]. Natomiast antybiotyki będące pochodnymi nitroimidazolu, działają po wnikięciu do komórki bakterii beztlenowej. W wyniku przeprowadzenia reakcji redox, wytwarzana jest cytotoksyczna pochodna wiążąca się z DNA, w efekcie czego nie ulega fragmentacji, a to prowadzi do śmierci komórki [48].

– zaburzenie syntezy RNA

Prócz związków wpływających na syntezę oraz czas półtrwania DNA istnieje grupa związków, których celem jest zaburzenie syntezy RNA. Należy do nich powszechnie znana ryfampicyna, blokująca bakteryjną polimerazę RNA poprzez trwałe wiązanie się z jej podjednostką β . Antybiotyk wiąże się w pobliżu miejsca aktywnego specyficznym do bakteryjnej polimerazy RNA, co uniemożliwia wydłużenie łańcucha DNA [14].

– inhibicja szlaków metabolicznych

Działanie hamujące na wzrost bakterii można również osiągnąć poprzez zaburzenie aktywności ważnych szlaków metabolicznych. Jednym z przykładów jest zahamowanie syntezy kwasu foliowego, co skutkuje zaburzeniem syntezy DNA. Mechanizm ten obserwowany jest w działaniu sulfonamidów, które zastępują kwas p-aminobenzoowy. W przypadku trimetoprimu hamowana jest bakteryjna reduktaza kwasu dihydrofoliowego. Obserwowany jest również mechanizm blokowania syntezy ATP poprzez wiązanie się z podjednostką C syntazy ATP przez chinoliny [42].

– blokowanie przebudowy ściany komórkowej podczas wzrostu

Początkiem 2020 roku doniesiono o nowej aktywności biologicznej dwóch substancji, które charakteryzują się innowacyjnym mechanizmem działania. Związki te to przedstawiciele nowej klasy funkcjonalnej antybiotyków glikopeptydowych komplestatyny, poznanego antybiotyku glikopeptydowego oraz nowo odkrytego związku, korbomycyną. Nowy sposób działania polega na wiązaniu się z peptydoglikanem. Antybiotyki te blokują działanie autolizyn – niezbędnych hydrolaz peptydoglikanu, które są wymagane do przebudowy ściany komórkowej podczas wzrostu. Jak donoszą badania prowadzone na mysim modelu zakażenia skóry MRSA korbomycyna i komplestatyna mają niski poziom rozwoju oporności i skutecznie zmniejszają obciążenie bakteriami podczas tej infekcji [18].

5. Oporność bakterii na antybiotyki

Problem lekoopornych szczepów został przewidziany przez samego odkrywcę pierwszego antybiotyku stosowanego w leczeniu chorób bakteryjnych – penicyliny, Aleksandra Fleminga. Zaledwie kilka lat po wypowiedzeniu tej hipotezy stała się ona tezą i już w latach 50. XX wieku zaobserwowano odporne na działanie penicyliny szczepy *S. aureus*. Jednak problem lekooporności nie pojawił się w poprzednim stuleciu, lecz zdecydowanie wcześniej. Jak donoszą ostatnie badania geny oporności na kilka klas antybiotyków zostały odnalezione w wiecznej zmarzlinie liczącej 30 tysięcy lat, prekolumbijskiej mumii z Peru oraz w jamie ustnej średniowiecznego szkieletu [68]. Oporność bakterii na antybiotyki jest zatem procesem ukierunkowanej ewolucji wywołanej presją selekcyjną oraz wymianą materiału genetycznego między bakteriami w procesie horyzontalnego transferu genów. Niestety selekcja jest spowodowana głównie działalnością człowieka, będącą efektem niewłaściwego stosowania antybiotyków, ich nadużywania w nieodpowiednich dawkach oraz wprowadzania do pasz [42]. Istnieją cztery główne mechanizmy oporności bakterii na antybiotyki. Pierwszy z nich to ograniczenie przyjmowania leku, drugi to modyfikowanie celu leku, trzeci to dezaktywacja leku i czwarty to aktywny wyrzut leku. Mechanizmy te są zlokalizowane na chromosomie bakteryjnym, ich obecność jest wrodzona u wszystkich członków gatunku, bądź też mogą być nabyte i pochodzić od innych bakterii, zwykle przekazywane za pośrednictwem plazmidu. Geny samoistnej oporności mogą ulegać konstytutywnej ekspresji, ekspresja może być również wywołana obecnością leków przeciwdrobnoustrojowych. Szczególnie bakterie Gram-ujemne szeroko wykorzystują wszystkie wyżej wymienione mechanizmy. Wynika to

ze zdolności do horyzontalnego transferu genów oporności [72]. Poniżej omówiono szczegółowo wybrane mechanizmy oporności bakterii z gatunków *E. coli* i *S. aureus* na antybiotyki.

Oporność na antybiotyki jest obecnie jednym z największych globalnych zagrożeń dla zdrowia człowieka. Może dotknąć każdego, niezależnie od wieku oraz od miejsca, w którym żyje. Chociaż oporność na antybiotyki występuje u drobnoustrojów naturalnie, nadużywanie i niewłaściwe ich stosowanie u ludzi i zwierząt przyspiesza rozprzestrzenianie się genów lekooporności. Oczywiście można podjąć kroki, mające na celu ograniczenie szerzącej się oporności. Po pierwsze należy uświadomić społeczeństwo, iż możliwe jest zapobieganie infekcjom poprzez dobrą higienę i szczepienia, stosowanie antybiotyku tylko wtedy gdy jest to uzasadnione działanie zalecone przez pracownika służby zdrowia, jak również stosowanie się do zaleconych dawek oraz nie dzielenie się przepisаныmi antybiotykami z innymi osobami oraz nie zażywanie antybiotyków, które pozostają po poprzedniej terapii, mogą bardzo ograniczyć rozprzestrzenianie się antybiotykoporności. Ludzie powinni zrozumieć problem i poznać sposoby na zmianę swojego postępowania.

Klinicyści oraz świat nauki od dawna doskonale wiedzą, że bakterie oraz grzyby, stają się alarmująco odporne na leki stosowane w ich leczeniu. Natomiast reakcja społeczeństwa na to złożone, bardzo poważne zagrożenie dla zdrowia – powszechnie określane mianem „oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe” – wymaga zaangażowania znacznie szerszej grupy podmiotów począwszy od rządów, organów regulacyjnych i społeczeństwa, aż po ekspertów w dziedzinie zdrowia, żywności, środowiska, ekonomii, handlu i przemysłu. Ludzie z tych środowisk powinni wymieniać swoje spostrzeżenia oraz obawy, aby społeczeństwo zrozumiało powagę problemu. Terminologia używana do opisu problemu jest często źle rozumiana, niepoprawnie interpretowana, a także obciążona nieprzydatnymi konotacjami [55]. W ankiecie przeprowadzonej na blisko 10 000 osób, w 12 krajach (Nigeria, Południowa Afryka, Meksyk, Barbados, Indonezja, Indie, Rosja, Serbia, Egipt, Sudan, Chiny oraz Wietnam) przez WHO dowiedziono, iż 14% respondentów nie zna terminów: antybiotykoporność, lekooporność, lekooporna bakteria, superbakteria, oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe oraz AMR (antimicrobial resistance). Mniej niż połowa respondentów słyszała o „oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe”, z kolei tylko 20% badanych było świadomych co oznacza skrót „AMR” [85]. Wyniki ankiety WHO pokazują, że chociaż ludzie rozpoznają problem, ale nie rozumieją w pełni, nie wiedzą co go powoduje ani co mogą sami zrobić, aby problem nie narastał. WHO pokazało jak dużo jeszcze należy zrobić, aby społeczeń-

stwo stało się bardziej świadome. Wyniki pytań ankietowych na blisko 10 000 respondentów na temat stosowania antybiotyków pokazują, jak często przyjmuje się antybiotyki. Znaczna większość ankietowanych, aż 65% w 12 krajach zgłosiło, że stosowała je w ciągu ostatnich sześciu miesięcy. Ta częstotliwość ma duże znaczenie, zagraża zdrowiu, ponieważ przyczynia się do wzrostu liczby lekoopornych szczepów bakterii na całym globie, w stosunkowo krótkim czasie sześciu miesięcy. Z kolei 32% respondentów przestaje używać antybiotyki w momencie, gdy poczuje się lepiej, tym samym nie stosując się do zaleceń WHO, które mówią, iż powinien być przyjęty cały cykl leku wypisanego przez lekarza na daną liczbę dni, po to aby nie faworyzować szczepów posiadających geny oporności. Problem nie leży tylko po stronie pacjentów, badania dowiodły, że 64% przypadków to osoby, które otrzymały antybiotyki na infekcje wirusowe. Jak wiadomo antybiotyki stosuje się przeciwko infekcjom wyłącznie bakteryjnym [85]. Podobne badanie opublikowane także w 2015 roku w Wielkiej Brytanii przez brytyjską organizację charytatywną Wellcome Trust, ujawniło podobne trendy [84]. Niekiedy niewłaściwe użycie terminów przez prasę, naukowców w publikacjach oraz dziennikarzy do opisanego zachodzących na świecie wydarzeń może przynieść efekty przeciwne do zamierzonych we wszystkich kontekstach, zamiast uświadamiać wprowadza w błąd. Idealnym przykładem do zobrazowania tego zjawiska jest przemysł spożywczy, a w szczególności produkcja drobiu. W ostatnich latach różne sektory wezwały kraje do stopniowego wycofania lub zniesienia „środków przeciwdrobnoustrojowych” stosowanych w celu promowania wzrostu zwierząt, aby chronić ludzi przed zwiększającym się poziomem opornych na leki bakterii [60]. Jednak z definicji środki przeciwdrobnoustrojowe obejmują leki, które odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu obecnego poziomu produkcji drobiu na całym świecie poprzez zmniejszenie zapalenia jelit wywołanego przez pasożyty kokcydia. Leki przeciw kokcydiozie nie wywierają wpływu na bakterie i nie powodują oporności bakterii u ludzi i innych zwierząt. Tak więc żądanie zniesienia wszystkich środków przeciwdrobnoustrojowych do promocji wzrostu mija się z celem i może potencjalnie zaszkodzić bezpieczeństwu żywnościowemu. Prosta, jasna i jednoznaczna terminologia pomogłaby zapewnić, iż pojawienie się opornych na leki bakterii powodujących powszechne choroby, wynika z wysokiego użycia przez ludzi antybiotyków. Może to również poprawić zrozumienie i zaangażowanie ludzi. W dniu 16 marca 2017 roku Organizacja Narodów Zjednoczonych utworzyła grupę międzyagencyjną w celu koordynacji walki z lekoopornością. Świat nauki postuluje, aby pierwszym z wielu kroków było stworzenie odpowiedniej terminologii przystępnej w swojej popularnonaukowej formie dla

wszystkich podmiotów. Takie działanie może poprawić zrozumienie problemu i przyczynić się do powstania spójnej globalnej reakcji [81].

Pojawienie się w środowisku człowieka *E. coli* oraz *S. aureus* może stanowić poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego. Szczególnie narażoną grupą są dzieci, ze względu na nie w pełni rozwinięty system odpornościowy [59]. Co więcej dzieci w wieku przedszkolnym często nie przestrzegają zasad higieny, a także mają skłonności do jedzenia piasku podczas zabawy w piaskownicy (geofagia), co czyni je bardziej podatnymi na infekcje [64]. Piaskownice stanowią poważne zagrożenie jeśli piasek w nich obecny jest zanieczyszczony przez przydomowe zwierzęta wyprowadzane na spacer w obrębie parków czy osiedli jak również gryzoni np. szczury i myszy. Kontakt z takim piaskiem może zakończyć się infekcją w obrębie jelit. Dlatego istotne jest kontrolowanie różnych środowisk i badanie opornych bakterii, aby wyeliminować je z środowiska, w celu zminimalizowania ryzyka rozprzestrzenienia się genów lekooporności

5.1. Oporność pałeczek *Enterobacteriaceae*

Najpopularniejsze mechanizmy oporności wśród bakterii *E. coli*:

a) Mechanizm ESBL (extended-spectrum β -lactamases) występuje u bakterii syntetyzujących β -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym czyniącym je opornymi na działanie antybiotyków z grupy β -laktamów [43, 52, 87]. Cechą charakterystyczną wszystkich antybiotyków β -laktamowych jest obecność pierścienia β -laktamu. β -laktamazy, pierwotnie nazywane penicylinazami lub cefalosporynami są zdolne do inaktywacji tej klasy antybiotyków na drodze hydrolizy swobodnego miejsca pierścienia β -laktamowego powodując jego otwarcie. Antybiotyk nie może wówczas związać się ze swoim docelowym białkiem PBP. Mechanizm ESBL jest najpowszechniejszy wśród bakterii Gram-ujemnych, czyniąc je opornymi na działanie antybiotyków β -laktamowych [11, 72]. β -laktamazy można sklasyfikować na podstawie ich struktury lub obecności grupy funkcyjnej. Według struktury rozróżniane są cztery grupy A, B, C oraz D. Natomiast według występującej grupy funkcyjnej wyróżnia się cefalosporynazy, seryno- β -laktamazy i metalo- β -laktamazy, które są najczęściej spotykane u *E. coli* [13, 74]. Pierwsza scharakteryzowana β -laktamaza pochodziła z *E. coli*. Kodowana chromosomalnie na genie *ampC* (nazwa pochodzi od oporności na ampicylinę). Gen ten ulega konstytutywnej ekspresji przy niskim poziomie, ale mutacja może powodować jego nadekspresję. β -laktamazy *ampC* są najbardziej skuteczne w stosunku do penicyliny oraz cefalosporyn I generacji. Enzymy te nadały oporność

bakteriom również na kolejne generacje cefalosporyn zostały i nazwane β -laktamazami o rozszerzonym spektrum substratowym – ESBP [10, 11, 74, 78].

b) Produkcja MBL (metallo- β -lactamase) przez bakterie Gram-ujemne. MBL w ostatnich latach stał się najbardziej rozpowszechnionym i klinicznie znaczącym mechanizmem oporności bakterii na karbapenemy [71]. Bakterie zdolne do produkcji MBL mogą hydrolizować szeroki zakres antybiotyków β -laktamowych: cefalosporyn, karbapenemów, cefamycyny, ale nie mają zdolności do hydrolizowania aztreonamu. Co więcej, ich aktywność katalityczna jest neutralizowana przez inhibitory β -laktamazy, takie jak klawulanian, tazobaktam i sulbaktam, które są powszechnie stosowane w terapii antybiotykowej [6]. Metallo- β -laktamazy należą do β -laktamaz klasy B wg klasyfikacji Ambler [2] na podstawie ich homologii sekwencji aminokwasów oraz do grupy 3 zgodnie z klasyfikacją Busha [11] na podstawie profilu substratu i inhibitora. MBL wymagają jonów cynku do katalizowania hydrolizy antybiotyków β -laktamowych, a ze względu na tę zależność od metalu, katalizę MBL można zahamować obecnością czynników chelatujących metal np. kwasem etylenodiaminotetraoctowy (EDTA) [67]. MBL są kodowane przez geny będące częścią chromosomu lub przez geny nabyte w czasie horyzontalnego transferu genów [17]. Najbardziej rozpowszechnione MBL obejmują imipenemazę (IMP), VIM (Verona integron-encoded metallo- β -lactamase) oraz NDM (New Delhi metallo-beta-lactamase) [67].

c) CRE (carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*) – szczepy odporne na działanie karbapenemów [52]. Do początku XXI wieku produkcja karbapenemaz przez *Enterobacteriaceae* była nieznana. Po raz pierwszy w 2001 roku doniesiono, iż *Klebsiella pneumoniae* wytwarza karbapenemazy [88]. Oporność na karbapenemy jest kodowana przez gen *blaKPC*. Niestety możliwy jest transfer tego genu do genomu *E. coli*, co może spowodować szerokie i szybkie rozprzestrzenienie się wrażliwości na tę klasę antybiotyków. Wywołało by to poważną w skutkach epidemię na skalę globalną [37].

5.2. Oporność *S. aureus*

Najczęstsze mechanizmy oporność wśród bakterii *S. aureus*:

a) Oporność na penicylinę. Penicylina jest pierwszym antybiotykiem β -laktamowym odkrytym w 1928 r. przez Aleksandra Fleminga i uznanym za skuteczny przeciwko infekcjom wywoływanym przez *S. aureus*. W latach czterdziestych ubiegłego wieku, odnotowano już pierwsze doniesienia o szczepach *S. aureus* opornych na penicylinę [70]. Szczepy te kodowały plazmidowo enzym β -laktamowy penicylinazę, która enzymatycznie tnie pierścień β -laktamowy penicyliny czyniąc antybiotykiem nieaktywnym [7, 38]. W latach 50

zeszłego wieku oporność na penicylinę ograniczała się jedynie do izolatów szpitalnych *S. aureus*. Pod koniec 1960 roku, ponad 80% szczepów gronkowca złocistego, niezależnie pochodzenia szpitalnego bądź społecznego, było opornych na penicylinę z powodu plazmidowego transferu genu penicylinazy (*blaZ*) oraz klonalnego rozprzestrzenianie się opornych szczepów [15, 49].

b) MRSA – methicillin-resistant *S. aureus* są to szczepy zwykle odporne na działanie wielu antybiotyków, często będące patogenami szpitalnymi powodującymi wysoką zachorowalność oraz śmiertelność, podnoszącymi koszty leczenia [30]. Metycylina została wprowadzona do leczenia w 1961 jako antybiotykiem mający pomóc w leczeniu zakażeń wywołanych gronkowcem złocistym opornym na działanie penicyliny. Niestety niespełna rok po wprowadzeniu odnotowano pierwsze szczepy odporne na metycylinę [35]. Przez kolejne lata zgłaszano coraz więcej takich ognisk pojawiających się w placówkach szpitalnych. Stały się one poważnym zagrożeniem zdrowia publicznego, dlatego przystąpiono do intensywnych prac mających na celu odkrycie mechanizmu oporności na metycylinę przez gronkowca złocistego, poznano go 1981 roku [33]. Szczepy MRSA kodują w genie *mecA* dodatkowe białko PBP2a (penicillin binding protein) wiążące penicylinę. Zmienione białko nie wykazuje powinowactwa do tego antybiotyku. Antybiotyki β -laktamowe wykazują działanie antibakteryjne poprzez inaktywację białek wiążących penicylinę (PBP), które są niezbędnymi enzymami dla bakterii podczas syntezy ściany komórkowej. Jednakże antybiotyki te mają tylko niewielkie powinowactwo w stosunku do PBP2a, tym samym enzym ten nie ulega inaktywacji i pełni kluczową rolę podczas syntezy ściany komórek bakterii, w wyniku czego powstaje komórka zdolna do przeżycia nawet w obecności antybiotyków β -laktamowych. Właśnie z powodu obecności *mecA*, MRSA są odporne na prawie wszystkie antybiotyki β -laktamowe [26]. Gen ten jest częścią ruchomego elementu genetycznego *SCCmecA* (staphylococcal cassette chromosome *mecA*). Istnieją dwie hipotezy wyjaśniające ewolucyjne pochodzenie metycylioopornych szczepów. Pierwsza z nich zakłada, iż ruchomy element genetyczny wyszedł z populacji *S. aureus* co spowodowało powstanie pojedynczego klonu MRSA, który rozprzestrzenił się na całym świecie. Natomiast druga hipoteza zakłada, że szczepy metycyliooporne ewoluowały na drodze wielokrotnego horyzontalnego transferu genu od szczepu prekursorowego MSSA (methicillin-susceptible *S. aureus*) [23, 86].

c) VRSA – vancomycin-resistant *S. aureus*. Zwiększona ilość zakażeń szpitalnych wywołanych szczepami MRSA wymusiła szerokie stosowanie kolejnego antybiotyku – wankomycyny. To spowodowało selekcję szczepów *S. aureus* o zredukowanej wrażliwości na lek [27], niosących kopie transpozonu Tn1546, nabytego

od opornych na wankomycynę szczepów *Enterococcus faecalis*. Transpozon posiadający oporności typu VanA, koduje dehydrogenazę (VanH), która redukuje pirogronian do D-Lac i ligazę VanA, która katalizuje tworzenie wiązania estrowego pomiędzy D-Ala i D-Lac. W wyniku czego depsyptetyd D-Ala-D-Lac zastępuje dipeptyd D-Ala-D-Ala w syntezie peptydoglikanu, znacznie zmniejszając powinowactwo dla wankomycyny i innego antybiotyku glikopeptydowego teikoplaniny [20].

6. Podsumowanie

Zagrożenie jakie niesie obecność w środowisku szczepów lekoopornych bakterii spowodowało, że coraz częściej badane są nie tylko placówki ochrony zdrowia pod kątem obecności bakterii *E. coli* oraz *S. aureus* niosących geny lekooporności na część antybiotyków stosowanych podczas leczenia zakażeń, ale również miejsca, które nie są naturalnym miejscem bytowania tych drobnoustrojów, a co więcej ich obecność jest wysoce niepokojąca. *E. coli* jest głównym mikroorganizmem odpowiedzialnym za infekcje układu pokarmowego, natomiast *S. aureus* wywołuje różne poważne i trudne w leczeniu zakażenia. Bakterie te mogą być łatwo przenoszone z osoby na osobę przez kontakt bezpośredni czy przez zanieczyszczone (fekaliami) żywność, wodę jak również glebę i piasek. Co więcej mikroorganizmy te zdolne są do produkcji entero- oraz egzotoksyn, odpowiedzialnych za 1,7–2,5 mln zgonów głównie wśród niemowląt oraz małych dzieci [29]. Dlatego monitoring środowiska pod kątem obecności tych bakterii jest bardzo istotny.

Piśmiennictwo

- Adler A., Katz D. E., Marchaim D.: The continuing plague of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* infections. *Infect. Dis. Clin. North Am.* **30**, 347–375 (2016)
- Ambler R.: The structure of beta-lactamases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **289**, 321–331 (1980)
- Andriole V.: Quinolones: Past, Present and Future. *Clin. Infect. Dis.* **41**, 113–115 (2005)
- Badura A., Luxner J., Feierl G., Reinthaler F., Zarfel G., Galler H., Pregartner G., Riedl R., Grisold A.: Prevalence, antibiotic resistance patterns and molecular characterization of *Escherichia coli* from Austrian sandpits. *Environm. Pol.* **194**, 24–30 (2014)
- Baldy-Chudzik K., Bok E., Mazurek J.: Znane i nowe warianty patogennych *Escherichia coli* jako konsekwencja plastycznego genomu. *Postepy Hig. Med. Dosw.* **69**, 345–361 (2015)
- Bebrone C.: Metallo-beta-lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their superfamily. *Biochem. Pharmacol.* **74**, 1686–1701 (2007)
- Bondi J.A., Diez C.C.: Penicillin resistant *Staphylococci*. *Proc. Royal. Soc. Exper. Biol. Med.* **60**, 55–58 (1945)
- Brown D.F., Edwards D.I., Hawkey P.M., Morrison D., Ridgway G.L., Towner K.J., Wren M.W.: Joint Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy; Hospital Infection Society; Infection Control Nurses Association. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Antimicrob. Chemother.* **56**, 1000–1018 (2005)
- Burkhardt W., Calci K., Watkins W., Rippey S.R., Chirtel S.J.: Inactivation of indicator microorganisms in estuarine waters. *Water Res.* **34**, 2207–2214 (2000)
- Bush K., Bradford P.A.: β -Lactams and β -lactamase inhibitors: an overview. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* DOI: 10.1101/cshperspect.a025247 (2016)
- Bush K., Jacoby G.A.: Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* **54**, 969–976 (2010)
- Bush K., Zgurskaya H.I. i wsp.: Tackling antibiotic resistance. *Nat. Rev. Microbiol.* **9**, 894–896 (2011)
- Bush K.: Proliferation and significance of clinically relevant β -lactamases. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1277**, 84–90 (2013)
- Campbell E.A., Korzheva N., MustaeVA., Murakami K., Nair S., Goldfarb A., Darst S.A.: Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase. *Cell.* **104**, 901–912 (2001)
- Chambers H.F.: The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerg. Infect. Dis.* **7**, 178–182 (2001)
- Chen Ch-M., Huang M., Chen H-F., Ke S-Ch., Li Ch-R, Wang J-H., Wu L-W.: Fusidic acid resistance among clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Taiwanese hospital. *BMC Microbiol.* DOI: 10.1186/1471-2180-11-98 (2011)
- Cornaglia G., Giamarellou H., Rossolini G.M.: Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams. *Lancet, Infect. Dis.* **11**, 381–393 (2011)
- Culp E.J., Waglechner N., Wang W., Fiebig-Comyn A.A., Hsu Y-P., Koteva K., Sychantha D., Coombes B.K., Van Nieuwenhze M.S., Brun Y.V., Wang W. Evolution-guided discovery of antibiotics that inhibit peptidoglycan remodelling. *Nature*, **578**, 582–587 (2020).
- da Costa P.M., Loureiro L., Matos A.J.: Transfer of multidrug-resistant bacteria between intermingled ecological niches: the interface between humans, animals and the environment. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* **10**, 278–294 (2013)
- Depardieu F., Podglajen I., Leclercq R., Collaz E., Courvalin P.: Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression. *Clin. Microbiol. Rev.* **20**, 79–114 (2007)
- Eady E., Cove J. Staphylococcal resistance revisited: community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*-an emerging problem for the management of skin and soft tissue infections, *Curr. Opin. Infect. Dis.* **16**, 103–24 (2003)
- El-Hajj Z.W., Newman E.B.: An *Escherichia coli* mutant that makes exceptionally long cells. *J. Bacteriol.* **197**, 1507–1514 (2015)
- Enright M.C., Robinson D.A., Randle G., Feil E.J., Grundmann H., Sprat B.G.: The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 7687–7692 (2002)
- Erickson M.C., Habteselassie M.Y., Liao J., Webb C.C., Mantripragada V., Davey L., Doyle M.P.: Examination of factors for use as potential predictors of human enteric pathogen survival in soil. *J. Appl. Microbiol.* **116**, 335–349 (2014)
- Escherich T.: Die Darmbakterien des Neugeborenen und Säuglings. *Fortschr. Med.* **3**, 515–522, 547–557 (1885)
- Fuda C., Suvorov M., Vakulenko S.B., Mobashery S.: The basis for resistance to β -lactam antibiotics by penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Biol. Chem.* **279**, 40802–40806 (2004)
- Gardete S., Tomasz A.: Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Invest.* **124**, 2836–2840 (2014)

29. Gaurav K., Karmakar S., Kundu K., Kundu S.: Design, development and synthesis of novel cephalosporin group of antibiotics [W]: Antibiotic resistant bacteria – a continuous challenge in the new millennium. red. M. Pana, *IntechOpen*, 2012, s. 487–502
29. Girard M., Steele D., Chaingat C.-L., Kieny M.P.: A review of vaccine research and development: human enteric infections. *Vaccine*, **24**, 2732–2750 (2006)
30. Gnanamani A., Hariharan P., Satyaseela M.: *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach [W:] *Frontiers in Staphylococcus aureus*. *IntechOpen*, 2017, s. 3–16
31. Gotkowska-Pachta A., Korzeniowska E.: Microbial evaluation of sandboxes located in urban areas. *Ecotox. and Environ.* **113**, 64–71 (2015)
32. Greenwood D., O'Grady F.: Scanning electron microscopy of *Staphylococcus aureus* exposed to some common anti-staphylococcal agents. *J. Gen. Microbiol.* **70**, 263–270 (1972)
33. Hartman A., Tomasz B.: History of antibiotics and suphonamides discoveries. *Pol. Merkur. Lek.* **30**, 320–322 (2011)
34. Jasiewicz J., Baran A., Antoniewicz J.: Assessment of chemical composition and sanitary state of sand in selected sandboxes in Krakow. *J. Elementol.* **14**, 79–90 (2009)
35. Jevons M.: Celbenin-resistant staphylococci. *Br. Med. J.* **1**, 124–125 (1961)
36. Kim K.S.: Human meningitis-associated *Escherichia coli*. *EcoSal Plus*. DOI: 10.1128/ecosalplus.ESP-0015-2015 (2016)
37. Kim Y., Qureshi Z., Adams-Haduch J.: Features of infections due to *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Escherichia coli*: emergence of sequence type 131. *Clin. Infect. Dis.* **55**, 224–231 (2012)
38. Kirby W.M.: Extraction of highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant *Staphylococci*. *Science* **99**, 452–453 (1942)
39. Kirk M., Pires S., Black R., Caipo M., Crump J., Devleeschauwer B.: World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases. *PLoS Med.* DOI: 10.1371/journal.pmed.1001921 (2015)
40. Köhler C., Dobrindt U.: What deines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*? *Int. J. Med. Microbiol.* **301**, 642–647 (2011)
41. Korzybski D., Nowiński A.: Makrolidy – nie tylko działanie przeciwbakteryjne. *Forum Med. Rodz.* **7**, 271–276 (2013)
42. Kozińska A., Sitkiewicz I.: Nowe i stare antybiotyki – mechanizmy działania i strategie poszukiwania leków przeciwbakteryjnych. *Kos. Prob. N. Biol.* **314**, 109–124 (2017)
43. Lee S.Y., Kotapati S., Kuti J.L., Nightingale C.H., Nicolau D.P.: Impact of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species on clinical outcomes and hospital costs: a matched cohort study. *Infect Control Hosp Epidemiol.* **27**, 1226–1232 (2006)
44. Licitra G.: Etymologia: *Staphylococcus*. *Emerg Infect Dis.* **19**, 1553 (2013)
45. Ling L., Lewis K. i wsp.: A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature*, **517**, 455–459 (2015)
46. Liu G.Y., Essex A., Buchanan J.T., Data V., Hofman H.M., Bastian J.F., Fierer J., Nizet V.: *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. *J Exp Med.* **202**, 209–215 (2005)
47. Liu Y., Wang Y., Walsh T. R., Yi L. X., Zhang R., Spencer J., Doi Y., Tian G., Ding B., Huang X.: Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet. Infect. Dis.* **16**, 161–168 (2016)
48. Lofmark S., Edlund C., Nord C. E.: Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clin. Infect. Dis.* **50**, 16–23 (2010)
49. Lowy F.D.: Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Invest.* **111**, 1265–1273 (2003)
50. Lu Y., Sasaki T., Kuwahara-Arai K., Uehara Y., Hiramatsua K.: Development of a New Application for Comprehensive Viability Analysis Based on Microbiome Analysis by Next-Generation Sequencing: Insights into Staphylococcal Carriage in Human Nasal Cavities. *Appl. Environ. Microbiol.* **84**, 517–518 (2018)
51. Markiewicz Z., Kwiatkowski Z.: Bakterie, antybiotyki, lekooporność. PWN, Warszawa; 2019
52. Maslikowska J.A., Walker S.A., Elligsen M., Mitman N., Palmay L., Daneman N., Simor A.: Impact of infection with extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella* species on outcome and hospitalization costs. *J. Hosp. Infect.* **92**, 33–41 (2016)
53. Mazur E. Występowanie lekoopornych szczepów *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* w miejscach użyteczności publicznej jako potencjalny czynnik zagrożenia zdrowia. *Praca magisterska. Uniwersytet Rolniczy w Krakowie* (2018)
54. Matzov D., Yonath A. i wsp.: Structural insights of lincosamides targeting the ribosome of *Staphylococcus aureus*, *Nucleic Acids. Research.* **45**, 10284–10286 (2017)
55. Mendelson M., Balasegaram M., Jinks T., Pulcini C., Sharland M.: Antibiotic resistance has a language problem. *Macmillan Publishers Limited, part of Springer Nature* <https://www.nature.com/news/antibiotic-resistance-has-a-language-problem-1.21915> (20.05.2020)
56. Miller L., Diep B.: Colonization, fomites, and virulence: rethinking the pathogenesis of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection, *Clin. Infect. Dis.* **46**, 452–460 (2008)
57. Muñiz C.C., Zelaya T.E., Esquivel G.R., Fernández F.J.: Penicillin and cephalosporin production: a historical perspective. *Rev Latinoam Microbiol.* **49**, 88–98 (2007)
58. Neidhardt F, Ingraham J., Schaechter M.: Physiology of the Bacterial Cell: A molecular approach, *Sinauer Associates*, Chicago 1990
59. Nwachuku N., Gerba Ch.: Microbial risk assessment: don't forget the children. *Curr. Opin. Microbiol.* **7**, 206–209 (2004)
60. O'Neill J.: The Review on Antimicrobial Resistance Tackling Drug-resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations (HM Government/Wellcome Trust, 2016); Protokół dostępu <http://go.nature.com/2oj9uan> (20.05.2020)
61. Ochman H., Wilson A.C.: Evolution in bacteria: Evidence for a universal substitution rate in cellular genomes. *J. Molec. Evol.* **26**, 74–86 (1987)
62. Ochocki Z., Stańczak A.: Antybiotyki aminoglikozydowe. *Farm. Pol.* **61**, 707–718 (2005)
63. Oshiro R., Fujioka R.: Sand, soil and pigeon droppings: sources of indicator bacteria in the waters of Hanaumabay Oahu, Hawaii. *Water Sci. Technol.* **31**, 251–254 (1995)
64. Overgaauw P.A.M., van Knapen F.: Veterinary and public health aspects of *Toxocara* spp. *Vet. Parasitol.* **193**, 398–403 (2013)
65. Pantel L., Gualtieri M. i wsp.: Odilorhabdins, Antibacterial Agents that Cause Miscoding by Binding at a New Ribosomal Site. *Mol Cell.* **70**, 83–94 (2018)
66. Pappelbaum K., Kasprzak J., Czaczky K.: Występowanie werotoksycznych *Escherichia coli* w żywności, ze szczególnym uwzględnieniem serotypu O104:H4. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* **5**, 33–48 (2015)
67. Patel G., Bonomo R.A.: Stormy waters ahead: global emergence of carbapenemases. *Front Microbiol.* DOI: 10.3389/fmicb.2013.00048 (2013)
68. Perry J., Waglechner N, Wright G.: The prehistory of antibiotic resistance. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **6**, DOI:10.1101/cshperspect.a025197 (2016)

69. PN-EN 1176-1:07.2009 Wyposażenie placów zabaw i nawierzchnie. Część 1: Ogólne wymagania bezpieczeństwa i metody badań
70. Rammelkamp C.H., Maxon T.: Resistance of *Staphylococcus aureus* to the action of penicillin. *Exp. Biol. Med.* **51**, 386–389 (1942)
71. Rasheed J.K., Kitchel B., Zhu W., Anderson K.F., Clark N.C., Ferraro M.J., Savard P., Humphries R.M., Kallen A.J., Limbago B.M.: New Delhi metallo- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*, United States. *Emerg. Infect. Dis.* **19**, 870–878 (2013)
72. Reygaert W.C.: Antimicrobial resistance mechanisms of *Staphylococcus aureus*. [W]: Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education, red. A. Méndez-Vilas, *Formatex Research Center*, Hiszpania, 2013, s. 297–305
73. Schroeder E.K., De Souza N., Santos D.S., Blanchard J.S., Basso L.A.: Drugs that inhibit mycolic acid biosynthesis in *Mycobacterium tuberculosis*. *Curr. Pharm. Biotechnol.* **3**, 197–225 (2002)
74. Schultsz C., Geerlings S.: Plasmid-mediated resistance in *Enterobacteriaceae*. *Drugs*. **72**, 1–16 (2012)
75. Shah A.H., Fleming L.E. i wsp.: Indicator microbes correlate with pathogenic bacteria, yeasts and helminths in sand at a subtropical recreational beach site. *J. Appl. Microbiol.* **110**, 1571–1583 (2011)
76. Supuran C.: Special Issue: Sulfonamides, *Molecules*, **22**, 1642 (2017)
77. Taylor S.D., Palmer M.: The action mechanism of daptomycin. *Bioorg. Med. Chem.* **24**, 6253–6268 (2016)
78. Thomson K.S.: Extended-spectrum- β -lactamase, AmpC, and carbapenemase issues. *J. Clin. Microbiol.* **48**, 1019–1025 (2010)
79. Touhami A, Jericho MH, Beveridge TJ.: Atomic force microscopy of cell growth and division in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* **186**, 3286–3295 (2004)
80. Tupina A., Gualtieri M., Roquet-Bančresa F, Morichauda Z., Brodolina K., Leonetta J-P.: Resistance to rifampicin: at the crossroads between ecological, genomic and medical concerns. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **35**, 519–523 (2010)
81. UN News Centre.: UN announces interagency group to coordinate global fight against antimicrobial resistance, <http://go.nature.com/2pcqx28> (20.05.2020)
82. Van Bambeke F, Michot J.M., Van Eldere J., Tulkens P.M.: Quinolones in 2005: an update. *Clin. Microbiol. Infect.* **11**, 256–280 (2005)
83. van de Sande-Bruinsma N., Grundmann H., Verloo D., Tiemersma E., Monen, J., Goossens H., Ferech M.: European antimicrobial resistance surveillance system group, European surveillance of antimicrobial consumption project group. Antimicrobial drug use and resistance in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* **14**, 1722–1730 (2008)
84. Wellcome Trust: Exploring the Consumer Perspective on Antimicrobial Resistance (Wellcome Trust, 2015), <http://go.nature.com/2pkwcbw> (20.05.2020)
85. WHO: World Health Organization Antibiotic Resistance: Multi-Country Public Awareness Survey, <http://go.nature.com/2ptdypm> (20.05.2020)
86. Wielders C., Fluit A.C., Brisse S., Verhoef J., Schmitz F.J.: *mecA* Gene is widely disseminated in *Staphylococcus aureus* population. *J. Clin. Microbiol.* **40**, 3970–3975 (2002)
87. Yang Y.S., Ku C.H., Lin J.C., Shang ST., Chiu C.H., Yeh K.M., Lin C.C., Chang F.Y.: Impact of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* on the outcome of community-onset bacteremic urinary tract infections. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* **43**, 194–199 (2010)
88. Yigit H., Queenan A., Anderson G.: Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**, 1151–1161 (2001)
89. Zalecenia Głównego Inspektora Sanitarnego z dnia 05.05.2009 r. GIS-BI-074-68-1/J0/09, http://www.pssedg.eu/ww_piaskownica.php (20.05.2020)
90. Zmysłowska I.: Mikrobiologia ogólna i środowiskowa. Teoria i ćwiczenia. Red. I. Zmysłowska, Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińskiego Mazurskiego, Olsztyn, 2009, s. 195