

Wioletta Kmiecik^{1*}, Eligia Maria Szewczyk¹

¹ Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Wpłynęło w grudniu 2016 r.
Zaakceptowano w lutym 2017 r.

1. Wstęp. 2. Koagulaza gronkowcowa. 3. *Staphylococcus aureus*. 4. Gronkowce grupy SIG. 4.1. *Staphylococcus intermedius*. 4.2. *Staphylococcus pseudintermedius*. 4.3. *Staphylococcus delphini*. 5. *Staphylococcus hyicus*. 6. *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*. 7. *Staphylococcus lutrae*. 8. *Staphylococcus agnetis*. 9. Podsumowanie

Coagulase-positive species of the genus *Staphylococcus* – taxonomy, pathogenicity

Abstract: Staphylococci constitute an important component of the human microbiome. Most of them are coagulase-negative species, whose importance in the pathogenesis of human infections has been widely recognized and is being documented on a regular basis. Until recently, the only well-known coagulase-positive staphylococcus species recognized as human pathogen was *Staphylococcus aureus*. Previously, the ability to produce coagulase was used as its basic diagnostic feature, because other coagulase-positive species were associated with animal hosts. Progress in the laboratory medicine, in which automatic or semi-automatic systems identify the staphylococci species, revealed a phenomenon of spreading of the coagulase positive staphylococci to new niches and hosts, as they are being isolated from human clinical materials with increasing frequency. As a result, many researchers and laboratories have turned their attention to the phenomenon, which caused an inflow of new data on these species. An increasingly expansive pathogenic potential of coagulase-positive staphylococci against humans has been documented. In the presented study, recent data on both *S. aureus* and species previously considered to be animal, i.e. *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, *S. delphini*, *S. lutrae*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, *S. hyicus* as well as newly described species *S. agnetis*, were shown.

1. Introduction. 2. Staphylococcal coagulase. 3. *Staphylococcus aureus*. 4. *Staphylococcus intermedius* Group species. 4.1. *Staphylococcus intermedius*. 4.2. *Staphylococcus pseudintermedius*. 4.3. *Staphylococcus delphini*. 5. *Staphylococcus hyicus*. 6. *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*. 7. *Staphylococcus lutrae*. 8. *Staphylococcus agnetis*. 9. Summary

Słowa kluczowe: gronkowce koagulazododatnie, grupa SIG, *Staphylococcus agnetis*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus lutrae*, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*

Key words: coagulase-positive staphylococci, *Staphylococcus intermedius* group, *Staphylococcus agnetis*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus lutrae*, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*

1. Wstęp

Bakterie z rodzaju *Staphylococcus* zostały odkryte już w 1880 r. przez szkockiego lekarza Alexandra Ogstona, który nadał im nazwę wynikającą z zaobserwowanego obrazu mikroskopowego (gr. *staphyle* – winogrono, gr. *kókkos* – ziarno) [30]. Podział na gronkowce koagulazododatnie (Coagulase Positive Staphylococci, CPS) uważane za bardziej zjadliwe i koagulazoujemne (Coagulase Negative Staphylococci, CNS) w oparciu o zdolność do wykrzepiania osocza w próbie na koagulazę został zapoczątkowany w 1903 r. [59] i wciąż pozostaje dobrym kryterium różnicującym w obrębie tego rodzaju. Z czasem znaczenie diagnostyczne tej próby jako wyróżnika *S. aureus* znacząco straciło jednak na wartości także dlatego, że wykrywano są szczepy tego gatunku pozbawione tej cechy [93]. Ponadto w patologii człowieka pojawiły się nowe gatunki koagulazododatnie, pierwotnie uznawane za wyłącznie zwierzęce. Zjawisko przełamania barier międzygatunkowych,

pojawianie się nowych gatunków oraz zmiany taksonomii już odkrytych wymagają nowego spojrzenia na systematykę, diagnostykę i epidemiologię wywołanych przez nie zakażeń.

2. Koagulaza gronkowcowa

Koagulaza to enzym unikalny wśród bakterii. Z wyjątkiem niektórych gatunków gronkowców, stanowi czynnik zjadliwości produkowany przez nieliczne inne bakterie związane z człowiekiem. Wytwarzają ją też *Yersinia pestis*. Wykrywano także pojedyncze szczepy *Streptococcus faecalis*, *S. pyogenes*, *S. gordonii*, *Escherichia coli* czy *Serratia marcescens*, które były koagulazododatnie [6, 24, 63].

Koagulaza gronkowcowa występuje u bakterii tego rodzaju w dwóch postaciach – wolnej, uwalnianej do środowiska i związanej z komórką. Wytwarzanie obu białek regulowane jest przez loci *sar* i *agr* [65].

* Autor korespondencyjny: Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 137, 90-235 Łódź; tel.: (42) 677 93 00, e-mail: wioletta.kmiecik@umed.lodz.pl

Wyniki oznaczania koagulyzy uwalnianej do środowiska stanowią jedno z podstawowych narzędzi diagnostycznych stosowanych w różnicowaniu gatunkowym gronkowców, gdyż stały się podstawą do podziału gronkowców na koagulazododatnie i – ujemne. Koagulaza wydzielana przez komórki konwertuje za pomocą domeny C-końcowej zawartą w osoczu protombinę lub inne, podobne strukturalnie substancje do trombinopodobnych produktów wykrzepiających w postaci widocznego skrzepu. Oznaczenie to wykonuje się metodą próbówką z użyciem rozcieńczonego osocza króliczego [60]. Jak wykazano w najnowszych badaniach, koagulaza wolna wraz z frakcją koagulyzy związanej (ClfA) odgrywa aktywną rolę w produkcji biofilmu ClfA-zależnego. Wolna koagulaza pośredniczy w konwersji fibrynogenu do nierozpuszczalnej fibryny, która działa jako rusztowanie biofilmu, umożliwiając *S. aureus* gromadzenie się na powierzchniach powleczonych ludzkim osoczem. Działanie terapeutyczne kombinacji leków przeciwbakteryjnych oraz inhibitorów koagulyzy lub plazminy przewyższa skuteczność leczenia z zastosowaniem samych antybiotyków. Udowodniono je w przypadku infekcji układu krążenia oraz stawów, we wczesnych stadiach zakażeń związanych z wszczepianiem urządzeń medycznych, a także w procesie zwalczania biofilmu tworzonego przez *S. aureus* [99].

Związana postać koagulyzy gronkowcowej nazywana jest czynnikiem CF (clumping factor), a także czynnikiem skupiania i jest ściśle związana ze ścianą komórkową [23]. Forma ta oddziałuje wyłącznie na podatny fibrynogen, powodując jego wytrącanie w postaci precipitatu na powierzchni komórek gronkowców, zlepiając je. Właściwość ta wykorzystywana jest w metodzie szkiełkowej z zastosowaniem nierozcieńczonego osocza króliczego służącej do wykrywania czynnika CF w diagnostyce mikrobiologicznej. Czynniki te występują w dwóch postaciach (A i B), których produkcja jest zróżnicowana w zależności od szczepów [90].

Czynnik skupiania A (ClfA, clumping factor A) wytwarzany przez *S. aureus*, podobnie do białka A wiążącego fibrynogen FnBPA (fibrynogen-binding protein A), również występującego u tego gatunku, bierze pośrednio udział w aktywacji płytek krwi, co może mieć związek z patomechanizmem zakażeń układu krążenia (infekcje zastawek serca, bakteryjne zapalenie wsierdza), a także septycznego zapalenia stawów [42, 48]. Ostatnie doniesienia literaturowe wskazują na możliwość zastosowania ClfA w szczepionkach dla pacjentów z wysokim ryzykiem zachorowania na infekcyjne zapalenie wsierdza wywołane przez *S. aureus* [58].

Czynnik skupiania B (ClfB, clumping factor B) jest białkiem o wielkości 150 kDa, pośredniczącym w procesie zakotwiczenia MSCRAMM (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) w ścianie komórkowej bakterii poprzez region C-termi-

nalny. N-końcowy region ClfB z kolei odgrywa pośrednią rolę w wiązaniu fibrynogenu, prowadząc do przylegania do niego bakterii, a w konsekwencji do tworzenia zakrzepów czy sprzyjając osiedlaniu na zastawkach serca. W swoich pracach Wertheim i wsp. wykazali, że ClfB ma wyraźne powinowactwo do cytokeratyny 10 ludzkiego typu I (CK10), która ulega ekspresji na łuskowatych komórkach nabłonkowych [96], co sprawia, że można uznać związek tego czynnika z kolonizacją w obrębie nosogardzieli człowieka.

U większości szczepów *S. aureus* obie postaci koagulyzy (wolna i związana) występują w komórkach jednocześnie. U pozostałych gatunków koagulazododatnich, z wyjątkiem nielicznych szczepów *S. intermedius*, nie wykrywa się czynnika CF. Koagulazę związaną (czynnik CF) wytwarzają jednak zaliczane do gatunków koagulazoujemnych *Staphylococcus lugdunensis* i *Staphylococcus sciuri*. Gatunki te są izolowane od zwierząt i głównie u nich wywołują choroby. U ludzi *S. lugdunensis* stanowi element mikroflory skóry okolic pachwin i klatki piersiowej, ale także odpowiada za zapalenia wsierdza, stawów, zakażenia po wszczepieniach narządów czy protez, zapalenia płuc, a nawet zespół wstrząsu toksycznego [1]. Szczepy *S. sciuri* u ludzi kolonizują głównie obszar błony śluzowej przedsionka nosa, a także pachy i pochwę. Zakażenia wywoływane przez nie u człowieka są rzadkie, aczkolwiek mogą się rozprzestrzeniać w zamkniętych lub czasowo/częściowo izolowanych od społeczeństwa grupach ludzi, jak np. koszary [67]. Szczepy obu tych gatunków wykazują zdolność do wytwarzania wielu czynników chorobotwórczości typowych dla *S. aureus* takich jak lipazy, hemolizyny (słaba hemoliza na agarze z krwią baranią po 2 dniach inkubacji w przypadku *S. lugdunensis* [27]), enterotoksyny, toksyna eksfoliatywna C, a także omawiany tu czynnik CF. Mogły je zapewne nabyć na drodze horyzontalnego transferu genów.

3. *Staphylococcus aureus*

Nazwa gatunku *S. aureus* nadana w 1884 r. przez Rosenbacha pozostaje niezmienną mimo licznych reklasyfikacji w obrębie rodzaju. Sto lat później, na podstawie badań hiszpańsko-niemieckiego zespołu badawczego wykazano, iż w obrębie tego gatunku niektóre szczepy rosną tylko w warunkach beztlenowych, w związku z czym wyodrębniono dwa podgatunki: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* i *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* [54].

Zarówno w XIX wieku, jak i obecnie w identyfikacji fenotypowej *S. aureus* za najistotniejsze przyjmuje się następujące trzy cechy: barwę kolonii (pigment od białego, przez cytrynowy, kremowy do brązowego), zdolność do wytwarzania hemolizy typu β na pod-

łożu z dodatkiem krwi baraniej i wreszcie zdolność do wytwarzania koagulazy.

Gronkowiec złocisty *S. aureus* to wykazujący znaczny potencjał chorobotwórczy gatunek, często izolowany z materiałów klinicznych od ludzi. Jest przedmiotem ogromnej liczby prac badawczych, a także opracowań przeglądowych. Pierwszą, niezwykle szeroką pracą zbierającą wszystkie dotychczas opublikowane dane o *S. aureus* był dwuczęściowy artykuł Sheagrena opublikowany w 1984 r. [82, 83]. Spośród ogromu późniejszych prac na szczególną uwagę zasługują te autorstwa Knox i wsp. [53] z 2015 r. o transmisji szczepów tego gatunku w gospodarstwach domowych i środowisku oraz Alibayov i wsp. [2] z 2014 r., w której badacze podjęli trudny temat charakterystyki ruchomych elementów genetycznych *S. aureus*, co ma niezwykle istotne znaczenie w horyzontalnym transferze genów i zmienności nie tylko tego, ale i innych gatunków gronkowców. Wątek roli mobilnych elementów genetycznych w procesie nabywania genów kodujących czynniki wirulencji został szeroko opisany także w znaczącej pracy Helbin i wsp. [39] z 2012 r. Istotną z klinicznego punktu widzenia pracą zbierającą wiedzę na temat *S. aureus* jest artykuł Tong i wsp. [88] z 2015 r., który przedstawia dokładną analizę etiopatogenezy i klinicznej manifestacji określonych jednostek chorobowych (bakteriemia, infekcyjne zapalenie wsierdza, zakażenia skóry i tkanek miękkich, zakażenia układu kostno-stawowego) wywoływanych przez gronkowce.

Zróżnicowanie wewnątrzgatunkowe szczepów *S. aureus* przekłada się też na różnorodność cech prezentowanych przez pojedyncze szczepy. Istotne dla niniejszego opracowania jest zwrócenie uwagi na te cechy, które uważane wcześniej za typowe dla tego gatunku, odnajdujemy u innych koagulazododatnich gatunków, co może mieć szczególne znaczenie w przebiegu infekcji u ludzi. Koagulaza zaangażowana w proces wykrzepiania osocza obecna jest u wszystkich CPS [26]. Białko A, stanowiące istotny czynnik chorobotwórczości ze względu na swoje właściwości wiązania immunoglobulin przez fragment Fc, jest elementem ściany komórkowej gatunku *S. aureus*, ale może też być wytwarzane przez gatunki grupy SIG (*Staphylococcus intermedius* group) [15, 29].

Wiele CPS, podobnie jak *S. aureus*, jest wyposażone w liczne cytolizyny (hemolizyny – α , β , γ , δ oraz leukotoksyny) [51]. Warto zaznaczyć, iż aktywność lityczna każdej z hemolizyn jest zróżnicowana zarówno pod względem wybiórczości działania (rodzaj erytrocytów), jak i mechanizmów ją warunkujących. Hemolizyna α wywołuje lizę komórek docelowych (wysoka aktywność wobec erytrocytów króliczych, niska wobec ludzkich) wskutek tworzenia β -baryłkowych przezbłonowych porów, skutkując ucieczką jonów K^+ i Ca^{2+} . Mechanizm działania hemolizyny β oparty jest na

destabilizacji struktury błony komórkowej erytrocytów baranich w wyniku hydrolizy sfingomieliny, co uwidocznili można w postaci efektu hot-cold (tzw. „podwójna hemoliza” – niekompletna hemoliza po wstępnej inkubacji w temperaturze 37°C, a następnie wzmocnienie hemolizy po inkubacji w 4°C). Hemolizyna δ wyróżnia się dwoma mechanizmami działania w zależności od jej stężenia: poniżej stężenia granicznego agreguje do komórek docelowych, a następnie tworzy kanały zaburzające dwuwarstwową strukturę membrany komórkowej, zaś powyżej – działa jak surfaktant, niszcząc ją. Wykazuje ona aktywność cylicylną wobec erytrocytów różnych gatunków zwierząt. Z kolei dwukomponentowa γ -hemolizyna formuje β -cylindryczne pory, podobnie jak α -toksyna, jednak wykazuje selektywność nie tylko wobec krwinek króliczych i ludzkich, ale także baranich [51].

Ze względu na licznie wytwarzane czynniki zjadliwości *S. aureus* jest organizmem modelowym, który posłużył badaniu złożonych mechanizmów kontroli i ekspresji chorobotwórczych białek [75] jak ClfB, glukozaminidaza, IsdA, IsaA, SACOL0688, nukleaza, lipaza, LytM, białko B wiążące fibronektynę. Jak wykazali Naidu i wsp. w swoich pionierskich badaniach, oprócz wiązania z fibronektyną, *S. aureus* wykazuje także zdolność do produkcji szeregu gronkowcowych białek wykazujących powinowactwo do białek gospodarza (m.in. do fibrynogenu, kolagenu, lamininy, transferryny, laktoferyny), co ma ogromne znaczenie w indukcji zakażeń [66].

Wśród najnowszych prac oryginalnych poświęconych *S. aureus* na pierwszy plan wysuwają się jednak te, które dotyczą problemu narastającej lekooporności, w tym występowania szczepów wieloopornych i ich rozprzestrzeniania. Wiele prac koncentruje się na procesie transmisji środowiskowej *S. aureus* stanowiącym jedno z największych zagrożeń socjoekonomicznych współczesnej medycyny zakażeń. Tosas Auguet i wsp. (2016) [89] w swojej pracy zwrócili uwagę na zakażenia wywoływane szczepami środowiskowymi *S. aureus* (community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, CA-MRSA), które, jak się sądzi, z epidemiologicznego punktu widzenia mogą stać się większym zagrożeniem niż szczepy szpitalne (health-care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, HA-MRSA). Równie niepokojącym zjawiskiem jest odnotowywany wzrost przypadków zakażeń wywołanych szczepami *S. aureus* pochodzenia zwierzęcego (farm-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, FA-MRSA) [69]. Ponadto, stale poszukuje się skutecznych metod leczenia tych zakażeń oraz działań prewencyjnych im zapobiegających. Popov i wsp. [74] wskazują na rolę białka PLEKHA7 (Pleckstrin Homology Domain Containing A7) w ograniczaniu zjadliwości szczepów *S. aureus* wytwarzających

α -toksynę w przebiegu infekcji skórnych. Z kolei w pracy Wei i wsp. [95] udowodniono skuteczność przeniesienia pełnego mikrobiota przewodu pokarmowego od osób zdrowych jako alternatywnej metody leczenia zapalenia jelit wywołanego przez *S. aureus*.

Różnicowanie *S. aureus* od innych koagulazododatnich gatunków, a także tych gatunków między sobą

musi opierać się na szeregu cech. W przypadku rodzaju *Staphylococcus* większość gatunków koagulazoujemnych można odróżnić na podstawie cech fenotypowych. W przypadku gronkowców koagulazododatnich zadanie to nie jest łatwe, a wyniki tak jednoznaczne. Najważniejsze cechy stanowiące podstawę identyfikacji gatunków koagulazododatnich przedstawiono w Tabeli I.

Tabela I
Wybrane cechy fenotypowe gronkowców koagulazododatnich [20, 26, 84, 92]

Cechy/czynnik	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>	<i>S. inter-</i> <i>medius</i>	<i>S. pseudin-</i> <i>termedius</i>	<i>S. del-</i> <i>phini</i>	<i>S. hyicus</i>	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	<i>S. lutrae</i>	<i>S. agnetis</i>
Aerobioza	-	+	+	+	+	+	+	+	ND
Katalaza	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Wielkość kolonii > 5 mm	+	-	+	+	+	+	+	+	-
Pigment	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Koagulaza wolna	+	+	+	+	+	D(-)	+	+	-/+**
Czynnik CF	+	-	D	-	-	-	-	-	-
DNaza	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Termostabilna nukleaza	+	+	+	+	+	D(+)	+	ND	ND
Hemoliza	+	+	+	+	+	-	+	+	-
β -hemolizyna	D	+	+	+	ND	-	ND	+	ND
Acetoina (Voges-Proskauer)	+	-	W	+	-	-	+	-	-
Ureaza	W	ND	+	+	+	D	+	+	-
Reduktaza azotanowa	+	-	+	+	+	+	+	-	+
Fosfataza alkaliczna	+	+	+	+/-	+	+	+	+	-
Hialuronidaza	+	+	ND	+	ND	+	-	-	ND
Oksydaza	-	-	-	-	ND	-	-	-	-
Dihydrolaza argininy	W	ND	D	+	+	+	+	-	+
β -galaktozydaza	-	-	D	+	ND	-	ND	-	-
β -glukozydaza	+	-	D	+	ND	D	ND	+	ND
β -glukuronidaza	-	-	-	-	ND	D	ND	-	D
Arylamidaza pirolidonylu	-	-	+	+	ND	-	D	ND	-
Produkcja kwasów:									
- galaktoza	+	-	-	+	ND	+	+	+	D(+)
- D-glukoza	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- D-fruktoza	+	+	+	+	+	+	+	D(+)	+
- D-mannoza	+	-	+	+	+	+	+	+	+
- mannitol	+	-	D	W, D	+	-	+/-	+	-
- arabinoza	-	-	-	-	-	-	-	D	-
- laktoza	+	-	D	+	+	+	D(+)	+	+
- maltoza	+	+	-/W	+	+	-	-	+	-
- sacharoza	+	+	+	+	+	+	D(-)	+	+
- D-trehaloza	+	-	+	+	-	D(+)	-	+	+/-
- D-ksyloza	-	-	-	-	-	-	-	W	-
- D-turanoza	W	ND	D	W, D	ND	-	ND	-	-
- ksylitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- salicyna	-	-	-	-	ND	-	ND	D	-
- celobioza	-	-	-	-	ND	-	-	+	-
- melezytoza	-	-	-	-	ND	-	-	-	-

Tabela I – c.d

Cechy/czynnik	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>	<i>S. inter-</i> <i>medius</i>	<i>S. pseudin-</i> <i>termedius</i>	<i>S. del-</i> <i>phini</i>	<i>S. hyicus</i>	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	<i>S. lutrae</i>	<i>S. agnetis</i>
– D-rafinoza	–	–	–	–	ND	–	–	+	–
– D-fukoza	–	ND	–	–	ND	–	ND	D	–
– L-fukoza	–	ND	–	–	ND	–	ND	D	–
Oporność na antybiotyki:									
Wrażliwość na nowobiocynę	+	+	–	+	+	+	+	–	+
Wrażliwość na akryflawinę	–	ND	+	+	+	+	+	+	ND
Wrażliwość na polimyksynę B	–	ND	+	+	+	–	+	+	–
Wrażliwość na deferoksaminy	–	–	ND	–	ND	ND	ND	+	–
Wrażliwość na lizostafinę	+	+	ND	+	+	+	ND	–	+
Wrażliwość na lizozym	–	–	ND	+	–	–	ND	ND	–
Wrażliwość na fosfomicynę	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND

Legenda:

D – zależnie od szczepu, D(+) – zazwyczaj pozytywnie, D(–) – zazwyczaj negatywnie, ND – nie zbadane, W – reakcja słaba

* – szczepy *S. lutrae* i *S. intermedius* izolowane od gołębi i norek nie wykazują zdolności do silnej produkcji DNazy;

szczepy *S. intermedius* izolowane od psów, koni i innych gatunków wykazują silną reakcję dodatnią w próbie zdolności do wytwarzania DNazy

** – po 4 h inkubacji koagulazoujemne, po 24 h 20–25% szczepów jest koagulazododatnie

4. Gronkowce grupy SIG

Trzy gatunki: *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* i *S. delphini* stanowią taksonomicznie wydzieloną grupę określaną jako SIG (*Staphylococcus intermedius* group). Jako pierwszy został odkryty gatunek *Staphylococcus intermedius*. Czeski naukowiec Hájek opisał go w 1976 r. na podstawie swoich badań nad szczepami zwierzęcymi [36]. Nazwa gatunkowa (łac. *inter* – pomiędzy, łac. *medius* – środek) odnosi się do właściwości biochemicznych, które łączą cechy dwóch innych gatunków – *S. aureus* i *S. epidermidis* [9]. Znacznie później, bo dopiero w roku 2005 belgijski zespół naukowy, wśród szczepów pierwotnie zidentyfikowanych jako *S. intermedius*, wyodrębnił nowy gatunek *Staphylococcus pseudintermedius* (gr. *pseudos* – fałszywy). Uznano go za odrębną jednostkę taksonomiczną, której szczepy wykazują jednak znaczne fenotypowe i genotypowe podobieństwo do *S. intermedius* [19]. Odkrycie to poddaje w wątpliwość dane dotyczące gatunku *S. intermedius* opisywane w pracach przed rokiem 2005. Filogenetyczne podobieństwo wiąże oba te gatunki z odkrytym w 1988 r. *S. delphini*. Wynikające z bliskiego pokrewieństwa i nieznacznego zróżnicowania biochemicznego trudności w diagnostyce były podstawą utworzenia grupy SIG [78]. W wielu pracach powstałych po jej wydzieleniu nie jest jednak precyzowane czy wyniki dotyczą szczepów *S. intermedius* dokładnie zidentyfikowanych do gatunku czy kwalifikujących się do grupy, co stało się przyczyną, dla której ustalenie podawanych w piśmiennictwie informacji na temat szczepów nazywanych *S. intermedius* bywa trudne [94]. W Tabeli II

przedstawiono materiały kliniczne, z jakich izolowane były *S. intermedius* i *S. pseudintermedius* od ludzi oraz metody, jakie wykorzystano do ich identyfikacji.

Techniką umożliwiającą prawidłową identyfikację gatunków CPS, w szczególności należących do grupy SIG, jest metoda opracowana przez Sasaki i wsp. [79] oparta na różnicach w sekwencji genu termonukleazy *nuc* między poszczególnymi gatunkami. Ostatnio zaproponowano także różnicowanie *S. intermedius* i *S. pseudintermedius* z zastosowaniem specyficznych gatunkowo starterów dla genu *hly* [52]. Spośród innych technik molekularnych wykorzystywanych w celu różnicowania gatunków SIG, stosowana jest także metoda sekwencjonowania genów 16S rRNA, ale ze względu na ich znaczne podobieństwo przekraczające 99%, metoda ta nie jest przydatna do ich identyfikacji [50].

4.1. *Staphylococcus intermedius*

Naturalnym miejscem bytowania bakterii z gatunku *S. intermedius* są skóra i błony śluzowe zwierząt. Opublikowano liczne prace dotyczące izolacji szczepów tego gatunku od psów, ale także gołębi, norek, kotów, koni, szopów, kóz, szarych wiewiórek czy tygrysa syberyjskiego [41, 46], jednakże część tych informacji pochodzi sprzed 2005 r., co może nieść ze sobą ryzyko wcześniejszej niewłaściwej identyfikacji.

Szczepy gatunku *S. intermedius* są czynnikami etiologicznymi różnego rodzaju zakażeń występujących zarówno u zwierząt, jak i coraz częściej u ludzi. W oparciu o prace opublikowane w latach 2010–2016 uznaje się, że u człowieka *S. intermedius* stanowi czynnik

Tabela II
Metody identyfikacji izolowanych od ludzi szczepów *S. intermedius* i *S. pseudintermedius* z przypadków od roku 2005
[4, 16, 18, 21, 22, 38, 46, 47, 56, 70, 76, 80, 84]

Gatunek	Rodzaj zakażenia	Materiał	Metoda identyfikacji	Rok publikacji
<i>Staphylococcus intermedius</i>	infekcyjne zapalenie wsierdzia	wymaz z rany, płyn stawowy	system Vitek II	2010 [18]
	bakteriemia	krew, płyny stawowe	próby biochemiczne	2012 [38]
	ropień mózgu	materiał ropny	system BBL Crystal	2005 [4]
	zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych	płyn mózgowo-rdzeniowy	próby biochemiczne, sekwencjonowanie	2010 [22]
	– (prawdopodobieństwo zatruc pokarmowych)	mleko	próby biochemiczne	2012 [21]
	– (prawdopodobieństwo zatruc pokarmowych)	mięso (kielbasa)	próby biochemiczne	2006 [67]
	ropnie skóry	materiał ropny	testy API, sekwencjonowanie	2010 [45]
	zapalenie zatok	materiał z jamy nosowo-gardłowej, płwocina	metoda genetyczna	2009 [46]
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	bakteriemia odcewnikowa	krew	system PMIC/ID-30 i Vitek II, sekwencjonowanie	2010 [16]
	zapalenie zatok przynosowych	aspirat z zatok	system ID 32 STAPH, MLST typing, <i>spa</i> typing, PFGE i <i>SCCmec</i> typing	2010 [82]
	infekcyjne zapalenie wsierdzia	materiał z ran pooperacyjnych	system Vitek2-GP, MALDI-TOF	2011 [73]
	zapalenie płuc	BAL	system ID 32 STAPH, Vitek2	2012 [55]
	infekcje ran pooperacyjnych	materiał z ran pooperacyjnych	system Vitek2	2013 [77]

etiologiczny głównie infekcji skóry, a także układu moczowego, kości i ośrodkowego układu nerwowego [41]. Szczepy zidentyfikowane jako *S. intermedius* izolowano również z przypadków infekcyjnego zapalenia wsierdzia [18], bakteriemii, zapalenia zatok przynosowych [38], ropnia mózgu [4] i zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych [22]. Dodatkowo uznaje się możliwość wywoływania zatruc pokarmowych w związku z jego izolacją z próbek produktów spożywczych, np. mleka i mięsa [21, 70]. Opisane zostały także przypadki zapalenia płuc [32] oraz zapalenia jamy sutkowej [49]. Identyfikacja szczepów opisywanych w tych badaniach była prowadzona wyłącznie metodami konwencjonalnymi, opartymi na fenotypie. Biorąc pod uwagę fakt, iż jedynie metoda Sasaki i wsp. [79] może zapewnić prawidłową identyfikację szczepów grupy SIG, żaden spośród wyżej wymienionych przypadków nie spełnił niniejszego kryterium.

Szczepy *S. intermedius* mogą wytwarzać liczne czynniki chorobotwórczości: koagulazę, enterotoksynę A, enterotoksynę C i jej wariant SEC_{canine} specyficzny dla izolatów z piodermii psów [7], białko A [29], termonukleazę [78] oraz cytolizyny, takie jak leukotoksyna Luk-I [68] czy hemolizyny. Wśród tych ostatnich β-hemolizyna wytwarzana jest często i zwykle konstitutywnie, rzadko wytwarzana jest δ-hemolizyna, zaś α-hemolizyna tylko w pojedynczych przypadkach [29].

Zjawisko lekooporności wśród szczepów *S. intermedius* jest dość powszechne, bowiem nawet do 95%

z nich wykazuje oporność na antybiotyki β-laktamowe. Dotyczy to zwłaszcza zwierzęcych izolatów pochodzących od psów i gołębi. Szczególnie w przypadku zwierząt mających bliski kontakt z człowiekiem zjawisko to stanowi źródło dodatkowego ryzyka [28].

4.2. *Staphylococcus pseudintermedius*

Gatunek *Staphylococcus pseudintermedius*, podobnie jak *S. intermedius*, kolonizuje skórę i błony śluzowe różnych gatunków zwierząt, głównie psów i kotów, u których może wywoływać infekcje skóry i uszu [44]. Coraz częściej drobnoustrój ten jest źródłem zakażeń również u ludzi i jest najczęściej izolowanym gatunkiem grupy SIG. Do grup ryzyka zakażeniami wywołowanymi przez *S. pseudintermedius* zalicza się pacjentów z obniżoną odpornością oraz osoby pozostające w bliskim kontakcie ze zwierzętami, czyli właściciele zwierząt domowych i personel weterynaryjny [10]. Ryzyko transmisji *S. pseudintermedius* na ludzi w przypadku tej ostatniej grupy ma ścisły związek z szeroko rozpowszechnionym występowaniem tego gatunku w weterynaryjnym środowisku szpitalnym [97]. Dodatkowym czynnikiem wpływającym na wzrost liczby tych infekcji jest zjawisko nosicielstwa *S. pseudintermedius* występujące w obu grupach ryzyka [73]. Dotychczas opisanymi przypadkami infekcji u ludzi wywołanymi przez ten patogen są bakteriemie [16], zapalenie zatok przynosowych [84], infekcyjne zapalenie wsierdzia

[76], zapalenie płuc [56] oraz infekcje ran pooperacyjnych [80]. Część z tych doniesień dotyczy jednak szczepów zidentyfikowanych wyłącznie w oparciu o metody klasyczne, bez molekularnego potwierdzenia. W niektórych przypadkach identyfikacja została potwierdzona metodami molekularnymi, innymi niż Sasaki i wsp. (np. sekwencjonowanie), które nie są jednak rekomendowane do różnicowania gatunków grupy SIG. Wśród najważniejszych przykładów zakażeń wywołanych tymi bakteriami z potwierdzeniem molekularnym szczepów wyróżnia się przypadek zakażenia rany transplantacji szpiku kostnego wywołanego szczepem *S. pseudintermedius* u człowieka ze śmiertelnym finałem dla pacjenta [80] oraz pierwszy w Polsce przypadek infekcji tym gatunkiem u psa [64].

Potencjał chorobotwórczy *S. pseudintermedius* jest uwarunkowany przez liczne czynniki wirulencji, m.in. koagulazę, białko A, proteazę, enterotoksyny, toksynę eksfoliatywną SIET oraz podobnie do *S. intermedius* cytolizyny, tj. leukotoksynę Luk-I i hemolizyny (β -hemolizyna produkowana w sposób konstytutywny, zaś δ - i α -toksyna rzadko) [15, 33].

Dodatkowym zagrożeniem jest wzrost liczby szczepów lekoopornych odnotowywany na przestrzeni ostatnich lat. Najczęściej dotyczy on szczepów MRSP (methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*) oraz MDRSP (multi-drug-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*) [43], w tym szczepów opornych na fluorochinolony [44] czy mupirocynę [62].

4.3. *Staphylococcus delphini*

W 1988 r. włoscy naukowcy Varaldo i wsp. wyizolowali ze zmian ropnych na skórze delfinów nowy gatunek gronkowców wytwarzających koagulazę. Ze względu na pochodzenie izolatów otrzymał on nazwę *Staphylococcus delphini* [91]. W jego obrębie wyróżnia się dwie fenotypowo i genotypowo odrębne grupy szczepów (A i B). Wskazuje się, że szczepy grupy B *S. delphini* mogą nawet stanowić oddzielny gatunek [78].

Bakterie te izolowano później także od nerek, fretek i borsuków [34, 85]. Odnotowano również przypadki ich izolacji od koni, wielbłądów, krów, gołębi, osłów i lisów [34, 98]. Stanowiły one u nich naturalne mikrobiota. Patogenność wskazano jedynie w trzech doniesieniach opisujących zapalenie wymion u krów oraz biegunki u nerek [5, 31]. Nie ma, jak dotąd, doniesień o izolacji tego gatunku od ludzi.

Szczepy *S. delphini* mają zdolność do koagulacji osocza króliczego, świńskiego, bydłowego oraz ludzkiego [91]. Savini i wsp. [81] jako pierwsi wykazali zdolność *S. delphini* do wytwarzania β -hemolizyny, nie wiadomo jednak czy jej produkcja ma charakter konstytutywny, jak ma to miejsce w przypadku pozostałych gatunków SIG. Wśród innych czynników wirulencji tego gatunku

wymienić można leukocydynę Panton-Valentine, eksfoliatywną oraz enterotoksyny A i E [31, 33].

Szczepy *S. delphini* są w większości wrażliwe na antybiotyki powszechnie stosowane w leczeniu infekcji gronkowcowych [85]. Opisano jednak przypadek izolatu tego gatunku opornego na kwas fusydowy [33].

5. *Staphylococcus hyicus*

Gatunek ten został odkryty już w 1950 r. przez izraelskiego mikrobiologa Davida Sompolinsky'ego jako *Micrococcus hyicus*. Materiał do badań stanowiły izolaty pobrane od świń z wysiękowym zapaleniem skóry. Wskutek późniejszych modyfikacji taksonomii gronkowców i mikrokoków gatunek ten został ostatecznie zaklasyfikowany do rodzaju *Staphylococcus* [20].

Bakterie z gatunku *Staphylococcus hyicus* są oficjalnie zaliczane do grupy CPS, jednakże w rzeczywistości jest to gatunek koagulazozmienny, gdyż część jego izolatów może być koagulazoujemna. Szczepy tego gatunku wchodzi w skład mikrobiota różnych gatunków zwierząt, przede wszystkim świń oraz drobiu. Są odpowiedzialne za choroby takie jak wysiękowe zapalenie skóry, ropne zapalenie stawów i martwica uszu u świń, zapalenie wymion u krów oraz zapalenie mieszków włosowych u drobiu [14, 20, 71]. Znane są jedynie dwa przypadki odzwierzęcych infekcji u ludzi wywołanych przez *S. hyicus* – zakażenie rany wskutek ugryzienia przez osła oraz bakteriemia u hodowcy trzody chlewnej [13]. Ostatnio przypisuje się temu gatunkowi udział w patogenezie zatruc pokarmowych u ludzi [35].

Szczepy *S. hyicus* mają zdolność do produkcji toksyny eksfoliatywnej ExhA, koagulazy, lipazy oraz białka wiążącego IgG. W 2015 r. Calcutt i wsp. w swoich badaniach dotyczących analizy sekwencji genomu *S. hyicus* wykazali, że gatunek ten filogenetycznie jest najbardziej spokrewniony z dwoma gronkowcami: koagulazoujemnym *Staphylococcus chromogenes* oraz nowo odkrytym koagulazozmiennym *Staphylococcus agnetis* [12, 13, 71].

Problem lekooporności, podobnie jak pozostałych CPS, dotyka także szczepów *S. hyicus* [72]. W badaniach Park i wsp. oporność na antybiotyki β -laktamowe u szczepów *S. hyicus* jest szeroko rozpowszechniona: aż 97% szczepów jest opornych na penicylinę G i ampicylinę, a 71% na wykorzystywaną w weterynarii cefalosporynę – ceftiofur [71].

6. *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*

Gatunek *Staphylococcus schleiferi* został opisany w 1988 r. przez francuski zespół naukowy Freney i wsp. na podstawie badań nad szczepami wyizolowanymi od ludzi. Otrzymał epitet gatunkowy „schleiferi” na cześć

niemieckiego mikrobiologa Karla Heinza Schleifera [27]. Początkowo opisywany był jako gatunek koagulazoujemny. W 1990 r., w wyniku badań szczepów izolowanych od psów przez japońskich badaczy Igimi i wsp. wyodrębniono dwa podgatunki – koagulazoujemny *Staphylococcus schleiferi* subsp. *schleiferi* oraz koagulazododatni *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* [40]. Szczepy pierwszego z nich wykazują zdolność wytwarzania pseudokoagulazy, której aktywność jest hamowana przez inhibitory proteaz i antykoagulanty. Podgatunek *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* może wykrzypać osocze pomimo ich obecności. Cecha ta stała się podstawą ich różnicowania w obrębie gatunku [87].

Staphylococcus schleiferi subsp. *coagulans* może być błędnie zidentyfikowany jako jeden z gatunków SIG bądź *S. aureus* [100]. Izolowany jest głównie od psów, u których może wywoływać ropne zapalenie skóry [37] czy ucha zewnętrznego [45]. Szczepy tego podgatunku mogą rzadko wywoływać również infekcje u ludzi. Opisano zakażenie rany pooperacyjnej palca, zapalenie wsierdza po transplantacji wątroby, zakażenie po operacji kardiochirurgicznej. Zagrożenie to dotyczy szczególnie osób mających stały kontakt ze zwierzętami [87]. Ponadto odnotowano przypadki izolacji tych gronkowców z mięsa [61].

Bakterie z podgatunku *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* wytwarzają termostabilną nukleazę oraz β -hemolizynę (efekt hot-cold na podłożu krwawym z dodatkiem krwi baraniej), w związku z czym mogą wykazywać zdolność do synergistycznej hemolizy [8, 40]. Niepokojącym zjawiskiem jest wzrost liczby szczepów tego podgatunku opornych na różne antybiotyki, w tym β -laktamowe [45].

7. *Staphylococcus lutrae*

Spośród wszystkich CPS *Staphylococcus lutrae* jest najrzadszym i stosunkowo najmniej poznany gatunkiem. Po raz pierwszy opisał go brytyjski zespół badawczy Foster i wsp. w 1997 r. i na podstawie analizy sekwencji genu 16S rRNA zaproponował utworzenie nowej jednostki taksonomicznej [17, 25]. Gatunek ten został wyizolowany z materiału pobranego *post mortem* od wydr europejskich (*Lutra lutra*), skąd wywodzi się jego nazwa. Wykazuje właściwości hemolityczne na podłożu krwawym z dodatkiem krwi baraniej, jednak wciąż nie wiadomo nic więcej na temat wytwarzanych przez *S. lutrae* hemolizyn. Gatunek charakteryzuje się wrażliwością na nowobiocynę, deferoksaminy i fosfomicynę. Według analizy filogenetycznej przeprowadzonej przez Foster i wsp. *S. lutrae* wykazuje najbliższe pokrewieństwo z gronkowcami z gatunków *S. delphini*, *S. felis*, *S. intermedius*, *S. schleiferi* i *S. muscae*.

Dotychczas opisano tylko jeden przypadek izolacji szczepu tego gatunku z mleka kozy z zapaleniem gruczołu mlekowego. Szczep wykazał wrażliwość na cefaleksynę, kotrimoksazol, gentamycynę, neomycynę, oksacylinę oraz tetracyklinę [77].

8. *Staphylococcus agnetis*

Gatunkiem ostatnio zaklasyfikowanym do grupy CPS jest *Staphylococcus agnetis*, nazwany tak na cześć pierwszej w Europie kobiety chirurga weterynaryjnego, Finki Agnes Sjöberg. W 2012 r. fińsko-belgijscy naukowcy wyizolowali go z próbek mleka pobranego od krów z zapaleniem wymion [86]. W oparciu o wyniki analizy filogenetycznej stwierdzono bliskie pokrewieństwo *S. agnetis* z koagulazododatnim *S. hyicus* oraz koagulazoujemnym *S. chromogenes*. Ze względu na znaczne fenotypowe i genetyczne podobieństwo tych gatunków istnieje ryzyko wcześniejszych błędnych identyfikacji [55]. W 2015 r. Al-Rubaye i wsp. [3] przeprowadzili analizę genomu jednego ze szczepów *S. agnetis* wyizolowanych od drobiu z zapaleniem szpiku kostnego i chondronekrozą. Ich badania wykazały, że gatunek ten posiada ortologów wielu czynników wirulencji, takich jak białka wiążące fibronektynę, toksyna eksfoliatywna A, homologi superantygenopodobne czy β -hemolizyna. Jednocześnie potwierdzone zostało filogenetyczne pokrewieństwo tego gatunku z *S. hyicus* i *S. chromogenes*.

Podobnie jak *S. hyicus*, *S. agnetis* jest gatunkiem koagulazozmiennym. Wytwarza m.in. koagulazę (tylko część szczepów po przedłużonej inkubacji) i DNAzę, nie wykazuje natomiast aktywności hemolitycznej [86]. Calcutt i wsp. w 2014 r. w swoich badaniach nad genomem *S. agnetis* znaleźli w jego sekwencjach otwarte ramki odczytu (open reading frame, ORF) mogące świadczyć o obecności genów β -hemolizyny czy hialuronidazy [11].

Bakterie z tego gatunku są wrażliwe na nowobiocynę i lizostafinę, a odporne na lizozym, polimiksynę i deferoksaminy [86]. W 2015 r. León-Galván i wsp. wykazali oporność izolowanych przez siebie szczepów *S. agnetis* na penicylinę, ampicylinę, cefotaksym i klindamycynę oraz ich wrażliwość na bakteriocyny produkowane przez *Bacillus thuringiensis* (morricyna 269, kurstacyna 287, kenjacyna 404, entomocyna 420, tolwortcyna 524) [57].

9. Podsumowanie

Gronkowce koagulazododatnie są niezbyt liczną pod względem liczby gatunków, ale dość zróżnicowaną grupą. Na przestrzeni ostatniej dekady wiedza

na ich temat uległa znacznym modyfikacjom nie tylko pod względem zmian taksonomicznych, ale również w zakresie chorobotwórczości i lekowrażliwości. Do niedawna gronkowce koagulazododatnie inne niż *S. aureus* postrzegane były głównie jako rzadkie drobnoustroje typowo zwierzęce i środowiskowe. Zważywszy jednak na ekspansywny charakter infekcji przez nie wywoływanych oraz rosnący odsetek pacjentów z predyspozycjami do zakażeń oportunistycznych powodowanych tymi gatunkami (np. niedobory odporności, wiek podeszły, przewlekłe choroby towarzyszące, szerokowidmowa antybiotykoterapia), mogą się one stać w niedalekiej przyszłości znaczącymi patogenami ludzkimi. Koagulaza gronkowcowa, uznawana pierwotnie za czynnik różnicujący gatunki rodzaju *Staphylococcus*, może mieć bezpośredni związek z patomechanizmem chorób indukowanych przez gatunki koagulazododatnie.

Piśmiennictwo

- Aguilar L., Cafini F., Puente P., Alou L., Sa P.: Genotypic versus phenotypic characterization, with respect to susceptibility and identification, of 17 clinical isolates of *Staphylococcus lugdunensis*. *J. Antimicrob. Chemother.* **56**, 287–291 (2005)
- Alibayov B., Baba-Moussa L., Sina H., Zdeňková K., Demnerová K.: *Staphylococcus aureus* mobile genetic elements. *Mol. Biol. Rep.* **41**, 5005–5018 (2014)
- Al-Rubaye A.A.K., Couger M.B., Ojha S., Pummill J.F., Koon II J.A., Wideman Jr. R.F., Rhoads D.D.: Genome analysis of *Staphylococcus agnetis*, an agent of lameness in broiler chickens. *PLoS One*, **10**, 1–18 (2015)
- Atalay B., Ergin F., Cekinmez M., Caner H., Altinors N.: Brain abscess caused by *Staphylococcus intermedius*. *Acta Neurochir. (Wien)*, **147**, 347–348 (2005)
- Bannoehr J., Ben Zakour N.L., Waller A.S., Guardabassi L., Thoday K.L., Van Den Broek A.H.M., Fitzgerald J.R.: Population genetic structure of the *Staphylococcus intermedius* group: Insights into *agr* diversification and the emergence of methicillin-resistant strains. *J. Bacteriol.* **189**, 8685–8692 (2007)
- Bayliss B.G., Hall E.R.: Plasma coagulation by organisms other than *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* **89**, 101–105 (1965)
- Becker K., Keller B., Eiff C.V.O.N., Bru M., Lubritz G., Etienne J., Peters G.: Enterotoxigenic potential of *Staphylococcus intermedius*. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 5551–5557 (2001)
- Bemis D.A., Bryant M.J., Reed P.P., Brahmabhatt R.A., Kania S.A.: Synergistic hemolysis between β -lysin-producing *Staphylococcus* species and *Rothia nasimurium* in primary cultures of clinical specimens obtained from dogs. *J. Vet. Diagnostic Investig.* **26**, 437–441 (2014)
- Bond R., Loeffler A.: What's happened to *Staphylococcus intermedius*? Taxonomic revision and emergence of multi-drug resistance. *J. Small Anim. Pract.* **53**, 147–154 (2012)
- Boost M.V., So S.Y.C., Perreten V.: Low rate of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococcal colonization of veterinary personnel in Hong Kong. *Zoonoses Public Health*. **58**, 36–40 (2011)
- Calcutt M.J., Foecking M.F., Fry P.R., Hsieh H.-Y., Perry J., Stewart G.C., Scholl D.T., Messier S., Middleton J.R.: Draft genome sequence of bovine mastitis isolate *Staphylococcus agnetis* CBMRN 20813338. *Genome Announc.* **2**, 1–2 (2014)
- Calcutt M.J., Foecking M.F., Hsieh H., Adkins P.R.F., Stewart G.C., Middleton J.R.: Sequence analysis of *Staphylococcus hyicus* ATCC 11249 T, an etiological agent of exudative epidermitis in swine, reveals a type VII secretion system locus and a novel 116-kilobase genomic island harboring toxin-encoding genes. *Genome Announc.* **3**, 14–15 (2015)
- Casanova C., Iselin L., Von Steiger N., Droz S., Sendi P.: *Staphylococcus hyicus* bacteremia in a farmer. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 4377–4378 (2011)
- Chenier S., Lallier L.: Acantholytic folliculitis and epidermitis associated with *Staphylococcus hyicus* in a line of white leghorn laying chickens. *Vet. Pathol.* **49**, 284–287 (2012)
- Chrobak D., Kizerwetter-Świda M., Rzewuska M., Moodley A., Guardabassi L., Binek M.: Molecular characterization of *Staphylococcus pseudintermedius* strains isolated from clinical samples of animal origin. *Folia Microbiol. (Praha)*. **56**, 415–422 (2011)
- Chuang C.-Y., Yang Y.-L., Hsueh P.-R., Lee P.-I.: Catheter-related bacteremia caused by *Staphylococcus pseudintermedius* refractory to antibiotic-lock therapy in a hemophilic child with dog exposure. *J. Clin. Microbiol.* **48**, 1497–1498 (2010)
- Da Costa G.M., Paiva L.V., Piccoli R.H., Figueiredo D.J., Pereira U.D.P., Da Silva N.: Evaluation of a simplified key for the identification of coagulase-positive *Staphylococcus* isolated from bovine mastitis. *Acta Sci. Biol. Sci.* **32**, 403–406 (2010)
- DelPace S., Savino A., Rasoini R., Alderighi C., Acquafresca M., Innocenti A.A., Pratesi C., Gensini G.F.: A 72-year-old man with intermittent fever, anemia and a history of coronary and peripheral artery disease. *Intern. Emerg. Med.* **5**, 415–420 (2010)
- Devriese L.A., Hajek V., Oeding P., Meyer S.A., Schleifer K.H.: *Staphylococcus hyicus* (Sompolinsky 1953) comb. nov. and *Staphylococcus hyicus* subsp. chromogenes subsp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **28**, 482–490 (1978)
- Devriese L.A., Vancanneyt M., Baele M., Vaneechoutte M., De Graef E., Snauwaert C., et al.: *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **55**, 1569–1573 (2005)
- Doyle M.E., Hartmann F.A., Lee Wong A.C.: Methicillin-resistant staphylococci: implications for our food supply? *Anim. Health Res. Rev.* **13**, 157–180 (2012)
- Durdik P., Fedor M., Jesenak M., Hamzikova J., Knotkova H., Banovcin P.: *Staphylococcus intermedius* – rare pathogen of acute meningitis. *Int. J. Infect. Dis.* **14**, e236–238 (2010)
- Duthie B.Y.E.S.: Evidence for two forms of staphylococcal coagulase. *J. Gen. Microbiol.* **10**, 427–436 (1954)
- Feodorova V.A., Devdariani Z.L.: Development, characterisation and diagnostic application of monoclonal antibodies against *Yersinia pestis* fibrinolysin and coagulase. *J. Med. Microbiol.* **49**, 261–269 (2000)
- Foster G., Ross H.M., Hutson R.A., Collins M.D.: *Staphylococcus lutrae* sp. nov., a new coagulase-positive species isolated from otters. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **47**, 724–726 (1997)
- Foster T.J.: Colonization and infection of the human host by staphylococci: adhesion, survival and immune evasion. *Vet. Dermatol.* **20**, 456–470 (2009)
- Freney J., Brun Y., Bes M., Meugnier H., Grimont F., Grimont P.A.D., Nervi C., Fleurette J.: *Staphylococcus lugdunensis* sp. nov. and *Staphylococcus schleiferi* sp. nov., two species from human clinical specimens. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **38**, 168–172 (1988)
- Futagawa-Saito K., Ba-Thein W., Fukuyasu T.: High occurrence of multi-antimicrobial resistance in *Staphylococcus intermedius* isolates from healthy and diseased dogs and domesticated pigeons. *Res. Vet. Sci.* **83**, 336–339 (2007)

29. Futagawa-Saito K., Ba-Thein W., Sakurai N., Fukuyasu T.: Prevalence of virulence factors in *Staphylococcus intermedius* isolates from dogs and pigeons. *BMC Vet. Res.* **2**, 1–5 (2006)
30. Galloway D. B.: The Aberdeen Medico-Chirurgical Society 1789 to the present day: Some leaders in medicine. *J. Pediatr. Surg.* **46**, 284–288 (2011)
31. Gary J.M., Langohr I.M., Lim A., Bolin S., Bolin C., Moore I., Kiupel M.: Enteric colonization by *Staphylococcus delphini* in four ferret kits with diarrhoea. *J. Comp. Pathol.* **151**, 314–317 (2014)
32. Gerstadt K., Daly J.S., Mitchell M., Wessolossky M., Cheeseman S.H.: Methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius* pneumonia following coronary artery bypass grafting. *Clin. Infect. Dis.* **29**, 218–219 (1999)
33. Gharsa H., Slama K.B., Gómez-Sanz E., Gómez P., Klibi N., Zarazaga M., Boudabous A., Torres C.: Characterisation of nasal *Staphylococcus delphini* and *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from healthy donkeys in Tunisia. *Equine Vet. J.* **47**, 463–466 (2014)
34. Guardabassi L., Schmidt K.R., Petersen T.S., Espinosa-Gongora C., Moodley A., Agersø Y., Olsen J.E.: *Mustelidae* are natural hosts of *Staphylococcus delphini* group A. *Vet. Microbiol.* **159**, 351–353 (2012)
35. Guimaraes F.D.F., Nobrega D.B., Richini-Pereira V.B., Marson P.M., Pantoja J.C.D.F., Langoni H.: Enterotoxin genes in coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci isolated from bovine milk. *J. Dairy Sci.* **96**, 2866–2872 (2013)
36. Hajek V.: *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **26**, 401–408 (1976)
37. Hariharan H., Gibson K., Peterson R., Frankie M., Matthew V., Daniels J., Martin N.A., Andrews L., Paterson T., Sharma R.N.: *Staphylococcus pseudintermedius* and *Staphylococcus schleiferi* subspecies *coagulans* from canine pyoderma cases in Grenada, West Indies, and their susceptibility to beta-lactam drugs. *Vet. Med. Int.* **2014**, 1–7 (2014)
38. Hatch S., Sree A., Tirrell S., Torres B., Rothman A.L.: Metastatic complications from *Staphylococcus intermedius*, a zoonotic pathogen. *J. Clin. Microbiol.* **50**, 1099–1101 (2012)
39. Helbin W.M., Polakowska K., Międzobrodzki J.: Czynniki wirulencji *Staphylococcus aureus* zależne od bakteriofagów. *Postep. Mikrobiol.* **54**, 291–298 (2012)
40. Igimi S., Takahashi E., Mitsuoka A.N.D.T.: *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* subsp. nov., isolated from the external auditory meatus of dogs with external ear otitis. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **40**, 409–411 (1990)
41. Jee H., Pakhrin B., Bae I.-H., Shin N.-S., Lee S.-I., Yoo H.-S., Kim D.Y.: Pyelonephritis associated with *Staphylococcus intermedius* in a Siberian tiger (*Panthera tigris altaica*). *J. Vet. Med. Sci.* **69**, 851–852 (2007)
42. Josefsson E., Higgins J., Foster T. J., Tarkowski A.: Fibrinogen binding sites P 336 and Y 338 of clumping factor A are crucial for *Staphylococcus aureus* virulence. *PLoS One.* **3**, 1–7 (2008)
43. Kang M., Chae M., Yoon J., Kim S., Lee S., Yoo J., Park H.M.: Antibiotic resistance and molecular characterization of ophthalmic *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs. *J. Vet. Sci.* **15**, 409–415 (2014)
44. Kang M., Chae M., Yoon J., Lee S., Yoo J., Park H.M.: Resistance to fluoroquinolones and methicillin in ophthalmic isolates of *Staphylococcus pseudintermedius* from companion animals. *Vet. Rec.* **55**, 678–682 (2014)
45. Kawakami T., Shibata S., Murayama N., Nagata M., Nishifuji K., Iwasaki T., Fukata T.: Antimicrobial susceptibility and methicillin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* and *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* isolated from dogs with pyoderma in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* **72**, 1615–1619 (2010)
46. Kelesidis T., Tsiodras S.: *Staphylococcus intermedius* is not only a zoonotic pathogen, but may also cause skin abscesses in humans after exposure to saliva. *Int. J. Infect. Dis.* **14**, e838–841 (2010)
47. Kempker R., Mangalat D., Kongphet-Tran T., Eaton M.: Beware of the Pet Dog: A case of *Staphylococcus intermedius* infection. *Am. J. Med. Sci.* **338**, 425–427 (2009)
48. Kerrigan S.W., Clarke N., Loughman A., Meade G., Foster T.J., Cox D.: Molecular basis for *Staphylococcus aureus* – mediated platelet aggregate formation under arterial shear *in vitro*. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **28**, 335–341 (2008)
49. Kikuchi K., Karasawa T., Piao C., Itoda I., Hidai H., Yamaura H., Totsuka K., Morikawa T., Takayama M.: Molecular confirmation of transmission route of *Staphylococcus intermedius* in mastoid cavity infection from dog saliva. *J. Infect. Chemother.* **10**, 46–48 (2004)
50. Kizerwetter-Świda M., Chrobak-Chmiel D., Rzewuska M., Binek M.: *Staphylococcus pseudintermedius* – trudno rozpoznawalny patogen. *Postep. Mikrobiol.* **54**, 103–114 (2015)
51. Kmiecik W., Szewczyk E.M.: Cytolizyny – czynniki zjadliwości *Staphylococcus intermedius* i *Staphylococcus pseudintermedius*. *Postep. Mikrobiol.* **54**, 354–363 (2015)
52. Kmiecik W., Szewczyk E.M., Ciszewski M.: Searching for beta-haemolysin *hly* gene in *Staphylococcus pseudintermedius* with species-specific primers. *Curr. Microbiol.* **73**, 148–152 (2016)
53. Knox J., Uhlemann A.-C., Lowy F.D.: *Staphylococcus aureus* infections: transmission within households and the community. *Trends Microbiol.* **23**, 437–444 (2015)
54. De La Fuente R., Suarez G., Schleifer K.H.: *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* subsp. nov., the casual agent of abscess disease of sheep. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **35**, 99–102 (1985)
55. Lange C.C., Brito M.A., Reis D.R., Machado M.A., Guimaraes A.S., Azevedo A.L., Salles É.B., Alvim M.C., Silva F.S., Meurer I.R.: Species-level identification of staphylococci isolated from bovine mastitis in Brazil using partial 16S rRNA sequencing. *Vet. Microbiol.* **176**, 382–388 (2015)
56. Laurens C., Marouze N., Jean-Pierre H.: [*Staphylococcus pseudintermedius* and *Pasteurella dagmatis* associated in a case of community-acquired pneumonia]. *Médecine Mal. Infect.* **42**, 129–131 (2012)
57. León-Galván M.F., Barboza-Corona J.E., Lechuga-Arana A., Valencia-Posadas M., Aguayo D.D., Cedillo-Pelaez C., Martínez-Ortega E.A., Gutierrez-Chavez A.J.: Molecular detection and sensitivity to antibiotics and bacteriocins of pathogens isolated from bovine mastitis in family dairy herds of Central Mexico. *Biomed Res. Int.* **2015**, 1–9 (2015)
58. Li X., Wang X., Thompson C.D., Park S., Park B., Lee C.: Pre-clinical efficacy of clumping factor A in prevention of *Staphylococcus aureus* infection. *MBio.* **7**, 1–13 (2016)
59. Loeb L.: The influence of certain bacteria on the coagulation of the blood. *J. Med. Res.* **10**, 407–419 (1903)
60. Malachowa N., Kobayashi S.D., Porter A.R., Braughton K.R., Scott P., Gardner D.J., Missiakas D.M., Schneewind O., DeLeo F.R.: Contribution of *Staphylococcus aureus* coagulases and clumping factor A to abscess formation in a rabbit model of skin and soft tissue infection. *PLoS One*, **11**, 1–14 (2016)
61. Martins P.D., de Almeida T.T., Basso A.P., de Moura T.M., Frazzon J., Tondo E.C., Frazzon A.P.: Coagulase-positive staphylococci isolated from chicken meat: pathogenic potential and vancomycin resistance. *Foodborne Pathog. Dis.* **10**, 771–776 (2013)
62. Matanovic K., Pérez-Roth E., Pintaric S., Martinec B.Š.: Molecular characterization of high-level mupirocin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius*. *J. Clin. Microbiol.* **51**, 1005–1007 (2013)

63. Meier P.S., Entenza J.M., Vaudaux P., Francioli P., Glauser M.P.: Study of *Staphylococcus aureus* pathogenic genes by transfer and expression in the less virulent organism *Streptococcus gordonii*. *Infect. Immun.* **69**, 657–664 (2001)
64. Międzobrodzki J., Kasprowicz A., Białecka A., Jaworska O., Polakowska K., Władysław B., Dubin A.: The First Case of a *Staphylococcus pseudintermedius* Infection after Joint Prosthesis Implantation in a Dog. *Polish J. Microbiol.* **59**, 133–135 (2010)
65. Moreillon P., Entenza M., Francioli P., McDevitt D., Foster T.J., Franc P., Vaudaux P.: Role of *Staphylococcus aureus* Coagulase and Clumping Factor in Pathogenesis of Experimental Endocarditis. *Infect. Immun.* **63**, 4738–4743 (1995)
66. Naidu A.S., Międzobrodzki J., Musser J.M., Rosdahl V.T., Hedstroms S.-A., Forsgren A.: Human lactoferrin binding in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol.* **34**, 323–328 (1991)
67. Nemeghaire S., Argudin M.A., Feßler A.T., Hauschild T., Schwarz S., Butaye P.: The ecological importance of the *Staphylococcus sciuri* species group as a reservoir for resistance and virulence genes. *Vet. Microbiol.* **171**, 342–356 (2014)
68. Nishiyama A., Antonette M., Guerra R.V., Sugawara N., Yokota K., Kaneko J., Kamio Y.: Identification of serine138 residue in the 4-residue segment K135K136I137S138 of LukS-I component of *Staphylococcus intermedius* leukocidin crucial for the LukS-I-specific function of staphylococcal leukocidin. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **66**, 328–335 (2002)
69. Nowakowicz-Dębek B., Wlazło Ł., Kasela M., Ossowski M.: Epidemiologia wielolekoopornych szczepów *Staphylococcus aureus*. *Probl. Hig. i Epidemiol.* **97**, 106–112 (2016)
70. Paramithiotis S., Melissari I., Drosinos E. H.: *In vitro* assessment of properties associated with the survival through the gastro-intestinal tract of staphylococci isolated from traditional sausage fermentation. *Food Microbiol.* **23**, 663–671 (2006)
71. Park J., Friendship R.M., Poljak Z., Weese J.S., Dewey C.E.: An investigation of exudative dermatitis (greasy pig disease) and antimicrobial resistance patterns of *Staphylococcus hyicus* and *Staphylococcus aureus* isolated from clinical cases. *Can. Vet. J.* **54**, 139–144 (2013)
72. Park J., Friendship R.M., Weese J.S., Poljak Z., Dewey C.E.: An investigation of resistance to β -lactam antimicrobials among staphylococci isolated from pigs with exudative dermatitis. *BMC Vet. Res.* **9**, 1–8 (2013)
73. Paul N.C., Moodley A., Ghibaud G., Guardabassi L.: Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in small animal veterinarians: indirect evidence of zoonotic transmission. *Zoonoses Public Health.* **58**, 533–539 (2011)
74. Popov L.M., Marceau C.D., Starkl P.M., Lumb J.H., Shah J., Guerrero D.: The adherens junctions control susceptibility to *Staphylococcus aureus* α -toxin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **112**, 14337–14342 (2015)
75. Den Reijer P.M., Haisma E.M., Toom N.A.L., Willemse J.: Detection of alpha-toxin and other virulence factors in biofilms of *Staphylococcus aureus* on polystyrene and a human epidermal model. *PLoS One*, **11**, 1–19 (2016)
76. Riegel P., Jesel-Morel L., Laventie B., Boisset S., Vandenesch F., Prévost G.: Coagulase-positive *Staphylococcus pseudintermedius* from animals causing human endocarditis. *Int. J. Med. Microbiol.* **301**, 237–239 (2011)
77. Salina A., Machado G.P., de Guimarães F., Langoni H.: Microbial sensibility of *Staphylococcus* spp. isolated of goat milk with subclinical mastitis. *Veterinária E Zootec.* **22**, 288–294 (2015)
78. Sasaki T., Kikuchi K., Tanaka Y., Takahashi N., Kamata S., Hiramatsu K.: Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *J. Clin. Microbiol.* **45**, 2770–2778 (2007)
79. Sasaki T., Tsubakishita S., Tanaka Y., Sakusabe A., Ohtsuka M., Hirota S., Kawakami T., Fukata T., Hiramatsu K.: Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* **48**, 765–769 (2010)
80. Savini V., Carretto E. i wsp.: Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* infection in a bone marrow transplant recipient. *J. Clin. Microbiol.* **51**, 1636–1638 (2013)
81. Savini V., Kosecka M., Marrollo R., Carretto E., Międzobrodzki J.: CAMP test detected *Staphylococcus delphini* ATCC 49172 beta-haemolysin production. *Pol. J. Microbiol.* **62**, 465–466 (2013)
82. Sheagren J.N.: *Staphylococcus aureus*. The persistent pathogen (first of two parts). *N. Engl. J. Med.* **310**, 1368–1373 (1984)
83. Sheagren J.N.: *Staphylococcus aureus*. The persistent pathogen (second of two parts). *N. Engl. J. Med.* **310**, 1437–1442 (1984)
84. Stegmann R., Burnens A., Maranta C. A., Perreten V.: Human infection associated with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, 2047–2048 (2010)
85. Stull J.W., Slavic D., Rousseau J., Weese J.S.: *Staphylococcus delphini* and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in horses. *Canada, Emerg. Infect. Dis.* **20**, 3–5 (2014)
86. Taponen S., Supré K., Piessens V., van Coillie E., de Vliegher S., Koort J.M.K.: *Staphylococcus agnetis* sp. nov., a coagulasevariable species from bovine subclinical and mild clinical mastitis. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **62**, 61–65 (2012)
87. Thibodeau E., Boucher H., DeNofrio D., Pham D.T., Snyderman D.: First report of a left ventricular assist device infection caused by *Staphylococcus schleiferi* subspecies *coagulans*: a coagulase positive organism. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **74**, 68–69 (2014)
88. Tong S.Y.C., Davis J.S., Eichenberger E., Holland T.L., Fowler V.G.: *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin. Microbiol. Rev.* **28**, 603–661 (2015)
89. Tosas Auguet O., Kypraios T. i wsp.: Evidence for community transmission of community-associated but not health-care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains linked to social and material deprivation: spatial analysis of cross-sectional data. *PLoS One*, **13**, 1–24 (2016)
90. Tsompanidou E., Denham E.L., Sibbald M.J.J.B., Yang X., Seinen J., Friedrich A.W., Buist G., van Dijk J.M.: The sortase A substrates FnbpA, FnbpB, ClfA and ClfB antagonize colony spreading of *Staphylococcus aureus*. *Thromb. Haemost.* **7**, 1–7 (2012)
91. Valardo P.E., Kilpper-Balz R., Biavasco F., Satta G., Schleifer K.H.: *Staphylococcus delphini* sp. nov., a coagulase-positive species isolated from dolphins. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **38**, 436–439 (1988)
92. De Vos P., Garrity G., Jones D., Krieg N., Ludwig W., Rainey F., Schleifer K., Whitman W.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology – Volume 3: The Firmicutes., Springer-Verlag, New York, 2009
93. Wang L., Wang D. i wsp.: A coagulase-negative and non-haemolytic strain of *Staphylococcus aureus* for investigating the roles of SrtA in a murine model of bloodstream infection. *Pathog. Dis.* **73**, 1–8 (2015)
94. Wang N., Neilan A. M., Klompas M.: *Staphylococcus intermedius* infections: case report and literature review. *Infect. Dis. Rep.* **5**, 6–11 (2013)
95. Wei Y., Gong J., Zhu W., Guo D., Gu L., Li N., Li J.: Fecal microbiota transplantation restores dysbiosis in patients with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* enterocolitis. *BMC Infect. Dis.* **15**, 1–8 (2015)

96. Wertheim H., Walsh E., Choudhury R., Melles D., Boelens H., Miajlovic H., Verbrugh H.A., Foster T., van Belkum A.: Key role for clumping factor B in *Staphylococcus aureus* nasal colonization of humans. *PLoS Med.* **5**, e1–17 (2008)
97. Youn J.-H., Park Y.H., Hang'ombe B., Sugimoto C.: Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from companion animals and environment in the veterinary teaching hospital in Zambia, Africa. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **37**, 123–130 (2014)
98. Zakour B.N.L., Beatson S.A., van den Broek A.H.M., Thoday K.L., Fitzgerald J.R.: Comparative genomics of the *Staphylococcus intermedius* group of animal pathogens. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2**, 1–15 (2012)
99. Zapotoczna M., McCarthy H., Rudkin J.K., Gara J.P.O., Neill E.O.: An essential role for coagulase in *Staphylococcus aureus* biofilm development reveals new therapeutic possibilities for device-related infections. *J. Infect. Dis.* **212**, 1883–1893 (2015)
100. Zdrovc I., Ocepek M., Pirš T., Krt B., Pinter L.: Microbiological features of *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*, isolated from dogs and possible misidentification with other canine coagulase-positive staphylococci. *J. Vet. Med. Ser. B Infect. Dis. Vet. Public Heal.* **51**, 449–454 (2004)