

Występowanie bakterii β -hemolizujących w placówkach farmaceutycznych. Analiza struktury taksonomicznej i lekooporność

The occurrence of β -haemolytic bacteria in pharmacies. An analysis of taxonomic structure and antibiotic resistance

Emilia Jankowiak^(a, d), Łukasz Kubera^(a, b, c), Marta Małecka-Adamowicz^(b, d),
Wojciech Donderski^(e)

Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Mikrobiologii
Kierownik Zakładu Mikrobiologii: prof. dr hab. W. Donderski

^(a) przygotowanie manuskryptu

^(b) analizy laboratoryjne

^(c) analizy statystyczne

^(d) zebranie piśmiennictwa

^(e) merytoryczny nadzór nad pracą

STRESZCZENIE

Wprowadzenie. Powietrze atmosferyczne, którym odychamy, jest miejscem okresowego przebywania mikroorganizmów. Jednym ze źródeł bioaerozolu są bakterie stanowiące naturalny mikrobiom człowieka. Coraz częściej jednak drobnoustroje nabywają oporność na dostępne antybiotyki, stając się potencjalną przyczyną wtórnych infekcji. W ostatnich latach zjawisko to obserwuje się głównie w placówkach podstawowej opieki zdrowotnej.

Materiał i metody. Próby powietrza pobrano z izb ekspedycyjnych aptek zlokalizowanych w Bydgoszczy z wykorzystaniem metody zderzeniowej. Analizę taksonomiczną bakterii β -hemolizujących przeprowadzono przy pomocy metody BIOLOG[®], opartej na wykorzystaniu metabolicznych cech analizowanych szczepów. Lekowrażliwość zidentyfikowanych gronkowców oznaczono metodą dyfuzyjno-krażkową, zgodnie z rekomendacjami EUCAST.

Wyniki. Największą średnią liczbę bakterii β -hemolizujących odnotowano na stanowisku zlokalizowanym bezpośrednio w budynku szpitala. Identyfikacja tych mikroorganizmów wykazała, że badane izolaty reprezentowane były głównie przez szczepy należące do rodzaju *Staphylococcus* oraz *Bacillus*. Na podstawie wykonanych antybiogramów stwierdzono, iż wyizolowane szczepy gronkowców największą oporność wykazywały wobec penicyliny, tetracykliny oraz erytromycyny.

Wnioski. Uzyskane wyniki wskazują, iż powietrze w placówkach farmaceutycznych może być źródłem potencjalnie chorobotwórczych, lekoopornych bakterii, co ma duże znaczenie dla zdrowia publicznego.

Słowa kluczowe: zanieczyszczenie powietrza, hemoliza, gronkowce, antybiotykooporność, zdrowie publiczne

ABSTRACT

Introduction. The air we breathe is the site of periodic occurrence of bacteria. One of the sources of bioaerosol is the gut microbiome. More and more frequently, microbes acquire resistance to antibiotics and can become a potential cause of infections. In recent years, this phenomenon is noticeable mainly in the health care facilities.

Material and methods. Air samples were collected from five pharmacies located in Bydgoszcz. The impact method was used. The taxonomic analysis of culturable β -hemolytic bacterial strains was prepared using BIOLOG[®] technology. The susceptibility of identified staphylococci was assessed with the disc-diffusion method, in line with the recommendations of the EUCAST.

Results. The results showed that the highest average number of β -hemolytic bacteria was identified at a sampling site located directly in the hospital. Identification of β -hemolytic bacteria showed that the examined strains mostly represented *Bacillus* and *Staphylococcus* genera. Based on the antibiogram, it was found that staphylococci strains showed the lowest sensitivity to penicillin, tetracycline, and erythromycin.

Conclusions. The obtained results indicate that the air in pharmacies can be a source of potential pathogenic bacteria and antibiotic-resistant bacteria.

Key words: air pollution, haemolysis, staphylococci, antibiotic resistance, public health

WSTĘP

Coraz częściej obserwowanym zjawiskiem wpływającym bezpośrednio na jakość życia człowieka jest wzrost zanieczyszczeń mikrobiologicznych w powietrzu wewnętrznym. Fakt ten spowodowany jest m. in. szybką urbanizacją czy słabą wentylacją pomieszczeń, w których ludzie spędzają coraz więcej czasu. Zawieszone w postaci bioaerozolu drobnoustroje mogą odgrywać istotną rolę w rozprzestrzenianiu infekcji, chorób alergicznych oraz genów oporności na antybiotyki w środowisku i populacji, co prawdopodobnie przyczynia się do wywołania epidemii.

Mikroflora powietrza wewnętrznego różni się znacznie w zależności od typu pomieszczenia oraz źródła pochodzenia mikroorganizmów. Jak w każdym środowisku naturalnym, tak i w powietrzu, komórki drobnoustrojów mogą występować zarówno w postaci żywej i martwej [1]. Oprócz form wegetatywnych, w środowisku mogą występować przetrwale formy mikroorganizmów, które również wchodzi w skład bioaerozolu.

W instytucjach użyteczności publicznej, o dużym zagęszczeniu ludzi, liczba drobnoustrojów zawieszonych w postaci pyłu bakteryjnego wielokrotnie wzrasta. Aerozol biologiczny, związany z organizmem człowieka w wyniku kaszlu czy kichania i przenoszony wraz z prądem powietrza z środowiska zewnętrznego, może stanowić zagrożenie dla zdrowia [2, 3].

Wpływ na ilość drobnoustrojów mają również systemy klimatyzacyjno-wentylacyjne. Prawidłowo działające klimatyzacje usuwają do 80% aerozolu pochodzącego z powietrza atmosferycznego, jednakże nieodpowiednio serwisowane mogą stanowić źródło zanieczyszczenia powietrza wewnętrznego [4].

Chmiel sugeruje, że w celu poprawy jakości mikrobiologicznej powietrza należy zmobilizować instytuty badawcze do opracowania standardów dotyczących dopuszczalnych norm zawartości mikroorganizmów w powietrzu wewnętrznym i atmosferycznym [5]. W dalszej perspektywie działania takie mogłyby pomóc zminimalizować ryzyko powstawania i rozwoju chorób oraz następujących powikłań.

W literaturze przedmiotu odszukać można publikacje przedstawiające wyniki badań poświęcone placówkom użyteczności publicznej takich jak: szpitale [6], karetki pogotowia [7, 8], przedszkola czy szkoły [3, 9]. Niewiele jednak uwagi poświęcono placówkom farmaceutycznym. Z uwagi na fakt, że stanowią one miejsce stałego przemieszczania się ludzi, w tym również dotkniętych infekcjami

różnego pochodzenia, może dochodzić do transmisji potencjalnie patogennych mikroorganizmów do powietrza. Sytuacja taka w następstwie prowadzi do rozprzestrzeniania się chorób powodujących negatywne skutki dla zdrowia. W związku z tym autorzy podjęli się mikrobiologicznego monitoringu kontroli jakości powietrza w placówkach farmaceutycznych, jakimi są apteki.

MATERIAŁ I METODY

Obiekt badań

Próbki powietrza pobrano metodą zderzeniową w trzech równoległych powtórzeniach przy użyciu mikrobiologicznego próbnika powietrza MAS-100 (prod. Merck, Niemcy). Powietrze było pobierane z izb ekspedycyjnych pięciu aptek zlokalizowanych w mieście Bydgoszczy. Szczegółowe dane dotyczące lokalizacji stanowisk badawczych umieszczone są w tabeli I.

Tabela I. Charakterystyka stanowisk pomiarowych
Table I. Characteristic of sampling sites

Stanowisko pomiarowe	Typ apteki	Wyposażenie	
		klimatyzacja	lampa UV
I	Marketowa	+	brak
II	Marketowa	-	
III	Marketowa	+	
IV	Osiedlowa	-	
V	Przyszpitalna	+	

Badania mikrobiologiczne

W celu izolacji bakterii hemolitycznych wykorzystano podłoże Azide Blood Agar (prod. BioMaxima, Polska). Próbki powietrza w objętości 100 litrów pobrano w trzech równoległych powtórzeniach dla każdego stanowiska.

Zebrany materiał niezwłocznie przewieziono w izotermicznych pojemnikach do laboratorium i umieszczono w termostacie, w temperaturze 37°C. Po 48 h okresie inkubacji zliczono wyrosłe kolonie β-hemolizujące, a następnie przeliczano otrzymane wyniki w oparciu o tabelę dołączoną do instrukcji obsługi próbnika powietrza MAS-100 [10]. Wyniki wyrażano jako jednostki tworzące kolonie (jtk · m⁻³).

Analiza taksonomiczna

Celem izolacji i dalszej identyfikacji taksonomicznej bakterii β-hemolizujących zastosowano technikę metabolicznego odcisku palca BIOLOG®.

Drobnoustroje przepasażowano redukcyjnie na pożywkę agarową BUG (Biolog Universal Growth agar, prod. BIOLOG, USA) i inkubowano 18–24 godzin. Następnie, przy użyciu sterylnej wymazówki, pobrano pojedynczą kolonię i przeniesiono do płynu inokulacyjnego IF-A, ustanawiając gęstość na poziomie 90–98% turbidancji. Uzyskaną zawiesinę bakteryjną przeniesiono w objętości 0,1 ml do dołków mikropłytek GENIII MicroPlate™. Po 24-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C wykonano odczyt z użyciem systemu MicroStation, wspieranego oprogramowaniem MicroLog 3™. Uzyskane wyniki sklasyfikowano na podstawie Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [11].

Lekowrażliwość bakterii

Badanie antybiotykooporności przeprowadzono dla szczepów bakterii β -hemolizujących zidentyfikowanych jako gronkowce. Namnożone szczepy, w warunkach sterylnych, zawieszono w jałowym roztworze soli fizjologicznej NaCl (0,85%). Przygotowane w ten sposób zawiesiny bakteryjne rozcieńczono do uzyskania gęstości na poziomie 0,5 w skali McFarlanda. Wartości gęstości optycznej sprawdzono mierząc absorbancję inokulum spektrofotometrem przy długości fali 560 nm. Następnie pobrano 0,1 ml otrzymanej zawiesiny każdego z badanych szczepów bakterii i wysiano na płytce Petriego z podłożem Mueller-Hinton II Agar (prod. BioMaxima, Polska). Przed upływem 15 minut od zaszczepienia umieszczono krążki bibułowe nasączone odpowiednimi antybiotykami (prod. Oxoid, UK) (tab. II).

Tabela II. Zestawienie antybiotyków stosowanych w badaniu
Table II. List of antibiotics used in the study

Nazwa antybiotyku	Symbol krążka	Stężenie antybiotyku
Penicylina G	P1	1 unit
Tetracyklina	TE30	30 μ g
Chloramfenikol	C30	30 μ g
Erytromycyna	E15	15 μ g
Rifampicyna	RA5	5 μ g
Lewofloksacylna	LEV5	5 μ g

Przygotowane w ten sposób antybiogramy inkubowano w temperaturze 37°C przez 18 godzin. Wrażliwość badanych szczepów na dany antybiotyk określono według rekomendacji Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości [12].

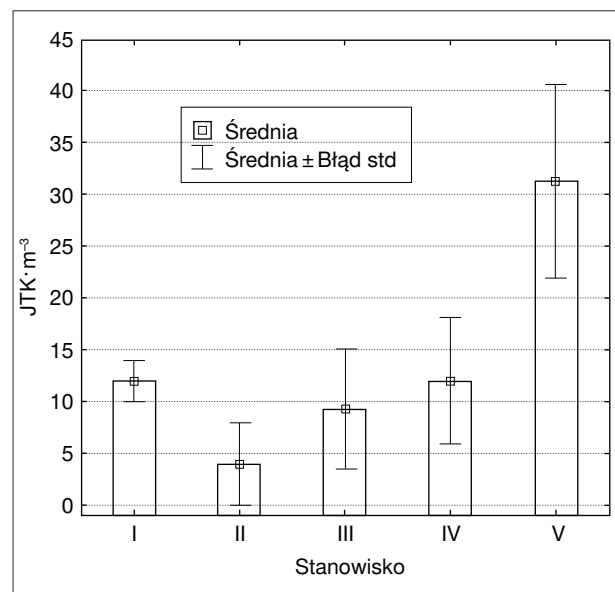
Analiza statystyczna

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono z zastosowaniem oprogramowania STATISTICA ver. 13.1. Oceny różnic między grupami danych dokonano na podstawie testu nieparametrycznego ANOVA rang Kruskala-Wallisa. Test przeprowadzono na poziomie istotności $p \leq 0,05$.

WYNIKI BADAŃ

Jak wynika z przeprowadzonych analiz najwięcej bakterii β -hemolizujących wyizolowano z powietrza apteki zlokalizowanej na stanowisku V, mieszczącej się bezpośrednio w obiekcie szpitalnym (ryc. 1). Na pozostałych stanowiskach badawczych odnotowano wyraźnie niższe wartości, jednakże analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic pomiędzy liczebnością bakterii a lokalizacją aptek ($p < 0,05$).

Wpływ na ogólną liczebność bakterii β -hemolizujących zawieszonych w powietrzu mogła mieć obecność klimatyzacji. Analizując tabelę I oraz rycinę 1 odnotowano, iż stanowiska wyposażone w systemy wentylacyjno-klimatyzacyjne cechowała podwyższona ilość mikroorganizmów.



Ryc. 1. Ogólna liczba bakterii β -hemolizujących w 1m³ powietrza (I–III apteki marketowe, IV – apteka osiedlowa, V – apteka przyszpitalna)

Fig. 1. Total number of β -hemolytic bacteria in 1m³ of air (I–III supermarket pharmacies, IV – housing estate pharmacy, V – hospital pharmacy)

Strukturę przeprowadzonej analizy taksonomicznej przedstawiono w tabeli III. Na podstawie identyfikacji wyizolowanych szczepów stwierdzono,

iz w badanym powietrzu aptek dominowały bakterie z rodziny *Staphylococcaceae*. Wykazano również obecność bakterii z rodziny *Bacillaceae* oraz *Paenibacillaceae*. Wszystkie zidentyfikowane gatunki sklasyfikowano jako bakterie Gram-dodatnie, należące do typu *Firmicutes*.

Tabela III. Taksonomiczne zróżnicowanie wyizolowanych szczepów (n = 10)

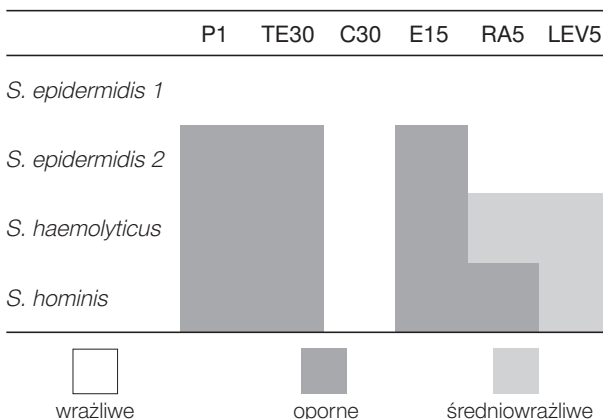
Table III. Taxonomy of isolated strains (n = 10)

Typ	Klasa	Rząd	Rodzina	Rodzaj/Gatunek
Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus epidermidis</i> × 2
				<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
				<i>Staphylococcus hominis</i>
			Bacillaceae	<i>Macrococcus equipercious</i>
				<i>Bacillus pumilus</i> × 4
			Paenibacillaceae	<i>Paenibacillus cineris</i>

Wyniki wykonanych antybiogramów przedstawiono w tabeli IV. Z danych wynika, iż wszystkie badane szczepy wykazały wrażliwość wobec chloramfenikolu. Dwa szczepy *S. epidermidis*, pomimo przynależności do tego samego gatunku, wykazywały zróżnicowaną wrażliwość na zastosowane antybiotyki. Natomiast *S. hominis* przejawiał największą oporność spośród wszystkich badanych szczepów, w stosunku do zastosowanych antybiotyków.

Tabela IV. Udział poszczególnych grup antybiotykooporności w zależności od badanego szczepu [penicylina G (P1), tetracyklina (TE30), chloramfenikol (C30), erytromycyna (E15), rifampicyna (RA5), lewofloksacylna (LEV5)]

Table IV. The proportion of individual antibiotic resistance groups depending on the strain under study [Tetracycline (TE30), chloramphenicol (C30), erythromycin (E15), rifampicin (RA5), levofloxacin (LEV5)]



DYSKUSJA

Powietrze wewnątrz pomieszczeń, pod względem składu jakościowego oraz ilościowego występujących w nim mikroorganizmów, jest bardzo stabilne. Drobnoustroje zawieszane w powietrzu budynków ulegają niewielkim wahaniom sezonowym, co spowodowane jest brakiem bezpośredniego narażenia na zewnętrzne czynniki klimatyczne i pogodowe [5].

Istnieją nieliczne doniesienia na temat wpływu bioaerozoli pochodzących z zewnątrz na powietrze wewnętrzne. Mechanizm ten nie został jednak do końca poznany [2]. Małecka-Adamowicz i wsp. [13,14] badając zanieczyszczenia powietrza zewnętrznego przedstawiła badania, w których liczba bakterii z rodzaju *Staphylococcus* maleje w porze wiosenno-zimowej.

Z obserwacji Steinki [6] wynika, że mikroorganizmy rozprzestrzeniają się w różnych miejscach wewnątrz pomieszczeń, a ich okres przeżycia jest zależny od danego gatunku. Elementy wyposażenia szpitalnego stanowią rezerwuuar drobnoustrojów, a przenoszone za pośrednictwem personelu medycznego bądź pacjentów hospitalizowanych stanowią istotne ryzyko infekcji wewnątrzszpitalnych.

Badania własne wykazały, że bakterie z rodzaju *Staphylococcus* i *Bacillus* były najliczniej pojawiającymi się organizmami. Uzyskane wyniki potwierdzają analizy Sapkota i wsp. [15], zrealizowane w różnych jednostkach szpitala w Nepalu, gdzie najczęściej izolowane były *Staphylococcus aureus* oraz bakterie z rodzaju *Bacillus*. Abdollahi i wsp. [16], badając zanieczyszczenie powietrza w szpitalu Imam w Teheranie, również uzyskali podobne wyniki, w których najliczniej występującymi bakteriami były m.in. szczepy *S. epidermidis*.

W literaturze medycznej pojawiają się doniesienia na temat występowania szczepów *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* oraz rzadziej izolowanym z materiałów klinicznych *S. hominis*. Idzik i wsp. [17] podaje, że są to najczęściej izolowane drobnoustroje wywołujące zakażenia pooperacyjne.

Pinheiro i wsp. [18] badając izolaty hodowli krwi zaliczyli *S. epidermidis* i *S. haemolyticus* do drobnoustrojów istotnych klinicznie, wywołujących zakażenia związane z użyciem urządzeń medycznych. Analizy przedstawione przez Czekaj i wsp. [19] wykazały filogenetyczne podobieństwo *S. aureus* i wymienionych wcześniej szczepów gronkowców, które mimo posiadania odmiennych czynników wirulencji obecnie stanowią najczęstszy czynnik etiologiczny zakażeń szpitalnych.

S. epidermidis charakteryzuje zdolność do tworzenia biofilmów. Daje to ochronę przed atakami

układu immunologicznego gospodarza oraz zabezpiecza przed działaniem antybiotyków, wywołując trudne do wyeliminowania zakażenia [20]. Mikroorganizm ten kolonizuje również skórę i błonę śluzową człowieka, korzystnie wyrównując mikroflorę na powierzchni nabłonka, poprzez kontrolę wzrostu bakterii takich jak *S. aureus*. Kukułowicz [21] wykazała, iż bakterie *S. epidermidis* są bardzo często izolowane z różnych powierzchni w zakładach kosmetycznych, a regularne zabiegi higieniczne nie usuwają ich całkowicie. Vuong i Otto [20,22] stwierdzili, iż *S. epidermidis* posiada zdolność zamiany z normalnego mieszkańca skóry ludzkiej na drobnoustroj wysoko oportunistyczny.

Szczepy *S. hominis* podobnie jak *S. epidermidis* kolonizują skórę pozbawioną włosów. Najczęściej izolowane są z opuszków palców oraz nieopodal gruczołów potowych [23].

Przeprowadzone analizy wykazały również obecność szczepów z rodzaju *Bacillus*. Bakterie te potrafią przetrwać długi okres czasu i w stanie uśpienia wytrzymać śmiertelne dla większości mikroorganizmów dawki promieniowania ultrafioletowego oraz nadtlenu wodoru. Zwykle występują w glebie, ale mogą powodować poważne problemy zdrowotne u człowieka ze względu na zdolność do tworzenia biofilmów [15, 24].

W powietrzu badanych aptek nie stwierdzono obecności *S. aureus*. Podobne wyniki uzyskała Kukułowicz [21], badając bioaerazol na terenie zakładów kosmetycznych, w którym również nie odnotowała obecności gronkowca złocistego.

Wyniki przeprowadzonych badań własnych wykazały, że najskuteczniejszym zastosowanym antybiotykiem w stosunku do badanych szczepów *Staphylococcus* spp. był chloramfenikol. Analogiczne wyniki uzyskał Kubera i wsp. [3] badając lekooporność gronkowców mannitolu-dodatnich izolowanych z dwóch bydgoskich przedszkoli. Trzy z czterech badanych szczepów wykazywały oporność na penicylinę, tetracyklinę i erytromycynę. Podobne wyniki przedstawił Abd El-Razik i wsp. [25] badając gronkowce koagulazo-ujemne, wobec których tetracyklina nie była skuteczna. Dane literaturowe wykazują, że od 1960 roku ponad 80% gronkowców wyizolowanych ze środowisk szpitalnych jest niewrażliwa na penicylinę. Wynika to z zdolności do wytwarzania penicylinazy, co skutkuje rozprzestrzenianiem się opornych szczepów bakterii [26]. Dawgul i wsp. [27] w swoich badaniach również zaobserwowała znaczny wzrost oporności bakterii w stosunku do erytromycyny, co najprawdopodobniej jest związane z nadużywaniem antybiotyków.

Problem antybiotykoodporności wynika z ciągłej presji stosowania antybiotyków, nieprzestrzegania przez pacjentów ich stosowania oraz niewłaściwie postawionych diagnoz. Działania te powodują nabywanie oporności przez dany szczep, a następnie szybkie jej rozpowszechnienie nawet w stosunku do nowoczesnych leków [28].

Na chwilę obecną w Polsce brakuje skutecznego oraz regularnego monitoringu zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza, a obowiązujące wcześniej normy prawne dotyczące czystości powietrza zostały wycofane i nie zastąpione nowymi. Porównując uzyskane wyniki analiz do wartości referencyjnych zaproponowanych przez Chmiel [5] uznano powietrze izb ekspedycyjnych badanych aptek za średnio zanieczyszczone. Zgodnie z sugestią Ebisz [4] jednym z rozwiązań, oprócz okresowych kontroli sanitarnych powietrza, mogłoby być zastosowanie przepływowych lamp UV w celu dezynfekcji powietrza w pomieszczeniach aptek oraz zakładach opieki zdrowotnej.

WNIOSKI

1. Na podstawie uzyskanych analiz stwierdzono, iż największa liczba bakterii β -hemolizujących występowała na stanowisku zlokalizowanym w budynku szpitala.
2. Analiza taksonomicznego zróżnicowania wykazała, że większość badanych izolatów należała do rodziny *Staphylococcaceae*.
3. Zidentyfikowane szczepy z rodzaju *Staphylococcus* charakteryzowały się wrażliwością na chloramfenikol, natomiast *Staphylococcus hominis* wykazywał wielooporność w stosunku do czterech z sześciu zastosowanych antybiotyków.
4. Placówki farmaceutyczne, jako miejsca użyteczności publicznej, mogą stanowić potencjalne źródło występowania chorobotwórczych, lekoopornych bakterii i powinny być objęte okresową kontrolą jakości mikrobiologicznej powietrza.

Finansowanie: środki MNiSW na badania naukowe Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego

LITERATURA

- [1] Górny R. L.: Aerozole biologiczne – rola normatywów higienicznych w ochronie środowiska i zdrowia. *Med Środ* 2010; 13(1): 41-51.
- [2] Gąska-Jędruch U., Dudzińska M. R.: Zanieczyszczenia mikrobiologiczne w powietrzu wewnętrznym. W: *Polska Inżynieria Środowiskowa pięć lat po wstąpieniu do Unii Eu*

- ropejskiej (red.): J. Ozonek, A. Pawłowski, Monografie Komitetu Inżynierii Środowiska 2009; 2(59): 31-40.
- [3] Kubera Ł., Studzińska J., Dokładna W. i wsp.: Mikrobiologiczna jakość powietrza w wybranych przedszkolach oraz antybiotykooporność szczepów z rodzaju *Staphylococcus* spp. *Med Pracy* 2015; 66(1): 49-56.
- [4] Ebisz M., Król K., Lar K. i wsp.: Ryzyko zdrowotne wynikające z narażenia na bioaerozol w placówkach ochrony zdrowia. *Med Środ* 2016; 19(2): 55-62.
- [5] Chmiel M. J., Frączek K., Grzyb J.: Problemy monitoringu zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie* 2015; 15,1(49): 17-27.
- [6] Steinka I.: Znaczenie czynników abiotycznych w transmisji mikroflory w warunkach szpitalnych. *Ann Acad Med Gedan* 2013; 43: 165-174.
- [7] Luksamijarulkul P., Pipitsangjan S.: Microbial Air Quality and Bacterial Surface Contamination in Ambulances During Patient Services. *Oman Med J* 2015; 30(2): 104-110.
- [8] Alrazeeni D., Al Sufi M. S.: Nosocomial infections in ambulances and effectiveness of ambulance fumigation techniques in Saudi Arabia. *Saudi Med J* 2014; 35(11): 1354-1360.
- [9] Basińska M., Michałkiewicz M.: Zmienność mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza oraz stężenia pyłu wewnątrz i na zewnątrz wybranej poznańskiej szkoły. *Inżynieria Ekologiczna* 2016; 50: 17-25.
- [10] Feller W.: An introduction to the probability theory and its application. John Wiley & Sons Inc, New York 1950.
- [11] Vos P., Garrity G., Jones D. i wsp.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume Three. The Firmicutes. Second Edition. Springer-Verlag, New York 2009.
- [12] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.1 2017.
- [13] Małecka-Adamowicz M., Donderski W., Okoniewska A.: Evaluation of Microbial Air Quality in a Forest Recreation Park. *Polish J of Environ. Stud.* 2010; 19 (1): 107-113.
- [14] Małecka-Adamowicz M., Donderski W., Kubera Ł.: Microbial air contamination in the center and in the Fordon district of Bydgoszcz. *Pol. J. Natur Sc* 2015; 30(3): 259-273.
- [15] Sapkota B., Gupta G. K., Shrestha S. K. i wsp.: Microbiological burden in air culture at various units of a tertiary care government hospital in Nepal. *Australas Med J* 2016; 9(1): 1-7.
- [16] Abdollahi A., Mahmoudzadeh S.: Microbial Profile of Air Contamination in Hospital Wards. *Iran J Pathol* 2012; 7(3): 177-82.
- [17] Idzik D., Kępa M., Wojtyczka R. D. i wsp.: Ocena czystości mikrobiologicznej środowiska Oddziału Urazowo-Ortopedycznego Szpitala Miejskiego nr 1 w Sosnowcu. *Farmaceutyczny Przegląd Naukowy* 2008.
- [18] Pinheiro L., Brito C.I., Oliveira A. i wsp.: *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus*: Molecular Detection of Cytotoxin and Enterotoxin Genes. *Toxins (Basel)* 2015; 7(9): 3688-3699.
- [19] Czekaj T., Ciszewski M., Szewczyk E. M.: *Staphylococcus haemolyticus* – an emerging threat in the twilight of the antibiotics age. *Microbiology* 2015; 161(11): 2061-8.
- [20] Vuong C., Otto M.: *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbes Infect* 2002; 4(4): 481-9.
- [21] Kukułowicz A.: Higieniczne aspekty usług kosmetycznych. *Medycyna Środowiskowa – Environmental Medicine* 2016; 19(1): 37-42.
- [22] Otto M.: *Staphylococcus epidermidis* pathogenesis. *Methods Mol Biol* 2014; 1106: 17-31.
- [23] Wróblewska J., Gospodarek E., Bredow M. i wsp.: L-form *Staphylococcus hominis* wywołane pod wpływem ampicyliny i cefazoliny. *Borgis – Medycyna Rodzinna* 2008; 3: 66-68.
- [24] Stepanov VG, Tirumalai MR, Montazari S. i wsp.: *Bacillus pumilus* SAFR-032 Genome Revisited: Sequence Update and Re-Annotation. *PLoS One* 2016; 11(6): e0157331.
- [25] Abd El-Razik K. A., Arafa A. A., Hedia R. H. i wsp.: Tetracycline resistance phenotypes and genotypes of coagulase-negative staphylococcal isolates from bubaline mastitis in Egypt. *Vet World* 2017; 10(6): 702-710.
- [26] Lowy F. D.: Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *JCI* 2003; 111(9): 1265-1273.
- [27] Dawgul M., Barańska-Rybak W., Greber K. i wsp.: Aktywność przeciwbakteryjna krótkich lipopeptydów wobec klinicznych szczepów *Staphylococcus aureus*. *Alergia Astma Immunologia* 2011; 16 (1): 31-36.
- [28] Nahaei M.R., Shahmohammadi M.R., Ebrahimi S. i wsp.: Detection of Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci and Surveillance of Antibacterial Resistance in a Multi-Center Study from Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 2015; 8(8): e19945.

Adres do korespondencji:

Emilia Jankowiak
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego,
Wydział Nauk Przyrodniczych,
Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Mikrobiologii
Al. Powstańców Wielkopolskich 10, 85-090 Bydgoszcz
tel. 52 376-79-14, e-mail: emilia.jankowiak@ukw.edu.pl