

UNIVERZITA KARLOVA

Lékařská fakulta v Hradci Králové



DISERTAČNÍ PRÁCE

Jan Wipler

2023

Doktorský studijní program
Lékařská mikrobiologie

**Studium bakteriální a mykotické mikrobioty člověka
a domácích zvířat jako možného zdroje rezistence
k antibiotikům**

RNDr. Jan Wipler
Školitel: **doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.**

Prohlášení autora

Prohlášení:

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy v Praze.

Poděkování:

Děkuji svým školitelům disertační práce, MVDr. Zuzaně Čermákové, Ph.D., a doc. RNDr. Vladimíru Buchtovi, CSc. za významné připomínky a rady ke konceptu této studie a za jejich cenné konzultace k metodickému zpracování a k žádosti o finanční prostředky. V neposlední řadě děkuji studentům Přírodovědecké fakulty Univerzity Hradec Králové a MVDr. Tomáši Hanzálkovi jakož i celé Veterinární klinice Hradec Králové – Tichá 59 za nemalou pomoc při sběru vzorků. Jsem velmi zavázán RNDr. Evě Čermákové za návody k volbě vhodných statistických metod pro testování stanovených hypotéz. V neposlední řadě patří velký dík také Ing. Jiřímu Peterovi za rady a doporučení během finálních grafických úprav.

Studie byla podpořena grantovým projektem SVV 260 398, a tudíž děkuji také Lékařské fakultě v Hradci Králové Univerzity Karlovy v Praze za poskytnutí finančních prostředků nutných k materiálnímu zajištění.

1. OBSAH

1. OBSAH.....	5
2. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	7
3. SOUHRN.....	8
4. ÚVOD.....	12
5. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE.....	13
TEORETICKÁ ČÁST.....	14
6. OBECNÁ CHARAKTERISTIKA.....	15
7. ATB REZISTENCE OPORTUNNÍCH PATOGENŮ.....	28
8. GENY REZISTENCE KLINICKY VÝZNAMNÝCH OPORTUNNÍCH PATOGENŮ.....	40
9. CESTY PŘENOSU OPORTUNNÍCH PATOGENŮ MEZI DMZ A ČLOVĚKEM.....	45
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	48
10. PŘÍSTROJOVÁ TECHNIKA A MATERIÁLY.....	49
10.1. Přístrojová technika.....	49
10.2. Kultivační média a jejich složení.....	49
10.3. Antibiotické řady.....	50
11. METODIKA.....	52
11.1. Vyjádření etické komise.....	52
11.2. Soubor testovaných dobrovolníků.....	52
11.3. Odběr biologického materiálu.....	52
11.4. Dotazníkové šetření.....	53
11.5. Očkování a kultivace vzorků.....	55
11.6. Identifikace vzorků.....	55
11.7. Testování ATB citlivosti.....	59
11.8. Stanovení nulových hypotéz.....	60
12. VÝSLEDKY.....	61
12.1. Data získaná z dotazníků.....	61
12.2. Druhy mikroorganismů izolované ze vzorků.....	62
12.3. Vyhodnocení získaných dat.....	78
12.4. Vyhodnocení hypotéz.....	82
13. DISKUSE.....	109
14. ZÁVĚR.....	116
15. PŘEHLED LITERATURY.....	117
16. SEZNAMY.....	144

16.1. Seznam obrázků	144
16.2. Seznam tabulek	145
16.3. Seznam grafů	146
16.4. Seznam schémat	146
17. PŘÍLOHY	147
17.1. Stanovisko etické komise	147
17.2. DMZ a chovatelem sdílené mikroorganismy	148

2. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

Ac	Actinobacteria
An	anamorfa (asexuální stádium houby)
ATB	antibiotika, antibiotický
ATM	antimykotika, antimykotický
Bac	Bacteroidetes
CI	Contact Index
CNS	centrální nervový systém
DMZ	domácí mazlíčci
ESBL	široké spektrum β -laktamáz
Fi	Firmicutes
FIV	virus kočičí imunodeficiency
FLV	virus kočičí leukemie
GIT	gastrointestinální trakt
KS	kontrolní skupina
KvA	kvasinky askomycetární
KvB	kvasinky basidiomycetární
M	chovatel (majitel) domácího mazlíčka
MALDI TOF MS	„matrix assisted laser desorption/ionization – time of flight“
MRSA	methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	methicilin citlivý <i>S. aureus</i>
PkNS	plazmakoaguláza negativní stafylokoky
PkPS	plazmakoaguláza pozitivní stafylokoky
PCR	polymerázová řetězová reakce
PMQR	plazmidem zprostředkovaná chinolonová rezistence
Pr	Proteobacteria
SAB	Sabouraudův glukózový agar
SAB2	Sabouraudův glukózový agar s chloramfenikolem
SAB4	Sabouraudův glukózový agar s chloramfenikolem a gentamicinem
Te	teleomorfa (sexuální stádium houby)
VISA	<i>S. aureus</i> s intermediární citlivostí k vankomycinu
VRE	vankomycin rezistentní enterokoky
VRSA	vankomycin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>

3. SOUHRN

Úvod: Mikrobiologický aspekt vztahu domácích mazlíčků a jejich chovatelů se zaměřuje na výskyt společných druhů mikroorganismů tvořících společně mikrobiotu kvasinek a bakterií, zejména potenciálně patogenních, kde je známý výskyt sekundárních rezistencí na antimikrobiální látky. Sdílení společné domácnosti majitelů a jejich domácích mazlíčků sociálně povýšených na členy rodiny je v České republice stále častější a promítá se do oboustranné komunikace mikrobioty. Cílem disertační práce je zjistit na základě behaviorálních vzorů člověka a zvířete sdílené druhové spektrum kultivačně nepříliš náročných bakterií a kvasinek. S ohledem na potenciální vliv antibiotické léčby v posledních dvanácti měsících na kolonizaci rezistentními mikroorganismy, byl zjišťován počet bakteriálních a kvasinkových izolátů vykazující společnou ATB rezistenci s izoláty mikroorganismů mezi chovateli a jejich domácími mazlíčky (DMZ) žijících ve stejné domácnosti.

Metodika: Ze 120 domácností s domácím mazlíčkem a 80 kontrol (bez mazlíčka) bylo poskytnuto celkem 1156 vzorků. Výtěry z nosní sliznice, mezprstí nohou, podpaží a zvukovodu byly odebrány od 145 chovatelů a vzorky nosní sliznice a zvukovodu od 128 domácích mazlíčků. Výtěry nosní sliznice, zvukovodu, podpaží a mezprstí nohou (320 vzorků) byly poskytnuty také kontrolní skupinou 80 lidí, kteří nesdílejí déle než 1 rok s žádným zvířetem domácnost. Všichni chovatelé vyplnili dotazník s výpovědí o vztahu ke svým domácím mazlíčkům a předchozí antibiotické terapii za poslední rok. Bakteriální a kvasinkové izoláty byly určeny pomocí kultivačních, biochemických a mikroskopických metod a potvrzeny metodou hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF. Na základě statistické analýzy byly vyhodnoceny hypotézy nezávislosti vlivu faktorů ovlivňující komunikaci mikrobioty chovatele a domácího mazlíčka na kvantitativní a kvalitativní složení mikrobioty a oboustranného přenosu kmenů rezistentních k běžně používaným antimikrobiálním léčivům ve veterinární i humánní medicíně.

Výsledky: Pro vyjádření intenzity kontaktu chovatele k domácím mazlíčkovi byla zavedena veličina tzv. kontaktní index (CI) nabývající hodnot 1–8. Dolní kategorie (CI v rozmezí 1–4) značí méně blízký vztah a horní hranice (CI v rozmezí 5–8) spíše bližší vztah. Dolní hranice CI byla zaznamenána u 11,72 % (n=17) majitelů a naopak u 88,23 % (n=128). Antibiotickou léčbu v posledním roce absolvovalo 26,56 % (n=34) testovaných domácích mazlíčků, 31,03 % (n=45) chovatelů a 31,25 % (n=25) nechovatelů. Z biologického materiálu bylo celkově izolováno u tří sledovaných skupin 176 druhů mikroorganismů (137 bakterií a 39 kvasinek);

z toho u chovatelů bylo izolováno 123 druhů mikroorganismů (101 bakterií a 22 kvasinek). Z materiálu DMZ bylo izolováno 152 druhů mikroorganismů (124 bakterií a 28 kvasinek), z čehož 99 druhů, 87 bakterií a 12 kvasinek, se vyskytovalo u obou skupin společně. Z kontrolní skupiny nechovatelů bylo izolováno 73 druhů mikroorganismů (56 bakterií a 17 druhů kvasinek). S ohledem k biologickému materiálu, druhově nejpestřejší mikrobiotu poskytovala nosní sliznice DMZ (n=96). Naproti tomu zvukovod byl sice druhově méně početný (n=62), ale kvantitativně nejobsáhlejší co do počtu izolátů. Ve zvukovodu DMZ kvantitativně převládaly lipofilní kvasinky, především *Malassezia pachydermatis*, velmi významně byly zastoupeny také Proteobacteria (především *Escherichia coli*). U člověka byl druhově nejbohatší biologický materiál z mezprstí nohou chovatelů (n=74). Shodný fenotyp rezistence mezi chovatelem a mazlíčkem byl zjištěn v 21,67 % domácnostech (n=26) u 16 druhů mikroorganismů (13 druhů bakterií a 3 druhy kvasinek).

Závěr: Druhová početnost mikroorganismů izolovaných z chovatelů a kontrolní skupiny nechovatelů se významně nelišila. Ani doba sdílení jedné domácnosti chovatele a DMZ neměla vliv na druhovou početnost mikroorganismů u chovatele. Nebyl prokázán statisticky významný vliv CI majitele na početnost bakteriálních a kvasinkových izolátů mikroorganismů, ani na sdílení rezistentních izolátů bakterií a kvasinek. Nejčastěji byl mezi chovatelem a DMZ sdílen kmen *S. aureus* rezistentní k methicilinu (MRSA). Předchozí ATB terapie výrazně ovlivnila kvantitu izolovaných kvasinek u člověka (chovatelé i nechovatelé), zatímco u DMZ nebyl tento vliv pozorován. V neposlední řadě byl pozorován vliv ATB terapie za poslední rok alespoň u jednoho z páru (DMZ, chovatel) na výskyt kmenů mikroorganismů se shodnou rezistencí. U kontrolní skupiny nechovatelů byly v 9 případech rezistentní izoláty také zachyceny (v 8 případech *Staphylococcus aureus* a v 1 případě *S. pseudintermedius*) rezistentní k methicilinu (MRSA, MRSP).

Klíčová slova: zvířecí mazlíčci, chovatelé, sdílená mikrobiota, antibiotická rezistence

SUMMARY

Introduction: The microbiological aspect of the relationship between pets and their owners focuses on the occurrence of common species of microorganisms that together form the microbiota of yeasts and bacteria, especially potentially pathogenic ones, where secondary resistance to antimicrobials is known to occur. The sharing of a common household of owners and their pets socially elevated to family members is increasingly common in the Czech Republic, and the likelihood of mutual communication of microbiota is increasing. The aim of this dissertation is to determine the shared species spectrum of culturally undemanding bacteria and yeasts based on human and animal behavioral patterns. Considering the potential influence of antibiotic (ATB) treatment in the last twelve months on colonization with resistant microorganisms, the number of bacterial and yeast isolates showing shared ATB resistance with microorganism isolates between owners and their pets living in the same household was investigated.

Material and Methods: A total of 1156 samples were provided from 120 households with and 80 without pets. Nasal mucosa, interdigital, axillary and ear canal swabs were collected from 145 keepers and nasal mucosa and ear canal samples from 128 pets. Nasal mucosa, ear canal, axillary and interdigital swabs (320 samples) were also provided by a control group of 80 people who had not shared a household with any animal for more than 1 year. All owners completed a questionnaire with statements about their relationship with their pets and previous antibiotic therapy in the past year. Bacterial and yeast isolates were identified by culture, biochemical and microscopic methods and confirmed by MALDI-TOF mass spectrometry. Statistical analysis was used to evaluate the hypotheses of the independent influence of factors facilitating communication between the microbiota of the owner and the pet on the quantitative and qualitative composition of the microbiota and the two-way transmission of strains resistant to commonly used antimicrobial drugs in veterinary and human medicine.

Results: The questionnaire survey revealed that 45 % (n=54) of households keep more pets than the one included in the study. A variable called contact index (CI) taking values of 1–8 was introduced to express the intensity of contact between the owner and the pet. The lower category (CI=1–4) indicates a less close relationship and the upper limit (CI=5–8) a rather closer relationship. The lower limit of the CI was observed for 11.72 % (n=17) of owners and vice versa for 88.23 % (n=128). Antibiotic treatment in the last one year was received by 26.56 % (n=34) of the tested pets, 31.03 % (n=45) of the owners and 31.25 % (n=25) of the

non-owners. A total of 176 species of microorganisms (137 bacteria and 39 yeasts) were isolated from the biological material in the three monitored groups of participants; of which 123 microbial species (101 bacteria and 22 yeasts) were isolated from owners. 152 species of microorganisms (124 bacteria and 28 yeasts) were isolated from pets' material, of which 99 species (87 bacteria and 12 yeasts) occurred together in both groups. 73 microbial species (56 bacteria and 17 yeast) were isolated from the control group of non-owners. With respect to the biological material, the nasal mucosa of the pets appeared to be the most species diverse (n=96). Their ear canal was less abundant in terms of species (n=62), but quantitatively the most abundant in terms of number of isolates. The pets' ear canal was dominated by lipophilic yeasts, mainly *Malassezia pachydermatis*. Proteobacteria (mainly *Escherichia coli*) were also very significantly represented. In humans, the most species-rich biological material was from the interdigital region of the owners (n=74). Sharing of strains with the same phenotypic resistance to antimicrobial agents between owner and pet was found in 21.67 % of households (n=26) for 16 species of microorganisms (13 bacterial species and 3 yeast species).

Conclusion: The species abundance of microorganisms isolated from the owners and the control group did not differ significantly. Neither did the time of sharing one household between the owner and pet show any effect on the species abundance of microorganisms in the owner. There was no statistically significant effect of the CI of the householder on the abundance of bacterial and yeast isolates of microorganisms, and even on the sharing of resistant bacterial and yeast isolates. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain (MRSA) was the most frequently shared strain by owners and pet. Previous ATB therapy significantly affected the quantity of yeasts isolated in humans (owners and non-owners), whereas this effect was not observed in pets. Finally, the effect of ATB therapy over the last year was observed in at least one of the pairs (pet, owner) on the occurrence of strains of microorganisms with identical phenotypic resistance. In the control group, methicillin-resistant isolates (MRSA, MRSP) were also found in 9 cases (*S. aureus* in 8 cases and *S. pseudintermedius* in 1 case).

Keywords: pets, owners, shared microbiota, antibiotic resistance

4. ÚVOD

Česká republika patří v rámci EU na 3. místě v oblíbě chovu psů a koček jakožto domácích mazlíčků (DMZ) (Statista 2021).

DZM jsou po mnoho let součástí mnoha domácností po celém světě. Mnohé studie prokazují, že kontakt s majitelem vede s velkou pravděpodobností k výměně mikroorganismů, a tedy i možnosti genetické komunikace mikrobioty obou hostitelů. Narušování ekologické rovnováhy mikrobiomu ať už chemickými (antibiotika, dezinfekční prostředky) nebo fyzikálními vlivy (UV záření, radiace), může vést k reálnému zdravotnímu riziku pro imunosuprimované hostitele (majitel/ DMZ). Onemocnění zapříčiněné oportunními patogeny je navíc znásobeno tím, že tyto mikroorganismy jsou častým zdrojem rezistence k antimikrobiálním látkám (ATB). V současné době jsou infekce oportunními patogeny na vzestupu především u hematologických pacientů.

Tato studie je zaměřena jednak na klinicko-epidemiologické aspekty vztahu domácích zvířat a jejich majitelů pomocí porovnávání jejich mikrobiomu s ohledem na podmíněné patogeny, především původce nozokomiálních infekcí, které se vyznačují zvýšenou rezistencí na ATB a nižšími *in vitro* kultivačními nároky. Z tohoto důvodu byl sledován možný vliv předchozí antibiotické (ATB) léčby za poslední rok na sdílenou mikrobiotu a výskyt společné rezistence. Cílem bylo ověřit, zda monitoring biodiverzity a vyhodnocení přenosu a sdílení mikroorganismů může korelovat s možnými zdravotními riziky, které z kontaktu mezi majitelem a mazlíčkem vyplývají.

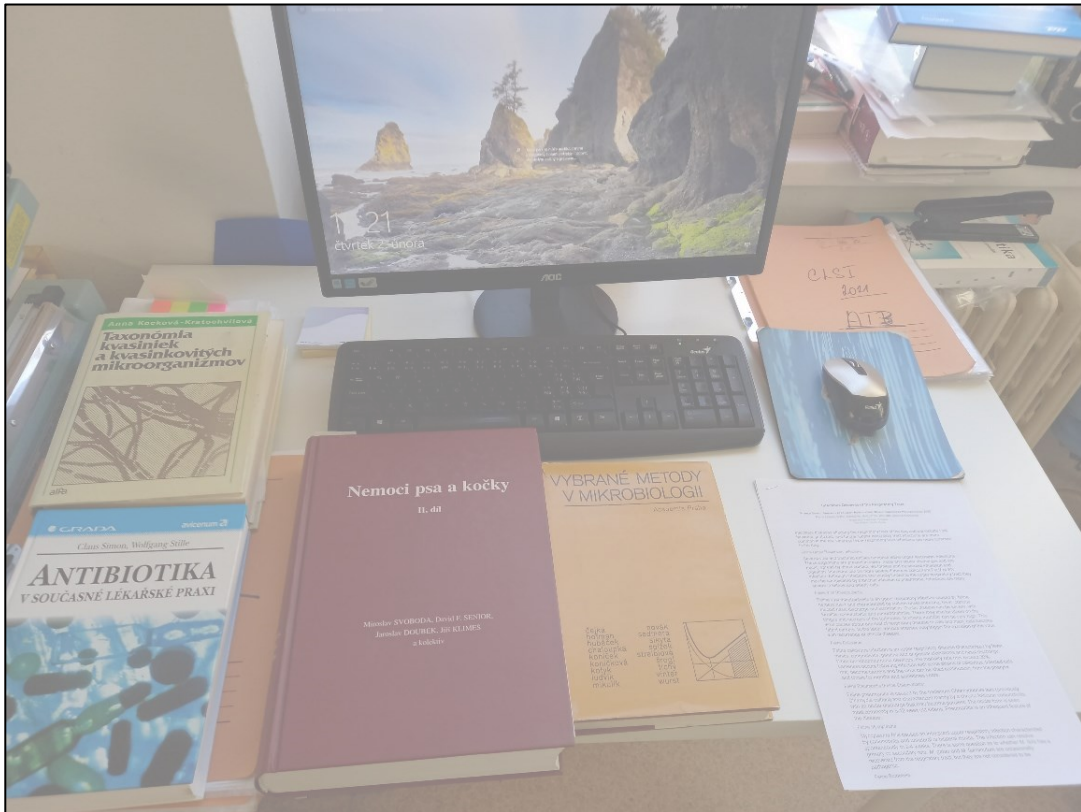
5. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Bakteriální a kvasinkoví kolonizátoři tvoří na kůži a slizničních površích jak člověka, tak i DMZ tzv. mikrobiotu. Hostitelskému imunokompetentnímu makroorganismu za běžných podmínek nepůsobí klinické obtíže. Blízký kontakt s DMZ, který je v dnešní době u mnoha chovatelů zcela běžný, by mohl podporovat výměnu oportunních patogenů, které tuto mikrobiotu tvoří. Oboustranná komunikace mikrobioty chovatele a DMZ by mohla představovat významný rizikový faktor pro predisponované hostitele za vzniku různě závažných patogenních procesů. K tomuto riziku navíc přispívá i ten fakt, že s přenesenými mikroorganismy současně dochází i k oboustrannému přenosu genetického materiálu, který kóduje mechanismy bakteriální a kvasinkové rezistence.

Cílem disertační práce bylo proto nejprve porovnat druhové složení a početnosti druhů oportunně patogenních bakterií a kvasinek u chovatelů a DMZ, následně pak vyhodnotit vliv intimity jejich kontaktu majitele a dobu jejich soužití na spektrum a počet izolovaných mikroorganismů. Nakonec bylo cílem také vyhodnotit výskyt sdílených izolátů mikroorganismů a porovnat kvantitativně jejich rezistencí na ATB. Také ATB terapie v posledním roce sama o sobě by mohla mít vliv na sdílení rezistentních mutant oportunně patogenních mikroorganismů. Kontrolní skupina nechovatelů DMZ sloužila k porovnání spekter a počtu druhů mikroorganismů mezi chovatelem DMZ a nechovatelem.

Kontrolní skupina nechovatelů (KS) hrála významnou roli při porovnání druhového složení a počtu mikroorganismů. Cílem disertační práce bylo také porovnat odlišnosti mikrobioty chovatelů a KS a také možný vliv ATB terapie za poslední rok na tuto mikrobiální početnost (abundanci) u obou testovaných souborů lidské populace.

TEORETICKÁ ČÁST



6. OBECNÁ CHARAKTERISTIKA

Na kožních a slizničních površích žijí mikrobiální společenstva, jejichž složky tvoří mutualisté, kteří si prospívají navzájem s hostitelem, a komenzálové, kteří hostiteli obvykle neprospívají, ale za běžných podmínek ani neškodí, ba naopak mohou být i pasivně prospěšní (Sørum et Sunde 2001).

Účinnou ochrannou bariéru proti primárním původcům infekcí tvoří mikrobiální ekosystém, tzv. mikrobiom, kůže a sliznic sestávající z bakteriálních, houbových, virových a protozoárních kolonizátorů, kteří tvoří jeho součásti (Neish 2014). Tyto rezidentní mikroorganismy žijí v komenzálním nebo mutualistickém vztahu se svým hostitelem. Prospěch vyplývá jednak z interakcí s imunitou hostitele a jednak z kompetičních vztahů s mikroorganismy mezi sebou, které přirozeně brání pomnožení potenciálně patogenních druhů. Tomuto efektu se říká kolonizační rezistence. Jejich interakce zahrnují produkci důležitých nutričních zdrojů, biokonverzi živin a ochrannou ekologickou bariéru proti patogenům. Propuknutí nemoci tedy může být důsledkem ztráty prospěšných funkcí mikrobioty nebo invazivním procesem primárně patogenních mikrobů (Grice et al. 2011). Pro kolonizaci kůže a sliznic jsou nezbytnými faktory rychlý růst, adherence k živému povrchu, kompetiční schopnost odolávat vnějším podmínkám včetně nedostatku živin a kyslíku. Houbová složka mikrobioty je tvořena kvasinkami a vláknitými houbami početněji vázanými více na sliznici než na kůži (Ogai et al. 2021).

Bakteriální složka mikrobioty, především z důvodu rychlejšího růstu, dominuje. Savčí makroorganismus má mnoho anatomických lokalit, které poskytují nutriční zdroje pro mikroby. Tyto lokalizace se mohou značně lišit vlhkostí, teplotou, expozicí slunečnímu záření (srst), pH a množstvím kožního mazu. Jmenované faktory vedou k významné intrapersonální divergenci mikrobiomů podle různých částí lidského těla (Grice et al. 2009).

6.1. Přirozená mikrobiota kůže a sliznic člověka

Charakteristickým rysem lidské kožní mikrobioty je existence různých mikrostanovišť daných lokálními fyziologickými podmínkami, včetně aktivity mazových a potních žláz, které určují jejich složení (Grice et al. 2009).

Lidská mikrobiota se vyvíjí v čase hned od narození. Kojenci ji mají jinou než dospělí. Přirozená mikrobiota je nezbytná pro optimální funkci kůže a sliznic. Moduluje vrozenou

imunitní odpověď a zabraňuje kolonizaci potenciálně patogenními mikroorganismy (Wanke et al. 2011)

Genomovou sekvenací byly na kůži člověka prokázány bakteriální druhy *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Corynebacterium* spp. (Wang et al. 2014). V oblastech mazových žláz dominují lipofilní druhy *Propionibacterium* spp. či *Malassezia* spp., především *M. furfur*, zatímco bakterie jako *Staphylococcus* spp. a *Corynebacterium* spp. jsou hojnější v místech vlhké zapáčky včetně ohybů loktů, meziprstí nohou či podpaží. Lipidy kožního mazu jsou využívány auxotrofními druhy *Malassezia* a *Corynebacterium*, protože ty samy nejsou schopny produkce vlastních lipidů (Scharschmidt et Fischbach 2013).

V kůži bylo zjištěno mnoho interakcí mezi komenzály a *Staphylococcus aureus*. Kompetiční látky produkované některými stafylokoky, konkrétně *S. lugdunensis*, inhibují kolonizaci *S. aureus*. Také *S. epidermidis* může inhibovat tvorbu biofilmu *S. aureus* produkcí serinové proteázy glutamyl endopeptidázy (Sugimoto et al. 2013).

Ve studii provedené Seifertem et al. (1997) byl z různých anatomických lokalit zdravých lidí včetně čela, nosu, ucha, hrdla, průdušnice, spojivky, ruky, pochvy a hráze, lokalit vlhké zapáčky, jako jsou axily nebo meziprstí nohou byl izolován *Acinetobacter* spp. (Seifert et al. 1997).

ATB produkovaná *Staphylococcus hominis* mají synergický účinek s lidským antimikrobiálním peptidem LL-37, který rovněž snižuje kolonizaci *S. aureus*. Naopak *Propionibacterium acnes* produkuje koproporfyrin III, který podporuje agregaci buněk *S. aureus* a tvorbu biofilmu (Wollenberg et al. 2014).

K dominující přirozené bakteriální mikrobiotě zvukovodu člověka patří *Staphylococcus* spp. Čtyři nejčastější nálezy ušní mikrobioty byly *Staphylococcus auricularis*, *Propionibacterium acnes*, *Alloiococcus otitis* a *Turicella otitidis*. *Alloiococcus* spp. se může vyskytovat u lidí, kteří si čistí zvukovody vatovými tyčinkami. Účastníci studie s vysokým relativním výskytem *Alloiococcus* spp. měli typicky nízký výskyt *Staphylococcus* spp., což může být známkou toho, že tyto bakteriální druhy si v mikrobiotě zvukovodu vzájemně konkurují. Mikrobiom zevního zvukovodu se zdá rozmanitý a individuální. Hygienické návyky při čištění uší ho mění (Sjövall et al. 2021).

Ušní maz (sebum) je produktem sekrece mazových žláz spolu s buňkami zrohovatělé vrstvy epitelu zevního zvukovodu. Běžnými zástupci polymikrobiálních společenstev v tomto materiálu zdravého člověka jsou *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus saprophyticus*,

S. epidermidis a *S. aureus*. Méně častými nálezy jsou pak kvasinky jako *Candida albicans*, z bakterií *Pseudomonas stutzeri* či *P. aeruginosa*. Mikrobiální nálezy jsou rozmanitější se stářím ušního mazu, který, pokud není odstraňován, by se mohl stát zdrojem patogenů (Campos et al. 1998). Interakce mezi kvasinkami a bakteriemi pravděpodobně udržují zdravé sliznice, jak dokládá synergický vztah mezi *Candida albicans* a viridujícími orálními streptokoky (Diaz et al. 2014).

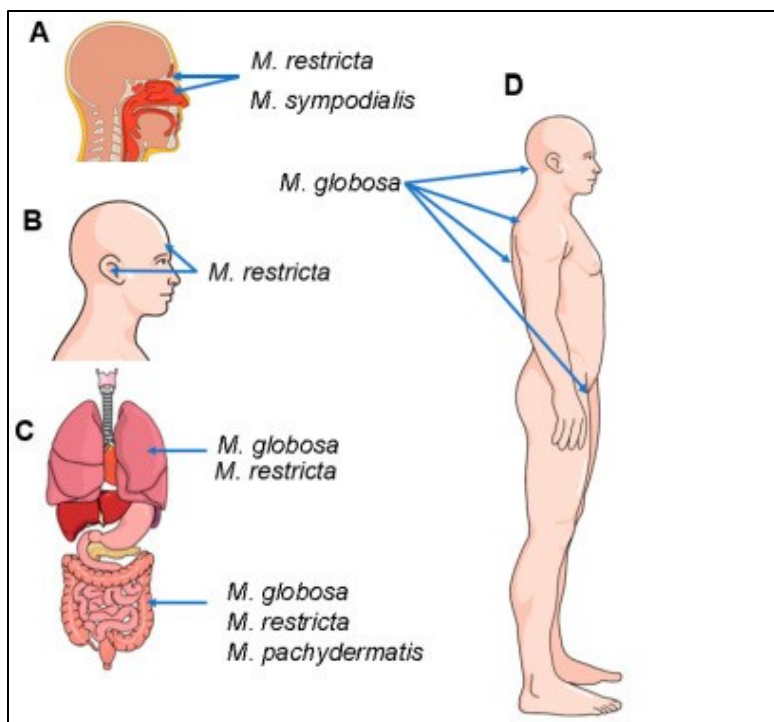
Nosní sliznice je prvním kontaktním místem, které je exponováno vnějšimu prostředí. Je běžně kolonizována nepatogenními neisseriemi a *Haemophilus* spp. *Staphylococcus aureus* je izolovaný z nosní sliznice a někdy z kůže člověka (trísla, axilární jamka) s menší četností než *S. epidermidis*, který je dominantním kožním kolonizátorem (Otto 2009).

Chen et al. (2022) izolovali z nosní sliznice bakteriální rody *Streptococcus*, *Prevotella*, *Faecalibacterium*, *Neisseria*, *Lactobacillus*, *Haemophilus* a *Clostridium*, avšak kvantitativně se liší u osob s alergickou rýmou a u zdravých. Celý bakteriální profil mikrobiomu nosní sliznice dělí do šesti kmenů: Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Cyanobacteria a Fusobacteria. U zdravých osob převažují rody *Faecalibacterium*, *Lactobacillus* a *Clostridium*. *Streptococcus* spp. tvoří naopak minimální zastoupení v nosním mikrobiomu zdravých osob (Chen et al. 2022).

Firmicutes je nejhojnějším kmenem bakterií u zdravých dospělých lidí (Eckburg et al. 2005). Jeho zástupci hrají zásadní roli při udržování bariérové funkce spojené s dráhou mastných kyselin s krátkým řetězcem a sekundárních žlučových kyselin (Sartor et Wu 2017).

V mikrobiotě pokožky s hustším zastoupením mazových žláz dominují lipofilní kvasinky rodu *Malassezia*. Kolonizace kůže *Malassezia* spp. začíná již u novorozenců, zvyšuje se asi do 12 měsíců věku a poté zůstává relativně stálá až do puberty, kdy dochází k dalšímu významnému kvantitativnímu zvýšení počtu kolonizátorů díky zvýšené aktivitě mazových žláz a změnami v lipidovém složení pokožky (Nagata et al. 2012).

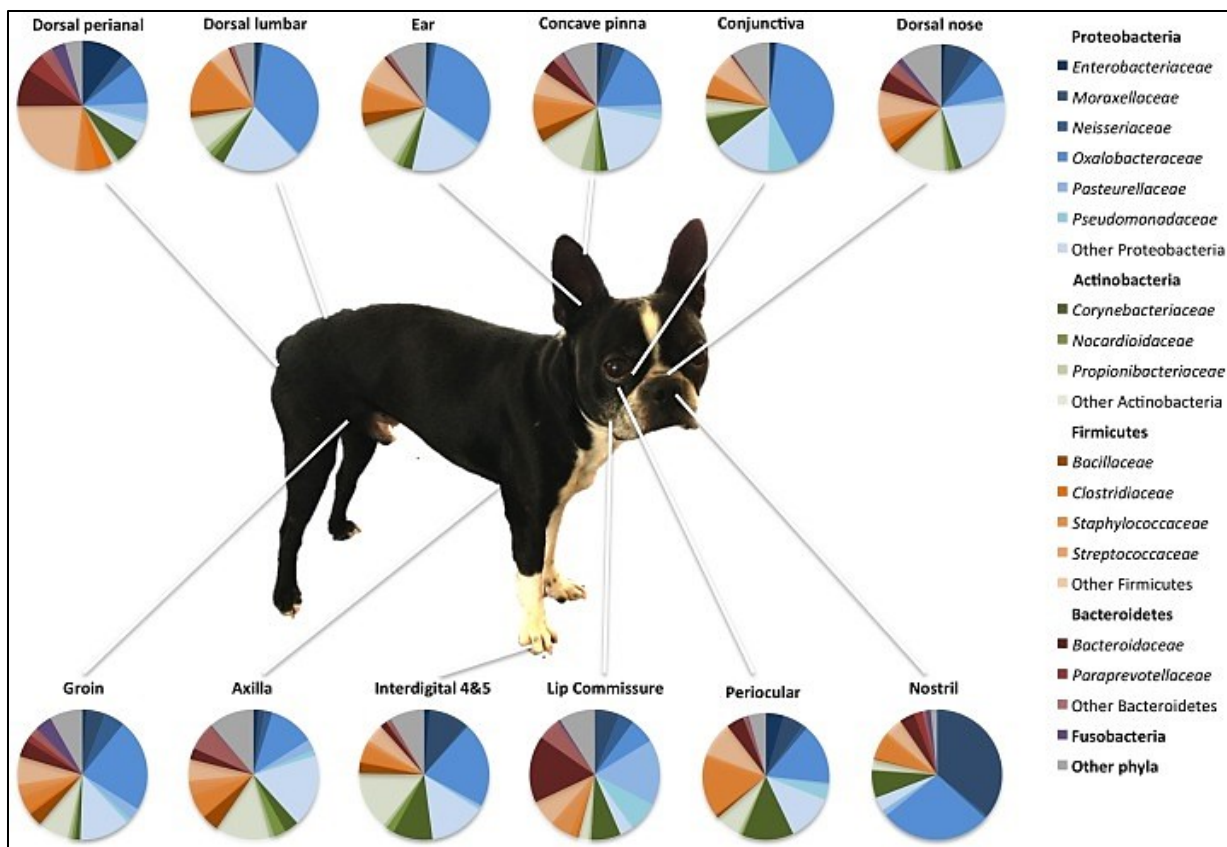
Po pubertě tvoří *Malassezia* spp. 50 – 80 % lidského mykobiomu (Jo et al. 2016). *M. furfur*, *M. sympodialis* a *M. restricta* jsou nejrozšířenější druhy lipofilních kvasinek na lidské pokožce (**Obr. 1**) (Grice et Serge 2011).



Obrázek 1: Lokalizace výskytu *Malassezia* spp. u člověka (Zdroj: doi: 10.3390/jof8070708)

6.2. Přirozená mikrobiota kůže a sliznic psa

Psí kůže je kolonizována velmi podobnými kmeny jako lidská kůže (Rodrigues-Hoffmann 2014). Hlavní kmeny obývající kožní mikroflóru u zdravých psů jsou Proteobacteria, Firmicutes, Fusobacteria, Actinobacteria a Bacteroidetes (Cuscó et al. 2017). Studie sledující psí mikrobiomy kůže a sliznic sledovaly pouze několik kožních míst u malého počtu psů (Sturgeon et al. 2013). Dominujícím kmenem identifikovaným v různých oblastech povrchu kůže a sliznic jsou u psů Proteobacteria (**Obr. 2**) (Rodrigues-Hoffmann et al. 2014).



Obrázek 2: Mikrobiální spektra lokalit mikrobiomů psa

(Zdroj: doi:10.1371/journal.pone.0083197.g004)

Escherichia spp. je běžným nálezem ve zvukovodu zdravých psů (Ngo et al. 2018). Mnoho studií popsalo přítomnost *S. intermedius* a *Malassezia pachydermatis* jako součást běžné mikrobioty psiho ucha. Bylo však také prokázáno, že některé izoláty mají souvislost s otitis externa (Lilenbaum et al. 2000), obzvláště za účasti *Corynebacterium auriscanis* (Henneveld et al. 2012).

Ralstonia spp. je častým rodem identifikovaným ve většině klinických vzorků kožního a slizničního materiálu. Čeleď Moraxellaceae je významně zastoupena v nazální sliznici. Retní komisura bývá kolonizována převážně čeledí Porphyromonadaceae a rodem *Porphyromonas* spp. Další rody, které jsou běžně přítomny v kožních a mukokutánních stěrech, zahrnovaly rody *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Macroccoccus* a *Pseudomonas* (Rodrigues-Hoffmann et al. 2014).

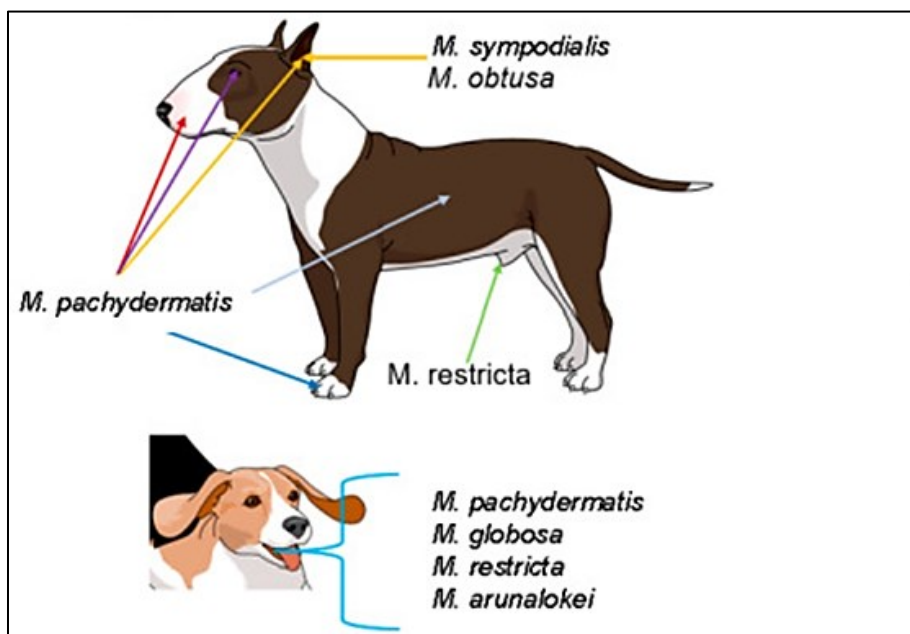
Kultivací bylo prokázáno, že některé z nejběžnějších komenzálních bakterií v kůži zdravých psů zahrnují také *Micrococcus* spp., *S. epidermidis* či *S. xylosus*, α -hemolytické streptokoky, *Clostridium* spp., *Propionibacterium acnes*, *Acinetobacter* spp. a různé gramnegativní aeroby (Saijonmaa-Koulumies et Lloyd 1996).

Escherichia coli, *Proteus mirabilis*, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. a *Pseudomonas* spp. bývají izolovány jako tranzientní flóra v kůži psů, jejichž někteří zástupci se mohou uplatňovat jako patogeny (Miller et al. 2012). Naproti tomu *Micrococcus* spp., gramnegativní aeroby, *Bacillus* spp. a *Staphylococcus intermedius* skupiny SIG, která obsahuje druhy *S. pseudintermedius*, *S. intermedius* a *S. delphini*, byly hlášeny jako nejběžnější mikroby izolované ze psí srsti a vlasových folikulů (Harvey et Lloyd 1995). Fylogenetickou analýzou *nuc* genů byly všechny kmeny SIG ze psů, koček a lidí identifikovány jako *S. pseudintermedius*, kdežto izoláty z holubů, koní a norků patří do komplexu *S. intermedius/S. delphini* (Sasaki et al. 2007).

S. pseudintermedius je často kultivován z nosní dírky, orofaryngu a perianální oblasti a je považován za součást rezidentní bakteriobioty těchto mikrostanovišť, zároveň představuje nejčastějšího zástupce plazmakoaguláza pozitivního stafylokoka u psa (Allaker et al. 1992; Harvey et Noble 1998).

Kvasinky mají sofistikované adhezní schopnosti a výsledkem interspeciální kooperace mikroorganismů je pevnější a organizovanější biofilm, než by byl pouze unispeciální. Tato kooperace byla popsána u *Candida parapsilosis* a *Malassezia pachydermatis* na psí pokožce postižené dermatitis seborrhoica (Bumroongthai et al. 2016).

7 druhů *Malassezia* spp. bylo izolováno ze psů, ale dominantní zastoupení má *M. pachydermatis*, která je častěji izolována z periorálních a interdigitálních oblastí než ze zadních nebo ventrálních jako jsou axily nebo třísla. Tento druh rovněž dominuje ve zvukovodu zdravých psů (Guillot et Bond 2020) (**Obr. 3**).



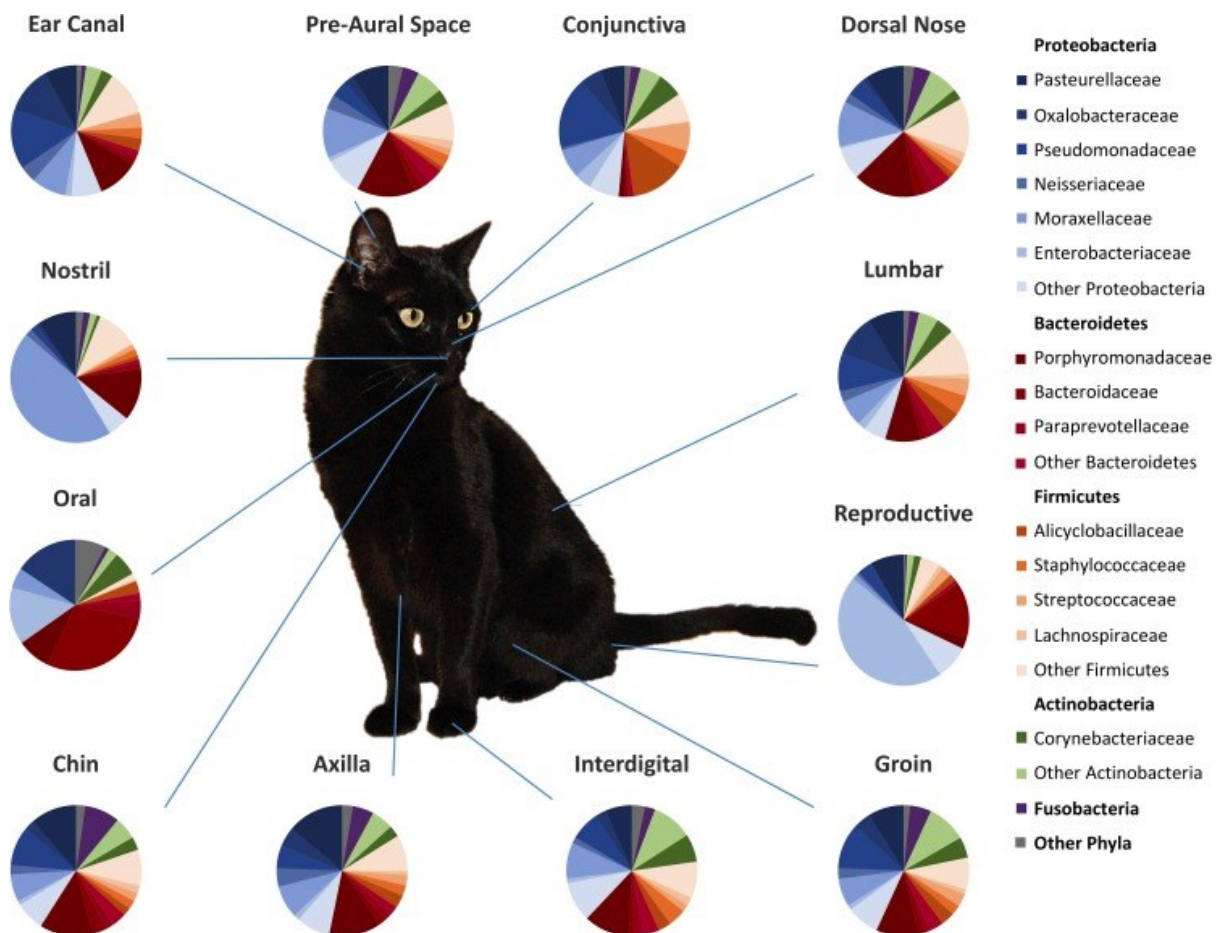
Obrázek 3: Lokalizace výskytu *Malassezia* spp. u psa (Zdroj: doi: 10.1016/j.vetmic.2005.04.016)

6.3. Přirozená mikrobiota kůže a sliznic kočky

Epidermální a slizniční mikrobiota lidské a psí kůže je popsána v mnoha studiích, mikrobiota kočičí kůže zůstává prostudována jen málo. Většina výzkumů kožního mikrobiomu koček je zaměřena na stafylokoky kvůli jejich roli v patogenních procesech (Lu et McEwan 2007; Woolley 2008).

U koček jsou stafylokoky hlavními druhy přirozené mikrobioty kůže a nosní sliznice. Nejčastěji pozorovaný je *S. felis*. *S. pseudointermedius* je izolován již méně a *S. aureus* je izolován velmi zřídka (Lilenbaum et al. 1998), nicméně jeho výskyt významně stoupá u přirozené mikrobioty koček sdílejících domácnost s člověkem. To by naznačovalo jeho přenos z člověka na kočky coby DMZ (Bierowiec et al. 2016). U zvířat se často testuje kolonizace nosní sliznice *S. aureus* (hlavně methicilin rezistentní kmeny – MRSA) k posouzení vztahu s člověkem (Peton et al. 2014).

Bakteriální profil kolonizátorů koček jsou kmeny v tomto pořadí Proteobakterie, Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria a Fusobacteria (**Obr. 4**) (Older et al. 2017).

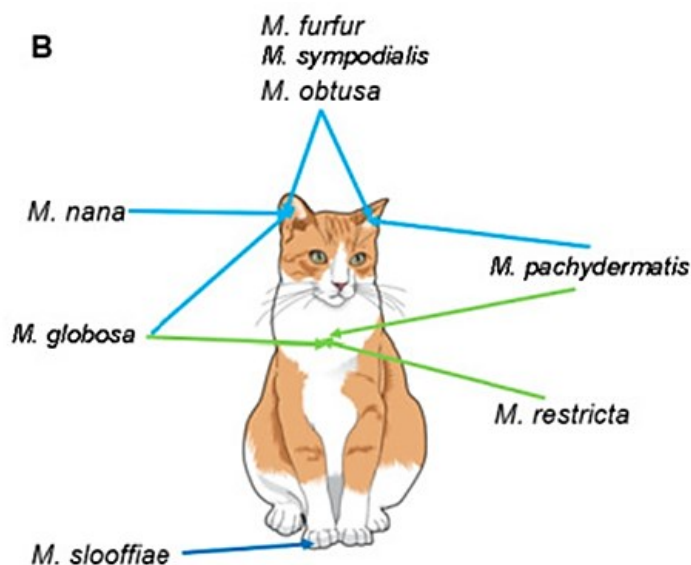


Obrázek 4: Mikrobiální spektra lokalit mikrobiomů kočky

(Zdroj: doi:10.1371/journal.pone.0178555)

Studie založená na kultivaci vzorků s cílem popsat kožní kočičí mikrobiotu zjistila, že dominujícími bakteriálními kolonizátory jsou rody *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Streptococcus* a *Staphylococcus* (Krogh 1976). Analýza kožní mikrobioty různých plemen koček odhalila významné rozdíly v diverzitě alfa (druhová početnost jednoho odběrového místa), přičemž nejrozmanitější společenstva mají plemena Sphynx a bengálská kočka. Bylo zjištěno, že mnoho mikrobiálních taxonů je mezi plemeny koček rozdílně hojně, včetně Veillonellaceae a *Malassezia* spp. Expozice venkovnímu prostředí má však značný vliv na diverzitu beta (druhová početnost mezi vzorky z více odběrových míst), zejména v dutině ústní (Older 2019). Také rozmanitost mykobioty kočky je různá s ohledem na to, kde kočka žije. Kočky žijící trvale v domácnosti, mají mykobiotu výrazně chudší. Dominantní postavení v mykobiotě zde mají lipofilní kvasinky. 11 druhů rodu *Malassezia* bylo izolováno z kočky. Kvantitativní PCR amplifikace potvrdila dominantní kolonizaci druhu *M. restricta* a *M. globosa*, ale nikoli *M. pachydermatis* (Older et al. 2019).

M. pachydermatis dominuje v zevním zvukovodu koček, následována *M. nana*. Dalšími druhy jsou *M. furfur*, *M. globosa*, *M. sympodialis* a *M. obtusa*. Záhyby drápů u koček jsou specifickým mikrostanovištěm pro *M. slooffiae* (Castellá et al. 2005) (Obr. 5).



Obrázek 5: Lokalizace výskytu *Malassezia* spp. u kočky

(Zdroj: DOI: 10.1016/j.vetmic.2005.04.016)

Micrococcus spp., α -hemolytické streptokoky a *Acinetobacter* spp. byly nalezeny u psa i kočky. *Staphylococcus aureus* byl izolován od 9 psů a 4 koček a *S. epidermidis* od 7 psů a 5 koček. β -hemolytické streptokoky, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., *Escherichia coli*,

Proteus mirabilis, *Pseudomonas* spp., a *Alcaligenes* spp. se u koček nacházely vzácněji (Krogh 1976).

6.4. Původci oportunních infekcí člověka

Oportunní patogeny člověka jsou často endogenního původu, obvykle vyvolávají onemocnění jen u jedinců s významně sníženou imunitní odpovědí. Původci patří mezi bakterie, viry (např. herpetické viry), řada parazitů (zvláště prvoků) a většina hub (Brown et al. 2012).

Se sníženou imunitní odpovědí se lze přirozeně setkat u novorozenců, gravidních žen a osob v pokročilém věku, nepřirozeně pak při některých patologických stavech či léčbě imunosupresivními látkami (např. kortikoidy) (Dowling et Levy 2014; Nuriel-Ohayon et al. 2016).

Pokles neutrofilních granulocytů pod 500 buněk/ mm³ (neutropenie) je častá u pacientů s akutní lymfoblastickou leukémií, v indukční fázi chemoterapie, po aktinoterapii a u pacientů v časně fázi po allogenní transplantaci kostní dřeně. Mezi původce infekčních komplikací provázející neutropenii delší než 10 dní se uplatňují především proteobakterie, grampozitivní koky a kvasinky. Ve srovnání s DMZ jsou ve složení oportunních patogenů rozdíly především v kvantitě. (Tab 1).

Tabulka 1: Profil oportunních patogenů při neutropenii DMZ a člověka

PSI a KOČKY	ČLOVĚK
BAKTERIE	BAKTERIE
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Citrobacter</i> sp.
<i>Acinetobacter pittii</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (<i>A. baumannii</i> agg)
<i>Corynebacterium auriscanis</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus schleiferii</i>	<i>S. epidermidis</i>
<i>Streptococcus canis</i>	<i>Streptococcus viridans</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>E. faecium</i>
KVASINKY	KVASINKY
<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Candida non-albicans</i>	<i>Candida non-albicans</i>

K manifestacím těchto původců patří sepse, fungémie, bakteriální pneumonie, nekrotizující enterokolitida, hepatolienální kandidóza, kožní abscedující infekce (Lustberg 2012).

Deficit humorální imunity (např. hypogamaglobulinémii <2,5 g/l) vede k neschopnosti opsonizovat opouzdřené bakterie. Průvodní diagnóza bývá především myelom a chronická lymfoblastická leukémie. Původci těchto infekcí jsou opouzdřené bakterie (**Tab. 2**).

Tabulka 2: Profil oportunních patogenů při hypogamaglobulinémii DMZ a člověka

PSI a KOČKY	ČLOVĚK
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Moraxella canis</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

Klinicky se manifestují jako respirační a gastrointestinální infekce, infekce močových cest, kožní infekce, neuroinfekce (hnisavá meningitida) (Litzman 2019).

Porucha buněčné imunity (T-lymfocyty pod 1000 buněk/mm³ nebo CD4+ lymfocyty pod 250 buněk/μl) vytváří podmínky pro vznik infekcí převážně intracelulárními mikroorganismy, např. *Salmonella enterica*, mykobakterie, *Toxoplasma gondii*, z kvasinek kandidy a *Cryptococcus neoformans*/ *C. gatii* komplex, Cytomegalovirus, Epstein-Barrové virus (Greenberg et Riddell 2000) (**Tab. 3**).

Tabulka 3: Profil oportunních patogenů při deficitu buněčné imunity DMZ a člověka

PSI a KOČKY	ČLOVĚK
BAKTERIE	BAKTERIE
<i>Pasteurella multocida</i> / <i>P. canis</i>	<i>Salmonella enterica</i>
Stafylokoky (<i>S. pseudintermedius</i> , <i>S. schleiferii</i> , <i>S. felis</i> , <i>S. epidermidis</i>)	Stafylokoky (<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i>)
<i>Streptococcus canis</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Neisseria zoodegmatidis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Echerichia coli</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	KVASINKY
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i> / <i>C. gatii</i> komplex
KVASINKY	<i>Candida</i> spp.

<i>Cryptococcus gatii</i>	<i>Malassezia furfur</i>
<i>Candida</i> spp.	<i>Magnusiomyces capitatus</i>
<i>Malassezia</i> spp.	<i>Pneumocystis jirovecii</i>

Kortikosteroidy komplexně zasahují do imunitních mechanismů (funkce B a T-lymfocytů, neutrofilů, monocytů a produkce cytokinů) a zvyšují náchylnost k endogenním i exogenním původcům (**Tab. 4**).

Tabulka 4: Profil oportunních patogenů při dlouhodobé terapii kortikosteroidy

PSI a KOČKY	ČLOVĚK
BAKTERIE	BAKTERIE
<i>Pasteurella multocida/P. canis</i>	<i>Salmonella enterica</i>
Stafylokoky (<i>S. pseudintermedius</i> , <i>S. schleiferii</i> , <i>S. felis</i> , <i>S. epidermidis</i>)	Stafylokoky (<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i>)
<i>Streptococcus canis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Neisseria zoodegmatidis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
KVASINKY	KVASINKY
<i>Cryptococcus gatii</i>	<i>Cryptococcus neoformans/ C. gatii</i> komplex
<i>Candida</i> spp.	<i>Candida</i> spp.
<i>Malassezia pachydermatis</i>	<i>Malassezia furfur</i>

Klinicky se tyto původci uplatňují u pneumonie (bakteriální, mykotická), gastroenteritidy, infekcí kůže a měkkých tkání, hnisavé meningitidy (zvláště kryptokoková), generalizované infekce (sepsy) (Auphan et al. 1995).

6.5. Původci oportunních infekcí DMZ

Podobně jako u člověka oportunní patogeny psů a koček jsou často endogenního původu, která se manifestují převážně u jedinců s významně sníženou imunitní odpovědí. V poslední době eskalující používání širokospektrých ATB a imunosupresiv (zejména cyklosporin) vedlo k nárůstu počtu pacientů s oportunními infekcemi (Dedeaux 2018).

Původci patří mezi bakterie, viry (zejména adenoviry a koronaviry), protozoa a také vláknité houby a kvasinky (Lavan et Knesl 2015).

I novorození DMZ mají přirozeně nedostatečnou imunitní odpověď. Pes a kočka mají endoteliochoriální placentu, která je relativně neprostupná pro imunoglobuliny. Jen malé množství IgG může projít. Novorozené štěně nebo kotě má sérovou koncentraci IgG blížící se 5 % koncentrace dospělého zvířete. Teprve alimentární příjem kolostra poskytuje pasivně získanou imunitní ochranu (Day 2009).

Mezi imunopatologické stavy u DMZ patří i neutropenie. Ta může být spojena s léčbou primárního onemocnění kostní dřeně cytostatiky, s imunitně zprostředkovanou neutropenií nebo nemocí nejasné etiologie. Nejčastější příčiny rozvoje neutropenie jsou nebakteriální infekční onemocnění (např. virová kočičí leukémie – FLV, virová kočičí imunodeficience – FIV, histoplazmóza, kryptokokóza a parvoviroza), přičemž parvovirová infekce je nejčastější příčinou získaného imunodeficitu. Nejméně častá příčina je přirozeně se vyskytující imunitně zprostředkovaná neutropenie (Brown et Rogers 2001). Neutropenie u psů je charakterizována hodnotou <1000 buněk/ μ l. Často je asymptomatická, jen občas je přítomna febrilie (Vail et al. 2009).

Výskyt bakteriémie u veterinárních pacientů zůstává neznámý, protože hemokultury nejsou rutinně odebrány. Britton et al. (2014) zjistili klinické infekce u 25,7 % psů s febrilní neutropenií: pneumonie (50 %), infekce močových cest (27,8 %) a kožní infekce (16,7 %) byly nejčastější komplikace, avšak pouze jeden pes měl potvrzenou bakteriémii (Britton et al. 2014).

Shaffer, Bach et Chun (2016) izolovali z hemokultur u afebrilních psů; *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus canis* a *Staphylococcus pseudintermedius*. Pseudomonáda byla rezistentní k tikarcilinu a tikarcilin/klavulanátu. Z hemokultur febrilních psů byly izolovány *Streptococcus canis*, *Staphylococcus intermedius*, *S. pseudintermedius* a *S. epidermidis*. *S. epidermidis* byl rezistentní k erythromycinu, oxacilinu, a tedy na všechny β -laktamová ATB. *S. pseudintermedius* z febrilních pacientů byl rezistentní k chloramfenikolu, ciprofloxacinu, klindamycinu, erythromycinu, gentamicinu, minocyklinu, tetracyklinu, penicilinu a trimethoprim/sulfamethoxazolu, ale citlivý k amikacinu a oxacilinu. Dále izolovali z cévkované moči *Enterococcus* spp. a *Streptococcus canis* u afebrilních psů a methicilin–rezistentní *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) a smíšená infekce *Escherichia coli* a *Streptococcus canis* (Shaffer, Bach et Chun 2016).

Anaerobiospirillum succiniciproducens je spirální, gramnegativní anaerobní tyčinka, která je součástí normální střevní mikrobioty koček a psů. U imunokompromitovaných hostitelů se však může stát příčinou průjmů a bakteriémie (Kelesidis 2011).

Lipofilní kvasinka, *Malassezia pachydermatis*, je součástí normální kožní mikrobioty tvořící kvasinkovou složku různých psů, koček i jiných savců, ale za určitých okolností se stává oportunním patogenem způsobující otitis externa a dermatitidy (Díaz 2022). Byly však vzácně zaznamenány i případy systémových infekcí touto kvasinkou. I její schopnost vytvářet biofilmy na organických površích zvyšuje její predispozici k patogenitě (Cannizzo et al. 2007).

Candida albicans byla nejčastěji izolovanou kvasinkou z nosní sliznice u klinicky asymptomatických domácích mazlíčků. Pro neutropenické lidské i zvířecí pacienty se však může stát nebezpečným původcem sepsí. *M. pachydermatis* se nejčastěji vyskytovala v materiálu ze zevního zvukovodu a kožních šupin psů a koček (Wipler et al. 2018). Jako lokální patogen se uplatňuje při narušení mikrobiomu např. alergickou reakcí na hygienické prostředky nebo genetickou predispozicí pro zvýšenou tvorbu kožního mazu (seborea), jež nutričně způsobí překotný růst a následnou dominanci *M. pachydermatis* nad ostatní složky mikrobiomu (Prohic et al. 2016).

Bakteriobiom kočičí ústní dutiny je interanimálně velmi specifický. Byly dokumentovány významné interakce mezi mikroorganismy. *Bergeyella zoohelcum*, gramnegativní nepohyblivá aerobní tyčinka, coby součást psího a kočičího mikrobiomu horních cest dýchacích (HCD), byla identifikována jako potenciální biomarker zdravého kočičího orálního mikrobiomu, avšak ve spojení s kvasinkami, *Malassezia limiteda*, *M. arunalokei* a *Saccharomyces cerevisiae*, případně vláknitými houbami *Cladosporium penidielloides/salinae* a některými aspergily, mohou vyvolávat chronické gingivitidy koček (Krumbeck et al. 2021; Vapniarsky et al. 2022). *Bergeyella zoohelcum* sama o sobě může způsobovat při neutropenii způsobenou rozvinutím infekce FLV vážné respirační onemocnění koček (Garrity 2011).

Whyte et al. (2017) provedli studii mikrobiomu ústní dutiny divokých koček. Nejčastěji nalezenými bakteriemi byly α -hemolytické streptokoky (23,5 %), *Staphylococcus* spp. (17,6 %), *Neisseria* spp. (15,7 %) a *Pasteurella multocida* (11,8 %). Byla zjištěna významná souvislost mezi věkem a onemocněním dutiny ústní. Průměrný počet bakteriálních kmenů byl vyšší u zdravých úst než u nemocných úst. Z úst nemocných koček byl nejčastěji izolovaným rodem *Staphylococcus* (23,1 %), zatímco α -hemolytický streptokok byl nejrozšířenější ve zdravých ústech (33,3 %). Mezi *Porphyromonas* spp. a izolací vláknitých hub byla zaznamenána rovněž významná souvislost (Whyte et al. 2017). Z koček byly získány čtyři klinicky asymptomatických spojivkových vaků. Kultivací byly prokázány bakterie

a/nebo houby u 49 ze 120 koček (40,8 %). Mikrobiota koček vykazovala širší bakteriální diverzitu. Bylo izolováno více grampozitivních druhů. 71 % byly grampozitivní bakterie, 26 % byly gramnegativní bakterie a 3 % byly houby. Nejčastěji izolovaným druhem byl *Staphylococcus felis* (17/86; 19,8 %). *Moraxella osloensis* (5/86; 5,8 %) byla nejčastějším gramnegativním druhem (Büttner et al. 2019). Co se týče prevalence kmenů MRSP byl izolován u dvou ze 123 zdravých psů, jeden z výtěru spojivky a druhý z rektálního výtěru. *Staphylococcus pseudintermedius* a *S. schleifferei* var. *coagulans* se však během patogenních procesů uplatňují jako významné patogeny u psů i koček. Je tedy pravděpodobné, že se v případě propuknutí infekce jedná o rozvrat individuálního poměru jednotlivých složek mikrobiomu (May et al. 2012).

7. ATB REZISTENCE OPORTUNNÍCH PATOGENŮ

Rozvoj ATB rezistence vůči antibiotikům je velkým problémem na celém světě. Normální orofaryngeální, střevní a kožní mikrobiota v něm hraje důležitou roli. Přirozená mikrobiota savců obsahuje v různé míře geny ATB rezistence i u jedinců bez expozice komerčně připraveným terapeutikům. Zdá se, že několik faktorů zvyšuje počet rezistentních bakterií. Jedním z důležitých faktorů je expozice střevní mikrobioty antibakteriálním léčivům. ATB používaná jako výživové suplementy hrají důležitou roli ve vývoji ATB rezistence u normální bakteriobioty (Sørum et Sunde 2001).

Další faktory jako je teplotní stres, malé životní prostory pravděpodobně také přispívají k výskytu ATB rezistence u normální bakteriobioty. Bakteriobiota zvířat byla studována s ohledem na vývoj ATB rezistence po dobu čtyř desetiletí, ale existuje jen málo studií mikrobiomu, které by se touto problematikou přímo zabývaly (Penders et al. 2013).

7.1. Rezistence u Proteobacteria

Proteobacteria (Pseudomonadota) tvoří největší kmen gramnegativních bakterií. Je charakterizován šesti třídami, z nichž zástupci Betaproteobacteria, Gamaproteobacteria a Alphaproteobacteria byly izolovány z klinického materiálu savců jako oportunní původci infekcí (viz **Tabulka 5**).

Tabulka 5: Zástupci Proteobacteria izolovaných z klinického materiálu člověka a DMZ

Třída bakterií	Oportunně patogenní rody izolované z klinického materiálu lidí a zvířat
Alphaproteobacteria	<i>Sphingomonas</i> , <i>Sphingobium</i> , <i>Ochrobactrum</i> , <i>Brucella</i> , <i>Brevundimonas</i> , <i>Rhizobium</i> etc.
Betaproteobacteria	<i>Alcaligenes</i> , <i>Ralstonia</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Kingella</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Derxia</i> , <i>Bordetella</i> , <i>Chromobacterium</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Eikenella</i> , <i>Bergeyella</i> , <i>Achromobacter</i> etc.
Gamaproteobacteria	<i>Aeromonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Shewanella</i> , <i>Pasteurella</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Xanthomonas</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Acinetobacter</i> , enterobakterie (<i>Escherichia</i> , <i>Pantoea</i> , <i>Morganella</i> , <i>Leclercia</i> , <i>Hafnia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Providencia</i> , <i>Raoultella</i> , <i>Buttiauxella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Citrobacter</i> etc.)

Zástupci čeledi Sphingomonadaceae jsou přísně aerobní chemoheterotrofní s charakteristickou žlutou pigmentací. Rody *Sphingomonas* a *Sphingobium* jsou časté kontaminanty vody (Yabuuchi et al. 2002). V přírodě jsou velmi rozšířeny. Vyskytují se především v půdě, slaných i sladkých vodách, na povrchu rostlin, ale také v klinických vzorcích (White et al. 1996).

Sfingomonády jsou všudypřítomné bakterie, které se často vyskytují kromě vodního prostředí také v hemodialyzačních tekutinách nebo v lékových roztocích, které jsou považovány za sterilní. Mají dobrou adhezenci k povrchům a schopnost vytvářet biofilmy na potrubí, nádržích a vanách (Gomila et al. 2006).

Nejvyšší hodnoty prevalence ATB rezistence byly pozorovány právě u sfingomonád, a to k β -laktamům, ciprofloxacinu a kotrimoxazolu. Ve vodovodní vodě a ve vodě ze zubařských křesel převládala ATB rezistence více než u ostatních izolovaných bakterií. Rezistence často souvisela více s druhem mikroorganismu než s místem nebo kmenem, což naznačuje důležitost jejich vertikálního přenosu (Vaz–Moreira et al. 2011). Jako oportunní patogen se nejčastěji uplatňuje typový druh *Sphingomonas paucimobilis*. U imunosuprimovaných pacientů způsobuje osteomyelitidy (Charity et Foukas 2005), nebo iatrogenní bakterémie cestou kontaminovaných lékových roztoků aplikovaných intravenózně (Ryan et Adley 2010).

Rod *Ochrobactrum* je geneticky blíže příbuzný s brucelami. Několik druhů je typicky půdních (Bathe et al. 2006). Lze je nalézt kromě půdy i ve vodním prostředí, v tlustém střevě

zvířat a v rhizosféře rostlin (Jäckel et al. 2017). *Ochrobactrum* spp. je pravděpodobně také součástí normální mikrobioty lidského tlustého střeva (Möller et al. 1999). Z nich pouze *O. anthropi*, *O. intermedium* a *O. pseudintermedium* způsobují oportunní infekce (Kämpfer et al. 2007). Ačkoli druhy rodu *Ochrobactrum* byly uznány jako oportunní lidské patogeny s nízkou virulencí, většina hlášených případů se týká *O. anthropi*, který je obvykle spojen s intravenózními katétry infekcemi (Cieslak et al. 1992).

Nejtěsněji příbuzný patogenním brucelám ze všech zástupců rodu je *O. intermedium* (Velasco et al. 1998), který se stává oportunním lidským patogenem infikujícím imunokompromitované hostitele. Má sklon k tvorbě abscesů a je znám častou multirezistencí k ATB (Kassab et al. 2021; Aujoulat et al. 2014). Citlivý však bývá k minocyklinu a karbapenémům (Bharucha et al. 2016).

Rod *Brevundimonas* obsahuje rovněž oportunní zoopatogeny. *Brevundimonas* spp. byl izolován z mnoha prostředí, včetně půd, různě znečištěných vod a aktivovaného kalu v čističkách (Abraham et al. 2010; Ryu et al. 2007). Jako oportunní patogeny imunokompromitovaných pacientů se uplatňují zejména *B. diminuta* a *B. vesicularis*. Byla zaznamenána rezistence k sulfonamidům, nepotencovaným aminopenicilinům, kolistinu, kyselině nalidixové, fluorochinolonům a aztreonamu. U cefalosporinů 3. generace se citlivost různí. Často jsou citlivé k aminoglykosidovým (gentamicin, amikacin, tobramycin) a tetracyklinovým ATB. Jakkoli jsou tyto bičíkaté bakterie v literatuře uváděny jako méně klinicky významné, bylo prokázáno, že systémové infekce způsobené *Brevundimonas* spp. jsou invazivní a závažné. (Ryan et Pembroke 2018).

Rod *Rhizobium* je charakterizován fixací vzdušného dusíku a mutualistickým vztahem s rostlinami čeledi Fabaceae, na jejichž kořenovém systému vytváří typické hlízkky. *Rhizobium radiobacter* (dř. *Agrobacterium radiobacter*) je ovšem saprofytický organismus degradující mrtvý rostlinný materiál jako zdroj živin (Lhotský 2015). Jeho výskyt je typický v zemědělské půdě a je oportunním patogenem také živočichů a člověka (Detrait et al. 2008). Izolace z krve byla nejčastěji zaznamenána u hemodialyzovaných pacientů se zavedeným katetrem (Hanada et al. 2009).

Byly zaznamenány i případy iatrogenních enoftalmitid po aplikaci intravitreální injekce. Izoláty *R. radiobacter* byly rezistentní k ampicilinu, amoxicilin/klavulanátu, trimethoprim/sulfamethoxazolu, cefotaximu a ceftazidimu, naopak citlivé na cefuroxim, cefepim, amikacin, gentamicin, imipenem, meropenem, ciprofloxacin, levofloxacin a piperacilin/tazobaktam (Parlak et al. 2020). Citlivost na aminoglykosidová ATB

a cefalosporiny 3. generace se u *Rhizobium* spp. různí a je třeba ji důsledně *in vitro* testovat (Işikgoz Taşbakan et al. 2008).

Alcaligenes faecalis se běžně vyskytuje v půdě, ve všech typech vod a v nemocničních zařízeních, jako jsou respirátory, hemodialyzační systémy a intravenózní roztoky. V klinickém materiálu jako byly izolovány z řady klinických materiálů, jako je např. moč, krev, výtok z rány, stolice, mozkomíšni mok a respirační sekrety (Bizet et Bizet 1997).

Al. faecalis obvykle způsobuje oportunní infekce lidí jako jsou endokarditida, bakterémie, meningitida, endofthalmitida, infekce kůže a měkkých tkání, močového ústrojí, otitis media, peritonitidu a pneumonie. Infekce *A. faecalis* jsou však často obtížně léčitelné kvůli jeho zvýšené odolnosti k několika ATB jako jsou protipseudomonádové peniciliny, cefalosporiny, karbapenemy, aminoglykosidy a chinolony (Pereira et al. 2000).

Burkholderia cepacia, jako klinicky nejvýznamnější zástupce rodu, je primárním patogenem *Allium cepa*, ale uplatňuje se jako nozokomiální původce infekcí. *B. cepacia* se může objevit jako oportunní infekce u hematologických pacientů. U *B. cepacia* byla zaznamenána rezistence k aminoglykosidům, cefalosporinům 3. a 4. generace, kolistinu a polymyxinu B a jen málo izolátů vykazovalo intermediární citlivost. Mikroorganismus je naopak citlivý na piperacilin/ tazobaktam, karbapenemy, fluorochinolony, kotrimoxazol a chloramfenikol (Baul et al. 2018).

Achromobacter xylosoxidans je spojována s mnoha nozokomiálními oportunními onemocněními v humánní medicíně. Jedním z takových projevů infekce je endokarditida. Infekce *Achromobacter* spp. odolávají léčbě kvůli snížené citlivosti k široké škále ATB. Bylo popsáno několik případů oportunních infekcí *A. xylosoxidans* u zvířat, např. endokarditida u imunokompromitovaného psa (Steiner et al. 2021). *A. xylosoxidans* je primárně rezistentní vůči benzylpenicilinu, cefalosporinům 1. a 2. generace, glykopeptidům, kyselině fusidové, makrolidům, linkosamidům, streptograminům, rifampicinu a oxazolidonům (Hu et al. 2015). Podle Evropského výboru pro testování antimikrobiální citlivosti (EUCAST) jsou ampicilin, amoxicilin, ceftriaxon, cefotaxim a ertapenem na tuto bakterii rovněž neúčinné (Eucast 2021).

Pseudomonas je rod nefermentujících aerobních tyčinek, z nichž jako oportunní patogen se uplatňuje především *P. aeruginosa*. Je to typický oportunní patogen s výskytem v odpadních vodách, výlevkách, květináčích, v půdě, ve stolici lidí i DMZ. *P. aeruginosa* často kontaminuje poškozené tkáně imunodeficientních lidí i zvířat. Kolonizuje sliznice respiračního a močového traktu, dobře adhezuje také k neživým povrchům (dna bazénů, stěny akvárií, ale také lékařské nástroje a katetry). Odhaduje se, že až 10 % nozokomiálních infekcí

je způsobeno *P. aeruginosa* (Sinha et al. 2023). Díky časté expozici nemocničnímu prostředí není výjimkou ATB multirezistence, a proto je léčba infekce *P. aeruginosa* velmi obtížná pro její rychlou adaptaci k toxickému vlivu ATB (Blomquist et Nix 2021). Primární rezistenci *P. aeruginosa* zapříčiňuje selektivně propustná efluxní pumpa, dále schopnost tvořit biofilmy a také malá permeabilita buněčné stěny. Byly u ní zaznamenány rezistence k cefalosporinům 3. i 4. generace, karbapenemům i fluorochinolonům a díky β -laktamázám také k cefalosporinům a protipseudomonádovým penicilinům (Qin et al. 2022)

Bičíkaté bakterie rodu *Stenotrophomonas* jsou v přírodě kosmopolitně rozšířené. *S. maltophilia* je běžně se vyskytující bakterie ve vodách, půdě, rostlinných rhizosfér i zvířat jako komenzál. Oportunní infekce může vyvolávat v řadě orgánů a tkání; organismus se běžně vyskytuje při infekcích dýchacích cest. *S. maltophilia* je patogen klasifikovaný jako problém veřejného zdraví, který infikuje kriticky nemocné pacienty a je často rezistentní antimikrobiální léčbě (Brooke 2012). Stejně jako *P. aeruginosa*, má i *S. maltophilia* v biomembráně výkonné efluxní pumpy, které selektivně vyloučí molekuly toxických látek ven z buňky. *S. maltophilia* je přirozeně rezistentní k mnoha širokospektrým ATB (včetně všech karbapenemů) (Gil–Gil et al. 2020). K testování ATB citlivosti by se pro značnou nespolehlivost u tohoto druhu neměla používat disková difúzní metoda (DDM). Vhodnější je metoda ředění ATB v agaru (Pankuch et al. 1994). V klinické praxi již byly zaznamenány geneticky podmíněné sekundární rezistence nejen k β -laktamovým ATB a fluorochinolonům, ale také ke kotrimoxazolu, na který bývá obvykle citlivá (Al Jasser 2004).

Acinetobaktery jsou heterogenní skupinou nepohyblivých mikroorganismů, které jsou typicky volně žijícími saprofyty. Nacházejí se téměř všude roztroušeně v životním prostředí. Různé druhy rodu jsou však obecně spojeny s půdou, vodou, odpadními vodami, ale i jako kontaminanty potravin (Jung et Park 2015). *Acinetobacter* spp. je považován za součást přirozené mikrobioty trávicího traktu, kůže, sliznic nebo hltanu v lidských respiračních sekretech (Munoz–Price et Weinstein 2008). Způsobuje lokální i systémové infekce jako jsou pneumonie, sepsis a infekcí ran (Kerr et al. 2006)

Podstata ATB rezistence u rodu *Acinetobacter* spp. nejsou tak dobře prozkoumány jako u jiných oportunně patogenních bakterií. Rod *Acinetobacter* zahrnuje oportunní patogeny a neškodné saprofyty. Typový druh, *A. baumannii*, je nozokomiální patogen známý častou ATB multirezistencí. V Turecku byly zaznamenány časté rezistence k amikacinu, ceftazidimu, fluorochinolonům a karbapenemům, dobrá citlivost zůstává ke kolistinu (Boral et al. 2019).

Z gamaproteobakterií je významný komplex komenzálů z horních cest dýchacích lidí i domácích zvířat *Haemophilus–Actinobacillus–Pasteurella* (HAP), který obsahuje několik veterinárních i humánních oportunních patogenů, kteří obsahují přenosné plazmidy a transpozony kódující ATB rezistenci. ATB rezistence těchto klonů pak kolísá v důsledku přenosných plazmidů, stejně jako trvalejší rezistence zprostředkovaná chromozomálními změnami (Willson 1990).

Geny rezistence komplexu HAP kódují rezistence k tetracyklinům, aminoglykosidům, sulfonamidům, makrolidům a β -laktamovým ATB (Michael et al. 2018).

Nejnámějším rodem enterobakterií (čeleď Enterobacteriaceae) je bezesporu rod *Escherichia*. Přestože je mnoho bakterií rodu *Escherichia* neškodnými komenzály, určité kmeny jsou pro člověka patogenní. Jsou známy jako nejčastější původce infekcí močových cest a zdroj infekcí gastrointestinálního traktu (GIT). Přestože je drtivá většina těchto infekcí způsobená *E. coli*, některé další druhy rodu *Escherichia* se také podílejí na lidských onemocněních. Druhy rodu *Escherichia* dokážou syntetizovat vitamín K₂ (Bentley et Meganathan 1982).

E. coli je nejpočetnější fakultativně anaerobní bakterie tlustého střeva savců, kde syntetizuje vitamín K₂ přes 2-sukcinyl-5-enolpyruvyl-6-hydroxy-3-cyklohexen-1-karboxylovou kyselinu (Jiang et al. 2007). Oportunní infekce nastávají narušením střevní mikrobioty např. podáváním ATB, k nimž je rezistentní, nebo imunosupresí, přičemž dochází k dysbióze v její prospěch. Dalším faktorem ovlivňující oportunní patogenitu *E. coli* je extraintestinální přechod do močového ústrojí či peritoneální dutiny (Sora et al. 2021).

Multirezistence u *E. coli* se stala znepokojujícím problémem, který je stále více pozorován v humánní, ale také ve veterinární medicíně po celém světě. *E. coli* je primárně citlivá skoro na všechna klinicky používaná ATB proti gramnegativním bakteriím. Má však velkou schopnost získávat přenášené geny horizontálním přenosem (Desvaux et al. 2020).

E. coli získává geny kódující rozšířené spektrum β -laktamáz (ESBL) (kódující rezistenci k širokospektrým cefalosporinům), karbapenemázy (kódující rezistenci ke karbapenemům), 16S rRNA methylázy (kódující panrezistenci k aminoglykosidům), plazmidem zprostředkované chinolonové rezistence (PMQR) (nesoucí rezistenci k chinolonům) a *mcr* geny (kódující rezistenci k polymyxinu (Poirel et al. 2018).

Ačkoli genetický přenos syntézy karbapenemáz bylo zaznamenáno v humánním lékařství, ale zanedbáváno u zvířat, je zřejmé, že rezistence *E. coli* ke kolistinu souvisí spíše s jeho použitím veterinární medicíně v celosvětovém měřítku (Zhang et al. 2022). Producenti

ESBL z řad enterobakterií izolovaných u zvířat, se liší od lidských izolátů. Kromě toho zvířecí izoláty *E. coli* často vykazují rezistenci také k jiným většinou starším ATB, včetně tetracyklinů, amfenikolů, sulfonamidů, trimethoprimu a fosfomycinu (Peirano et Pitout 2019).

7.2. Rezistence u Firmicutes

Firmicutes (Bacillota) tvoří kmen grampozitivních bakterií s různým vztahem ke kyslíku. Je charakterizován jedenácti třídami, z nichž zástupci tříd Bacilli, Erysipelotrichia a Clostridia byli izolováni z klinického materiálu savců (Tab. 6).

Tabulka 6: Zástupci Firmicutes izolovaných z klinického materiálu člověka a DMZ

Třída bakterií	Oportunně patogenní rody izolované z klinického materiálu lidí a zvířat
Bacilli	<i>Weissella, Aerococcus, Vagococcus, Enterococcus, Lactococcus, Bacillus, Lysinibacillus, Streptococcus, Staphylococcus</i>
Erysipelotrichia	<i>Erysipelothrix,</i>
Clostridia	<i>Clostridium</i>

Z tříd Bacilli jsou nejvýznamnějšími oportunními patogeny s prokázanou rezistencí k ATB rody *Staphylococcus* a *Enterococcus*.

Stafylokoky tvoří běžnou součást mikromikrobioty kůže i sliznice. Volně v přírodě se téměř nevyskytují, neboť jsou poměrně úzce spjaty s hostitelem. Mohou se však stát hygienicky významnou potravinovou kontaminantou (Kadariya 2014). Potenciálně patogenní druhy se stávají epidemiologicky významnými původci onemocnění lidí nebo zvířat. Schopnost enzymaticky koagulovat králičí plazmu rozlišuje stafylokoky na plazmakoaguláza pozitivní (PkPS) a plazmakoaguláza negativní (PkNS) (Tab. 7).

Tabulka 7: Klasifikace stafylokoků izolovaných z klinického materiálu člověka a DMZ

Koagulace králičí plazmy	Druhy stafylokoků
pozitivní	<i>S. aureus, S. delphini, S. intermedius, S. hyicus, S. pseudintermedius, S. schleiferii subsp. coagulans</i>
negativní	<i>S. epidermidis, S. xylosus, S. sciuri, S. hominis, S. capitis, S. felis, S. haemolyticus, S. equorum, S. saprophyticus, S. schleiferii subsp. schleiferii</i>

V klinické praxi představují díky své biochemické aktivitě největší problém PkPS. V humánní medicíně *S. aureus* a ve veterinární ohledně DMZ *S. pseudintermedius* a *S. schleiferii* subsp. *coagulans*. Původní citlivost zlatého stafylokoka k penicilinu se postupně stala již od 50. let vzácností. S jeho s jeho globálním rozšířením a často neuvážené aplikaci se objevily také rezistentní kmeny. Po roce 1960 bylo rezistentních k penicilinu až 80 % kmenů (Crossley 2009).

Principiální příčinou je syntéza enzymu β -laktamázy, která katalyzuje hydrolyzu β -laktamového kruhu. Syntézu tohoto enzymu kóduje gen *blaZ*, lokalizovaný na mobilním plazmidu, který se šíří velmi snadno horizontálně i vertikálně (Carvajal et al. 2020).

ATB rezistence *S. aureus* je kódována plazmidy, které se horizontálně i vertikálně přenášejí transformací mezi kmeny (Schumacher et al. 2014). Kmeny rezistentní k methicilin/oxacilinu (MRSA/ORSA) vznikly již v roce 1961, tedy již dva roky po objevu methicilinu, kdy byl ve Velké Británii poprvé zaznamenán kmen MRSA, který je stále na vzestupu (Hartman et Tomasz 1984).

Bierowiec et al. (2016) porovnávali prevalenci *Staphylococcus aureus* u domácích a divokých koček. U domácích koček byly vzorky pozitivní u 19,17 %, zatímco jeho prevalence v populaci divokých koček byla pouze 8,3 %. Statisticky významný se ukázal i rozdíl v analýze ATB rezistence na úrovni genotypu i fenotypu. Izoláty zlatého stafylokoka z koček v zájmovém chovu s větší pravděpodobností vykazovaly ATB rezistenci. Prevalence methicilin–rezistentního *S. aureus* (MRSA) v domácnostech byla 10,21 %, zatímco u divokých koček to bylo pouze 1,4 %. Je tedy vysoce pravděpodobné, že blízký kontakt s lidmi koreluje s vyšším rizikem kolonizace koček *S. aureus* nesoucího geny rezistence vůči antibiotikům (Bierowiec et al. 2016).

Aminoglykosidová ATB jsou *S. aureus* inaktivována převážně enzymaticky. Existuje i celá řada mechanismů fosforylace a acetylace. U *S. aureus* byla zaznamenána rezistence k streptomycinu, kanamycinu, gentamycinu, tobramycinu, amikacinu a dalším (Výmola et al. 1988).

Rezistence vázaná na chromozómy a plazmidy inaktivuje tato ATB s postupným vývojem. Kmeny rezistentní vůči streptomycinu a kanamycinu jsou citlivé na gentamicin, tobramycin, netilmicin a amikacin. I při širokospektré rezistenci může být stále zachována citlivost na amikacin (Kolář 2008).

Společná rezistence k makrolidům, linkosamidům a streptograminu B může být způsobena indukovanou rezistencí ke klindamycinu, a proto se při testování ATB citlivosti

difúzní diskovou metodou klade disk s erythromycinem vedle disku s klindamycinem. Rezistentní kmen k erythromycinu potlačuje citlivost ke klindamycinu a je k němu tedy *in vivo* rovněž rezistentní (Urbášková et al. 2014).

Rezistentní kmeny k vankomycinu (VRSA) pocházejí ze specifických prekurzorových organismů: MRSA obsahující plazmid typu pSK41 a genu *vanA* od vankomycin rezistentních enterokoků. Izoláty *S. aureus* s úplnou rezistencí k vankomycinu byly poprvé hlášeny v USA v roce 2002 (Walters et al. 2015).

Methicilin–rezistentní *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) je hlavní příčinou kožních infekcí u psů a také představuje zoonotické riziko pro člověka. Přítomnost antimikrobiálních a virulentních genů MRSP byla provedena pomocí PCR. Multirezistentní kmeny byly zaznamenány s rezistencí k penicilinu, makrolidům a linkosamidům, aminoglykosidům, tetracyklinovým ATB a trimethoprim/sulfamethoxazolu (Silva et al. 2021).

Enterokoky byly objeveny jako bakterie mléčného kvašení. Tvoří součást střevní mikrobioty savců i ptáků. Jsou odolné k vnějším podmínkám, ačkoli se v přírodě přirozeně nevyskytují. Přežívají také vyšší pH kolem 8. Jejich přítomnost ve vodě svědčí o fekálním znečištění (Wheeler et al. 2002). Díky jejich značné osmotoleranci není výjimkou ani jejich výskyt ve slané vodě (Lleò et al. 2005).

Klinicky významné dva druhy enterokoků se běžně vyskytují v lidské střevní mikrobiotě, a to nejčastěji *E. faecalis* a o něco vzácněji *E. faecium*. U psů a koček dominuje naopak *E. faecium* a *E. faecalis* je jen nepatrně méně častý (Iseppi et al. 2015). Běžně je *E. faecalis* izolován také z distálních částí urethry jako komenzál (Krawczyk et al. 2021).

Jako součást psí a koňské střevní mikrobioty je častý také *E. durans*. Psi mohou být kolonizováni enterokoky a mohou se stát rezervoáry virulentních a multirezistentních kmenů (Pillay et al. 2018). U psů a koček byly detekovány kmeny rezistentní k tetracyklinu a erythromycinu (Iseppi et al. 2015).

Historicky nejznámější je však použití avoparcinu jako krmného suplementu v souvislosti s nárůstem rezistence *E. faecium* k vankomycinu u hospodářských zvířat a případně u lidí konzumujících jejich produkty (Bager et al. 1997).

7.3. Rezistence u Actinobacteria

Actinobacteria (Actinomycetota) je dalším kmenem grampozitivních z většiny aerobních bakterií. Jsou nezastupitelnou složkou půdního edafonu. Jejich nepostradatelným

významem je dekompozice organických látek jako je celulóza a chitin, a proto jsou také součástí uhlíkového koloběhu v přírodě a tvorby humusu. (Zhang et al. 2019).

Jako oportunní patogeny v humánním i veterinárním lékařství mají význam rody *Corynebacterium*, *Cellulosomicrobium*, *Rhodococcus*, *Kocuria*, *Streptomyces*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Dermabacter*, *Brachybacterium*, *Dietzia*, *Propionibacterium*, z nichž nejvýznamnější z hlediska vzniku rezistencí na antimikrobiální látky jsou korynebakteria, která vykazují rezistence konstitutivního typu na makrolidy, linkosamidy a streptogramin B (MLSB) (Olender 2013).

Součástí nasofaryngeální mikrobioty je často izolovaný komensální druh Oportunní infekce *Corynebacterium striatum* jsou popisovány v posledních 2 desetiletích se vzrůstající tendencí, přičemž většinu tvoří bakterémie, sepse a někdy endokarditida. Mc Mullen et al. (2017) odebrali a charakterizovali 50 vzorků *C. striatum* od hospitalizovaných pacientů. Většina charakterizovaných kmenů *C. striatum* vykazovala rezistenci k běžně používaným ATB s inhibičním účinkem na grampozitivní bakterie (penicilin, ceftriaxon, meropenem, klindamycin a tetracyklin). Také všechny testované izoláty (n=50) byly rezistentní na daptomycin, na což je při léčbě infekcí *C. striatum* nutné brát zřetel (Mc Mullen et al. 2017).

7.4. Rezistence u Bacteroidetes

Poměrně početným kmenem gramnegativních bakterií jsou Bacteroidetes (Bacteroidota), kteří tvoří významnou většinu savčí mikrobioty střeva, ústní dutiny, genitální sliznice nebo slin. Z klinického hlediska se významné rody nachází v třídách Bacteroidia a Flavobacteriia (viz Tab 8).

Tabulka 8: Zástupci Bacteroidetes izolovaných z klinického materiálu člověka a DMZ

Třída bakterií	Oportunně patogenní rody izolované z klinického materiálu lidí a zvířat
Bacteroidia	<i>Porphyromonas</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Parabacteroides</i> , <i>Prevotella</i>
Flavobacteriia	<i>Flavobacterium</i> , <i>Sphingobacterium</i> , <i>Bergeyella</i> , <i>Capnocytophaga</i>

Epidemiologicky významné patogeny s popsanou ATB rezistencí patří do rodu *Bacteroides*. Bakteroidy jsou striktně anaerobní a tvoří největší podíl ve střevním mikrobiomu (až 10¹¹. buněk v 1 g stolice) (Bednář et al. 1996). Komplex druhů bakteroidů z příbuzenstva *B. fragilis* ve zvířecím a lidském střevě zahrnuje druhy *B. fragilis* s.str., *B. thetaiotaomicron*

B. vulgatus, *B. ovatus*, *B. uniformis* a *Parabacteroides distasonis*, z nichž *B. fragilis* je typovým druhem (López-Pintor et al. 2021). Druhy tohoto komplexu vykazují stále vyšší míru ATB rezistence a množství mechanismů proti toxickému působení bakteriostatických/baktericidních léčiv (klindamycin, kombinovaných β -laktamových ATB s inhibitory β -laktamáz a karbapenemy) roste ve srovnání s jinými anaerobními patogeny (Wexler 2007).

Celosvětově je hlášeno více než 90 % kmenů *Bacteroides* a *Parabacteroides* spp. rezistentních k penicilinu a ampicilinu díky produkci β -laktamáz. Citlivost na jiná β -laktamová ATB včetně cefotetanu, cefoxitinu a ceftriaxonu je však variabilní. Studie z USA uvádí míru rezistence k cefoxitinu více než 5 % všech testovaných izolátů, ale vyšší u komplexu non-*fragilis*, přičemž u *B. ovatus* a *P. distasonis* se zvýšila až o 15 % (Snydman et al. 2017).

Podobně snížená citlivost na cefoxitin byla pozorována častěji u *B. non-fragilis* *Bacteroides* spp. v kanadském průzkumu z let 2012 až 2019 (Forbes et al. 2021). V některých částech Evropy byla hlášena míra této rezistence v rozmezí 8-74 % (Veloo et al. 2019).

Savčí střevo tedy může sloužit jako rezervoár pro získávání a šíření genu ATB rezistence mezi *B. fragilis* a non-*fragilis* druhy, čímž se mohou omezit účinné možnosti léčby oportunních infekcí (Shoemaker et al. 2001).

7.5. Rezistence u askomycetárních kvasinek

Teleomorfy askomycetárních kvasinek jsou charakterizovány tvorbou věceček, která jsou výsledkem jejich pohlavního procesu. Jsou to fakultativně anaerobní organismy. Typickým teleomorfním rodem, který se vyskytuje jako součást přirozené mikrobioty střeva savců je *Saccharomyces*. Mezi linie pekařských a pivovarnických kvasinek patří druhy *S. boulardii* a *S. cerevisiae*. Zatímco některé kmeny jsou významnými mutualisty s příznivými probiotickými účinky na celý střevní mikrobiom savců (Everard et al. 2014), některé kmeny unikají nedostatečné imunitní odpovědi, proniknou střevním epitelem do krevního řečiště a stávají se oportunními patogeny se schopností vyvolat i celkové sepse u imunosuprimovaných kriticky nemocných pacientů (Muñoz et al. 2005). Jsou dobře citlivé k mikafunginu a flukonazolu (Fadhel et al. 2018).

Anamorfy askomycetárních kvasinek významných v lékařství jsou charakterizovány rody *Candida*, *Geotrichum* a *Magnusiomyces*. Nejsou záznamy, že by z klinických vzorků byly izolovány jejich teleomorfy. Nejvýznamnějším rodem z hlediska humánní i veterinární

medicíny získáváním genů rezistence k antimykotikům (ATM) patří *Candida* spp. (Álvarez-Pérez et al. 2016).

Typovým komenzálním druhem, který je ovšem k patogenitě silně predisponován, je *Candida albicans*, která je nejběžnější kandidou slizničního mikrobiomu lidí i DMZ a také nejběžnější askomycetární oportunně patogenní kvasinkou (Mayer et al. 2013; Taboada 2018).

Epidemiologie infekcí *Candida* spp. se však změnila. Ačkoli *C. albicans* je stále hlavní příčinou invazivní kandidózy ve většině klinických zařízení se významně zvýšily infekce druhu *C. non-albicans*. Získaná ATM rezistence vůči azolům u *Candida* spp. a posun mezi lidskými infekcemi směrem k druhům *Candida non-albicans* se sníženou citlivostí představují nová zdravotní rizika (Sanguinetti et al. 2015).

Navíc jsou stále častěji hlášeny závažné infekce způsobené azol-rezistentními askomycetárními kvasinkami z jiným rodům (*Geotrichum* spp. a *Magnusiomyces capitatus*) (Miceli et al. 2011).

Rozsáhlé používání ATM hraje hlavní roli v této měnící se epidemiologii. V této souvislosti se testování ATM citlivosti stalo nezbytným pro účinnou léčbu a sledování rezistence (Sanguinetti et al. 2015).

Také španělská studie naznačuje, že ATM rezistence kvasinkových izolátů veterinárního původu může být podceňena. Byl testován soubor 92 izolátů askomycetárních kvasinek, které byly získány od ptáků, savců a hmyzu, na ATM citlivost. Minimální inhibiční koncentrace amfotericinu B a azolů byly nízké a nebyly detekovány žádné rezistentní izoláty. Navzdory těmto výsledkům a vzhledem k potenciální roli zvířat jako rezervoárů rezistentních kmenů je významné průběžné sledování citlivosti k ATM ve veterinárním prostředí (Álvarez-Pérez et al. 2016).

7.6. Rezistence u basidiomycetárních kvasinek

Basidiomycetární kvasinky mají teleomorfu charakterizovanou tvorbou basidií, na níž vznikají pohlavně vzniklé bazidiospory. Tyto organismy jsou narozdíl od askomycetárních kvasinek striktně aerobní a v patogenním procesu nikdy nevytvářejí teleomorfu, neboť ta, je-li známa, žije zpravidla saprofytický. Známými anamorfami s klinickým významem patří do rodů *Cryptococcus*, *Malassezia*, *Rhodotorula*, *Trichosporon*, *Apiotrichum* a *Sporobolomyces*. Ačkoli vzrůst ATM rezistencí u basidiomycetárních kvasinek významně nevzrůstá, neboť

i oportunní systémové infekce jsou spíše ojedinělé, přece jen je vhodné na ně upozornit. Z hlediska rezistencí oportunních patogenů, kteří jsou součástí mikrobiomu DMZ a člověka má největší význam rod *Malassezia* (Guillot et Bond 2020).

První studie v roce 1994 ukázala, že rezistentní mutantní kmeny *M. pachydermatis* vykazovaly významně snížené hladiny membránových sterolů, ale zvýšené množství fekosterolu, což ukazuje na možný unikový mechanismus před účinkem polyenových ATM nahrazením ergosterolu prekurzorovým produktem (Uchida et al. 1994).

Mezi izoláty *M. pachydermatis*, *M. furfur* a *M. restricta* byly zaznamenány efluxní pumpy. Rovněž byla popsána mitochondriální dysfunkce u izolátů *M. restricta* pro transportér železo-síra vedoucí k aktivaci dráhy pleiotropní lékové rezistence, což má za následek zvýšenou expresi transportérů efluxní pumpy (Iatta et al. 2017).

I tvorba biofilmu v kooperaci s jinými mikroorganismy (např. s *Candida parapsilosis* znesnadňuje průnik ATM, což má za následek snížení účinnosti (Bumroongthai et al. 2016). Bylo popsáno několik izolátů z polymikrobiálních biofilmů rezistentních k 5-flucytosinu (Yurayart et al. 2013).

8. GENY REZISTENCE KLINICKY VÝZNAMNÝCH OPORTUNNÍCH PATOGENŮ

Získaná bakteriální rezistence je založena na mutacích nebo na mobilních genech rezistence. Ačkoli jsou mutace přenášeny vertikálně, mobilní geny rezistence se mohou šířit i horizontálně transdukcí, transformací nebo konjugací. Mobilní geny specifikující kterýkoli ze tří hlavních mechanismů rezistence: 1. enzymatická inaktivace 2. snížená intracelulární akumulace nebo 3. modifikace buněčných cílových míst. Tyto mechanismy byly nalezeny u řady bakterií, které mohou být izolovány ze zvířat i z člověka. Takové geny rezistence jsou asociovány s plazmidy, transpozóny, genovými kazetami, integračními a konjugativními prvky nebo jinými mobilními elementy (Woodford et Ellington 2007).

Bakterie, včetně zoonotických patogenů, se mohou mezi zvířaty a lidmi přenášet především přímým kontaktem, ale také prostřednictvím prachu, aerosolů nebo kontaminovaných potravin. Prokázání směru přenosu rezistentních bakterií může být obtížné a závisí na umístění genů rezistence, mutací v chromozomální DNA nebo na transpozónu (Derakhshandeh et al. 2018).

Studie *Pseudomonas aeruginosa* zjistily, že její buněčná stěna obsahuje vodné kanály porinových proteinů zprostředkovávající selektivní prostup malých hydrofilních molekul včetně β -laktamových ATB a chinolonů. Porin OprD umožňuje prostup kladně nabitých aminokyselin. Jeho mutací vzniká rezistence k imipenemu (Sonnleitner et al. 2020). Zvýšenou produkcí porinu OprH zase dochází k rezistenci k aminoglykosidům a kolistinu blokací vazby ATB na lipopolysacharidové pozdro pseudomonád (Liu et al. 2018).

U *P. aeruginosa* bylo popsáno také 10 typů efluxních pump. Dva se vyskytují u všech kmenů a ostatní jsou vytvářeny až po expozici toxické látky. Typ MexAB—OprM transportuje β -laktamová ATB, makrolidy, flurochinolony, tetracykliny, trimethoprim, sulfonamidy a chloramfenikol a druhý typ MexXY—OprM eliminuje aminoglykosidy, fluorochinolony, makrolidy a tetracykliny (Lorusso et al. 2022).

Geny kódující tvorbu efluxních systémů byly detekovány u všech kmenů *P. aeruginosa*. Jejich exprese se však děje pouze v tzv. „baseline“. Po setkání s molekulou ATB se mnohokrát zvýší (Dulanto Chiang 2022).

Multirezistentní kmeny *P. aeruginosa* mohou *bla* geny rezistence kódovat všechny 4 typy β -laktamáz z Amblerovy klasifikace A, B, C, D chromosomálně i na plazmidech (Bălăsoiu et al. 2014) (**Tab. 9**):

Tabulka 9: Amblerova klasifikace β -laktamáz

Typ β -laktamázy	funkce
A (rychlé hydrolázy)	ESBL štěpící peniciliny, cefalosporiny všech generací a monobaktamy. Citlivé k inhibitoru β -laktamáz (tazobaktam, sulbaktam, klavulanát).
B (metalo- β -laktamázy)	nutný iont kovu (např. Zn), hydrolýza karbapenemů, penicilinů a cefalosporinů, avšak bez účinku na monobaktamy.
C (AmpC β -laktamázy)	štěpí cefalosporiny, cefamyciny a monobaktamy, lépe než peniciliny
D (OXA- β -laktamázy)	štěpící oxacilin, aminopeniciliny a ureidopeniciliny, karbapenemy

U bakterií rodu *Enterococcus* bylo detekováno 9 typů rezistence ke glykopeptidům (VanA, VanB, VanC, VanD, VanE, VanG, VanL, VanM, VanN), lišící se mechanismy účinku (Arthur et al. 1996).

Rezistence na vankomycin u *Enterococcus faecalis* a *E. faecium* byla rozdělena na fenotypy VanA a VanB, které jsou nejrozšířenější a klinicky nejvýznamnější (Willems et al. 2005).

Mechanismus rezistence na vankomycin je způsoben produkcí dipeptidu D-Ala-D-Lac, který nahrazuje D-Ala-D-Ala v peptidoglykanové dráze, čímž brání vazbě vankomycinu na D-Ala-D-Ala v peptidoglykanové buněčné stěně. Gen *vanA* je spojen s transpozičním prvkem (Tn1546), který lze přenést konjugací. Většina studií naznačuje, že *vanB* má endogenní původ (Stogios et Stavchenko 2020; Wardal et al. 2017).

U enterokoků rezistentních k vankomycinu (VRE) jsou rozpoznány dvě hlavní geneticky odlišné formy získané rezistence, označené VanA a VanB, i když u některých druhů *Enterococcus* spp. se vyskytuje primární rezistence VanC a nedávno byla hlášena třetí forma získané rezistence (VanD). Biochemický základ mechanismu rezistence je podobný. Rezistentní enterokoky produkují modifikované peptidoglykanové prekurzory, které vykazují sníženou vazebnou afinitu ke glykopeptidovým ATB (Depardieu et al. 2004).

Již dlouhou dobu je známo, že kmeny *Enterococcus* mají nejméně pět proteinů vázajících penicilin (PBP) v buněčné stěně, spojených se šesti domnělými geny: tři z těchto genů patří do třídy A (*ponA*, *pbpF*, *pbpZ*) a tři do třídy B (*pbp5*, *pbpA*, *pbpB*).

Celosvětový problém ve zdravotnictví představují kmeny MRSA. Rezistence je kódována chromozomálně (selektce mutací), nebo plasmidy nesoucí informaci pro syntézu β -laktamáz (Bednář et al. 1996).

Modifikovaná transpeptidáza je kódována genem *mecA*. Jedná se o změněný penicilin vázající protein (PBP2a), na který se však methicilin není schopen navázat, a tudíž k toxickému efektu na bakteriální buněčnou stěnu nedojde (García-Álvarez et al. 2011).

Roku 2010 byl popsán kmen *S. aureus* nesoucí gen *mecC* kódující PBP2c. Výskyt tohoto genotypu byl následně potvrzen v celé Evropě u člověka a u domácích, divokých i hospodářských zvířat (Utsui et al. 1985).

Původ recentních globálně rozšířených klonů MRSA je pravděpodobně v několika liniích methicilin-citlivých *S. aureus* (MSSA), které odolaly selekčnímu tlaku vyvíjeným nižšími koncentracemi methicilinu. Nezávisle na sobě získaly šířící se chromozomální kazetu *mec* (SCC*mec*) od PkNS (Baig et al. 2018). Tento úsek chromozomální DNA je dlouhý 21–67 kb. U stafylokoků bylo popsáno 13 typů těchto chromosomálních kazet (Katayama et al. 2000). Základní struktura SCC*mec* zahrnuje repetice a komplexy genů *ccr* kódující rekombinázy, díky nimž se přesně integruje nebo vystřihne SCC*mec* (Ito et al. 2001).

Smíšená rezistence *S. aureus* k makrolidům, linkosamidům a streptograminu B může mít příčinu v různých mechanismech. U některých kmenů zlatého stafylokokoka dochází v případě rezistence vůči erytromycinu (E) také k indukci snížené citlivosti

k bakteriostatickému účinku klindamycinu (DA) tzv. inducibilní rezistence ke klindamycinu. Nejčastěji ji kódují geny *ermA*, *ermB* a *ermC*. Ty předurčují produkci ribozomální metylázy, která změní cílové místo účinku na 50S podjednotce methyloací 23S rRNA (Urbášková et al. 2014).

V květnu 1996 byla v Japonsku zaznamenána první infekce *S. aureus* s intermediální citlivostí k vankomycinu (VISA). Tyto infekce pak byly zaznamenány také v USA, Evropě a Asii. Kmeny VISA jsou výsledkem změny vazebného místa jejich buněčné stěny (Carey et al. 2011).

Zcela rezistentní kmen *S. aureus* k vankomycinu (VRSA) má zřejmě původ ve specifických prekurzorových mikroorganismech jako např. MRSA obsahující plazmid pSK41 za současné integrace genu *vanA* od VRE (Walters et al. 2015).

Mnoho koliformních bakterií (např. *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Enterobacter* spp., *Providencia* spp., *Serratia* spp.) produkují AmpC β -laktamázy, které katalyzují hydrolýzu penicilinových ATB, cefamycinů, mnoho druhů cefalosporinů a monobaktamů, a jsou rezistentní k inhibitorům β -laktamáz (klavulanát, sulbaktam, tazobaktam). Proti karbapenemům jsou však neúčinné (Hrabák et Chudáčková 2008).

β -laktamázy AmpC mohou být syntetizovány konstitutivně nebo inducibilně. Většina chromozomálních AmpC je inducibilních. Geny kódující syntézu AmpC patří do rodiny *bla* stejně jako u *Pseudomonas aeruginosa*. Tyto geny (např. *blaDHA*, *blaCMY*, *blaMIR*) jsou exprimovány teprve v přítomnosti některých ATB (cefoxitin, imipenem) nebo inhibitorů β -laktamáz (Coudron 2005; Dunne Jr. et Hardin 2005).

Expozice β -laktamovým ATB může způsobit selekci mutant, u nichž došlo k derepresi AmpC. Mutanty s hyperprodukcí β -laktamáz jsou rezistentní k většině penicilinových, cefalosporinových a monobaktamových ATB. Citlivost zůstává zachována ke karbapenemům a *in vitro* obvykle také k cefalosporinům 4. generace (Livermore 1995).

Širokospektré β -laktamázy (ESBL) produkují gramnegativní tyčinky (např. *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* nebo *Escherichia coli*) hydrolyzující peniciliny, většinu cefalosporinů a monobaktamy. Jsou citlivé k účinku inhibitorů β -laktamáz (např. klavulanovou kyselinou, sulbaktamem, tazobaktamem), nehydrolyzují karbapenemy a obvykle ani cefamyciny. Většina ESBL vzniká z enzymů TEM-1, TEM-2 nebo SHV-1 jednobodovou mutací. Od původních enzymů se liší schopností štěpit i cefalosporiny 3. a 4. generace. Hydrolyzovány jsou také peniciliny a monobaktamy (Dehshiri et al. 2018).

Většina ESBL obsahuje v aktivním místě serin, a proto patří dle Amblerovy klasifikace do třídy A (**Tab. 9**) (Bradford 2001).

Nová širokospektrá β -laktamáza může vzniknout jen jedinou mutací v sekvenci genů kódující již známé enzymy. Aktuálně je popsáno přes 400 ESBL. Produkce ESBL je celosvětovým zdravotnickým problémem především u nozokomiálních infekcí (Smet et al. 2010).

Většina klinicky významných rezistencí na karbapenemy byla spojena s plazmidem přenášejícím geny kódující metalo- β -laktamázy (Amblerova klasifikace typu B) nebo karbapenem hydrolyzující β -laktamázy OXA jako OXA-1 a OXA-48 (Amblerova klasifikace typ D) (**Tab. 9**). Tyto β -laktamázy představují nejdůležitější a nejrozšířenější typy karbapenemové rezistence, která není blokována inhibitory. Gen *blaVIM* metalo- β -laktamázy je přenášen v plazmidech bakterií (například *Acinetobacter baumannii* nebo *Pseudomonas aeruginosa*). Geny rezistence *blaOXA-1* a *blaOXA-48* jsou přenášeny plazmidy pOXA, ale nikoli genomově (Gibbon et al. 2021).

Časté a profylaktické používání ATM vedlo k masivnímu rozvoji rezistence u mnoha druhů oportunně patogenních kvasinek rodu *Candida*. Geneticky podmíněná rezistence se šíří pomaleji než u bakterií díky složitosti eukaryotního genomu (Berman et Krysan 2020). Molekulární mechanismy rezistence zahrnují:

1. depleci cílového místa ergosterolu pomocí mutací v genech kódujících biosyntézu ergosterolu, které vedou k produkci alternativních sterolů bez účinné interakce s polyeny, tudíž nejsou extrahovány z cytoplazmatické membrány (Lee et al. 2021).

2. substituci místa účinku azolů – mutace genu *Erg11*, což vede k nižší vazebné afinitě azolových ATM pro enzym lanosterol demetylázu. Nadměrná exprese cílového místa účinku ATM může nastat díky mutacím vedoucím k zesílení funkce aktivátoru transkripce, *UPC2*, nebo prostřednictvím tvorby aneuploidií, které přímo zvyšují počet kopií *Erg11*. Azolová rezistence se také získává prostřednictvím upregulace transportérů ABC, včetně *Cdr1* a *Cdr2*, aktivací mutací ve specifických transkripčních faktorech (*TAC1* u *C. albicans* a *C. auris* a *PDR1* u *C. glabrata*). Navíc nadměrná exprese MF transportéru *Mdr1*, prostřednictvím aktivačních mutací v transkripčním faktoru *MRR1* uděluje azolovou rezistenci. Geny pro stavbu effluxních pump mohou být také nadměrně exprimovány díky aneuploidii (Mayr et al. 2020; Kukurudz et al. 2022).

3. Rezistence na echinokandiny primárně zahrnuje mutace v genech *FKS*, které kódují katalytickou podjednotku cílového enzymu β -1,3-D-glukan syntáza. U *C. albicans* a *C. auris* mutace selektují rezistenci na echinocandin a vyskytují se v genu *FKS1*, zatímco u *C. glabrata* se mutace vyskytují jak v genu *FKS1*, tak i ve *FKS2* (García-Effron et al. 2009).

Pro léčbu kandidóz způsobených kvasinkami z komplexu *Candida parapsilosis* (*C. metapsilosis*, *C. orthopsilosis* a *C. parapsilosis s. str.*) byl flukonazol preferenčním léčivem. Rezistence k němu byly u tohoto komplexu velmi ojedinělé (Meis et al. 2000; Pfaller et al. 2007). Aktuálně je však monitorován vysoký výskyt těchto rezistencí díky mutaci genu kódující transkripční faktor CpMRR1, především u *C. parapsilosis s. str.* (Branco et al. 2015). Doorley et al. (2022) identifikovali sedm mutací CpMRR1 ve 12 izolátech ze souboru 35 klinických izolátů *C. parapsilosis* rezistentních na flukonazol. Byly sledovány mutace vedoucí k substitucím A854V, R479K a I283R a bylo zjištěno, že jde o aktivační mutace. Kromě CpMDR1 byly identifikovány také dva další geny. Oba jsou přenášeny izoláty horizontálně i vertikálně (Doorley et al. 2022).

Echinokandinová ATM se zdají být účinná na *C. parapsilosis* komplex, avšak citlivost těchto kvasinek může být snížena záměnou aminokyselin v proteinu kódovaném genem *FKS1*. Jedná se o aminokyseliny 537 až 793 (lokus HS1) a aminokyseliny 1277 až 1488 (lokus HS2) (Martí-Carrizosa et al. 2015).

9. CESTY PŘENOSU OPORTUNNÍCH PATOGENŮ MEZI DMZ A ČLOVĚKEM

Role DMZ se stále více mění z pracovní (ochrana objektů, chytání myší, policejní výcvik) na sociální. DMZ jsou často povyšováni na členy domácnosti poskytující citovou oporu nezřídka také profesionálně (canisterapie). DMZ mohou být důležití pro fyzické a duševní zdraví svých majitelů, ale mohou také přenášet zoonotické infekce. Riziko přenosu zoonotických infekcí může existovat stejně jako komunikace mikrobioty mezi majitelem a DMZ v důsledku trendů jako je spaní ve společné posteli, olizování obličeje, sdílení nádobí či příborů (**Obr. 6**), nehody po kousnutí či škrábnutí, kontakt s půdou, fekáliemi, aspirace kontaminovaného prachu. Domácí prostředí může bezesporu představovat místo výskytu bakterií rezistentních k ATB, které mohou být sdíleny majitelem a DMZ (Overgaauw et al. 2020).



Obrázek 6: Krmení DMZ z vidličky (Autor: Miroslav Abely)

Toombs-Ruane et al. (2020) odebírali vzorky výkalů od 18 lidí a 36 DMZ ve 27 domácnostech. V 11 kontrolovaných domácnostech byli nalezeni pozitivní členové (8 lidí a 5 zvířat) na kmeny *Escherichia coli* produkující ESBL a/nebo AmpC. Celogenomová sekvenční analýza 125 izolátů *E. coli* (včetně patogenních izolátů z moči) z těchto 11 domácností ukázala, že v 7 z nich byl izolován stejný kmen produkující ESBL/AmpC. Přenos v domácnosti zřejmě může přispívat ke komunitnímu šíření *E. coli* produkujících ESBL nebo AmpC (Toombs-Ruane et al. 2020).

Bergeyella zoohelcum je nepohyblivá, aerobní, gramnegativní tyčinka. Žije jako komenzál v horních cestách dýchacích psa a kočky (Lin et al. 2007). Většina lidských infekcí souvisí s kousnutím a traumatickým přenosem (Yi et al. 2016). Je však znám i jeden případ bakteriémie pacienta se syndromem získané imunodeficience (AIDS) po úzkém kontaktu olizováním obličeje služebním psem (Sharma et al. 2019).

Dalším komenzálem dutiny ústní psa a kočky je *Pasteurella multocida*. Jedná se o aerobní gramnegativní tyčinku, která může způsobit u savců závažné infekce. Lidské infekce jsou obvykle výsledkem kousnutí kočkou nebo psem, z nichž většina vede k mírným zánětům ran, ale u imunoalterovaných pacientů se mohou objevit komplikace jako je

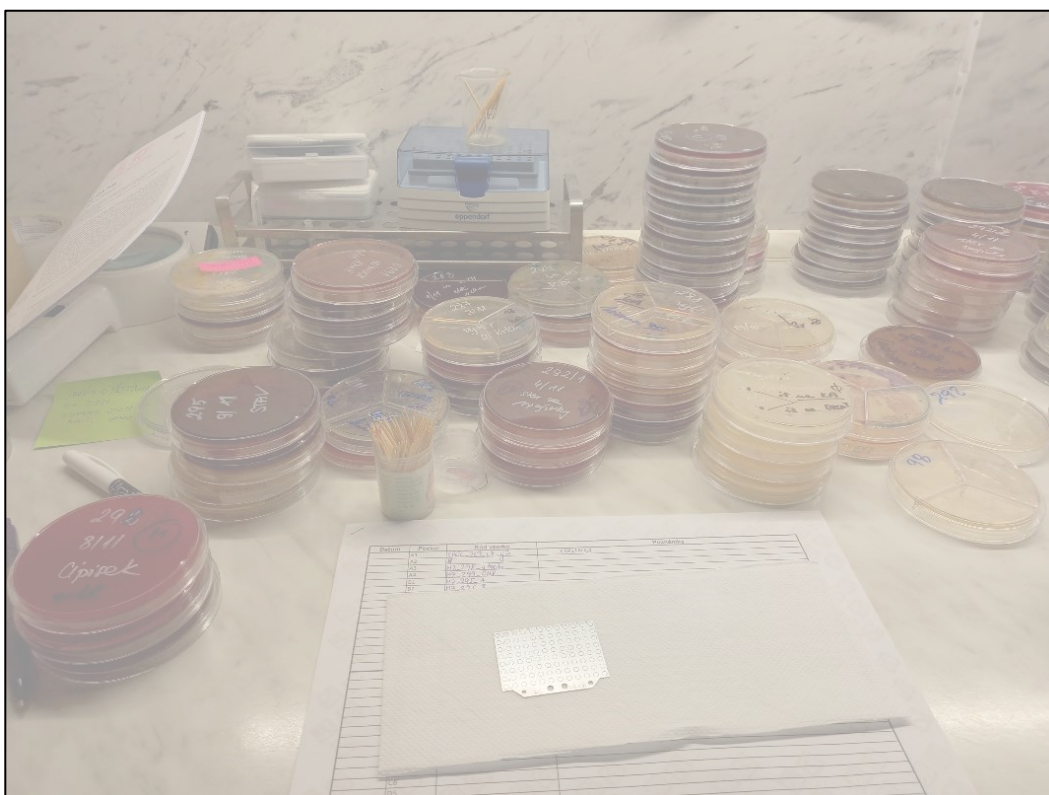
osteomyelitida nebo septikémie. U zvířat často hnisavé rhinitidy až bronchopneumonie, cholera drůbeže nebo atrofická rhinitis u prasat. Onemocnění zvířat mají často značný epizootický význam (Harper et al. 2006). Prevalence výskytu na psí ústní sliznici se pohybuje kolem 12,5 % (Santaniello et al. 2020).

P. multocida je bakteriální patogen se schopností infikovat velké množství hostitelů včetně lidí, DMZ, hospodářských a volně žijících zvířat. Pro starší pacienty s protetickými klouby s otevřenou pooperační ránou by přímá inokulace infekce *P. multocida* slinami DMZ mohla představovat vysoké riziko (Honnorat et al. 2016).

Capnocytophaga canimorsus je komenzální kapnofilní gramnegativní bakterie tyčinkovitého tvaru (kmen Bacteroidetes) běžně se vyskytující v normální gingivální mikrobiotě psa a kočky, ale může způsobit onemocnění u lidí nejčastěji pokousáním. K přenosu může dojít také olizováním nebo dokonce blízkostí zvířat (Fischer et al. 1995). Tato náročná a pomalu rostoucí bakterie má obecně nízkou virulenci u zdravých jedinců, ale několik případů z České republiky ukázalo, že je původcem vážných infekcí s bakteriémií či meningitidou u pacientů splenektomovaných, podstupující terapii imunosupresivy nebo s alkoholickým abúzem, neboť alkoholici jsou často neutropeničtí (Hloch et al. 2014; Prášil et al. 2020).

Nedávné studie naznačují, že chemická látka ve slinách zvířat nazývaná histatiny pomáhá při hojení ran tím, že podporuje šíření a migraci nových kožních buněk. Je nepravděpodobné, že by pro imunokompatibilní jedince byl blízký kontakt významným zdravotním rizikem (Torres et al. 2018).

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST



10. PŘÍSTROJOVÁ TECHNIKA A MATERIÁLY

10.1. Přístrojová technika

- **Termostat** (Mettler; Německo)
- **Mikroskop** (Olympus BX 50; Japonsko)
- **MALDI-TOF MS** (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation-Time of Flight, Bruker Daltonics GmbH; Německo)
- **Destička na MALDI-TOF MS** (Bruker Daltonik, Německo)
- **hlubokomrazicí box** Sanyo (Schoeller; Česká republika)
- **laminární box** EM 180 (MK Servis; Česká republika)

10.2. Kultivační média a jejich složení

- **Amiesovo transportní médium (AMTM)**: anorganické soli: NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂, KH₂PO₄, NaH₂PO₄, 1 % agaru a aktivní uhlí
- **Sabouraudův agar (SAB)**: glukóza 40 g, pepton 10 g, agar 15 g
- **Sabouraudův agar 4 (SAB4)**: glukóza 40 g, pepton 10 g, agar 15 g, chloramfenikol 50 g, gentamicin 50 g
- **MacConkeyův agar (MCA)**: pepton (pankreatická trávenina želatiny) 17 g, pankreatická trávenina kaseinu 1,5 g, peptická tráveniny masa 1,5 g, monohydrát laktózy 10 g, žlučové soli 1,5 g, NaCl 5 g, neutrální červeň 0,03, krystalová violet 0,001 g, agar 13,5 g
- **Oxacillin resistance screening agar base (ORSAB)**: pepton 11,8 g, kvasničný extrakt 9 g, mannitol, 10 g, NaCl 55 g, LiCl 5 g, anilinová modř 0,2 g, agar 12,5 g, polymyxin B 50.000 IU, oxacilin 2 mg
- **Krevní agar s 5 % defibrinované beraní krve (KA5)**: defibrinovaná beraní krev 100 ml, masový pepton 10 g, výtažek ze srdce 10 g; NaCl 5 g, agar 15 g
- **Čokoládový agar (CHOCA)**: pankreatický hydrolyzát kaseinu 7,5 g, masopeptonový hydrolyzát 7,5 g, kukuřičný škrob 1 g, hemoglobin 10 g, K₂HPO₄ 4 g, KH₂PO₄ 1 g, NaCl 5 g, agar 15 g
- **Chromogenní agar pro *Candida* spp. (CHCA)**: agar 15 g, pepton 10,2 g, chromogenní enzymatická směs 22 g, chloramfenikol 0,5 g.

- **Mueller-Hintonové agar (MH):** hovězí extrakt 2 g, kasein hydrolyzát 17,5 g, škrob 1,5 g, agar 17 g
- **Mueller-Hintonové agar s 5 % beraní krve (MHK5):** hovězí extrakt 2 g, kasein hydrolyzát 17,5 g, škrob 1,5 g, agar 17 g, 5 % beraní krve
- **Mueller-Hintonové agar s přidavkem glukózy (MHG):** hovězí extrakt 2 g, kasein hydrolyzát 17,5 g, škrob 1,5 g, agar 17 g, 5 % beraní krve
- **Všechna kultivační média** (Lab Media Servis s.r.o.; Česká republika)
- **Kryobanka pro bakterie** (Itest; Český republika)
- **Kryobanka pro kvasinky** (Itest; Český republika)

10.3. Antibiotické řady

- **Antibiotické a antimykotické disky** (Oxoid; Česká republika)

ATB disky pro testování Proteobacteria (hmotnost účinné látky v µg na disk)

1. řada	2. řada	3. řada
Ampicilin (AMP) 10	Polymyxin B (PB) 20	Chloramfenikol (C) 30
Ampicilin/ sulbaktam (SAM) 20	Trimethoprim (W) 20	Imipenem (IPM) 10
Cefoxitin (FOX) 30	Trimethoprim/ sulfomethoxazol (SXT) 25	Meropenem (MEM) 10
Cefotaxim (CTX) 30	Ciprofloxacin (CIP) 5	Amikacin (AK) 30
Cefovecin (CVN) 30	Marbofloxacin (MAR) 5	Apramycin (APR) 15
Cefepim (FEP) 30	Piperacilin (PRL) 20	Tigecyklin (TGC) 15
Tetracyklin (TE) 30	Piperacilin/ tazobaktam (TZP) 36	Gentamicin (CN) 10
Kolistin sulfát (CT) 10	Kanamycin (K) 30	Nitrofurantoin (F) 20

ATB disky pro testování Firmicutes

1. řada	2. řada	3. řada
Penicilin G (P) 10	Vankomycin (V) 5	Neomycin (N) 10
Ampicilin (AMP) 10	Chloramfenikol (C) 30	Imipenem (IPM) 10
Ampicilin/ sulbaktam (SAM) 20	Trimethoprim/ sulfomethoxazol (SXT) 25	Ceftazidim (CTZ) 30
Amoxicilin/ klavulanát (AMC) 20	Ciprofloxacin (CIP) 5	Cefovecin (CVN) 30
Cefoxitin (FOX) 30	Marbofloxacin (MAR) 5	Mupirocin (MUP) 200
Klindamycin (DA) 10	Enrofloxacin (ENR) 5	Linezolid (LZD) 15
Erytromycin (E) 15	Doxycyklin (DO) 30	Gentamicin (CN) 10
Cefalexin (CL) 30	Bacitracin (B) 10	Rifampicin (RD) 5

ATB disky pro testování Actinobacteria

1. řada	2. řada	3. řada
Penicilin G (P) 10	Vankomycin (V) 5	Tilmicosin (TIL) 15
Ampicilin (AMP) 10	Teikoplanin (TEI) 30	Azitromycin (AZT) 10
Ampicilin/ sulbaktam (SAM) 20	Florfenikol (FFC) 30	Novobiocin (NV) 15
Metronidazol (MTZ) 10	Chloramfenikol (C) 30	Trimethoprim (W) 20
Cefaklor (CEC) 10	Ciprofloxacin (CIP) 5	Trimethoprim/sulfomethoxazol (SXT) 25
Klindamycin (DA) 10	Marbofloxacin (MAR) 5	Apramycin (APR) 15
Bacitracin (B) 10	Enrofloxacin (ENR) 5	Gentamicin (CN) 10
Cefalexin (CL) 30	Doxycyklin (DO) 30	Neomycin (N) 10

ATM disky pro testování kvasinek

1. řada	2. řada
Amfotericin B	Nystatin
Bifonazol	Posakonazol
Ciklopiroxamin	Vorikonazol
Ekonazol	Itrakonazol
Ketokonazol	Kaspofungin
Klotrimazol	Flukonazol
Mikonazol	

11. METODIKA

11.1. Vyjádření etické komise

Studie byla písemně schválena Etickou komisí Fakultní nemocnice Hradec Králové, referenční číslo 201408 S39P (**Obr. 12**). Každý majitel DMZ i člen kontrolní skupiny dal informovaný souhlas s odběrem klinického materiálu i vyplněním dotazníku. Tomu předcházelo detailní vysvětlení smyslu výzkumného projektu veterinárním lékařem nebo jiným výzkumným pracovníkem. Každému lidskému dobrovolníkovi byl poskytnut čas a prostor na dotazy. Odběr klinického materiálu DMZ prováděl výhradně veterinární lékař se souhlasem majitele. Všechna získaná data byla anonymizována.

11.2. Soubor testovaných dobrovolníků

Za účelem sběru vzorků byli osloveni veterinární lékaři z veterinárních klinik Benemastr (Národní 83; Jaroměř) a HanzaVet (Tichá 59/2; Hradec Králové), kteří provedli odběr klinického materiálu od DMZ a zároveň asistovali při autoodběru majitele. Výběr majitelů zvířete byl náhodný při běžné návštěvě veterinárního lékaře. Účastníci kontrolní skupiny byli vybráni selektivně mezi známými či příbuznými nebo studenty Přírodovědecké fakulty Univerzity Hradec Králové. S odběrem souhlasilo celkem 225 dobrovolníků, z toho 145 majitelů zvířat a 80 kontrol. Všichni trvale žijí na území České republiky. Ze 120 domácností bylo odebráno 881 vzorků klinického materiálu od majitelů a jejich DMZ. 320 vzorků poskytla kontrolní skupina lidí, kteří nesdíleli domácnost s žádným zvířetem více než 1 rok. Všechny odebrané vzorky od majitelů zvířat byly označeny číslem 1–120, písmenem (zvíře DMZ a majitel M) a lokalizací stěru. Kontrolní skupina (KS) byla označena K1–80. Anonymita všech testovaných osob byla přísně zachována.

11.3. Odběr biologického materiálu

Při všech odběrech na kulturační vyšetření byly použity sterilní odběrové pomůcky a Amiesovo transportní médium. Sběr vzorků probíhal v letech 2014–2019. Odběr biologického materiálu byl proveden z mikrostanovišť, kde je předpoklad největšího výskytu mikrobiálních společenstev s rizikem kontaktu s mikrobiotou DMZ. Od DMZ byl odebrán materiál z nosní sliznice a zevního zvukovodu, od majitelů z nasální sliznice, zevního zvukovodu, axil a

meziprstí nohou. Lokalizace odběru biologického materiálu od KS byla ze shodných mikrostanovišť jako od majitelů domácích zvířat (pes, kočka). Pokud byla na těle dobrovolníků nalezena suspektní léze (zánětlivé ložisko), byl se souhlasem odebrán vzorek i z ní.

11.4. Dotazníkové šetření

Každý majitel DMZ vyplnil dotazník s informovaným souhlasem k zařazení do studie. Pro otázku č. 6 byl stanoven Kontaktní Index (CI), který ukazuje míru intimity kontaktu chovatele s DMZ. CI nabývá hodnot 1–8. Čím vyšší číslo, tím vyšší počet typů kontaktu, a tedy i vyšší pravděpodobnost přenosu mikroorganismů. CI nabývající hodnot 1–4 je dolní hranice, a svědčí tudíž o méně blízkém kontaktu chovatele a DMZ. Dotazník této studie byl sestaven s podobným zaměřením jako dotazník „The Owner-pet Relationship Scale“ (OPRS) dle Winefield et al. 2008.

A) MAJITEL

1. Anonymizující identifikace majitele se zvířetem (společné označení – např. protokolární číslo užívané veterinárními lékaři):
2. Pohlaví: ŽENA/ MUŽ
3. Žijete s vyšetřovaným zvířetem ve společné domácnosti? ANO/ NE
4. Jak dlouho sdílíte domácnost s testovaným zvířetem?
5. Jste majitel vyšetřovaného zvířete? ANO/ NE
6. Kontakt se zvířetem – zakroužkujte prosím všechny platné možnosti a pokud možno přidejte další.
 - a) spaní ve společné posteli
 - b) gauč, křeslo
 - c) časté mazlení, chování v náručí apod.
 - d) olizování rukou
 - e) olizování obličeje
 - f) olizování nohou
 - g) kousky jídla na vidličce apod., společný jogurt na lžičce
 - h) další (prosím uveďte)
7. Chováte více zvířat v domácnosti? ANO/ NE

Pokud ANO, uveďte prosím druh a množství:

8. Užíval/a jste v posledních 12 měsících antibiotika? ANO/ NE
9. Jaká:

B) ZVÍŘE

1. Kočka/ pes

2. Rasa:
3. Věk:
4. Pohlaví:
5. Původ zvířete:
 - a) Chovná stanice s PP
 - b) Bez PP
 - c) Útulek
 - d) Jiné (prosím uveďte)
6. Čím je zvíře krmeno
 - a) Syrová strava
 - b) Vařená strava
 - c) Granule
 - d) Kombinace výše uvedeného
 - e) Jiné (prosím uveďte)
 - f) Oblíbené pochoutky zvířátka
 - g) Konzumuje venku trávu a podobně?
7. Zvíře je chováno
 - a) trvale v domácnosti – neopouští ji
 - b) v domácnosti – mimo pravidelné vycházky
 - c) válí se zvíře rádo v trávě?
 - d) venku, v chladném počasí v domácnosti
 - e) trvale venku
 - f) jiné (prosím, uveďte)
8. Je vyšetřované zvíře v kontaktu s jinými zvířaty? ANO / NE a s jakými:
9. Antibiotická terapie v posledním měsíci:

Dotazník byl vyplněn s každým z 80 nechovatelů, kteří nežili s DM déle než rok. Vzorky byly odebrány ze stejných anatomických lokalizací jako u chovatelů.

KONTROLNÍ SKUPINA NECHOVATELŮ

1. Pohlaví: ŽENA/MUŽ
2. Věk:
3. Profesionální styk se zvířaty: ANO/NE
4. Doba sdílení domácnosti se zvířecími mazlíčky:
5. Doba bez sdílení domácnosti se zvířaty:
6. ATB terapie za posledních 12 měsíců:

11.5. Očkování a kultivace vzorků

Odebrané vzorky byly přeneseny v transportní půdě (Amiesova půda) do Ústavu klinické mikrobiologie ve Fakultní nemocnici Hradec Králové. Pomocí výtěrové tyčinky byl materiál naočkován na pevná média KA5, MCA, SAB, SAB4, CHOCA a ORSAB. Vyžíhanou bakteriální kličkou byl proveden křížový roztěr. Naočkované půdy byly aerobně inkubovány v termostatu při teplotě 35 °C a mykologické 25 °C po dobu 5 dnů s periodickou kontrolou po 24 h. U klinického materiálu, kde byl předpokládán výskyt lipofilních kvasinek rodu *Malassezia* byl v tenké vrstvě (50 µl) na SAB2 rozetřen sterilní olivový olej. Pokud za tuto dobu nebyl zaznamenán viditelný růst, byl vzorek považován za negativní. Pouze ORSAB byl hodnocen po 20 h jako pozitivní či negativní na methicillin rezistentní PkPS.

11.6. Identifikace vzorků

Po vizuálním hodnocení růstu na médiích, kde bylo provedeno primární inokulum (KA5, MCA, SAB, SAB4, CHOCA a ORSAB), byla provedena izolace jednak na obohacenou půdu a jednak na selektivně diagnostickou půdu. Z obohacených kultivačních médií byly po 48 h inkubaci bakterie nanášeny párátkem na kovovou destičku pro identifikaci pomocí přístroje MALDI TOF MS. Následně byl proveden preparát dle Gramma a hrubý odhad mikroorganismu do rodu. V případě kvasinek byla kolonie izolována na CHCA, kde se základní druhy charakteristicky zbarvují: *Candida albicans*/ *C. dubliniensis* komplex zeleně, *C. glabrata* fialově s lesklými koloniemi, *C. krusei* bledě fialově matné kolonie *C. tropicalis* modře a *C. parapsilosis* s.l. bledě růžově. Pro potvrzení byl proveden u *C. krusei* test flukonazolem, k němuž je přirozeně rezistentní. Konfirmace pomocí přístroje MALDI TOF MS byla provedena i u kvasinek. V případě prvního nejasného určení byla k identifikaci MALDI TOF MS použita semiextrakční metoda pomocí kyseliny mravenčí jako lyzačního roztoku a po jejím zaschnutí nanášena matrice (kyselina α kyano 4 hydroxykořicová).

U kvasinek jsou uvedeny názvy imperfektních nepohlavních stádií, ačkoli to vzhledem ke zrušení duality názvů pro anamorfu (An) a teleomorfů (Te) není v souladu s recentní taxonomickou nomenklaturou (Melbourne Code 2012; de Hoog 2015). Je tím však přesněji vyjádřena růstová forma z klinického materiálu. Drtivá většina druhů klinicky významných kvasinek se vyskytuje až na výjimky v imperfektním stádiu (anamorfa). V taxonomickém názvosloví stanovené Mezinárodním kódem botanické nomenklatury má název Te přednost

před názvem An, avšak v klinické praxi se názvy An natolik vžily, že se používají častěji (Otčenášek et al. 1990).

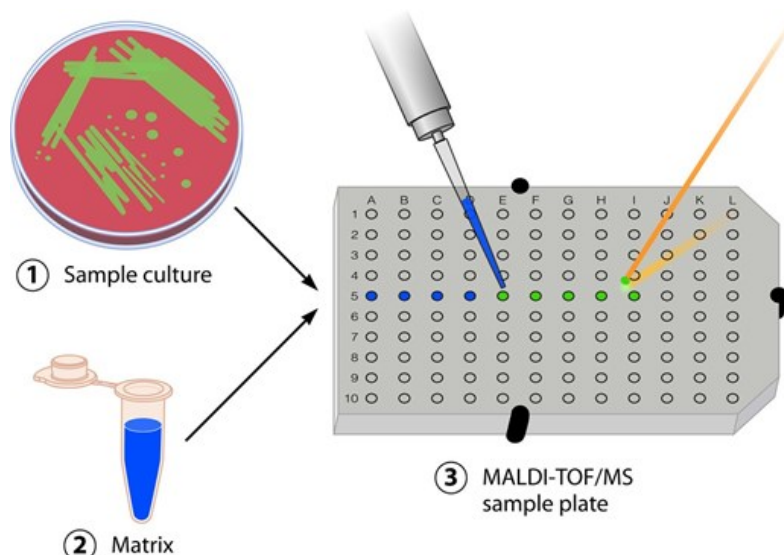
MALDI TOF MS

Hmotnostní spektrometrie je v současnosti nejmodernější fenotypovou metodou identifikace mikroorganismů založenou na srovnání hmotnostního spektra biomolekul vyšetřovaného izolátu s hmotnostním spektrem známého mikroorganismu. Hmotnostní spektroskopie MALDI–TOF byla původně vyvinuta pro kvalitativní analýzu peptidů a bílkovin (Melter et Malmgren 2014).

Přístroj MALDI–TOF MS identifikuje mikroorganismy na podkladě hmotnostní spektroskopie. Molekuly vzorku jsou ionizovány a následně štěpeny laserem přímou cestou. Bez přídavku matrice (kyselina kyano-4-hydroxyskořicová – HCCA) by se však rozštěpily nežádoucím způsobem. Matrice je látka, jejímž prostřednictvím se ionizační energie laserového paprsku přenáší na molekuly vzorku a tím brání jejich rozpadu. Ionizace laserem přes matici umožňuje měřit molekulové hmotnosti více látek v tomtéž vzorku. Ke stanovení vyšších molekulových hmotností se používá ionizace laserem za přítomnosti matrice (MALDI, matrix assisted laser desorption/ ionization) v kombinaci s detektorem doby průletu (TOF, time-of-flight), který umožňuje změřit dobu průletu a z ní pak vypočítat rychlost částice (van Veen et al. 2010).

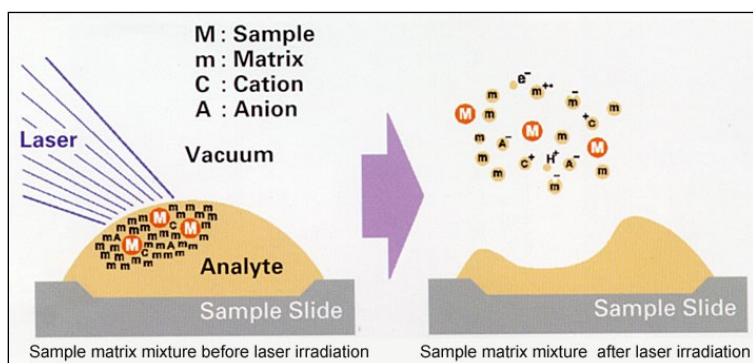
Před vlastní identifikací přístrojem MALDI-TOF MS lze nanést vzorek přímou cestou na destičku dřevěným párátkem bez předchozí extrakce nebo provést semiextrakci pomocí lyzačního roztoku (70% kyselina mravenčí), případně provést plnou extrakci pomocí lyzačního roztoku a etanolu (Qian et al. 2008, Stevenson et al. 2010).

V případě testování kvasinek je nutné provést plnou extrakci: 10 mg izolované kvasinkové kolonie se přenese do Eppendorfovy zkumavky s destilovanou vodou. Přidáním etanolu dojde k homogenizaci suspenze. Suspenze se dále centrifuguje, a k peletu je přidán lyzační roztok a stejný objem acetonitrilu. Dalším krokem je opět centrifugace a vzniklý supernatant je nanášen na destičku. Po zaschnutí je možno provést vlastní identifikaci přístrojem MALDI TOF MS (**Obr. 7.**) (Vaidyanathan et al. 2002, Qian et al. 2008).



Obrázek 7: Kroky metody MALDI TOF MS identifikace mikroorganismů (dle Clarc et al. 2013)

Naměřené výsledky jsou srovnávány s komerčně vytvořenou databází. Po zaschnutí je nosič vložen do hmotnostního spektrometru, kde je vystaven hlubokému vakuu, v němž je vzorek exponován laserovému paprsku (**Obr. 8**).



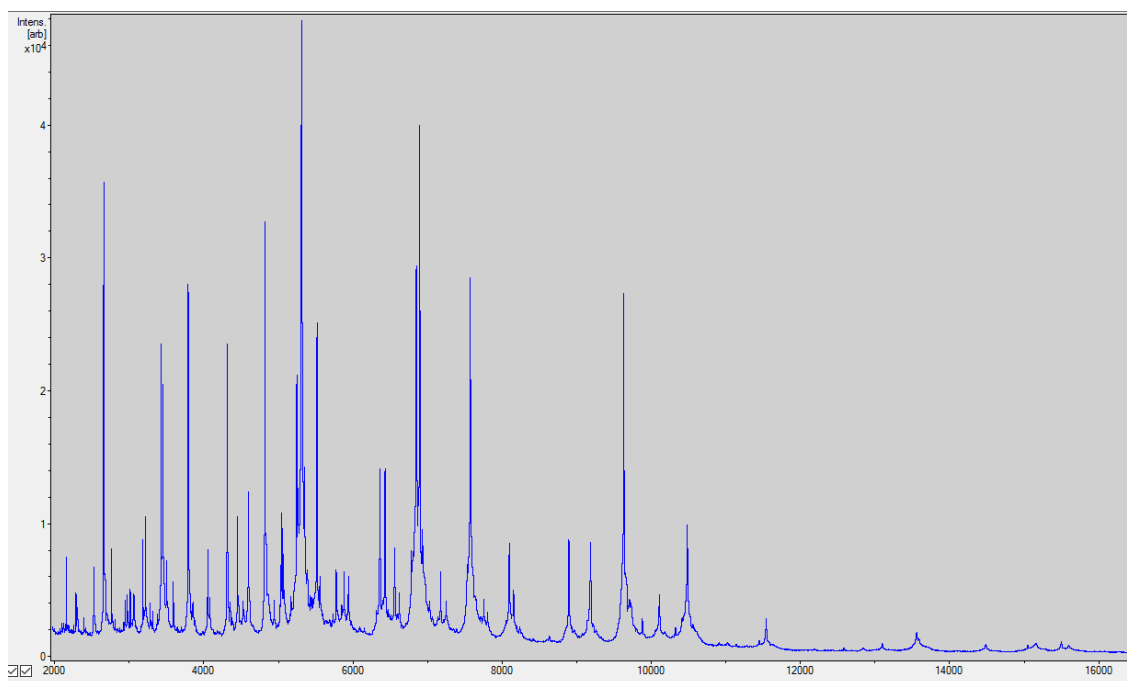
Obrázek 8: Snímání vzorku laserovým paprskem (zdroj: www.shimadzu.com)

Laser způsobí sublimaci matrice, která přednostně paprsek absorbuje, přechází do plynné fáze a strhává s sebou molekuly analytu (Kačalová 2011). Vzniklé ionty jsou analyzovány po průletu trubicí a dopadu na detektor na principu času dopadu, který je úměrný molekulové hmotnosti. Hmotnostní spektrum je druhově specifické pro identifikovaný mikroorganismus. (Eigner et al. 2009).

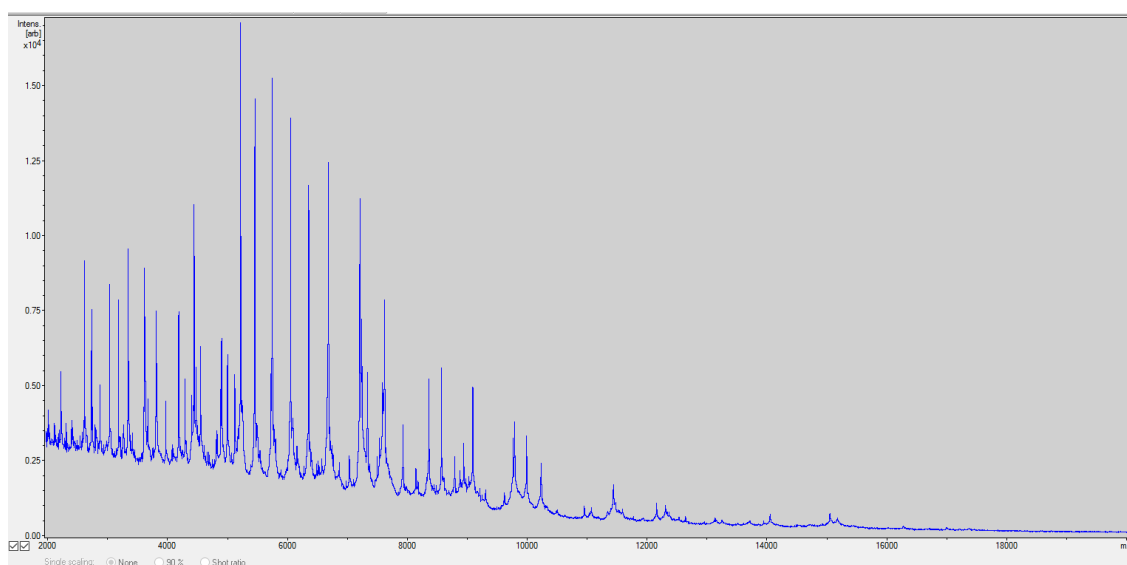
Při dodržení správného pracovního postupu, pokud je přístroj pravidelně čistěn, kalibrován a kontrolován, identifikuje s vysokou přesností běžné druhy mikroorganismů (Scharfen 2013).

Hlavní výhodou metody MALDI-TOF MS je přesnost, rychlost a cena. Výhodou je také snížená pracnost a jasná dokumentace postupu identifikace. Zároveň však tato metoda přináší stoupající nároky na znalost diferenciální diagnostiky, nároky na pochopení a využití metod polyfázové taxonomie a identifikace, nároky na dokonalé provedení kultivačních metod s důrazem na preanalytickou fázi vyšetření (Scharfen 2013).

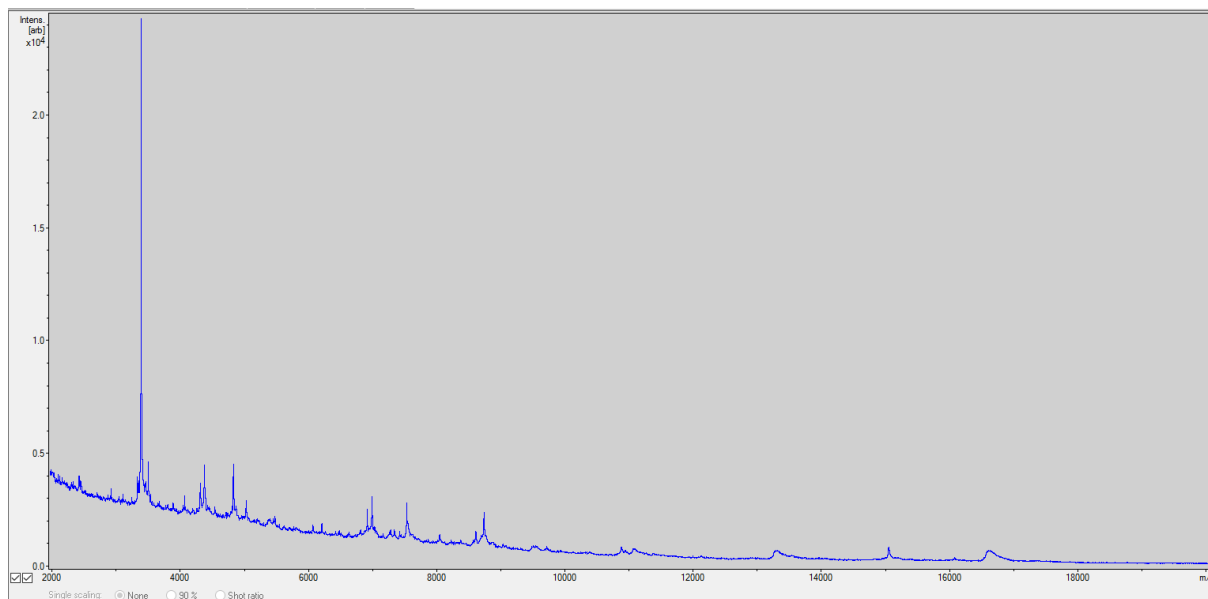
Hmotnostní spektra charakteristických pro běžné druhy mikroorganismů jsou ukázána na **obrázcích 9 - 11**.



Obrázek 9: Záznam spektra z MALDI TOF MS typického pro *Staphylococcus aureus*



Obrázek 10: Záznam spektra z MALDI TOF MS typického pro *Pseudomonas aeruginosa*



Obrázek 11: Záznam spektra z MALDI TOF MS typického pro *Candida albicans*

11.7. Testování ATB citlivosti

Ke stanovení citlivosti izolovaných bakterií i kvasinek byla použita difuzní disková metoda. Jako médium ke stanovení citlivosti byl použit MHA pro kultivačně nenáročné druhy (stafylokoky, enterobakterie, nefermentující tyčinky). Pro náročnější druhy bakterií (*Corynebacterium*, *Pasteurella*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Enterococcus*) byl použit MHK5 a ke stanovení citlivosti kvasinek byl použit MHG. Po rozetření pomocí tamponku testované bakteriální suspenze (0,5 McF) byly na povrch agaru nakladeny ATB disky. K testování byly použity disky z příslušné testovací řady ATB podle taxonomické skupiny bakterie. Následně byly inkubovány v termostatu a po 24 h vyhodnoceny, u kvasinek v některých případech až po 72 h. Pomocí posuvného měřítka byly změřeny průměry inhibičních zón bakteriálního růstu kolem disků. Zjištěná hodnota byla porovnána s předepsanými hodnotami, tzv. breakpointy, podle kritérií CLSI, které určují, zda je mikroorganismus k ATB citlivý, intermediární nebo rezistentní (SZÚ, 2007 – 2008).

11.8. Stanovení nulových hypotéz

Pro splnění vytyčených cílů studie byly stanoveny tyto hypotézy nezávislosti, které byly na základě získaných dat testovány statistickými metodami v programu **NCSS 2021 v21.0.4**.

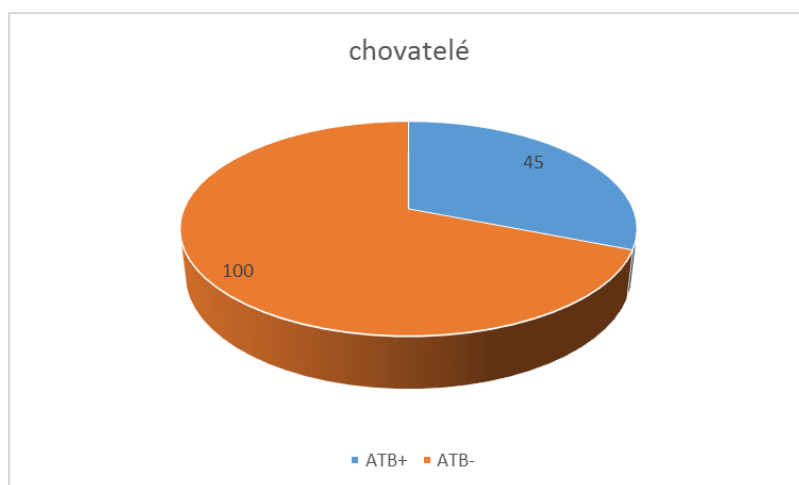
:

- 1.) Abundance mikroorganismů není ovlivňována vlastnictvím DMZ.
- 2.) Doba sdílení domácnosti s DMZ neovlivňuje abundanci mikroorganismů kolonizujících majitele.
- 3.) Hodnota CI neovlivňuje abundanci mikroorganismů kolonizujících chovatele.
- 4.) ATB terapie nemá vliv na abundanci mikroorganismů/kvasinek u všech 3 sledovaných skupin.
- 5.) Hodnota CI neovlivňuje množství sdílených mikroorganismů se společnou ATB rezistencí chovatelů a DMZ.
- 6.) ATB terapie nemá vliv na abundanci s DMZ sdílených mikroorganismů se shodnou ATB rezistencí.

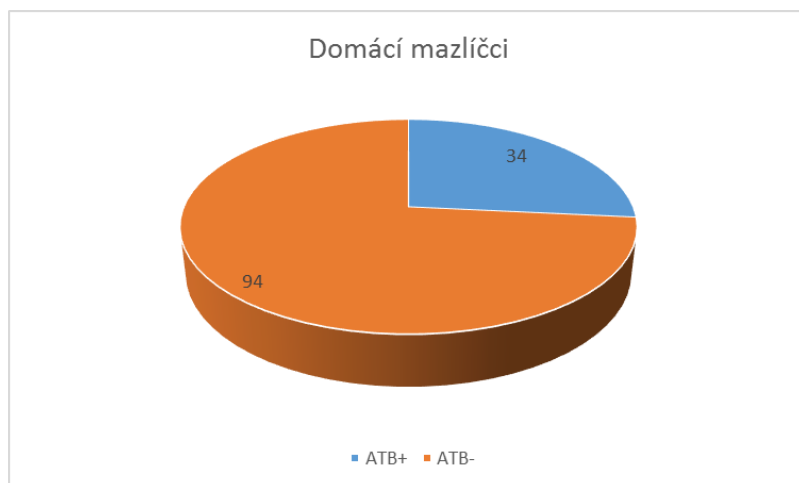
12. VÝSLEDKY

12.1. Data získaná z dotazníků

145 majitelů DMZ (68 mužů a 77 žen) dalo informovaný souhlas, čímž byli zařazeni do studie. Vyplnili dotazník, z něhož plynou následující skutečnosti. Celkové množství 128 testovaných zvířat tvořilo 110 psů a 18 koček. CI majitelů koček činil průměrnou hodnotu 6 a u majitelů psů 7. 45 % (n=54) domácností chová více DMZ kromě těch, kteří poskytli vzorky biologického materiálu pro tuto studii. ATB terapii v posledním roce podstoupilo 31,03 % (n=45) chovatelů (**Graf 1.**) a 26,56 % (n=34) DMZ (**Graf 2.**).

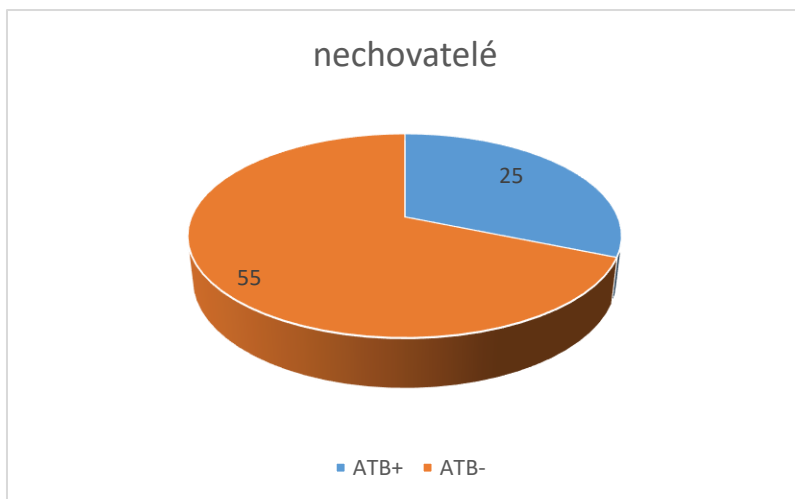


Graf 1: Antibiotická léčba v posledním roce u chovatelů



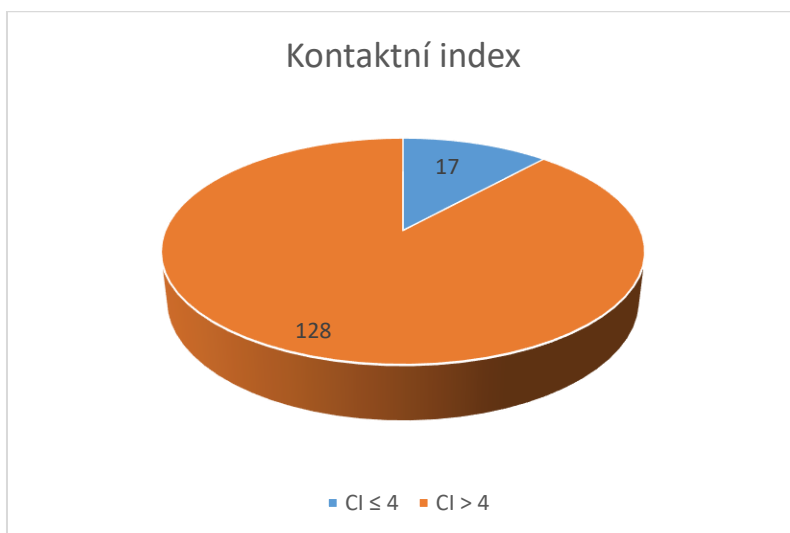
Graf 2: Antibiotická léčba v posledním roce u DMZ

KS tvořilo celkem 80 účastníků, kteří déle než 1 rok nesdílejí domácnost s žádným DMZ, aniž by po tuto dobu měli profesionální styk s jakýmkoli zvířaty. 25 (31,25 %) z nich prodělalo v posledním roce ATB terapii (**Graf 3**).



Graf 3: Antibiotická léčba v posledním roce u KS

88,26 % chovatelů (n=128) má se svým DMZ úzký kontakt (CI>4), naopak málo kontaktních majitelů je jen 11,72 % (n=17) (**Graf 4**).



Graf 4: CI chovatelů

12.2. Druhy mikroorganismů izolované ze vzorků

Ze sledovaných 120 domácností bylo izolováno celkem 176 druhů mikroorganismů (137 bakterií a 39 kvasinek) (**Tab. 10 a 11**). Z chovatelů bylo izolováno 123 druhů mikroorganismů (101 bakterií a 22 kvasinek), z DMZ 152 druhů (124 a 28 kvasinek) a z KS 73 druhů (56 bakterií a 17 kvasinek) (**Schémata 1-3, Graf 5**).

Tabulka 10: Celkový počet izolovaných druhů bakterií

Druh bakterie	Hostitel	Počet izolátů	Kontrolní skupina	Chovatel	Mazlíček	Nález v páru	Shodná rezistence
<i>Achromobacter ruhlandii</i>	chovatel, pes	7	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Achromobacter spanius</i>	chovatel, pes	12	ne	meziprstí nohou, axila	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	chovatel, pes	10	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ano	ne
<i>Acinetobacter baumannii</i>	chovatel, pes, KS	26	meziprstí nohou, nosní sliznice	meziprstí nohou, nosní sliznice	nosní sliznice, zvukovod	ano	ano
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	chovatel, pes, KS	33	meziprstí nohou	meziprstí nohou, axila, nosní sliznice	nosní sliznice	ano	ne
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	chovatel, pes, KS	58	meziprstí nohou	meziprstí nohou, nosní sliznice	nosní sliznice	ano	ano
<i>Acinetobacter indicus</i>	pes	2	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Acinetobacter pittii</i>	chovatel, pes	8	ne	meziprstí nohou, axila	nosní sliznice	ne	ne
<i>Acinetobacter soli</i>	pes	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	kočka	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Aerococcus viridans</i>	chovatel, pes	28	ne	nosní sliznice	nosní sliznice	ano	ne
<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>	chovatel, kočka, pes	10	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Alcaligenes faecalis</i>	chovatel, pes, KS	3	meziprstí nohou	meziprstí nohou	zvukovod	ne	ne
<i>Arthrobacter cumminsii</i>	chovatel, pes	5	ne	meziprstí nohou, axila	zvukovod	ne	ne
<i>Arthrobacter oxydans</i>	pes	1	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Bacillus cereus</i>	chovatel, pes	41	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ano	ne
<i>Bacillus circulans</i>	chovatel, pes	6	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Bacillus firmus</i>	chovatel, pes	53	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne
<i>Bacillus lentus</i>	chovatel, pes	3	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Bacillus licheniformis</i>	chovatel, pes, KS	17	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Bacillus megatherium</i>	chovatel, pes	4	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ne	ne
<i>Bacillus mycoides</i>	chovatel, pes	7	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Bacillus pseudofirmus</i>	chovatel, pes	8	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Bacillus pumillus</i>	kočka	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne

<i>Bacillus simplex</i>	chovatel, pes, KS	24	meziprstí nohou, zvukovod	meziprstí nohou	nosní sliznice	ano	ne
<i>Bacillus subtilis</i>	chovatel, pes, KS	62	meziprstí nohou, nosní sliznice	meziprstí nohou, nosní sliznice	nosní sliznice	ano	ne
<i>Bacillus thuringiensis</i>	pes	6	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	kočka	1	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Bergeyella zoohelcum</i>	chovatel, pes	43	ne	nosní sliznice	nosní sliznice	ano	ne
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	pes, kočka	5	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Brevibacterium parabrevis</i>	kočka	1	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Brevundimonas diminuta</i>	chovatel, pes	6	ne	meziprstí nohou	zvukovod	ne	ne
<i>Citrobacter braakii</i>	chovatel, pes, KS	3	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Citrobacter freundii</i>	chovatel, pes, kočka, KS	38	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice	ano	ne
<i>Citrobacter koseri</i>	chovatel, pes	2	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Corynebacterium accolens</i>	chovatel, pes, KS	64	zvukovod	axila, zvukovod	nosní sliznice	ne	ne
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	chovatel, pes, KS	58	nosní sliznice, zvukovod	axila, zvukovod	nosní sliznice	ano	ne
<i>Corynebacterium auriscanis</i>	pes	26	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Corynebacterium canis</i>	pes	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	chovatel, KS	60	nosní sliznice, axila, zvukovod	nosní sliznice, zvukovod	ne	ne	ne
<i>Corynebacterium falsenii</i>	chovatel, pes, kočka	15	ne	nosní sliznice	nosní sliznice, zvukovod	ne	ne
<i>Corynebacterium felinum</i>	kočka	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	chovatel, KS	20	nosní sliznice, axila, zvukovod	nosní sliznice, zvukovod	ne	ne	ne
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	chovatel, pes	2	ne	zvukovod	nosní sliznice	ne	ne
<i>Dermabacter hominis</i>	chovatel, pes	45	ne	axila, zvukovod	zvukovod	ne	ne
<i>Dietzia maris</i>	chovatel, pes	3	ne	nosní sliznice, zvukovod	nosní sliznice	ne	ne
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	chovatel, pes	6	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne
<i>Enterococcus dispar</i>	chovatel, pes	2	ne	meziprstí nohou	zvukovod	ne	ne
<i>Enterococcus faecalis</i>	chovatel, kočka, pes, KS	84	meziprstí nohou, nosní sliznice	meziprstí nohou, nosní sliznice	zvukovod, nosní sliznice	ano	ano

<i>Enterococcus faecium</i>	chovatel, kočka, pes, KS	25	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice	ano	ano
<i>Enterococcus hirae</i>	chovatel, kočka	2	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Enterococcus saccharolyticus</i>	chovatel, pes	4	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Enterobacter asburiae</i>	chovatel, pes	8	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ne	ne
<i>Enterobacter canis</i>	pes	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Enterobacter cowanii</i>	chovatel, pes	7	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Enterobacter cloacae</i>	chovatel, kočka, pes, KS	44	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice	ano	ano
<i>Enterobacter hormaechei</i>	chovatel, kočka	2	meziprstí nohou	meziprstí nohou	zvukovod	ne	ne
<i>Enterobacter kobei</i>	pes, kočka	2	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Escherichia coli</i>	chovatel, kočka, pes, KS	181	meziprstí nohou, zvukovod	meziprstí nohou, nosní sliznice, zvukovod	nosní sliznice, zvukovod	ano	ano
<i>Escherichia vulneris</i>	chovatel, pes	2	meziprstí nohou	meziprstí nohou	zvukovod	ano	ne
<i>Exiguobacterium undae</i>	kočka	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Haemophilus influenzae</i>	chovatel, KS	162	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Klebsiella aerogenes</i>	chovatel, pes	3	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Klebsiella oxytoca</i>	chovatel, pes, KS	26	nosní sliznice, meziprstí nohou	nosní sliznice	nosní sliznice, zvukovod	ne	ne
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	chovatel, pes, KS	108	nosní sliznice, meziprstí nohou	nosní sliznice	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne
<i>Kocuria palustris</i>	chovatel, pes, KS	9	axila	meziprstí nohou	zvukovod	ne	ne
<i>Kytococcus sedentarius</i>	chovatel	1	ne	meziprstí nohou	ne	ne	ne
<i>Lactococcus lactis</i>	chovatel, pes, KS	14	nosní sliznice	nosní sliznice	nosní sliznice	ano	ne
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	chovatel, pes, KS	28	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	chovatel, kočka	6	ne	meziprstí nohou	zvukovod	ne	ne
<i>Microbacterium liquefaciens</i>	kočka	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Micrococcus luteus</i>	chovatel, kočka, pes, KS	96	zvukovod, meziprstí nohou, axila	zvukovod, meziprstí nohou, axila	nosní sliznice	ano	ne
<i>Moraxella canis</i>	pes	5	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Moraxella catarrhalis</i>	chovatel, KS	42	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Morganella morganii</i>	chovatel, pes, KS	56	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne

<i>Myroides odoratimimus</i>	chovatel, pes	2	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Neisseria lactamica</i>	chovatel	64	ne	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Neisseria flavescens</i>	chovatel	2	ne	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Neisseria perflava</i>	chovatel, KS	4	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Neisseria sicca</i>	chovatel	1	ne	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Neisseria subflava</i>	chovatel	1	ne	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Neisseria weaveri</i>	chovatel, kočka	14	ne	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne
<i>Neisseria zoodegmatidis</i>	pes	7	ne	ne	nosní sliznice	ano	ne
<i>Ochrobactrum intermedium</i>	chovatel, pes	2	ne	nosní sliznice	zvukovod	ne	ne
<i>Pantoea agglomerans</i>	chovatel, kočka, pes, KS	80	meziprstí nohou, axila	meziprstí nohou, axila	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne
<i>Pasteurella canis</i>	pes	21	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Pasteurella multocida</i>	chovatel, kočka, pes	46	ne	nosní sliznice	nosní sliznice	ano	ano
<i>Proteus mirabilis</i>	chovatel, kočka, pes, KS	98	meziprstí nohou, nosní sliznice	meziprstí nohou, zvukovod	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne
<i>Proteus pennerii</i>	chovatel, pes	3	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Proteus vulgaris</i>	chovatel, pes, KS	12	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne
<i>Providencia alcalifaciens</i>	chovatel, pes	16	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ne	ne
<i>Providencia rettgerii</i>	chovatel, pes, KS	69	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	chovatel, pes, kočka, KS	82	meziprstí nohou, zvukovod	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ano	ano
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	chovatel, pes	5	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ne	ne
<i>Pseudomonas putida</i>	chovatel, pes, KS	28	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ano	ano
<i>Psychrobacter sanguinis</i>	chovatel, kočka	3	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ne	ne
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	chovatel, pes	6	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ne	ne
<i>Raoultella terrigena</i>	chovatel, pes	2	ne	meziprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Rhizobium radiobacter</i>	chovatel, pes, KS	14	meziprstí nohou	meziprstí nohou, axila	nosní sliznice	ne	ne
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	pes	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Rothia dentocariosa</i>	chovatel, KS	6	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Rothia mucilaginosa</i>	chovatel, KS	17	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne	ne

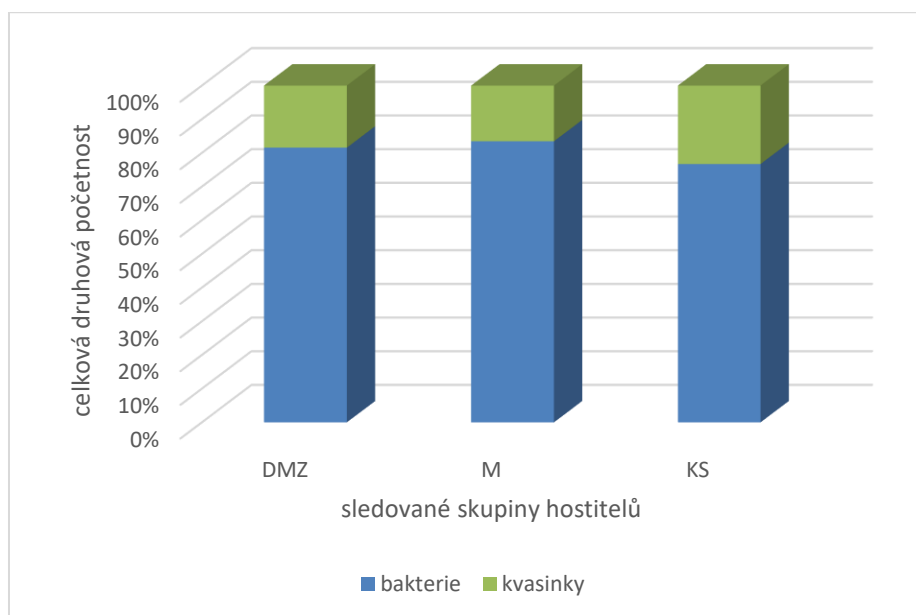
<i>Serratia marcescens</i>	chovatel, pes, kočka, KS	64	meziprstí nohou, zvukovod	meziprstí nohou, zvukovod	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne
<i>Staphylococcus aureus</i>	chovatel, pes, kočka, KS	95	nosní sliznice, axila, meziprstí nohou, zvukovod	nosní sliznice, axila, meziprstí nohou, zvukovod	nosní sliznice	ano	ano
<i>Staphylococcus capitis</i>	chovatel, pes, KS	42	zvukovod	zvukovod	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne
<i>Staphylococcus cohnii</i>	chovatel, KS	47	zvukovod	zvukovod	ne	ne	ne
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	chovatel, pes, kočka, KS	16	nosní sliznice	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	chovatel, pes, kočka, KS	114	nosní sliznice, axila, zvukovod, meziprstí nohou	nosní sliznice, axila, zvukovod, meziprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ano	ano
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	chovatel, pes, kočka, KS	29	nosní sliznice	nosní sliznice	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne
<i>Staphylococcus hominis</i>	chovatel, pes, KS	87	nosní sliznice	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne
<i>Staphylococcus felis</i>	kočka	19	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	kočka, pes	2	ne	ne	nosní sliznice, zvukovod	ne	ne
<i>Staphylococcus ludgunensis</i>	chovatel, KS	49	zvukovod	zvukovod	ne	ne	ne
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	chovatel, pes, kočka, KS	56	nosní sliznice, axila, meziprstí nohou	nosní sliznice, axila, meziprstí nohou	nosní sliznice	ano	ano
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	chovatel, pes, kočka, KS	28	axila, meziprstí nohou, zvukovod	axila, meziprstí nohou, zvukovod	zvukovod	ne	ne
<i>Staphylococcus sciuri</i>	kočka, pes	2	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Staphylococcus schleiferii</i>	pes	8	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Staphylococcus simulans</i>	chovatel, pes, kočka	9	ne	zvukovod, axila	zvukovod	ne	ne
<i>Staphylococcus succinis</i>	kočka	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Staphylococcus warnerii</i>	chovatel, KS	17	zvukovod, axila	zvukovod, axila	ne	ne	ne
<i>Staphylococcus xylosus</i>	chovatel, pes	11	ne	nosní sliznice, axila, zvukovod	nosní sliznice	ne	ne
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	chovatel, pes, kočka, KS	47	meziprstí nohou	meziprstí nohou	nosní sliznice	ano	ano
<i>Stenotrophomonas rhizophilia</i>	chovatel	1	ne	meziprstí nohou	ne	ne	ne
<i>Streptococcus agalactiae</i>	chovatel, pes, KS	6	nosní sliznice	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne
<i>Streptococcus anginosus</i>	chovatel, pes, KS	13	nosní sliznice	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne
<i>Streptococcus australis</i>	pes	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne

<i>Streptococcus canis</i>	chovatel, pes, kočka	25	ne	nosní sliznice	nosní sliznice	ano	ne
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	chovatel, pes	2	ne	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	chovatel, pes	3	ne	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne
<i>Streptococcus minor</i>	chovatel	1	ne	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Streptococcus mitis</i>	chovatel, KS	46	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	chovatel, KS	2	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Streptococcus sanguinis</i>	chovatel, KS	58	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Streptomyces violaceoruber</i>	chovatel, pes	2	ne	mezíprstí nohou	nosní sliznice	ne	ne
<i>Vagococcus fluvialis</i>	pes	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Weissella confusa</i>	pes	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Wautersiella falsenii</i>	chovatel	1	ne	nosní sliznice	ne	ne	ne

Tabulka 11: Celkový počet izolovaných druhů kvasinek

Druh	Hostitel	Počet izolátů	Kontrolní skupina	Chovatel	Mazlíček	Nález v páru	Shodná rezistence
<i>Candida albicans</i>	chovatel, pes, KS	34	nosní sliznice, axila, zvukovod	nosní sliznice, mezíprstí nohou, axila, zvukovod	nosní sliznice, zvukovod	ano	ano
<i>Candida catenulata</i>	pes	4	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Candida dubliniensis</i>	chovatel, KS	4	nosní sliznice	nosní sliznice, axila	ne	ne	ne
<i>Candida fabianii</i>	chovatel, KS	3	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Candida famata</i>	kočka	1	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Candida fermentati</i>	kočka	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Candida glabrata</i>	chovatel, KS	12	nosní sliznice	nosní sliznice, axila	ne	ne	ne
<i>Candida guilliermondii</i>	chovatel, pes	8	ne	nosní sliznice	nosní sliznice, zvukovod	ne	ne
<i>Candida kefyr</i>	chovatel, pes, KS	19	nosní sliznice	nosní sliznice	nosní sliznice	ano	ne
<i>Candida krusei</i>	chovatel, pes, KS	7	nosní sliznice	nosní sliznice, mezíprstí nohou	zvukovod	ano	ne
<i>Candida lipolytica</i>	pes	2	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Candida lambica</i>	pes	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Candida metapsilosis</i>	pes	1	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Candida orthopsilosis</i>	kočka	1	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Candida parapsilosis</i>	chovatel, pes, KS	22	mezíprstí nohou	mezíprstí nohou	zvukovod	ano	ano
<i>Candida pelliculosa</i>	chovatel, pes	15	zvukovod	zvukovod, axila	zvukovod	ano	ne
<i>Candida rugosa</i>	pes	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Candida tropicalis</i>	chovatel, pes, KS	36	nosní sliznice	nosní sliznice	nosní sliznice	ano	ne
<i>Candida utilis</i>	chovatel, pes	2	ne	nosní sliznice	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne
<i>Candida valida</i>	chovatel, KS	2	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Candida zeylanoides</i>	chovatel, KS	3	nosní sliznice	nosní sliznice, mezíprstí nohou	ne	ne	ne
<i>Cryptococcus magnus</i>	kočka	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Geotrichum candidum</i>	chovatel, pes, KS	40	mezíprstí nohou	mezíprstí nohou	nosní sliznice, zvukovod	ano	ne

<i>Magnusiomyces capitis</i>	chovatel, KS	18	axila	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Magnusiomyces clavatus</i>	chovatel	1	ne	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Malassezia furfur</i>	chovatel, KS	124	zvukovod	zvukovod	ne	ne	ne
<i>Malassezia pachydermatis</i>	chovatel, pes, KS	83	zvukovod	zvukovod	zvukovod	ano	ano
<i>Malassezia restricta</i>	kočka	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Rhodotorula glutinis</i>	pes	1	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Rhodotorula minuta</i>	chovatel, KS	2	zvukovod	zvukovod	ne	ne	ne
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	chovatel, KS	4	nosní sliznice	nosní sliznice	ne	ne	ne
<i>Rhodotorula rubra</i>	chovatel, kočka	6	ne	meziprstí nohou	zvukovod	ne	ne
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	chovatel, KS	8	axila	meziprstí nohou, axila	ne	ne	ne
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	pes	1	ne	ne	nosní sliznice	ne	ne
<i>Trichosporon asahii</i>	chovatel, KS	7	axila	meziprstí nohou	ne	ne	ne
<i>Trichosporon cutaneum</i>	pes	1	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Trichosporon jirovecii</i>	chovatel, pes	3	ne	axila	zvukovod	ne	ne
<i>Trichosporon loubierii</i>	pes	1	ne	ne	zvukovod	ne	ne
<i>Trichosporon pullulans</i>	pes	1	ne	ne	zvukovod	ne	ne



Graf 5: Kvantitativní zastoupení mikroorganismů (DMZ: domácí mazlíček, M: chovatel, majitel zvířete, KS: kontrolní skupina, Pr: proteobakteria, Fi: Firmicutes, Bac: Bacteroidetes, Act.: aktinobakteria, KVA: askomycetární kvasinky, KVB: basidiomycetární kvasinky)

U KS nebyl nalezen žádný mikrobiální druh, který by se nevyskytoval zároveň u chovatelů (Schéma 1).

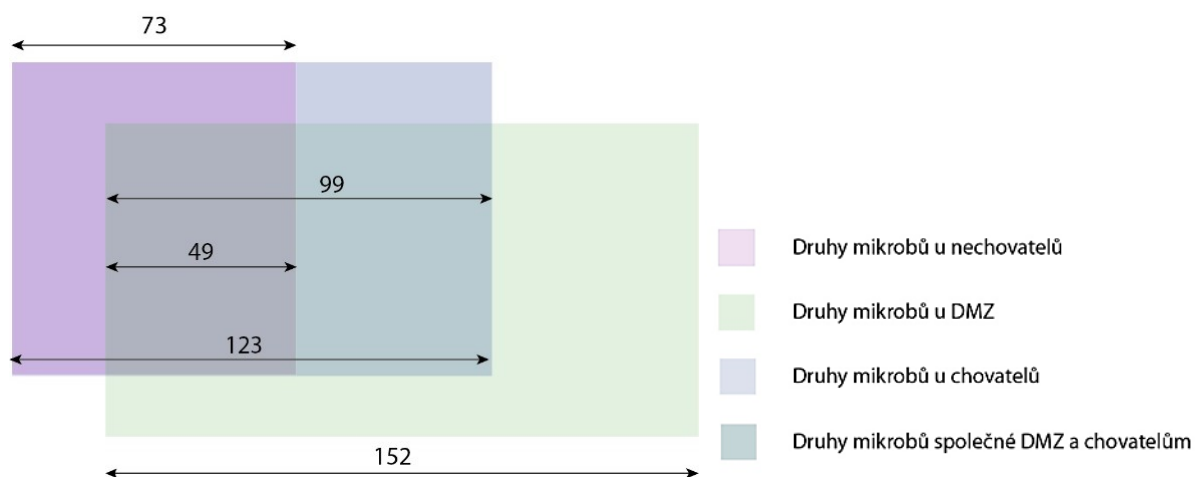


Schéma 1: Překrytí mikrobiálních profilů DMZ, chovatelů a nechovatelů

87 druhů bakterií bylo současně izolováno z chovatelů i DMZ. Z KS bylo izolováno 42 bakterií nalezených zároveň u DMZ a chovatelů (Tab. 12, Schéma 2).

Tabulka 12: Bakteriální druhy se společným výskytem DMZ i chovatelů*

1.	<i>Achromobacter ruhlandii</i>	45.	<i>Klebsiella oxytoca</i>
2.	<i>Achromobacter spanius</i>	46.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
3.	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	47.	<i>Kocuria palustris</i>
4.	<i>Acinetobacter baumannii</i>	48.	<i>Lactococcus lactis</i>
5.	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	49.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>
6.	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	50.	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>
7.	<i>Acinetobacter pittii</i>	51.	<i>Micrococcus luteus</i>
8.	<i>Aerococcus viridans</i>	52.	<i>Morganella morganii</i>
9.	<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>	53.	<i>Myroides odoratimimus</i>
10.	<i>Alcaligenes faecalis</i>	54.	<i>Neisseria weaveri</i>
11.	<i>Arthrobacter cumminsii</i>	55.	<i>Ochrobactrum intermedium</i>
12.	<i>Bacillus cereus</i>	56.	<i>Pantoea agglomerans</i>
13.	<i>Bacillus circulans</i>	57.	<i>Pasteurella multocida</i>
14.	<i>Bacillus firmus</i>	58.	<i>Proteus mirabilis</i>
15.	<i>Bacillus licheniformis</i>	59.	<i>Proteus pennerii</i>
16.	<i>Bacillus lentus</i>	60.	<i>Proteus vulgaris</i>
17.	<i>Bacillus megatherium</i>	61.	<i>Providencia alcalifaciens</i>
18.	<i>Bacillus mycoides</i>	62.	<i>Providencia rettgerii</i>
19.	<i>Bacillus pseudofirmus</i>	63.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
20.	<i>Bacillus simplex</i>	64.	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>
21.	<i>Bacillus subtilis</i>	65.	<i>Pseudomonas putida</i>
22.	<i>Bergeyella zoohelcum</i>	66.	<i>Psychrobacter sanguinis</i>
23.	<i>Brevundimonas diminuta</i>	67.	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
24.	<i>Citrobacter braakii</i>	68.	<i>Raoultella terrigena</i>
25.	<i>Citrobacter freundii</i>	69.	<i>Rhizobium radiobacter</i>
26.	<i>Citrobacter koseri</i>	70.	<i>Serratia marcescens</i>
27.	<i>Corynebacterium accolens</i>	71.	<i>Staphylococcus aureus</i>
28.	<i>Corynebacterium amycolatum</i>	72.	<i>Staphylococcus capitis</i>
29.	<i>Corynebacterium falsenii</i>	73.	<i>Staphylococcus chromogenes</i>
30.	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	74.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
31.	<i>Dermabacter hominis</i>	75.	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>

32.	<i>Dietzia maris</i>	76.	<i>Staphylococcus hominis</i>
33.	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	77.	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
34.	<i>Enterococcus dispar</i>	78.	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
35.	<i>Enterococcus faecalis</i>	79.	<i>Staphylococcus simulans</i>
36.	<i>Enterococcus faecium</i>	80.	<i>Staphylococcus xylosus</i>
37.	<i>Enterococcus hirae</i>	81.	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
38.	<i>Enterococcus saccharolyticus</i>	82.	<i>Streptococcus agalactiae</i>
39.	<i>Enterobacter asburiae</i>	83.	<i>Streptococcus anginosus</i>
40.	<i>Enterobacter hormaechei</i>	84.	<i>Streptococcus canis</i>
41.	<i>Enterobacter cloacae</i>	85.	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
42.	<i>Escherichia coli</i>	86.	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
43.	<i>Escherichia vulneris</i>	87.	<i>Streptomyces violaceoruber</i>
44.	<i>Klebsiella aerogenes</i>		

* modře označené druhy vyskytující se také u kontrolní skupiny nechovatelů

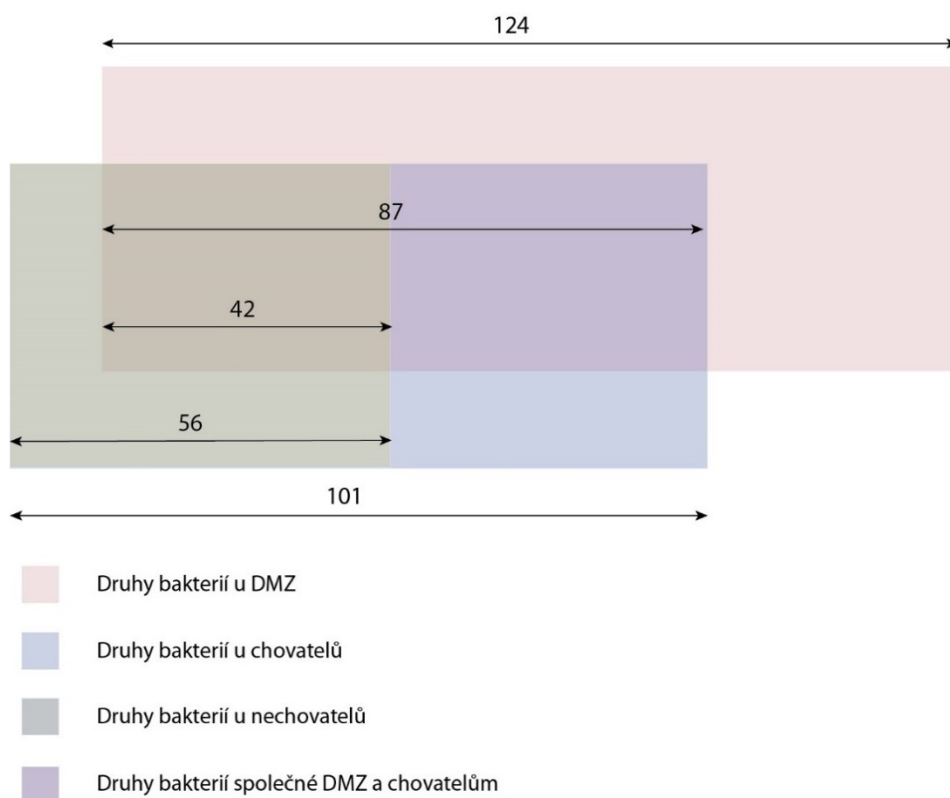


Schéma 2: Překrytí bakteriálních profilů DMZ, chovatelů a nechovatelů

Izoláty kvasinek ze sledovaných domácností patřily celkem 28 druhům. 12 druhů z nich bylo nalezeno jak u chovatelů, tak i DMZ. U KS se rovněž nevyskytovaly kvasinky, které by

nebyly nalezeny zároveň u párů (chovatel a DMZ). 7 druhů kvasinek bylo zastoupeno ve všech třech sledovaných souborech (Tab. 13, Schéma 3).

Tabulka 13: Druhy kvasinek izolované z chovatelů a DMZ*

1.	<i>Candida albicans</i>	7.	<i>Candida tropicalis</i>
2.	<i>Candida guilliermondii</i>	8.	<i>Candida utilis</i>
3.	<i>Candida kefyra</i>	9.	<i>Geotrichum candidum</i>
4.	<i>Candida krusei</i>	10.	<i>Malassezia pachydermatis</i>
5.	<i>Candida parapsilosis</i>	11.	<i>Rhodotorula rubra</i>
6.	<i>Candida pelliculosa</i>	12.	<i>Trichosporon jirovecii</i>

* zeleně označené druhy z kontrolní skupiny nechovatelů

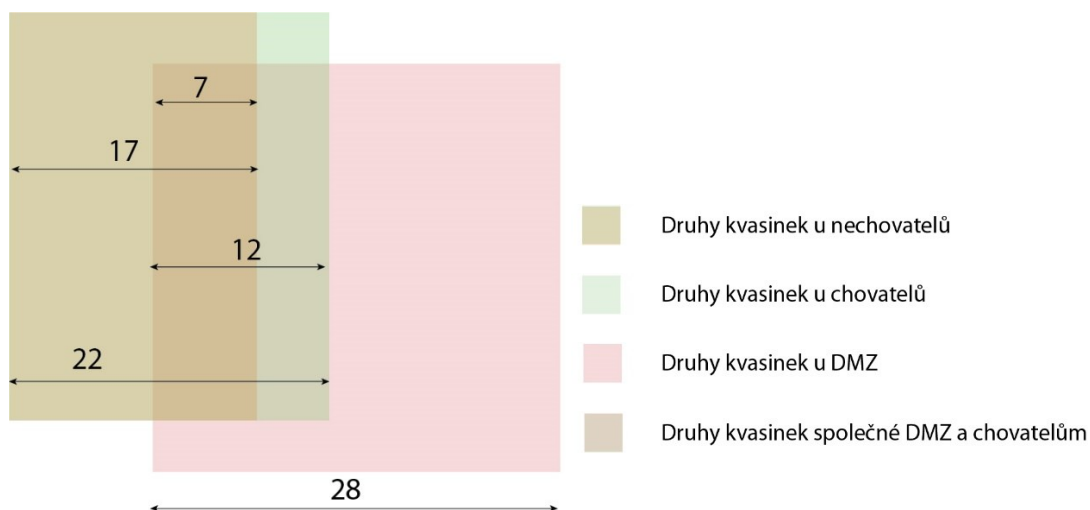


Schéma 3: Překrytí kvasinkových profilů DMZ, chovatelů a nechovatelů

Z biologického materiálu chovatelů bylo izolováno 123 druhů mikroorganismů (101 bakterií a 22 kvasinek, z nichž 14 druhů bakterií (Tab. 14) a 10 druhů kvasinek (Tab. 15) nebyly nalezeny u DMZ.

Tabulka 14: Druhy bakterií izolovaných pouze z lidského biologického materiálu

1.	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	11.	<i>Rothia dentocariosa</i>
2.	<i>Corynebacterium minutissimum</i>	12.	<i>Rothia mucilaginoso</i>
3.	<i>Haemophilus influenzae</i>	13.	<i>Staphylococcus ludgunensis</i>
4.	<i>Kytococcus sedentarius</i>	14.	<i>Staphylococcus warnerii</i>
5.	<i>Moraxella catarrhalis</i>	15.	<i>Stenotrophomonas rhizophilia</i>
6.	<i>Neisseria lactamica</i>	16.	<i>Streptococcus mitis</i>

7.	<i>Neisseria flavescens</i>	17.	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
8.	<i>Neisseria perflava</i>	18.	<i>Streptococcus sanguinis</i>
9.	<i>Neisseria sicca</i>	19.	<i>Streptococcus minor</i>
10.	<i>Neisseria subflava</i>	20.	<i>Wautersiella falsenii</i>

* modře označené druhy izolované jen z chovatelů

Tabulka 15: Druhy kvasinek izolovaných pouze z lidského biologického materiálu

1.	<i>Candida dubliniensis</i>	7.	<i>Magnusiomyces clavatus</i>
2.	<i>Candida fabianii</i>	8.	<i>Malassezia furfur</i>
3.	<i>Candida glabrata</i>	9.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
4.	<i>Candida valida</i>	10.	<i>Rhodotorula minuta</i>
5.	<i>Candida zeylanoides</i>	11.	<i>Trichosporon asahii</i>
6.	<i>Magnusiomyces capitis</i>		

* zeleně označen druh izolovaný jen z chovatelů

Ze zvířecího biologického materiálu bylo izolováno 152 druhů mikroorganismů (124 bakterií a 28 kvasinek). 99 druhů mikroorganismů (87 bakterií a 12 kvasinek) se vyskytovalo také u chovatelů. 37 druhů bakterií (**Tab. 16**) a 16 druhů kvasinek (**Tab. 17**) bylo izolováno pouze ze zvířecích vzorků.

Tab. 16: Druhy bakterií izolovaných pouze ze zvířecího biologického materiálu

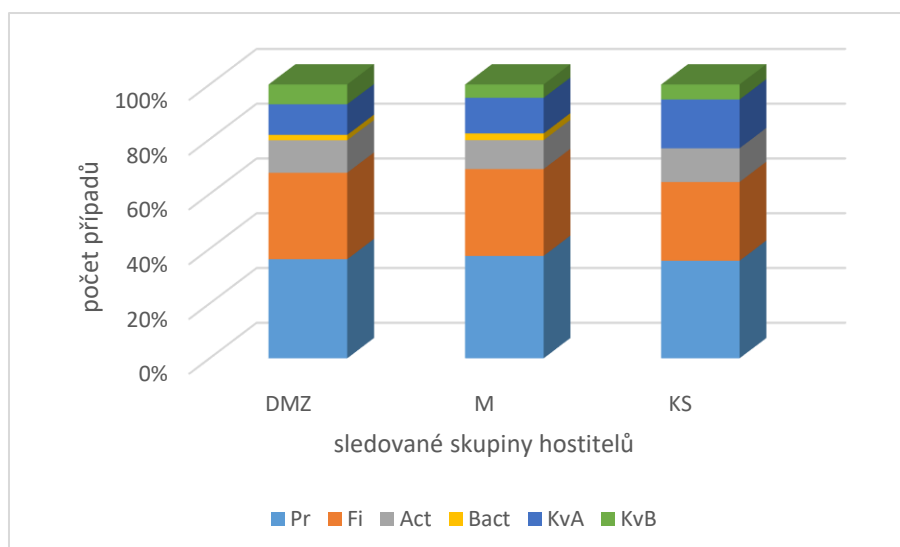
1.	<i>Acinetobacter indicus</i>	20.	<i>Exiguobacterium undae</i>
2.	<i>Acinetobacter soli</i>	21.	<i>Microbacterium liquefaciens</i>
3.	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	22.	<i>Moraxella canis</i>
4.	<i>Arthrobacter oxydans</i>	23.	<i>Neisseria zoodegmatis</i>
5.	<i>Bacillus pumillus</i>	24.	<i>Pasteurella canis</i>
6.	<i>Bacillus thuringiensis</i>	25.	<i>Rhodococcus erythropolis</i>
7.	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	26.	<i>Rothia amarae</i>
8.	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	27.	<i>Rothia nasimurium</i>
9.	<i>Brevibacterium parabrevis</i>	28.	<i>Sphingomonas yabuuchiae</i>
10.	<i>Buttiauxella ferragutiae</i>	29.	<i>Staphylococcus cohnii</i>
11.	<i>Buttiauxella noackiae</i>	30.	<i>Staphylococcus felis</i>
12.	<i>Citrobacter gillenii</i>	31.	<i>Staphylococcus gallinarum</i>

13.	<i>Citrobacter murlinae</i>	32.	<i>Staphylococcus sciuri</i>
14.	<i>Corynebacterium auriscanis</i>	33.	<i>Staphylococcus schleiferii</i>
15.	<i>Corynebacterium canis</i>	34.	<i>Staphylococcus succinis</i>
16.	<i>Corynebacterium felinum</i>	35.	<i>Streptococcus australis</i>
17.	<i>Enterococcus canis</i>	36.	<i>Vagococcus fluvialis</i>
18.	<i>Enterobacter cowanii</i>	37.	<i>Weissella confusa</i>
19.	<i>Enterobacter kobei</i>		

Tab. 17: Druhy kvasinek izolovaných pouze ze zvířecího biologického materiálu

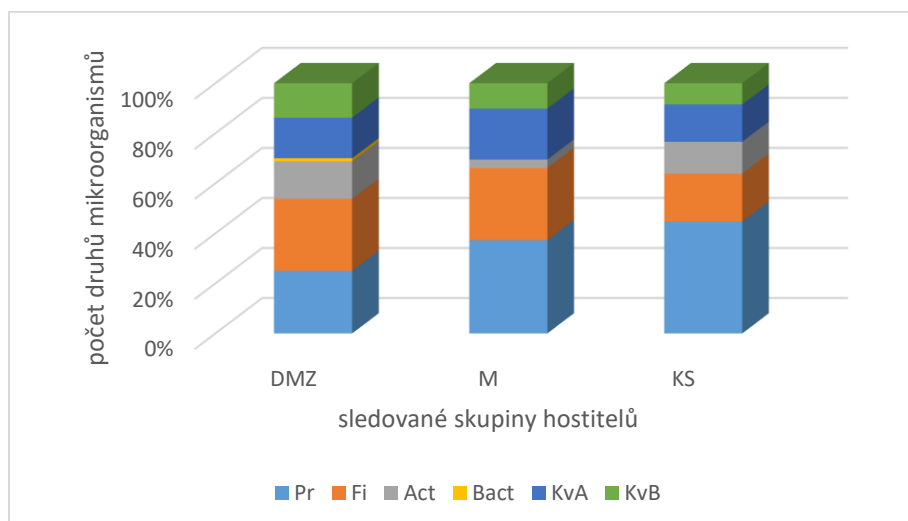
1.	<i>Candida catenulata</i>	9.	<i>Cryptococcus magnus</i>
2.	<i>Candida famata</i>	10.	<i>Malassezia restricta</i>
3.	<i>Candida fermentati</i>	11.	<i>Rhodotorula glutinis</i>
4.	<i>Candida lambica</i>	12.	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
5.	<i>Candida lipolytica</i>	13.	<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>
6.	<i>Candida metapsilosis</i>	14.	<i>Trichosporon cutaneum</i>
7.	<i>Candida orthopsilosis</i>	15.	<i>Trichosporon loubierii</i>
8.	<i>Candida rugosa</i>	16.	<i>Trichosporon pullulans</i>

Z biologického materiálu chovatelů bylo izolováno 101 druhů bakterií (46 proteobakterií, 39 Firmicutes, 13 aktinobakterií a 3 Bacteroidetes) a 22 druhů kvasinek (16 askomycetárních kvasinek a 6 basidiomycetárních). V biologickém materiálu DMZ bylo nalezeno 124 bakterií (55 proteobakterií, 48 Firmicutes, 18 aktinobakterií a 3 Bacteroidetes) a 28 druhů kvasinek (17 askomycetárních kvasinek a 11 basidiomycetárních). Druhově nejchudší vzorky biologického materiálu byly z KS nechovatelů. Obsahovaly 56 druhů bakterií (26 Proteobakterií, 21 Firmicutes, 9 aktinobakterií a 0 Bacteroidetes) a 17 druhů kvasinek (13 askomycetárních kvasinek a 4 basidiomycetárních) (**Graf 6**).



Graf 6: Mikrobiální profily u sledovaných skupin hostitelů (DMZ: domácí mazlíček, M: chovatel, majitel zvířete, KS: kontrolní skupina, Pr: proteobakteria, Fi: Firmicutes, Bac: Bacteroidetes, Act.: aktinobakteria, KVA: askomycetární kvasinky, KVB: basidiomycetární kvasinky)

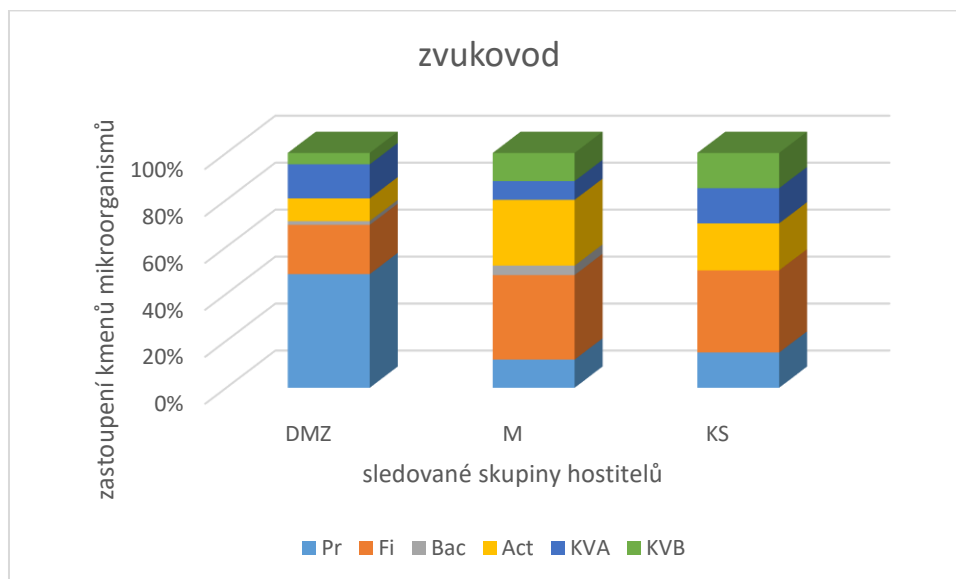
Z biologického materiálu dobrovolníků, kteří podstoupili ATB terapii za poslední rok bylo izolováno jiné složení mikrobioty. U chovatelů s prodělanou ATB terapií (n=45) bylo kultivováno 41 druhů bakterií (22 Proteobakterií, 17 Firmicutes, 2 aktinobakterií a 0 Bacteroidetes) a 18 druhů kvasinek (12 askomycetárních a 6 basidiomycetárních). U DMZ po ATB léčbě (n=34) bylo izolováno 56 druhů bakterií (20 Proteobakterií, 23 Firmicutes, 12 Aktinobakterií a 1 Bacteroidetes) a 24 druhů kvasinek (13 askomycetárních a 11 basidiomycetárních). U KS po ATB terapii (n=25) bylo izolováno 36 druhů bakterií (21 Proteobakterií, 9 Firmicutes, 6 Aktinobakterií, 0 Bacteroidetes) a 11 druhů kvasinek (7 askomycetárních a 4 basidiomycetárních) (Graf 7).



Graf 7: Mikrobiální profily u sledovaných skupin hostitelů po ATB terapii (Pr: proteobakteria, Fi: Firmicutes, Bac: Bacteroidetes, Act.: aktinobakteria, KVA: askomycetární kvasinky, KVB: basidiomycetární kvasinky)

12.3. Vyhodnocení získaných dat

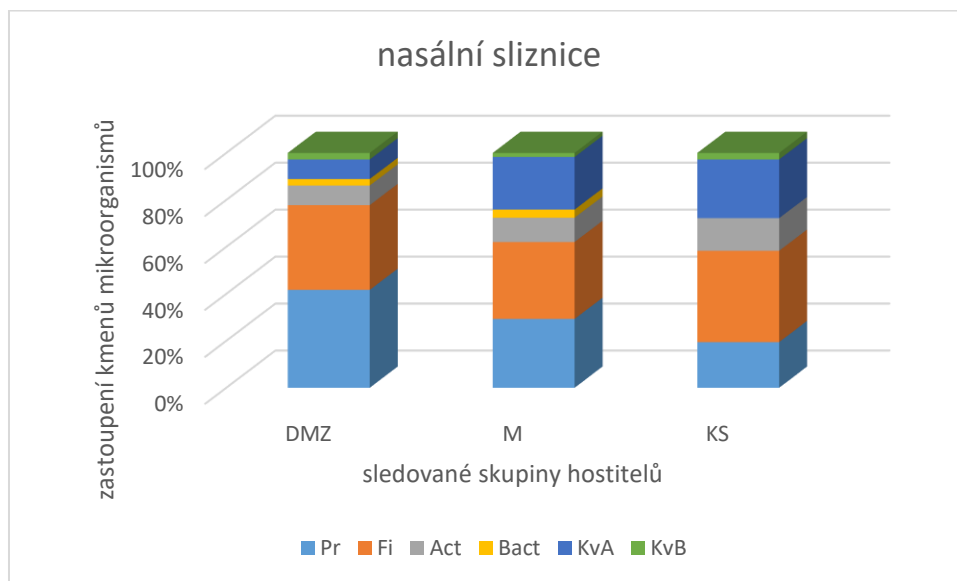
Vzorky klinického materiálu se lišily kvantitativně i kvalitativně. Zvukovod byl u DMZ nejčastěji kolonizován Proteobacteria (nejčastěji *Escherichia coli*), zatímco u člověka (chovatelé, nechovatele) měli nejvíce zastoupeny grampozitivní Firmicutes (především *Staphylococcus* spp.). Je zřejmé, že basidiomycetární kvasinky, především *Malassezia* spp., jsou v biologickém materiálu zvukovodu podobně časté u všech třech sledovaných skupin. Největší počet mikrobiálních izolátů zvukovodu byl zjištěn u DMZ (n=532) s frekvencí f=4,16 mikroorganismu na jednoho zvířecího pacienta. U chovatelů odebrané vzorky obsahovaly 467 izolátů mikroorganismů s f=3,22 druhů na 1 chovatele a u KS 248 izolátů (f=3,1). Druhové množství skýtalo v tomto biologickém materiálu u DMZ 62 druhů mikroorganismů (50 bakterií a 12 kvasinek), z nichž největší abundanci měla Proteobacteria (n=30). Abundance chovatelů sestávala z 25 druhů mikroorganismů (20 bakterií a 5 kvasinek) a KS 20 druhů (14 bakterií a 6 kvasinek). U obou skupin lidí druhově převládaly Firmicutes, u chovatelů (n=9) a KS (n=7) (**Graf 8**).



Graf 8: Mikrobiální profily zvukovodů (Pr: proteobakteria, Fi: Firmicutes, Bac: Bacteroidetes, Act.: aktinobakteria, KVA: askomycetární kvasinky, KVB: basidiomycetární kvasinky)

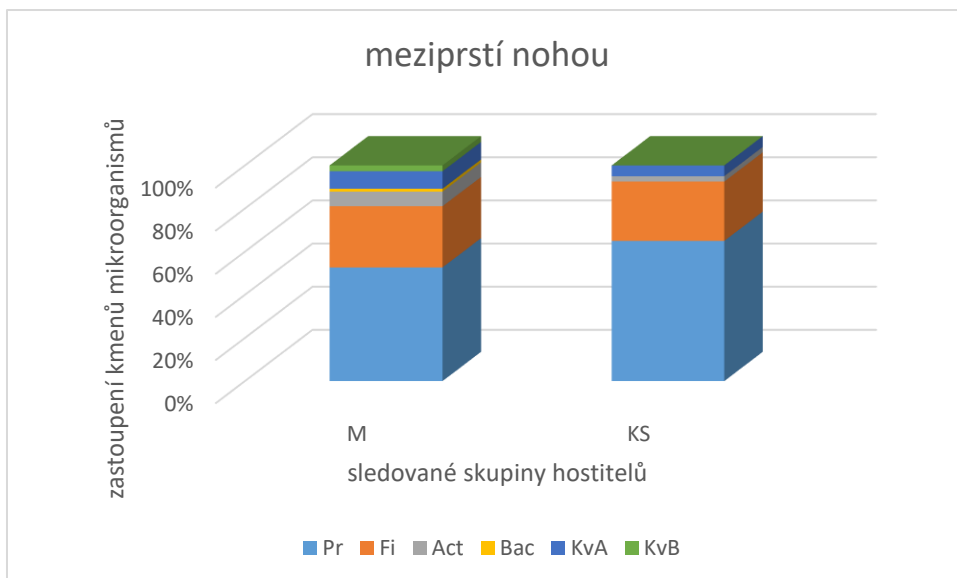
Izoláty z nosních sliznic byly u DMZ kvantitativně i kvalitativně nejbohatším biologickým materiálem. U DMZ převažovaly izolBasidiomycetární kvasinky byly u všech tří sledovaných skupin izolovány ojediněle, ale kvantita izolátů askomycetárních kvasinek (především *Candida* spp.) byly u člověka až trojnásobně častěji než u DMZ. U KS byly zastoupeny ze všech tří skupin v tomto biologickém materiálu nejhojněji. Mikrobiální profily biologického

materiálu nosní sliznice byly u DMZ ($n=625$; $f=4,88$), u chovatelů ($n=264$) s $f=1,82$ a u KS ($n=134$) s $f=1,66$. Abundance nosní sliznice DMZ činila 108 druhů mikroorganismů (96 bakterií a 12 kvasinek). Proteobakterie v jejich mikrobiálním profilu převažovaly ($n=45$). U chovatelů bylo z nosní sliznice izolováno 58 druhů mikroorganismů (44 bakterií a 14 kvasinek). Převažovali zde zástupci Firmicutes ($n=19$). Z nosní sliznice KS bylo izolováno 36 druhů mikroorganismů (26 bakterií a 10 kvasinek) a převaha Firmicutes oproti Proteobacteria je zde dvojnásobná (**Graf 9**).



Graf 9: Mikrobiální profily nasálních sliznic sledovaných skupin hostitelů (Pr: proteobakteria, Fi: Firmicutes, Bac: Bacteroidetes, Act: aktinobakteria, KVA: askomycetární kvasinky, KVB: basidiomycetární kvasinky)

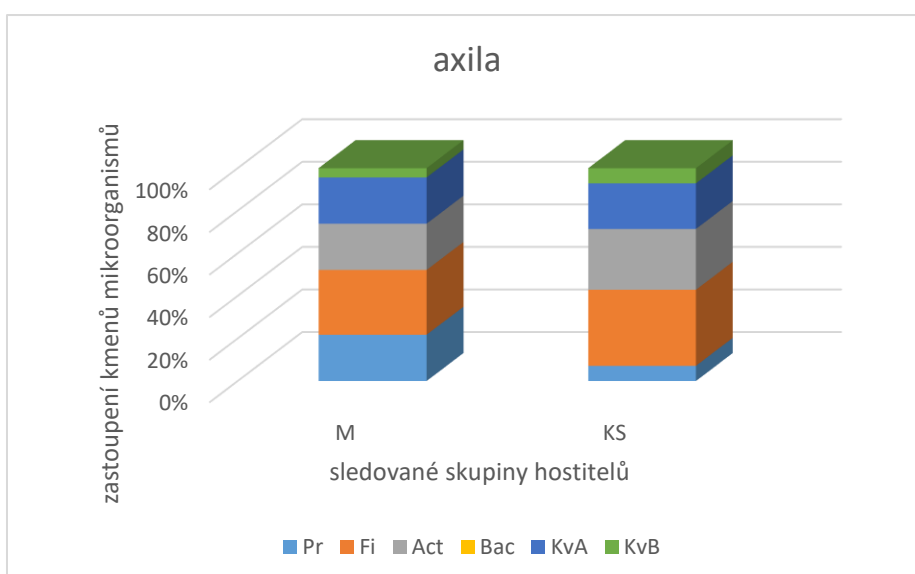
Meziprstí dolních končetin bylo u člověka nejbohatší na proteobakterie ($n=410$) a Firmicutes ($n=127$). Kvantita proteobakterií a Firmicutes byla u obou skupin poměrně vyrovnaná. Celkový počet mikrobiálních izolátů byl ($n=410$) na počet chovatelů ($n=145$; $f=2,83$) vyšší přibližně o 6 desetin ($n=193$; $f=2,20$). Druhovú početnost mikroorganismů meziprstí nohou chovatelů činila 74 druhů mikroorganismů (66 bakterií a 8 kvasinek). Proteobakterie u obou skupin druhově převažovaly, u chovatelů ($n=39$) a u KS ($n=26$). U KS bylo z meziprstí nohou izolováno 40 druhů mikroorganismů (38 bakterií a 2 kvasinky) (**Graf 10**).



Graf 10: Mikrobiální profily meziprstí nohou chovatelů (M) a nechovatelů (KS)

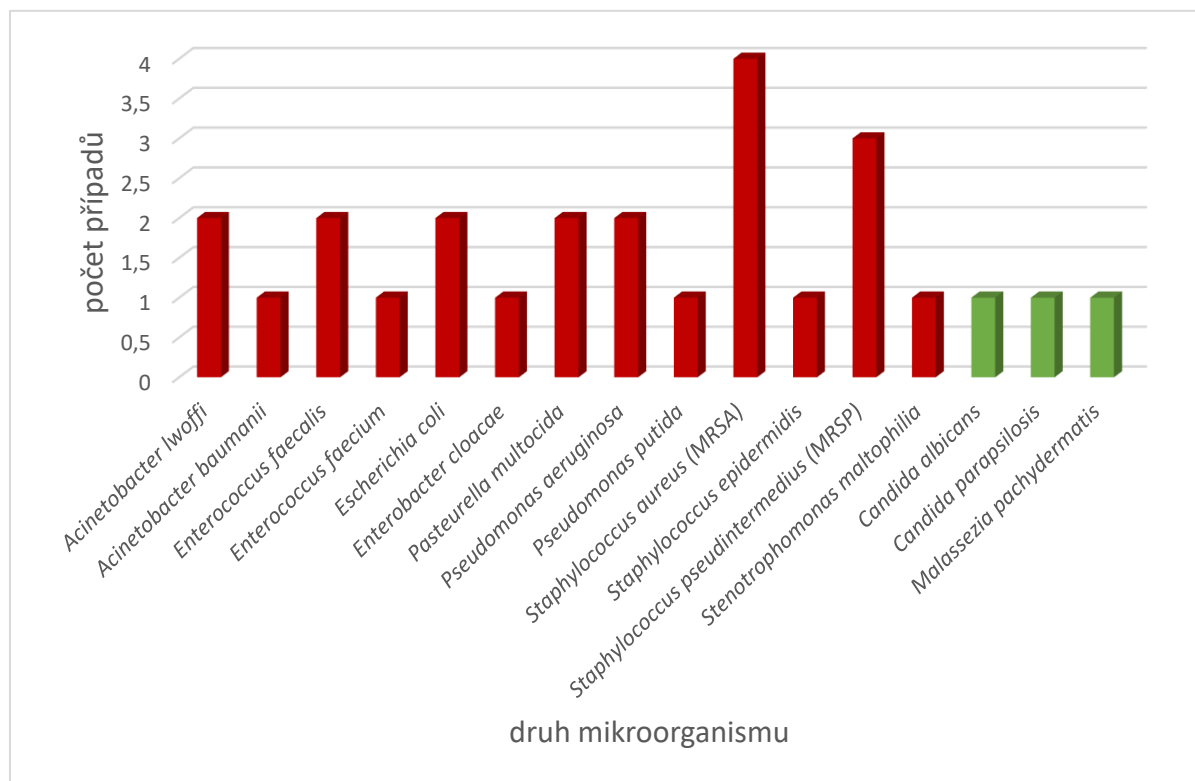
(Pr: proteobakteria, Fi: Firmicutes, Bac: Bacteroidetes, Act.: aktinobakteria, KVA: askomycetární kvasinky, KVB: basidiomycetární kvasinky)

Mikrobiální složení axil chovatelů a nechovatelů se nijak významně nelišilo. Převažovaly u obou skupin Firmicutes (především PkNS). Proteobakterie byly u KS jen mírně častější ($f=0,082$). Počet izolátů byl u axil chovatelů ($n=272$) s celkovou frekvencí izolátů ($f=1,86$) a u KS ($n=128$) s frekvencí ($f=1,6$). Abundance mikroorganismů byla v tomto materiálu nejchudší. U chovatelů bylo izolováno 23 druhů mikroorganismů (17 bakterií a 6 kvasinek) a u nechovatelů 14 druhů mikroorganismů (10 druhů bakterií a 4 kvasinky). U obou skupin bylo největší druhové zastoupení Firmicutes (**Graf 11**).



Graf 11: Mikrobiální profily axil chovatelů a nechovatelů (Pr: proteobakteria, Fi: Firmicutes, Bac: Bacteroidetes, Act.: aktinobakteria, KVA: askomycetární kvasinky, KVB: basidiomycetární kvasinky)

Ve 26 domácnostech s DMZ byly zaznamenány izoláty 16 párů druhů oportunně patogenních mikroorganismů (13 bakterií a 3 kvasinky) se shodným fenotypem rezistence (viz **Graf 12**). Nejčastěji se vyskytoval MRSA, který byl sdílen ve 4 domácnostech. Typickým klinickým materiálem byla nosní sliznice a v jednom případě axilární jamka (fossa axillaris



Graf 12: Stejný fenotyp ATB rezistencí u sdílených mikrobiálních druhů (chovatel, DMZ)

n (osa y) = počet případů (chovatel x DMZ); ● bakterie, ● kvasinky

Stejný fenotyp ATB rezistence mikroorganismů nalezených u chovatelů a jejich DMZ v 26 domácnostech jsou zaznamenány v **Tabulce 18**.

Tabulka 18: Shodný fenotyp ATB rezistence mikroorganismů mezi DMZ a chovatelem

Druh mikroorganismu	Rezistence	Počet izolátů*	Průměr inhibiční zóny (mm)
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	piperacilin	1	12
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	piperacilin/ tazobaktam	1	13
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ciprofloxacin, enrofloxacin	1	11
<i>Enterococcus faecalis</i>	vankomycin, tetracyklin	1	10; 12
<i>Enterococcus faecalis</i>	vankomycin, tetracyklin	1	11; 12
<i>Enterococcus faecium</i>	vankomycin, ampicilin	1	13; 11
<i>Enterobacter cloacae</i>	cefalosporiny 3. generace	1	13
<i>Escherichia coli</i>	ampicilin	1	0
<i>Escherichia coli</i> (hemolytický)	ampicilin/ sulbaktam	1	0

kmen)			
<i>Pasteurella multocida</i>	tetracyklin	1	10
<i>Pasteurella multocida</i>	tetracyklin	1	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	karbapenemy (imipenem, meropenem)	1	10; 11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	gentamicin	1	0
<i>Pseudomonas putida</i>	aminoglykosidy	1	11
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	methicilin/ oxacilin, cefalosporiny 1. a 2. generace	4	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	amoxicilin/ kys. Klavulanová	1	0
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	methicilin/ oxacilin, cefalosporiny 1. a 2. generace,	3	0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	aminoglykosidy, fluorochinolony	1	0; 10
<i>Candida albicans</i>	flukonazol	1	11
<i>Candida parapsilosis</i>	flukonazol	1	10
<i>Malassezia pachydermatis</i>	ketokonazol	1	13

* = počet párů společných izolátů chovatel-mazlíček

12.4. Vyhodnocení hypotéz

1.) H0: Abundance mikroorganismů není ovlivňována vlastnictvím DMZ.

Mezi chovateli a nechovateli nebyla v druhové početnosti izolovaných druhů mikroorganismů prokázána souvislost (**Tab. 1stat**). Chov DMZ tedy pravděpodobně nesouvisí s celkovým počtem mikrobiálních kolonizátorů chovatele.

Tabulka Istat: Analýza dat: druhová početnost mikroorganismů chovatelů a nechovatelů

NCSS 2021, v21.0.4

06.02.2023 10:14:20 1

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Response Variable AB_mikrob
 Group Variable sku
 Difference (sku=chov) - (sku=nechov)

Descriptive Statistics

Variable	Count	Mean	Standard Deviation of Data	Standard Error of Mean	T*	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
sku=chov	145	7.662069	2.75938	0.229154	1.9766	7.209129	8.115009
sku=nechov	80	7.1125	2.590116	0.2895838	1.9905	6.536098	7.688902

Descriptive Statistics for the Median

Variable	Count	Median	95% LCL of Median	95% UCL of Median
sku=chov	145	7	7	8
sku=nechov	80	7	6	8

Two-Sided Confidence Interval for $\mu_1 - \mu_2$

Variance Assumption	DF	Mean Difference	Standard Error	T*	95% LCL of Difference	95% UCL of Difference
Equal	223	0.549569	0.3761208	1.9707	-0.1916369	1.290775
Unequal	171.93	0.549569	0.3692836	1.9739	-0.1793443	1.278482

Equal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050$?
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	0.549569	0.3761208	1.4612	223	0.14538	No

Power for the Equal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	145	80	7.662069	7.1125	2.75938	2.590116	0.30706	0.13021

Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050$?
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	0.549569	0.3692836	1.4882	171.93	0.13853	No

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Response Variable AB_mikrob
 Group Variable sku
 Difference (sku=chov) - (sku=nechov)

Power for the Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	145	80	7.662069	7.1125	2.75938	2.590116	0.31588	0.13527

Mann-Whitney U or Wilcoxon Rank-Sum Test for Difference in Location

Variable	Mann-Whitney U	Sum of Ranks (W)	Mean of W	Std Dev of W
sku=chov	6348	16933	16385	464.1942
sku=nechov	5252	8492	9040	464.1942

Number of Sets of Ties = 13, Multiplicity Factor = 155916

Test Type	Alternative Hypothesis	Z-Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
Exact*	Location Diff. $\neq 0$			
Normal Approximation	Location Diff. $\neq 0$	-1.1805	0.23779	No
Normal Approx. with C.C.	Location Diff. $\neq 0$	-1.1795	0.23821	No

* The Exact Test is provided only when there are no ties and the sample size is ≤ 20 in both groups.

Kolmogorov-Smirnov Test For Comparing Distributions

Alternative Hypothesis	Largest-Difference Criterion Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
D(1) \neq D(2)	0.071983	0.929650	No

Tests of the Normality Assumption for sku=chov

Normality Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Normality at $\alpha = 0.050?$
Shapiro-Wilk	0.9589	0.00026	Yes
Skewness	3.1890	0.00143	Yes
Kurtosis	1.1370	0.25554	No
Omnibus (Skewness or Kurtosis)	11.4623	0.00324	Yes

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Response Variable AB_mikrob
 Group Variable sku
 Difference (sku=chov) - (sku=nechov)

Tests of the Normality Assumption for sku=nechov

Normality Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Normality at $\alpha = 0.050$?
Shapiro-Wilk	0.9733	0.09214	No
Skewness	1.0032	0.31578	No
Kurtosis	-0.5688	0.56947	No
Omnibus (Skewness or Kurtosis)	1.3299	0.51430	No

Tests of the Equal Variance Assumption

Equal-Variance Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Equal Variances at $\alpha = 0.050$?
Variance-Ratio	1.1350	0.53884	No
Modified-Levene	0.0707	0.79061	No

Výsledek: Na základě získaných dat, konkrétně mikrobiálních abundancí 145 chovatelů a 80 nechovatelů nebyla zamítnuta hypotéza shody. Nebylo tudíž prokázáno, že by chov DMZ souvisel s druhovou početností mikrobiálních kolonizátorů člověka. Mann-Whitney test a Kolmogorov-Smirnov test nezamítly nulovou hypotézu na 5 % hladině významnosti s výsledky **P=0,23821** a **P=0,92965**.

Pro jistotu však byla tato hypotéza ještě testována pouze s ohledem ke kvasinkové mykobiotě za použití stejných statistických analýz.

H0: Abundance kvasinek není ovlivňována vlastnictvím DMZ.

Souvislost mezi množstvím izolovaných kvasinek u chovatelů a nechovatelů DMZ se ukázala jako možná. U chovatelů se vyskytovalo vyšší zastoupení kvasinkové mykobioty než u kontrolní skupiny (**Tab. 2stat**).

Tabulka 2stat: Analýza dat: druhová početnost kvasinek chovatelů a nechovatelů

NCSS 2021, v21.0.4

06.02.2023 10:14:20 4

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Response Variable kvas
 Group Variable sku
 Difference (sku=chov) - (sku=nechov)

Descriptive Statistics

Variable	Count	Mean	Standard Deviation of Data	Standard Error of Mean	T*	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
sku=chov	145	2.117241	1.777574	0.1476195	1.9766	1.82546	2.409022
sku=nechov	80	1.35	1.181074	0.1320481	1.9905	1.087165	1.612835

Descriptive Statistics for the Median

Variable	Count	Median	95% LCL of Median	95% UCL of Median
sku=chov	145	2	1	2
sku=nechov	80	1	1	1

Two-Sided Confidence Interval for $\mu_1 - \mu_2$

Variance Assumption	DF	Mean Difference	Standard Error	T*	95% LCL of Difference	95% UCL of Difference
Equal	223	0.7672414	0.2217244	1.9707	0.3302981	1.204185
Unequal	215.34	0.7672414	0.1980612	1.9710	0.3768545	1.157628

Equal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050$?
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	0.7672414	0.2217244	3.4603	223	0.00065	Yes

Power for the Equal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	145	80	2.117241	1.35	1.777574	1.181074	0.93129	0.80476

Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050$?
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	0.7672414	0.1980612	3.8738	215.34	0.00014	Yes

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Response Variable kvas
 Group Variable sku
 Difference (sku=chov) - (sku=nechov)

Power for the Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	145	80	2.117241	1.35	1.777574	1.181074	0.97105	0.89760

Mann-Whitney U or Wilcoxon Rank-Sum Test for Difference in Location

Variable	Mann-Whitney U	Sum of Ranks (W)	Mean of W	Std Dev of W
sku=chov	7238	17823	16385	455.619
sku=nechov	4362	7602	9040	455.619

Number of Sets of Ties = 7, Multiplicity Factor = 567156

Test Type	Alternative Hypothesis	Z-Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
Exact*	Location Diff. $\neq 0$			
Normal Approximation	Location Diff. $\neq 0$	-3.1561	0.00160	Yes
Normal Approx. with C.C.	Location Diff. $\neq 0$	-3.1550	0.00160	Yes

* The Exact Test is provided only when there are no ties and the sample size is ≤ 20 in both groups.

Kolmogorov-Smirnov Test For Comparing Distributions

Alternative Hypothesis	Largest-Difference Criterion Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
D(1) \neq D(2)	0.222414	0.009967	Yes

Tests of the Normality Assumption for sku=chov

Normality Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Normality at $\alpha = 0.050?$
Shapiro-Wilk	0.8916	0.00000	Yes
Skewness	4.7489	0.00000	Yes
Kurtosis	2.5575	0.01054	Yes
Omnibus (Skewness or Kurtosis)	29.0928	0.00000	Yes

Výsledek: Lze předpokládat, že chov DMZ kladně ovlivňuje druhovou početnost kvasinkových kolonizátorů člověka. Mann-Whitney test a Kolmogorov-Smirnov test zamítly nulovou hypotézu na 5 % hladině významnosti s výsledky $P=0,0016$ a $P=0,009967$.

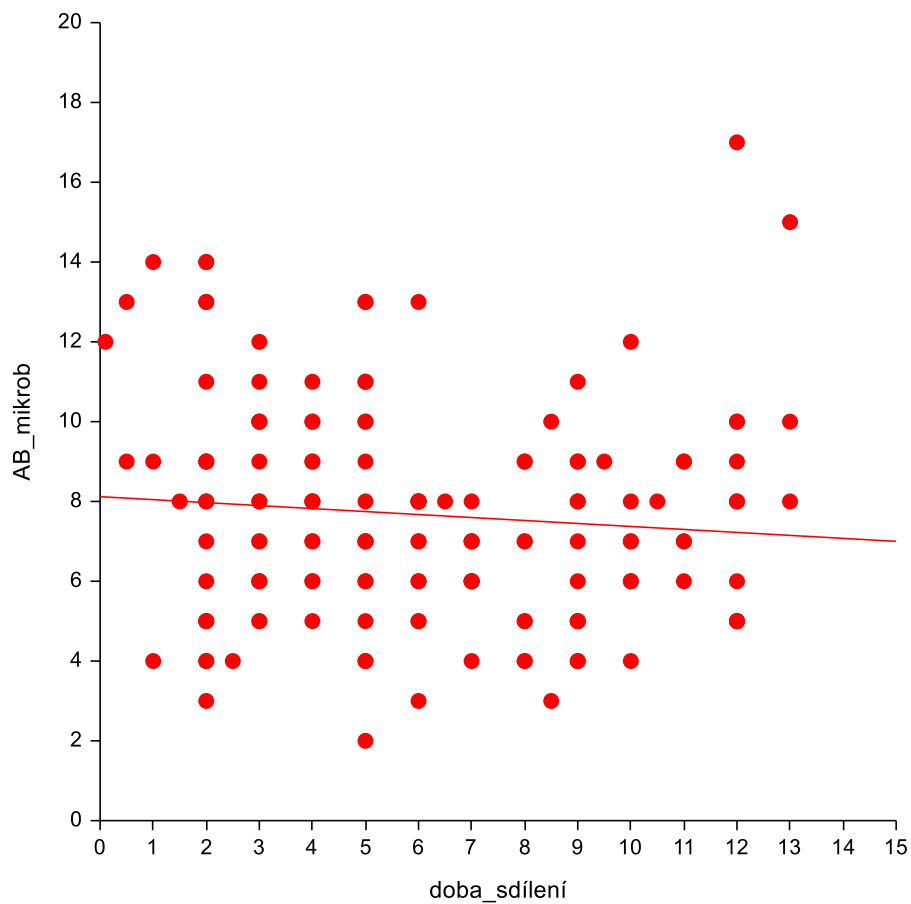
2.) H_0 : Doba sdílení domácnosti s DMZ neovlivňuje abundanci mikroorganismů kolonizujících majitele.

Spearmanův korelační koeficient na základě získaných dat neprokázal souvislost času stráveného ve sdílené domácnosti s DMZ a celkovou abundancí mikroorganismů (**Tab. 3stat**) kolonizující chovatele (**Graf 12.**), ale ani abundanci kvasinek (**Graf 13.**).

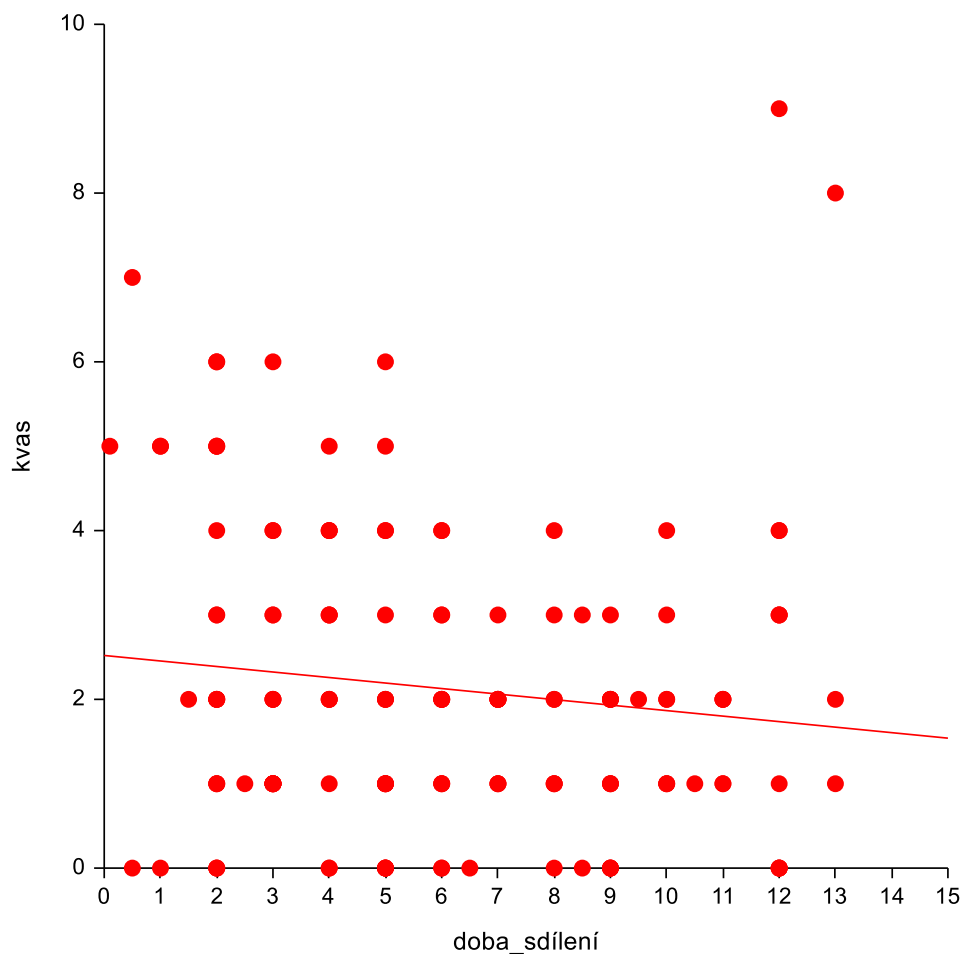
Scatter Plots

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
Filter sku = "chov"

Scatter Plot Section



Graf Istat: Vliv doby sdílení domácnosti chovatele a DMZ na abundanci mikroorganismů
(AB_mikrob: abundance zaznamenaných druhů mikroorganismů, doba_sdílení: doba sdílení (roky) domácnosti chovatelem a DMZ)



Graf 2stat: Vliv doby sdílení domácnosti chovatele a DMZ na abundanci kvasinek (kvas: abundance zaznamenaných druhů kvasinek, **doba_sdílení**: doba sdílení (roky) domácnosti chovatelem a DMZ)

Tabulka 3stat: Analýza dat: korelace času (roky) a abundance mikroorganismů chovatele

NCSS 2021, v21.0.4

06.02.2023 12:50:33 1

Correlation Matrix Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
Filter sku = "chov"

Combined Correlation Report

Pair-Wise Missing Value Deletion

Variables		doba_sdílení	AB_mikrob	kvas
doba_sdílení	Pearson Correlation	1.0000	-0.0917	-0.1254
	Spearman Correlation	1.0000	-0.1180	-0.1502
	Spearman P-Value		0.2728	0.1328
	Count	150	145	145
AB_mikrob	Pearson Correlation	-0.0917	1.0000	0.6268
	Spearman Correlation	-0.1180	1.0000	0.4808
	Spearman P-Value	0.2728		0.0000
	Count	145	145	145
kvas	Pearson Correlation	-0.1254	0.6268	1.0000
	Spearman Correlation	-0.1502	0.4808	1.0000
	Spearman P-Value	0.1328	0.0000	
	Count	145	145	145

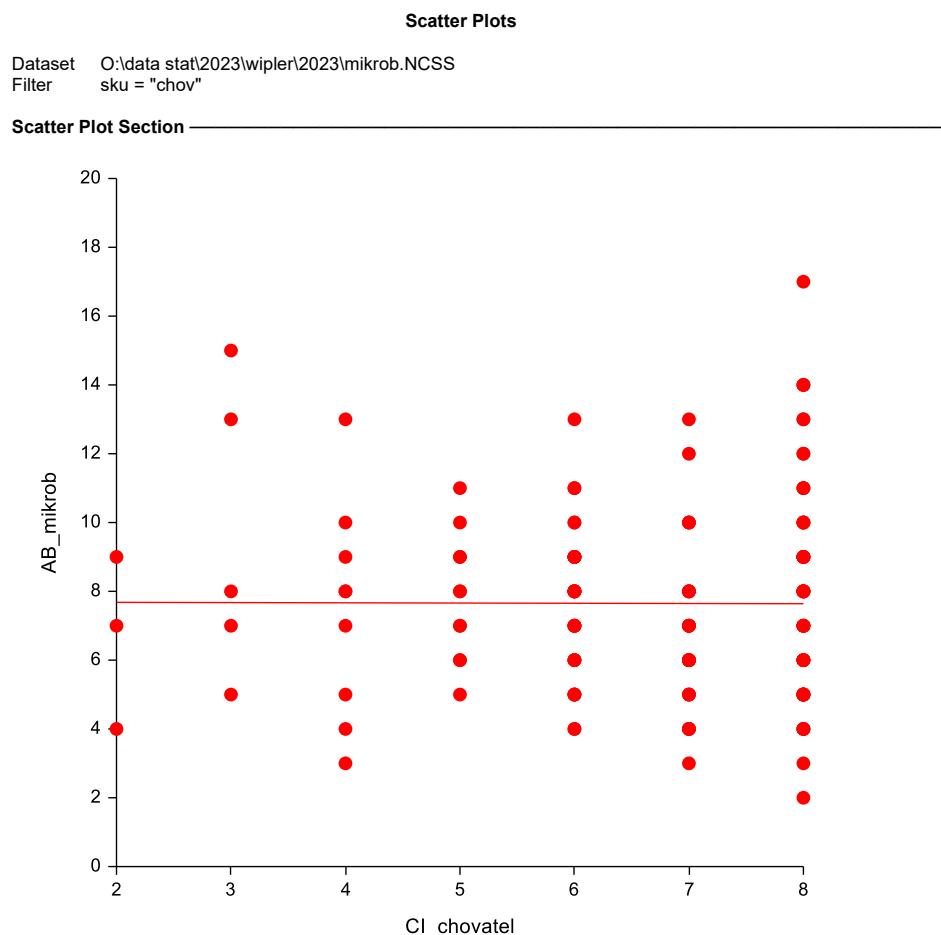
Výsledek: Spearmanův korelační koeficient neprokázal statistickou souvislost mezi dobou sdílení domácnosti chovatelem a DMZ a abundancí kolonizujících mikroorganismů. Výsledek blízky nule zde ukazuje jen zanedbatelný vliv doby sdílení domácnosti s DMZ na početnost jednak všech izolovaných mikroorganismů z chovatele (koeficient roven **-0,118**) a jednak pouze kvasinek (koeficient roven **-0,1502**).

3.) H0: Hodnota CI neovlivňuje abundanci mikroorganismů kolonizujících chovatele.

Hypotéza nezávislosti byla měřena lineární regresí jak pro všechny mikroorganismy, tak zvlášť i pro kvasinky. Hodnocení Spearmanovým korelačním koeficientem neprokázalo souvislost s roustoucím CI také růst abundance všech mikroorganismů (**Graf 14.**) a samostatně i kvasinek (**Graf 15.**) (**Tab. 4stat.**)

NCSS 2021, v21.0.4

06.02.2023 10:15:51 1

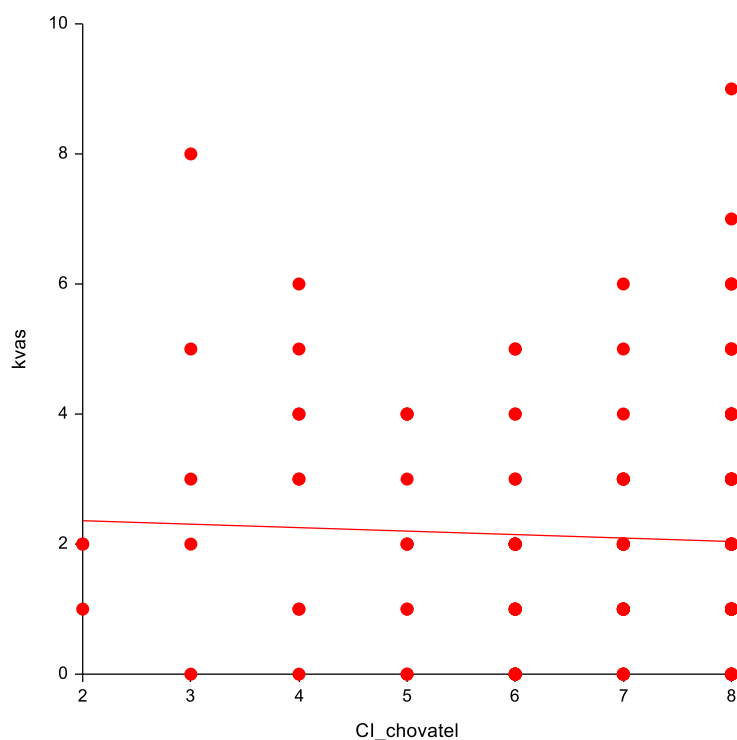


Graf 3stat: Regrese závislosti CI na abundanci mikroorganismů kolonizujících chovatele

(**AB_mikrob:** abundance zaznamenaných druhů mikroorganismů, **CI_chovatel:** kontaktní index určující blízkost vztahu chovatele k DMZ)

Scatter Plots

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
Filter sku = "chov"



Graf 4stat: Regrese závislosti CI na abundanci kvasinek kolonizujících chovatele (kvas: abundance zaznamenaných druhů kvasinek, CI_chovatel: kontaktní index určující blízkost vztahu chovatele k DMZ)

Tabulka 4stat: Analýza dat: závislost hodnoty CI a abundance mikroorganismů chovatele

Correlation Matrix Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
Filter sku = "chov"

Combined Correlation Report
Pair-Wise Missing Value Deletion

Variables		CI_chovatel	AB_mikrob	kvas
CI_chovatel	Pearson Correlation	1.0000	-0.0032	-0.0450
	Spearman Correlation	1.0000	-0.0006	0.0012
	Spearman P-Value		0.9696	0.5911
	Count	145	145	145
AB_mikrob	Pearson Correlation	-0.0032	1.0000	0.6268
	Spearman Correlation	-0.0006	1.0000	0.4808
	Spearman P-Value	0.9696		0.0000
	Count	145	145	145
kvas	Pearson Correlation	-0.0450	0.6268	1.0000
	Spearman Correlation	0.0012	0.4808	1.0000
	Spearman P-Value	0.5911	0.0000	
	Count	145	145	145

Výsledek: Spearmanův korelační koeficient neprokázal zvýšení CI a abundance kolonizujícími mikroorganismy. Korelační koeficient je roven -0,0006 v případě celého komplexu izolovaných mikroorganismů a v případě kvasinek je roven -0,0012, což svědčí téměř o nulové závislosti. Také lineární regrese hypotézu nezávislosti nezamítla.

4.) H0: ATB terapie nemá vliv na abundanci mikroorganismů/kvasinek u všech 3 sledovaných skupin.

Nejprve byl testován vliv ATB terapie na abundanci všech mikroorganismů u chovatele. Mann-Whitney test a Kolmogorov-Smirnov test nevyloučily vliv ATB terapie chovatele na početnost druhů mikroorganismů izolovaných z jeho klinického materiálu (**Tab. 5stat**).

H0: ATB terapie nemá vliv na abundanci izolovaných mikroorganismů u chovatelů.

Tabulka 5stat: Analýza dat: vliv ATB terapie na abundanci mikroorganismů u chovatele

NCSS 2021, v21.0.4

06.02.2023 10:24:20 1

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Filter sku = "chov"
 Response Variable AB_mikrob
 Group Variable ATB
 Difference (ATB=0) - (ATB=1)

Descriptive Statistics

Variable	Count	Mean	Standard Deviation of Data	Standard Error of Mean	T*	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
ATB=0	100	7.89	2.585488	0.2585488	1.9842	7.376983	8.403017
ATB=1	45	7.155556	3.081879	0.4594194	2.0154	6.229657	8.081454

Descriptive Statistics for the Median

Variable	Count	Median	95% LCL of Median	95% UCL of Median
ATB=0	100	8	7	8
ATB=1	45	6	5	7

Two-Sided Confidence Interval for $\mu_1 - \mu_2$

Variance Assumption	DF	Mean Difference	Standard Error	T*	95% LCL of Difference	95% UCL of Difference
Equal	143	0.7344444	0.4932436	1.9767	-0.2405464	1.709435
Unequal	73.03	0.7344444	0.5271752	1.9930	-0.3162073	1.785096

Equal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050$?
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	0.7344444	0.4932436	1.4890	143	0.13869	No

Power for the Equal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	100	45	7.89	7.155556	2.585488	3.081879	0.31557	0.13482

Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050$?
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	0.7344444	0.5271752	1.3932	73.03	0.16780	No

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Filter sku = "chov"
 Response Variable AB_mikrob
 Group Variable ATB
 Difference (ATB=0) - (ATB=1)

Power for the Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	100	45	7.89	7.155556	2.585488	3.081879	0.27967	0.11240

Mann-Whitney U or Wilcoxon Rank-Sum Test for Difference in Location

Variable	Mann-Whitney U	Sum of Ranks (W)	Mean of W	Std Dev of W
ATB=0	2766	7816	7300	232.3519
ATB=1	1734	2769	3285	232.3519

Number of Sets of Ties = 12, Multiplicity Factor = 42462

Test Type	Alternative Hypothesis	Z-Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
Exact*	Location Diff. $\neq 0$			
Normal Approximation	Location Diff. $\neq 0$	-2.2208	0.02637	Yes
Normal Approx. with C.C.	Location Diff. $\neq 0$	-2.2186	0.02651	Yes

* The Exact Test is provided only when there are no ties and the sample size is ≤ 20 in both groups.

Kolmogorov-Smirnov Test For Comparing Distributions

Alternative Hypothesis	Largest-Difference Criterion Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
$D(1) \neq D(2)$	0.275556	0.014095	Yes

Tests of the Normality Assumption for ATB=0

Normality Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Normality at $\alpha = 0.050?$
Shapiro-Wilk	0.9660	0.01094	Yes
Skewness	1.4178	0.15626	No
Kurtosis	0.2423	0.80856	No
Omnibus (Skewness or Kurtosis)	2.0687	0.35545	No

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Filter sku = "chov"
 Response Variable AB_mikrob
 Group Variable ATB
 Difference (ATB=0) - (ATB=1)

Tests of the Normality Assumption for ATB=1

Normality Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Normality at $\alpha = 0.050$?
Shapiro-Wilk	0.8740	0.00016	Yes
Skewness	3.3253	0.00088	Yes
Kurtosis	1.9445	0.05184	No
Omnibus (Skewness or Kurtosis)	14.8389	0.00060	Yes

Tests of the Equal Variance Assumption

Equal-Variance Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Equal Variances at $\alpha = 0.050$?
Variance-Ratio	1.4208	0.15365	No
Modified-Levene	0.4207	0.51764	No

Výsledek: Na základě získaných dat byla hypotéza shody zamítnuta. Není vyloučen vliv ATB terapie chovatele na abundanci mikroorganismů. Mann-Whitney test a Kolmogorov-Smirnov však zamítly nulovou hypotézu na 5 % hladině významnosti s výsledky **P=0,02651** a **P=0,014095**, ale jen s tendencí ke zvyšování počtu druhů mikroorganismů. Následující analýza prokáže, neovlivňuje-li ATB terapie chovatelovu mikrobiotu ve prospěch kvasinkových mikroorganismů.

H0: ATB terapie nemá vliv na abundanci kvasinek u chovatelů.

Mann-Whitney test a Kolmogorov-Smirnov test prokázaly statisticky významnou souvislost mezi ATB terapií chovatele na početnost druhů kvasinek izolovaných z jeho klinického materiálu (**Tab. 6stat**).

Tabulka 6stat: Analýza dat: vliv ATB terapie na abundanci kvasinek u chovatele

NCSS 2021, v21.0.4

06.02.2023 10:24:20 4

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Filter sku = "chov"
 Response Variable kvas
 Group Variable ATB
 Difference (ATB=0) - (ATB=1)

Descriptive Statistics

Variable	Count	Mean	Standard Deviation of Data	Standard Error of Mean	T*	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
ATB=0	100	1.69	1.555018	0.1555018	1.9842	1.381451	1.998549
ATB=1	45	3.066667	1.88776	0.2814106	2.0154	2.499521	3.633812

Descriptive Statistics for the Median

Variable	Count	Median	95% LCL of Median	95% UCL of Median
ATB=0	100	1	1	2
ATB=1	45	3	2	3

Two-Sided Confidence Interval for $\mu_1 - \mu_2$

Variance Assumption	DF	Mean Difference	Standard Error	T*	95% LCL of Difference	95% UCL of Difference
Equal	143	-1.376667	0.2987868	1.9767	-1.967276	-0.7860571
Unequal	71.99	-1.376667	0.3215163	1.9935	-2.017599	-0.735734

Equal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050$?
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	-1.376667	0.2987868	-4.6075	143	0.00001	Yes

Power for the Equal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	100	45	1.69	3.066667	1.555018	1.88776	0.99556	0.97603

Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050$?
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	-1.376667	0.3215163	-4.2818	71.99	0.00006	Yes

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Filter sku = "chov"
 Response Variable kvas
 Group Variable ATB
 Difference (ATB=0) - (ATB=1)

Power for the Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	100	45	1.69	3.066667	1.555018	1.88776	0.98821	0.94591

Mann-Whitney U or Wilcoxon Rank-Sum Test for Difference in Location

Variable	Mann-Whitney U	Sum of Ranks (W)	Mean of W	Std Dev of W
ATB=0	1202	6252	7300	229.2595
ATB=1	3298	4333	3285	229.2595

Number of Sets of Ties = 7, Multiplicity Factor = 121944

Test Type	Alternative Hypothesis	Z-Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
Exact*	Location Diff. $\neq 0$			
Normal Approximation	Location Diff. $\neq 0$	4.5712	0.00000	Yes
Normal Approx. with C.C.	Location Diff. $\neq 0$	4.5691	0.00000	Yes

* The Exact Test is provided only when there are no ties and the sample size is ≤ 20 in both groups.

Kolmogorov-Smirnov Test For Comparing Distributions

Alternative Hypothesis	Largest-Difference Criterion Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
$D(1) \neq D(2)$	0.464444	0.000001	Yes

Tests of the Normality Assumption for ATB=0

Normality Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Normality at $\alpha = 0.050?$
Shapiro-Wilk	0.8461	0.00000	Yes
Skewness	4.4043	0.00001	Yes
Kurtosis	2.2156	0.02672	Yes
Omnibus (Skewness or Kurtosis)	24.3067	0.00001	Yes

Výsledek: Hypotéza shody byla jednoznačně zamítnuta. Lze vážně usuzovat, že ATB terapie výrazně ovlivňuje abundanci mikroorganismů kolonizující chovatele ve prospěch kvasinek. Mann-Whitney test a Kolmogorov-Smirnov test zamítly nulovou hypotézu na 5 % hladině významnosti s výsledky $P=0,00000$ a $P=0,000001$.

H0: ATB terapie nemá vliv na abundanci izolovaných mikroorganismů u nechovatelů.

Stejný vliv ATB na mikrobiální abundanci všech izolovaných mikroorganismů byl testován také u KS nechovatelů. Tento vliv zde dvouvýběrovým t-testem ani neparametrickými testy nebyl prokázán (**Tab. 7stat**).

Tabulka 7stat: Analýza dat: vliv ATB terapie na abundanci mikroorganismů u KS

NCSS 2021, v21.0.4

06.02.2023 10:28:39 1

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Filter sku = "nechov"
 Response Variable AB_mikrob
 Group Variable ATB
 Difference (ATB=0) - (ATB=1)

Descriptive Statistics

Variable	Count	Mean	Standard Deviation of Data	Standard Error of Mean	T*	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
ATB=0	55	6.981818	2.599793	0.350556	2.0049	6.278996	7.68464
ATB=1	25	7.4	2.598076	0.5196152	2.0639	6.327567	8.472433

Descriptive Statistics for the Median

Variable	Count	Median	95% LCL of Median	95% UCL of Median
ATB=0	55	7	6	8
ATB=1	25	8	6	9

Two-Sided Confidence Interval for $\mu_1 - \mu_2$

Variance Assumption	DF	Mean Difference	Standard Error	T*	95% LCL of Difference	95% UCL of Difference
Equal	78	-0.4181818	0.6269662	1.9908	-1.666376	0.8300121
Unequal	46.53	-0.4181818	0.626809	2.0123	-1.679492	0.8431283

Equal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050$?
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	-0.4181818	0.6269662	-0.6670	78	0.50675	No

Power for the Equal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	55	25	6.981818	7.4	2.599793	2.598076	0.10102	0.02787

Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050$?
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	-0.4181818	0.626809	-0.6672	46.53	0.50797	No

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Filter sku = "nechov"
 Response Variable AB_mikrob
 Group Variable ATB
 Difference (ATB=0) - (ATB=1)

Power for the Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	55	25	6.981818	7.4	2.599793	2.598076	0.10018	0.02732

Mann-Whitney U or Wilcoxon Rank-Sum Test for Difference in Location

Variable	Mann-Whitney U	Sum of Ranks (W)	Mean of W	Std Dev of W
ATB=0	626.5	2166.5	2227.5	95.64855
ATB=1	748.5	1073.5	1012.5	95.64855

Number of Sets of Ties = 9, Multiplicity Factor = 7314

Test Type	Alternative Hypothesis	Z-Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
Exact*	Location Diff. $\neq 0$			
Normal Approximation	Location Diff. $\neq 0$	0.6378	0.52364	No
Normal Approx. with C.C.	Location Diff. $\neq 0$	0.6325	0.52704	No

* The Exact Test is provided only when there are no ties and the sample size is ≤ 20 in both groups.

Kolmogorov-Smirnov Test For Comparing Distributions

Alternative Hypothesis	Largest-Difference Criterion Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
$D(1) \neq D(2)$	0.105455	0.978959	No

Tests of the Normality Assumption for ATB=0

Normality Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Normality at $\alpha = 0.050?$
Shapiro-Wilk	0.9650	0.10922	No
Skewness	0.5985	0.54949	No
Kurtosis	-1.1463	0.25167	No
Omnibus (Skewness or Kurtosis)	1.6722	0.43340	No

Výsledek: U kontrolní skupiny nechovatelů tato závislost pozorována nebyla. Nulová hypotéza nebyla zamítnuta ani jedním testem.

Rovněž u kontrolní skupiny byl zvlášť testován vliv ATB terapie v posledním roce na kvasinkovou mykobiotu.

H0: ATB terapie nemá vliv na abundanci kvasinek u chovatelů.

Výsledky Mann-Whitney testu a Kolmogorov-Smirnov testu tento vliv nezamítají (Tab. 8stat).

Tabulka 8stat: Analýza dat: vliv ATB terapie na abundanci kvasinek u KS

NCSS 2021, v21.0.4

06.02.2023 10:28:39 4

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Filter sku = "nechov"
 Response Variable kvas
 Group Variable ATB
 Difference (ATB=0) - (ATB=1)

Descriptive Statistics

Variable	Count	Mean	Standard Deviation of Data	Standard Error of Mean	T*	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
ATB=0	55	0.8545455	0.7556744	0.1018951	2.0049	0.6502581	1.058833
ATB=1	25	2.44	1.227463	0.2454927	2.0639	1.933328	2.946672

Descriptive Statistics for the Median

Variable	Count	Median	95% LCL of Median	95% UCL of Median
ATB=0	55	1	1	1
ATB=1	25	3	2	3

Two-Sided Confidence Interval for $\mu_1 - \mu_2$

Variance Assumption	DF	Mean Difference	Standard Error	T*	95% LCL of Difference	95% UCL of Difference
Equal	78	-1.585455	0.2235486	1.9908	-2.030506	-1.140404
Unequal	32.55	-1.585455	0.2657993	2.0356	-2.12651	-1.044399

Equal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	-1.585455	0.2235486	-7.0922	78	0.00000	Yes

Power for the Equal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	55	25	0.8545455	2.44	0.7556744	1.227463	1.00000	0.99999

Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	-1.585455	0.2657993	-5.9649	32.55	0.00000	Yes

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Filter sku = "nechov"
 Response Variable kvas
 Group Variable ATB
 Difference (ATB=0) - (ATB=1)

Power for the Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	55	25	0.8545455	2.44	0.7556744	1.227463	0.99993	0.99894

Mann-Whitney U or Wilcoxon Rank-Sum Test for Difference in Location

Variable	Mann-Whitney U	Sum of Ranks (W)	Mean of W	Std Dev of W
ATB=0	210.5	1750.5	2227.5	92.08199
ATB=1	1164.5	1489.5	1012.5	92.08199

Number of Sets of Ties = 5, Multiplicity Factor = 44244

Test Type	Alternative Hypothesis	Z-Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
Exact*	Location Diff. $\neq 0$			
Normal Approximation	Location Diff. $\neq 0$	5.1802	0.00000	Yes
Normal Approx. with C.C.	Location Diff. $\neq 0$	5.1747	0.00000	Yes

* The Exact Test is provided only when there are no ties and the sample size is ≤ 20 in both groups.

Kolmogorov-Smirnov Test For Comparing Distributions

Alternative Hypothesis	Largest-Difference Criterion Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
D(1) \neq D(2)	0.541818	0.000036	Yes

Tests of the Normality Assumption for ATB=0

Normality Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Normality at $\alpha = 0.050?$
Shapiro-Wilk	0.8212	0.00000	Yes
Skewness	1.6201	0.10520	No
Kurtosis	-0.1554	0.87649	No
Omnibus (Skewness or Kurtosis)	2.6490	0.26594	No

Výsledek: Také u kontrolní skupiny byla hypotéza nezávislosti zamítnuta. I zde je možné pomýšlet na vliv ATB terapie na abundanci kvasinek kolonizující nechovatele. Mann-Whitney test a Kolmogorov-Smirnov test zamítly nulovou hypotézu na 5 % hladině významnosti s výsledky $P=0,00000$ a $P=0,000036$.

Rovněž u DMZ byl testován vliv ATB terapie v posledním roce na druhovou početnost mikrobioty.

H0: ATB terapie nemá vliv na abundanci izolovaných mikroorganismů u DMZ.

V tomto případě Mann-Whitney test a Kolmogorov-Smirnov test tuto souvislost neprokázaly (Tab. 9stat).

Tabulka 9stat: Analýza dat: vliv ATB terapie na abundanci mikroorganismů u DMZ

NCSS 2021, v21.0.4

06.02.2023 10:32:30 1

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Response Variable AB_mikrob_m
 Group Variable ATB_m
 Difference (ATB_m=0) - (ATB_m=1)

Descriptive Statistics

Variable	Count	Mean	Standard Deviation of Data	Standard Error of Mean	T*	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
ATB_m=0	94	5.968085	1.897662	0.1957289	1.9858	5.579406	6.356764
ATB_m=1	34	5.558824	2.231879	0.3827641	2.0345	4.780084	6.337563

Descriptive Statistics for the Median

Variable	Count	Median	95% LCL of Median	95% UCL of Median
ATB_m=0	94	6	5	6
ATB_m=1	34	5	4	6

Two-Sided Confidence Interval for $\mu_1 - \mu_2$

Variance Assumption	DF	Mean Difference	Standard Error	T*	95% LCL of Difference	95% UCL of Difference
Equal	126	0.4092616	0.3983743	1.9790	-0.3791094	1.197633
Unequal	51.27	0.4092616	0.4299048	2.0073	-0.4536978	1.272221

Equal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	0.4092616	0.3983743	1.0273	126	0.30623	No

Power for the Equal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	94	34	5.968085	5.558824	1.897662	2.231879	0.17494	0.05932

Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	0.4092616	0.4299048	0.9520	51.27	0.34557	No

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Response Variable AB_mikrob_m
 Group Variable ATB_m
 Difference (ATB_m=0) - (ATB_m=1)

Power for the Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	94	34	5.968085	5.558824	1.897662	2.231879	0.15441	0.04928

Mann-Whitney U or Wilcoxon Rank-Sum Test for Difference in Location

Variable	Mann-Whitney U	Sum of Ranks (W)	Mean of W	Std Dev of W
ATB_m=0	1818.5	6283.5	6063	183.0024
ATB_m=1	1377.5	1972.5	2193	183.0024

Number of Sets of Ties = 10, Multiplicity Factor = 52926

Test Type	Alternative Hypothesis	Z-Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
Exact*	Location Diff. $\neq 0$			
Normal Approximation	Location Diff. $\neq 0$	-1.2049	0.22824	No
Normal Approx. with C.C.	Location Diff. $\neq 0$	-1.2022	0.22930	No

* The Exact Test is provided only when there are no ties and the sample size is ≤ 20 in both groups.

Kolmogorov-Smirnov Test For Comparing Distributions

Alternative Hypothesis	Largest-Difference Criterion Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
D(1) \neq D(2)	0.198999	0.237150	No

Tests of the Normality Assumption for ATB_m=0

Normality Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Normality at $\alpha = 0.050?$
Shapiro-Wilk	0.9554	0.00281	Yes
Skewness	2.3020	0.02133	Yes
Kurtosis	1.1584	0.24668	No
Omnibus (Skewness or Kurtosis)	6.6413	0.03613	Yes

Výsledek: U DMZ nebyl prokázán vliv ATB terapie v posledním roce na abundanci celkové mikrobioty. Nulová hypotéza nebyla zamítnuta ani jedním testem. Mann-Whitney test ($P=0,22930$) a Kolmogorov-Smirnov test ($P=0,23715$).

Nakonec také u DMZ byl testován vliv ATB terapie na kvasinkovou mykobiotu.

H0: ATB terapie nemá vliv na abundanci kvasinek u DMZ.

Ani zde Mann-Whitney test a Kolmogorov-Smirnov test neprokázaly vliv ATB na druhovou početnost kvasinek izolovaných z DMZ (Tab. 10stat).

Tabulka 10stat: Analýza dat: vliv ATB terapie na abundanci kvasinek u DMZ

NCSS 2021, v21.0.4

06.02.2023 10:32:30 4

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Response Variable kvas_m
 Group Variable ATB_m
 Difference (ATB_m=0) - (ATB_m=1)

Descriptive Statistics

Variable	Count	Mean	Standard Deviation of Data	Standard Error of Mean	T*	95% LCL of Mean	95% UCL of Mean
ATB_m=0	94	1.404255	1.060728	0.1094057	1.9858	1.186997	1.621513
ATB_m=1	34	1.735294	1.543487	0.2647059	2.0345	1.196746	2.273842

Descriptive Statistics for the Median

Variable	Count	Median	95% LCL of Median	95% UCL of Median
ATB_m=0	94	1	1	1
ATB_m=1	34	2	1	2

Two-Sided Confidence Interval for $\mu_1 - \mu_2$

Variance Assumption	DF	Mean Difference	Standard Error	T*	95% LCL of Difference	95% UCL of Difference
Equal	126	-0.3310388	0.2413489	1.9790	-0.8086612	0.1465836
Unequal	44.77	-0.3310388	0.2864242	2.0144	-0.9080071	0.2459295

Equal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	-0.3310388	0.2413489	-1.3716	126	0.17262	No

Power for the Equal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	94	34	1.404255	1.735294	1.060728	1.543487	0.27510	0.11086

Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

Alternative Hypothesis	Mean Difference	Standard Error	T-Statistic	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	-0.3310388	0.2864242	-1.1558	44.77	0.25391	No

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\mikrob.NCSS
 Response Variable kvas_m
 Group Variable ATB_m
 Difference (ATB_m=0) - (ATB_m=1)

Power for the Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	94	34	1.404255	1.735294	1.060728	1.543487	0.20458	0.07195

Mann-Whitney U or Wilcoxon Rank-Sum Test for Difference in Location

Variable	Mann-Whitney U	Sum of Ranks (W)	Mean of W	Std Dev of W
ATB_m=0	1436.5	5901.5	6063	178.5585
ATB_m=1	1759.5	2354.5	2193	178.5585

Number of Sets of Ties = 5, Multiplicity Factor = 150996

Test Type	Alternative Hypothesis	Z-Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
Exact*	Location Diff. $\neq 0$			
Normal Approximation	Location Diff. $\neq 0$	0.9045	0.36575	No
Normal Approx. with C.C.	Location Diff. $\neq 0$	0.9017	0.36723	No

* The Exact Test is provided only when there are no ties and the sample size is ≤ 20 in both groups.

Kolmogorov-Smirnov Test For Comparing Distributions

Alternative Hypothesis	Largest-Difference Criterion Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
D(1) \neq D(2)	0.175845	0.370233	No

Tests of the Normality Assumption for ATB_m=0

Normality Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Normality at $\alpha = 0.050?$
Shapiro-Wilk	0.8777	0.00000	Yes
Skewness	2.9531	0.00315	Yes
Kurtosis	1.1990	0.23053	No
Omnibus (Skewness or Kurtosis)	10.1585	0.00622	Yes

Výsledek: U DMZ vliv ATB terapie na abundanci kvasinek v posledním roce prokázán nebyl. Nulová hypotéza nebyla zamítnuta ani jedním testem. Mann – Whitney test ($P=0,36575$) a Kolmogorov – Smirnov test ($P=0,370233$).

5.) H0: Hodnota CI neovlivňuje množství sdílených mikroorganismů se společnou ATB rezistencí chovatelů a DMZ.

Hypotéza nezávislosti byla testována neparametrickými testy: Mann-Whitney testem a Kolmogorov-Smirnov testem, které tento vliv však neprokázaly (**Tabulka 11stat**).

Tabulka 11stat: Analýza dat: vliv CI na abundanci sdílených mikroorganismů se společnou ATB rezistencí

NCSS 2021, v21.0.4

07.02.2023 11:08:03 2

Two-Sample Test Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\dopocet.NCSS
 Response Variable CI_chovatel
 Group Variable SdR
 Difference (SdR=0) - (SdR=1)

Power for the Aspin-Welch Unequal-Variance T-Test

This section assumes the population means and standard deviations are equal to the sample values.

Alternative Hypothesis	N1	N2	μ_1	μ_2	σ_1	σ_2	Power ($\alpha = 0.05$)	Power ($\alpha = 0.01$)
$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	119	26	6.521008	6.807693	1.550553	1.497177	0.13735	0.04169

Mann-Whitney U or Wilcoxon Rank-Sum Test for Difference in Location

Variable	Mann-Whitney U	Sum of Ranks (W)	Mean of W	Std Dev of W
SdR=0	1358	8498	8687	186.5979
SdR=1	1736	2087	1898	186.5979

Number of Sets of Ties = 7, Multiplicity Factor = 228768

Test Type	Alternative Hypothesis	Z-Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
Exact*	Location Diff. $\neq 0$			
Normal Approximation	Location Diff. $\neq 0$	1.0129	0.31112	No
Normal Approx. with C.C.	Location Diff. $\neq 0$	1.0102	0.31240	No

* The Exact Test is provided only when there are no ties and the sample size is ≤ 20 in both groups.

Kolmogorov-Smirnov Test For Comparing Distributions

Alternative Hypothesis	Largest-Difference Criterion Value	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.050?$
$D(1) \neq D(2)$	0.147059	0.682970	No

Tests of the Normality Assumption for SdR=0

Normality Test	Test Statistic	Prob Level	Reject H0 of Normality at $\alpha = 0.050?$
Shapiro-Wilk	0.8447	0.00000	Yes
Skewness	-4.2278	0.00002	Yes
Kurtosis	1.3875	0.16530	No
Omnibus (Skewness or Kurtosis)	19.7992	0.00005	Yes

Výsledek: Na základě získaných dat nebyla zamítnuta hypotéza závislosti, tedy nebyl prokázán vliv vyššího CI chovatele na přítomnost s DMZ sdílených mikroorganismů se

shodnou ATB rezistencí. Mann-Whitney test a Kolmogorov-Smirnov test nezamítly nulovou hypotézu na 5 % hladině významnosti s výsledky $P=0,3124$ a $P=0,68297$.

6.) H_0 : ATB terapie nemá vliv na abundanci s DMZ sdílených mikroorganismů se shodnou rezistencí.

Pearsonův chí – kvadrát test a Fisherův přesný test prokázaly souvislost mezi ATB terapií za poslední rok a počtem sdílených druhů se shodnou rezistencí na antimikrobiální látky (**Tab. 12stat**).

Tabulka 12stat: Analýza dat: vliv předchozí ATB terapie na abundanci sdílených mikroorganismů se společnou ATB rezistencí

NCSS 2021, v21.0.4

07.02.2023 11:04:27 1

Cross Tabulation Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\dopocet.NCSS
 Row Variable ATB_soucet
 Column Variable SdR

Counts Table

ATB_soucet	SdR		Total
	0	1	
0	72	7	79
1	43	15	58
2	6	4	10
Total	121	26	147

The number of rows with at least one missing value is 4

Row Percentages Table

ATB_soucet	SdR		Total
	0	1	
0	91.14%	8.86%	100.00%
1	74.14%	25.86%	100.00%
2	60.00%	40.00%	100.00%
Total	82.31%	17.69%	100.00%

The number of rows with at least one missing value is 4

Column Percentages Table

ATB_soucet	SdR		Total
	0	1	
0	59.50%	26.92%	53.74%
1	35.54%	57.69%	39.46%
2	4.96%	15.38%	6.80%
Total	100.00%	100.00%	100.00%

The number of rows with at least one missing value is 4

Cross Tabulation Report

Dataset O:\data stat\2023\wipler\2023\dopocet.NCSS
 Row Variable ATB_soucet
 Column Variable SdR

Chi-Square Contributions Table

ATB_soucet	SdR		Total
	0	1	
0	0.748	3.480	4.228
1	0.471	2.192	2.663
2	0.605	2.815	3.420
Total	1.824	8.487	10.311

The number of rows with at least one missing value is 4

Tests for Row-Column Independence

(ATB_soucet by SdR)

H0: "ATB_soucet" and "SdR" are independent.

H1: "ATB_soucet" and "SdR" are associated (not independent).

Test	Type	Chi-Square Value	DF	Prob Level	Reject H0 at $\alpha = 0.05$?
Pearson's Chi-Square†	2-Sided	10.309	2	0.005772	Yes
Fisher's Exact*				0.004110	

† WARNING: At least one cell had an expected value less than 5.

* Test computed only for 2x2 tables.

Výsledek: Hypotéza nezávislosti byla jednak Pearsonovým chí – kvadrát testem ($P=0,005772$) a Fisherovým přesným testem ($P=0,00411$) na 5 % hladině významnosti jednoznačně zamítnuta, tudíž lze předpokládat, že ATB terapie za poslední rok má značný vliv na sdílení mikroorganismů se shodnou rezistencí jak u chovatele, tak i DMZ.

13. DISKUSE

Výsledky studie Smolkovic et al. (2012) ukázaly, že se odpovědi účastníků liší podle demografických proměnných. Průměrné hodnoty OPRS vyšly významně nižší u mužů než u žen. Také doba soužití chovatele s DMZ delší než 3 roky zvyšovala střední hodnoty OPRS dotazníku ve srovnání s chovateli, kteří sdílejí domácnost se DMZ kratší dobu než tři roky. Také chovatelé s trvalým bydlištěm na vesnici měli mírně vyšší střední hodnoty než chovatelé s trvalým pobytem ve městě. Podle výsledků dotazníku OPRS jsou chovatelé psů více vázáni na DMZ než chovatelé koček (Smolkovic et al. 2012).

Evropská statistická data (2022) potvrdila, že průměrně 42 % všech domácností k roku 2021 vlastní alespoň jednoho psa. Ve státech EU je Česká republika v chovu psů na 3. místě za Rumunskem a Polskem (Statista 2022).

Západní majitelé psů a koček mají tendenci budovat silné osobní vztahy se svými mazlíčky. Není tedy žádným překvapením, že majitelé DMZ s nimi často sdílejí domácnost včetně ložnice (Smith 2012).

V naší studii bylo sledováno 120 domácností, které byly sdíleny 145 majiteli a 128 domácimi mazlíčky (pes, kočka). Drtivou většinu (85,94 %) tvořili rovněž psi (n=110). To také potvrzuje výsledky ostatních studií. Kočky (n=18) zastupovaly menšinu (14,06 %). 88,26 % chovatelů (n=128) byl CI vyšší než 4, což poukazuje na velmi blízký vztah k DMZ. 92 majitelům (63,45 %) jejich DMZ olizují tvář, 99 chovatelů (68,26 %), nechává svého DMZ spát v posteli, 65 chovatelů (44,83 %) používá stejné nádobí a někdy i lžičky ke společnému jídlu. I naše studie potvrdila silnou emocionalitu chovatelů v ČR, která se vyrovnává západoevropským chovatelům, a jejich blízký vztah ke zvířatům významně ovlivňuje výsledky CI. DMZ jsou povyšováni do rolí přátel nebo členů rodiny. Je však nepotěšujícím faktem, že někdy mají DMZ roli rekvizit, které mohou omrzet, nebo suplují děti či dokonce partnery. Tato kompenzace musí nutně negativně ovlivňovat psychiku jak chovatele, tak i DMZ.

Nosní sliznice až 30 % lidské populace je trvale asymptomaticky kolonizována *S. aureus*. K úspěšné kolonizaci epitelálních buněk potřebuje *S. aureus* vytvořit pevné interakce se slizničními buňkami a překonat obranné mechanismy hostitele (Sakr et al. 2018).

Evropská populace je kolonizována MRSA asi v 1 % (Gamblin et al. 2013). Kolonizovaní lidé mají několikanásobně vyšší riziko propuknutí infekce (Kluytmans et al. 1997). Molekulárně genetické studie naznačují, že existuje souvislost mezi izoláty z nosní

sliznice od asymptomatických nosičů a izoláty způsobující patogenní proces (Kaspar et al. 2016).

Odebraný klinický materiál v této studii byl vybrán cíleně dle mikrostanovišť, kde se předpokládá největší pravděpodobnost výskytu. Zjištěné druhy bakterií převážně odpovídaly složení běžné mikroflóry člověka, psa i kočky. V nosní dutině majitelů převažovaly druhy *S. aureus* a *S. epidermidis*, zatímco u psů a koček převažovaly spíše proteobakterie (především *E. coli*), nicméně stafylokoky byly přítomny rovněž. V naší studii všechny izoláty MRSA pocházely z klinického materiálu nosní sliznice 3,45 % chovatelů (n=5), 5,47 % DMZ (n=7) a 10 % KS (n=8), z nichž ve 4 domácnostech byl zaznamenán jak u chovatele, tak i u DMZ (3 psi a jedna kočka) (**Tabulka 19**).

Tabulka 19: Konkrétní případy MRSA pozitivních vzorků

ID vzorku	Hostitel	Sledovaná skupina
2	člověk	Chovatel
23	člověk	Chovatel
46	člověk	Chovatel
101	člověk	Chovatel
114	člověk	Chovatel
2	pes	DMZ
23	pes	DMZ
72	kočka	DMZ
98	pes	DMZ
101	kočka	DMZ
114	pes	DMZ
117	pes	DMZ
4	člověk	KS
18	člověk	KS
34	člověk	KS
39	člověk	KS
50	člověk	KS
59	člověk	KS
63	člověk	KS
78	člověk	KS

Studie Weese et al. (2006) uvádí možný přenos MRSA mezi lidmi a zvířaty. Vzorky biologického materiálu odebraného od lidí, kteří byli v kontaktu s MRSA pozitivními DMZ, byly rovněž pozitivní alespoň u jednoho rodinného příslušníka (Weese et al. 2006).

Studie Ferreira et al. (2011) byly objeveny další důkazy naznačující význam DMZ jako zdroje patogenních procesů u lidí a pacientů ambulantně docházejících na kontroly. Bylo porovnáno 49 MRSA-pozitivních izolátů od DMZ s pozitivními izoláty jejich chovatelů. Genetická příbuznost byla zjištěna u 8 % párů izolátů (n=4) chovatele a DMZ ze 4 domácností (Ferreira et al. 2011).

Neradová (2020) prokázala u veterinárních lékařů 9 izolátů MRSA, které zařadila do 5 genotypů. Genotypizací zjistila, že 8 z nich má zvířecí původ, pravděpodobně v důsledku profesionálního přenosu (Neradová 2020).

Naše výsledky ukazují, že celkově je *S. aureus* běžnější součástí lidské mikrobioty (n=42 u chovatelů, n=37 u KS) než mikrobioty DMZ (n=16), a proto lze usuzovat, že přenos MRSA se stal původně z člověka na DMZ. U veterinárních lékařů dochází ke každodennímu kontaktu s mnoha DMZ a také s mnoha léčivými, a proto se u nich předpokládá rovněž i zvýšený výskyt rezistentních izolátů různých druhů mikroorganismů. Otázkou zůstává, zda jde o přechodné nálezy tranzientních kmenů nebo se jedná skutečně o trvalé rezistentní kolonizátory.

Studie Ballhausen et al. (2017) rovněž předpokládají lidský původ genotypů MRSA, které se evolučně adaptovaly na zvířecího hostitele (Ballhausen et al. 2017).

Často izolovaným druhem v nosní dutině psů a koček v této studii byl *S. pseudintermedius*. Walther et al. (2017) popisují tento druh stafylokoka jako běžně izolovaný u malých zvířat (kočky a psi), zatímco v lidské populaci je nalézán jen ojediněle (Walther et al. 2013). Tuto skutečnost naznačuje i naše studie. Uvedený druh stafylokoka se vyskytl pouze v nosní sliznici u 4,14 % chovatelů (n=6) a 2,5 % nechovatelů (n=2).

Na základě analýzy RAPD-PCR bylo Derakhshandeh et al. (2018) pozorováno sdílení 28 izolátů *E. coli* mezi psy a jejich chovateli u 7,1 % (n=2) klonů v domácnosti. Byly sledovány faktory usnadňující přenos jako dovolení psovi olizovat obličej chovatele a doby likvidace výkalů (2x denně a vícekrát). Tyto faktory byly spojeny s vyšším procentem podobnosti profilu RAPD ($P < 0,05$). Autoři nepřinesli jednoznačný důkaz, který by prokázal významnou souvislost mezi těmito faktory a přenosem fekálních izolátů *E. coli* ze psů na jejich chovatele (Derakhshandeh et al. 2018). Také v naší studii nebyla prokázána souvislost mezi CI chovatele a druhovou početností izolovaných druhů mikroorganismů. Lze očekávat,

že sdílení řady druhů bakterií bude mezi chovatelem a DMZ dosahovat 100 %. Takovým příkladem je *E. coli*, která se vyskytuje v tlustém střevě všech savců, proto jsme se zaměřili spíše na možný přenos rezistence mezi mikrobiálními fenotypy se společnou ATB rezistencí u chovatele a DMZ. Neprokázali jsme souvislost mezi CI a sdílením mikrobiálních fenotypů se shodnou ATB rezistencí. Ukázalo se však, že pravděpodobněji sdílení těchto kmenů souvisí s předchozí ATB terapií jako důsledek zvýšené expozice k ATB a přirozenou variabilitou mikrobů, včetně možného vztahu k biofilmu.

V naší pilotní studii Wipler et al. (2017) byly izolovány z celkového počtu 20 párů (chovatel, DMZ) sdílené bakteriální druhy *Staphylococcus intermedius*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter lwoffii*, *Pseudomonas putida* a *Staphylococcus aureus*, u nichž byla testována antimikrobiální citlivost. Shodný fenotyp antimikrobiální rezistence však byl zjištěn jen u 4 izolátů sdílených 20 % párů (n=4) (**Tabulka 20**).

Tabulka 20: Shodný fenotyp antimikrobiální rezistence (M a DMZ) v pilotní studii

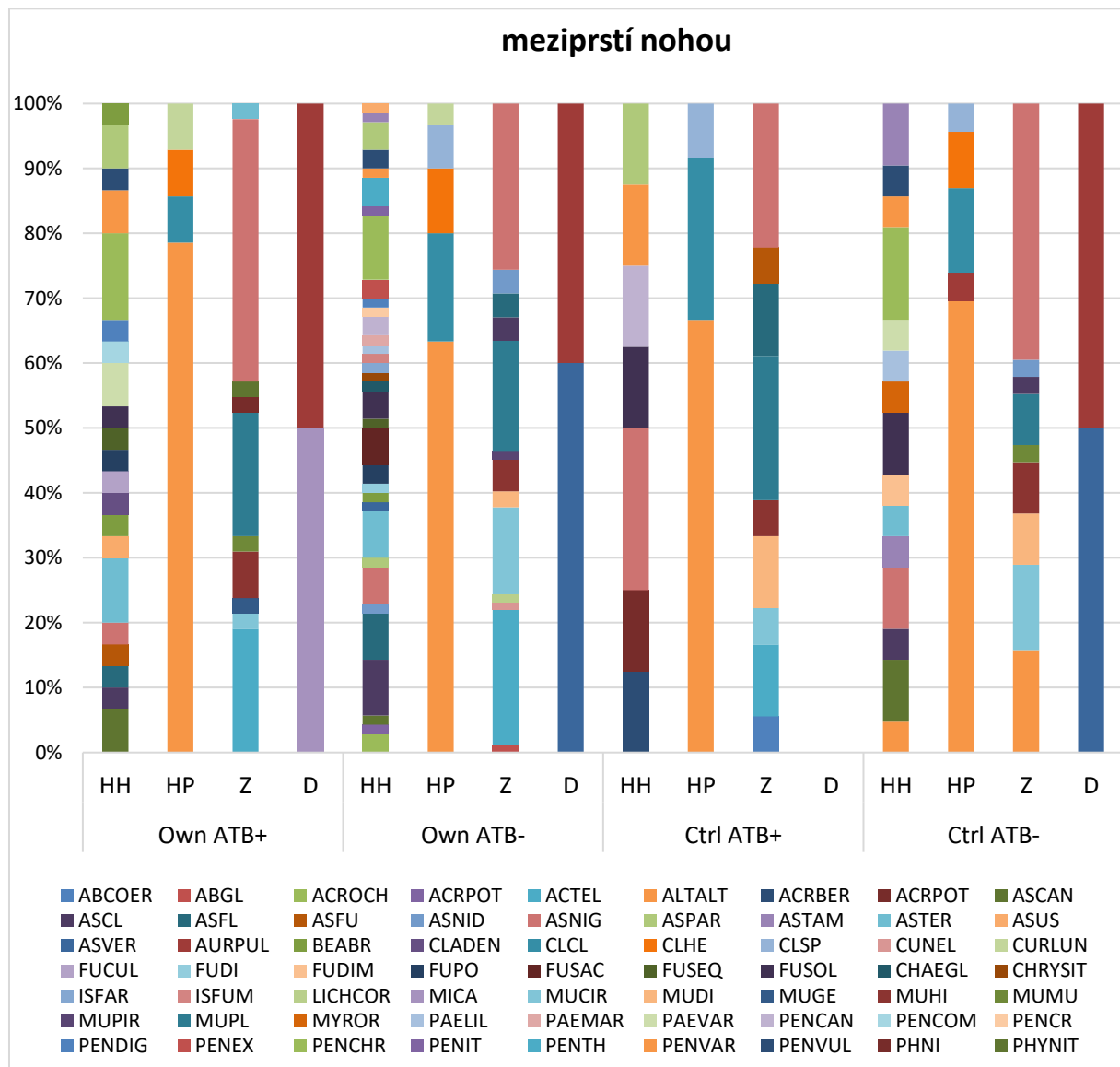
Sdílený bakteriální druh chovatelem a jeho DMZ	Shodná ATB rezistence	Druh DMZ
<i>Staphylococcus intermedius</i>	gentamicin, erythromycin, klindamycin, kotrimoxazol	Kočka
<i>Escherichia coli</i>	kolistin	Pes
<i>Escherichia coli</i>	kolistin	Pes
<i>Enterococcus faecalis</i>	kotrimoxazol	pes

Výsledky ukázaly, že existuje vliv CI chovatele na prevalenci sdílených bakteriálních druhů. Páry s blízkým vztahem (CI > 4) měly o 37,5 % vyšší pravděpodobnost sdílení bakterií než páry s méně blízkým vztahem. Studie naznačila, že ATB terapie alespoň u jednoho člena páru může zvýšit riziko sdíleného fenotypu bakteriální rezistence.

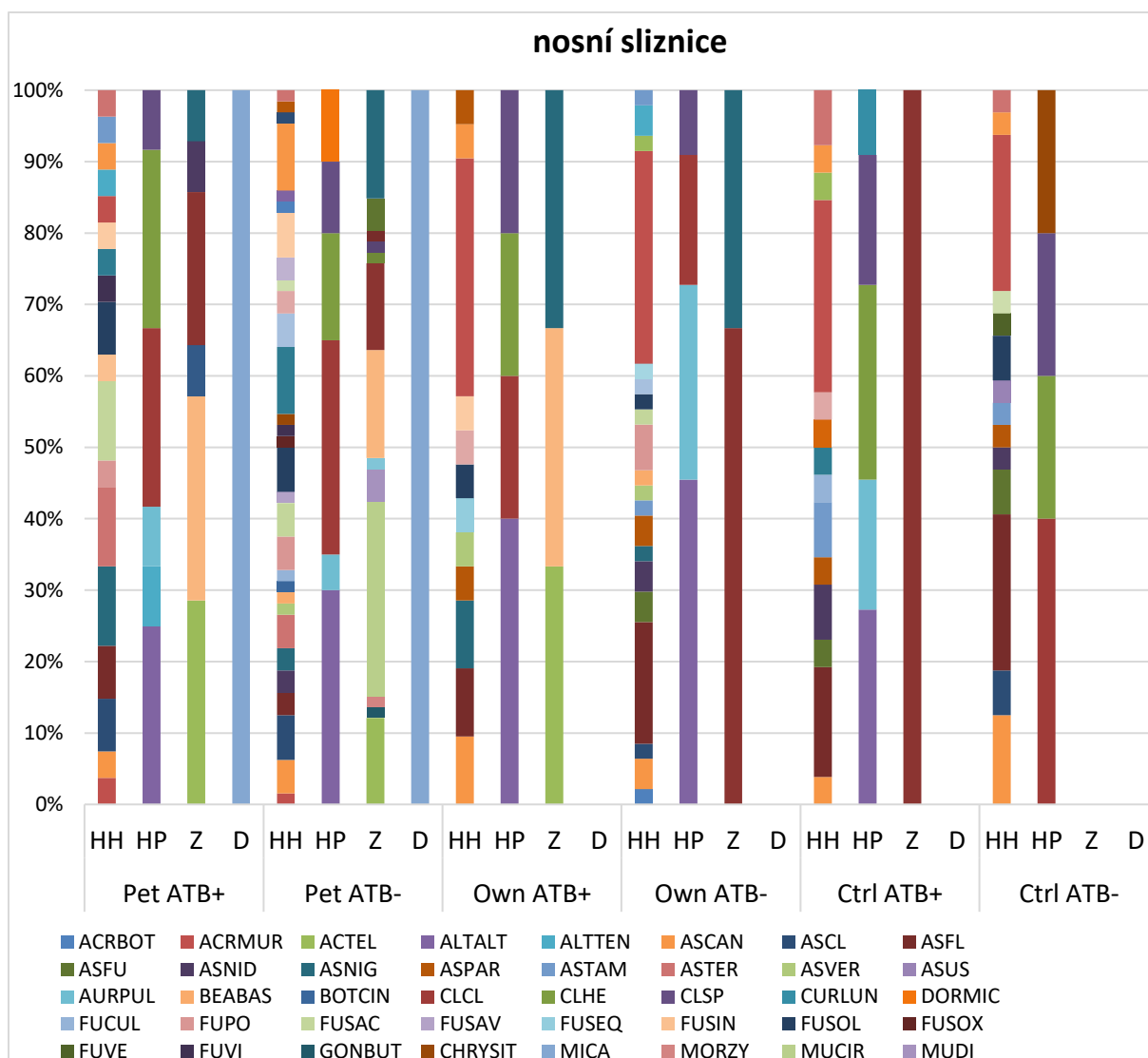
Naše studie zabývající se stejnou problematikou měla k dispozici mnohem větší soubor hostitelů v porovnání s předchozí studií, přesto řada výsledků byla podobná. Vzhledem k podobnosti mikrobioty člověka a mazlíčků, sledování sdílených druhů nemá příliš velkou výpovědní hodnotu, proto se studie zaměřila spíše na vyhodnocení vlivu ATB léčby na druhovou početnost izolovaných mikroorganismů. To se prokázalo u kvasinek, když u nechovatelů byla zjištěna vyšší druhová početnost oproti chovatelům. Z toho lze usuzovat, že absence DMZ v domácnosti souvisí s kolonizací kvasinkami. Vedle mazlíčků, zvýšení

zastoupení kvasinek může být také důsledkem dysbiózy po ATB terapii, která může trvat dlouhodobě.

Naše předchozí studie (2023) se zabývala druhovým spektrem mikroskopických vláknitých hub izolovaných ze stejných mikrostanovišť jako tato studie. Zjistili jsme, že druhová početnost byla nejvyšší v meziprstí nohou chovatelů a v nosní sliznici DMZ, jak ukazují **Grafy 13 a 14**.



Graf 13: Druhová početnost vláknitých hub v meziprstí nohou u chovatelů a nechovatelů



Graf 14: Druhová početnost vláknitých hub nosní sliznice u sledovaných skupin hostitelů

Z grafů 13 a 14 Z je patrné, že uživatelé ATB mají podobně jako u kvasinek vyšší druhové spektrum než ti, co ATB nežívali (Wipler et al. 2023).

Výsledky naší studie naznačily, že druhová početnost mikroorganismů chovatelů a nechovatelů, kteří podstoupili ATB terapii, je celkově snížena, ale druhová početnost mykobioty se naopak zvýšila ve prospěch kvasinek. Také výsledky statistické analýzy nasvědčují tomu, že užívání ATB ovlivňuje především slizniční kolonizaci (zvukovod, nosní sliznice) chovatelů a nechovatelů. Bylo by zajímavé tento experiment zopakovat u stejných hostitelů. Výsledky předkládané práce totiž ukazují, že se zřejmě jedná pouze o dočasný výkyv ekosystému u uživatelů ATB v posledním roce. Otázkou zůstává, zda a za jak dlouho po ATB terapii se mikrobiota vrátí do původní podoby a jaká je konkurenční schopnost rezistentních bakteriálních a kvasinkových kmenů. Vzhledem k výsledkům předchozí studie

(2023) je pravděpodobné, že u chovatelů tento návrat mikrobioty směrem k rovnovážnému stavu se děje rychleji než u nechovatelů, neboť DMZ může sloužit jako rezervoár kolonizačních druhů, který u kontrolní skupiny chybí. To by vysvětlovalo, proč také bylo naznačeno, že druhová početnost kvasinek u nechovatelů po ATB léčbě byla bohatší.

Dalším námětem vyplývajícím ze studie by bylo zajímavé zjistit, jak se mění situace u hostitelů dlouhodobě léčených (např. hematologicky nemocných), kteří vlastní DMZ a kteří nevlastní. Lze se domnívat, že u trvale imunoalterovaných hostitelů může nově pořízený DMZ opravdu představovat zdravotní rizika s ohledem na přenos složek bakteriální i mykrobioty.

14. ZÁVĚR

Tři soubory hostitelů poskytly dostatečné množství vzorků biologického materiálu, aby bylo možné zhodnotit riziko zdravého člověka vyplývající z bližšího vztahu chovatele a domácího mazlíčka. Ekologická rovnováha mikrobioty spolu s imunitní odpovědí hostitelského makroorganismu tvoří přirozeně silnou bariéru před exogenními primárními patogeny. V této studii byly sledovány faktory, které tuto interakci mohou významně usnadňovat: ATB terapie za poslední rok, doba sdílení jedné domácnosti a také míra intimity vztahu mezi chovatelem a DMZ. Výsledky ukázaly, že blízký vztah chovatele a DMZ pravděpodobně nemá vliv u běžné populace na zvyšování počtu druhů mikrobiálních kolonizátorů, ani na výskyt sdílených druhů mikroorganismů se shodným fenotypem ATB rezistence. Naopak jako významný faktor podporující výskyt druhů se společnou rezistencí se ukázala předchozí ATB terapie za poslední rok. Užívání ATB také podporovalo druhovou početnost kvasinek u chovatelů i u kontrolní skupiny nechovatelů. Naopak u DMZ tento vliv ATB terapie nebyl prokázán.

Tyto závěry naznačily, že sdílení domácnosti s DMZ a blízký kontakt nejen, že nepředstavují z epidemiologického hlediska riziko pro zdravého člověka, ale pravděpodobně podporuje imunitní systém právě interakcemi mikrobioty vedle zvýšení podpory psychického komfortu. K přenosu mikrobiálních kmenů se společným fenotypem rezistence v nějaké míře určitě dochází. Nízký statistický význam podporuje myšlenku, že zjištěné rezistentní izoláty, které se vyskytují také u lidí, kteří domácnost s DMZ více než rok nesdílí, jsou spíše tranzientní, vzhledem ke konkurenční rezidentní mikrobiotě. Naopak expozice antimikrobiálními látkami a život v domácnosti s minimálním stykem s mikroorganismy z vnějšího prostředí vede ke zvýšené vnímavosti hostitele k infekci primárními patogeny. Přirozená mikrobiota, jejíž složky jsou často přehlíženy, by se měla používat jako aktivní ochrana proti infekčním chorobám, a tím přispět k celkovému snížení používání ATB jak u zvířat, tak u lidí.

15. PŘEHLED LITERATURY

Abraham WR, Estrela AB, Nikitin DI, Smit J, Vancanneyt M. *Brevundimonas halotolerans* sp. Nov., *Brevundimonas poindexteræ* sp. Nov. And *Brevundimonas staleyi* sp. Nov., prosthecate bacteria from aquatic habitats. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2010;60(Pt 8):1837-1843.

Al-Jasser AM. *Stenotrophomonas maltophilia* resistant to trimethoprim-sulfamethoxazole: an increasing problem. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2006;18(5):23.

Allaker RP, Lloyd DH, Simpson AI. Occurrence of *Staphylococcus intermedius* on the hair and skin of normal dogs. *Res Vet Sci.* 1992;52(2):174-176.

Álvarez-Pérez S, García ME, Cutuli MT, Fermín ML, Daza MÁ, Peláez T, Blanco JL. Acquired multi-azole resistance in *Candida tropicalis* during persistent urinary tract infection in a dog. *Med Mycol Case Rep.* 2016;11:9-12.

Arthur M, Reynolds PE, Depardieu F, Evers S, Dutka-Malen S, Quintiliani R Jr, Courvalin P. Mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *J Infect.* 1996;32(1):11-16.

Auphan N, DiDonato JA, Rosette C, Helmberg A, Karin M. Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF-kappa B resistance through induction of I kappa B synthesis. *Science.* 1995;270(5234):286-290.

Aujoulat F, Romano-Bertrand S, Masnou A, Marchandin H, Jumas-Bilak E. Niches, population structure and genome reduction in *Ochrobactrum intermedium*: clues to technology-driven emergence of pathogens. *PloS One.* 2014;9(1):e83376.

Bager F, Madsen M, Christensen J, Aarestrup FM. Avoparcin used as a growth promoter is associated with the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms. *Prev Vet Med.* 1997;31(1-2):95–112.

- Baig S, Johannesen TB, Overballe-Petersen S, Larsen J, Larsen AR, Stegger M. Novel SCCmec type XIII (9A) identified in an ST152 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol.* 2018;61:74–76.
- Bălășoiu M, Bălășoiu AT, Mănescu R, Avramescu C, Ionete O. Persistence phenotypes and phenotypic highlighting methods. *Curr Health Sci J.* 2014;40(2):85–92.
- Ballhausen B, Kriegeskorte A, van Alen S, Jung P, Köck R, Peters G, Bischoff M, Becker K. The pathogenicity and host adaptation of livestock-associated MRSA CC398. *Vet Microbiol.* 2017;200:39–45.
- Bathe S, Achouak W, Hartmann A, Heulin T, Schloter M, Lebuhn M. Genetic and phenotypic microdiversity of *Ochrobactrum* spp. *FEMS Microbiol Ecol.* 2006;56(2):272–280.
- Baul SN, De R, Mandal PK, Roy S, Dolai TK, Chakrabarti P. Outbreak of *Burkholderia cepacia* Infection: a Systematic Study in a Hematology Unit of a Tertiary Care Hospital from Eastern India. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2018;10(1):e2018051.
- Bednář M, Fraňková V, Schindler J, Souček A et Vávra J. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie.* Praha: Marvil. 1996; ISBN 80-238-0297-6.
- Bentley R, Meganathan R. Biosynthesis of vitamin K (menaquinone) in bacteria. *Microbiol Rev.* 1982;46(3):241–280.
- Berman J et Krysan DJ. Drug resistance and tolerance in fungi. *Nat Rev Microbiol.* 2020;18(6):319–331.
- Bharucha T, Sharma D, Sharma H, Kandil H, Collier S. *Ochromobactrum intermedium*: an emerging opportunistic pathogen-case of recurrent bacteraemia associated with infective resistance by in a haemodialysis patient. *New Microbes New Infect.* 2016;15:14–15.

Bierowiec K, Płoneczka-Janeczko K, Rypuła K. Is the Colonisation of *Staphylococcus aureus* in Pets Associated with Their Close Contact with Owners? PloS ONE. 2016; 11(5): e0156052.

Bizet J, Bizet C. Strains of *Alcaligenes faecalis* from clinical resistance. J Inf Secur. 1997;35:167–169.

Blomquist KC, Nix DE. A Critical Evaluation of Newer β -Lactam Antibiotics for Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections. Ann Pharmacother. 2021;55(8):1010–1024.

Boral B, Unaldi Ö, Ergin A, Durmaz R, Eser ÖK; Acinetobacter Study Group. A prospective multicenter study on the evaluation of antimicrobial resistance and molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in intensive care units with clinical and environmental features. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2019;18(1):19.

Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev. 2001;14(4):933–951.

Branco J, Silva AP, Silva RM, Silva-Dias A, Pina-Vaz C, Butler G, Rodrigues AG, Miranda IM. Fluconazole and Voriconazole Resistance in *Candida parapsilosis* Is Conferred by Gain-of-Function Mutations in MRR1 Transcription Factor Gene. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(10):6629–6633.

Britton BM, Kelleher ME, Gregor TP, Sorenmo KU. Evaluation of factors associated with prolonged hospital stay and outcome of febrile neutropenic patients receiving chemotherapy: 70 cases (1997-2010). Vet Comp Oncol. 2014;12(4):266–276.

Brooke JS. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. Clin Microbiol Rev. 2012;25(1):2–41.

Brown SP, Cornforth DM, Mideo N. Evolution of virulence in opportunistic pathogens: generalism, plasticity, and control. Trends Microbiol. 2012;20(7):336–342.

Brown MR, Rogers KS. Neutropenia in dogs and cats: a retrospective study of 261 cases. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2001; 37(2):131–139.

Bumroongthai K, Chetanachan P, Niyomtham W, Yurayart C, Prapasarakul N. Biofilm production and antifungal susceptibility of co-cultured *Malassezia pachydermatis* and *Candida parapsilosis* isolated from canine seborrheic dermatitis. *Med Mycol.* 2016; 54(5):544–549.

Büttner JN, Schneider M, Csokai J, Müller E, Eule JC. Microbiota of the conjunctival sac of 120 healthy cats. *Vet Ophthalmol.* 2019;22(3):328–336.

Campos A, Arias A, Betancor L, Rodríguez C, Hernández AM, López Aguado D, et al. Study of common aerobic flora of human cerumen. *J Laryngol Otol.* 1998;112:613–616.

Cannizzo FT, Eraso E, Ezkurra PA, Villar-Vidal M, Bollo E, Castellá G, Cabañes FJ, Vidotto V et Quindós G. Biofilm development by clinical isolates of *Malassezia pachydermatis*, *Medical Mycology.* 2007; 45(4):357–361.

Carey JR, Suslick KS, Hulkower KI, Imlay JA, Imlay KR, Ingison CK, Ponder JB, Sen A, Wittrig AE. Rapid identification of bacteria with a disposable colorimetric sensing array. *J Am Chem Soc.* 2011;133(19):7571–7576.

Carvajal LP, Rincon S, Echeverri AM, Porrás J, Rios R, Ordoñez KM, Seas C, Gomez-Villegas SI, Diaz L, Arias CA, Reyes J. Novel Insights into the Classification of Staphylococcal β -Lactamases in Relation to the Cefazolin Inoculum Effect. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(5):e02511–19.

Castellá G, Hernández JJ, Cabañes FJ. Genetic typing of *Malassezia pachydermatis* from different domestic animals. *Vet Microbiol.* 2005;108(3-4):291–296.

Cieslak TJ, Robb ML, Drabick CJ, Fischer GW. Catheter-Associated Sepsis Caused by *Ochrobactrum anthropi*: Report of a Case and Review of Related Nonfermentative Bacteria, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 14, Issue 4; 1992, s. 902–907.

Coudron PE. Inhibitor-based methods for detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis*. J Clin Microbiol. 2005;43(8):4163-4167.

Crossley K, Jefferson K, Archer G, Fowler V. Staphylococci in Human Disease. 2. vyd. Oxford: Wiley-Blackwell. 2009. 640 s.

Cuscó, A., Belanger, JM, Gershony, L et al. Individual signatures and environmental factors shape skin microbiota in healthy dogs. Microbiome. 2017;5:139.

Day MJ. Measurement Of Mucosal Immunity School of Clinical Veterinary Science University of Bristol, Langford, United Kingdom 2009.

Dedeaux A; Grooters A, Wakamatsu-Utsuki N et Taboada J. Opportunistic Fungal Infections in Small Animals. J Am Anim Hosp Assoc. 2018; 54 (6): 327–337.

de Hoog GS, Chaturvedi V, Denning DW, Dyer PS, Frisvad JC, Geiser D, Gräser Y, Guarro J, Haase G, Kwon-Chung KJ, Meis JF, Meyer W, Pitt JI, Samson RA, Taylor JW, Tintelnot K, Vitale RG, Walsh TJ, Lackner M; ISHAM Working Group on Nomenclature of Medical Fungi. Name changes in medically important fungi and their implications for clinical practice. J Clin Microbiol. 2015;53(4):1056–1062.

Dehshiri M, Khoramrooz SS, Zoladl M, Khosravani SA, Parhizgari N, Motazedian MH, Jahedi S, Sharifi A. The frequency of *Klebsiella pneumoniae* encoding genes for CTX-M, TEM-1 and SHV-1 extended-spectrum beta lactamases enzymes isolated from urinary tract infection. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2018;17(1):4.

Depardieu F, Kolbert M, Pruul H, Bell J, Courvalin P. VanD-type vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(10):3892–3904.

Derakhshandeh A, Eraghi V, Boroojeni AM, Niaki MA, Zare S, Naziri Z. Virulence factors, antibiotic resistance genes and genetic relatedness of commensal *Escherichia coli* isolates from dogs and their owners. *Microb Pathog.* 2018;116:241–245.

Desvaux M, Dalmasso G, Beyrouthy R, Barnich N, Delmas J, Bonnet R. Pathogenicity Factors of Genomic Islands in Intestinal and Extraintestinal *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 2020;11:2065.

Detrait M, D'Hondt L, André M, Lonchay C, Holemans X, Maton JP, Canon JL. *Agrobacterium radiobacter* bacteremia in oncologic and geriatric patients: presentation of two cases and review of the literature. *Int J Infect Dis.* 2008;12(6):e7-10.

Diaz PI, Strausbaugh, LD, and Dongari-Bagtzoglou A. Fungal-bacterial interactions and their relevance to oral health: linking the clinic and the bench. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2014;4:101.

Doorley LA, Rybak JM, Berkow EL, Zhang Q, Morschhäuser J, Rogers PD. *Candida parapsilosis* Mdr1B and Cdr1B Are Drivers of Mrr1-Mediated Clinical Fluconazole Resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2022;66(7):e0028922.

Dowling DJ et Levy O. Ontogeny of early life immunity. *Trends Immunol.* 2014;35(7):299–310.

Dulanto Chiang A, Patil PP, Beka L, Youn JH, Launay A, Bonomo RA, Khil PP, Dekker JP. Hypermutator strains of *Pseudomonas aeruginosa* reveal novel pathways of resistance to combinations of cephalosporin antibiotics and beta-lactamase inhibitors. *PLoS Biol.* 2022;20(11):e3001878.

Dunne WM Jr, Hardin DJ. Use of several inducer and substrate antibiotic combinations in a disk approximation assay format to screen for AmpC induction in patient isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., and *Serratia* spp. *J Clin Microbiol.* 2005;43(12):5945–5949.

Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005; 10:308(5728):1635–1638.

Eigner U, Holfelder M, Oberdorfer K, Betz-Wild U, Bertsch D, Fahr AM. Performance of a matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry system for the identification of bacterial isolates in the clinical routine laboratory. *Clin Lab*. 2009;55(7-8):289–296.

EUCAST – Evropský výbor a testování antimikrobiální citlivosti, vnitřní rezistence a neobvyklé fenotypy, verze 3.2.2020. (aktualizace 21. června 2021). Dostupné z: https://eucast.org/expert_rules_and_intrinsic_resistance/.

Everard A, Matamoros S, Geurts L, Delzenne NM, Cani PD. *Saccharomyces boulardii* administration changes gut microbiota and reduces hepatic steatosis, low-grade inflammation, and fat mass in obese and type 2 diabetic db/db mice. *mBio*. 2014;5(3):e01011–14.

Fadhel M, Patel S, Liu E, Levitt M, Asif A. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in a critically ill patient with acute cholangitis and long term probiotic use. *Med Mycol Case Rep*. 2018;23:23–25.

Ferreira JP, Anderson KL, Correa MT, Lyman R., Ruffin F, Reller LB., Fowler Jr. VG. Transmission of MRSA between companion animals and infected human patients presenting to outpatient medical care facilities. *PLoS One*. 2011; 11(6).

Fischer LJ, Weyant RS, White EH, Quinn FD. Intracellular multiplication and toxic destruction of cultured macrophages by *Capnocytophaga canimorsus*. *Infect Immun*. 1995;63(9):3484–3490.

Forbes JD, Kus JV, Patel SN. Antimicrobial susceptibility profiles of invasive isolates of anaerobic bacteria from a large Canadian reference laboratory: 2012-2019. *Anaerobe*. 2021;70:102386.

Gamblin J, Jefferies JM, Harris S, Ahmad N, Marsh P, Faust SN, et al. Nasal selfswabbing for estimating the prevalence of *Staphylococcus aureus* in the community.

J Med Microbiol. 2013;62(3):437–440.

García-Álvarez L, Holden MTG, Lindsay H, Webb CR, Brown DFJ, Curran MD, et al. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. Lancet Infect Dis. 2011;11(8):595–603.

Garcia-Effron G, Lee S, Park S, Cleary JD, Perlin DS. Effect of *Candida glabrata* FKS1 and FKS2 mutations on echinocandin sensitivity and kinetics of 1,3-beta-D-glucan synthase: implication for the existing susceptibility breakpoint. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(9):3690–3699.

Garrity. GM. ‘Sergey's manual of systematic bacteriology (2nd ed.). 2011. New York: Springer Science + Business Media. ISBN 978-0-387-68572-4.

Gil-Gil T, Martínez JL, Blanco P. Mechanisms of antimicrobial resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*: a review of current knowledge. Expert Rev Anti Infect Ther. 2020;18(4):335–347.

Gomila M, Gascó J, Gil J, Bernabeu R, Iñigo V, Lalucat J. A molecular microbial resistance ecology approach to studying hemodialysis water and fluid. Kidney Int. 2006;70(9):1567–1576.

Grice EA et Serge JA. The skin microbiome. Nat Rev Microbiol. 2011;9(4):244–253.

Grice EA, Kong HH, Conlan S, Deming CB, Davis J, Young AC; NISC Comparative Sequencing Program; Bouffard GG, Blakesley RW, Murray PR, Green ED, Turner ML, Segre JA. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. Science. 2009;324(5931):1190–1192.

Gibbon MJ, Couto N, David S, Barden R, Standerwick R, Jagadeesan K, Birkwood H, Dulyayangkul P, Avison MB, Kannan A, Kibbey D, Craft T, Habib S, Thorpe HA, Corander J, Kasprzyk-Hordern B, Feil EJ. A high prevalence of blaOXA-48 in *Klebsiella (Raoultella) ornithinolytica* and related species in hospital wastewater in South West England. *Microb Genom.* 2021;7(3):mgen000509.

Guillot J et Bond R. *Malassezia* Yeasts in Veterinary Dermatology: An Updated Overview. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;28(10):79.

Hanada S, Iwamoto M, Kobayashi N, Ando R, Sasaki S. Catheter-related bacteremia caused by *Agrobacterium radiobacter* in a hemodialysis patient. *Intern Med.* 2009;48(6):455–457.

Harper M, Boyce JD, Adler B. *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur. *FEMS Microbiol Lett.* 2006;265(1):1–10.

Hartman BJ, Tomasz A. Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactams resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 1984;158(2):513–516.

Harvey RG, Lloyd DH. The Distribution of Bacteria (Other than Staphylococci and *Propionibacterium acnes*) on the Hair, at the Skin Surface and Within the Hair Follicles of Dogs. *Vet Dermatol.* 1995;6(2):79–84.

Harvey RG et Noble WC. Aspects of nasal, oropharyngeal and anal carriage of in normal dogs and dogs with pyoderma. *Vet Dermatol.* 1998;9(2):99–104.

Henneveld K, Rosychuk RA, Olea-Popelka FJ, Hyatt DR, Zabel S. *Corynebacterium* spp. in dogs and cats with otitis externa and/or media: a retrospective study. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2012;48(5):320–326.

Hloch O, Mokra D, Masopust J, Hasa J, Charvat J. Antibiotic treatment following a dog bite in an immunocompromized patient in order to prevent *Capnocytophaga canimorsus* infection: a case report. *BMC Res Notes.* 2014;7:432.

Honorat E, Seng P, Savini H, Pinelli PO, Simon F, Stein A. Prosthetic joint infection caused by *Pasteurella multocida*: a case series and review of literature. BMC Infect Dis. 2016;16(1):435.

Hrabák J et Chudáčková E. Rezistence enterobakterií ke karbapenemům. Epid mikrob imunol 57, 200; 125–136.

Hu Y, Zhu Y, Ma Y, Liu F, Lu N, Yang X, Luan C, Yi Y, Zhu B. Genomic insights into intrinsic and acquired resistance mechanisms in *Achromobacter xylosoxidans*. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(2):1152–1161.

Charity RM et Foukas AF. Osteomyelitis and secondary septic arthritis caused by *Sphingomonas paucimobilis*. Infection. 2005; 33(2):93–95.

Chen M, He S, Miles P, Li C, Ge Y, Yu X, Wang L, Huang W, Kong X, Ma S, Li Y, Jiang Q, Zhang W, Cao C. Nasal Bacterial Microbiome Differs Between Healthy Controls and Those With Asthma and Allergic Rhinitis. Front Cell Infect Microbiol. 2022 Mar 3;12:841995.

Iatta R, Puttilli MR, Immediato D, Otranto D, Cafarchia C. The role of drug efflux pumps in *Malassezia pachydermatis* and *Malassezia furfur* defence against azoles. Mycoses. 2017;60(3):178–182.

Iseppi R, Messi P, Anacarso I, Bondi M, Sabia C, Condò C, de Niederhausen S. Antimicrobial resistance and virulence traits in *Enterococcus* strains isolated from dogs and cats. New Microbiol. 2015;38(3):369–378.

Işikgoz Taşbakan M, Görümlü G, Pullukçu H, Sanli UA, Sipahi OR, Karabulut B, Tünger A. Nadir bir katetere bağlı bakteriyemi etkeni: *Rhizobium radiobacter* (A rare cause of catheter-related bacteremia: *Rhizobium radiobacter*). Mikrobiyol Bul. 2008;42(2):349–352.

Ito T, Katayama Y, Tiensasitorn C, et al. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome mec integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2001;45(5):1323–1336.

Jäckel C, Hertwig S, Scholz HC, Nöckler K, Reetz J, Hammerl JA. Prevalence, Host Range, and Comparative Genomic Analysis of Temperate *Ochrobactrum* Phages. *Front Microbiol.* 2017; 30(8):1207.

Jo J-H, Deming C, Kennedy EA, Sean Conlan S, Polley EC et al. Diverse Human Skin Fungal Communities in Children Converge in Adulthood. *The Journal of Investigative Dermatology (JID).* 2016; 136:12.

Jung J, Park W. *Acinetobacter* species as model microorganisms in environmental resistance physiology: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2015;99(6):2533–2548.

Káčalová M. Optimalizace podmínek přípravy vzorků pro MALDI-MS profilování bakterií. Diplomová práce; Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity v Brně; Ústav experimentální biologie. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/bipjz/diplomka_km.pdf.

Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. *Biomed Res Int.* 2014;2014:827965.

Kämpfer P, Scholz HC, Huber B, Falsen E, Busse HJ. *Ochrobactrum haematophilum* sp. nov. and *Ochrobactrum pseudogrignonense* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2007;57(Pt 11):2513–2518.

Kaspar U, Kriegeskorte A, Schubert T, Peters G, Rudack C, Pieper DH, et al. The culturome of the human nose habitats reveals individual bacterial fingerprint patterns. *Environ Microbiol.* 2016;18(7):2130–2142.

Kassab I, Sarsam N, Affas S, Ayas M, Baang JH. A Case of *Ochrobactrum intermedium* Bacteremia Secondary to Cholangitis With a Literature Review. *Cureus.* 2021; 23;13(4):e14648.

Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic elements resistance by *Staphylococcus* cassette chromosome mec, encodes methicilin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(6):1549–1555.

Kelesidis T. Bloodstream infection with *Anaerobiospirillum succiniciproducens*: a potentially lethal infection. *South Med J*. 2011;104(3):205–214.

Kerr KG, Beggs CB, Dean SG, Thornton J, Donnelly JK, Todd NJ, Sleigh PA, Qureshi A, Taylor CC. Air ionisation and colonisation/infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter* species in an intensive care unit. *Intensive Care Med*. 2006;32(2):315–317.

Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10(3):505–520.

Kolář M. Infekce u kriticky nemocných. Praha: Galén. 1. vyd. 2008. 379 p. ISBN 978-80-7262-488-1.

Krawczyk B, Wityk P, Gałęcka M, Michalik M. The Many Faces of *Enterococcus* spp.- Commensal, Probiotic and Opportunistic Pathogen. *Microorganisms*. 2021; 7;9(9):1900.

Krogh HV KS. A study of skin diseases in dogs and cats. II. Microflora of the normal skin of dogs and cats. *Nord Vet Med*. 1976;28(9):459–463.

Krumbeck JA, Reiter AM, Pohl JC, Tang S, Kim YJ, Linde A, Prem A, Melgarejo T. Characterization of Oral Microbiota in Cats: Novel Insights on the Potential Role of Fungi in Feline Chronic Gingivostomatitis. *Pathogens*. 2021; 10(7):904.

Kukurudz RJ, Chapel M, Wonitowy Q, Adamu Bukari AR, Sidney B, Sierhuis R, Gerstein AC. Acquisition of cross-azole tolerance and aneuploidy in *Candida albicans* strains evolved to posaconazole. *G3 (Bethesda)*. 2022;12(9):156.

Lavan R, Knesl O. Prevalence of canine infection resistance respiratory pathogens in asymptomatic dogs presented at US animal shelters. *J Small Anim Pract*. 2015;56(9):572–576.

Lee Y, Puumala E, Robbins N, Cowen LE. Antifungal Drug Resistance: Molecular Mechanisms in *Candida albicans* and Beyond. *Chem Rev.* 2021;121(6):3390–3411.

Lhotský J. Úvod do studia symbiotických interakcí mikroorganismů. Nový pohled na viry a bakterie. Praha: Academia, 2015. 208 s. ISBN 978-80-200-2480-0. S. 118–119.

Li K, Bihan M, Yoo eph S et. Methé BA. Analyses of the microbial diversity across the human microbiome. *PLoS One.* 2012;7(6):e32118.

Lilenbaum W, Nunes EL, Azeredo MA. Prevalence and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from the skin surface of clinically normal cats. *Lett Appl Microbiol.* 1998;27(4):224–228.

Lilenbaum W, Veras M, Blum E et Souza GN. Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from otitis externa in dogs, *Letters in Applied Microbiology.* 2000; 31(1): p. 42–45.

Lin WR, Chen YS, Liu YC. Cellulitis and bacteremia caused by *Bergeyella zoohelcum*. *J Formos Med Assoc.* 2007;106(7):573–576.

Litzman J. Primary immunodeficiencies in adults. *Vnitr Lek* 2019; 65(2):109–116.

Liu C, Pan X, Xia B, Chen F, Jin Y, Bai F, Priebe G, Cheng Z, Jin S, Wu W. Construction of a Protective Vaccine Against Lipopolysaccharide-Heterologous *Pseudomonas aeruginosa* Strains Based on Expression Profiling of Outer Membrane Proteins During Infection. *Front Immunol.* 2018;26;9:1737.

Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8(4):557–584.

Lleò MM, Bonato B, Benedetti D, Canepari P. Survival of enterococcal species in aquatic environments. *FEMS Microbiol Ecol.* 2005;54(2):189–196.

López-Pintor JM, García-Fernández S, Ponce-Alonso M, Sánchez-Díaz AM, Ruiz-Garbajosa P, Morosini MI, Cantón R. Etiology and antimicrobial susceptibility profiles of anaerobic bacteria isolated from clinical samples in a university hospital in Madrid, Spain. *Anaerobe*. 2021;72:102446.

Lorusso AB, Carrara JA, Barroso CDN, Tuon FF, Faoro H. Role of Efflux Pumps on Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Mol Sci*. 2022;13;23(24):15779.

Lu YF, McEwan NA. Staphylococcal and micrococcal adherence to canine and feline corneocytes: quantification using a simple adhesion assay. *Veterinary Dermatology*. 2007;18(1):29–35.

Lustberg MB. Management of neutropenia in cancer patients. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2012;10(12):825–826.

Martí-Carrizosa M, Sánchez-Reus F, March F, Cantón E, Coll P. Implication of *Candida parapsilosis* FKS1 and FKS2 mutations in reduced echinocandin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(6):3570–3573.

May ER, Kinyon JM, Noxon JO. Nasal carriage of *Staphylococcus schleiferi* from healthy dogs and dogs with otitis, pyoderma or both. *Vet Microbiol* 2012; 160:443–448.

Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013;4(2):119–128.

Mayr EM, Ramírez-Zavala B, Krüger I, Morschhäuser J. A Zinc Cluster Transcription Factor Contributes to the Intrinsic Fluconazole Resistance of *Candida auris*. *mSphere*. 2020;5(2):e00279-20.

McMullen AR, Anderson N, Wallace MA, Shupe A, Burnham CA. When Good Bugs Go Bad: Epidemiology and Antimicrobial Resistance Profiles of *Corynebacterium striatum*, an Emerging Multidrug-Resistant, Opportunistic Pathogen. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(11):e01111-17.

Melbourne 2012;International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (ICN) 2012.

Meis J, Petrou M, Bille J, Ellis D, Gibbs D. A global evaluation of the susceptibility of *Candida* species to fluconazole by disk diffusion. Global Antifungal Surveillance Group. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2000;36(4):215–223.

Melter O et Malmgren A. *Principy a praktika lékařské mikrobiologie*. Praha: Karolinum. 140 p. 3014; ISBN 9788024624143.

Miceli MH, Díaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis*. 2011;11(2):142–151.

Miller W, Griffin C et Campbell KL. *Muller an' Kirk's Small Animal Dermatology* 7th Edition. 948 p. 2012; ISBN 9781416000280.

Michael GB, Bossé JT, Schwarz S. Antimicrobial Resistance in Pasteurellaceae of Veterinary Origin. *Microbiol Spectr*. 2018;6(3).

Möller LV, Arends JP, Harmsen HJ, Talens A, Terpstra P, Slooff MJ. *Ochrobactrum intermedium* infection after liver transplantation. *J Clin Microbiol*. 1999;37(1):241–244.

Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection. *N Engl J Med*. 2008;358(12):1271–1281.

Muñoz P, Bouza E, Cuenca-Estrella M, Eiros JM, Pérez MJ, Sánchez-Somolinos M, Rincón C, Hortal J, Peláez T. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: an emerging infectious disease. *Clin Infect Dis*. 2005;40(11):1625–1634.

Nagata R, Nagano H, Ogishima D, Nakamura Y, Hiruma M, Sugita T. Transmission of the major skin microbiota, *Malassezia*, from mother to neonate. *Pediatr Int*. 2012;54(3):350–355.

Neish AS. Mucosal immunity and the microbiome. *Ann Am Thorac Soc.* 2014;Suppl 1(Suppl 1):p 28–32.

Neradová K. Výskyt LA-MRSA a CA-MRSA v populaci s vyšším rizikem nosičství. Disertační práce. Lékařská fakulta v Hradci Králové Univerzity Karlovy v Praze. 2020; dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/123670/140090182.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Ngo J, Taminiau B, Fall PA, Daube G, Fontaine J. Ear canal microbiota – a comparison between healthy dogs and atopic dogs without clinical signs of otitis externa. *Vet Dermatology.* 2018; 29(5): p. 425-e140.

Nuriel-Ohayon M, Neuman H, Koren O. Microbial Changes during Pregnancy, Birth, and Infancy. *Front Microbiol.* 2016; 14;7:1031.

Ogai K, Ogura K, Ohgi N, et al. Stability of Skin Microbiome at Sacral Regions of Healthy Young Adults, Ambulatory Older Adults, and Bedridden Older Patients After 2 Years. *Biological Research For Nursing.* 2021;23(1):82–90.

Older CE, Diesel AB, Patterson AP, Meason-Smith C, Johnson TJ, Rodrigues Hoffmann A. et al. The feline skin microbiota: The bacteria inhabiting the skin of healthy and allergic cats. *PLoS One.* 2017;12(6): e0178555.

Older CE, Diesel AB, Lawhon SD, Queiroz CRR, Henker LC, Rodrigues Hoffmann A. The feline cutaneous and oral microbiota are influenced by breed and environment. *PLoS One.* 2019;14(7):e0220463.

Olender A. Antibiotic resistance and detection of the most common mechanisms resistance (MLSB) of opportunistic *Corynebacterium*. *Chemotherapy.* 2013;59(4):294–306.

Otčenášek M et al.: Vyšetřovací metody při mykotických onemocněních. Avicenum, Prague. 1990; 152 p. ISBN: 80-201-0059-8.

Otto M. *Staphylococcus epidermidis*, -the 'accidental' pathogen. Nat Rev Microbiol. 2009;7(8):555–567.

Overgaauw PAM, Vinke CM, Hagen MAEV, Lipman LJA. A One Health Perspective on the Human-Companion Animal Relationship with Emphasis on Zoonotic Aspects. Int J Environ Res Public Health. 2020;17(11):3789.

Pankuch GA, Jacobs MR, Rittenhouse SF, Appelbaum PC. Susceptibilities of 123 strains of *Xanthomonas maltophilia* to eight beta-lactams (including beta-lactam-beta-lactamase inhibitor combinations) and ciprofloxacin tested by five methods. Antimicrob Agents Chemother. 1994;38(10):2317–2322.

Parlak M, Batur M, Ölmez S, Güdücüoğlu H, Otlu B. İntravitreal Enjeksiyon Sonrası Ortaya Çıkan *Rhizobium radiobacter* Salgınının Mikrobiyolojik Analizi (The Microbiological Analysis of a *Rhizobium radiobacter* Outbreak After Intravitreal Injection). Mikrobiyol Bul. 2020;54(2):235–245.

Peirano G, Pitout JDD. Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Update on Molecular Epidemiology and Treatment Options. Drugs. 2019;79(14):1529–1541.

Penders J, Stobberingh EE, Savelkoul PH, Wolffs PF. The human microbiome as a reservoir of antimicrobial resistance. Front Microbiol. 2013; 17;4:87.

Pereira M, Perilli M, Mantengoli E, Luzzaro F, Toniolo A, Rossolini GM, Amicosante G. PER-1 extended-spectrum beta-lactamase production in an *Alcaligenes faecalis* clinical isolate resistant to expanded-spectrum cephalosporins and monobactams from a hospital in Northern Italy. Microb Drug Resist. 2000;6(1):85–90.

Peton V, Bouchard DS, Almeida S, Rault L, Falentin H, Le Loir Y et al. Fine-tuned characterization of *Staphylococcus aureus* Newbould 305, a strain associated with mild and chronic mastitis in bovines. Vet Res. 2014;45(1):106.

Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ellis D, Tullio V, Rodloff A, Fu W, Ling TA; Global Antifungal Surveillance Group. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* Species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *J Clin Microbiol.* 2010;48(4):1366–1377.

Pillay S, Zishiri OT, Adeleke MA. Prevalence of virulence genes in *Enterococcus* species isolated from companion animals and livestock. *Onderstepoort J Vet Res.* 2018;27;85(1):e1-e8.

Poirel L, Madec JY, Lupo A, Schink AK, Kieffer N, Nordmann P, Schwarz S. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr.* 2018;6(4).

Prasil P, Ryskova L, Plisek S, Bostik P. A rare case of purulent meningitis caused by *Capnocytophaga canimorsus* in the Czech Republic - case report and review of the literature. *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):100.

Prohic A, Jovovic Sadikovic T, Krupalija-Fazlic M, Kuskunovic-Vlahovljak S. *Malassezia* species in healthy skin and in dermatological conditions. *Int J Dermatol.* 2016;55(5):494–504.

Qian Y, Preston K, Krokhin O, Mellish J, Ens W. Characterization of wheat gluten proteins by HPLC and MALDI TOF resistance pyrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2008;19(10):1542–1550.

Qin S, Xiao W, Zhou C, Pu Q, Deng X, Lan L, Liang H, Song X, Wu M. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduct Target Ther.* 2022;7(1):199.

Rodrigues-Hoffmann A, Patterson AP, Diesel A, Lawhon SD, Ly HJ, Elkins Stephenson C, et al. The skin microbiome in healthy and allergic dogs. *PLoS One.* 2014;9(1):e83197.

Riddell SR et Greenberg PD. T-cell therapy of cytomegalovirus and human immunodeficiency virus infection. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 35–43.

Ryan MP et Adley CC. *Sphingomonas paucimobilis*: a persistent Gram-negative nosocomial infectious organism. *J Hosp Infect.* 2010;75(3).

Ryan MP, Pembroke JT. *Brevundimonas* spp: Emerging global opportunistic pathogens. *Virulence.* 2018;9(1):480–493.

Ryu SH, Park M, Lee JR, Yun PY, Jeon CO. *Brevundimonas aveniformis* sp. nov., a stalked species isolated from activated sludge. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2007;57(Pt 7):1561–1565.

Saijonmaa-Koulumies LE et Lloyd, DH. Colonization of the canine skin with bacteria. *Veterinary Dermatology.* 1996; 7(3): 153–162.

Sakr A, Brégeon F, Mège JL, Rolain JM, Blin O. *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization: An Update on Mechanisms, Epidemiology, Risk Factors, and Subsequent Infections. *Front Microbiol.* 2018;9:2419.

Sanguinetti M, Posteraro B, Lass-Flörl C. Antifungal resistance among *Candida* species: mechanisms and clinical impact. *Mycoses.* 2015;58 Suppl 2:2–13.

Santaniello A, Garzillo S, Amato A, Sansone M, Fioretti A, Menna LF. Occurrence of *Pasteurella multocida* in Dogs Being Trained for Animal-Assisted Therapy. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(17):6385.

Sartor RB, Wu GD. Roles for Intestinal Bacteria, Viruses, and Fungi in Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases and Therapeutic Approaches. *Gastroenterology.* 2017;152(2):327-339.e4.

Sasaki T, Kikuchi K, Tanaka Y, Takahashi N, Kamata S, Hiramatsu K. Reclassification of phenotypically identic resistance by *Staphylococcus intermedius* strains. *J Clin Microbiol.* 2007;45(9):2770–2778.

Seifert H, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P, Pelzer N, Tjernberg I, Vaneechoutte M. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. *J Clin Microbiol.* 1997;35(11):2819–2825.

Sharma S, Salazar H, Sharma S, Nasser MF, Dahdouh M. *Bergeyella zoohelcum* Bacteremia from Therapy Dog Kisses. *Cureus.* 2019; 18;11(4):e4494.

Shaffer K, Bach J, Chun R. Prospective study evaluating the incidence of bacteraemia and bacteruria in afebrile and febrile neutropaenic dogs undergoing chemotherapy. *Vet Med Sci.* 2016 Nov 14;2(4):281–294.

Shoemaker NB, Vlamakis H, Hayes K, Salyers AA. Evidence for extensive gene transfer among *Bacteroides* spp. and among *Bacteroides* and other genera in the human colon. *Appl Environ Microbiol.* 2001;67(2):561–568.

Silva V, Oliveira A, Manageiro V, Caniça M, Contente D, Capita R, Alonso-Calleja C, Carvalho I, Capelo JL, Igrejas G, Poeta P. Clonal Diversity and Antimicrobial Resistance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* Isolated from Canine Pyoderma. *Microorganisms.* 2021;25;9(3):482.

Sinha M, Ghosh N, Wijesinghe DS, Mathew-Steiner SS, Das A, Singh K, El Masry M, Khanna S, Inoue H, Yamazaki K, Kawada M, Gordillo GM, Roy S, Sen CK. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Require Host Lipids of Cutaneous Wound. *Ann Surg.* 2023;277(3):e634-e647.

Sjövall A, Aho VTE, Hyyrynen T, Kinnari TJ, Auvinen P, Silvola J, Aarnisalo A, Laulajainen-Hongisto A. Microbiome of the Healthy External Auditory Canal. *Otol Neurotol.* 2021;42(5):e609-e614.

Scharfen J. Diferenciální diagnostika v klinické mikrobiologii. Hradec Králové: Nucleus HK. 2011; ISBN 9788087009321.

Scharschmidt TC et Fischbach MA. What Lives On Our Skin: Ecology, Genomics and Therapeutic Opportunities Of the Skin Microbiome. *Drug Discov Today Dis Mech.* 2013;10(3-4):e83–e89.

Schumacher MA, Tonthat NK, Kwong SM, Chinnam NB, Liu MA, Skurray RA, Firth N. Mechanism of staphylococcal multiresistance plasmid replication origin assembly by the RepA protein. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111(25):9121–9126.

Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Herman L, Haesebrouck F, Butaye P. Broad-spectrum β -lactamases among Enterobacteriaceae of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. *FEMS Microbiol Rev.* 2010;34(3):295–316.

Smith B, The 'pet health related aspects of companion animal ownership. *Aust Fam Physician.* 2012;41(6):439–442.

Smolkovic I, Fajfar M et Mlinaric V. Attachment to Pets and Interpersonal Relationships *Journal of European Psychology Students,* 2012;3.

Snydman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Goldstein EJ, Harrell L, Jenkins SG, Newton D, Patel R, Hecht DW. Trends in antimicrobial resistance among *Bacteroides* species and *Parabacteroides* species in the United States from 2010-2012 with comparison to 2008-2009. *Anaerobe.* 2017;43:21–26.

Sonnleitner E, Pusic P, Wolfinger MT, Bläsi U. Distinctive Regulation of Carbapenem Susceptibility in *Pseudomonas aeruginosa* by Hfq. *Front Microbiol.* 2020 May 26;11:1001.

Sora VM, Meroni G, Martino PA, Soggiu A, Bonizzi L, Zecconi A. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Virulence Factors and Antibiotic Resistance. *Pathogens.* 2021;10(11):1355.

Sørum H et Sunde M. Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Vet Res.* 2001;32(3-4):227–241.

Statista. Bedford E. Consumer Goods & FMCG Pets & Animal Supplies Dog owning households in Europe 2010-2021. Dostupné z: [statista.com/statistics/515299/households-owning-a-dog-europe/](https://www.statista.com/statistics/515299/households-owning-a-dog-europe/) Accessed September 27, 2022.

Steiner V, Rosel AC, Ruppitsch W, Allerberger F, Carranza Valencia A, Markovic M, Luckschander-Zeller N, Szostak MP, Spargser J, Loncaric I, Künzel F. The First Bacterial Endocarditis Due to *Achromobacter xylosoxidans* in a Dog. *Pathogens*. 2021; 3;10(12):1580.

Stevenson LG, Drake SK, Shea YR, Zelazny AM, Murray PR. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight resistance pyrometry for identification of clinically important yeast species. *J Clin Microbiol*. 2010;48(10):3482–3486.

Stogios PJ, Savchenko A. Molecular mechanisms of vancomycin resistance. *Protein Sci*. 2020;29(3):654–669.

Sturgeon A, Stull JW, Costa MC, Weese JS. Metagenomic analysis of the canine oral cavity as revealed by high-throughput pyrosequencing of the 16S rRNA gene. *Vet Microbiol*. 2013;23;162(2-4):891–898.

Sugimoto S, Iwamoto T, Takada K, Okuda K, Tajima A, Iwase T, Mizunoe Y. *Staphylococcus epidermidis* Esp degrades specific proteins associated with *Staphylococcus aureus* biofilm formation and host-pathogen interaction. *J Bacteriol*. 2013;195(8):1645–1655.

Taboada J. DVM, DACVIM, Office of Student and Academic Affairs, School of Veterinary Medicine, Louisiana State University. Candidiasis. Last review/revision Mar 2018 | Modified Oct 2022.

Toombs-Ruane LJ, Benschop J, French NP, Biggs PJ, Midwinter AC, Marshall JC, Chan M, Drinković D, Fayaz A, Baker MG, Douwes J, Roberts MG, Burgess SA. Carriage of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase- and AmpC Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains from Humans and Pets in the Same Households. *Appl Environ Microbiol*. 2020;86(24):e01613-20.

Torres P, Castro M, Reyes M, Torres VA. Histatins, wound healing, and cell migration. *Oral Dis.* 2018;24(7):1150–1160.

Uchida Y, Onodera S, Nakade T, Otomo K. Sterol composition in polyene antibiotic-sensitive and resistant strains of *Malassezia pachydermatis*. *Vet Res Commun.* 1994;18(3):183–187.

Urbášková, P., Jakubový, V., Macková, B., Žemličková, H. Stafylokoky – průkaz indukované rezistence ke klindamycinu (D-test). Státní zdravotní ústav. 2014. Dostupné z: <http://www.szu.cz/stafylokoky-indukovana.rezistence-ke-klindamycinu#articl>.

Utsui Y, Yokota T. Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin- and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985;28(3):397–403.

Vaidyanathan S, Winder CL, Wade SC, Kell DB, Goodacre R. Sample preparation in matrix-assisted laser desorption/ionization resistance pyometry of whole bacterial cells and the detection of high mass (>20 kDa) proteins. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2002;16(13):1276-86.

Vail DM, Thamm DH, Reiser H, Ray AS, Wolfgang GH, Watkins WJ, Babusis D, Henne IN, Hawkins MJ, Kurzman ID, Jeraj R, Vanderhoek M, Plaza S, Anderson C, Wessel MA, Robot C, Lawrence J, Tumas DB. Assessment of GS-9219 in a pet dog model of non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2009;15(10):3503–3510.

van Veen SQ, Claas EC, Kuijper EJ. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight resistance cytometry in conventional microbiology laboratories. *J Clin Microbiol.* 2010;48(3):900–907.

Vapniarsky N, Simpson DL, Arzi B, Taechangam N, Walker NJ, Garrity C, Bulkeley E, Borjesson DL. Histological, Immunological, and Genetic Analysis of Feline Chronic Gingivostomatitis. *Front Vet Sci.* 2020;7:310.

Veloo ACM, Baas WH, Haan FJ, Coco J, Rossen JW. Prevalence of antimicrobial resistance genes in *Bacteroides* spp. and *Prevotella* spp. Dutch clinical isolates. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25(9):1156.e9-1156.e13.

Výmola F, Vrbová E, Pillich J. Successful treatment of staphylococcal infections. Combined chemo- and immunotherapy. *Czech Med* 1988;4:206–209.

Vaz-Moreira I, Nunes OC, Manaia CM. Diversity and antibacterial resistance patterns of Sphingomonadaceae isolates from drinking water. *Appl Environ Microbiol.* 2011; 15;77(16):5697–5706.

Velasco J, Romero C, López-Goñi I, Leiva J, Díaz R, Moriyón I. Evaluation of the relatedness of *Brucella* spp. and *Ochrobactrum anthropi* and description of *Ochrobactrum intermedium* sp. nov., a new species with a closer relationship to *Brucella* spp. *Int J Syst Bacteriol.* 1998;48 Pt 3:759–768.

Walther B, Tedin K, Lübke-Becker A. Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. *Vet Microbiol.* 2017;200:71–78.

Wang Y, Kuo S, Shu M, Yu J, Huang S, Dai A, Two A, Gallo RL, Huang CM. *Staphylococcus epidermidis* in the human skin microbiome mediates fermentation to inhibit the growth of *Propionibacterium acnes*: implications of probiotics in acne vulgaris. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2014;98(1):411–424.

Wanke I, Steffen H, Christ C, Krismer B, Götz F, Peschel A, Schaller M, Schittek B. Skin commensals amplify the innate immune response to pathogens by activation of distinct signaling pathways. *J Invest Dermatol.* 2011;131(2):382–390.

Walters MS, Eggers P, Albrecht V, Travis T, Lonsway D, Hovan G, Taylor D, Rasheed K, Limbago B, Kallen A. Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* - Delaware, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2015; 25;64(37):1056.

Wardal E, Kuch A, Gawryszewska I, Żabicka D, Hryniewicz W, Sadowy E. Diversity of plasmids and Tn1546-type transposons among VanA *Enterococcus faecium* in Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017;36(2):313–328.

Wheeler AL, Hartel PG, Godfrey DG, Hill JL, Segars WI. Potential of *Enterococcus faecalis* as a human fecal indicator for microbial source tracking. *J Environ Qual*. 2002;31(4):1286–1293.

White DC, Sutton SD, Ringelberg DB. The genus *Sphingomonas*: physiology resistance ecology. *Curr Opin Biotechnol*. 1996;7(3):301–306.

Whyte A, Gracia A, Bonastre C, Tejedor MT, Whyte J, Monteagudo LV, Simón C. Oral Disease and Microbiota in Free-Roaming Cats. *Top Companion Anim Med*. 2017;32(3):91–95.

Weese JS, Dick H, Willey BM, Mc Geer A, Kreiswirth BN, Innis B, Low DE. Suspected transmission odd methicillin/resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. *Veterinary microbiology*. 2006; 115(1-3): 148–155.

Wexler HM. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(4):593–621.

Willems RJ, Top J, van Santen M, Robinson DA, Coque TM, Baquero F, Grundmann H, Bonten MJ. Global spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from distinct nosocomial genetic complex. *Emerg Infect Dis*. 2005;11(6):821–828.

Winefield HR., Black A, et Chur-Hansen A. Health effects of ownership of and attachment to companion animals, in an older population. *International Journal of Behavioral Medicine*. 2008;15 (4), 303–310.

Wipler J, Čermáková Z, Hanzálek T, Horáková H, Buchta V. Pets (dogs/cats) as a possible source of opportunistic pathogenic fungi in humans. *Klin Mikrobiol Infekc Lek.* 2018;24(2):41–49.

Wipler J, Čermáková Z, Hanzálek T, Horáková H, Žemličková H. [Sharing bacterial microbiota between owners and their pets (dogs, cats)]. *Klin Mikrobiol Infekc Lek.* 2017;23(2):48–57.

Wipler J, Čermáková Z, Buchta V, Žák P, Vlčková M. The impact of sharing a household with pets on the physiological state of the human microbiome: a comprehensive study in the Czech population with a focus on filamentous fungi. *Acta Vet Brno.* 2023; (This article ID087/2022-ACTA has been accepted for publication in *Acta Veterinaria Brno* and will be published in Nr 2/2023)

Willson PJ. *Haemophilus, Actinobacillus, Pasteurella*: mechanism resistance and antibiotic therapy. *Can J Vet Res.* 1990;54 Suppl:S73-7.

Wollenberg MS, Claesen J, Escapa IF, Aldridge KL, Fischbach MA, Lemon KP. *Propionibacterium*-produced coproporphyrin III induces *Staphylococcus aureus* aggregation and biofilm formation. *mBio.* 2014; 22;5(4):e01286-14.

Woodford N et Ellington MJ. The emergence of antibiotic resistance by mutation. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13(1):5–18.

Woolley KL, Kelly RF, Fazakerley J, Williams NJ, Nuttall TJ, McEwan NA. Reduced in vitro adherence of *Staphylococcus* species to feline corneocytes compared to canine and human corneocytes. *Vet Dermatol.* 2008;19(1):1–6.

Yabuuchi E, Kosako Y, Fujiwara N, Naka T, Matsunaga I, Ogura H, Kobayashi K. Emendation of the genus *Sphingomonas* Yabuuchi et al. 1990 and junior objective synonymy of the species of three genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, in conjunction with *Blastomonas ursincola*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2002;52(Pt 5):1485–1496.

Yi J, Humphries R, Doerr L, Jerris RC, Westblade LF. *Bergeyella zoohelcum* Associated with Abscess and Cellulitis After a Dog Bite. *Pediatr Infect Dis J*. 2016;35(2):214–216.

Yurayart C, Nuchnoul N, Moolkum P, Jirasuksiri S, Niyomtham W, Chindamporn A, Kajiwara S, Prapasarakul N. Antifungal agent susceptibilities and interpretation of *Malassezia pachydermatis* and *Candida parapsilosis* isolated from dogs with and without seborrheic dermatitis skin. *Med Mycol*. 2013;51(7):721–730.

Zhang J, Liu YX, Zhang N, Hu B, Jin T, Xu H, Qin Y, Yan P, Zhang X, Guo X, Hui J, Cao S, Wang X, Wang C, Wang H, Qu B, Fan G, Yuan L, Garrido-Oter R, Chu C, Bai Y. NRT1.1B is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice. *Nat Biotechnol*. 2019;37(6):676–684.

Zhang Y, Tan P, Zhao Y, Ma X. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: intestinal pathogenesis mechanisms and colonization resistance by gut microbiota. *Gut Microbes*. 2022;14(1):2055943.

16. SEZNAMY

16.1. Seznam obrázků

Obrázek 1: Lokalizace výskytu *Malassezia* spp. u člověka

Obrázek 2: Mikrobiální spektra lokalit mikrobiomů psa

Obrázek 3: Lokalizace výskytu *Malassezia* spp. u psa

Obrázek 4: Mikrobiální spektra lokalit mikrobiomů kočky

Obrázek 5: Lokalizace výskytu *Malassezia* spp. u kočky

Obrázek 6: Krmení DMZ z vidličky

Obrázek 7: Kroky metody MALDI TOF MS identifikace mikroorganismů

Obrázek 8: Snímání vzorku laserovým paprskem

Obrázek 9: Záznam spektra z MALDI TOF MS typického pro *Staphylococcus aureus*

Obrázek 10: Záznam spektra z MALDI TOF MS typického pro *Pseudomonas aeruginosa*

Obrázek 11: Záznam spektra z MALDI TOF MS typického pro *Candida albicans*

Obrázek 12: Vyjádření etické komise

Obrázek 13: *Enterococcus faecalis* na KA5 po 72 h

Obrázek 14a: *E. coli* (hemolytický kmen) na KA5 po 24 h

Obrázek 14b: *Escherichia coli* na MCA po 24 h

Obrázek 15: *P. aeruginosa* na MHA (typická produkce pyocyaninu) – difúzní disková metoda

Obrázek 16: *Pseudomonas aeruginosa* na KA5 po 24 h (typická produkce pyocyaninu)

Obrázek 17: *Staphylococcus aureus* na KA5 po 48 h (žlutá pigmentace a neúplná hemolýza)

Obrázek 18: Methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* na ORSAB po 20 h

Obrázek 19: *Staphylococcus pseudintermedius* na KA5 po 72 h (široká zóna hemolýzy)

Obrázek 20: *Staphylococcus epidermidis* na KA5 po 24 h (bez hemolýzy)

Obrázek 21: *Acinetobacter baumannii* na KA5 po 24 h

Obrázek 22: *Acinetobacter lwoffii* na KA5 po 24 h

Obrázek 23: *Pasteurella multocida* na KA5 po 24 h

Obrázek 24: *Enterobacter cloacae* na KA5 po 24 h

Obrázek 25a: *Candida albicans* na SAB po 72 h

Obrázek 25b: *C. albicans* na CHCA po 48 h

Obrázek 26: *Candida albicans* na rýžovém agaru po 5 dnech (chlamydospory)

16.2. Seznam tabulek

- Tabulka 1: Profil oportunních patogenů při neutropenii DMZ a člověka
- Tabulka 2: Profil oportunních patogenů při hypogamaglobulinémii DMZ a člověka
- Tabulka 3: Profil oportunních patogenů při deficitu buněčné imunity DMZ a člověka
- Tabulka 4: Profil oportunních patogenů při dlouhodobé terapii kortikosteroidy
- Tabulka 5: Zástupci Proteobacteria izolovaných z klinického materiálu člověka a DMZ
- Tabulka 6: Zástupci Firmicutes izolovaných z klinického materiálu člověka a DMZ
- Tabulka 7: Klasifikace stafylokoků izolovaných z klinického materiálu člověka a DMZ
- Tabulka 8: Zástupci Bacteroidetes izolovaných z klinického materiálu člověka a DMZ
- Tabulka 9: Amblerova klasifikace β -laktamáz
- Tabulka 10: Celkový počet izolovaných druhů bakterií
- Tabulka 11: Celkový počet izolovaných druhů kvasinek
- Tabulka 12: Bakteriální druhy se společným výskytem DMZ i chovatelů
- Tabulka 13: Druhy kvasinek izolované z chovatelů a DMZ
- Tabulka 14: Druhy bakterií izolovaných pouze z lidského biologického materiálu
- Tabulka 15: Druhy kvasinek izolovaných pouze z lidského biologického materiálu
- Tabulka 16: Druhy bakterií izolovaných pouze ze zvířecího biologického materiálu
- Tabulka 17: Druhy kvasinek izolovaných pouze ze zvířecího biologického materiálu
- Tabulka 18: Shodný fenotyp ATB rezistence mikroorganismů mezi DMZ a chovatelem
- Tabulka 19: Konkrétní případy MRSA pozitivních vzorků
- Tabulka 20: Shodný fenotyp antimikrobiální rezistence (M a DMZ) v pilotní studii
- Tabulka 1stat: Analýza dat: druhová početnost mikroorganismů chovatelů a nechovatelů
- Tabulka 2stat: Analýza dat: druhová početnost kvasinek chovatelů a nechovatelů
- Tabulka 3stat: Analýza dat: korelace času (roky) a abundance mikroorganismů chovatele
- Tabulka 4stat: Analýza dat: závislost hodnoty CI a abundance mikroorganismů chovatele
- Tabulka 5stat: Analýza dat: vliv ATB terapie na abundanci mikroorganismů u chovatele
- Tabulka 6stat: Analýza dat: vliv ATB terapie na abundanci kvasinek u chovatele
- Tabulka 7stat: Analýza dat: vliv ATB terapie na abundanci mikroorganismů u KS
- Tabulka 8stat: Analýza dat: vliv ATB terapie na abundanci kvasinek u KS
- Tabulka 9stat: Analýza dat: vliv ATB terapie na abundanci mikroorganismů u DMZ
- Tabulka 10stat: Analýza dat: vliv ATB terapie na abundanci kvasinek u DMZ
- Tabulka 11stat: Analýza dat: vliv CI na abundanci sdílených mikroorganismů se společnou ATB rezistencí

Tabulka 12stat: Analýza dat: vliv předchozí ATB terapie na abundanci sdílených mikroorganismů se společnou ATB rezistencí

16.3. Seznam grafů

Graf 1: Antibiotická léčba v posledním roce u chovatelů

Graf 2: Antibiotická léčba v posledním roce u DMZ

Graf 3: Antibiotická léčba v posledním roce u KS

Graf 4: CI chovatelů

Graf 5: Kvantitativní zastoupení mikroorganismů (bakterie x kvasinky)

Graf 6: Mikrobiální profily u sledovaných skupin hostitelů

Graf 7: Mikrobiální profily u sledovaných skupin hostitelů po ATB terapii

Graf 8: Mikrobiální profily zvukovodů sledovaných skupin hostitelů

Graf 9: Mikrobiální profily nasálních sliznic sledovaných skupin hostitelů

Graf 10: Mikrobiální profily meziprstí nohou chovatelů (M) a nechovatelů (KS)

Graf 11: Mikrobiální profily axil chovatelů a nechovatelů

Graf 12: Stejné fenotypy ATB rezistencí u sdílených mikrobiálních druhů (chovatel, DMZ)

Graf 1stat: Vliv doby sdílení domácnosti chovatele a DMZ na abundanci mikroorganismů

Graf 2stat: Vliv doby sdílení domácnosti chovatele a DMZ na abundanci kvasinek

Graf 3stat: Regrese závislosti CI na abundanci mikroorganismů kolonizujících chovatele

Graf 4stat: Regrese závislosti CI na abundanci kvasinek kolonizujících chovatele

Graf 13: Druhová početnost vláknitých hub v meziprstí nohou u chovatelů a nechovatelů

Graf 14: Druhová početnost vláknitých hub nosní sliznice u sledovaných skupin hostitelů

16.4. Seznam schémat

Schéma 1: Překrytí mikrobiálních profilů DMZ, chovatelů a nechovatelů

Schéma 2: Překrytí bakteriálních profilů DMZ, chovatelů a nechovatelů

Schéma 3: Překrytí kvasinkových profilů DMZ, chovatelů a nechovatelů

17. PŘÍLOHY

17.1. Stanovisko etické komise

Etická komise, Fakultní nemocnice Hradec Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
Ethics Committee, University Hospital Hradec Kralove, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

STANOVISKO ETICKÉ KOMISE
Opinion of the Ethics Committee

Číslo jednací/Reference number: 201408 S39P

Zadavatel/Sponsor: SOUTĚŽ AZV MZ ČR

Řešitel/Principal Investigator: MVDr. Zuzana Čermáková, Ph.D., Ústav klinické mikrobiologie,
Fakultní nemocnice Hradec Králové

Spoluzkoušející: Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc., Mgr. Jan Wipler, MUDr. Lenka Ryšková - ÚKM FN HK
PharmDr. Lenka Plíšková, Mgr. Radka Kutová – ÚKBD FNHK
Doc. Ing. Jaroslav Hrabák, Ph.D. – Lékařská fakulta FN v Plzni

Název KH/Full Title of Clinical Trial: Studium sdílené mikrobioty domácích zvířat a člověka jako možného zdroje rezistence k
antibiotikům

Datum doručení žádosti/Date of submission of the Application Form: 16Jul2014

Datum jednání EK + čas/Date and time of Ethics Committee's session: 17Jul2014

Seznam hodnocených dokumentů/List of all submitted documents: Žádost ze dne 16.7.2014

Vyjádření EK/ Ethics Committee's opinion:
EK vydává / EC issues

Souhlasné stanovisko/Favourable opinion
 Nesouhlasné stanovisko/Unfavourable opinion

University Hospital Hradec Králové
Ethics Committee
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
Czech Republic

Datum/Date: 11Nov2014

MUDr. Jiří Vortel, předseda EK
Signature of Chairperson of the EC

Obrázek 12: Vyjádření etické komise

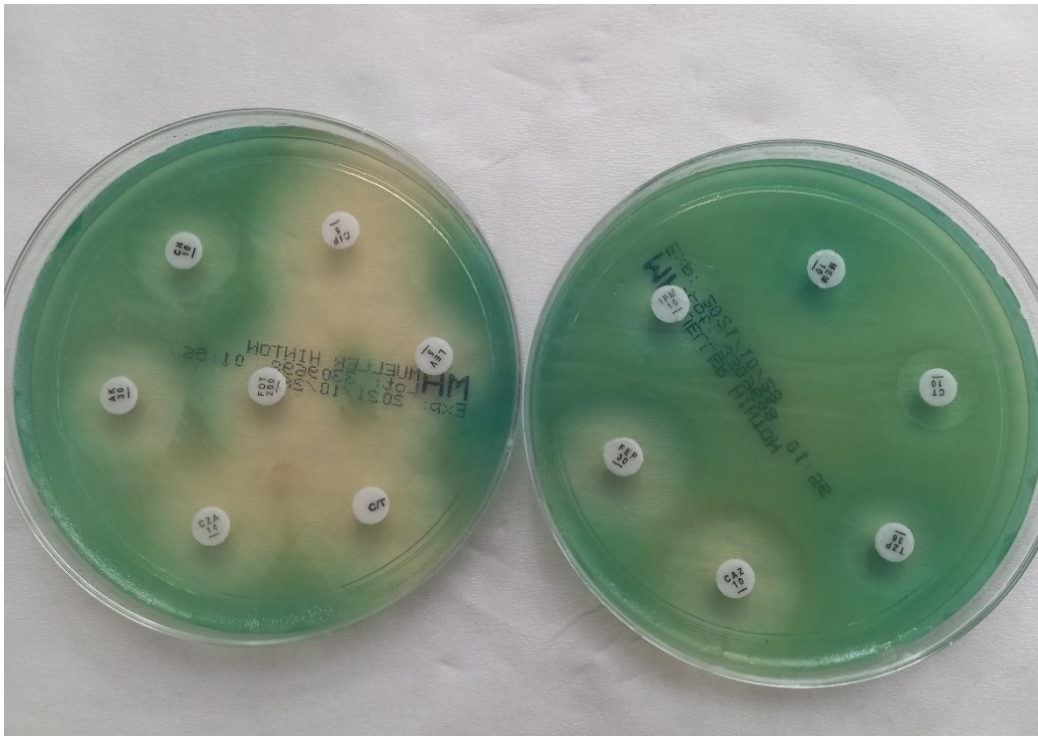
17.2. DMZ a chovatelem sdílené mikroorganismy



Obrázek 13: *Enterococcus faecalis* na KA5 po 72 h při 36 °C



Obrázek 14: a) *E. coli* (hemolytický kmen) na KA5 po 24 h b) *Escherichia coli* na MCA po 24 h



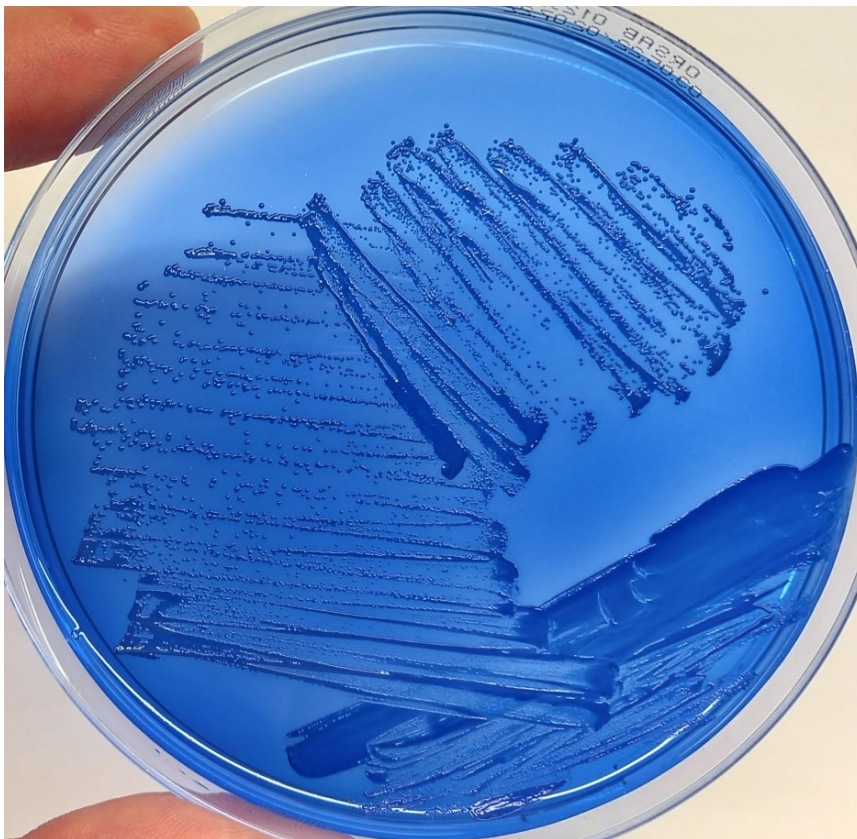
Obrázek 15: *P. aeruginosa* na MHA (typická produkce pyocyaninu) – difúzní disková metoda



Obrázek 16: *Pseudomonas aeruginosa* na KA5 po 24 h (typická produkce pyocyaninu)



Obrázek 17: *Staphylococcus aureus* na KA5 po 48 h (žlutá pigmentace a neúplná hemolýza)



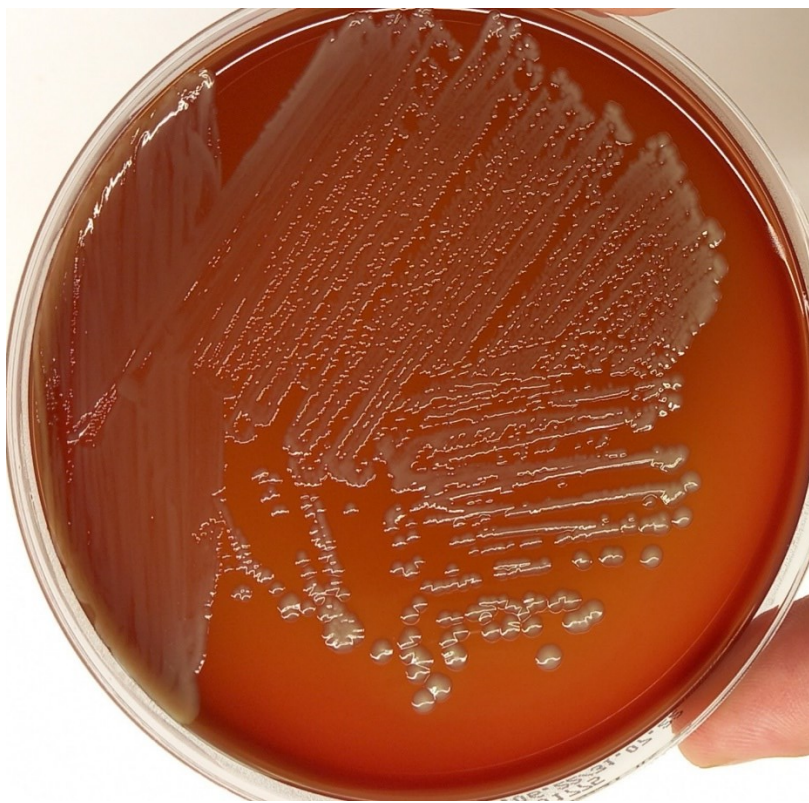
Obrázek 18: Methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* na ORSAB po 20 h



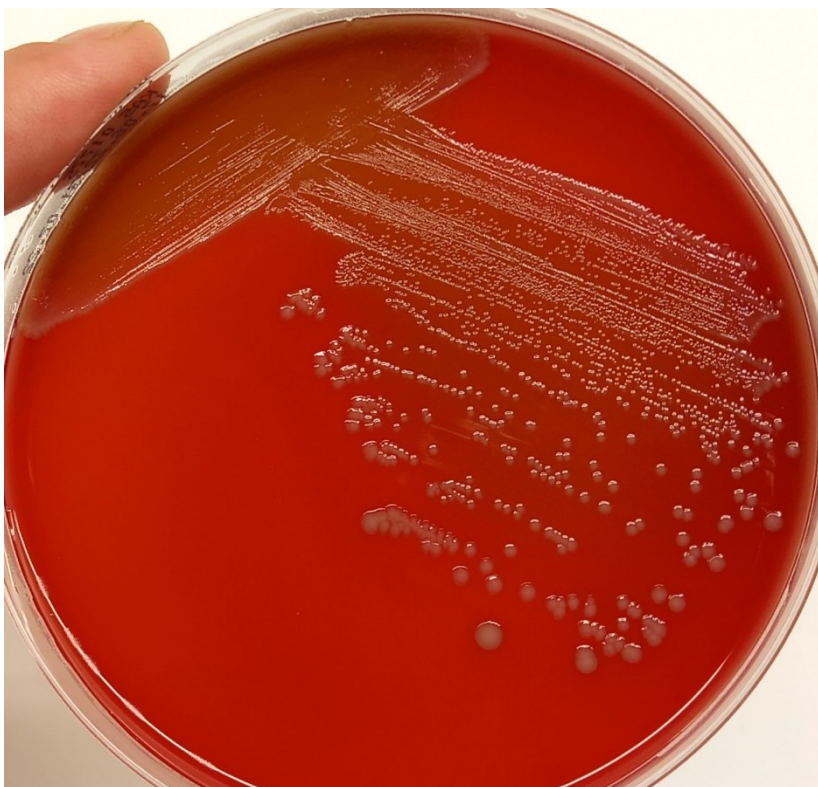
Obrázek 19: *Staphylococcus pseudintermedius* na KA5 po 72 h (široká zóna hemolýzy)



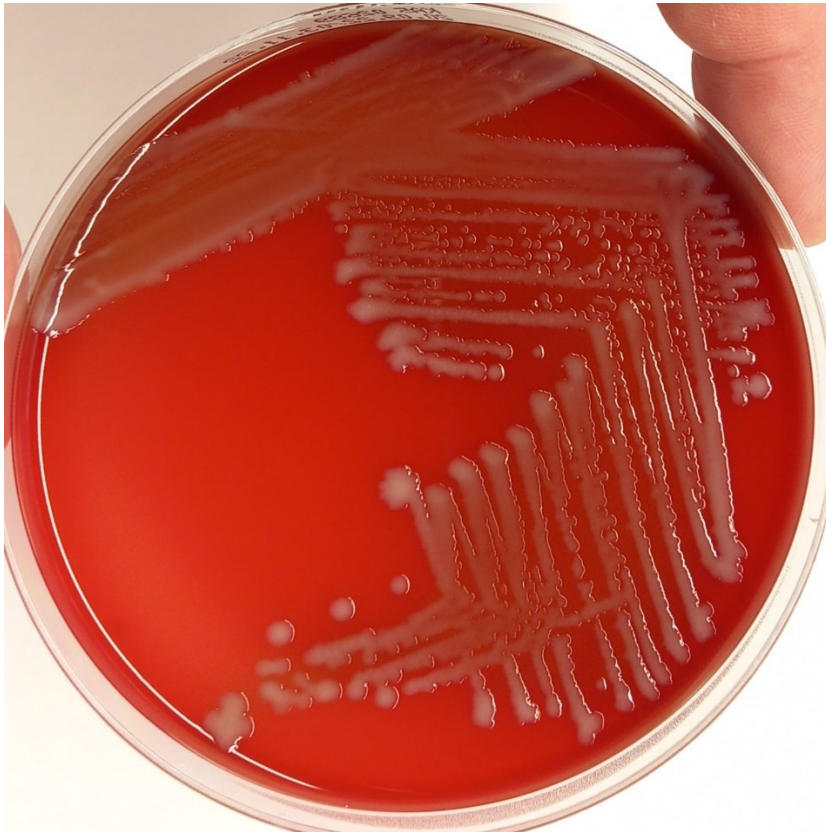
Obrázek 20: *Staphylococcus epidermidis* na KA5 po 24 h (bez hemolýzy)



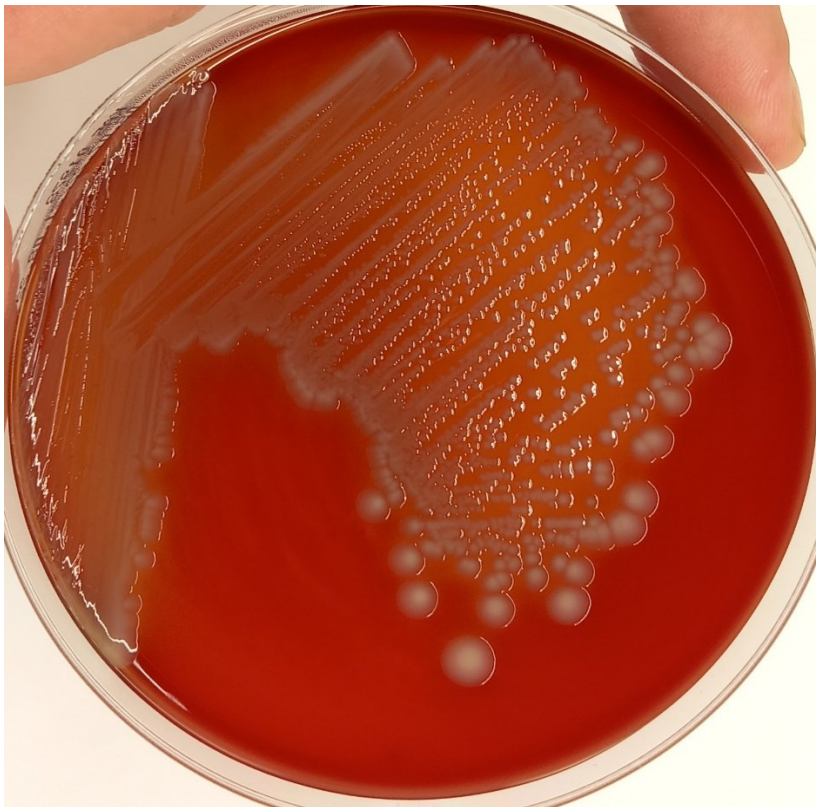
Obrázek 21: *Acinetobacter baumannii* na KA5 po 24 h



Obrázek 22: *Acinetobacter lwoffii* na KA5 po 24 h



Obrázek 23: *Pasteurella multocida* na KA5 po 24 h



Obrázek 24: *Enterobacter cloacae* na KA5 po 24 h



Obrázek 25: a) *Candida albicans* na SAB po 72 h b) *C. albicans* na CHCA po 48 h



Obrázek 26: *Candida albicans* na rýžovém agaru po 5 dnech (chlamydospory; zvětšeno 100x)