

UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Hradci Králové

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

Jan Wipler

Autoreferát disertační práce
Doktorský studijní program: Lékařská mikrobiologie

Hradec Králové
2023

Disertační práce byla vypracována v rámci *prezenčního* studia doktorského studijního programu **Lékařská mikrobiologie** na Ústavu klinické mikrobiologie Lékařské fakulty v Hradci Králové.

Autor: RNDr. Jan Wipler, Ústav klinické mikrobiologie FN a LF UK v Hradci Králové

Školitel: doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc., Ústav klinické mikrobiologie FN a LF UK v Hradci Králové

Oponenti: prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.

Doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D.

Obhajoba se bude konat před Komisí pro obhajoby OR dne v od hod.

Tato práce vznikla za podpory grantu SVV 260 398.

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy, Šimkova 870, 500 03 Hradec Králové (tel. 495 816 134).

prof. MUDr. Pavel Boštík, Ph.D.

.....

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací v doktorském studijním programu Lékařská mikrobiologie a garant studijního programu Lékařská mikrobiologie

Obsah

1. Souhrn	4
2. Summary	5
3. Úvod do problematiky	6
1. Cíle práce	7
2. Materiál a metodika	7
3. Výsledky	8
4. Diskuze	9
5. Závěry	15
6. Literatura.....	16
7. Přehled publikační činnosti autora	18

1. Souhrn

Úvod: Mikrobiologický aspekt vztahu domácích mazlíčků (DMZ) a jejich chovatelů se zaměřuje na mikroorganismy tvořících mikrobiom. Sdílení domácnosti majitelů s DMZ se promítá do oboustranné komunikace mikrobioty. Cílem disertační práce je zjistit druhové spektrum bakterií a kvasinek, které se dají kultivovat *in vitro* za běžných laboratorních podmínek. Antibiotická léčba v posledních 12 měsících by mohla ovlivňovat kolonizaci rezistentními mikroorganismy, a proto byl zjišťován počet sdílených bakteriálních a kvasinkových druhů vykazující společný fenotyp ATB rezistence mezi chovatelem a jejich DMZ s ohledem na behaviorální modely.

Metodika: Ze 120 domácností chovatelů a 80 účastníků kontrolní skupiny (KS) bez domácího mazlíčka bylo získáno celkem 1156 vzorků. Výtěry z nosní sliznice, meziprstí nohou, axil a zvukovodu byly odebrány od 145 chovatelů a vzorky nosní sliznice a zvukovodu od 128 domácích mazlíčků. 320 vzorků bylo ze stejných anatomických lokalizací poskytnuto také KS 80 lidí, kteří nemají déle než 1 rok s žádným zvířetem kontakt. Všichni chovatelé vyplnili dotazník s výpovědí o vztahu ke svým DMZ a předchozí antibiotické terapii. Bakteriální a kvasinkové izoláty byly určeny standardními laboratorními metodami a potvrzeny metodou hmotnostní spektrometrie MALDI–TOF. Na základě získaných dat byly vyhodnoceny hypotézy o komunikaci mikrobioty chovatele a domácího mazlíčka v porovnání s mikrobiotou nechovatelů.

Výsledky: Pro vyjádření intenzity kontaktu chovatele k DMZ byla zaveden tzv. kontaktní index (CI) nabývající hodnot 1-8, přičemž $CI \leq 4$ naznačuje méně blízký vztah a $CI > 4$ bližší vztah. U 88,23 % chovatelů ($n=128$) byl pozorován bližší vztah k DMZ. Antibiotickou léčbu absolvovalo 26,56 % ($n=34$) testovaných DMZ, 31,03 % ($n=45$) chovatelů a 31,25 % ($n=25$) nechovatelů. Z biologického materiálu bylo celkově izolováno 176 druhů mikroorganismů (137 bakterií a 39 kvasinek). Druhově nejbohatším biologickým materiálem byla nosní sliznice DMZ ($n=96$). Shodný fenotyp rezistence mezi chovatelem a DMZ byl zjištěn v 21,67 % domácnostech ($n=26$) u 16 druhů mikroorganismů (13 druhů bakterií a 3 druhy kvasinek).

Závěr: Abundance mikroorganismů biologického materiálu chovatelů a nechovatelů se významně nelišila. Ani doba sdílení jedné domácnosti chovatelem a DMZ neměla vliv na druhovou početnost mikroorganismů. Nebyl prokázán statisticky významný vliv CI na druhovou početnost bakterií a kvasinek, ani na sdílení rezistentních izolátů. Nejčastěji byl mezi chovatelem a DMZ sdílen kmen *Staphylococcus aureus* rezistentní k methicilinu (MRSA) ($n=4$). Předchozí ATB terapie výrazně ovlivnila kvantitu izolovaných kvasinek u člověka (chovatelé i nechovatelé). U DMZ tento vliv nebyl pozorován. Také ATB terapie má zřejmě vliv na výskyt mikroorganismů se shodným fenotypem rezistence.

2. Summary

Background: The microbiological aspect of the pet and the owner relationship focuses on the microorganisms forming the microbiome. The sharing of common household by owners and pets is reflected in the two-way communication of the microbiota. The aims of the dissertation are the identification the species spectrum of bacteria and yeasts that can be cultivated *in vitro* in standard laboratory conditions. Antibiotic treatment in the last year could influence colonization by resistant microorganisms, therefore the abundance of shared bacteria and yeast showing the same ATB phenotype of resistance between owners and their pets was determined with respect to behavioral models.

Methods: A total of 1156 samples were removed from 120 owners' households and 80 control group participants without pet. Nasal mucosa, intertoe space, axillae, and auditory cannula swabs were collected from 145 owners and nasal mucosa and auditory cannula samples from 128 pets. 320 samples from the same anatomical locations like in owners were also provided to a control group of 80 people who have no contact with any animal for more than 1 year. All owners filled in a questionnaire with a statement regarding their relationship to pets and previous antibiotic therapy. Bacterial and yeast isolates were identified by standard laboratory methods and confirmed by MALDI-TOF MS. Based on the obtained data, hypotheses about the communication between the owners' and pets' microbiota were evaluated with comparison to non-owners' microbiota.

Results: Contact Index (CI) was put into study for expression of the intensity of contact between the owner and the pet, with scales 1-8 points. The values $CI \leq 4$ expresses a less close relationship and $CI > 4$ a closer relationship. $CI > 4$ was examined in 88.23 % (n=128). 26.56 % (n=34) of pets, 31.03 % (n=45) of owners and 31.25% (n=25) of non-owners were treated by antibiotics. A total of 176 microbial species (137 bacteria and 39 yeasts) were isolated. The richest microbial biodiversity was found in the pets' nasal mucosa (n=96). The same resistance phenotype was found in 21.67 % of households (n=26) in 16 microbial species.

Conclusion: The microbial abundance in the owners and non-owners did not differ significantly. Even the time of sharing the household had no influence on the microbial abundance. There was no statistically significant influence of CI on microbial abundance, nor on the sharing of resistant isolates. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain was most often shared between owner and pet (n=4). Previous ATB therapy significantly influenced the abundance of isolated yeast in humans (owners and non-owners). This influence was not observed in the pets. ATB therapy also seems to have an impact on the occurrence of shared microorganisms with the same resistance phenotype.

3. Úvod do problematiky

Domácí mazlíčci (DMZ) jsou nedílnou součástí mnoha domácností. Úzký kontakt s člověkem vede k výměně a pravděpodobně i genetické komunikaci mikrobioty. Při dlouhodobém narušování ekologické rovnováhy bakteriálních a kvasinkových kolonizátorů mohou oportunně patogenní mikroorganismy představovat zdravotní problém pro chovatele i pro zvíře (Chomel et Sun 2011).

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

DZM jsou po mnoho let součástí mnoha domácností po celém světě. Kontakt s majitelem vede s velkou pravděpodobností k výměně mikroorganismů, a tedy i k 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 zapříčiněná 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 společného fenotypu 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.

1. Cíle práce

Cílem práce bylo zjistit mikrobiální profil bakteriálních a kvasinkových kolonizátorů kůže a sliznic člověka a DMZ a. Dalším cílem bylo porovnat počty druhů sledovaných mikroorganismů u chovatelů a nechovatelů DMZ a zjistit vliv ATB terapie na mikrobiotu párů (DMZ a chovatel) ze stejné domácnosti. Také zjištění, do jaké míry ovlivňuje intimita kontaktu majitele a DMZ počet sdílených druhů mikroorganismů a jejich případný přenos stejného fenotypu rezistence je významným poznatkem této práce.

2. Materiál a metodika

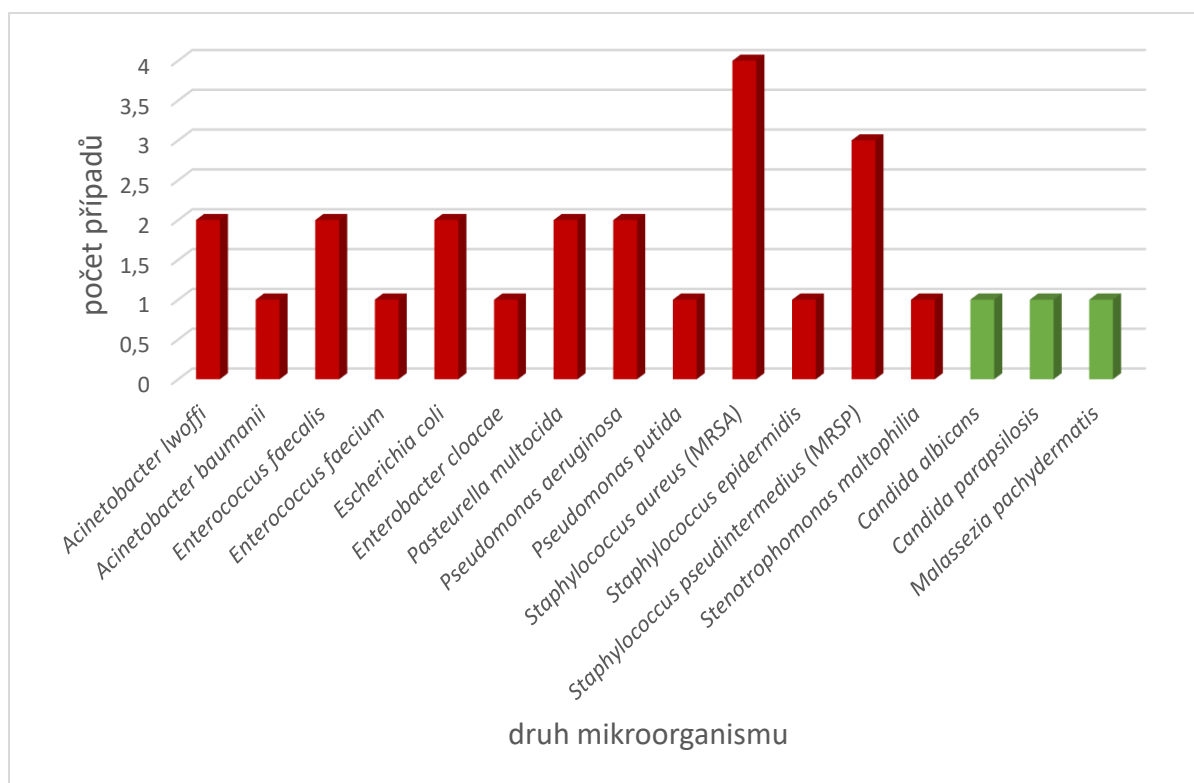
Všechna kulturační a transportní média (Lab Media Servis; Česká republika)

- **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 violeť 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 % defibrinovanou beraní krví (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, Na Cl 5 g, agar 15 g
- **Chromogenní agar pro *Candida* spp. (CHCA):** agar 15 g, pepton 10,2 g, chromogenní mix 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 krví (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
- **Kryobanka pro uchovávání kvasinek (Ittest; Česká republika)**
- **Kryobanka pro uchovávání bakterií (Ittest; Česká republika)**

120 domácností poskytlo celkem 881 vzorků a 80 účastníků KS 320 vzorků. Stěry z nosní sliznice, mezivrstvy nohou, axilární jamky a zvukovodu byly odebrány od 145 majitelů a vzorky nosní sliznice a zvukovodu od 128 DMZ. Všichni majitelé vyplnili dotazník týkající se chovaných zvířat, vztahu k nim a předchozí prodělané ATB terapii. Druhy mikroorganismů byly určovány kulturačními a mikroskopickými metodami v konfirmaci s přístrojem Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, Time Of Flight (MALDI–TOF). Získané izoláty mikroorganismů sdílené chovatelem a DMZ byly testovány difúzní diskovou metodou citlivosti k ATB (u kvasinek ATM). Ty, u nichž byla zjištěna společná rezistence byly uchovány v kryobance při hlubokém zamražení na – 80 °C. Na základě statistických metod byly hodnoceny hypotézy nezávislosti abundance mikrobiálních druhů na míře intimity vztahu majitele a DMZ a vliv předchozí ATB.

3. Výsledky

Pro vyjádření intenzity kontaktu chovatele k domácím mazlíčkovi byla zavedena veličina tzv. kontaktní index (CI) nabývající hodnot 1–8. Dolní kategorie (CI=1–4) značí méně blízký vztah a horní hranice (CI=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 KS 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 nejbohatší 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 mezivrstvy nohou: pro chovatele (n=74) a pro nechovatele (n=40). 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) (**Graf 1**).



Graf 1: Stejné fenotypy ATB rezistencí u sdílených mikrobiálních druhů (chovatel, DMZ)

4. Diskuze

Pro tuto studii poskytl vzorky biologického materiálu 145 chovatelů se 128 DMZ (pes, kočka) ze 120 domácností. Většinu (85,94 %) tvořili psi (n=110). 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 nádoby 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 pozitivního nálezu. Zjištěné druhy bakterií převážně odpovídaly složení běžné mikrobioty 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 1**).

Tabulka 1: Konkrétní případy MRSA pozitivních vzorků

Počet izolátů (n)	Hostitel	Sledovaná skupina
1	člověk	Chovatel
2	člověk	Chovatel
3	člověk	Chovatel
4	člověk	Chovatel
5	člověk	Chovatel
6	pes	DMZ
7	pes	DMZ
8	kočka	DMZ
9	pes	DMZ
10	kočka	DMZ
11	pes	DMZ
12	pes	DMZ
14	člověk	KS
15	člověk	KS
16	člověk	KS
17	člověk	KS
18	člověk	KS
19	člověk	KS
20	člověk	KS
21	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 genotypů. Genotypizací zjistila, že 8 z nich má zvířecí původ, pravděpodobně v důsledku profesionálního přenosu (Neradová 2020).

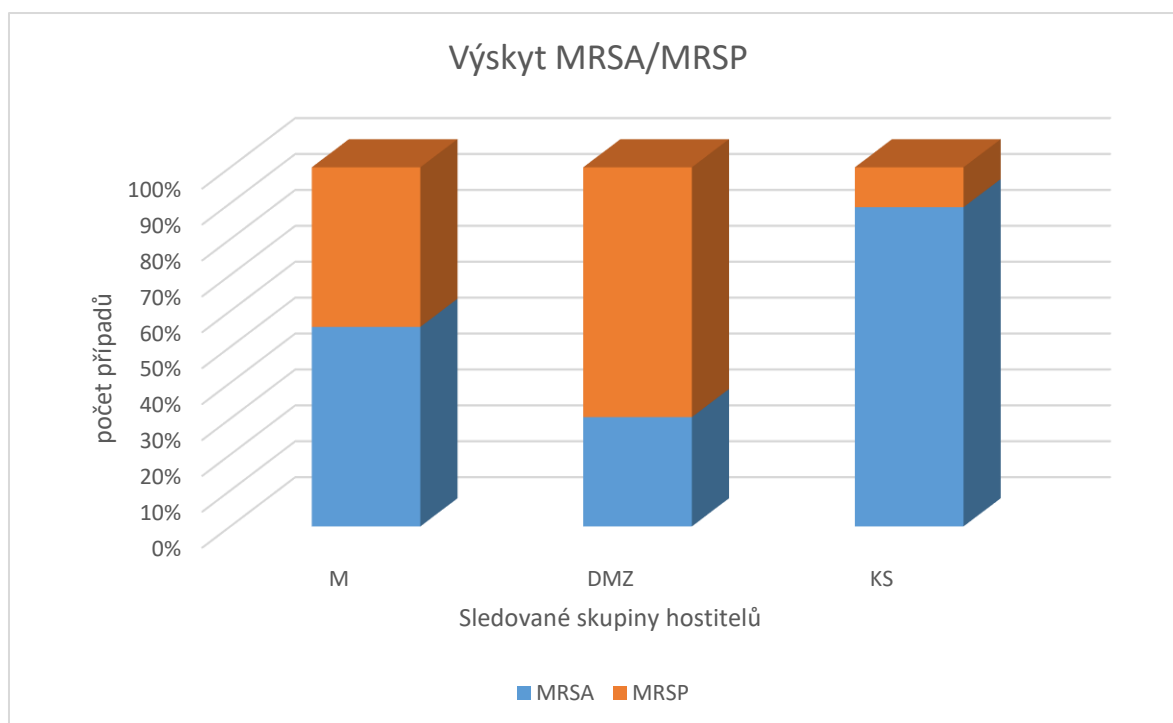
Naše výsledky ukazují, že celkově je *S. aureus* běžnější součástí lidské mikrobioty (n=42) u chovatelů, (n=37) u KS než mikrobioty DMZ (n=16), a proto lze usuzovat, že přenos MRSA se stal původně z člověka na DMZ. U veterinárních lékařů dochází ke každodennímu kontaktu s mnoha DMZ a také s mnoha léčivými,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

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* (n=16).

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. Methicilin rezistentní kmeny *S. pseudintermedius* (MRSP) se vyskytly pouze v nosní sliznici u 4,14 % chovatelů (n=4) a 2,5 % nechovatelů (n=1). V porovnání s MRSA výsledky naznačují, že rezervoárem MRSP je spíše DMZ (**Graf 2**).



Graf 2: Frekvence výskytu MRSP/MRSA u sledovaných skupin hostitelů (M: chovatelé, DMZ: domácí mazlíčci, KS: kontrolní skupina, MRSA: methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*, MRSP: methicilin rezistentní *Staphylococcus pseudintermedius*)

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. Neproklázali 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 2**).

Tabulka 2: 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 (Wipler et al. 2017).

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 i 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 mezprstí nohou chovatelů a v nosní sliznici DMZ. Uživatelé ATB mají podobně jako u kvasinek vyšší druhové spektrum vláknitých hub než ti, co ATB neužívali (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 konkurence 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 KS 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. hematoonkologicky 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 bakteriobioty i mykobioty.

5. Závěry

Tři soubory hostitelů poskytly dostatečné množství vzorků pro zhodnocení možného rizika vyplývajícího z bližšího vztahu chovatele a DMZ. 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. Významným faktorem podporující výskyt druhů se shodným fenotypem rezistence se ukázala předchozí ATB terapie za poslední rok. Užívání ATB také podporovalo druhovou početnost kvasinek u chovatelů i u KS. Naopak u DMZ tento vliv ATB terapie nebyl pozorován.

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 tranzitní, vzhledem ke konkurenční rezidentní mikrobiotě. Naopak expozice antimikrobiálními látkám 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 přehlížené, by se měla používat jako aktivní ochrana proti infekčním chorobám, a tím přispět k celkovému snížení používání ATB jak u zvířat, tak u lidí.

6. Literatura

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.

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.

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):56-68.

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.

Chomel BB et Sun B. Zoonoses in the Bedroom. *Emerging Infectious Diseases.* 2011;17(2):167-172.

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.

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.

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>.

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.

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.

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

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

).

7. Přehled publikační činnosti autora

Původní vědecké práce v impaktovaném časopise

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. Wipler J, Čermáková Z, Buchta V, Žák P, Vlčková M. *Acta Vet Brno* (IF = 0,667) 2023. (Přijato k tisku 15.2.2023)

Inorganic and organic pollutant levels in soil and vegetation of a medium-sized urban area. Bartošová B, Bartošová T, Száková J, Wipler J., Košnář Z, Najmanová J., Tlustoš P. *Pol. J. Environ. Stud.* (IF=1,383) 2021.

Ostatní práce v impaktovaném časopise (především přehledové, metodické, kazuistické)

Fungal keratitis caused by *Colletotrichum dematium* – case study and review. Buchta V., Nekolová J., Jirásková N., Bolehovská R., Wipler J., Hubka V. *Mycopathologia* (IF = 1,476). 2019.

Původní vědecké práce v recenzovaném neimpaktovaném časopise

The sharing of bacterial microbiota between owners and their pets (dogs, cats): Wipler J., Čermáková Z., Hanzálek T., Horáková H., Žemličková H. *Klin Mikrobiol Infekc Lek.* 2017

Pets as a possible source of oportunic mycopatogens with focus on the last antibiotic therapy: Wipler J., Čermáková Z., Hanzálek T., Horáková H., Buchta V. *Klin Mikrobiol Infekc Lek.* 2018.