

**ISPITIVANJE MULTIREZISTENCIJE *E. COLI* I  
*SALMONELLA* KOJE POTIČU OD DOMAĆIH ŽIVOTINJA NA  
ANTIBIOTIKE I HEMIOTERAPEUTIKE\***

**INVESTIGATIONS OF MULTIRESISTANCE TO ANTIBIOTICS AND  
CHEMOTHERAPEUTICS AND EXTENDED SPECTRUM BETA-  
LACTAMASE EFFECT (ESBL TEST) IN STRAINS *E. COLI* AND  
*SALMONELLA* ORIGINATING FROM DOMESTIC ANIMALS**

**D. Mišić, Zorica Stošić, F. Kiškarolj, V. Adamov, Ružica Ašanin\*\***

*Ispitivano je prisustvo multirezistencije na antibiotike i hemioterapeutike i beta laktamaze proširenog spektra delovanja kod 45 sojeva *E. coli* i 35 sojeva *Salmonella*. Sojevi *E. coli* su poticali od više vrsta domaćih životinja: pasa, mačaka, živine i goveda, a 30 sojeva *salmonela* poticalo je od živine, četiri soja od goveda i jedan soj od svinja. Serološkom determinacijom ustanovljeno je prisustvo navedenih serovarijeteta: *Salmonella* Enteritidis 17 sojeva, *Salmonella* Gallinarum 1 soj, *Salmonella* Hartford 5 sojeva, *Salmonella* Anatum 1 soj, *Salmonella* Typhimurium 4 soja, *Salmonella* Agona 1 soj, *Salmonella* Infantis 1 soj, *Salmonella* Thompson var. Berlin 1 soj, *Salmonella* Tennessee 1 soj, *Salmonella* Senftenberg 1 soj, *Salmonella* Glostrup 1 soj i *Salmonella* Hadar 1 soj. Za ispitivanje navedenih sojeva su korišćeni antibiogram diskovi ampicilina, amoksicilina sa klavulanskom kiselinom, cefaleksina, ceftriaksona, cefotaksima, ceftazidima, aztreonama, gentamicina, hloramfenikola, tetraciklina, ciprofloksacina i kombinacija sulfametoksazola i trimetoprima. Najniža prevalencija multirezistencije kod sojeva *E. coli* na tri ili više antibiotika ustanovljena je kod pasa 20 posto, a najviša kod 60 posto sojeva koji potiču od svinja. Kod 62,88 posto sojeva *salmonela* ustanovljena je osetljivost na sve primenjene antibiotike. Rezistencija je utvrđena kod malog broja ispitivanih sojeva i to na*

\* Rad primljen za štampu 16. 3. 2006. godine

\*\* Mr Dušan Mišić, asistent, Katedra za mikrobiologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; dipl. veterinar Zorica Stošić, spec. mikrobiologije, Veterinarski specijalistički institut „Šabac“, Šabac; dipl. veterinar Ferenc Kiškarolj, spec. mikrobiologije, Veterinarski specijalistički institut „Subotica“, Subotica; dipl. veterinar Vladica Adamov, Veterinarski specijalistički institut „Zrenjanin“, Zrenjanin; dr Ružica Ašanin, redovni profesor, Katedra za mikrobiologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

ampicilin (11 sojeva), na tetraciklin (5 sojeva), na amoksisicilin sa klavulanskom kiselinom (5 sojeva) na sulfametoksazol sa trimetoprimom (5 sojeva), na gentamicin (3 soja) i na hloramfenikol (1 soj). Od svih ispitanih sojeva *salmonela*, 6 sojeva koji potiču od živine ispoljilo je multirezistenciju.

Prisustvo beta-laktamaza proširenog spektra delovanja ispitano primenom ESBL testa nije ustanovljeno kod sojeva *E. coli* i *Salmonella*.

**Ključne reči:** *salmonela*, *E.coli*, rezistencija, ESBL test

## Uvod / Introduction

Upotreba antibiotika kod životinja predmet je velike zabrinutosti i straha čovečanstva od pojavljivanja novih multirezistentnih sojeva bakterija potencijalno opasnih po zdravlje ljudi. U lancu ishrane postoji veliki rizik od prenošenja multirezistentnih patogenih uzročnika sa životinja na ljude. Geni rezistencije koji potiču od bakterija iz digestivnog sistema životinja lako mogu da se inkorporišu u genom uzročnika bolesti ljudi. Sve češći su primeri infekcija životinja izazvanih multirezistentnim uzročnicima kod kojih se javlja problem u sprovođenju terapije, a shodno tome nameće se i etičko pitanje da li bolesne životinje uopšte treba da se leči ili neškodljivo uklone.

Prvi slučajevi rezistencije bakterija kao posledice upotrebe antibiotika kod životinja otkriveni su 1959. godine u Velikoj Britaniji kod sojeva *E. coli*. Rezistencija na tetraciklin utvrđena je kod sojeva *E. coli* izolovanih od svinja i to istovremeno na nekoliko različitih i geografski udaljenih farmi. S obzirom da se tetraciklin dodavao stočnoj hani kao promoter rasta bilo je lako da se utvrdi da je razlog ovoj pojavi upravo prisustvo tetraciklina u hranivu. Odmah, tokom šezdesetih godina prošloga veka obavljena su dalja ispitivanja pojavljivanja rezistencije u Velikoj Britaniji kod bakterija i izolovani su sojevi *E. coli* rezistentni na ampicilin i sulfonamide, pored tetraciklina i to kako kod prasadi, tako i kod pilića. Osim toga, ustanovljeno je tada i pojavljivanje rezistencije sojeva *E. coli* koji potiču od svinja i pilića i na farmama na kojima se uopšte nisu dodavali antibiotici u stočnu hranu. Takođe je ustanovljena kontinualna rezistencija na tetraciklin i ampicilin kod sojeva *E.coli* u dužem vremenskom periodu nakon što su ovi antibiotici izbačeni iz upotrebe kao promoteri rasta. Kasnije je ustanovljeno da se rezistencija izrazito lako širi preko drugih vrsta životinja, posebno miševa, mačaka i pasa, ali i preko ljudi koji su prethodno dolazili u dodir sa životinjama nosiocima rezistentnih sojeva *E.coli*.

Danas je poznato da najkasnije tri godine od uvođenja novog antibiotika u lečenje obolelih životinja ili kao promotera rasta nastaje pojavljivanje rezistentnih sojeva bakterija na taj antibiotik. Pri tome se pojava novih oblika rezistencije gotovo uvek otkrije najpre kod *E.coli*. Kako se u svetu obavljaju opsežna ispiti-

vanja prisustva rezistentnih sojeva bakterija kod životinja, u literaturi mogu da se nađu veoma različiti i obimni rezultati koji se odnose na ovu problematiku. Svi oni ukazuju na to da se rezistencija kod *E. coli* i drugih bakterija javlja proporcionalno vrsti i količini antibiotika kojima se tretiraju životinje koje se ispituju.

Za razliku od *E. coli*, najveći broj izolovanih sojeva *Salmonella Enteritidis* koji potiče od ljudi i životinja osetljiv je na većinu antibiotika, odnosno najčešće nema rezistencije. Naime, uzročnik salmoneloze ljudi u najvećem broju slučajeva je *Salmonella Enteritidis* koja potiče od živine. Kako navedeni uzročnik uglavnom ne izaziva kliničke simptome kod inficiranih jedinki, terapijski tretman antibiotcima se ne sprovodi, pa nema selektivnog pritiska i shodno tome i rezistencija na antibiotike retko se javlja kod sojeva *S. Enteritidis*.

Sporadično se, međutim, javljaju epidemije izazvane sojevima *Salmonella* vrsta pojačane virulencije i patogenosti kao što je to bio slučaj sa *S. Typhimurium* DT 204 i DT 193 koji su uzrokovali ozbiljne kliničke simptome kako kod ljudi, tako i kod životinja, tokom nekoliko epidemija u Evropi i SAD-u, od 1963. do 1969. godine, a potom 1977. i 1980. godine. Iz tog razloga, sve inficirane životinje su bile tretirane visokim dozama antibiotika, što je uzrokovalo veliki selektivni pritisak i nastajanje multirezistentnih sojeva *Salmonella Typhimurium*. Iz fecesa goveda je 1994. godine izolovan još jedan multirezistentan soj *S. Typhimurium* DT 104 koji se preko lanca ishrane proširio na populaciju ljudi i izazvao nekoliko ozbiljnih epidemija skoro istovremeno u Kanadi, SAD-u i zemljama Evropske unije. Soj karakteriše rezistencija na ampicilin, hloramfenikol, streptomycin, tetraciklin i kanamicin, a rezervoari su bile ovce, koze, svinje, telad, živina, pa čak i konji. Zbog nemogućnosti izlječenja ljudi navedenim antibioticima, u terapiji su primenjivani ciprofloksacin i kombinacija sulfametoksazola i trimetoprima. Međutim, došlo je do razvoja rezistencije i na ove antibiotike i hemioterapeutike tako da kada se 1998. godine epidemija proširila i na Dansku, oboleli ljudi nisu mogli da se izleče postojećim antibioticima, zbog čega se i dogodilo nekoliko smrtnih slučajeva. Ispitivanjem je otkriveno da su rezervoar infekcije u Danskoj bile svinje, a *Salmonella Typhimurium* DT 104 se ističe kao jedan od školskih primera posledica upotrebe antibiotika kao promotera rasta kod životinja. I pored toga pojavljivanje rezistentnih sojeva salmonela je vrlo retko i ove bakterije se svrstavaju u „antibiotik predvidive“ bakterije.

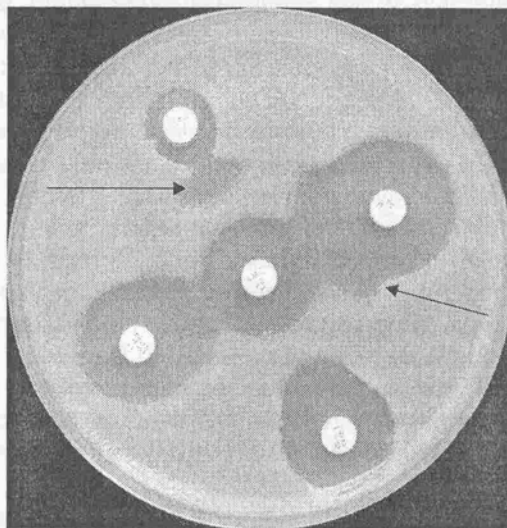
Bez obzira na navedene činjenice, u poslednjih nekoliko godina, otkriveni su sojevi bakterija sa skrivenim mehanizmom rezistencije, odnosno sojevi koji stvaraju beta-laktamaze proširenog spektra delovanja, skraćeno BLPS (ili ESBL od engleskog izraza „extended spectrum beta-lactamases“). Ove enzime proizvode bakterije iz porodice *Enterobacteriaceae*, najčešće *Klebsiella pneumoniae*, mada su nađeni i kod skoro svih enterobakterija, uključujući *E. coli* i *Salmonella* vrste.

Sojevi koji stvaraju BLPS, otporni su na sve beta-laktamske antibiotike izuzev karbapenema i u nekim slučajevima cefamicina. Pošto se standardnim disk difuzionim testom po Kirby Baueru koji se koristi u rutinskom ispitivanju oset-

Ijivosti bakterija na antibiotike ovaj mehanizam ne može da otkrije, predloženo je više pomoćnih metoda za njegovo otkrivanje. Sojevi bakterija koji stvaraju BLPS delovanja ispitane disk difuzionim testom mogu da budu osetljivi na peniciline, cefalosporine i aztreonam, dok u uslovima *in vivo* navedeni sojevi pokazuju rezistenciju na ove antibiotike. Ovaj test je posebno značajan u humanoj medicini, zato što u slučaju da se en otkrije BLPS delovanje može da se dovede u pitanje život pacijenata inficiranih ovim sojevima.

Produkcija BLPS se dokazuje dvostrukim disk difuzionim testom (ESBL testom) ili takozvanim „produženim antibiogramom” na osnovu sinergizma između amoksicilina sa klavulanskom kiselinom i nekog od cefalosporina III generacije, najčešće cefotaksima i ceftazidima. Kada je zona inhibicije oko ceftazidima ili cefotaksima proširena na strani amoksicilina sa klavulanskom kiselinom, zaključuje se da soj stvara BLPS (slika 1).

pozitivni sojevi BLPS proglašavaju se rezistentnim na sve peniciline i cefalosporine i pored njihove eventualne osetljivosti na ove antibiotike koja je utvrđena primenom disk difuzionog testa.



Slika 1. Izgled pozitivnog ESBL testa  
Figure 1. Positive ESBL test

**Objašnjenje / Explanation.** Na slici može da se vidi da su oko diska amoksicilina sa klavulanskom kiselinom postavljeni ceftazidim, cefotaksim, ceftriakson i aztreonam. Zone inhibicije rasta bakterije oko svih postavljenih antibiotika proširene su na strani amoksicilina sa klavulanskom kiselinom. Proširenje je naročito izraženo kod diskova aztreonama i cefotaksima.

Prvi prijavljeni slučajevi izolovanja sojeva *S. Enteritidis* iz organizma obolelih ljudi koji su proizvodili  $\beta$ -laktamaze proširenog spektra datiraju početkom osamdesetih godina prošloga veka i sve do sredine devedesetih godina vesti o novim ESBL pozitivnim sojevima *Salmonella* stizale su isključivo iz SAD-a. Prvi ustanovljeni slučajevi izolacije ESBL sojeva salmonela iz organizma obolelih ljudi u Evropi i Africi datiraju iz 1995. godine, a izveštaji o otkrivenim ESBL sojevima salmonela kao i drugih enterobakterija kod životinja počeli su da pristižu tek krajem devedesetih godina prošloga veka i početkom ovoga veka. Značaj ispitivanja prisustva BLPS pozitivnih sojeva *E. coli* i *Salmonella* kod životinja ogleda se u mogućnosti transfera gena odgovornih za produkciju beta-laktamaza proširenog spektra delovanja sa ovih sojeva na patogene uzročnike bolesti ljudi.

#### **Materijal i metode rada / Materials and methods**

Ispitivanje prisustva multirezistencije na antibiotike i beta-laktamaze proširenog spektra delovanja izvedeno je na sojevima *E. coli* i *Salmonella*, koji potiču od pasa, mačaka, goveda, svinja i živine. Ispitivani sojevi bakterija poreklom od pasa i mačaka izolovani su kako od zdravih, tako i bolesnih jedinki različitih rasa i starosnih kategorija i to iz uzoraka fecesa, vaginalnih briseva, urina, briseva očiju, ušiju i kože. Izolacija je obavljena iz kliničkog materijala dostavljenog u laboratoriju u periodu od 2004. do 2005. godine. Ispitivani sojevi bakterija koji potiču od goveda, svinja i živine izolovani su iz uzoraka fecesa zdravih jedinki različitih starosnih kategorija, zatim od jedinki mlađih kategorija koje su imale dija-reju, kao i iz uzoraka unutrašnjih organa uginulih jedinki. Određeni broj sojeva iz rodova *Salmonella spp.* i *Escherichia spp.* uključenih u ispitivanje predstavljali su izolate iz kliničkih materijala dostavljenih zahvaljujući kolegama iz specijalističkih veterinarskih instituta Srbije.

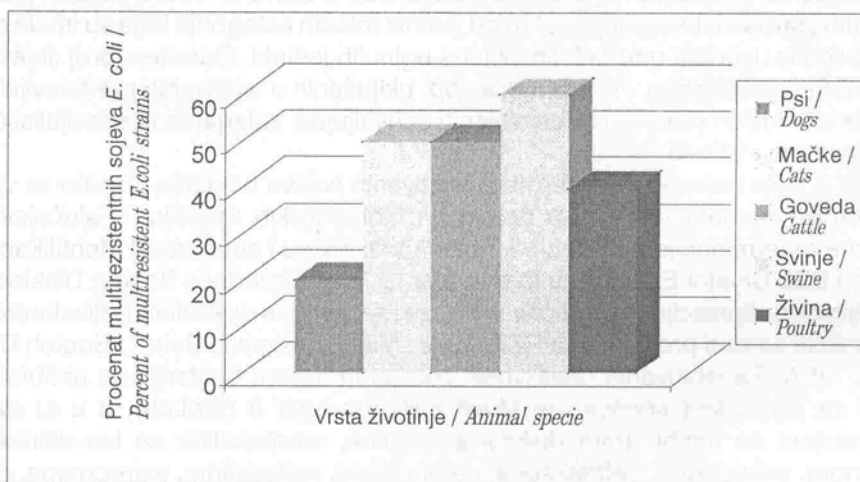
Za izolaciju i identifikaciju ispitivanih sojeva bakterija koristio se veliki broj konvencionalnih hranljivih podloga i biohemijskih reakcija. U slučajevima otežane determinacije određenih sojeva, korišćeni su i automatski identifikacioni sistemi BBL Crystal Enteric/nonfermenter ID Kit proizvođača Becton Dickinson. Za serološku tipizaciju *Salmonella* vrsta upotrebljeni su specifični polivalentni dijagnostički serumi proizvođača RZZ Srbije „Milan Jovanović Batut” i Becton Dickinson, USA. Za ispitivanje osetljivosti izolovanih sojeva bakterija na antibiotike, kao i za ESBL test korišćen je Mueller Hinton agar II (BioLab), a u tu svrhu upotrebljeni su antibiogram diskovi ampicilina, amoksicilina sa klavulanskom kiselinom, cefaleksina, ceftriaksona, cefotaksima, ceftazidima, aztreonama, gentamicina, hloramfenikola, tetraciklina, ciprofloksacina i kombinacija sulfametoksazola i trimetoprima (Becton Dickinson, USA). Izolacija i identifikacija sojeva *E.coli* i *Salmonella* obavljene su primenom klasičnih mikrobioloških metoda. Osetljivost na antibiotike ispitana je disk difuzionom metodom po Kirby Baueru.

S obzirom da ne postoji optimalna metoda za ispitivanje BLPS pozitivnih sojeva enterobakterija, primenjen je pomoćni ESBL test prema preporukama NCCLS (američki Nacionalni komitet za kliničke laboratorijske standarde) iz 2004. godine. Ovaj test se izvodi tako što se disk amoksicilina sa klavulanskom kiselinom postavi u sredinu MH agara, a na 3 cm udaljenosti od ovog diska postavljaju se diskovi ceftazidima i cefotaksima. Posle inkubacije od 18 časova na temperaturi od 35°C do 37°C izvodi se očitavanje i procenjivanje dobijenih rezultata.

### Rezultati / Results

Ukupno je ispitano 45 sojeva *E. coli* i to 10 koji potiču od svinja, 9 od pasa, 6 od mačaka, 10 od živine i 10 od goveda. Izbor antibiotika bazirao se najčešće na preparatima koji se najčešće koriste, koji su registrovani za upotrebu u veterini u našoj zemlji, ali se takođe vodilo računa i o tome da se upotrebljeni antibiotici nalaze na listi za lečenje infekcija izazvanih enterobakterijama na osnovu preporuka NCCLS iz 2004. godine. Svi sojevi koji su bili rezistentni na tri ili više antibiotika, kategorizovani su kao „multirezistentni“.

Najniža prevalencija multirezistencije na tri ili više antibiotika kod sojeva *E. coli* koji potiču od pasa ustanovljena je kod 20 posto sojeva, dok je multirezistencija ustanovljena kod 60 posto sojeva *E. coli* koji potiču od svinja (tabela 1 i grafikon 1).



Grafikon 1. Prevalencija multirezistentnih sojeva *E. coli* koji potiču od domaćih životinja / Graph 1. Prevalence of multiresistant strains of *E.coli* originating from domestic animals

Tabela 1. Procenat multirezistentnih sojeva *E. coli* u odnosu na ukupan broj ispitanih sojeva  
 Table 1. Percent of multiresistant strains of *E. coli* against total number of examined strains

Vrsta životinje <i>Animal specie</i>	Procenat multirezistentnih sojeva <i>E. coli</i> / Percent of multiresistant strains of <i>E. coli</i>	Rezistencija na 3 antibiotika / <i>Resistance to 3 antibiotics,</i> %	Rezistencija na 4 antibiotika / <i>Resistance to 4 antibiotics,</i> %	Rezistencija na 5 antibiotika / <i>Resistance to 5 antibiotics,</i> %	Rezistencija na 6 antibiotika / <i>Resistance to 6 antibiotics,</i> %	Rezistencija na 7 antibiotika / <i>Resistance to 7 antibiotics,</i> %	Rezistencija na 8 antibiotika / <i>Resistance to 8 antibiotics,</i> %
Psi / <i>Dogs</i>	20	0	10	0	0	0	10
Mačke / <i>Cats</i>	50	0	0	16	34	0	0
Goveda / <i>Cattle</i>	50	10	20	20	0	0	0
Svinje / <i>Swine</i>	60	40	20	0	0	0	0
Žvina / <i>Poultry</i>	40	20	10	10	0	0	0

Ispitivanje salmonela obuhvatilo je ukupno 35 sojeva i to 30 koji potiču od živine, četiri od goveda i jedan od svinja. Serološkom determinacijom ustanovljeno je prisustvo navedenih serovarijeteta: *Salmonella Enteritidis* 17 sojeva, *Salmonella Gallinarum* 1 soj, *Salmonella Hartford* 5 sojeva, *Salmonella Anatum* 1 soj, *Salmonella Typhimurium* 4 soja, *Salmonella Agona* 1 soj, *Salmonella Infantis* 1 soj, *Salmonella Thompson* var. Berlin 1 soj, *Salmonella Tennessee* 1 soj, *Salmonella Senftenberg* 1 soj, *Salmonella Glostrup* 1 soj, *Salmonella Hadar* 1 soj.

Od svih ispitanih sojeva salmonela kod 62, 88 posto ustanovljena je osetljivost na sve primenjene antibiotike. Rezistencija je utvrđena kod malog broja ispitivanih sojeva na ampicilin (11 sojeva), na tetraciklin (5 sojeva), na amoksicilin sa klavulanskom kiselinom (5 sojeva), na sulfametoksazol sa trimetoprimom (5 sojeva), na gentamicin (3 soja) i na hloramfenikol (1 soj). Od svih ispitanih sojeva salmonela, samo kod 6 sojeva (17,15%) utvrđena je multirezistencija i svi su poticali od živine.

Primenom ESBL testa nije ustanovljeno prisustvo beta-laktamaza proširenog spektra delovanja ni kod jednog od ispitivanih sojeva *E.coli* i *Salmonella*.

#### **Diskusija / Discussion**

Što se tiče prevalencije rezistentnih sojeva salmonela, rezultati ovog istraživanja delimično se uklapaju u rezultate mnogih istraživanja vezanih za rezistenciju salmonela sprovedenih u različitim regionima u svetu. Tako, prema rezultatima desetogodišnjeg istraživanja sprovedenog u Hong Kongu od 1986. godine do 1996. godine, čak 99 posto ispitanih sojeva *Salmonella Enteritidis* koji potiču od ljudi i živine bilo je osetljivo na skoro sve ispitivane antibiotike (17 do 19). Međutim, u Grčkoj su 1997. godine izolovani multirezistentni sojevi *S. Enteritidis* koji potiču od obolelih ljudi, rezistentni na 10 antibiotika u jednom slučaju i na 13 antibiotika u drugom, uključujući i ciprofloksacin u oba slučaja.

U našem istraživanju, multirezistencija na tri antibiotika bila je otkrivena samo kod četiri soja *S. Enteritidis* koja potiču od živine i 1 soja *S. Hartford* koji takođe potiče od živine, a multipna rezistencija na četiri antibiotika ustanovljena je samo kod jednog soja *S. Glostrup*. Ispitivanjem su bila obuhvaćena i četiri soja *S. Typhimurium* koja potiču od živine sa različitih epizootioloških područja, ali kod ovih sojeva nije ustanovljena rezistencija na antibiotike.

U poslednjih nekoliko godina naročito se povećalo interesovanje za otkrivanjem i proučavanjem sojeva *Salmonella* vrsta koji su rezistentni na fluorohinolone. Smatra se da je rezistencija bakterija iz ovog roda na ciprofloksacin i druge fluorohinolone izrazito opasna pojava, zato što su takvi sojevi uglavnom rezistentni i na skoro sve ostale antibiotike, pa je mogućnost terapije infekcija izazvanih ovim sojevima minimalna ili čak i ne postoji.



Kako je već prethodno naglašeno, u ovom istraživanju nisu otkriveni sojevi *E. coli* i *Salmonella* vrsta koji su proizvodili beta-laktamaze proširenog spektra delovanja (ESBL), što nije neobično s obzirom da je nalaz ovakvih sojeva bakterija kod životinja još uvek retkost.

#### Zaključak / Conclusion

Upoređivanjem rezultata dobijenih u našim ranijim istraživanjima, kao i rezultata drugih autora sa rezultatima ovog istraživanja, može da se zaključi da je povećano prisustvo multirezistentnih sojeva iz roda *Escherichia*. Prevalencija rezistentnih i multirezistentnih sojeva *Salmonella* koji potiču od životinja, još uvek je relativno niska i bakterije iz ovog roda se u najvećem broju slučajeva mogu i dalje da smatraju „antibiotik predvidim“ bakterijama.

#### Literatura / References

1. Ašanin R., Krnjaić D., Mišić D.: Ispitivanje rezistencije izolovanih sojeva *E.coli* od teladi i svinja na antimikrobna sredstva. Veterinarski glasnik, 58, 5-6, 607-617, 2004. - 2. Ašanin R., Mišić D., Krnjaić D.: Značaj monitoringa rezistencije bakterija na antimikrobna sredstva, Tehnologija mesa, 46, 1-2, 75-80, 2005. - 3. Babak V., Schlegelova J., Vlkova H.: Interpretation of the results of antimicrobial susceptibility analysis of *Escherichia coli* isolates from bovine milk, meat and associated foodstuffs. Food Microbiology, 22, 353-358, 2005. - 4. Barton D. Mary: Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. Nutrition Research Reviews, 13, 279-299, 2000. - 5. Bywater J. R.: Veterinary use of antimicrobials and emergence of resistance in zoonotic and sentinel bacteria in the EU. Journal of Veterinary Medicine, 51, 361-363, 2004. - 6. Caprioli A., et al.: Monitoring of antibiotic resistance in bacteria of animal origin: epidemiological and microbiological methodologies. International Journal of Antimicrobial Agents, 14, 295-301, 2000. - 7. Catry B. et al.: Antimicrobial resistance in livestock. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapy, 26, 81-93, 2003. - 8. Hariharan H., Coles M., Poole D., Page R.: Antibiotic resistance among enterotoxigenic *Escherichia coli* from piglets and calves with diarrhea. Canadian Veterinary Journal, 45, 605-606, 2004. - 9. Jezdimirović B. Milanka: Veterinarska Farmakologija, treće dopunjeno i prerađeno izdanje. Elit-Medica, Beograd, 2005. - 10. Krnjaić D.: Ispitivanje rezistencije bakterija izolovanih od domaćih životinja prema hemoterapijskim sredstvima. Doktorska disertacija, 2000. - 11. Krnjaić D., Ašanin R.: Odgovorna primena antimikrobnih sredstava kod domaćih životinja. Zbornik Radova Clinica Veterinaria 2001, 96-100, 2001. - 12. Krnjaić D., Mišić D., Ašanin R.: Investigation of sensitivity and resistance to antibiotics and chemotherapeutics in *E. coli* strains isolated from animals bred in intensive farming conditions. Acta Veterinaria, 55, 5-6, 501-509, 2005. - 13. Ling J. M., et al.: Antimicrobial susceptibilities and molecular epidemiology of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis strains isolated in Hong Kong from 1986. to 1996. Journal of Clinical Microbiology, 36, 6, 1693-1699, 1998. - 14. Mirović V.: Antibiotici i osnovni principi njihove kliničke primene. Čigoja štampa, Beograd, 2003. - 15. Nastasi A., Mammia C.: Surveillance of multidrug - resistant strains of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in southern Italy in the years 1992-1997. European Journal of Epidemiology, 16, 135-139, 2000. - 16. Rodrigue C. D. et al.: Comparison of plasmid profiles, phage types and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella enteritidis* isolates in the United States. Journal of Clinical Microbiology, 30, 4, 854-

857, 1992. - 17. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fourteenth informational supplement, 2004. - 18. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Tests; Approved standard. Eighth edition, 2004. - 19. Walsh C.: Antibiotics: actions, origins, resistance. American Society for Microbiology Press, 2003.

ENGLISH

**INVESTIGATIONS OF MULTIRESTANCE TO ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPEUTICS AND EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE EFFECT (ESBL TEST) IN STRAINS *E. COLI* AND *SALMONELLA* ORIGINATING FROM DOMESTIC ANIMALS**

**D. Misić, Zorica Stosić, F. Kiskarolj, V. Adamov, Ruzica Asanin**

The presence of multiresistance to the effects of antibiotics and chemotherapeutics and extended spectrum beta-lactamase were examined in 45 strains of *E. coli* and 35 strains of *Salmonella*. The strains of *E. coli* originated from several species of domestic animals: dogs, cats, poultry, and cattle, and 30 strains of *Salmonella* originated from poultry, 4 strains from cattle, and 1 strain from swine. The presence of the following serovarieties was established using serological examinations: *Salmonella Enteritidis* 17 strains, *Salmonella Gallinarum* 1 strain, *Salmonella Hartford* 5 strains, *Salmonella Anatum* 1 strain, *Salmonella Typhimurium* 4 strains, *Salmonella Agona* 1 strain, *Salmonella Infantis* 1 strain, *Salmonella Thompson* var. Berlin 1 strain, *Salmonella Tennessee* 1 strain, *Salmonella Senftenberg* 1 strain, *Salmonella Glostrup* 1 strain, and *Salmonella Hadar* 1 strain. In the examinations of the listed strains we used antibiogram discs of ampicillin, amoxicillin with clavulanic acid, cephalexin, cephtriaxon, cephotaxim, ceftazidime, aztreonam, gentamycin, chloramphenicol, tetracycline, cyprofloxacin, and a combination of sulphamethoxazole and trimethoprim. The lowest prevalence of multiresistance in *E. Coli* strains to 3 or more antibiotics was established in dogs 20%, and the highest in 60% strains originating from swine. In 62.88% strains of *Salmonella* we established sensitivity to all applied antibiotics. Resistance was also established in a small number of the examined strains to ampicillin (11 strains), to tetracycline (5 strains), to amoxicillin with clavulanic acid (5 strains), to sulphamethoxazole with trimethoprim (5 strains), to gentamycin (3 strains), and to chloramphenicol (1 strain). Of all the examined strains of *Salmonella*, 6 strains originating from poultry exhibited multiresistance.

The presence of extended spectrum beta-lactamase effects examined using the ESBL test, was not established in strains of *E. coli* and *Salmonella* strains.

**Key words:** *Salmonella*, *E. coli*, resistance, ESBL test.

**ИСПЫТАНИЕ МУЛЬТИСОПРОТИВЛЕНИЯ НА АНТИБИОТИКА И ХИМИОТЕРАПЕВТИКИ И БЕТА ЛАКТАМАЗЫ РАСШИРЕННОГО СПЕКТРА ВЛИЯНИЯ (*ESBL* ТЕСТ) У ШТАММОВ *E. COLI* И САЛЬМОНЕЛЛ ПРОИСХОЖДЕНИЕМ ОТ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ**

**Д. Мишич, Зорица Стошич, Ф. Кишкароль, В. Адамов, Ружица Ашанин**

Нами испытано присутствие мультисопротивления на антибиотики и химиотерапевтики и бета лактамазы расширенного спектра влияния у 45 штаммов *E. coli* и 35 штаммов Сальмонелл. Шаммы *E. coli* происходили из бoльшие видов домашних животных: собак, кошек, домашних птиц и крупного рогатого скота, а 30 штаммов сальмонелл происходили из домашних птиц, 4 штамма из крупного рогатого скота и 1 штамм из свиней. Серологической детерминацией установлено нами присутствие следующих серовариететов: *Salmonella Enteritidis* 17 штаммов, *Salmonella Gallinarum* 1 штамм, *Salmonella Hartford* 5 штаммов, *Salmonella Anatum* 1 штамм, *Salmonella Typhimurium* 4 штамма, *Salmonella Agona* 1 штамм, *Salmonella Infantis* 1 штамм, *Salmonella Thompson* var. Berlin 1 штамм, *Salmonella Tennessee* 1 штамм, *Salmonella Senftenberg* 1 штамм, *Salmonella Glostrup* 1 штамм, and *Salmonella Hadar* 1 штамм. Для испытания приведённых штаммов пользованы антибиотикограмма диски ампициллина, амоксициллина с клавулановой кислотой, цефалексина, цефтриаксона, цефотаксина, цефтазидима, азтроенама, гентамицина, хлорамфеникола, тетрациклина, ципрофлоксацина и комбинация сульфаметоксазоля и триметроприма. Наиболее низкое пробладание мультисопротивления у штаммов *E. coli* на 3 или бoльше антибиотиков установлено нами у собак 20%, наибольшая у 60% штаммов происхождением от свиней. У 62,88% штаммов сальмонелл установлена нами чувствительность на все применённые антибиотики. Сопротивление утверждено нами у маленького числа испытанных штаммов а именно на ампициллин (11 штаммов) на тетрациклин (5 штаммов), на амоксициллин с клавулановой кислотой (5 штаммов) на сульфаметоксазол с триметопримом (5 штаммов), на гентамицин (3 штаммаа) и хлорамфеникол (1 штамм). Из всех испытанных штаммов сальмонелл, 6 штаммов происхождением из домашних птиц проявили мультисопротивление.

Писутствие бета-лактомазы расширенного спектра влияния, испытанного применением *ESBL* теста на установлено нами у штаммов *E. coli* и Сальмонелл.

Ключевые слова: Сальмонелла, *E. coli*, сопротивление, *ESBL* тест