

SNEŽANA B. BULAJIĆ
ZORA M. MIJAČEVIĆ

Univerzitet u Beogradu,
Fakultet veterinarske medicine

PREGLEDNI RAD

UDK: 579.67:574.826:577.18

FENOMEN REZISTENCIJE NA ANTIBIOTIKE KOD BAKTERIJA MLEČNE KISELINE

Rezistencija na antibiotike predstavlja ekološki problem uslovljen, najvećim delom, primenom enormnih količina antibiotika u humanoj i veterinarskoj medicini. U sadašnje vreme, interesovanje naučne javnosti pobuđuje činjenica da populacija komenzalnih bakterija, kao što su bakterije mlečne kiseline i bifidobakterije mogu predstavljati rezervoar gena rezistencije na antibiotike. Svojstvo rezistencije se može preneti putem mehanizama horizontalnog transfera gena na patogene i oportunističke mikroorganizme bilo tokom procesa proizvodnje ili tokom pasaže kroz gastrointestinalni trakt. Determinante rezistencije odgovorne za rezistenciju na nekoliko antibiotika (hloramfenikol, eritromicin, streptomycin, tetraciklin i vankomicin) lokalizovane na prenosivim genetskim elementima utvrđene su kod bakterija mlečne kiseline. Rad izveštava o profilima rezistencije na antibiotike kod nekoliko vrsta bakterija mlečne kiseline, uključujući laktobacile, laktokoke, enterokoke, bifidobakterije, leukonostok vrste i *Str. Thermophilus*.

Ključne reči: rezistencija na antibiotike · bakterije mlečne kiseline

UVOD

U današnje vreme mnogi istraživači ističu hipotezu o tome da komenzalne bakterije, pre svega bakterije mlečne kiseline, mogu predstavljati rezervoar gena rezistencije na antibiotike (Perreten i sar., 1997a; Levy i Salyers, 2002). Upravo iz ovog razloga, populacija komenzala je veoma značajna u spoznavanju mehanizama perzistencije i širenja gena rezistencije u mikrobnom svetu (Levy i Miller, 1989). Takvi „rezervoar“ organizmi se mogu naći u različitim namirnicama, pre svega fermentisanim proizvodima od mleka i mesa koji su u velikom broju opterećeni nepatogenom mikroflorom kao rezultat njihovog prirodnog procesa proizvodnje.

Prema ovoj teoriji, lanac hrane se može smatrati jednim od glavnih puteva transmisije rezistentnih bakterija između populacije ljudi i životinja (Witte, 1997). Pre svega, fermentisani proizvodi od mleka i mesa, koji nisu termički tretirani, predstavljaju sredstvo prenosa rezistentnih bakterija i time postoji direktna povezanost između indogene mikroflora životinja i gastrointestinalnog trakta ljudi. Projekt pod imenom „rezervoari antibiotičke rezistencije“ (Levy i Salyers, 2002) postavljen je još daleke 1998. godine u cilju promovisanja studija o selekciji i diseminaciji nepatogenih bakterija rezistentnih na antibiotike kod ljudi, tokom procesa proizvodnje hrane, kao i u neposrednom okruženju. Iako mnoge bakterije mlečne kiseline, uključene u procese fermentacije namirnica imaju „*Generally Regarded As Safe* (GRAS)“ status, potencijalan rizik po zdravlje ljudi usled transfera gena re-

zistencije od tzv. „rezervoar“ sojeva bakterija mlečne kiseline na bakterije koje predstavljaju rezidentnu populaciju gastrointestinalnog trakta ljudi, još nije u potpunosti definisan.

Neophodno je praviti razliku između prirodne („intrinzič“) i stečene (prenosive) rezistencije. Rezistencija na dati antibiotik može biti intrinzična u odnosu na bakterijsku vrstu ili rod (prirodna rezistencija), a karakteriše se sposobnošću jednog organizma da preživi u prisustvu određenog antimikrobnog agensa, usled urođene karakteristike rezistencije. Intrinzična rezistencija se ne prenosi horizontalno. Suprotno ovom tipu, stečena rezistencija je karakteristika pojedinih sojeva unutar vrste obično osetljive na primenjeni antibiotik, i može se horizontalnim putem prenositi među bakterijama. Stečena rezistencija na određeni antimikrobni agens proizlazi bilo iz mutacije u genomu bakterije ili usled sticanja dodatnih gena koji kodiraju mehanizam rezistencije. Ovakve genetske promene pojačavaju odbrambenu sposobnost bakterija. Rezistencija se vrlo verovatno razvila daleko pre kliničke primene antibiotika. Geni rezistencije mogu voditi poreklo od mikroorganizama, prirodnih producenata antimikrobnih materija, koji su snabdeveni dotičnim genima u cilju samozaštite (Davies, 1997). Drugi potencijalni izvor gena rezistencije mogu predstavljati geni čiji produkti imaju ulogu u metabolizmu bakterija. Takvi geni su mogli biti izloženi „pametnim“ mutacijama, koje su izmenile spektar supstrata (po mutaciji supstrat predstavlja antibiotik u odnosu na pređašnje supstrate biosintetičkih ili biodegradativnih puteva).

Adresa autora:
Dr Snežana Bulajić, Univerzitet u Beogradu,
Fakultet veterinarske medicine
Bulevar oslobođenja 18, 11 000 Beograd
tel.: +381 11 2685 653
snezab@vet.bg.ac.yu

Stečena rezistencija na antibiotike predstavlja karakteristiku pre svega onih mikroorganizama, čiji primarni habitati podrazumevaju sredine permanentno izložene opterećenju usled kontinuirane primene antibiotika (intestinum ljudi i životinja) (Teuber i sar., 1999). Profili rezistencije na antibiotike kod bakterija koje predstavljaju komensalnu mikrofloru nekog ekosistema, npr. bakterije mlečne kiseline, indikatori su selektivnog pritiska koji dotični mikroorganizmi podnose u uslovima kontaminacije habitata antimikrobnim sredstvima. Sirovo mleko i meso kontaminira se tokom proizvodnje fekalnim materijalom, gde se mogu naći i bakterije mlečne kiseline rezistentne na antibiotike. Na taj način geni rezistencije bivaju preneseni u krajnje proizvode, pre svega sireve proizvedene od sirovog mleka i fermentisane kobasice. Kako molekularna analiza gena rezistencije lokalizovanih na plazmidima i transpozonima pokazuje identične genetske elemente kod ljudi i životinja, čini se mogućim da namirnice animalnog porekla služe kao sredstvo prenošenja rezistentnih bakterija, odnosno determinanti rezistencije na antibiotike. Naučna javnost poslednjih godina pokušava odgovoriti na pitanje: „Da li komenzalne bakterije iz namirnica mogu preneti gene rezistencije na indogenu mikrofloru ljudi tokom tranzita u intestinum?“

Rezistencija na antibiotike kod bakterija mlečne kiseline

Veliki broj bakterija mlečne kiseline prisutan u fermentisanim proizvodima sasvim sigurno pomaže u ostva-

riivanju različitih mehanizama rezistencija na antibiotike putem mutacija. Dodatno, bakterije mlečne kiseline su opskrbljene mobilnim genetskim elementima, pre svega plazmidima i transpozonima, koji promovišu horizontalan transfer i diseminaciju gena rezistencije. Po usvajanju svojstva rezistencije, determinante rezistencije se amplifikuju i mogu predati drugom domaćinu. Iz ovih razloga, sasvim je opravdan zahtev da se starter i probiotski sojevi bakterija mlečne kiseline ispituju na svojstvo prenosive rezistencije na antibiotike, pored potrebe za njihovom kompletnom fiziološkom i tehnološkom karakterizacijom. Od vitalnog značaja jeste jasno definisanje graničnih vrednosti na osnovu kojih se vrši kategorizacija na rezistentne i osetljive sojeve. Posebnu vrednost ima razlikovanje intrinzične (nespecifične, neprenosive) i stečene rezistencije, postupak koji zahteva poređenje profila antimikrobne rezistencije velikog broja bakterija mlečne kiseline poreklom iz različitih izvora (Teuber i sar., 1999). Uz tradicionalne kliničke granične vrednosti od pomoći kliničarima u odabiru efikasnog antibiotika, predstavljen je i koncept mikrobioloških graničnih vrednosti, i to na osnovu proučavanja distribucije minimalnih inhibičkih koncentracija na dati antibiotik u određenoj populaciji bakterija (Ollson-Liljequist i sar., 1997). Prema datom konceptu, onaj deo populacije koji pokazuje jasno odstupanje od osetljive većine smatra se rezistentnim delom populacije, odnosno delom populacije sa stečenom i potencijalno prenosivom rezistencijom. U tabeli 1. dat je prikaz mikrobioloških graničnih

vrednosti na osnovu kojih se pojedine vrste bakterija mlečne kiseline kategorizuju kao rezistentne. Definisane granične vrednosti trebalo bi smatrati pragmatičnim odgovorom na postojeći prolem razdvajanja sojeva sa stečenom rezistencijom od osetljivih sojeva.

Profili rezistencije na antibiotike kod BMK

Profili rezistencije na antibiotike kod *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium* i *Propionibacterium* vrsta su sasvim različiti, iako se ne zapažaju jasno odvojeni, po vrstu specifični profili rezistencije. S jedne strane, većina vrsta je rezistentna na metronidazol (MIC ≥ 256 $\mu\text{g/ml}$) i trimetoprim (MIC ≥ 30 $\mu\text{g/ml}$) (Charteris i sar., 1998b; Katla i sar., 2001). Ovi organizmi imaju ograničenu biosintetičku sposobnost i ne poseduju metabolički put sinteze folne kiseline, te se smatraju intrinzično rezistentnim na ove agense (Katla i sar., 2001). S druge strane, bakterije mlečne kiseline i bifidobakterije su osetljive na piperacilin i piperacilin plus tazobaktam (MIC ≤ 16 $\mu\text{g/ml}$) (Delgado i sar., 2005; Florez i sar., 2005; Moubareck i sar., 2005). *Lactobacillus*, *Lactococcus* i *Leuconostoc* vrste pokazuju rezistenciju visokog nivoa na cefoksitin (MIC ≥ 30 $\mu\text{g/ml}$) (Charteris i sar., 1998b; Delgado i sar., 2005; Florez i sar., 2005). Većina laktobacila, pediokokka i *Leuconostoc* vrsta je rezistentna na visoke koncentracije vankomicina (MIC ≥ 256 $\mu\text{g/ml}$), dok je većina laktokoka veoma osetljiva na isti antibiotik (MIC ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$)

Tabela 1. MIKROBIOLOŠKE GRANIČNE VREDNOSTI ZA MIC ($\mu\text{g/ml}$) ZA POJEDINE BAKTERIJE MLEČNE KISELINE
Table 1. MICROBIOLOGICAL BREAKPOINTS FOR MIC ($\mu\text{g/ml}$) OF SEVERAL LACTIC ACID BACTERIA

ANTIBIOTIK ANTIBIOTICS	Vrste Species							
	obligatno homofermentativni laktobacili	Heterofermentativni laktobacili*	<i>Lb.</i> <i>plantarum</i>	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Pediococcus</i> spp.	<i>Leuconostoc</i> spp.	<i>Lactococcus</i> spp.	<i>Str. thermophilus</i>
Ampicilin	4	4	4	8	4	4	4	4
Vankomicin	4	IR	IR	8	IR	IR	4	4
Gentamicin**	8	8	64	512	4	4	8	8
Kanamycin**	16	16	64	1024	4	8	8	8
Streptomycin**	16	16	64	1024	4	8	16	16
Neomicin**	16	16	32	1024	8	8	8	8
Eritromicin	4	4	4	4	4	4	4	4
Klindamicin	4	4	4	4	4	4	4	4
Kvinupristin+ Dalfopristin	4	4	4	4	4	4	4	4
Tetraciklin	8	8	32	16	4	4	4	4
Hloramfenikol	4	4	8	8	4	4	8	8

Tabela je preuzeta od FEEDAP Panel izveštaja (European Commission, 2005). Sojevi sa MIC vrednošću većom od naznačenih graničnih vrednosti smatraju se rezistentnim
IR - intrinzično rezistentni; *uključujući i *Lactobacillus salivarius*; **opisana interferencija antibiotika sa medijumom koji se koristi pri određivanju osetljivosti/rezistencije na antibiotike

(Danielsen i Wind, 2003; Delgado i sar., 2005; Florez i sar., 2005). Rezi-stencija *Lactobacillus*, *Pediococcus* i *Leuconostoc* spp. Na vankomicin objašnjava se egzistencijom D-Ala-D-Laktata u peptidoglikanu, umesto D-Ala-D-Ala dipeptida koji predstavlja ciljno mesto delovanja antibiotika (Klein i sar., 2000). Time se rezisten-cija kod ovih vrsta smatra intrinzičnom i ne može se porediti sa prenosivom, plazmidima kodiranom rezistencijom utvrđenom kod enterokoka. Ispitivanjem molekularne osnove rezistencije kod BMK, a na osnovu poredenja identiteta nukleotidne sekvence sa sekvencom gena originalno opisanih kod filogenetski udaljenih bakterijskih grupa, utvrđeno je da sama rezisten-cija vodi poreklo od drugih mikroor-ganizama, sa kojih je na neki način prenešena na bakterije mlečne kise-line i bifidobakterije.

Profili rezistencije kod *Lactobacillus* spp.

U odnosu na antimikrobne agen-se, inhibitore sinteze ćelijskog zida, laktobacili su obično osetljivi na peniciline (penicilin i ampicilin), i β-lakta-maza inhibitore, ali daleko rezistentniji na oksacilin i cefalosporine (Coppola i sar., 2005; Danielsen i Wind, 2003). Impermeabilnost ćelijskog zida izgle-da da predstavlja glavni mehanizam rezistencije kako vrstama ovog roda nedostaje citohromima posredovan transport elektrona (Condon, 1983). Većina vrsta laktobacila pokazuje rezi-stenciju visokog nivoa na glikopeptide (vankomicin i teikoplanin).

Laktobacili su generalno osetljivi na antibiotike koji inhibiraju sintezu proteina, kao što su hloramfenikol, eritromicin, klindamicin i tetraciklin, i daleko rezistentniji na aminoglikozide (neomicin, kanamicin, streptomycin i gentamicin) (Charteris i sar., 1998b; Coppola i sar., 2005; Zhou i sar., 2005). Ipak, i pored generalne oset-ljivosti na prethodne antibiotike, iden-tifikovani su rezistentni sojevi (Char-teris i sar., 1998b; Danielsen i Wind, 2003; Delgado i sar., 2005; Florez i sar., 2005), a geni odgovorni za us-postavljanje rezistencije na iste anti-biotike su detaljno proučeni. Gen za rezistenciju na hloramfenikol (*cat*) utvrđen je kod *Lactobacillus reuteri* (Lin i sar., 1996) i *Lactobacillus plan-tarum* (Ahn i sar., 1992); različiti geni rezistencije na eritromicin (*erm*) potvr-đeni su kod mnogih vrsta laktobacila (Cataloluk i Gogebakan, 2004; Fons i sar., 1997; Tannock i sar., 1994), kao

i brojni geni rezistencije na tetraciklin - *tet(K)*, *tet(M)*, *tet(Q)*, *tet(S)*, *tet(W)* (Chopra i Roberts, 2001; Villedieu i sar., 2003; Roberts, 2005; Torres i sar., 2005; Huys i sar., 2006). Za *tet(S)* gen kod probiotskog soja *L. plantarum* CCUG 43738 utvrđeno je da je lokalizovan na plazmidu (Huys i sar., 2006). Genetička organizacija *erm(B)* gena kod *Lactobacillus john-sonii* G41 ukazuje da je gen ubačen sa plazmidnog *erm(B)* lokusa *Enterococcus faecalis* (Florez i sar., 2006a). Laktobacili su obično rezistentni na većinu inhibitora sinteze nukleinske ki-seline, uključujući nalidiksičnu kiselinu, sulfametoksazol, trimetoprim i me-tronidazol (Charteris i sar., 1998b; Coppola i sar., 2005). Većim delom rezistencija na ove antibiotike je intrin-zičnog karaktera, mada su potrebna daljna ispitivanja.

Profili rezistencije kod *Lactococcus* spp.

Od sedam različitih vrsta opisanih unutar roda *Lactococcus*, tehnološki važne vrste su *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* i *L. lactis* subsp. *cremoris* (Carr i sar., 2002). *L. lactis* je gene-ralno osetljiv na antibiotike Gram-po-zitivnog spektra (makrolidi, bacitracin, eritromicin, linkomicin, novobiocin, tei-koplanin i vankomicin), antibiotike ši-rokog spektra (rifampicin, spektinomi-cin i hloramfenikol), β-laktame (penicilin, ampicilin, amoksicilin, piperacilin i imipenem). Osetljivost na tetra-cikline, cefalotin i nitrofurantoin je va-rijabilnog karaktera. Većina vrsta lak-tokoka je rezistentna na metronidazol, trimetoprim, antibiotike Gram-nega-tivnog spektra (fusidiksičnu kiselinu, nalidiksičnu kiselinu i polimiksin B), kao i na aminoglikozide gentamicin i kanamicin (Florez i sar., 2005; Her-tero i sar., 1996; Temmerman i sar., 2003). Slično laktobacilima, pojedini sojevi *L. lactis* pokazuju rezistenciju na hloramfenikol, klindamicin, strepto-micin, eritromicin i tetraciklin (Florez i sar., 2005; Raha i sar., 2002; Tem-merman i sar., 2003). Utvrđeno je da *L. lactis* subsp. *lactis* K214, soj izo-lovan iz mekog sira proizvedenog iz sirovog mleka, sadrži najmanje tri raz-ličite, plazmidima kodirane determi-nante rezistencije, i to za tetraciklin *tet(S)*, hloramfenikol i streptomycin (Perreten i sar., 1997a).

Profili rezistencije kod *Streptococcus thermophilus*

S. thermophilus, generalno, poka-zuje osetljivost na hloramfenikol, te-

traciklin, eritromicin, cefalotin i cipro-floksacin. Suprotno tome, kod *S. ther-mophilus* utvrđuje se srednja do viso-kog nivoa rezistencija na aminogliko-zide (gentamicin, kanamicin, i strepto-micin), trimetoprim i sulfadiazin (Aslim i Beyatli, 2004; Katla i sar., 2001; Temmerman i sar., 2003). Osetljivost na penicilin G, ampicilin i vankomicin, kod iste vrste je varijabilnog karak-tera.

Profili rezistencije kod *Leuconostoc* vrsta

Pored njihove rezistencije na gli-kozide, cefoksitin i metronidazol, *Leu-conostoc* vrste su uobičajeno rezi-stentne na nalidiksičnu kiselinu, gen-tamicin, kanamicin, streptomycin, nitro-furantoin, sulfadiazin i trimetoprim (Swenson i sar., 1990; Herrero i sar., 1996; Zarazaga i sar., 1999; Katla i sar., 2001; Florez i sar., 2005). Većina *Leuconostoc* spp. pokazuje osetljivost na rifampicin, hloramfenikol, eritromi-cin, klindamicin i tetraciklin (Swenson i sar., 1990; Florez i sar., 2005).

Profili rezistencije kod *Bifidobacterium* spp.

Bifidobakterije su, uobičajeno, veoma osetljive na antibiotike Gram-pozitivnog spektra (makrolide, bacitra-cin, eritromicin, linkomicin, novobiocin, teikoplanin i vankomicin), antibio-tike širokog spektra (rifampicin, spek-tinomicin i hloramfenikol), i β-laktame (penicilin, ampicilin, amoksicilin, pipe-racilin i imipenem) (Delgado i sar., 2005; Zhou i sar., 2005; Masco i sar., 2006). Zapaža se varijabilnost u od-nosu na njihovu osetljivost prema te-traciklinu, cefalotinu i cefotetanu. Su-protno ovome, većina *Bifidobacterium* spp. je rezistentna na metronidazol, antibiotike Gram-negativnog spektra (fusidiksičnu kiselinu, nalidiksičnu ki-selinu i polimiksin B) i aminoglikozide (neomicin, gentamicin, kanamicin i streptomycin) (Charteris i sar., 1998a; Delgado i sar., 2005; Moubareck i sar., 2005; Zhou i sar., 2005; Masco i sar., 2006). Vredna zapažanja jeste činjenica da su bifidobakterije rezi-stentne na mupirocin, antibiotik koji se testira u svrhu selektivne izolacije *Bifi-dobacterium* spp. (Thitaram i sar., 2005). Pojedini sojevi bifidobakterija se smatraju rezistentnim na vankomi-cin i cefoksitin (Charteris i sar., 1998a), a drugi pak sojevi pokazuju rezistenciju na eritromicin, klindamicin i tetraciklin (Delgado i sar., 2005). Kod

različitih vrsta bifidobakterija okarakterisane su determinante koje kodiraju rezistenciju na tetracikline, npr. široko rasprostranjena *tet* (W) (Chopra i Roberts, 2001; Scott i sar., 2000; Florez i sar., 2006b; Kastner i sar., 2006; Masco i sar., 2006) i *tet* (M) determinanta (Chopra i Roberts, 2001). Poređenje nukleotidne sekvence *tet* (W) gena izolovanih iz filogenetski udaljenih vrsta i sojeva pokazuje na su geni gotovo identični, što opet govori o nedavnom transferu dotične determinante iz jednog originalnog izvora (Florez i sar., 2006b).

Profili rezistencije na antibiotike kod *Enterococcus* spp.

Enterokoke pokazuju intrinzičnu rezistenciju na cefalosporine, linkozamide, mnoge β -laktame i aminoglikozide (Morrison i sar. 1997, Murray 1990, Moellering, R.C. 1990, Leclercq, R. 1997). Pored ove konstitutivne rezistencije, enterokoke imaju stečene genetske determinante, na osnovu kojih ostvaruju rezistenciju na sve dosada poznate klase antibiotika, uključujući hloramfenikol, tetracikline i glikopeptide. Najveći rizik koji proizlazi iz stečene rezistencije jeste taj što je ona velikim delom prenosive prirode. Transfer gena je posredovan feromonima, ili se ostvaruje putem konjugativnih (često multirezistentnih) plazmida ili transpozoma. Takva izmena genetskog materijala se odigrava ne samo između enterokoka, već je transfer gena moguć i na daleko virulentnije patogene, kao što je *Staphylococcus aureus* (Morrison i sar. 1997, Schwarz i sar. 2001). Ekstremno visok nivo rezistencije na antibiotike primećen kod enterokoka, kao i njihova široka zastupljenost u sirovoj hrani, predstavljaju ključne elemente na osnovu kojih se objašnjava čest nalaz antibiotski-rezistentnih enterokoka (antibiotic-resistant enterococci-ARE) u fermentisanim i nefermentisanim namirnicama. ARE su utvrđene u proizvodima od mesa, proizvodima od mleka, "ready-to-eat foods", pa čak i među sojevima enterokoka koji se predlažu kao probiotici (Teuberi sar. 1999, Corpet. 1998, Quednau i sar. 1998, Son i sar.1999, Baumgartner i sar. 2001, Giraffa i sar. 2000). Ispitivanjem evropskih sireva utvrđene su enterokoke, prvenstveno *E. faecalis* i *E. faecium*, rezistentne, u različitom nivou na penicilin, tetraciklin, hloramfenikol, eritromicin, gentamicin, linkomicin, rifampicin, fusidoksičnu kiselinu i

vankomicin, ujedno je primećena i multipla rezistencija na antibiotike (Teuber i sar.1999). Sojevi sa visokim nivoom rezistencije na kanamicin i gentamicin su nedavno izolovani iz francuskih sireva proizvedenih od sirovog mleka (Bertrand i sar. 2000).

ZAKLJUČAK

U sadašnje vreme multirezistencija, na sreću, nije uobičajena kod bakterija mlečne kiseline. Ipak u sve većem broju se izoluju sojevi koji pokazuju atipične nivoe rezistencije na pojedine antibiotike (posebno tetraciklin i eritromicin). Takvi sojevi nose gene rezistencije za koje se veruje, a u mnogim slučajevima je i potvrđeno, da su stečeni horizontalnom transmisijom. Stoga je sasvim opravdana inicijativa Evropske agencije za bezbednost hrane sa ciljem postavljanja zahteva neophodnog testiranja na prenosive determinante rezistencije onih sojeva bakterija mlečne kiseline koji se primenjuju kao starter ili probiotski sojevi. Takvi zahtevi su definisani usvajanjem sistema kvalifikovane pretpostavke bezbednosti (Qualified Presumption of Safety – QPS).

Literatura

- Ahn, C., Collins-Thompson, D., Duncan, C., Stiles, M.E., 1992. Mobilization and location of the genetic determinant of chloramphenicol resistance from *Lactobacillus plantarum* caTC2R. Plasmid 27, 169-176
- Aslim, B., Beyatli, Y., 2004. Antibiotic resistance and plasmid DNA contents of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish yogurts. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 28, 257-263
- Baumgartner, A., Kueffer, M. and Rohner, P. 2001. Occurrence and antibiotic resistance of enterococci in various ready-to-eat foods. Arch. Lebensm. hyg.52, 16-19
- Bertrand, X., Mulin, B., Viel, J.F., Thouverez, M. and Talon, D. 2000. Common PFGE patterns in antibiotic resistant *Enterococcus faecalis* from humans and cheeses. Food Microbiol. 17, 543-551
- Carr, F.J., Chill, D., Maida, N., 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. Crit. rev. Microbiol. 28, 281-370
- Catalokluk, O., Gogebakan, B., 2004. Presence of drug resistance in intestinal lactobacilli of dairy and human origin in Turkey. FEMS Microbiol. Lett. 236, 7-12
- Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L., Collins, J.K., 1998a. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Bifidobacterium* isolates from the human gastrointestinal tract. Lett. Appl. Microbiol. 26, 333-337
- Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L., Collins, J.K., 1998b. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. J. Food Prot. 61, 1636-1643
- Chopra, I., Roberts, M., 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial

- resistance. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 65, 232-260
- Condon, S., 1983. Aerobic metabolism of lactic acid bacteria. Ir. J. Food Sci. Technol. 7, 15-25
- Coppola, R., Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Salzano, G., Sorrentino, E., 2005. Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. Lait 85, 193-204
- Corpet, D.E. 1998. Antibiotic resistant bacteria in human food. Rev. Med. Vet. 149, 819-822
- Danielsen, M., Wind, A., 2003. Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. Int. J. Food Microbiol. 82, 1-11
- Davies, J. 1997. Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. In: Chadwick, D.J., Goode, J. (Eds.), Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread, Ciba Foundation Symposium, vol.207. Wiley, Chichester, pp. 15-27
- Delgado, S., Florez, A.B., Mayo, B., 2005. Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species from the human gastrointestinal tract. Curr. Microbiol. 50, 202-207
- Florez, A.B., Ammor, M.S., Alvarez-Martin, P., Margolles, A., Mayo, B., 2006b. Molecular analysis of *tet*(V) gene-mediated tetracycline resistance in dominant intestinal *Bifidobacterium* species from healthy humans. Appl. Environ. Microbiol. 72, 7377-7379
- Florez, A.B., Ammor, M.S., Delgado, S., Mayo, B., 2006a. Molecular analysis of a chromosome-carried *erm*(B) gene and its flanking insertion points in *Lactobacillus johnsonii* G41. Antimicrob. Agents Chemother. 50, 4189-4190
- Florez, A.B., Delgado, S., Mayo, B., 2005. Antimicrobial susceptibility of lactic acid bacteria isolated from a cheese environment. Can. J. Microbiol. 51, 51-58
- Fons, M., Hege, T., Ladire, M., Raibaud, P., Ducluzeau, R., Maguin, E., 1997. Isolation and characterization of a plasmid from *Lactobacillus fermentum* conferring erythromycin resistance. Plasmid 37, 199-203
- Giraffa, G., Olivari, A.M. and Neviani, E. 2000. Isolation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from Italian cheeses. Food Microbiol. 17, 671-677
- Herrero, M., Mayo, B., Gonzales, B., Suarez, J.E., 1996. Evaluation of technologically important traits in lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentations. J. Appl. Bacteriol. 81, 565-570
- Huys, G., D'Haene, K., Swings, J., 2006. Genetic basis of tetracycline and minocycline resistance in potentially probiotic *Lactobacillus plantarum* strain CCUG 43738. antimicrob. Agents Chemother. 50, 1550-1551
- Kastner, S., Perreut, V., Bleuler, H., Hugen-schmidt, G., Lacroix, C., Meile, L., 2006. Antibiotic susceptibility patterns and resistance genes of starter cultures and probiotic bacteria used in food. Syst. Appl. Microbiol. 29, 145-155
- Katla, A.K., Kruse, H., Johnsen, G., Herikstad, H., 2001. Antimicrobial susceptibility of starter culture bacteria used in Norwegian dairy products. Int. J. Food Microbiol. 67, 147-152
- Klein, G., Hallmann, C., Casas, I.A., Abad, J., Louwers, J., Reuter, G., 2000. Exclusion of vanA, vanB and vanC type glycopeptide resistance in strains of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus rhamnosus* used as probiotics by polymerase chain reaction and hybridization methods. J. Appl. Microbiol. 89, 815-824
- Leclercq, R. 1997. Enterococci acquire new kind of resistance. Clin. Infect. Dis. 24 (Suppl.1), S80-S84
- Levy, S.B., Miller, R.V. 1989. Horizontal gene transfer in relation to environmental release of genetically engineered microorganisms. Gene

- Transfer in the Environment. McGraw-Hill Publishing Company, New York, pp. 405-420
28. Levy, S.B., Salyers, A.A. 2002. Reservoirs of antibiotic resistance (ROAR) Network. http://www.healthsci.tufts.edu/apua/Roar/roarh_ome.htm
 29. Lin, C.F., Fung, Z.F., Wu, C.L., Chung, T.C., 1996. Molecular characterization of a plasmid-borne (pTC82) chloramphenicol resistance determinant (*cat-TC*) from *Lactobacillus reuteri* G4. Plasmid 36, 116-124
 30. Masco, L., Van Hoorde, K., De Brandt, E., Swings, J., Huys, G., 2006. Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium* strains from humans, animals and probiotic products. J. Antimicrob. Chemother. 58, 85-94
 31. Moellering, R.C. 1990. The enterococci: an enigma and a continuing therapeutic challenge. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 9, 73-74
 32. Morrison, D., Woodford, N. and Cookson, B. 1997. Enterococci as emerging pathogens of humans. J. Appl. Microbiol. Suppl. 83, 89-99
 33. Moubareck, C., Gavini, F., Vaugien, L., Butel, M.J., Doucet-Populaire, F., 2005. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. J. Antimicrob. Chemother. 55, 38-44
 34. Murray, B.E. 1990. The life and times of the *Enterococcus*. Clin. Microbiol. Rev. 3, 46-65
 35. Ollson-Liljequist, B., Larsson, P., Walder, M., Miorner, H., 1997. Antimicrobial susceptibility testing in Sweden. III. Methodology for susceptibility testing. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 105, 13-23
 36. Perreten, V., Schwarz, F., Cresta, L., Boeglin, M., Dasen, G., Teuber, M. 1997. Antibiotic resistance spread in food. Nature 389, 801-802
 37. Quednau, M., Ahne, S., Petersson, A.C. and Molin, G. 1998. Antibiotic resistant strains of *Enterococcus* isolated from Swedish and Danish retailed chicken and pork. J. Appl. Microbiol. 84, 1163-1170
 38. Raha, A.R., Ross, E., Yusoff, K., Manap, M.Y., Ideris, A., 2002. Characterisation and molecular cloning of an erythromycin resistance plasmid of *Lactococcus lactis* isolated from chicken cecum. J. Biochem. Mol. Biol. Biophys. 6, 7-11
 39. Roberts, M.C., 2005. Update on acquired tetracycline resistance genes. FEMS Microbiol. Lett. 245, 1798-1804
 40. Schwarz, F.V., Perreten, V. and Teuber, M. 2001. Sequence of the 5-kb conjugative multiresistance plasmid pRE25 from *Enterococcus faecalis* RE25. Plasmid 46, 170-178
 41. Scott, K.P., Melville, C.M., Barbosa, T.M., Flint, H.J., 2000. Occurrence of the new tetracycline resistance gene *tet(V)* in bacteria from the human gut. Antimicrob. Agents Chemother. 44, 775-777
 42. Son, R., Nimita, F., Rusul, G., Nasreldin, E., Samuel, L. and Nishibuchi, M. 1999. Isolation and molecular characterization of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Malaysia. Lett. Appl. Microbiol. 29, 118-122
 43. Swenson, J.M., Facklam, R.R., Thornsberry, C., 1990. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus* species. Antimicrob. Agents Chemother. 34, 543-549
 44. Tannock, G.W., Luchansky, J.B., Miller, L., Connell, H., Thode-Andersen, S., Mercer, A.A., Klaenhammer, T.R., 1994. Molecular characterization of a plasmid-borne (pGT633) erythromycin resistance determinant (*ermGT*) from *Lactobacillus reuteri* 100-63. Plasmid 31, 60-71
 45. Temmerman, R., Pot, B., Huys, G., Swings, J., 2003. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. Int. J. Food Microbiol. 81, 1-10
 46. Teuber, M., Meile, L., Schwarz, F. 1999. Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from food. Antonie Van Leeuwenhoek 76, 115-137
 47. Thitaram, S.N., Siragusa, G.R., Hinton, Jr., A., 2005. *Bifidobacterium*-selective isolation and enumeration from chicken caeca by a modified oligosaccharide antibiotic-selective agar medium. Lett. Appl. Microbiol. 41, 355-360
 48. Torres, C., Rojo-Bezares, B., Saenz, Y., Zarazaga, M., Ruiz-Larrea, F., 2005. Antibiotic resistance phenotypes and mechanisms of resistance in lactic acid bacteria of oenological origin. Eight Symposium on Lactic Acid Bacteria: Genetics, metabolism, and applications. FEMS, Egmond aan Zee, The Netherlands
 49. Villedieu, A., Diaz-Torres, M.L., Hunt, N., McNab, R., Spratt, D.A., Wilson, M., Mullany, P., 2003. Prevalence of tetracycline resistance genes in oral bacteria. Antimicrob. Agents Chemother. 47, 878-882
 50. Witte, W., 1997. Impact of antibiotic use in animal feeding on resistance of bacterial pathogens in humans. In: Chadwick, D.J., Goode, J. (Eds.), Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread, Ciba Foundation Symposium 207. Wiley, Chichester, pp. 61-75
 51. Zarazaga, M., Saenz, Y., Portillo, A., Tenorio, C., Ruiz-Larrea, F., Del Campo, R., Baquero, F., Torres, C., 1999. In vitro activities of ketolide HMR3647, macrolides, and other antibiotics against *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, and *Pediococcus* isolates. antimicrob. Agents Chemother. 43, 3039-3041
 52. Zhou, J.S., Pillidge, C.J., Gopal, P.K., Gill, H.S., 2005. Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. Int. J. Food Microbiol. 98, 211-217

SUMMARY

THE PHENOMENON OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN LACTIC ACID BACTERIA

Snežana B. Bulajić, Zora M. Mijačević

University of Belgrade, Faculty of Veterinary Medicine

The antibiotic resistance is an ecological problem generated by the world-wide use of antibacterial agents. At present, there is great concern that commensal bacterial populations from food, such as lactic acid bacteria (LAB) and bifidobacteria could act as a reservoir for antibiotic resistance genes. Resistance could ultimately be transferred to human pathogenic and opportunistic bacteria either during food manufacture or during passage through the GIT. LAB species have traditionally been used as starter cultures in the production of fermented food. The genes conferring resistance to several antimicrobials (chloramphenicol, erythromycin, streptomycin, tetracycline and vancomycin) located on transferable genetic element have already been described in lactic acid bacteria. This work reports the antibiotic resistance profiles of several LAB species including lactobacilli, lactococci, enterococci, *Bifidobacterium* spp., *Leuconostoc* spp. and *Str. thermophilus*,

Key words: antibiotic resistance • lactic acid bacteria