VILNIAUS UNIVERSITETAS

Gyvybės mokslų centras

Biomokslų institutas

Mikrobiologijos ir biotechnologijos katedra

Mikrobiologijos ir biotechnologijos studijų programos IV kurso studentė

Ieva DAUKANTAITĖ

Bakalaurinis darbas

# *Salmonella* spp. atsparumas antimikrobinėms medžiagoms

Darbo vadovas Č. Butrimaitė - Ambrozevičienė

Vilnius 2018

# *Salmonella* spp. atsparumas antimikrobinėms medžiagoms

Darbas atliktas Nacionalinio maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo instituto Bakteriologijos skyriuje

Ieva DAUKANTAITĖ

Darbo vadovai:

Česlova BUTRIMAITĖ - AMBROZEVIČIENĖ

prof. dr. (HP) Lilija KALĖDIENĖ

# TURINYS


Santrumpos ..... 4
Įvadas ..... 5
1. LITERATŪROS APŽVALGA ..... 7
1.1. *Salmonella* spp. ..... 7
1.1.1. Nomenklatūra ..... 7
1.1.2. Morfologija, fiziologija, paplitimas ..... 7
1.1.3. Patogeniškumas, klinikiniai požymiai ..... 9
1.2. Antimikrobinės medžiagos ..... 10
1.2.1. Praktinis panaudojimas ..... 10
1.2.2. Dauginio atsparumo problema ..... 11
2. TYRIMO MEDŽIAGOS IR METODAI ..... 13
2.1. Tyrimo vieta ir objektai ..... 13
2.2. Mėginių pristatymas į laboratoriją ..... 13
2.3. Bakterijų išsėjimas į mitybinę terpę ..... 13
2.4. Antimikrobinio atsparumo nustatymas mikroskiedimų metodu ..... 13
2.5. Bakterijų suspensijos paruošimas ..... 13
2.6. Plokštelių inokuliavimas ..... 14
2.7. Plokštelių inkubavimas ..... 15
2.8. Plokštelių vertinimas ..... 16
2.9. Kiekybinis ir kokybinis identifikavimas ..... 18
2.9.1. Rezultatų vertinimas ..... 18
2.9.2. Rezultatų interpretavimas ..... 18
2.9.3. Kritiniai taškai ..... 18
3. REZULTATAI ..... 19
3.1. Statistinė duomenų analizė ..... 19
3.1.1. *Salmonella* spp. grupės ir identifikuoti serotipai ..... 20
3.1.2. *Salmonella* spp. paplitimas ..... 21
3.1.3. *Salmonella enterica* porūšio *enterica* serotipo Enteritidis mėginių analizė: ..... 23
3.1.4. *Salmonella enterica* porūšio *enterica* seotipo Infantis mėginių analizė ..... 24
3.1.5. *Salmonella enterica* porūšio *enterica* serotipo Derby mėginių analizė ..... 25
3.1.6. *Salmonella* spp. O:7 grupės bakterijų mėginių analizė ..... 26
3.1.7. *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- mėginių analizė ..... 27
3.2. Atsparumo antimikrobinėms medžiagoms analizė ..... 28
3.2.1. Bendra *Salmonella* spp. tirtų mėginių analizė ..... 28
3.2.2. Dažniausiai izoliuotų *Salmonella* spp. mėginių analizė ..... 30
4. REZULTATŲ APTARIMAS ..... 37
IŠVADOS ..... 40
SANTRAUKA ..... 41
SUMMARY ..... 42
LITERATŪRA ..... 43

## Santrumpos

MIK – minimali inhibicinė/slopinimo koncentracija, tai yra mažiausia antimikrobinės medžiagos koncentracija, slopinanti mikroorganizmų augimą.

AM – antimikrobinės medžiagos – natūralūs, sintetiniai ar pusiau sintetiniai junginiai, kurie mikroorganizmus žudo arba stabdo jų dauginimąsi..

KFV – kolonijas sudarantys/formuojantys vienetai.

EUCAST – (angl. The European Committe on Antimicrobial Susceptibility Testing) – Europos antimikrobinio rezistentiškumo komitetas.

EFSA – (angl. European Food Safety Authority) Europos maisto saugos tarnyba.

NMVRVI – Nacionalinis maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institutas

SMX – sulfometoksazolas.

TMP – trimetoprimas.

CIP – ciprofloksacinas.

TET – tetraciklinas.

MERO – meropenemas.

AZI - azitromicinas.

NAL – nalidikso rūgštis.

FOT – cefotaksimas.

CHL – chloramfenikolis.

TGC - tigeciklinas.

TAZ – ceftazidimas.

COL – kolistinas.

AMP – ampicilinas.

GEN – gentamicinas.

# Įvadas

*Salmonella* spp. bakterijos yra vienos pagrindinių maistu plintančių infekcijų sukėlėjų pasaulyje. Skaičiuojama, kad šios bakterijos sukelia ~93,8 milijonų susirgimų atvejų per metus. Nors dažnai šių bakterijų sukeliami susirgimai žmogui nėra lemtingi ir yra lengvai pergyvenami, galimos komplikacijos ar rimtos *Salmonella* spp. sukeliamos infekcijos, kurių gydymui pasitelkiamos antimikrobinės medžiagos - antibiotikai. *Salmonella* yra labai plati bakterijų gentis, kurią sudaro 6 rūšys. Dažniausiai izoliuojamas, labiausiai paplitęs ir daugiausiai susirgimų sukeliantis *Salmonella enterica* porūšis *enterica* turi daugiau nei 2500 skirtingų serotipų. Tokia didelė šių bakterijų įvairovė ir augantis jų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms sukelia problemas siekiant gydyti sukeltus susirgimus.

XX a. paplitus pirmiesiems antibiotikams jie buvo pradėti naudoti maisto pramonėje, kaip maisto papildas gyvūnams, kuris sumažino jų sergamumą, paspartino augimo procesą. Dažniausiai antibiotikai buvo šeriami paukščiams bei kiaulėms. (National Research Council (US), 1980). Toks neapdairus antibiotikų naudojimas maisto pramonėje, nuolatinis antibiotikų naudojimas medicinoje atsiliepė išaugusiu ir susiformavusiu dauginiu bakterijų atsparumu antimikrobinėms medžiagoms. Šiuolaikiniame pasaulyje antibiotikų vartojimas yra pasiekęs tokį lygį, kai susiduriama su ligų nejautrių jokiems antibiotikams gausėjimu. Susirgimų kontrolės ir prevencijos centro CDC (JAV) duomenimis antibiotikai yra viena pagrindinių vaistų grupių pasaulyje. Ligos, kurios ankščiau buvo lengvai pagydomos antibiotikų pagalba tampa vis sunkiau ir brangiau gydomos. Kaip prevencinė priemonė 2006 m. Europos Sąjungoje buvo uždrausta maistinius gyvūnus maitinti pašarais su antibiotinėmis medžiagomis. Todėl statistika rodo, kad 2010 – 2014 m. laikotarpiu sėkmingai mažėjo *Salmonella* spp. bakterijų sukeliamų susirgimų. Tačiau nuo 2014 m. rodikliai išaugo 3%. Šio rodiklio augimas kelia nerimą, daugėja maistu plintančių susirgimų proveržių.

*Salmonella* spp. sukeliama salmoneliozė yra zoonotinė liga t.y. liga, kuri gali būti tiesiogiai arba netiesiogiai perduodama tarp gyvūnų ir žmonių, todėl daug mėginių, iš kurių galima izoliuoti šių bakterijų kamienus yra gyvūninės kilmės. Nacionalinis maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institutas atlieka antimikrobinio atsparumo tyrimus bakterijų mėginiams, tarp jų ir *Salmonella* spp. bakterijoms. Šie tyrimai yra būtini norint stebėti *Salmonella* spp. bakterijų paplitimą, atsparumo antibiotikams tendencijas, siekiant sudaryti prevencines programas salmonelioziniams susirgimams plisti ar laiku identifikuoti galimus ligos židinius.

**Darbo tikslas:** nustatyti ir įvertinti *Salmonella spp.* bakterijų atsparumą „Sensititre“ plokštelėse esančioms antimikrobinėms medžiagoms.

**Darbo uždaviniai:**

1. Nustatyti *Salmonella* spp. rūšių atsparumą skirtingoms antimikrobinėms medžiagoms.
2. Nustatyti ar yra atsparumo antimikrobinėms medžiagoms tendencijų.
3. Nustatyti labiausiai paplitusias *Salmonella* spp. bakterijas ir jų šeimininkus.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. *Salmonella* spp.

### 1.1.1. Nomenklatūra

*Salmonella* yra *Enterobacteriaceae* šeimos gentis, kurią sudaro daug mediciniškai svarbių patogenų. *Salmonella* gentį sudaro dvi rūšys: *Salmonella bongori* ir *Salmonella enterica*. *Salmonella enterica* taip pat skirstoma į šešis porūšius: *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) ir *indica* (VI) (P.A.D. Grimont, F.X. Weil, 2007). Jie atskiriami pagal biochemines ir genomo modifikacijas (A. Andino, I. Hanning, 2015). *Salmonella enterica* porūšis *enterica* yra labai įvairi bakterijų rūšis, kurią sudaro daugiau nei 2500 tūkstančių serotipų. Didžiąją dalį *Salmonella* genties bakterijų apimantis *Salmonella enterica* porūšis *enterica* izoliuojamas iš žmonių ir šiltakraujų gyvūnų. Kiti porūšiai ir *S. bongori* dažniau randami šaltakraujuose gyvūnuose (Y. Liu et al., 2017).

Pagal White – Kauffmann schemą, *Salmonella* bakterijos taip pat identifikuojamos pagal jų paviršiaus antigenus: somatinį (O), žiuželio (H) ir kapsulės (Vi) ir jų reaktyvumą imuniniams serumams. Serotipų pavadinimai gali būti priskiriami pagal antigeninę formulę ir yra sudaromi taip: porūšio numeris (I – VI), O somatinis antigenas, fazės 1 ir fazės 2 H žiuželio antigenas, pavyzdžiui: *Salmonella* serotipas IV 45:g,$z_{51}$;- (F.W. Brenner et. al., 2000).

99.5% izoliatų sudaro *Salmonella enterica* porūšio *enterica* bakterijos, tai yra vienintelis porūšis, skirstomas į serotipus. Todėl porūšio pavadinimas dažniausiai nėra vartojamas. Teisingi pavyzdžiai apibrėžiant *Salmonella enterica* serotipus yra šie: *S. enterica* porūšis *enterica* serotipas Enteritidis, *S. enterica* serotipas Enteritidis, *S. enterica* ser. Enteritidis (P.A.D. Grimont, F.X. Weil, 2007).

### 1.1.2. Morfologija, fiziologija, paplitimas

*Salmonella* spp. yra Gram – neigiamos, lazdelės formos bakterijos, fakultatyviniai anaerobai. Dažniausiai būna 2 – 5 mikronų ilgio ir 0.5 – 1.5 mikronų pločio. Judrios, turi peritrichinį žiuželį. *Salmonella* spp. bakterijų genomo dydis varijuoja priklausomai nuo serotipo (4460 – 4857 kb) (A. Andino, I. Hanning, 2015).

Optimaliai *Salmonella* spp. bakterijos auga 37°C, metabolizuoja angliavandenius išskirdamos rūgštį ir dujas – vandenilio sulfidą. Dauguma *Salmonella* spp. bakterijų fermentuoja laktozę, gamina vandenilio sulfitą, oksidazės testas neigiamas, katalazės testas teigiamas (J. Y. D;Aousy, J. Maurer, 2007). Kitos biocheminės savybės, leidžiančios identifikuoti *Salmonella* spp., yra gebėjimas augti ant citrato kaip vienintelio anglies šaltinio ir karbamido hidrolizė (A. Andino,

I. Hanning, 2015). *Salmonella* spp. bakterijos turi tris pagrindinius antigenus: H, O ir Vi. H - žiuželio antigenas, O – somatinis antigenas, Vi – antigenas randamas tik keliuose serotipuose. *Salmonella* spp. organizmai yra linkę varijuoti tarp pirmos ir antros fazės. H antigenas gali pasireikšti abejose formose. Žiuželių genai *fliC* ir *fliBi*, kurie atitinkamai koduoja *Salmonella* spp. fazės 1 ir fazės 2 antigenus, yra laikomi *Salmonella* serotipą lemiantys genai, jie prisideda prie *Salmonella* spp. virulentiškumo (Y. Liu et al., 2017). O antigenas randamas išorinės membranos paviršiuje ir yra nulemiamas specifinės cukrų sekos O polisacharidų grandinėje. Ląstelių sieneles sudaro lipopolisacharidų (LPS) sluoksnis, kurį sudaro išorinis O polisacharidų sluoksnis, vidurinė dalis R ir vidinis lipidų sluoksnis – A. Pasikartojančių cukrų sekos išorinėje O polisacharidų grandinėje lemia O antigeno specifiškumą. Vi antigenas svarbiausias *Salmonella enterica* porūšio *enterica* serotipui Typhi. (R. A. Giannella, 1996).

*Salmonella* spp. bakterijos randamos plačiame šaltinių diapazone, gali išgyventi sudėtingomis aplinkos sąlygomis, dažnai randamos labai drėgnose vietovėse (C. J. Murray, 1991). Pagrindinė niša *Salmonella enterica* serotipams yra žmonių ir naminių gyvūnų virškinamasis traktas. Taip pat bakterijų galima rasti laukinių paukščių, roplių ir kartais vabzdžių virškinamajame trakte. *Salmonella* spp. šaltiniais taip pat laikomi pašarai, loviai, šiukšlės ir ekskrementai. Kadangi šios bakterijos kolonizuoja virškinamąjį traktą, jos pasišalina kartu su išmatomis, tokiu būdu gali užkrėsti vandenį. Daugiau nei 70% žmonių salmoneliozės susirgimų Jungtinėse Amerikos Valstijose siejama su užkrėstos vištienos, kalakutienos ir kiaušinių vartojimu (A. Andino, I. Hanning, 2015).

Europoje, Jungtinėje Karalystėje bei Jungtinėse Amerikos Valstijose labiausiai paplitę *Salmonella enterica* serotipai yra *S. enterica* ser. Enteritidis, *S. enterica* ser. Typhimurium, *S. enterica* ser. Virchow. Pagrindinis šių serotipų plitimo būdas yra per užkrėstą maistą. *S. enterica* ser. Enteritidis ir *S. enterica* ser. Virchow dažniausiai siejami su paukštiena ir jos produktais, ypač vištiena. *S. enterica* ser. Typhimurium turi platesnę šeimininkų grupę, dažniausiai izoliuojami iš galvijų bei kiaulių, rečiau paukštienos, retkarčiais avių. Išsivysčiusiose šalyse, kitaip nei besivystančiose, užkrečiamumas sukeliamas žmonių tarpusavio kontakto nėra laikomas lemiančiu veiksniu šių serotipų plitimui. Besivystančiose šalyse šie serotipai siejami su invaziniais susirgimais, kurie dažnai baigiasi septicemija (E. John Threlfall, 2006).

Europos maisto saugos tarnybos duomenimis 2016 metais Europoje patvirtini 95,530 susirgimai salmonelioze, ir tai atitinka 20.4 susirgimus 100,000 gyventojų. 2015 m. duomenimis 100,000 gyventojų teko 20.9 susirgimai. 2016 m. didžioji dalis susirgimų buvo sukelti ES 53,30%, mažesnė dalis 6,80% siejama su kelionėmis už ES ribų ir 39,90% susirgimų kilmė yra nežinoma. Daugiausiai vietinių susirgimų (nuo 92,90% iki 100%) fiksuoti Lietuvoje, Čekijoje, Estijoje,

Latvijoje, Graikijoje, Vengrijoje, Maltoje, Olandijoje, Portugalijoje, Rumunijoje, Slovakijoje ir Ispanijoje. Lietuvoje 2016 m. iš viso fiksuoti 1,076 susirgimai (37.3 šimtui tūkstančiui gyventojų), 2015 m. 1,082 (37.0), 2014 m. 1,145 (38,9), 2013 m. 1,199 (40,4), 2012 m. 1,762 (58.7).

### 1.1.3. Patogeniškumas, klinikiniai požymiai

*Salmonella* spp. bakterijos su maistu patekusios į organizmą praeina virškinamojo trakto rūgštinį barjerą, išlieka gyvybingos, patekusios į žarnyną prasiskverbia į epitelio ląsteles ir sintetina toksinus (S. K. Eng, et.al., 2014). Žarnyno epitelio ląstelių invazija skatina priešuždegiminių citokinų išskyrimą, kurie indukuoja uždegiminę reakciją. Stiprus uždegiminis atsakas sukelia viduriavimą, gali sukelti opas žarnyno gleivinėje. Žmogaus organizmas ginasi nespecifiniais metodais, t. y. virškinamojo trakto rūgštimis, žarnyno gleivėmis, žarnyno peristaltiniais judesiais, laktoferinais ir lizosomomis. Naudojami ir specifiniai apsaugos metodai, t. y. antikūnai (R. A. Giannella, 1996).

*Salmonella* spp. bakterijos gali sukelti gastroenteritą (požymiai viduriavimas, žarnyno skausmai ir karščiavimas), *S. enterica* ser. Typhi sukelia vidurių šiltinę (požymiai: iš pradžių pasireiškia nedideliu karščiavimu, kuris pakyla antrą ligos savaitę iki 41,5°C, bradikardija, blužnies ir kepenų padidėjimu (S. K. Eng, et. al., 2014). *Salmonella enterica* serotipas *enterica* sukelia ~99% susirgimų salmonelioze žmonėse ir naminiuose gyvūnuose. *S. enterica* yra laikoma viena pagrindinių, maistu plintančių susirgimų, sukėlėjų (Y. Liu et al., 2017). *S. enterica* serotipai yra įvairi patogenų grupė, kuri evoliucionavo, tam kad išliktų įvairiose aplinkos sąlygose ir daugybėje skirtingų šeimininkų. *S. enterica* serotipai, tokie kaip *Salmonella enterica* ser. Typhi, *Salmonella enterica* ser. Dublin ir *Salmonella enterica* ser. Gallinarum turi ribotą šeimininkų ratą, jie yra siejami su viena ar keliomis šeimininkų rūšimis. *Salmonella enetrica* ser. Enteritidis ir *Salmonella enterica* ser.Typhimurium turi labai platų šeimininkų ratą. (Foley et al., 2013).

Išsivysčiusiose šalyse, žmonių infekcijos *Salmonella* spp. bakterijomis dažniausiai pasireiškia dideliais staigaus gastroenterito proveržiais, sukeltais vartojant užkrėstą mėsą, produktus ar blogai apdorotą maistą. Besivystančiose šalyse infekcijos sukeltos *Salmonella* spp. bakterijų dažniausiai perduodamos žmonių kontakto metu, dėl sanitarinių sąlygų trūkumo. Tokiose sąlygose žmonėms itin pavojingos *S. enterica* ser. Typhi ir *S. enterica* ser. Paratyphi greitai plinta, sukelia tifoidinę salmoneliozės formą, vidurių šiltinę (S. J. McSorley, 2014).

Žmonių salmoneliozė gali būti dviejų tipų: sukeliama tifoidinių *Salmonella* spp. kamienų arba sukeliama netifoidinių kamienų. Netifoidinė salmoneliozės dažnai pasireiškia kaip enterokolitas, inkubacinis periodas dažniausiai trunka 8 – 72 h. Simptomai yra skausmas pilvo srityje, pykinimas, viduriavimas, karščiavimas. Netifoidinė salmoneliozė dažniausiai pasireiškia

virškinamojo trakto infekcija, tačiau retais atvejais bakterijos gali patekti į kraują ir sukelti bakteriemiją. *S. enterica* Typhi sukeliama tifoidinė salmoneliozė pasireiškia patogenų plitimu už virškinamojo trakto ribų. Tifoidinės salmoneliozės inkubacinis periodas gali trukti nuo 8 iki 28 dienų. Simptomai: karščiavimas, viduriavimas, drebulys, nuolatinis skausmas žarnyno srityje, silpnumas. Galimos komplikacijos tokios kaip meningitas, osteomielitas, opos žarnyne (J. Y. D'Aoust, 1991).

Molekulinės analizės tyrimai parodė, kad *Salmonella* bakterijų genomas evoliucionuoja prisitaikydamas prie aplinkos pokyčių, ypač esant selektyviam antimikrobinių medžiagų poveikiui. Visi *Salmonella enterica* serotipai gali sukelti žarnyno uždegimą, tačiau žmonėms dažniausiai salmoneliozę sukelia *S. enterica* ser. Typhi, *S. enterica* ser. Paratyphi, *S. enterica* ser. Choleraesuis ir *S. enterica* ser. Dublin. Tokie serotipai kaip *S. enterica* ser. Enteritidis, *S. enterica* ser. Typhimurium yra mažiau pavojingi žmogui, tačiau jų sukeliamų ligų skaičiai yra dideli, todėl kad jie yra labai paplitę visoje *Salmonella* bakterijų populiacijoje. *S. enterica* ser. Dublin yra paplitusi labiausiai vakarų šalyse, tuo tarpu *S. enterica* ser. Choleraesuis labiau paplitusi Azijoje.

## 1.2. Antimikrobinės medžiagos

### 1.2.1. Praktinis panaudojimas

Daugelis *Salmonella* spp. bakterijų sukeltų infekcijų pasireiškia nekomplikuotu gastroenteritu ir retai reikalauja gydymo antimikrobine terapija. Antimikrobinė terapija gali prailginti sveikimo procesą, sustiprinti gastroenterito požymius. Tačiau ~5 – 10% pacientų, sergančių netifoidine salmoneliozės forma patiria komplikacijas tokias kaip bakteriemija ar meningitas. Šios ligos kaip ir *S. enterica* porūšio *enterica* serotipo Typhi sukeliama tifoidinė salmoneliozės forma reikalauja gydymo antimikrobinių medžiagų terapija (LH. Su, CH. Chiu, 2007).

Tifoidinei salmoneliozei gydyti seniau buvo rekomenduojamas ampicilinas, trimetoprimas, sulfametoksazolas arba chloramfenikolis. Šiai dienai dažniau rekomenduojami kvinolonai, makrolidai ir trečios kartos cefalosporinas. Tačiau *Salmonella* spp. bakterijų jautrumas kvinolonams palaipsniui mažėja. Taip pat pastebėta, kad per paskutinius 20 metų išaugo *Salmonella* spp. bakterijų atsparumas nalidikso rūgščiai. *Salmonella spp.* sukeltai bakteriemijai gydyti naudojama viena antibiotinė medžiaga, rekomenduojamas trečios kartos cefalosporinas arba fluorokvinolonas (A. Klochko, et.al. 2017).

### 1.2.2. Dauginio atsparumo problema

Nuo 1990 m. itin sparčiai augo *Salmonella* spp. bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, taip pat atsirado ir ėmė sparčiai plisti dauginį atsparumą turintys šių bakterijų kamienai (L. H. Su, C. H. Chiu, 2007). Sparčiai augantis *Salmonella* spp. ir kitų bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms kelia susirūpinimą, kad žmonija pereina į „po antibiotinę erą“, t.y. tendencijos rodo, kad greitu metu nebeliks efektyvių antibiotikų ligoms gydyti (M. J. Gilchrist, et.al. 2007).

Augantis bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms sukelia tokias problemas kaip apsunkintas gydymas bei organizmo įgytas gebėjimas sukelti rimtus susirgimus, pavyzdžiui septicemiją ar bakteriemiją (bakterijų buvimas kraujyje). Antimikrobinė terapija yra būtinas gydymo metodas, gydant rimtas *Salmonella* spp. bakterijų sukeltas komplikacijas, tokias kaip meningitas, septinis artritas ar osteomielitas (S. McAnearney, D. McCall, 2015).

Antimikrobinė terapija salmoneliozės gydymui yra sudėtingas procesas, kurį apsunkina susiformavęs bakterijų dauginis atsparumas antibiotikams. Dauginį atsparumą apibrėžia atsparumas 3 ar daugiau antibiotinių medžiagų. Dauginį atsparumą antimikrobinėms medžiagoms turinčios bakterijos yra labai invazinės, ypač pavojingos vaikams. (J. W. Schmidt, et.al. 2012). Ankščiau naudojamiems antibiotikams, tokiems kaip ampicilinas, chloramfenikolis, trimetoprimas ir sulfametoksazolas, *Salmonella* spp. bakterijų atsparumas per paskutinių 20 metų išaugo ~70%. Atsparumas varijuoja tarp skirtingų bakterijų serotipų. *S. enterica* ser. Enteritidis dažniau yra jautri antibiotinėms medžiagoms, o *S. enterica* ser. Typhimurium rodo didesnį atsparumą. Viena pagrindinių priežasčių kodėl *S. enterica* ser. Typhimurium yra atspari daugumai antimikrobinių medžiagų gali būti 1990 m. Europoje bei Amerikoje pasirodęs, kelioms antimikrobinėms medžiagoms atsparus, fago 104 *S. enterica* ser. Typhimurium kamienas (DT104/definitive phage type 104). Šis kamienas atsparus ampicilinui, chloramfenikoliu, streptomicinui, sulfonamidui ir tetraciklinui. Nuo 1990 metų *S. enterica* ser. Typhimurium DT104 tapo vienu labiausiai paplitusiu serotipu infekuojančiu žmones (LH. Su, CH. Chiu, 2007). *S. enterica* ser. Typhimurium yra viena pagrindinių maistu plintančių susirgimų sukėlėjų, kurie dažnai baigiasi hospitalizacija ar mirtimi (C.J. Anderson, M. M. Kendall, 2017).

Išsivysčiusiose šalyse *Salmonella* spp. bakterijų antimikrobinis atsparumas yra neatsiejamas nuo antibiotikų naudojimo mėsos pramonėje. Antibiotikai naudojami kaip terapija gyvūnams (ligų gydymui) arba profilaktiškai (siekiant iškarto sumažinti susirgimų tikimybę). Nepaisant įstatymų, kurie reguliuoja antibiotinių medžiagų naudojimą maisto pramonėje, *Salmonella* spp. bakterijų atsparumas šioms medžiagoms Europoje bei Šiaurės Amerikoje auga (J.

K. Varma, et.al., 2005). Besivystančiose šalyse taip pat stebimas *Salmonella* spp. bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms augimas. Tačiau jis siejamas su antibiotinių medžiagų naudojimu medicinoje (D. A. Tabo, et.al. 2015).

# 2.TYRIMO MEDŽIAGOS IR METODAI

## 2.1. Tyrimo vieta ir objektai

Darbas atliktas 2017 – 2018 m. Lietuvos nacionaliniame maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institute (NMVRVI), Vilniaus skyriuje, bakteriologinių tyrimų laboratorijoje. Šio darbo metu buvo tiriami NMVRVI Vilniaus skyriuje gauti *Salmonella* spp. bakterijų mėginiai mikroskiedimų metodu. Duomenys ir informacija analizuojama mėginių gautų 2013 – 2017 metais.

## 2.2. Mėginių pristatymas į laboratoriją

Mėginiai pasiekia laboratoriją iš aplinkinių teritorijų bei visos Lietuvos NMVRVI teritorinių skyrių. Į bakteriologijos laboratoriją mėginiai atkeliauja sunumeruoti unikaliu numeriu, kad būtų galima nustatyti mėginio kilmę, tyrimo užsakovą. Tyrimai atliekami iš karto, kai mėginys pristatomas į laboratoriją.

## 2.3. Bakterijų išsėjimas į mitybinę terpę

*Salmonella* spp. bakterijų mėginiai gryninimo būdu sėjami į kraujo agarą (BioCorp, Lenkija). Petri lėkštelės su kraujo agaru ir užsėta kultūra 20 val. inkubuojamos termostate (Binder, Vokietija) 37°C temperatūroje.

## 2.4. Antimikrobinio atsparumo nustatymas mikroskiedimų metodu

Mikroskiedimų metode naudojamas mažas buljono kiekis paruoštoje sterilioje, plastikinėje mikroskiedimų plokštelėje su 96 apvaliais šulinėliais. Mikroskiedimų metodas yra kiekybinis metodas, kurio pagalba nustatomas bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms *in vitro*. Kiekybiniams jautrumo tyrimams naudojamos komerciškai pagamintos plokštelės, užpildytos liofilintomis antimikrobinėmis medžiagomis. Plokštelės yra paruoštos su būtinu antimikrobinių medžiagų koncentracijų intervalu duobutėse – lūžio taškais. Lūžio taškas parodo antimikrobinės medžiagos koncentraciją, kuri stabdo jautrių mikroorganizmų augimą, tačiau nestabdo atsparių bakterijų augimo.

## 2.5. Bakterijų suspensijos paruošimas

Prieš pradedant antimikrobinio atsparumo tyrimą atliekama densimetro patikra su 0,5 McFarland standartu (1 pav.). Nuo kraujo agaro kilpele paimamos kelios atskiros, šviežiai išaugintos, bakterijų kolonijos ir steriliai perkeliamos į mėgintuvėlį su 2 mL fiziologinio tirpalo (Biomerieux, Prancūzija).



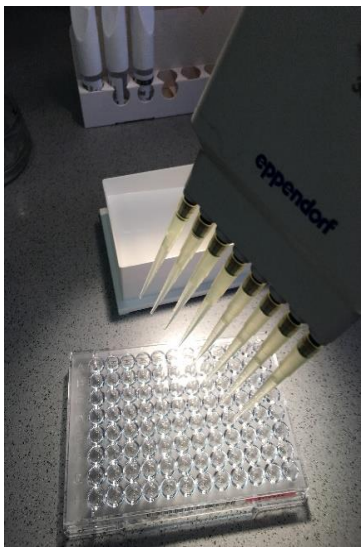

**1 pav.** Densimetras (Biomerieux, Prancūzija).

Mėgintuvėlis uždaromas ir supurtomas purtyklėje (Heidolph, Vokietija). Densimetru matuojamas bakterijų drumstumas, kuris turi atitikti 0,5 McFarland drumstumo standartą 1,5 $\times 10^8$ KFV/*1ml*. 50 µl paruoštos 0,5 McFarland drumstumo bakterijų suspensijos vienakanale pipete steriliai perkeliama į 11 ml Mueller – Hinton buljoną su TES buferiu (Thermo Fisher Scientific, JAV). Mėgintuvėlis užsukamas ir lengvai pavartomas 8 – 10 kartų, kad inokuliatas gerai susimaišytų.

### 2.6. Plokštelių inokuliavimas

Į sterilų lovelį supilama paruošta bakterijų suspensija. Nukerpamas vienas sterilios plokštelės pakuotės kraštas ir išimama plokštelė „Sensititre“ (Thermo Fisher Scientific, JAV). Plokštelę sudaro 96 apvalūs šulinėliai užpildyti liofilintomis antimikrobinėmis medžiagomis. Tyrime buvo naudoti šie antibiotikai: ampicilinas (AMP), azitromicinas (AZI), chloramfenikolis (CHL), ciprofloksacinas (CIP), kolistinas (COL), cefotaksimas (FOT), gentamicinas (GEN), meropenemas (MERO), nalidikso rūgštis (NAL), sulfametoksazolas (SMX), ceftazidimas (TAZ), tetraciklinas (TET), tigeciklinas (TGC), trimetoprimas (TMP). Aštuonkanale pipete (Eppendorf, Vokietija) inokuliuojama plokštelė (2 pav.). Saugoma, kad pipetės antgaliai nepaliestų duobučių dugne, esančių AM paviršiaus.

Plokštelės paviršius uždengiamas lipnia plėvele. Vengiama plėvelės raukšlių, nes tai gali turėti įtakos reakcijoms.




**2 pav.** Aštuonkanale pipete (Eppendorf, Vokietija) inokuliuojama plokštelė „Sensititre" (Thermo Fisher Scientific, JAV).

### 2.7. Plokštelių inkubavimas

Plokštelės inkubuojamos termostate (35±1) °C temperatūroje (16 – 20) val. (3 pav.). Siekiant išvengti bakterijų augimo skystoje terpėje, laikas nuo bakterijų suspensijos paruošimo iki plokštelių inkubavimo neturi viršyti daugiau nei 30 min.



**3 pav.** Plokštelių inkubavimas termostate (Binder, Vokietija).

### 2.8. Plokštelių vertinimas

Plokštelės vertinamos vizualiai. Po inkubavimo ant specialaus stovo (Thermo Fisher Scientific, JAV) dedama plokštelė (su plėvele) taip, kad plokštelės šone esančios raidės (A – H) būtų kairėje pusėje, o skaičiai (1 – 12) - viršuje. Bakterijų augimas stebimas, pasikeitus drumstumui duobutėse (4 pav.). Vertinama mažiausia AM koncentracija, stabdanti bakterijų augimą (vertinama konkrečios AM mažiausia koncentracija, kurioje nėra bakterijų augimo).Vertinimo rezultatai surašomi formose, kuriose yra nurodytas AM išdėstymas plokštelėje ir jų koncentracija.



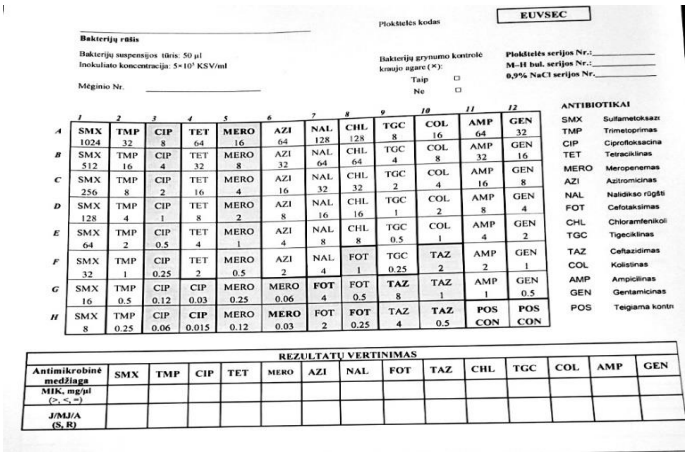

**4 pav.** Sensititre plokštelės vizualus vertinimas. Vertinama minimali antimikrobinės medžiagos koncentracija, kuri stabdo bakterijų augimą. Augimas stebimas pasikeitus drumstumui duobutėje.

Antimikrobinių medžiagų koncentracijos parinktos pagal Europos jautrumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimų komiteto (EUCAST) rekomendacijas klinikiniams lūžio taškams nustatyti (1 lentelė).

**1 lentelė.** Antimikrobinių medžiagų koncentracijos klinikiniams lūžio taškams nustatyti.

| Antimikrobinė medžiaga | EUCAST ribinės vertės (mg/L) | Koncentracijos ribos (mg/L) |
|---|---|---|
| Ampicilinas | >8 | 1-64 |
| Azitromicinas | >16 | 2-64 |
| Chloramfenikolis | >16 | 8-128 |
| Ciprofloksacinas | >0,064 | 0,015-8 |
| Cefotaksimas | >0,5 | 0,25-4 |
| Kolistinas | >2 | 1-16 |
| Gentamicinas | >2 | 0,5-32 |
| Meropenemas | >0,125 | 0,03-16 |
| Nalidikso rūgįštis | >16 | 4-128 |
| Sulfametoksazolas | >256 | 8-1024 |
| Ceftazidimas | >2 | 0,5-8 |
| Tetraciklinas | >8 | 2-64 |
| Tigeciklinas | >1 | 0,25-8 |
| Trimetorpimas | >2 | 0,25-32 |

Gauti duomenys įvertinus „Sensititre“ plokšteles surašomi į formą (5 pav.). Bakterijų augimas žymimas X. Rezultatai įvertinami ir atitinkamai žymimi esant jautriam mėginiui S (angl. Sensitive), atspariam mėginiui - R (angl. resistant)




**5 pav.** Plokštelių vertinimo forma. SMX – sulfometoksazolas, TMP – trimetoprimas, CIP – ciprofloksacinas, TET – tetraciklinas, MERO – meropenemas AZI - azitromicinas, NAL – nalidikso rūgštis, FOT – cefotaksimas, CHL – chloramfenikolis, TGC - tigeciklinas, TAZ – ceftazidimas, COL – kolistinas, AMP – ampicilinas, GEN – gentamicinas, POS – teigiama kontrolė.

## 2.9. Kiekybinis ir kokybinis identifikavimas

### 2.9.1. Rezultatų vertinimas

Pirmiausia įvertinamos bakterijų augimo kontrolės duobutės (teigiama/neigiama kontrolė). Jei „neigiama“ kontrolės duobutė nestabdo augimo, ar „teigiamoje“ kontrolės duobutėje nėra augimo, tyrimai yra nevertinami.

### 2.9.2. Rezultatų interpretavimas

Minimalios inhibicinės koncentracijos (MIK) tyrimų rezultatams įtakos gali turėti daugelis faktorių: mikroorganizmų būklė, inokuliato koncentracija, temperatūra, buljonas, AM ir bakterijų kultūros kiekis.

MIK – fiksuojama mažiausia AM koncentracija, kuri stabdo matomą bakterijų augimą. Jei nei vienoje duobutėje, išskyrus teigiamos kontrolės duobutes, nėra augimo, tai MIK vertinamas mažiau (<) nei mažiausia AM koncentracija plokštelėje.

### 2.9.3. Kritiniai taškai

#### 2.9.3.1. Neaiškus galutinis taškas

Daugelio mikroorganizmų/AM kombinacijų galutinis taškas yra aiškus, tačiau kai kurių kombinacijų galutinis taškas nėra aiškus. Jis gali palaipsniui silpnėti ar išlikti vienodas 2 – 3 plokštelės duobutėse iš eilės. Tuomet, kaip galutinis taškas, fiksuojama pirma plokštelės duobutė, kurioje stebima inhibicija.

#### 2.9.3.2. Užterštumas

Užterštumas gali turėti įtakos augimui duobutėje, kuris ribojasi su kitomis duobutėmis, kuriose nėra augimo (šuolis duobučių eilutėje). Į vienos duobutės užterštumą – šuolį galima nekreipti dėmesio ir jį *ignoruoti,* tačiau jei yra užteršta daugiau duobučių plokštelėje, matomi keli šuoliai, tyrimą būtina kartoti.

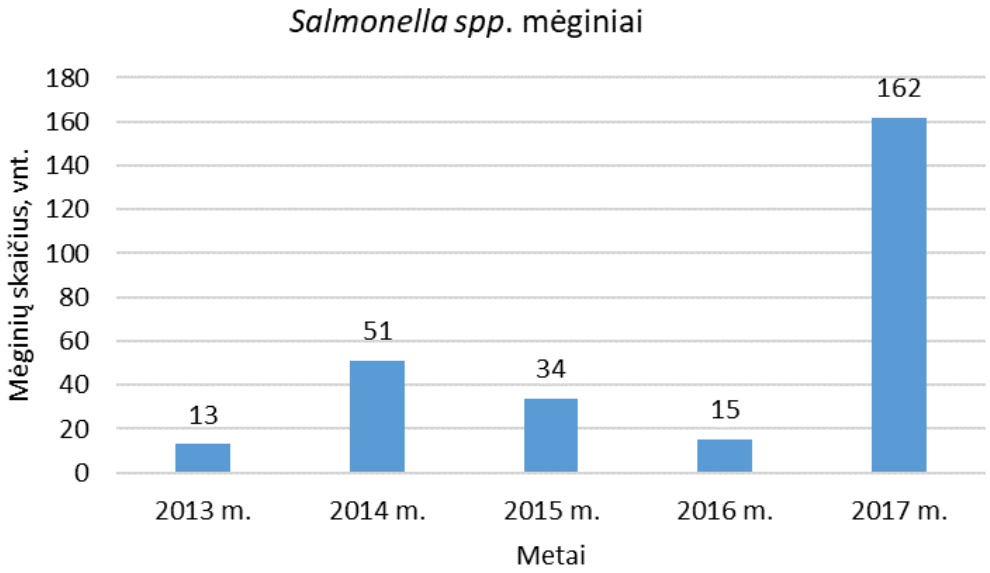
#### 2.9.3.3. Praleistos duobutės

Galima pastebėti atsitiktinai praleistas duobutes – kai duobutė, kurioje nėra augimo, ribojasi su kitomis duobutėmis, kuriose matomas augimas. Įmanomos įvairios šio reiškinio priežastys: užterštumas, mutacijos, nelygus padengimas, netinkamos dozės. Pavienės praleistos duobutės nėra vertinamos, jos ignoruojamos, tačiau norint užtikrinti efektyvią AM terapiją, negalimą praleistos duobutės užskaityti ir vertinti kaip MIK. Visuomet bendroje sekoje vertinama mažiausios duobutės koncentracija, kurioj nėra augimo.

# 3.REZULTATAI

## 3.1. Statistinė duomenų analizė

2013 – 2017 m. laikotarpiu Nacionalinio maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo instituto Vilniaus skyriuje buvo gauti 275 *Salmonella* spp. bakterijų mėginiai. 2013 m. buvo užfiksuota 13 *Salmonella* užkrėstumo atvejų, 2014 m. 51, 2015 m. 34, 2016 m. 15 ir 2017 m. 162 atvejai (6 pav). Per paskutiniuosius metus stebimas labai ryškus *Salmonella* spp. bakterijų kiekio augimas.




**6 pav.** *Salmonella* spp. mėginių skaičius (vnt.) gautas NMVRVI 2013 - 2017 m. laikotarpiu.

### 3.1.1. *Salmonella* spp. grupės ir identifikuoti serotipai

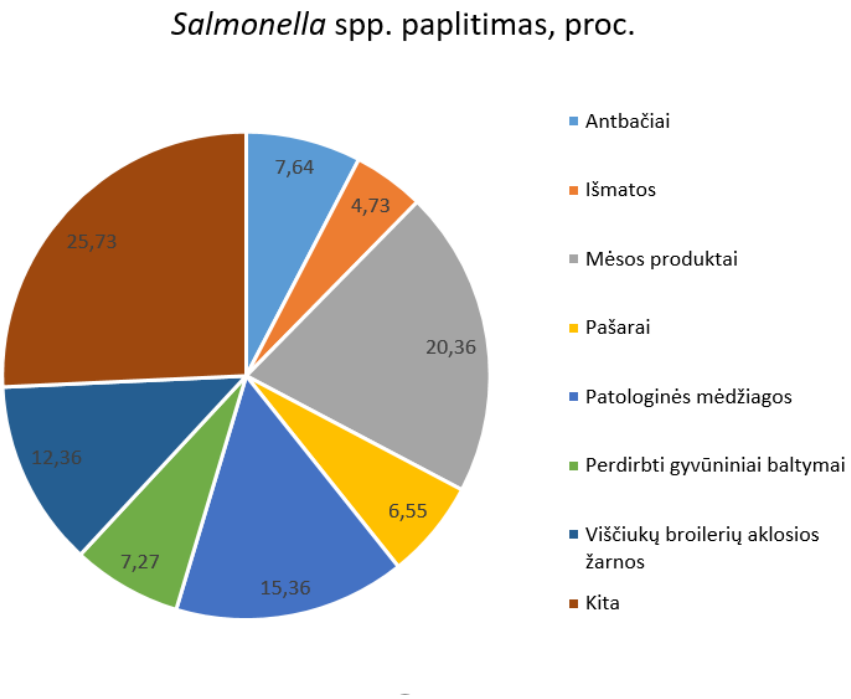
2013 – 2017 m. NMVRVI Vilniaus skyriuje identifikuoti 25 skirtingi *Salmonella* spp. serotipai, taip pat atlikti tyrimai pagal O ir pagal H antigenus identifikuojamoms *Salmonella* spp. bakterijoms. 7 tirtų mėginių serotipai nustatyti nebuvo.

**Lentelė 2.** 2013 - 2017m. NMVRVI Vilniaus skyriuje gautų ir identifikuotų Salmonella spp. bakterijų kiekis, vnt.

| **Serotipas** | **2013 m.** | **2014 m.** | **2015 m.** | **2016 m.** | **2017 m.** | **Iš viso:** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *S. enterica* ser. Agona | 0 | 2 | 1 | 0 | 7 | 10 |
| *S. enterica* ser. Bovismorbificans | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *S. enterica* ser. Bredeney | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 3 |
| *S. enterica* ser. Coeln | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 |
| *S. enterica* ser. Czernyring | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| *S. enterica* ser. Derby | 0 | 2 | 0 | 5 | 10 | 17 |
| *S. enterica* ser. Dublin | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *S. enterica* ser. Enteritidis | 5 | 8 | 18 | 0 | 36 | 67 |
| *S. enterica* ser. Gallinarum | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 4 |
| *S. enterica* ser. Havana | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| *S. enterica* ser. Indiana | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| *S. enterica* ser. Infantis | 4 | 12 | 14 | 2 | 22 | 54 |
| S. *enterica* ser. Isangi | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| *S. enterica* ser. Kentucky | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| *S. enterica* ser. Korovi | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *S. enterica* ser. Livingstone | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 |
| *S. enterica* ser. London | | 0 | 0 | 6 | 9 | 15 |
| *S. enterica* ser. Mbandaka | 1 | 4 | 0 | 0 | 5 | 10 |
| *S. enterica* ser. Newport | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *S. enterica* ser. Ohio | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *S. enterica* ser. Schwarzengrud | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| *S. enterica* ser. Stanley | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| *S. enterica* ser. Telhashomer | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| *S. enterica* ser. Typhimurium | 1 | 2 | 0 | 1 | 2 | 6 |
| *S. enterica* ser. Virchow | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| *Salmonella* spp. O:3,10 gr. | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| *Salmonella* spp. O:7 gr | 0 | 1 | 0 | 0 | 25 | 26 |
| *Salmonella* spp. O:4 gr. | 0 | 1 | 0 | 0 | 9 | 10 |
| *Salmonella* spp. O:21 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Salmonella* spp. O:41 gr. | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| *Salmonella* spp. O:8 gr. | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| *Salmonella* spp. O:9 gr. | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| *Salmonella* spp. (4.5.12:i:-) | 0 | 1 | 0 | 0 | 13 | 14 |
| *Salmonella* spp. (6,7:$z_{10}$:-) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Salmonella* spp. | 0 | 5 | 1 | 0 | 1 | 7 |
| Iš viso: | 13 | 51 | 34 | 15 | 162 | 275 |

Dažniausiai fiksuoti *Salmonella* serotipai buvo *S. enterica* ser. Enteritidis 24,36%, *S. enterica* ser. Infantis 19,6%, *S. enterica* ser. Derby 6,18%, *S. enterica* ser. London 5,45%, *S. enterica* ser. Agona 4,08% ir *S. enterica* ser. Mbandaka 4,08%. Taip pat identifikuotos bakterijos pagal jų somatinius O antigenus: *Salmonella* spp. O:7 grupė 9,45%, *Salmonella* spp. O:4 gr. 4,08%. Bakterijos identifikuotos pagal žiuželio H antigeną: *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- 5,09%.

### 3.1.2. *Salmonella* spp. paplitimas




**7 pav.** Tirtų *Salmonella* spp. bakterijų paplitimas mėginių kategorijose, proc. (%)

Pagrindiniai *Salmonella* spp. mėginių šaltiniai buvo mėsos produktai 20,36%, patologinės medžiagos 15,63%, viščiukų broilerių aklosios žarnos 12,36%, antbačiai 7,64%, perdirbti gyvūniniai baltymai 7,27%, pašarai 6,55%, išmatos 4,73%. Taip pat gauti dulkių, maisto produktų (ne mėsos), kepurėlių, tepinėlių, alaus mielių mėginiai (7 pav).

45,45% visų gautų mėginių kilmė yra susijusi su vištomis, tokie mėginiai yra vištienos mėsos produktai, vištų patologinė medžiaga (pvz.: vištų kaklų odos, vištų galvos), viščiukų broilerių aklosios žarnos, kiaušiniai, vištų išmatos, antbačiai. Iš šių mėginių 41% yra *S. enterica* ser. Enteritidis, 32% sudaro *S. enterica* ser. Infantis, 5% sudaro *S. enterica* ser. London. Duomenys pateikti 3 lentelėje.

**3 Lentelė.** *Salmonella* spp. bakterijų serotipai bei grupės vištų ir jų aplinkos mėginiuose.

| *Salmonella* spp.vištų ir jų aplinkos mėginiuose | | |
|---|---|---|
| Serotipas/grupė | Kiekis vnt. | Kiekis proc. |
| *S. enterica* ser. Agona | 1 | 0,8 |
| *S. enterica* ser. Coeln | 4 | 3,2 |
| *S. enterica* ser. Derby | 2 | 1,6 |
| *S. enterica* ser. Enteritidis | 51 | 40,8 |
| *S. enterica* ser. Gallinarum | 2 | 1,6 |
| *S. enterica* ser. Indiana | 1 | 0,8 |
| *S. enterica* ser. Infantis | 40 | 32 |
| *S. enterica* ser. Isangi | 1 | 0,8 |
| *S. enterica* ser. *Kentucky* | 1 | 0,8 |
| *S. enterica* ser. Livingstone | 1 | 0,8 |
| *S. enterica* ser. *London* | 6 | 4,8 |
| *S. enterica* ser. Mbandaka | 4 | 3,2 |
| *Salmonella* spp. O:7 gr. | 9 | 7,2 |
| *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- | 1 | 0,8 |
| *Salmonella* spp. *6,7:z10:*- | 1 | 0,8 |

8% gautų mėginių kilmė susijusi su kiaulėmis, tai yra kiaulienos mėsos produktai, nuoplovos bei tepinėliai nuo kiaulių skerdenų. 54,55% šių mėginių sudarė *S. enterica* ser. Derby, 18,18% mėginių yra *S. enterica* ser. Infantis izoliatai (žr. 4 lentelė).

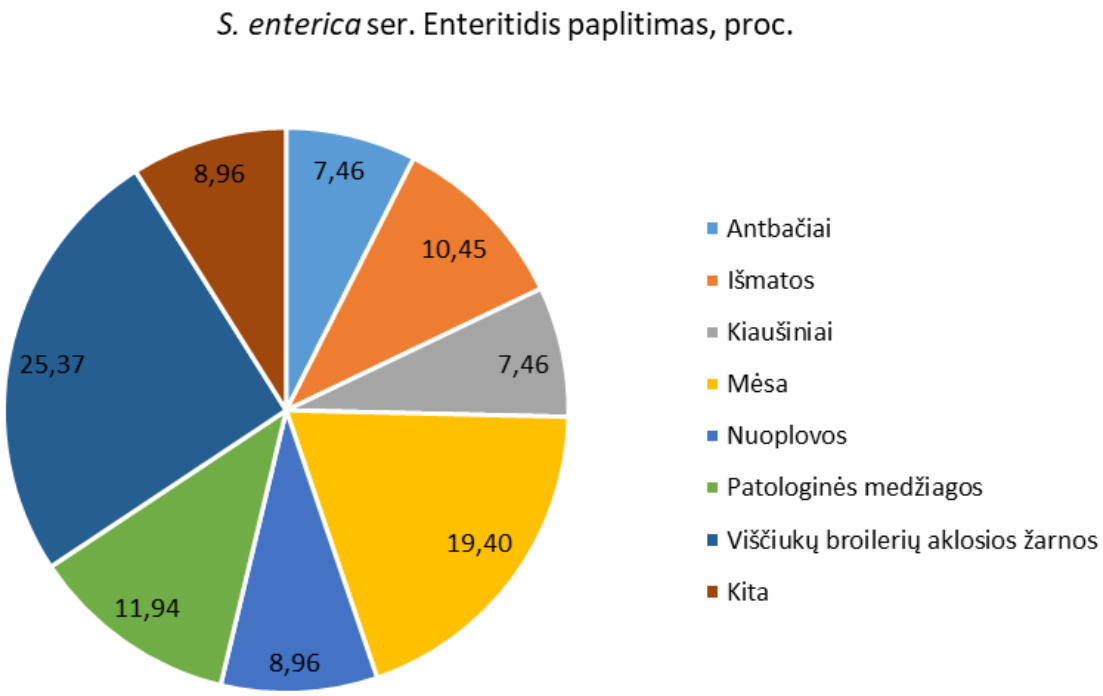
**4 Lentelė.** *Salmonella* spp. bakterijų. serotipai bei grupės kiaulių ir jų aplinkos mėginiuose.

| *Salmonella spp.* kiaulių ir jų aplinkos mėginiuose | | |
|---|---|---|
| Serotipas/grupė | Kiekis, vnt. | Kiekis, proc. |
| *S. enterica* ser. Bredeney | 1 | 4,55 |
| *S. enterica* ser. Derby | 12 | 54,55 |
| *S. enterica* ser. Dublin | 1 | 4,55 |
| *S. enterica* ser. Enteritidis | 1 | 4,55 |
| *S. enterica* ser. Infantis | 4 | 18,18 |
| *S. enterica* ser. Typhimurium | 1 | 4,55 |
| *Salmonella* spp. *4.5.12:i:*- | 1 | 4,55 |
| *Salmonella* spp. O:8 gr. | 1 | 4,55 |

6,54% visų gautų mėginių sudaro pašarai. 38,89% šių mėginių sudaro *Salmonella* spp. O:7 grupė.

2,18% mėginių kilmė yra susijusi su kalakutais. Mėsos produktų, antbačių ir patologinės medžiagos mėginiai. 25% mėginių yra *S. enterica* ser. London.

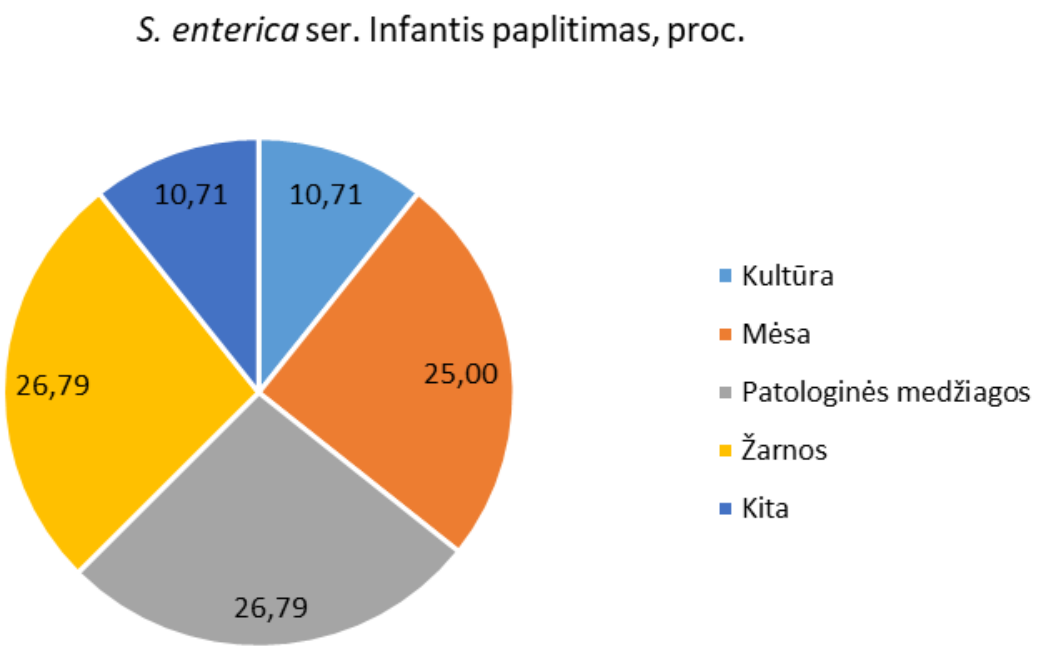
### 3.1.3. *Salmonella enterica* porūšio *enterica* serotipo Enteritidis mėginių analizė:




**8 pav.** *S. enterica* ser Enteritidis bakterijų paplitimas proc. (%).

Dažniausiai fiksuotas *Salmonella enterica* porūšis *enterica* serotipas Enteritidis. Pagrindiniai šio serotipo šaltiniai pavaizduoti 8 paveiksle. 23,37% izoliatų gauti iš viščiukų broilerių aklųjų žarnų, 19,40% mėginių sudaro mėsos produktai, 11,94% patologinės medžiagos (viščiukų broilerių kaklų odelės), 10,45% mėginių yra vištų išmatos. Kitus mėginius sudaro: dulkių mėginiai, grynos kultūros, maisto (ne mėsos) produktai, pašarai. 2013 m. šis serotipas fiksuotas tik vištienoje (viščiukų broilerių kaklo odelių mėginiuose). 2014 m. 57,14% visų *S. enterica* ser. Enteritidis mėginių buvo vištienos produktai. 2015 m., vykdant salmoneliozės paplitimo tyrimus, didžiausias užkrėstumas fiksuotas viščiukų broilerių aklųjų žarnų mėginiuose 88,89%. 2016 m. NMVRVI Vilniaus skyriuje nebuvo fiksuota *S. enterica* ser. Enteritidis atvejų. 2017 m. iš viso fiksuoti 36 *S. enterica* ser. Enteritidis atvejai, 33,33% mėginių yra vištiena.

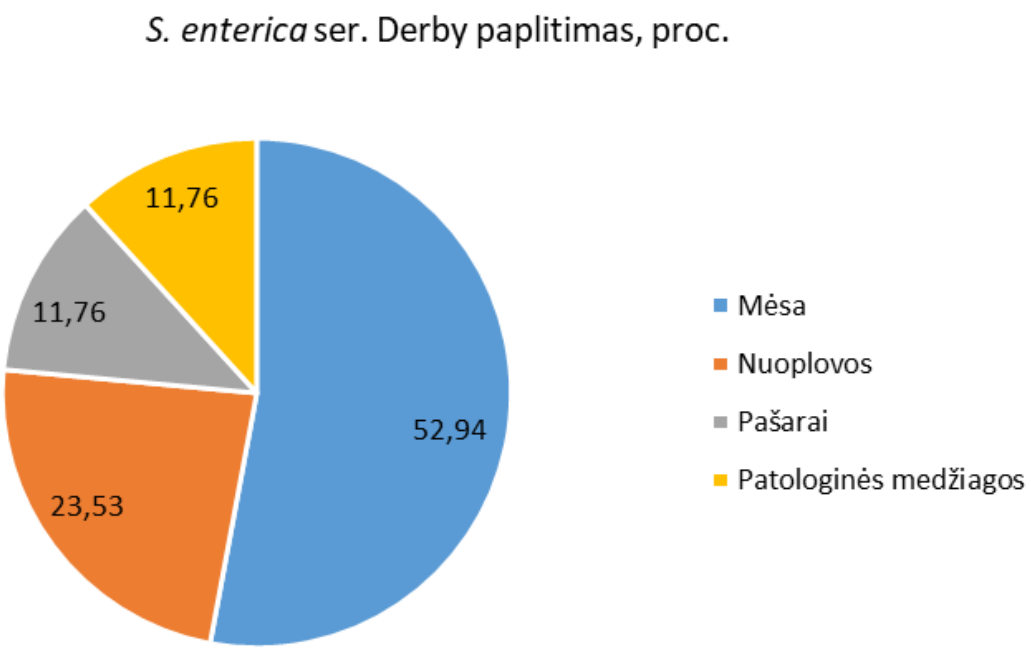
### 3.1.4. *Salmonella enterica* porūšio *enterica* serotipo Infantis mėginių analizė




**9 pav** *S. enterica* ser. Infantis bakterijų paplitimas proc. (%).

Skritulinė diagrama vaizduoja, kad šiame tyrime dažniausi *S. enterica* ser. Infantis bakterijų šaltiniai yra patologinės medžiagos (viščiukų broilerių kaklų odelės) ir viščiukų broilerių aklosios žarnos, mėginiai sudaro po 26,79%. Šis serotipas dažnai izoliuojamas iš mėsos produktų - 25,00%. Taip pat buvo gautos grynos *S. enterica* ser. Infantis kultūros, nuoplovos ir pašarai. Visų mėginių gautų 2013 – 2016 m. laikotarpiu kilmė – vištos. 46,87% mėginių sudaro viščiukų broilerių kaklų odelės, 53,13% mėginių – viščiukų broilerių aklosios žarnos. 2017 m. gautų *S. enterica* ser. Infantis mėginių 58,33% sudaro mėsos produktai (71,43% - vištiena, 28,57% - kiauliena), 25,00% yra gauta gryna bakterijų kultūra (9 pav.).

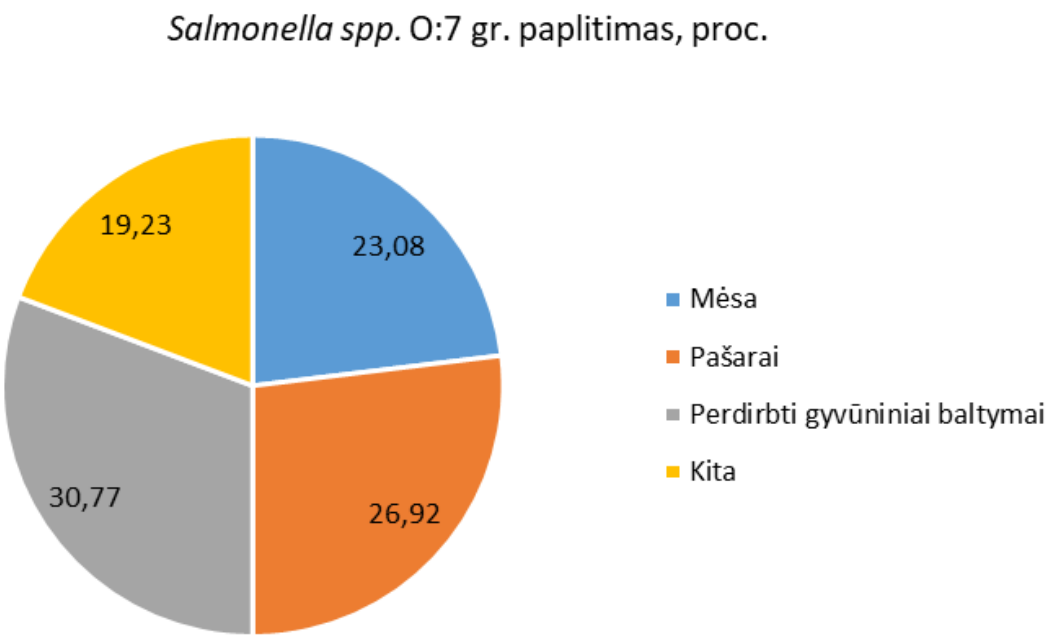
### 3.1.5. *Salmonella enterica* porūšio *enterica* serotipo Derby mėginių analizė




**10 pav.** *S. enterica* ser. Derby bakterijų paplitimas proc.

Pagrindinis *S. enterica* ser. Derby bakterijų šaltinis yra mėsos produktai 52,94%. Didžioji dauguma šių mėsos produktų yra kiauliena 88,88%, 11,11% sudaro vištiena. Taip pat *S. enterica* ser. Derby dažnai aptinkamos nuoplovose 23,53%, visi nuoplovų mėginiai yra nuo kiaulių skerdenų (10 pav.). Todėl 76,47% visų *S. enterica* ser. Derby mėginių kilmė yra kiaulės. 2013 ir 2015 m. Šio serotipo bakterijų izoliatų nebuvo gauta. 2014 m. gautas pašaro ir kiaulienos mėginys. 2016 m. gauti visi nuoplovų nuo kiaulių skerdenų mėginiai, o 2017 m. 70% gautų mėginių sudaro kiaulienos mėsa, 20% sudaro patologinė medžiaga (viščiukų broilerių kaklų odelės).

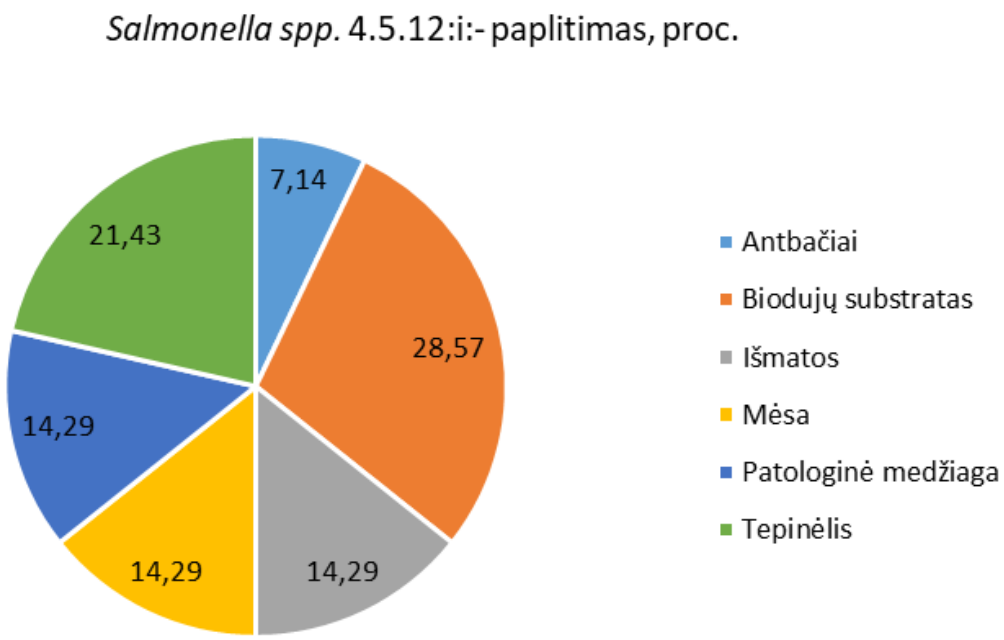
### 3.1.6. *Salmonella* spp. O:7 grupės bakterijų mėginių analizė




**11 pav.** *Salmonella* spp. O:7 grupės bakterijų paplitimas proc. (%).

*Salmonella* spp. O:7 grupės bakterijos dažniausiai izoliuotos iš perdirbtų gyvūninių baltymų (pvz.: kaulų miltai) 30,77% ir pašarų 26,92%. Taip pat dažnas šių bakterijų šaltinis yra mėsos produktai 23,08% (11 pav.). Visi tirti mėsos mėginiai, kuriuose rasta *Salmonella* spp. O:7 gr. bakterijų, yra vištiena. Taip pat tirti lesalo, vištienos atliekų, antbačių bei patologinių medžiagų mėginiai. 2014 m. gautas vienas lesalo mėginys. Likę mėginiai, iš kurių buvo izoliuota *Salmonella* spp. O:7 gr. gauti 2017 m.

### 3.1.7. *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- mėginių analizė



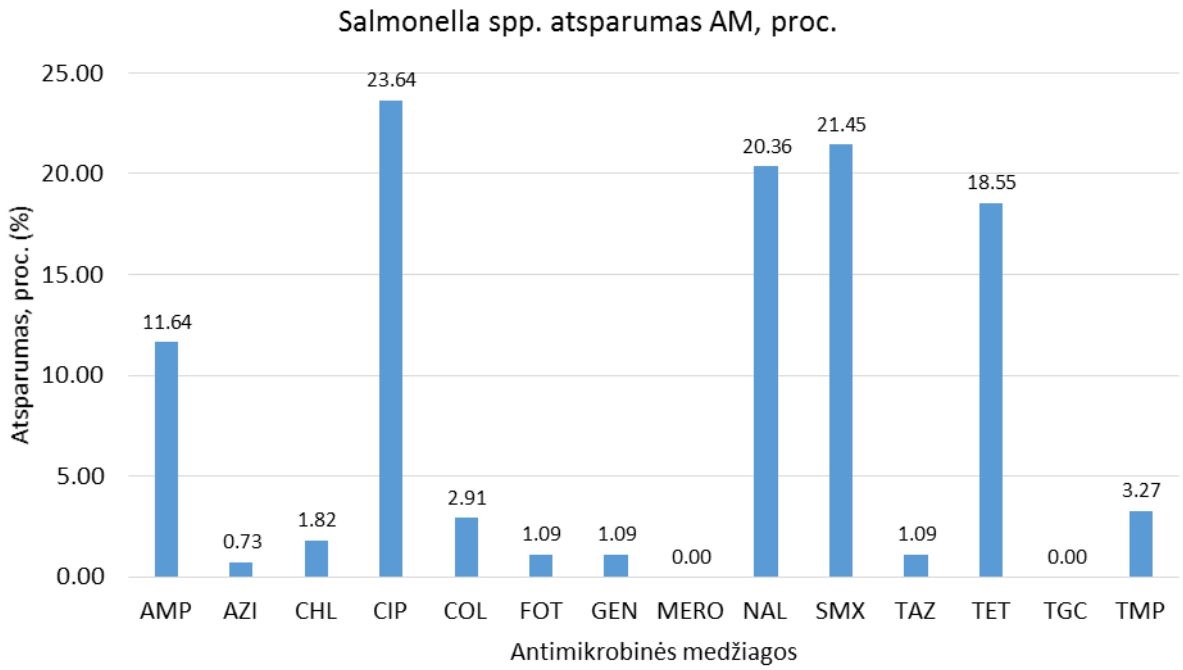

**12 pav.** *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- bakterijų paplitimas proc.(%).

Daugiausia *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- bakterijų izoliuota biodujų substrate 28,57%, iš tepinėlių nuo kiaulienos skerdenų. Taip pat po 14,29% mėginių gauta iš išmatų (karvės bei katės), patologinių medžiagų (veršelio dvėselėna ir galvijo žarnų, kepenų šliuzas) bei mėsos produktų (putpelių ir jautienos) (12 pav.). Vienas patologinės medžiagos mėginys gautas 2014 m., likę mėginiai tirti 2017 m.

### 3.2. Atsparumo antimikrobinėms medžiagoms analizė

#### 3.2.1. Bendra *Salmonella* spp. tirtų mėginių analizė

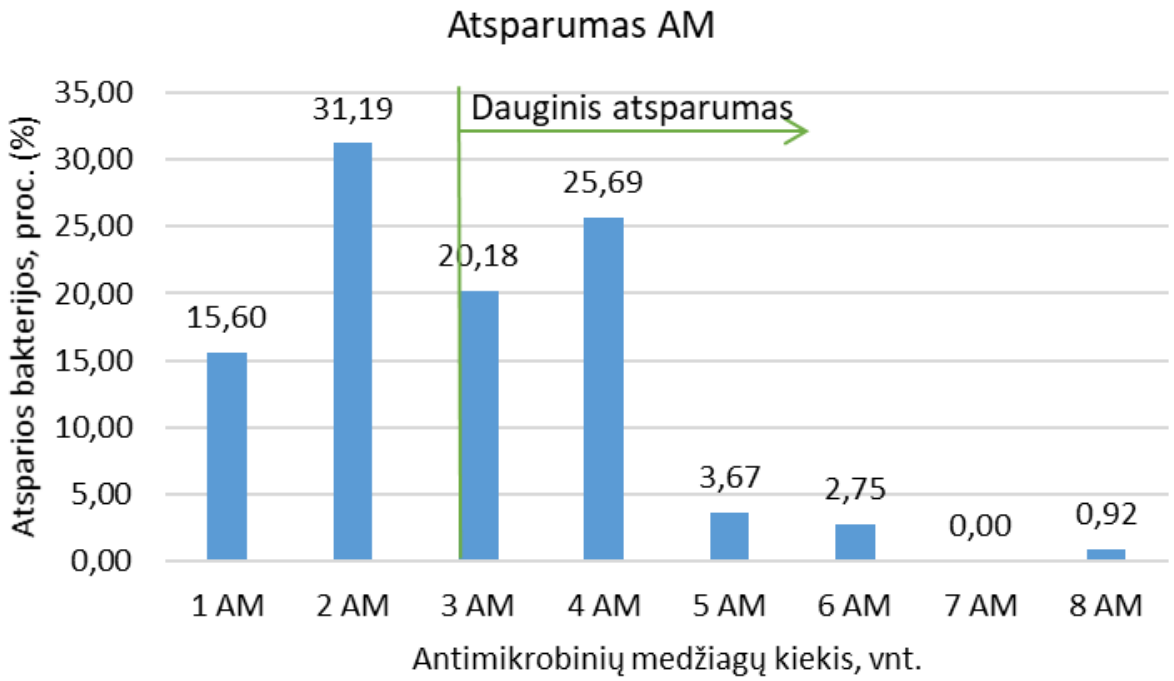
##### 3.2.2.1. *Salmonella* spp. mėginių kiekybinis atsparumo atskiroms antimikrobinėms medžiagoms įvertinimas




**13 pav.** *Salmonella* spp. mėginių atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc. (%). SMX – sulfometoksazolas, TMP – trimetoprimas, CIP – ciprofloksacinas, TET – tetraciklinas, MERO – meropenemas AZI - azitromicinas, NAL – nalidikso rūgštis, FOT – cefotaksimas, CHL – chloramfenikolis, TGC - tigeciklinas, TAZ – ceftazidimas, COL – kolistinas, AMP – ampicilinas, GEN – gentamicinas, POS – teigiama kontrolė.

Kaip matoma iš 13 paveikslo, dažniausiai *Salmonella* spp. bakterijos buvo atsparios ciprofloksacinui 23,63%, sulfametoksazolui 21,45%, nalidikso rūgščiai 20,36%, tetraciklinui 18,55%, ampicilinui 11,64%. Kiekybinis tyrimas parodė, kad *Salmonella* spp. bakterijos yra mažiau atsparios trimetoprimui 3,28%, kolistinui 2,91%, chloramfenikoliui 1,82%, cefotaksimui, ceftazidimui ir gentamicinui po 1,09%, azitromicinui 0,73%. Meropenemui, tigeciklinui ir kolistinui 100% tirtų bakterijų mėginių buvo jautrūs. Kiekybinis tyrimas parodė, kad bakterija, kuri yra atspari nalidikso rūgščiai taip pat bus atspari ir ciprofloksacinui.

### 3.2.1.2. *Salmonella* spp. mėginių kiekybinis atsparumo skirtingoms antimikrobinėms medžiagoms įvertinimas

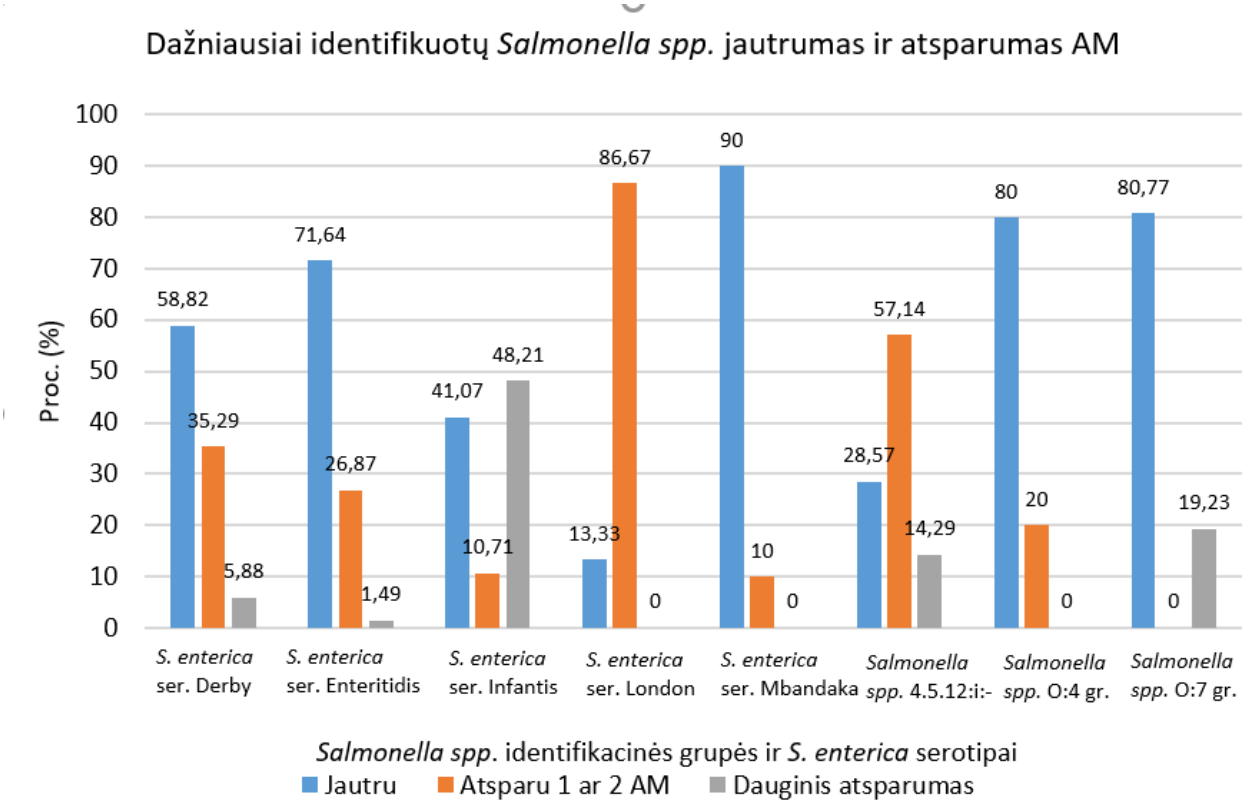



**14 pav.** *Salmonella* spp. bakterijų mėginių atsparumas proc. (%) skirtingam antimikrobinių medžiagų kiekiui (vnt.).

14 paveiksle matoma, kad 60,36% visų *Salmonella* spp. mėginių jautrūs visoms tirtoms antimikrobinėms medžiagoms. Iš 39,64% atsparių bent vienai antimikrobinei medžiagai daugiausiai *Salmonella* spp. mėginių atsparios 2 skirtingoms antimikrobinėms medžiagoms 31,19%, 4 skirtingoms AM 25,69%, 3 skirtingoms AM 20,18% ir 1 antimikrobinei medžiagai 15,60%. Vienas tirtas *Salmonella* spp. O:7 grupės mėginys parodė atsparumą net 8 antibiotikams. 21,09% visų tirtų bakterijų mėginių parodė dauginį atsparumą. 54,95% visų jautrių bent vienai AM mėginių parodė dauginį jautrumą, 39,66% šių mėginių sudaro *S. enterica* ser. Infantis bakterijos, *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- serotipas 15,51%, 8,62% *Salmonella* spp. O:7 grupės bakterijos.

### 3.2.2. Dažniausiai izoliuotų *Salmonella* spp. mėginių analizė

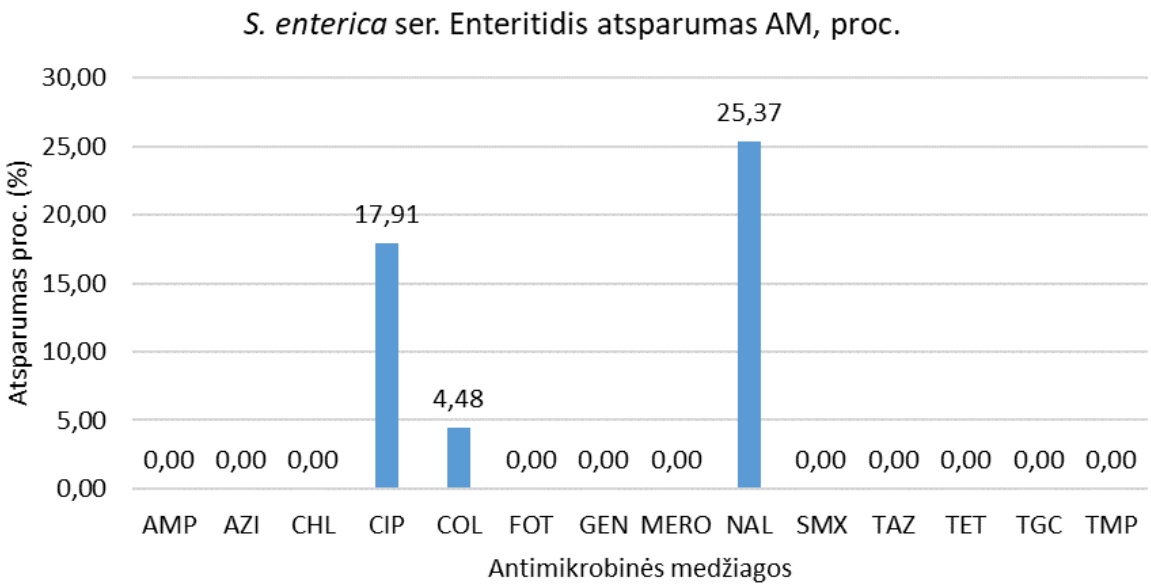
Kiekybinio tyrimo rezultatai, vertinant 5 dažniausiai identifikuotų *Salmonella* spp. serotipų bei grupių bakterijų jautrumą skirtingoms antimikrobinėms medžiagoms, pavaizduoti 15 paveiksle.




**15 pav.** Dažniausiai identifikuotų *Salmonella* spp. bakterijų jautrumas ir atsparumas skirtingoms antimikrobinėms medžiagoms, proc. (%).

15 paveiksle pateikti duomenys rodo, kad didžiausią atsparumą turi *S. enterica* ser. London. 86,67% visų šio serotipo gautų mėginių yra atsparūs bent vienai antimikrobinei medžiagai, tačiau nei vienas šio serotipo mėginys neturi dauginio atsparumo. Taip pat didelį atsparumą parodė *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- 71,43% mėginių bei *S. enterica* ser. Infantis 58,92% visų šio serotipo mėginių. Didžiausias dauginis atsparumas pastebėtas būtent *S. enterica* ser. Infantis 48,21%, bei *Salmonella* spp. O:7 grupėj 19,23%. Jautriausios antimikrobinėms medžiagoms yra *S. enterica* ser. Mbandaka 90% ir *Salmonella* spp. O:4 grupė 80%. Šie mėginiai taip pat neparodė dauginio atsparumo antimikrobinėms medžiagoms.

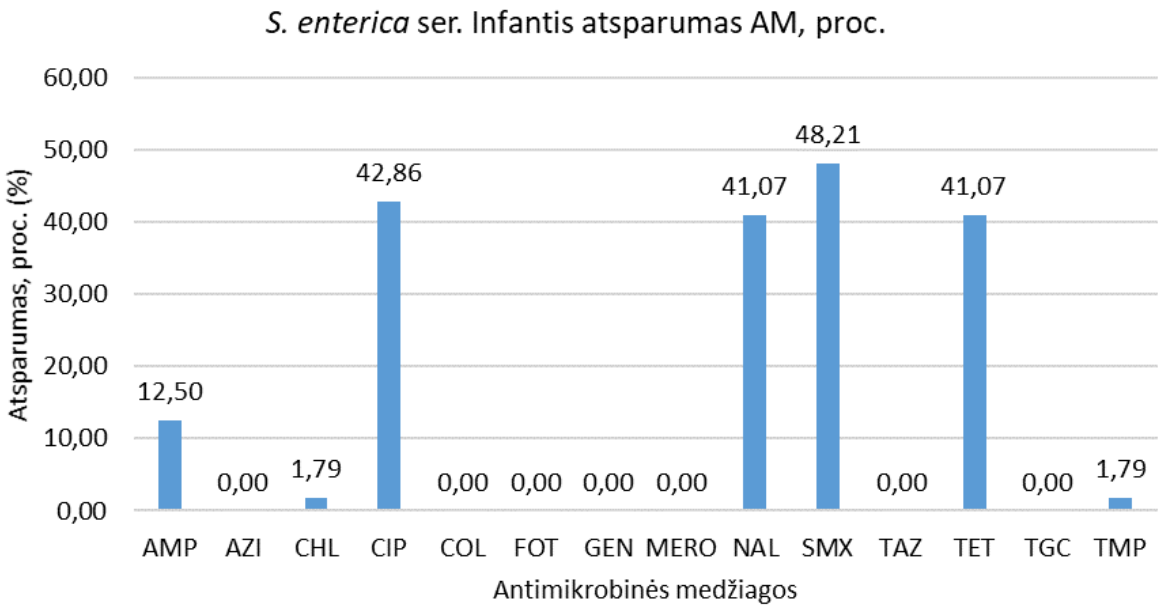
### 3.2.2.1. *Salmonella enterica* porūšio *enterica* serotipo Enteritidis atsparumas antimikrobinėms medžiagoms




**16 pav.** *S. enterica* ser. Enteritidis bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc.(%) SMX – sulfometoksazolas, TMP – trimetoprimas, CIP – ciprofloksacinas, TET – tetraciklinas, MERO – meropenemas AZI - azitromicinas, NAL – nalidikso rūgštis, FOT – cefotaksimas, CHL – chloramfenikolis, TGC - tigeciklinas, TAZ – ceftazidimas, COL – kolistinas, AMP – ampicilinas, GEN – gentamicinas, POS – teigiama kontrolė.

16 paveikslas iliustruoja *S. enterica* ser. Enteritidis mėginių atsparumą skirtingoms antimikrobinėms medžiagoms. Šis serotipas yra jautrus didžiajai daliai tirtų antibiotikų 71,64% (žr. 15 pav.). Atsparumą *S. enterica* ser. Enteritidis parodė nalidikso rūgščiai 25,37% mėginių, ciprofloksacinui 17,91%, kolistinui 4,48% tirtų mėginių. *S. enterica* ser. Enteritidis bakterijų mėginiai atsparūs 21,43% visų tirtų antimikrobinių medžiagų.

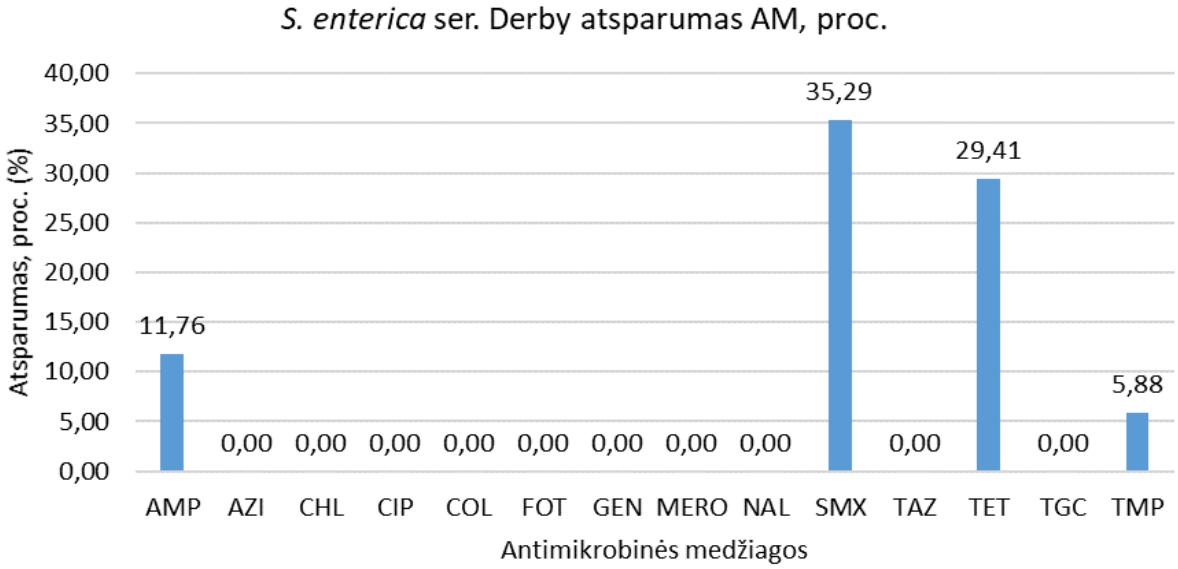
### 3.2.2.2. *Salmonella enterica* porūšio *enterica* serotipo Infantis mėginių atsparumas antimikrobinėms medžiagoms




**17 pav.** *S. enterica* ser. Infantis bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc. (%) SMX – sulfometoksazolas, TMP – trimetoprimas, CIP – ciprofloksacinas, TET – tetraciklinas, MERO – meropenemas AZI - azitromicinas, NAL – nalidikso rūgštis, FOT – cefotaksimas, CHL – chloramfenikolis, TGC - tigeciklinas, TAZ – ceftazidimas, COL – kolistinas, AMP – ampicilinas, GEN – gentamicinas, POS – teigiama kontrolė.

17 paveiksle matoma, kad *S. enterica* ser. Infantis bakterijų mėginiai parodė atsparumą pusei tirtų antimikrobinių medžiagų. Atspariausios šio serotipo bakterijos yra sulfametoksazolui 48,21% visų mėginių, ciprofloksacinui 42,86%. Taip pat nalidikso rūgščiai bei tetraciklinui po 41,07%. Mažiau mėginių buvo atsparūs ampicilinui 12,50% bei chloramfenikoliui ir trimetoprimui po 1,79%. *S. enterica* ser. Infantis tirtos bakterijos atsparios 50% visų analizuotų antimikrobinių medžiagų.

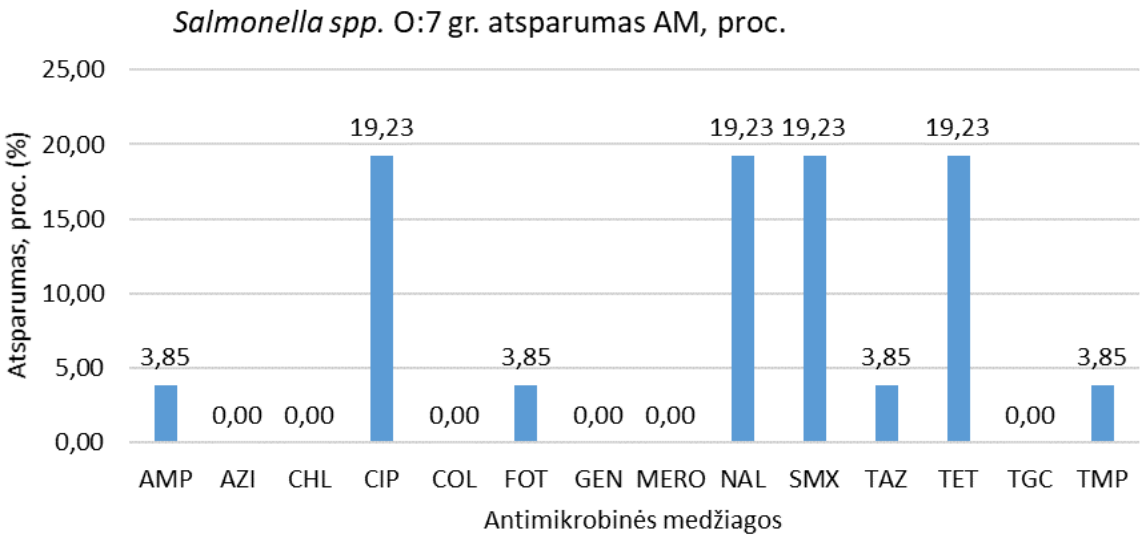
### 3.2.2.3. *Salmonella enterica* porūšio *enterica* serotipo Derby mėginių atsparumas antimikrobinėms medžiagoms




**18 pav.** *S. enterica* ser. Derby bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc. (%). SMX – sulfometoksazolas, TMP – trimetoprimas, CIP – ciprofloksacinas, TET – tetraciklinas, MERO – meropenemas AZI - azitromicinas, NAL – nalidikso rūgštis, FOT – cefotaksimas, CHL – chloramfenikolis, TGC - tigeciklinas, TAZ – ceftazidimas, COL – kolistinas, AMP – ampicilinas, GEN – gentamicinas, POS – teigiama kontrolė.

Aukščiau pateiktame 18 paveiksle matomas *S. enterica* ser. Derby bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms. Daugiausiai mėginių buvo atsparūs sulfametoksazolui 35,29% ir tetraciklinui 29,41%. 11,76% mėginių parodė atsparumą ampicilinui, 5,88% mėginių buvo atsparūs trimetoprimui. *S. enterica* ser. Derby bakterijų mėginiai atsparūs 28,57% tirtų antimikrobinių medžiagų.

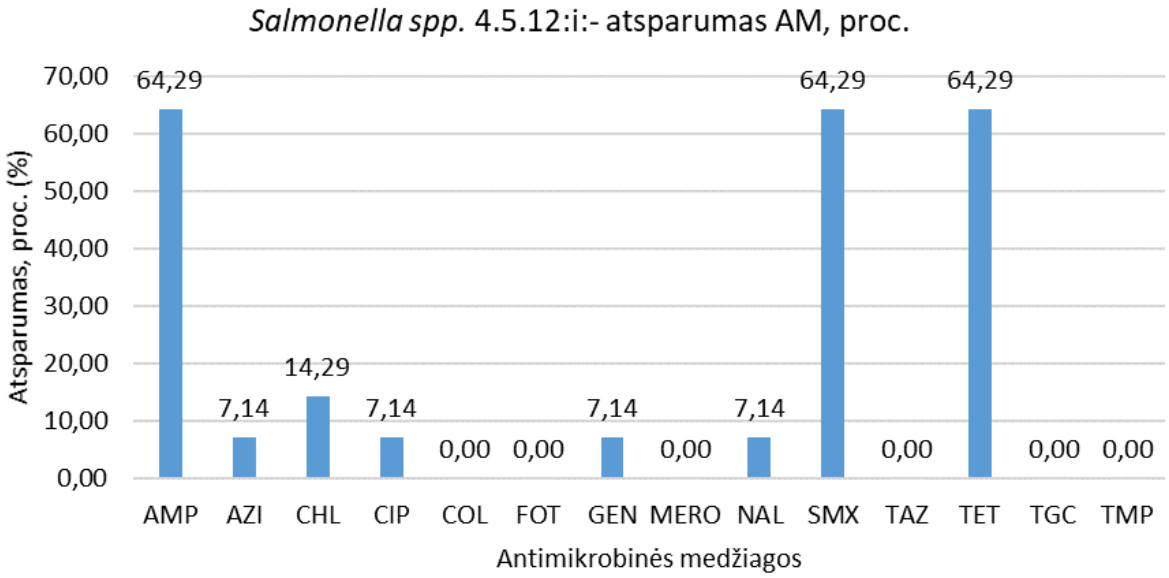
### 3.2.2.4. *Salmonella* spp. O:7 grupės bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms




**19 pav.** *Salmonella* spp. O:7 grupės atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc.(%). SMX – sulfometoksazolas, TMP – trimetoprimas, CIP – ciprofloksacinas, TET – tetraciklinas, MERO – meropenemas AZI - azitromicinas, NAL – nalidikso rūgštis, FOT – cefotaksimas, CHL – chloramfenikolis, TGC - tigeciklinas, TAZ – ceftazidimas, COL – kolistinas, AMP – ampicilinas, GEN – gentamicinas, POS – teigiama kontrolė.

Kaip nurodyta 19 paveiksle, daugiausiai *Salmonella* spp. O:7 gr. mėginių buvo atsparių ciprofloksacinui, nalidikso rūgščiai, sulfametoksazolui ir tetraciklinui, po 19,23%. Taip pat po 3,85% visų šios grupės mėginių buvo atsparūs ampicilinui, cefotaksimui ir trimetoprimui. *Salmonella* spp. O:7 gr. bakterijų mėginiai atsparūs 57,15% tirtų antimikrobinių medžiagų.

### 3.2.2.5. *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms

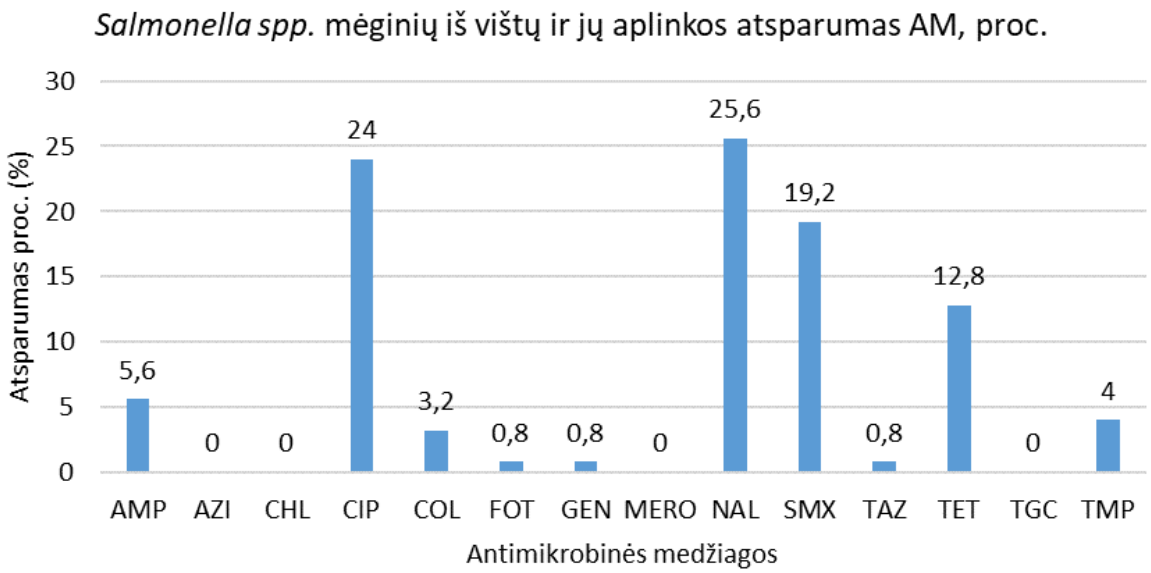



**20 pav.** Salmonella spp. 4.5.12:i:- bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc. (%). SMX – sulfometoksazolas, TMP – trimetoprimas, CIP – ciprofloksacinas, TET – tetraciklinas, MERO – meropenemas AZI - azitromicinas, NAL – nalidikso rūgštis, FOT – cefotaksimas, CHL – chloramfenikolis, TGC - tigeciklinas, TAZ – ceftazidimas, COL – kolistinas, AMP – ampicilinas, GEN – gentamicinas, POS – teigiama kontrolė.

20 paveiksle matoma, kad 64,29% *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- bakterijų mėginių atsparūs ampicilinui, sulfametoksazolui ir tetraciklinui. Taip pat 14,29% mėginių parodė atsparumą chloramfenikoliui, po 7,14% mėginių atsparūs azitromicinui, ciprofloksacinui, gentamicinui ir nalidikso rūgščiai. *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- serotipo bakterijos atsparios 57,15% tirtų antimikrobinių medžiagų.

### 3.2.2.6. *Salmonella* spp. mėginių kilusių iš vištų ir jų aplinkos atsparumas antimikrobinėms medžiagoms

Daugiausia tirtų *Salmonella* spp. bakterijų mėginių kilę iš vištų bei jų aplinkos.




**21 pav.** Salmonella spp. mėginių kilusių iš vištų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc. (%)
SMX – sulfometoksazolas, TMP – trimetoprimas, CIP – ciprofloksacinas, TET – tetraciklinas, MERO – meropenemas AZI - azitromicinas, NAL – nalidikso rūgštis, FOT – cefotaksimas, CHL – chloramfenikolis, TGC - tigeciklinas, TAZ – ceftazidimas, COL – kolistinas, AMP – ampicilinas, GEN – gentamicinas, POS – teigiama kontrolė.

Aukščiau pateiktoje diagramoje (21 pav.) matoma, mėginiai kilę iš vištų (iš viso 125 tokie mėginiai) atspariausi nalidikso rūgščiai 25,6%, ciprofloksacinui 24%, sulfametoksazolui 19,2% ir tetraciklinui 12,8%. Tyrimas parodė, kad *Salmonella* spp. bakterijos identifikuotos iš vištų mėginių yra mažiau atsparios ampicilinui 5,6%, trimetoprimui 4%, kolistinui 3,2%. Cefotaksimui, ceftazidimui ir gentamicinui atsparūs 0,8% mėginių. Meropenemui, chloramfenikoliui ir tigeciklinui absoliučiai visi mėginiai yra jautrūs.

79 *Salmonella* spp. mėginiai izoliuoti iš vištų buvo jautrūs visoms tirtoms antimikrobinėms medžiagoms. 19 mėginių iš 125 (15,2%) parodė dauginį atsparumą antimikrobinėms medžiagoms, t.y. buvo atsparūs ≥3 antibiotikams. 52,63% šių mėginių sudarė *S. enterica* ser. Infantis (10 mėginių), *Salmonella* spp. O:7 grupės serotipai sudarė 21,05% mėginių.

# 4. REZULTATŲ APTARIMAS

Tyrimo metu buvo analizuojami 2013 – 2017 m. NMVRVI Vilniaus skyriuje gauti *Salmonella* spp. bakterijų mėginiai. Tyrimo rezultatai parodė augantį mėginių kiekį, 2017 m. buvo gauta 58,91% visų tirtų mėginių. Lietuvoje užkrečiamųjų ligų ir AIDS (ULAC) centro duomenimis sergamumas salmonelioze paskutinį dešimtmetį mažėja, tačiau vis dar išlieka 2-3 kartų didesnis už Europos Sąjungos vidurkį. 2017 metų pirmąjį pusmetį Lietuvoje užfiksuoti 454 salmoneliozės atvejai, kai tuo pačiu laikotarpiu 2016 metais buvo fiksuoti 373 tokie atvejai. Tai rodo, kad sergamumo rodiklis per pirmąjį 2017 metų pusmetį išaugo 23%. Identifikuoti 25 skirtingi *Salmonella enterica* porūšio *enterica* serotipai. Tyrimas parodė, kad labiausiai paplitusios yra *S. enterica* ser. Enteritidis ir *S. enterica* ser. Infantis bakterijos. Šie rezultatai sutampa su Europos maisto saugos tarnybos duomenis pateiktus 2016 m. Statistiškai labiausiai paplitę yra *S. enterica* ser. Enteritidis, *S. enterica* ser. Typhimurium, *S. enterica* ser. Infantis, *S. enterica* ser. Derby. *S. enterica* ser. Typhimurium tyrimo metu buvo fiksuojamas retai. Tyrimo rezultatai taip pat atitinka EFSA nurodytus duomenis, kad *S. enterica* ser. Enteritidis dažniausiai izoliuojama iš vištų dedeklių (*Gallus gallus domesticus)* ir viščiukų broilerių mėsos. *S. enterica* ser. Infantis siejama su viščiukų broilerių mėsa bei kalakutiena.

Tyrimo metu nustatyta, kad 39,64% visų tirtų *Salmonella* spp. bakterijų yra atsparios bent vienai antimikrobinei medžiagai, o 21, 09% bakterijų yra atsparios 3 ar daugiau antibiotikų. Didžiausią antimikrobinį atsparumą turi *S. enterica* ser. London, tačiau ji dažniausiai atspari 1 arba 2 antibiotinei medžiagai. O *S. enrterica* ser. Infantis turi didžiausią dauginį atsparumą (48,21% visų šio serotipo mėginių).

Atlikus kiekybinį tyrimą pastebėta, kad dažniausiai *Salmonella* spp. bakterijos yra atsparios ciprofloksacinui (23,63%), sulfametoksazolui (21,45%) ir nalidikso rūgščiai (20,36%). Taip pat pastebėta tendencija, kad visi mėginiai, kurie yra atsparūs nalidikso rūgščiai bus atsparūs ir ciprofloksacinui. Abu šie antibiotikai priklauso kvinolonų klasei ir inhibuoja DNR girazės bei topoizomerazės IV veikimą (K. Drlica, X. Zhao, 1997).

ULAC pateikiamais duomenimis maistiniai gyvūnai yra gydomi antibiotinėmis medžiagomis: makrolidais, tetraciklinais, kvinolonais, β – laktamais, amino glikozidais. Nuo 2006 m. Europoje uždrausta gyvūnus maitinti pašarais su antibiotikais. XX a. į maistinių gyvūnų pašarus buvo pridedama antibiotikų kaip maisto papildų. Pagrindiniai antibiotikai, kurie buvo naudojami kaip maisto priedai yra penicilinai ir tetraciklinai (National Research Council, 1980).

2001 m. atliktas tyrimas parodė, kad JAV per metus sunaudojama 11,2 mln. kg antibiotikų kaip maisto papildai galvijams (M. Mellon, 2001). Dažnas antibiotikų naudojimas

gyvuliams šerti yra viena pagrindinių priežasčių, kodėl dabar dalis *Salmonella* spp. bakterijų yra atsparios šioms antimikrobinėms medžiagoms. Taip pat platus ir dažnas antibiotikų naudojimas medicinoje sudarė sąlygas bakterijų atsparumui šiems preparatams atsirasti.

2010 m. Kaune atliktas tyrimas, kurio metu izoliuotos bakterijos iš gyvūninės kilmės žalių maisto produktų ir tikrinamas jų jautrumas antimikrobinėms medžiagoms. Iš kiaulienos ir paukštienos išskirtos *Salmonella* spp. bakterijos. Rezultatai parodė, kad *Salmonella enterica* porūšio *enterica* bakterijos didžiausią atsparumą turi nalidikso rūgščiai 46,3%, ampicilinui 22,5%, tetraciklinui 15%, sulfametoksaolui/trimetoprimui 8,8%. (E. Vertinskaitė, 2010)

2004 m. Jungtinėse Amerikos Valstijose ir Kinijoje buvo izoliuoti 133 *Salmonella* spp. mėginiai. 82% šių mėginių buvo atsparūs bent vienai tiriamajai antimikrobinei medžiagai. Daugiausiai mėginių atsparūs tetraciklinui 68%, sulfametoksazolui 42,00%, ampicilinui 29,00%, 14,00% taip pat atsparūs nalidikso rūgščiai (S. Chen, et.al, 2004).

2009 m. O. Iseri ir I. Erol atliko tyrimą, kurio tikslas buvo izoliuoti *Salmonella* spp. bakterijas iš kalakutienos mėginių ir nustatyti jų atsparumą antimikrobinėms medžiagoms diskų difuzijos metodu. Iš 240 mėginių 45,8% buvo infekuoti *Salmonella* spp. bakterijomis. 49,00% bakterijų buvo atsparios bent vienam antibiotikui, 12,70% atsparios daugiau nei 1 antibiotikui. 25,40% bakterijų atsparios nalidikso rūgščiai, 17,2% streptomicinui, 15,4% tetraciklinui (O. Iseri, I Erol, 2009)

2009 ir 2012 m. Kinijoje atlikto tyrimo tikslas buvo išsiaiškinti *Salmonella* spp. bakterijų paplitimą maistiniuose gyvūnuose ir jų antimikrobinį atsparumą. 99,1% bakterijų mėginių buvo atsparūs bent vienam antibiotikui. 2009 m. 81,4% mėginių buvo atsparūs nalidikso rūgščiai, 19,8% atsparūs trimetoprimui/sulfametoksazolui, 13,2% atsparūs gentamicinui ir 11,9% mėginių atsparumą parodė ampicilinui. 2012 m. 95,95% mėginių buvo atsparūs nalidikso rūgščiai, 71,4% ampicilinui 61, 9% atsparūs trimetoprimui/sulfametoksazolui, 55,5% gentamicinui, 50,3% gentamicinui. Labiausiai paplitęs buvo *S. enterica* ser. Enteritidis 72% visų mėginių (J. Lai, et.al. 2014).

Apibendrinant rezultatus reikia paminėti, kad gauti kiekybinio tyrimo rezultatai yra panašūs į kitus šia tematika atliktus tyrimus. Pagrindinės antimikrobinės medžiagos, kurioms yra atsparios *Salmonella* spp.bakterijos yra nalidikso rūgštis, sulfametoksazolas, ampicilinas ir tetraciklinas. Nors statistiškai sergamumas *Salmonella* spp. sukeliamomis ligomis neauga, tačiau bakterijų didėjantis dauginis atsparumas kelia nerimą, nes ši tendencija imponuoja, kad greitu metu antibiotinės medžiagos nebus naudingos tam tikrų ligų gydime. Vienas veiksmingiausių būdų

sustabdyti tolesnį antimikrobinio atsparumo vystymąsi yra griežta antibiotinių medžiagų kontrolė medicinos, veterinarijos, gyvulininkystės srityse.

## IŠVADOS

1. 39.64% tirtų *Salmonella* spp. bakterijų yra atsparios bent vienai antimikrobinei medžiagai. 21,09% visų tirtų bakterijų mėginių turi dauginį atsparumą.
2. Labiausiai paplitę serotipai yra *S. enterica* ser. Enteritidis, *S. enterica* ser. Infantis, *S. enterica* ser. Derby, *Salmonella* spp. O:7 gr. Ir *Salmonella* spp. 4.5.12:i:-.
3. *S. enterica* ser. Infantis turi didžiausią dauginį atsparumą iš visų identifikuotų *Salmonella* spp. bakterijų.
4. Mėginiai, kurie yra atsparūs nalidikso rūgščiai taip pat bus atsparūs ir ciprofloksacinui. Šie antibiotikai priklauso taip pačiai antibiotikų grupei.

VILNIAUS UNIVERSITETAS
GAMTOS MOKSLŲ FAKULTETAS
MIKROBIOLOGIJOS IR BIOTECHNOLOGIJOS KATEDRA
Ieva Daukantaitė

# ***Salmonella* spp. atsparumas antimikrobinėms medžiagoms**

Bakalaurinio darbo
SANTRAUKA

Šio darbo tikslas nustatyti ir įvertinti *Salmonella* spp. bakterijų atsparumą tam tikroms antimikrobinėms medžiagoms. Tyrimas buvo atliekamas kiekybiniu mikroskiedimų metodu, 96 apvalių šulinėlių su liofilintomis antimikrobinėmis medžiagomis plokštelėse, nustatomas bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms *in vitro.*

Iš viso ištirti 275 *Salmonella* spp. bakterijų mėginiai, kurių 39,64% atsparūs bent vienai antimikrobinei medžiagai ir 21,09% mėginių turi dauginį atsparumą antimikrobinėms medžiagoms. Darbo metu pastebėta, kad visi mėginiai atsparūs nalidikso rūgščiai taip pat yra atsparūs ciprofloksacinui.

Nustatya, kad labiausiai paplitę yra *S. enterica* ser. Enteritidis, *S. enterica* ser. Infantis, *S. enterica* ser. Derby, *Salmonella* spp. O:7 gr. ir *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- serotipai. O pagrindinės paplitimo nišos yra mėsos produktai (vištiena ir kiauliena) bei vištų patologinės medžiagos.

VILNIUS UNIVERSITY
FACULTY OF NATURAL SCIENCES
DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY
Ieva Daukantaitė

# *Salmonella* spp. antimicrobial resistance

Bachelor thesis

## SUMMARY

The aim of this work was to determine and evaluate *Salmonella* spp. resistance to certain antimicrobial drugs. Annalysis was executed by quantitative microdilution technique within plate of 96 wells filled with lyophilized antimicrobial drugs and the resistance of bacteria to drugs *in vitro* was evaluated.

All in all the tests were executed for 275 samples. 39,64% of them indicated resistance to at least one of the antimicrobial substances and 21,09% showed multidrug resistance. What is more it was noticed that all samples that were resistant to nalidixic acid were also resistant to ciprofloxacin.

Biggest prevalence showed *S. enterica* ser. Enteritidis, *S. enterica* ser. Infantis, *S. enterica* ser. Derby, *Salmonella* spp. O:7 gr. ir *Salmonella* spp. 4.5.12:i:- serotypes. Main niche for *Salmonella* spp. bacteria are meat produces (chicken and pork) ant pathological substances from chicken.

# LITERATŪRA


A. Andino, I. Hanning. *Salmonella enterica:* Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. Scientific World Journal. 2015: 520179.

A. Klochko, M. R. Wallace, F. Talavera, J. L. Brusch. *Salmonella* Infection (Salmonellosis) Treatment & Management [ interaktyvus] [žiūrėta 2018.05.19]. Adresas: https://emedicine.medscape.com/article/228174-treatment

C. J. Anderson, M. M. Kendall. *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Strategies for Host Adaptation. Front Microbiol. 2017, 12;8:1983.

C. J. Murray. *Salmonellae* in the Environment. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 1991, 10 (3). p. 765 – 785

D. A. Tabo, S. A. Granier, C. D. Diguimbaye, M. Marault, A. Brisabois, B. Mama, Y. Millemann. Are *Salmonella* – Induced Gastroeneritis Neglected in Developing Countries? Feedback from Microbiological Investigations in N'Djamena Hospitals, Chad.Plos ONE, 2015, 10 (8).

D'Aoust J.Y., Maurer J. *Salmonella* Species. In: Doyle M.P., Beuchat L.R., editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, Third Edition. ASM Press, Wahington, DC, 2007. p. 187 – 236.

E. J. Threlfall. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water –borne infections. FEMS Microbiol Rev. 2002, 26 (2). 141-148.

E. Vertinskaitė. Gyvūninės kilmės žaliuose maisto produktuose aptinkamų bakterijų jautrumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimai. Magistro baigiamasis darbas. 2010.

European Food Safety Authority. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks 2016. [interaktyvus] [žiūrėta 2018.05.19]. Adresas https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2017.5077

F. W. Brenner, R. G. Villar, F. J. Angulo, R. Tauxe, B. Swaminathan. *Salmonella* Nomenclature. J Clin Microbiol. 2000, 38 (7), 2465 – 2467.

Giannella RA. *Salmonella*. In: Baron S., editor. Medical Microbiology, 4th edition. Texas: University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996. Chapter 21.

Grimont P. A. D., Weill F. Z., Antigenic Formulae of The *Salmonella* Serovars 9th Edition. Institut Pasteur, 28 rue du Dr. Roux, 75724 Paris Cedex 15, France, 2007. p.1 – 20.

Y. Liu, D. F. Zhang, X. Zhou, L. Xu, L. Zhang, X. Shi. Comprehensive Analysis Reveals Two Distinct Evolution Patterns of *Salmonella* Flagellin Gene Clusters. Front Microbiol. 2017, 8: 2604.

J. A. Crump, M. Sjölund – Karlsson, M. A. Gordon, C. M. Parry. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. Clin Microbiol Rev. 2015, 28 (4), 901 – 937.

J. Y. D'Aoust. Pathogenicity of foodborne *Salmonella.* Int J Food Microbiol. 1991, 12 (1), 17 – 40.

J. K. Varma, K. Mølbak, T. J. Barrett, J. L. Beebe, T. F. Jones, T. Rabatsky-Ehr Kirk, E. Smith, D. J. Vugia, H. G. H. Chang, F. J. Angulo. Antimicrobial – Resistant Nontyphoidal *Salmonella* Is Associated with Excess Bloodstream Infections and Hospitalizations. The Journal of Infectious Diseases, 2005, 191 (4). p. 554 – 561.

J. Lai, C. Wu, C. Wu, J. Qi, Y. Wang, H. Wang, Y. Liu, J. Shen. Serotype distribution and antibiotic resistance of *Salmonella* in food-producing animals in Shandong province China, 2009 and 2012. International Journal of Food Microbiology, 2014, 180. p. 30 – 38

K. Drlica, X. Zhao. DNA Gyrase, Topoisomerase IV, and the 4-Quinolones. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 1997, p. 377 – 392.

L.H. Su, C.H. Chiu. *Salmonella:* Clinical Importance and Evolution of Nomenclature. Chang Gung Med J. 2007, 30 (3), 210 – 219.

M. Mellon, C. Benbrook, K. L. Benbrook. Hogging it! Estimates of Antimicrobial Abuse in Livestock. Union of Concerned Scientists. 2001.

National Research Council (US) Comittee. The Human Healt Effects of Subtherapeutic Antibiotic Use in Animal Feeds. Washingtos DC, 1980, chapter 3.

O. Iseri, E. Erol. Incidence and Antibiotic Resistance of *Salmonella* spp. In Ground Turkey Meat. British Poultry Science, 2010, 51 (1). p. 60 – 66

S. J. McSorley. Immunity to intestinal pathogens: lessons learned from *Salmonella.* Immunol Rev. 2014, 260 (1), 168 – 182.

S. K. Eng, P. Pusparajah, N. S. Ab Mutalib, H. L. Ser, K. G. Chan, L. H. Lee. *Salmonella:* a Review on Pathogenesis, Epidemiology and aantibiotic resistance. Frontiers in Life Science, 2015, 8 (3). p. 284 – 293

S. L. Foley, T. J. Johnson, S.C. Ricke, R. Nayak, J. Danzeisen. *Salmonella* Pathogenicity and Host Adaptation In Chickem – Associated Serovars. Microbiol Mol Biol Rev. 2013, 77 (4), 582 – 607.

S. McAnearney, D. McCall. *Salmonella* Osteomyelitis. Ulster Med J. 2015, 84 (3). p. 171 – 172

Sh. E. Majowicz, J, Musto. E. Scallan, F. J. Angulo, M. Kirk, S. J. O'Brien, T. F. Jones, A. Fazil, R. M. Hoekstra. The Global Burden of Nontyphoidal *Salmonella* Gastroenteritis. Clinical Infectious Diseases. 2010, 50 (6). p. 882 – 889.

Sheng Chen, S. Zhao, D. G. White, C. M. Schroeder, R. Lu, H. Yang, P. F. McDermott, S. Ayers, J. Meng. Characterization of Multiple – Antimicrobial – Resistant *Salmonella* Serovars Isolated from Retail Meats. Appl. Environ. Microbiol., 2004, 70 (1). p 1-7