

# Određivanje osjetljivosti na antimikrobne lijekove izolata *Listeria monocytogenes* iz hrane prijemnom e-testa

---

Rajković, Tomislav

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:326774>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET**

**Tomislav Rajković**

**ODREĐIVANJE OSJETLJIVOSTI NA ANTIMIKROBNE  
LIJEKOVE IZOLATA *LISTERIA MONOCYTOGENES*  
IZ HRANE PRIMJENOM E-TESTA**

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, 2016.**

**VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU  
ZAVOD ZA HIGIJENU, TEHNOLOGIJU  
I SIGURNOST HRANE**

**Predstojnica:**

**Izv. prof. dr. sc. Vesna Dobranić**

**Mentor:**

**Doc. dr. sc. Nevijo Zdolec**

**Članovi povjerenstva:**

- 1. Izv. prof. dr. sc. Vesna Dobranić**
- 2. dr. sc. Ivana Filipović**
- 3. Doc. dr. sc. Nevijo Zdolec**

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2. PODACI IZ LITERATURE</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Otpornost bakterija na antimikrobne lijekove</b>	<b>3</b>
<b>2.1.1. Savjesna primjena antimikrobnih lijekova</b>	<b>5</b>
<b>2.2. Otpornost bakterije <i>Listeria monocytogenes</i> na antimikrobne lijekove</b>	<b>5</b>
<b>3. MATERIJAL I METODE</b>	<b>8</b>
<b>3.1. Uzorci sirovina, hrane životinjskog podrijetla i obrisaka</b>	<b>8</b>
<b>3.2. Izolati bakterije <i>Listeria monocytogenes</i></b>	<b>10</b>
<b>3.3. Određivanje osjetljivosti izolata <i>L. monocytogenes</i> na antimikrobne tvari</b>	<b>12</b>
<b>4. REZULTATI</b>	<b>15</b>
<b>5. RASPRAVA</b>	<b>28</b>
<b>6. ZAKLJUČAK</b>	<b>32</b>
<b>7. LITERATURA</b>	<b>33</b>
<b>8. SAŽETAK</b>	<b>35</b>
<b>9. SUMMARY</b>	<b>36</b>
<b>10. ŽIVOTOPIS</b>	<b>37</b>

*Zahvaljujem se roditeljima na razumijevanju i strpljenju tijekom studija. Također se zahvaljujem zaručnici Heleni na potpori. Posebno se zahvaljujem mentoru doc.dr.sc. Neviju Zdolecu na pomoći tijekom provođenja istraživanja i pisanja diplomskog rada.*

## 1. UVOD

Značenje bakterije *Listeria monocytogenes* u higijeni hrane poznato je desetljećima, a njen nalaz je posebice važan u tzv. gotovoj hrani (engl. Ready-To-Eat, RTE), hrani koja se prije konzumacije ne obrađuje nikakvim postupcima (npr. sirevi, fermentirani mesni proizvodi, riblji proizvodi i dr.). *L. monocytogenes* rasprostranjena je u okolišu, vodi, tlu i biljkama, a karakteristika joj je, za razliku od većine ostalih patogena, da raste na temperaturi hladnjaka (do 8 °C). Domaće životinje su asimptomatski nosioci, tako da su izvor zaraze za ljude proizvodi životinjskog podrijetla. U ostale izvore ubrajaju se objekti za preradu hrane životinjskog podrijetla, ali i hladnjaci u kućanstvima u kojima je pohranjena kontaminirana hrana. Infekcija ovim patogenom osobito je opasna u starije populacije, trudnica, djece i imunokompromitiranih osoba, a inkubacija iznosi od 3 do 70 dana. Obilježava ju i visok letalitet, oko 25 %. U Hrvatskoj je u 2014. godini prijavljeno 5 oboljelih i dvoje umrlih od listerioze (Hrvatska agencija za hranu; HAH, 2016.). Prema Godišnjem izvješću o zoonozama u Hrvatskoj za 2014. godinu (HAH, 2016.) *L. monocytogenes* je bila izolirana samo iz jednog uzorka iz skupine „slastice i tijesto“ (n=363), dok su uzorci mliječnih proizvoda (n=495), povrća (n=80), tekih proizvoda od jaja (n=44) i sendviča s mesom (n=153) bili negativni.

Otpornost na antimikrobne tvari (antimikrobna rezistencija) među vodećim je javno-zdravstvenim temama pri čemu važnu ulogu ima i proizvodnja hrane životinjskog podrijetla, odnosno kompleksna interakcija farmskih životinja, farmera i okoliša (GARIPCIN i SEKER, 2015.; ZDOLEC i sur., 2016.a). Povezanost primarne proizvodnje na razini farme i proizvodnje hrane životinjskog podrijetla posebno je očita kroz fenomen prijenosa antimikrobne rezistencije (ZDOLEC, 2015.). Poseban se značaj pridaje mogućnosti prijenosa rezistentnih bakterija hranom, odnosno prijenosa gena rezistencije na klinički relevantne bakterije (TEUBER, 2001). Posljednjih godina je antimikrobna rezistencija patogenih bakterija postala

dominantni javnozdravstveni problem, između ostalog i zbog intenzivne, često nepromišljene, primjene antimikrobnih tvari u animalnoj proizvodnji. Problem postaje još kompleksniji ukoliko promišljamo o mogućnosti prijenosa gena rezistencije preko mikroorganizama iz hrane koji nisu patogeni, poput bakterija mliječne kiseline ili stafilokoka (SHARMA i sur., 2014.; ZDOLEC i sur., 2016.b).

U pogledu otpornosti *L. monocytogenes* iz hrane na antimikrobne tvari, podaci iz literature su oskudni, a u našoj zemlji ne postoji objavljenih rezultata istraživanja tog tipa. Stoga je cilj ovog diplomskog rada bio utvrditi minimalne inhibicijske koncentracije odabranih antimikrobnih lijekova za izolate *L. monocytogenes* prikupljene iz hrane životinjskog podrijetla, sirovina i obrisaka iz pogona prehrambene industrije.

## 2. PODACI IZ LITERATURE

### 2.1. Otpornost bakterija na antimikrobne lijekove

O značenju antimikrobne rezistencije kao javnozdravstvenog problema sve se više govori i u kontekstu uske povezanosti veterinarske i humane medicine, stočarstva i proizvodnje hrane. Mikrobna rezistencija zasigurno je jedan od najboljih primjera koji se mogu uklopiti u svjetsku inicijativu „Jednog zdravlja“ (engl. One Health) koji podrazumijeva zbližavanje veterinarske i humane medicine u okviru zajedničke zaštite zdravlja ljudi, životinja i okoliša (Jedan svijet- Jedna medicina-Jedno zdravlje) (ZDOLEC, 2011.).

Proizvodnja hrane životinjskog podrijetla (mlijeko, meso i dr.) je također važan segment u spomenutom konceptu, a pojava mikrobne rezistencije usko povezana s primjenom veterinarskih lijekova u stočarstvu o čemu svjedoče svi relevantni statistički podaci o monitoringu rezistencije. Najvažniju skupinu veterinarskih lijekova u javnozdravstvenom pogledu čine antibiotici koji se u animalnoj proizvodnji koriste za liječenje i sprečavanje bakterijskih infekcija, a donedavno i kao tvari za poboljšanje prirasta (dodaci hrani za životinje). Dakle, koriste se u:

- terapiji - liječenju infekcija klinički bolesnih životinja na temelju bakteriološke dijagnoze odnosno potvrde uzročnika;
- metafilaksi – tretiranju klinički zdravih životinja iz iste skupine životinja (stada i dr.) u kojima ima kliničke manifestacije bolesti. Time se infekcija tretira prije nego postane vidljiva, čime se i vrijeme liječenja može bitno skratiti;
- profilaksi – tretiranju klinički zdravih životinja za vrijeme stresa (npr. odbice) radi sprečavanja oboljenja. U ovom slučaju primjena antibiotika je indicirana



samo kod nekih značajnih prijetecih stanja koja ugrožavaju zdravlje stada, a općenito je takva primjena zabranjena;

- zootehnici – davanje antibiotika u hranu za životinje radi sprečavanja subkliničkih infekcija čime se izravno pospješuje prirast (promotori rasta). Taj postupak je također danas napušten.

Posljednje spomenuto posebno je značajno jer su se antibiotici ne tako davno legalno davali životinjama u hrani iz ekonomskih (bolji prirast), a ne zdravstvenih razloga što je bitno doprinjelo pojavi i širenju otpornosti bakterija prema antibioticima (zbog stalne izloženosti, niskih doza i dr.). Nadležne institucije vremenom su donosile preporuke o zabrani primjene nekih antibiotika u hrani za životinje i podržavale samo njihovo davanje u terapijske svrhe tj. liječenju ljudi i životinja. Najveći problemi nastali su pojavom otpornosti bakterija prema antibioticima koji se koriste u terapiji ljudi, a kao posljedica primjene sličnih (analognih) preparata u veterinarskoj medicini.

Jedan od mogućih načina širenja ovakve otpornosti bakterija prema antibioticima sa životinja na ljude je preko životinjskih proizvoda. Brojne patogene bakterije iz hrane i oportunističke bakterije (npr. enterokoki) potječu iz organizma životinja (koža, crijeva). One mogu onečistiti primjerice meso tijekom klaoničke obrade ili onečistiti povrće ako se tlo obogaćuje stajskim gnojem. Na taj način i rezistentne bakterije ulaze u prehrambeni lanac i ugrožavaju zdravlje ljudi (npr. *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, enterohemoragična *Escherichia coli* itd.). Na takve bakterije antibiotici ne djeluju (a trebali bi) pa je krajnji ishod – infekcija ljudi.

### **2.1.1. Savjesna primjena antimikrobnih lijekova**

Kod primjene antimikrobnih lijekova opća je preporuka koristiti ih u terapijske svrhe tek nakon identifikacije bakterije (uzročnika bolesti) i testiranja njene osjetljivosti/otpornosti na antibiotike (antibiogram). Nadalje, preporuča se primjena antimikrobnih tvari s uskim spektrom djelovanja (ciljano).

U veterinarskoj medicini primjena antimikrobnih lijekova treba osigurati učinkovito liječenje bolesnih životinja, ali istovremeno smanjiti potencijalne rizike (pojava rezistencije) na najmanju mjeru. To se prvenstveno osniva na etiološkoj dijagnozi (utvrditi uzročnika bolesti), a samo ponekad na kliničkoj slici koja je strogo specifična za neku bolest (npr. kod vrbanca). Međutim, kod akutne infekcije važno je započeti terapiju odmah pa je iluzorno čekati laboratorijski nalaz o uzročniku i njegovoj osjetljivosti/otpornosti na antibiotike. U tom slučaju od presudne je važnosti znanje veterinara o općem stanju (zdravlju) stada/jata te primjenjivosti pojedinih antibiotika u odnosu na prijašnju terapiju (ZDOLEC, 2005.). Radi kontrole razvoja rezistencije na antibiotike najsigurnijim se čini ograničiti njihovu uporabu što je više moguće. Stoga se svaka nepotrebna uporaba antimikrobnih lijekova treba strogo *izbjegavati i zabraniti* (u profilaksi, u hrani za životinje). Ukoliko će se antibiotici koristiti samo za ciljano liječenje životinja, tada možemo očekivati smanjenje pojave otpornosti bakterija (ŠEOL i sur., 2010.).

### **2.2. Otpornost bakterije *Listeria monocytogenes* na antimikrobne lijekove**

U liječenju humane listerioze primjenjuju se primarno ampicilin u kombinaciji s gentamicinom, potom trimetoprim i sulfametoksazol, eritromicin, meropenem, vankomicin, ciprofloksacin, rifampin i linezolid (TEMPLE i NAHATA, 2000.; LEITI i sur., 2005.). Istraživanja otpornosti *L. monocytogenes* na antimikrobne tvari od kliničkog značenja posljednjih godina ukazuju na mali udio rezistentnih izolata iz ljudi, životinja, hrane ili okoliša (GRANIER i sur., 2011., BERTSCH i sur., 2014.). U

tablici 1 sažeto su prikazana neka istraživanja antimikrobne rezistencije *L. monocytogenes* te najvažniji nalazi. Interpretacija rezultata i međusobna usporedba rezultata različitih istraživanja često je teško provediva, zbog nepostojanja kriterija rezistencije *L. monocytogenes* za pojedine antimikrobne tvari, korištenja različitih metoda ispitivanja, ili korištenja kriterija rezistencije koji su određeni za neke druge bakterijske vrste. Većini istraživanja otpornosti *L. monocytogenes* iz hrane, ali i drugih izvora (okoliša, ljudi), zajednički je nalaz rijetko prisutna otpornost na klinički relevantne antimikrobne tvari koje se koriste u liječenju listerioze (CHARPENTIER i COURVALIN, 1999.). Ipak, tijekom vremena povećavaju se minimalne inhibicijske koncentracije određenih tvari u izolata *L. monocytogenes* što može biti znak povećanja otpornosti. Također, povremene se nalaze u hrani i izolati *L. monocytogenes* sa stečenom otpornosti, odnosno izolati s mobilnim genetskim materijalom odgovornim za antimikrobnu rezistenciju (BERTSCH i sur., 2014.). U Hrvatskoj prema našim saznanjima nisu provedena ispitivanja otpornosti na antimikrobne tvari izolata *L. monocytogenes* iz hrane.

Tablica 1. Odabrana istraživanja otpornosti *L. monocytogenes* na antimikrobne tvari

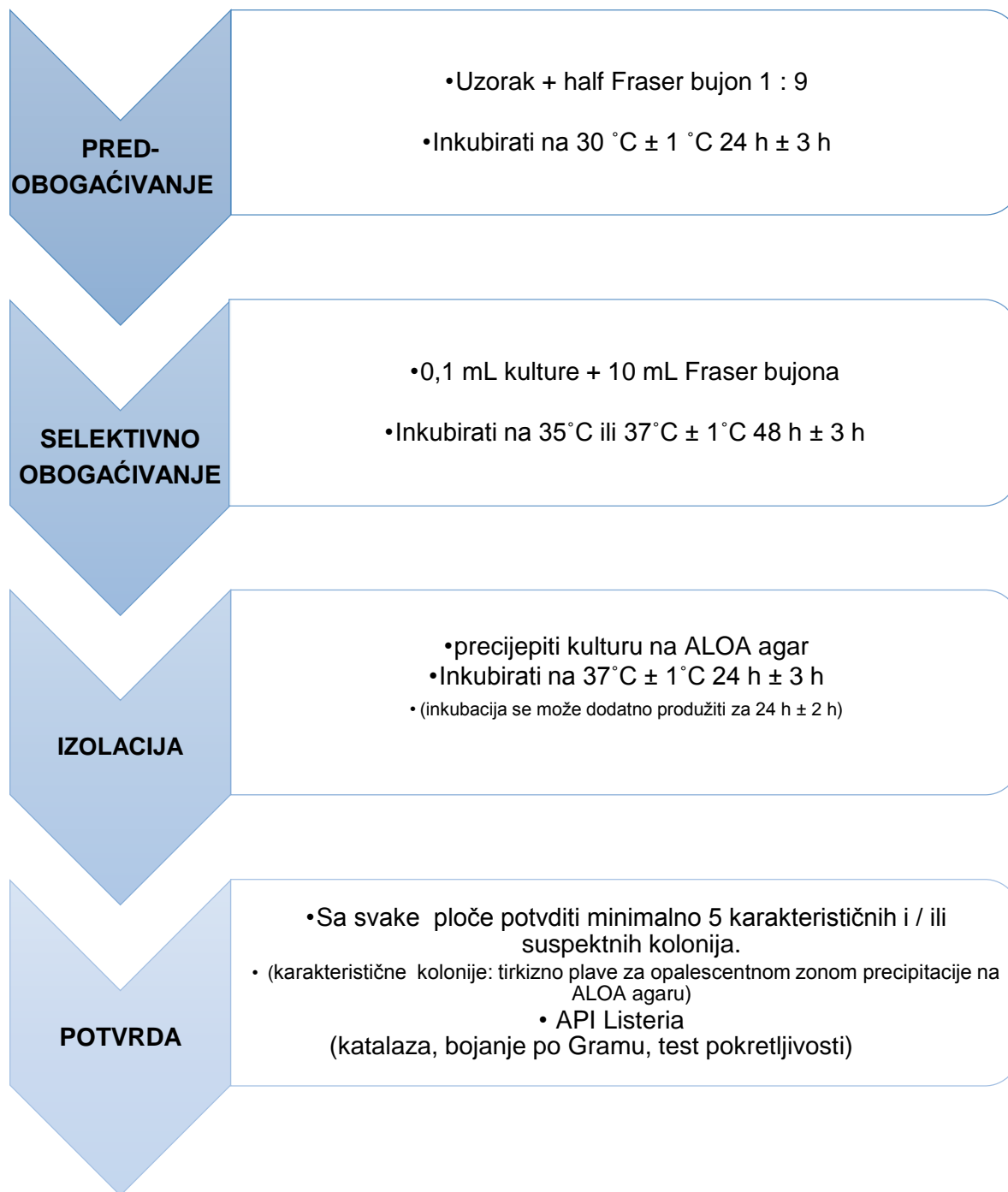
<b>Podrijetlo i broj izolata <i>L. monocytogenes</i></b>	<b>Utvrđena otpornost</b>	<b>Udio/postotak rezistentnih izolata</b>	<b>Metode ispitivanja i interpretacija</b>	<b>Referenca</b>
Hrana, površine iz proizvodnih pogona, n=120	Klindamicin, pa linezolid, ciprofloksacin, ampicilin i rifampicin, trimetoprim/sulfametoksazol, te vankomicin i tetraciklin	11.7 % otpornih na najmanje 1 tvar	VITEK2, Kriteriji CLSI za stafilokoke	CONTER i sur., 2009.
Mliječni proizvodi, n=30	Oksacilin, penicilin, ampicilin, vankomicin	93,33 % (oksacilin), 90 % (penicilin), 60 % (ampicilin), 26,66% (vankomicin)	Disk difuzijski test	HARAKEH i sur., 2009.
Klinički izolati iz ljudi n=4816	Tetraciklini, fluorokinoloni	1,2 %	Disk difuzijski test	MORVAN i sur., 2010.
Hrana i okoliš, n=202	Eritromicin, tetraciklin-minociklin, trimetoprim	2%	Mikrodilucijski postupak, PCR	GRANIER i sur. 2011.
Hrana (n=107), ljudi (n=13)	Ceftriakson, tetraciklini	10,83 % (ceftriakson), 5,83 % (tetraciklini)	PCR	SU i sur., 2016.
Hrana i proizvodni pogoni (n=34)	Ampicilin, penicilin, klindamicin, gentamicin, rifampicin	35 % (ampicilin), 24 % (penicilin), 3 % (klindamicin, gentamicin, odnosno rifampicin)	Disk difuzijski test, kriteriji CLSI za stafilokoke	QUENDERA i sur., 2016.

### **3. MATERIJAL I METODE**

#### **3.1. Uzorci sirovina, hrane životinjskog podrijetla i obrisaka**

Uzorci sirovina, hrane i obrisaka za potrebe istraživanja prikupljeni su tijekom rutinskih mikrobioloških pretraga u laboratoriju Zavoda za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Prisutnost bakterije *Listeria monocytogenes* u 25 grama (sirovine, hrana životinjskog podrijetla) određivana je standardnim postupkom prikazanim u dijagramu 1. Deset izolata *L. monocytogenes* ustupljeno je ljubaznošću doc.dr.sc. Andree Humski iz Hrvatskog veterinarskog instituta.

Obrisci radnih površina uzeti su tijekom rada u pogonima mesnih industrija, te su korištena ista tekuća hranilišta za predobogaćenje i obogaćenje kao i selektivna podloga za izolaciju.



Slika 1. Dijagram postupka određivanja prisutnosti bakterije *Listeria monocytogenes* u hrani životinjskog podrijetla

### 3.2. Izolati bakterije *Listeria monocytogenes*

Tijekom istraživanja prikupljeno je ukupno 26 izolata bakterije *L. monocytogenes* iz različitih uzoraka sirovine, obrisaka i hrane životinjskog podrijetla što je prikazano u tablici 2.

Tablica 2. Podrijetlo izolata *L. monocytogenes* korištenih u istraživanju

Oznaka izolata	Hrana/sirovina/površina iz/s koje je izolirana	Napomena
1.	NCTC 10527 serovar 4b	-
11.	Svježi sir	Kolekcija laboratorija Zavoda za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane*
12.	Svježi sir	*
13.	ATCC 7644 serovar 1/2c	-
14.	Kulenova seka, trajni proizvod	HVI**
15.	Čevapčići	**
16.	Usoljena svinjska crijeva	**
17.	Pileća krila	**
18.	Češnjovka, polutrajni proizvod	**
19.	Kulen, trajni proizvod	**
20.	Pršut, rezani	**
21.	Češnjovka, polutrajni proizvod	**
22.	Janjetina	**

Oznaka izolata	Hrana/sirovina/površina iz/s koje je izolirana	Napomena
23.	Pljeskavica	**
24.	Trajna kobasica	*
27.	Domaća kobasica, polutrajna, prije pasterizacije	*
28.	Prirodna svinjska crijeva	*
29.	Smjesa za slavonsku kobasicu iz mješalice	*
30.	Nadjev za slavonsku kobasicu	*
31.	Obrisak kutera	*
32.	Obrisak – odmrzavanje mesa	*
33.	Obrisak punilice za kobasice	*
34.	Obrisak radnog stola za nadjevanje	*
35.	Trajna kobasica 4. dana zrenja	*
36.	Slavonska kobasica, trajna	*
37.	Svinjetina	*
38.	Trajna kobasica 4. dana zrenja	*
39.	Trajna kobasica 7. dana zrenja	*

Determinacija izolata izvršena je standardnim API Listeria sustavom (bioMerieux, Francuska; slika 2).



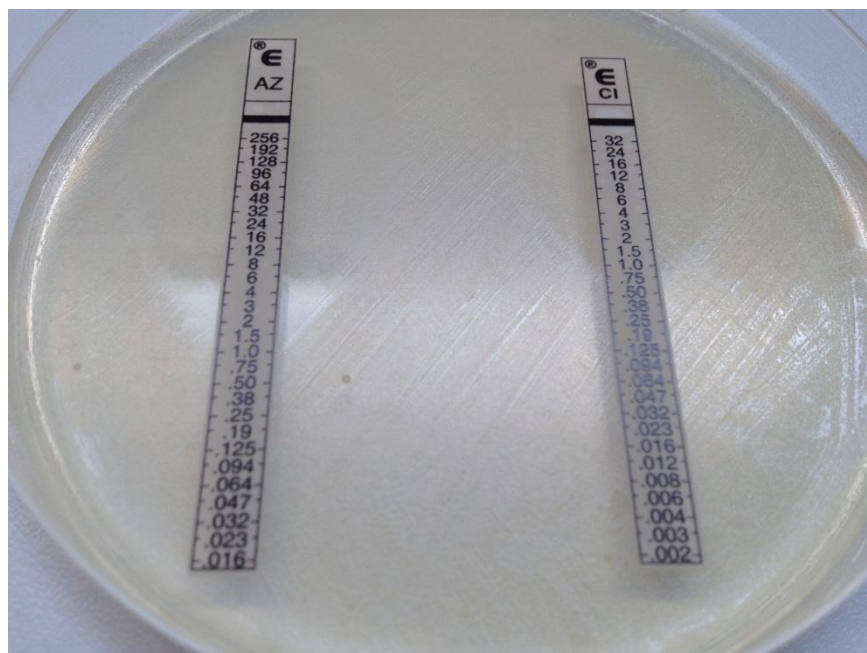


Slika 2. API Listeria sustav (snimio: Tomislav Rajković)

### 3.3. Određivanje osjetljivosti izolata *L. monocytogenes* na antimikrobne tvari

Testiranje osjetljivosti na antimikrobne lijekove provedeno je na ukupno 26 izolata *L. monocytogenes* i dva referentna soja (ATCC/ NCTC).

Korišten je postupak određivanja minimalnih inhibicijskih koncentracija (MIC) epsilometar testom (E-test; AB BIODISK, bioMérieux, Francuska; slika 3).



Slika 3. Određivanje MIC azitromicina i ciprofloksacina E-testom (snimio Tomislav Rajković)

Ukratko, sojevi su prije testiranja bili pohranjeni u smrznutom stanju u Microbank sustavu. Namnažani su u Brain Heart Infusion bujonu (bioMerieux, Francuska) 24-48 sati na 37 °C. Potom su presađeni na Agar Listeria Ottavani & Agosti - ALOA agar i inkubirani 24-48 sati na 37 °C.

Načinjena je suspenzija čiste kulture u BHI bujonu (bioMerieux, Francuska) gustoće od 1 McFarlanda (Densimat, bioMerieux) koja je nanescena troslojno i trosmjerno pomoću sterilnog brisa na Muller Hinton- F agar. Nakon 15 minuta nanescene su trakice E-testa pri čemu su korištene najviše dvije trakice po jednoj petrijevoj ploči. Svaki je izolat *L. monocytogenes* testiran na 10 antimikrobnih tvari:

- Ampicilin
- Gentamicin
- Vankomicin
- Streptomycin
- Linezolid

- Azitromicin
- Rimfapicin
- Oksacilin
- Trimetoprim/sulfametoksazol
- Ciprofloksacin

Ploče su potom inkubirane 24 sata na 35 °C nakon čega su očitane minimalne inhibicijske koncentracije. Nakon očitavanja MIC vrijednosti su uvrštene u tablice prema EUCAST-u za određivanje distribucije MIC-a kod izolata bakterija *L. monocytogenes*.

Interpretacija rezultata provedena je prema kriterijima EUCAST-a (2016) za *L. monocytogenes*. Budući da se ti kriteriji odnose samo na MIC vrijednosti za ampicilin, benzilpenicilin, eritromicin, meropenem i trimetoprim/sulfametoksazol, za preostale tvari je kriterij otpornosti *L. monocytogenes* bio izostanak inhibicije rasta u E-testu.

Tablica 3. EUCAST kriteriji otpornosti na antimikrobne tvari kliničkih izolata *L. monocytogenes*

Antimikrobna tvar	Granična MIC vrijednost (mg/L)	
	Osjetljiv (S, engl. sensitive) S ≤	Otporan (R, engl. resistant) R ≥
Benzilpenicilin	1	1
Ampicilin	1	1
Meropenem	0,25	0,25
Eritromicin	1	1
Trimetoprim/sulfametoksazol	0,06	0,06

#### 4. REZULTATI

U tablici 4 prikazane su MIC vrijednosti 10 antimikrobnih tvari s obzirom na ispitivane izolate *L. monocytogenes*. Iz tablice je vidljivo da je utvrđeno 5 izolata *L. monocytogenes* koji su bili otporni (nije bila vidljiva zona inhibicije rasta oko testne trakice) na tvari: vankomicin (2 izolata), linezolid (3 izolata) i oksacilin (3 izolata). Izolat *L. monocytogenes* 28 izdvojen iz svinjskih crijeva za nadijevanje kobasica pokazao je višestruku otpornost, tj. rast bakterije nije bio inhibiran vankomicinom, linezolidom i oksacilinom. Preostali izolati *L. monocytogenes* koji nisu bili inhibirani navedenim tvarima potjecali su, kao i svinjska crijeva za nadijevanje kobasica (izolat br. 28), iz istog pogona mesne industrije – iz nadjeva trajne kobasice, obrisaka kutera i punilice.

U tablici 5 je prikazana distribucija MIC vrijednosti izolata *L. monocytogenes* (n=26) s obzirom na određenu antimikrobnu tvar, dok su slikama 4-13 prikazane distribucije MIC pojedinih antimikrobnih tvari.

Tablica 4. MIC vrijednosti antimikrobnih tvari prema izolatima *L. monocytogenes*

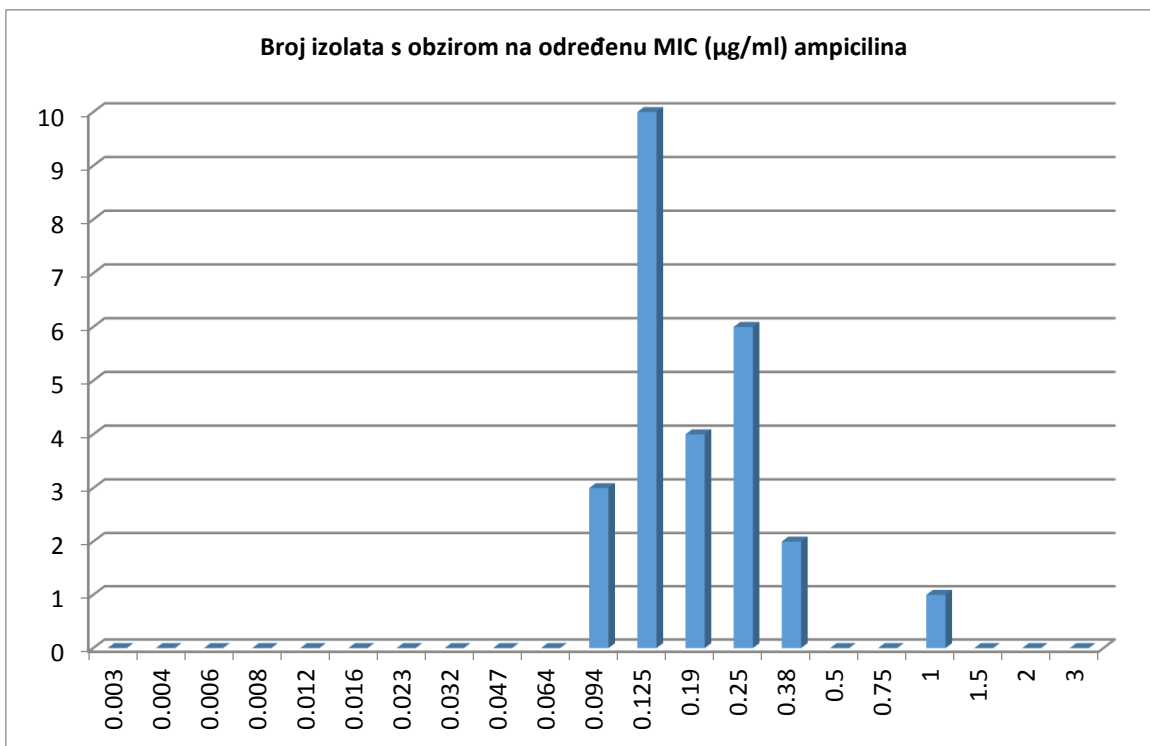
Izolati	Ampicilin	Gentamicin	Vancomicin	Streptomycin	Linezolid	Azitromicin	Rimfapicin	Oxacilin	T/S	Ciprofloxacilin
1	0,125	0,094	1	2	2	1	0,032	2	0,023	8
11	0,125	0,094	1	1,5	1,5	1	0,004	2	0,006	0,75
12	0,19	0,094	0,5	2	1,5	0,5	0,003	1,5	0,008	0,5
13	0,19	0,064	0,75	3	1	0,75	0,006	2	0,016	1
14	0,25	0,125	0,5	4	1	1	0,016	3	0,012	0,75
15	0,094	0,125	0,5	4	1	1	0,012	2	0,006	0,5
16	0,25	0,125	0,75	4	1	0,75	0,023	2	0,016	0,75
17	0,38	0,094	1	3	2	2	0,016	4	0,016	1
18	0,25	0,094	1	3	1,5	1	0,016	3	0,008	0,75
19	0,38	0,125	0,75	4	2	1	0,032	3	0,012	0,5
20	0,19	0,125	0,75	4	1,5	1	0,023	2	0,012	0,75
21	0,125	0,064	1	1,5	3	0,5	0,016	3	0,006	0,5
22	0,094	0,064	1	2	2	0,75	0,023	2	0,006	0,75
23	0,25	0,125	1	4	3	1	0,016	4	0,008	0,5
24	0,125	0,094	1	2	0,75	0,5	0,012	3	0,008	0,38
27	0,125	0,19	0,75	16	0,75	0,38	0,25	0,064	0,023	0,5
28	0,125	1	0	4	0	32	1	0	0,006	0,25
29	0,125	0,25	4	6	0	1	4	4	0,008	0,5
30	0,19	0,19	0,75	6	1	1,5	0,5	2	0,004	0,5
31	1	0,25	0	2	0	4	2	96	0,047	0,012
32	0,125	0,125	1	96	12	0,38	0,25	0	0,003	0,047
33	0,125	0,25	0,75	4	1	1	0,032	0	0,003	0,75
34	0,25	0,19	0,75	3	1,5	0,75	1,5	2	0,006	0,75
35	0,25	0,125	0,75	3	2	1	0,016	3	0,002	0,75
36	0,19	0,125	0,5	4	1,5	0,75	0,023	2	0,008	1
37	0,094	1	0,5	1	0,75	1	0,047	2	0,032	0,75
38	0,125	0,094	0,5	3	1,5	1,5	0,06	2	0,008	0,5
39	0,125	0,094	0,75	1,5	0,75	1	0,016	2	0,004	0,38

Tablica 5. Distribucija izolata *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima antimikrobnih tvari

Antimikrobna tvar	Broj izolata s navedenim MIC-om																		
	0,003	0,004	0,006	0,008	0,012	0,016	0,023	0,032	0,047	0,064	0,094	0,125	0,19	0,25	0,38	0,5	0,75	1	1,5
Ampicilin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	10	4	6	2	0	0	1	0
Gentamicin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	7	9	3	3	0	0	0	2	0
Vankomicin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	9	8	0
Streptomycin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
Linezolid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5	7
Azitromicin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	4	12	2
Rimfapicin	0	2	0	0	2	7	4	2	1	1	0	0	0	2	0	1	0	1	1
Oksacilin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Trimetoprim/sulfametoksazol	3	2	6	7	3	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ciprofloksacin	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	2	9	10	2	0

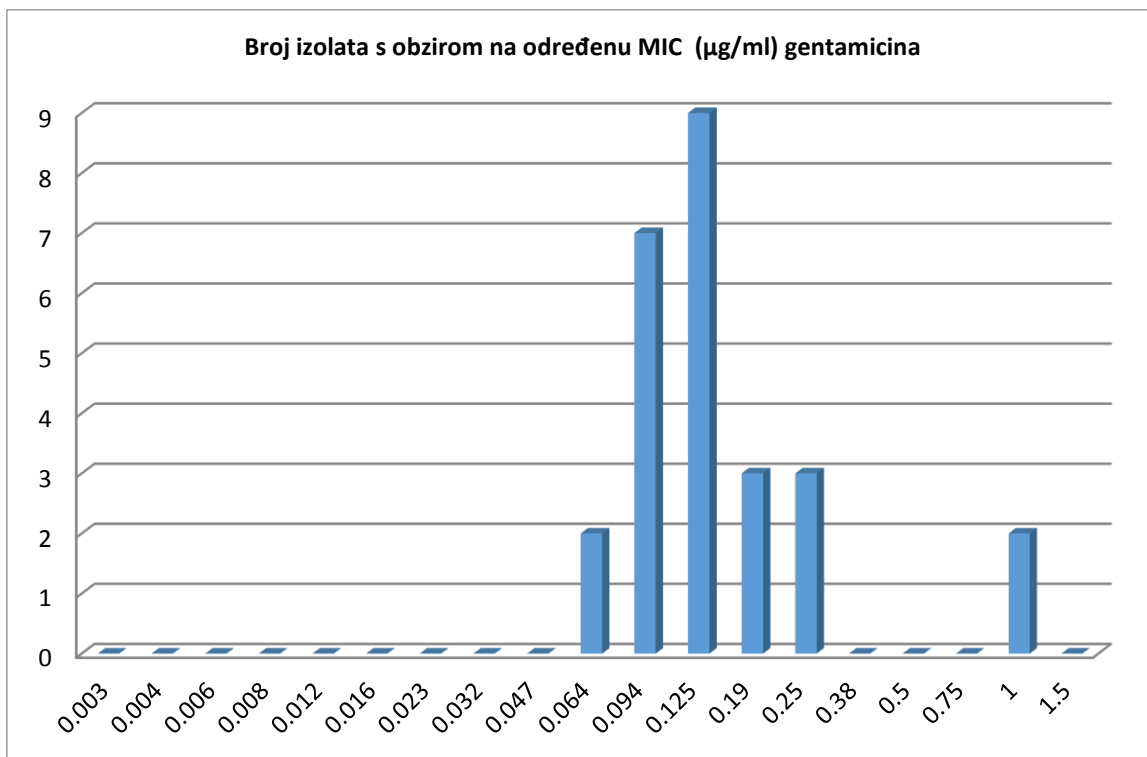
Nastavak Tablice 5.

Antimikrobna tvar	Broj izolata s navedenim MIC-om												
	2	3	4	6	8	12	16	24	32	48	64	96	128
Ampicilin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gentamicin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vankomicin	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Streptomycin	4	5	9	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Linezolid	4	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Azitromicin	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Rimfapicin	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Oksacilin	12	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Trimetoprim/sulfametoksazol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ciprofloksacin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



Slika 4. Distribucija izolata *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima ampicilina

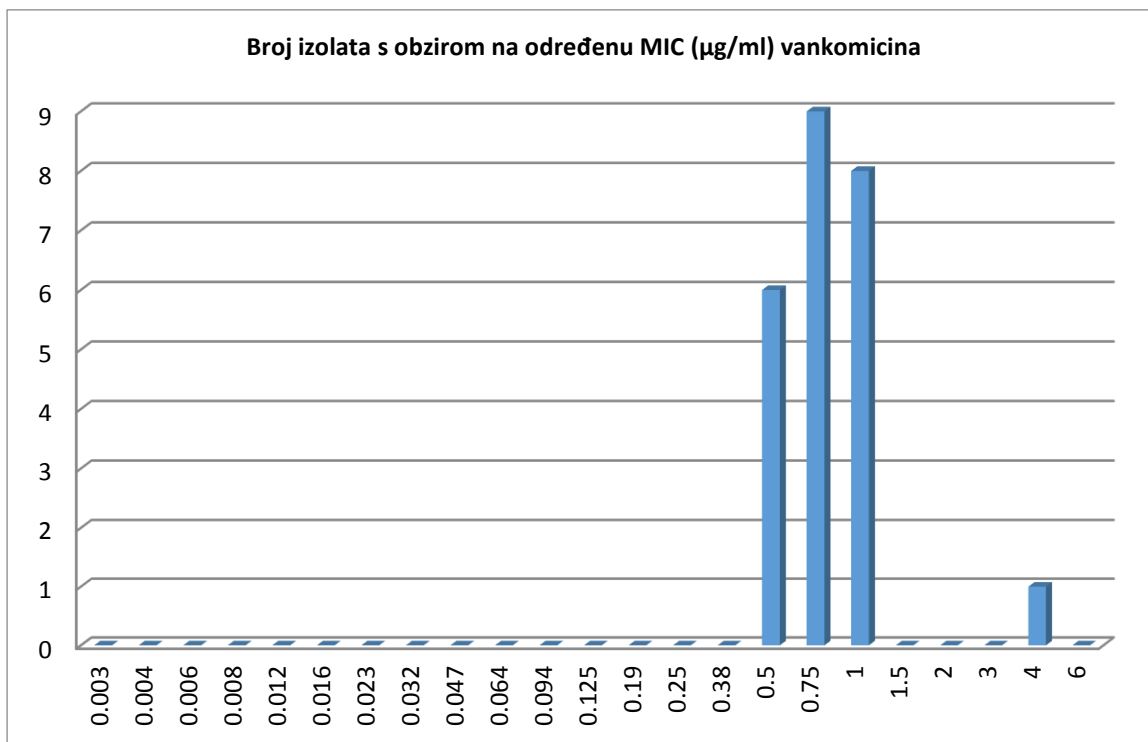
Na slici 4 vidljivo je da se raspon MIC vrijednosti ampicilina za većinu ispitivanih izolata *L. monocytogenes* ( $n=25$ ) kretao od 0,094 do 0,38  $\mu\text{g/ml}$ , a za najveći broj izolata ( $n=10$ ; 38,46 %) je zabilježena minimalna inhibicijska koncentracija ampicilina od 0,125  $\mu\text{g/ml}$ . Samo za jedan izolat (izolat br. 31) je utvrđena MIC od 1  $\mu\text{g/ml}$ , što prema kriterijima EUCAST-a ga svrstava u rezistentne. Navedeni soj, kako je prije navedeno, bio je otporan na vankomicin i linezolid (tablica 3).



Slika 5. Distribucija izolata *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima gentamicina

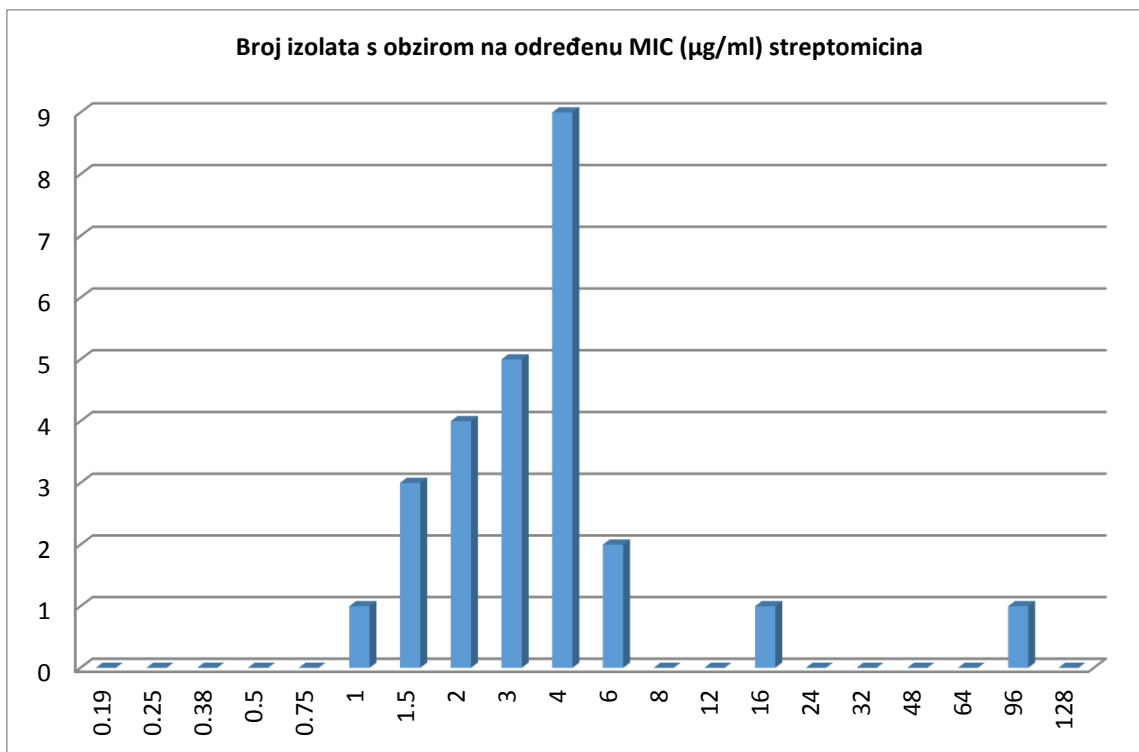
Na slici 5 vidljivo je da se raspon MIC vrijednosti gentamicina za većinu ispitivanih izolata *L. monocytogenes* ( $n=24$ ) kretao od 0,064 do 0,25  $\mu\text{g/ml}$ , a za najveći broj izolata ( $n=9$ ; 34,61 %) je zabilježena minimalna inhibicijska koncentracija gentamicina od 0,125  $\mu\text{g/ml}$ . U dva izolata utvrđena je najveća vrijednost MIC od 1  $\mu\text{g/ml}$ , što ih čini slabije osjetljivima na gentamicin.





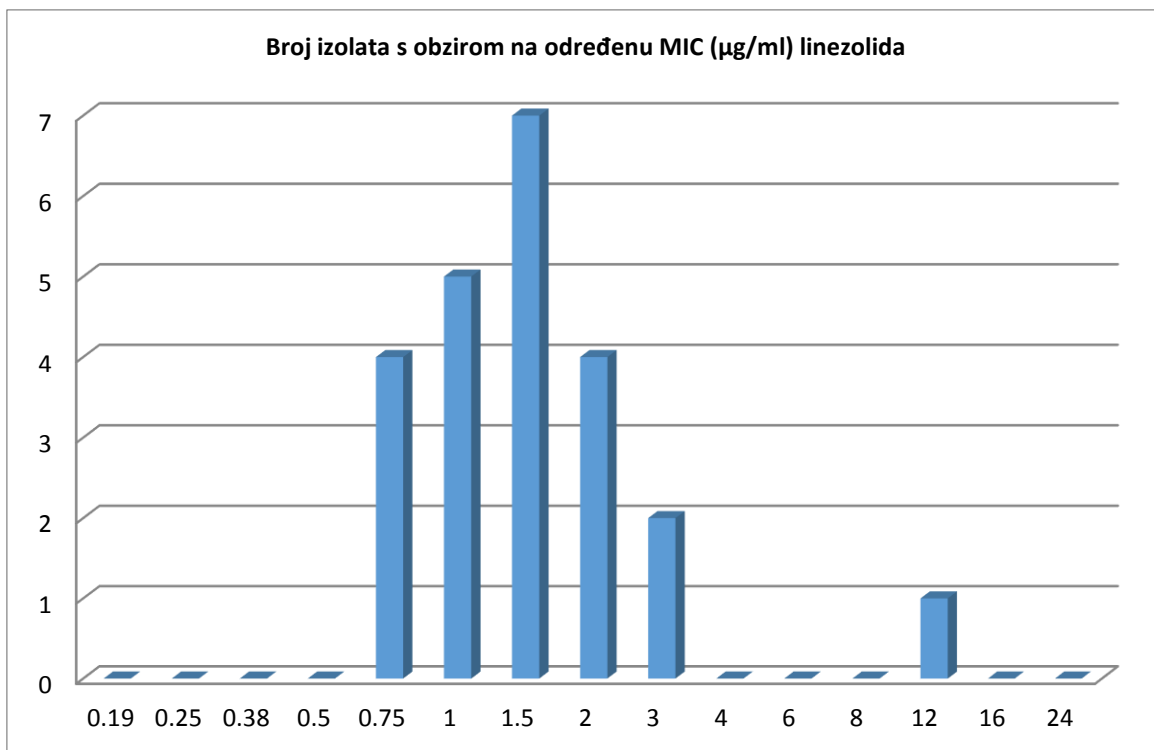
Slika 6. Distribucija izolata *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima vankomicina

Na slici 6 vidljivo je da se raspon MIC vrijednosti vankomicina za većinu ispitivanih izolata *L. monocytogenes* ( $n=23$ ) kretao u uskom rasponu od 0,5 do 1  $\mu\text{g/ml}$ , a za najveći broj izolata ( $n=9$ ; 37,50 %) je zabilježena minimalna inhibicijska koncentracija vankomicina od 0,75  $\mu\text{g/ml}$ . MIC jednog izolata je odstupala značajno od navedenih vrijednosti i iznosila 4  $\mu\text{g/ml}$ . Kako je prije navedeno, 2 izolata *L. monocytogenes* nisu pokazivala rast u prisutnosti vankomicina.



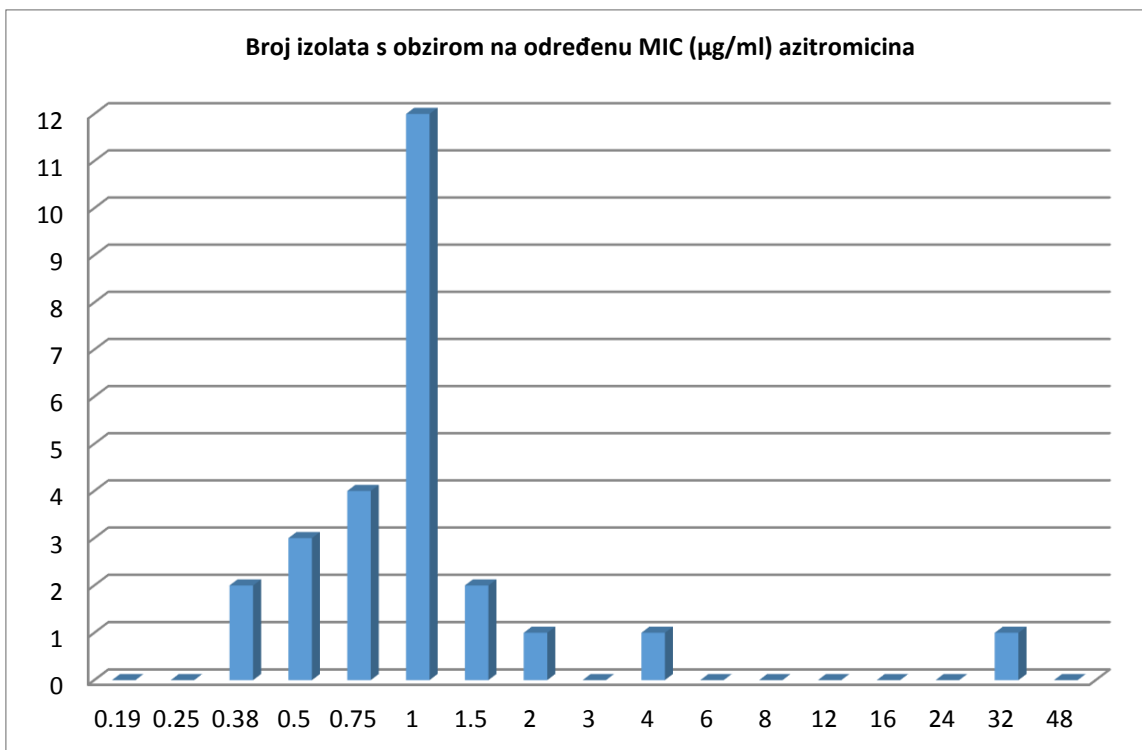
Slika 7. Distribucija izolata *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima streptomicina

Na slici 7 vidljivo je da se raspon MIC vrijednosti streptomicina za većinu ispitivanih izolata *L. monocytogenes* ( $n=24$ ) kretao u rasponu od 1 do 6  $\mu\text{g/ml}$ , a za najveći broj izolata ( $n=9$ ; 34,61 %) je zabilježena minimalna inhibicijska koncentracija streptomicina od 4  $\mu\text{g/ml}$ . MIC vrijednosti dvaju izolata bili su značajno veće od navedenih, tj. iznosile su 16, odnosno čak 96  $\mu\text{g/ml}$ .



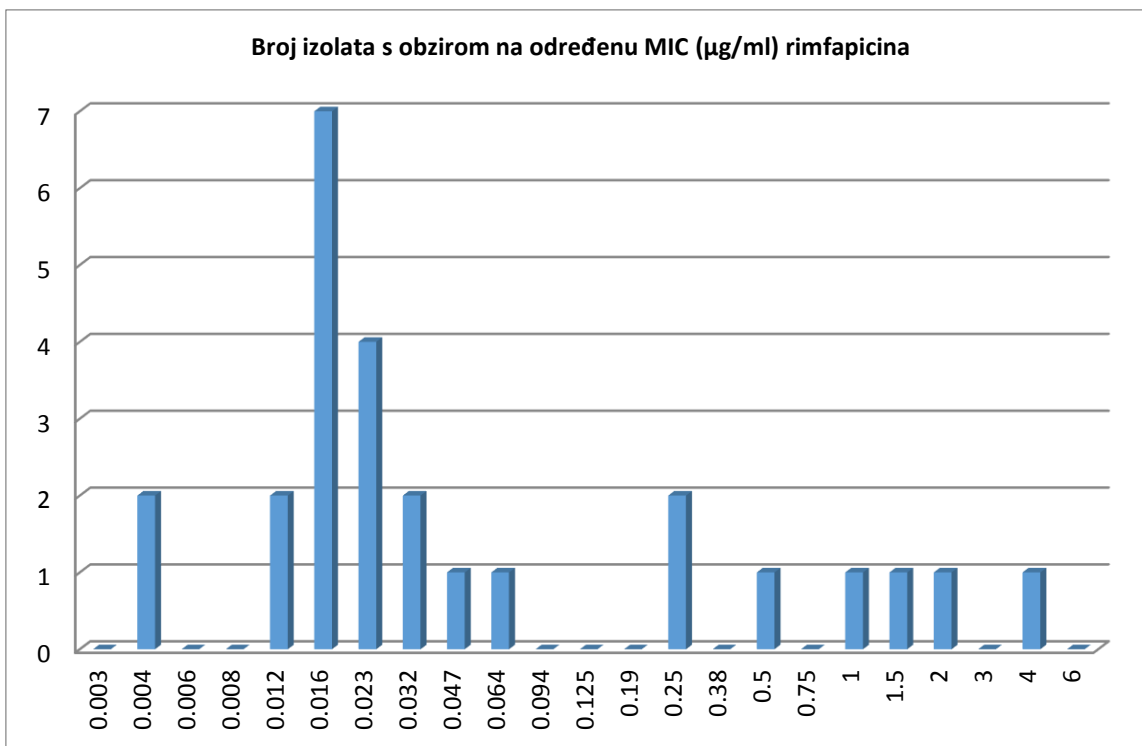
Slika 8. Distribucija izolata *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima linezolida

Na slici 8 vidljivo je da se raspon MIC vrijednosti linezolida za većinu ispitivanih izolata *L. monocytogenes* ( $n=22$ ) kretao u rasponu od 0,75 do 3  $\mu\text{g/ml}$ , a za najveći broj izolata ( $n=7$ ; 31,81 %) je zabilježena minimalna inhibicijska koncentracija linezolida od 1,5  $\mu\text{g/ml}$ . MIC vrijednost jednog izolata značajno je odstupala, odnosno iznosile 12  $\mu\text{g/ml}$ . Kako je prije navedeno, tri izolata *L. monocytogenes* bila su otporna na linezolid.



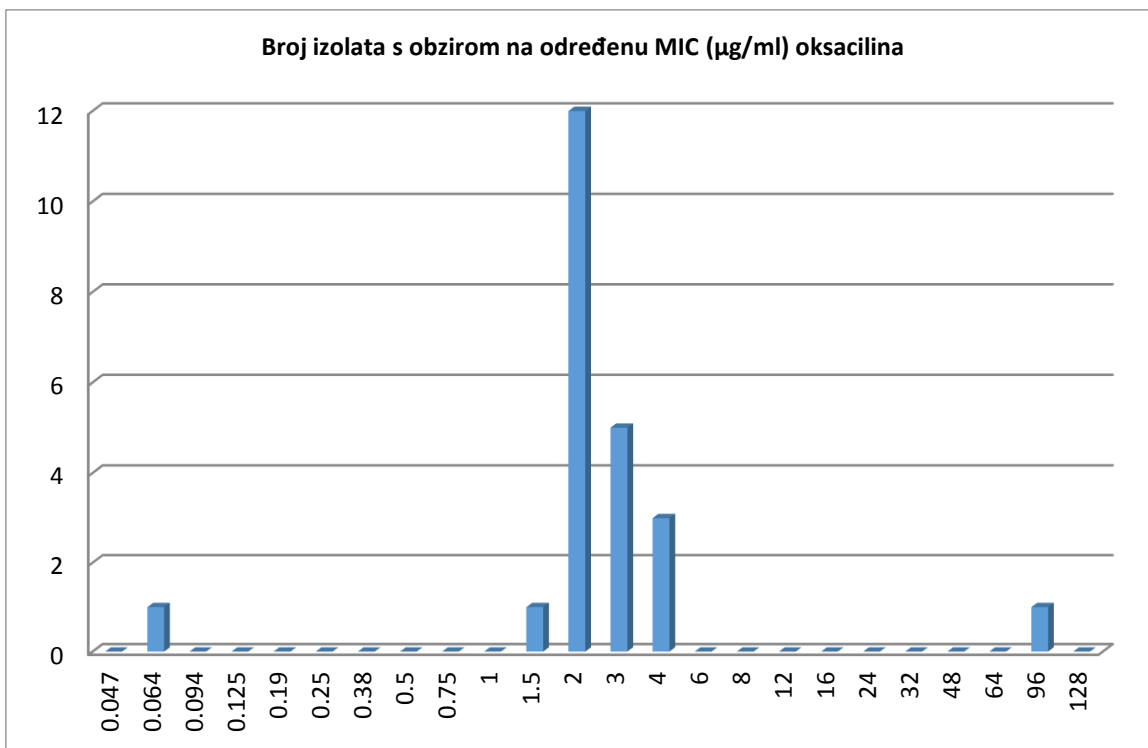
Slika 9. Distribucija izolata *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima azitromicina

Na slici 9 vidljivo je da se raspon MIC vrijednosti azitromicina za većinu ispitivanih izolata *L. monocytogenes* ( $n=25$ ) kretao u rasponu od 0,38 do 4  $\mu\text{g/ml}$ , a za najveći broj izolata ( $n=12$ ; 48 %) je zabilježena minimalna inhibicijska koncentracija azitromicina od 1  $\mu\text{g/ml}$ . MIC vrijednost jednog izolata značajno je odstupala, odnosno iznosile 32  $\mu\text{g/ml}$ .



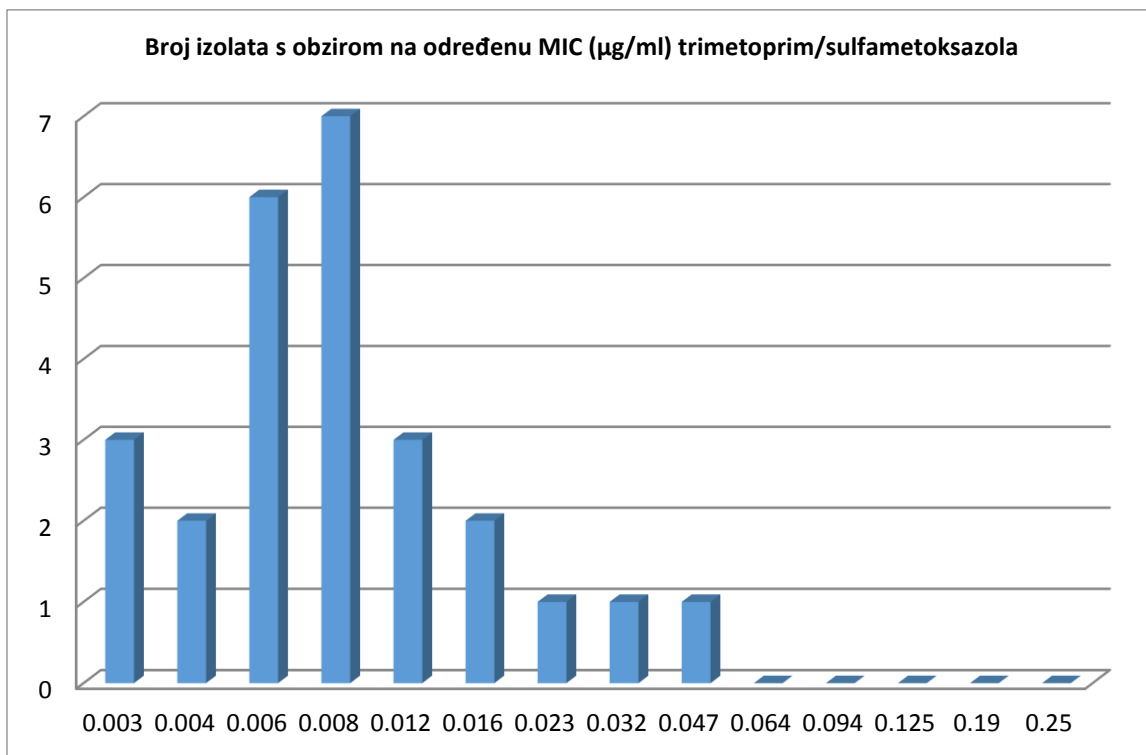
Slika 10. Distribucija izolata *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima rifampicina

Na slici 10 vidljivo je da se raspon MIC vrijednosti rifampicina kretao u širokom rasponu od 0,004 do 4  $\mu\text{g/ml}$ , a za najveći broj izolata ( $n=7$ ; 26,92 %) je iznosila 0,016  $\mu\text{g/ml}$ . MIC vrijednosti pojedinih izolata *L. monocytogenes* bile su iznad 1  $\mu\text{g/ml}$ .



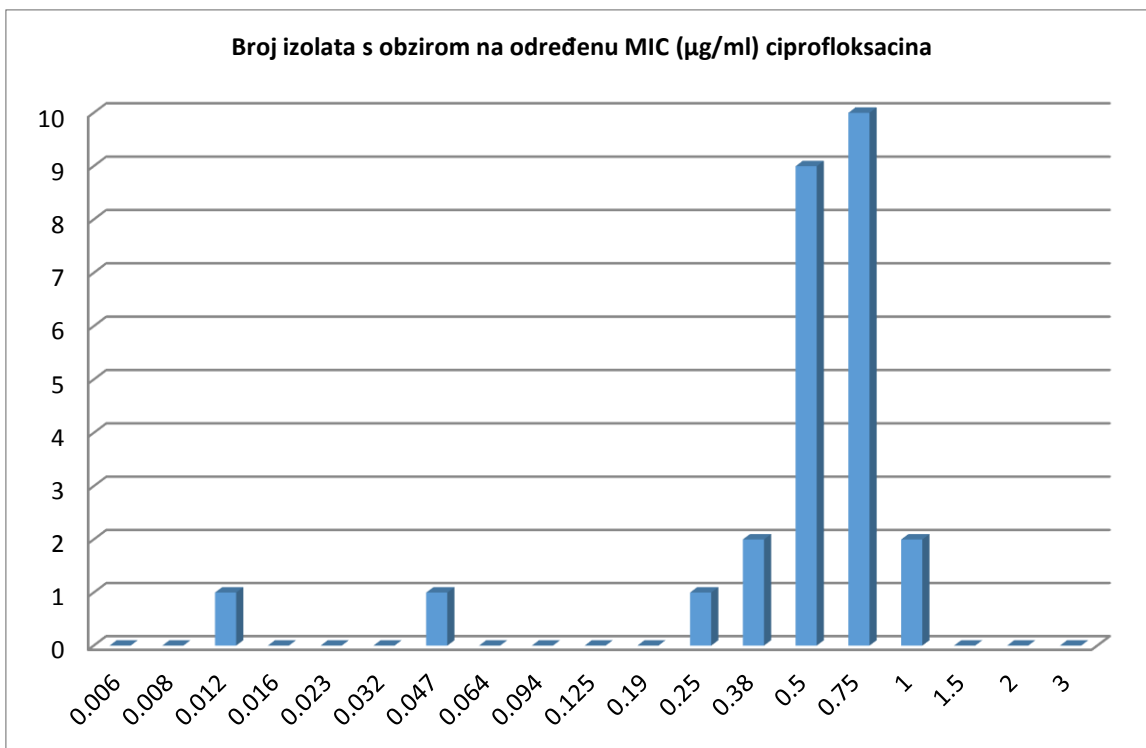
Slika 11. Distribucija izolata *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima oksacilina

Na slici 11 vidljivo je da se raspon MIC vrijednosti oksacilina većine izolata ( $n=21$ ) kretao u rasponu od 1,5 do 4  $\mu\text{g/ml}$ , a za najveći broj izolata ( $n=12$ ; 57,14 %) je iznosila 2  $\mu\text{g/ml}$ . MIC vrijednosti dvaju izolata *L. monocytogenes* su bitno odstupale od navedenih vrijednosti i iznosile 0,064, odnosno 96  $\mu\text{g/ml}$ .



Slika 12. Distribucija izolata *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima trimetoprim/sulfametoksazola

Na slici 12 vidljivo je da se raspon MIC vrijednosti trimetoprim/sulfametoksazola kretao u rasponu od 0,003 do 0,047  $\mu\text{g/ml}$ , a za najveći broj izolata ( $n=7$ ; 26,92 %) je iznosila 0,008  $\mu\text{g/ml}$ . S obzirom na kriterije EUCAST-a, granična vrijednost MIC-a od 0,06  $\mu\text{g/ml}$  iznad koje se *L. monocytogenes* smatra rezistentnom, nije nadmašena.



Slika 13. Distribucija izolata *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima ciprofloksacina

Na slici 13 vidljivo je da se raspon MIC vrijednosti ciprofloksacina u većini izolata ( $n=24$ ) kretao u rasponu od 0,25 do 1  $\mu\text{g/ml}$ , a za najveći broj izolata ( $n=10$ ; 41,66 %) je iznosila 0,75  $\mu\text{g/ml}$ . MIC vrijednosti ciprofloksacina u dva slučaja bile su značajno ispod navedenog raspona i iznosile 0,012 odnosno 0,047  $\mu\text{g/ml}$ .



## 5. RASPRAVA

U radu su određivane minimalne inhibicijske koncentracije antimikrobnih tvari (lijekova) koji imaju kliničko značenje, odnosno koriste se u terapiji listerioze. Nalaz eventualno rezistentnih izolata *L. monocytogenes* u hrani ili lancu proizvodnje hrane na neke od tih tvari predstavljao bi potencijalnu opasnost u slučaju infekcija ljudi patogenom otpornim na ciljanu tvar. Prilikom određivanja MIC vrijednosti zabilježili smo pojavu potpune nedjelotvornosti vankomicina u 2 slučaja, linezolida u tri slučaja, i oksacilina u tri slučaja (izolata *L. monocytogenes*). Kako je prije navedeno svi otporni izolati bili su podrijetlom iz jednog objekta prerade mesa, a izolirani su prilikom retrogradnog utvrđivanja mjesta onečišćenja u proizvodnji trajnih kobasica. Ukupno gledajući, 5 od 26 ispitivanih izolata *L. monocytogenes* bilo je otporno na najmanje jednu antimikrobnu tvar primjenom E-testa, što čini udio od 19,23 %. Međutim, promatrajući podrijetlo izolata, očito je da otpornih izolata *L. monocytogenes* u hrani nije bilo, već su svi izolirani iz površina koje dolaze u dodir s hranom, odnosno sirovina koje su bile namijenjene proizvodnji trajnih kobasica.

Slično našim rezultatima, ZHANG i sur. (2013.) utvrdili su otpornost na vankomicin u jednom izolatu *L. monocytogenes* (n=39; 2,6 %) iz hrane s tržišta. Vankomicin-rezistentna *L. monocytogenes* također je bila rijedak nalaz u istraživanju CONTERA i sur. (2009.). S druge strane, za razliku od našeg nalaza, otpornost na oksaciklin je u navedenom istraživanju bila dominantna i potvrđena u 46,2 % izolata *L. monocytogenes*. HARAKEH i sur. (2009.) zabilježili su također dominantnu otpornost na oksaciklin u izolatima *L. monocytogenes* iz mliječnih proizvoda, dok je otpornost na vankomicin bila začuđujuće visoka (26,66 % izolata). Stoga navedeni nalaz i naši rezultati ukazuju na rizik od prisutnosti vankomicin-rezistentne *L. monocytogenes*, budući je vankomicin među zadnjim obranama od bakterijskih infekcija ljudi (HARAKEH i sur., 2009.). Pored navedenih dvaju antimikrobnih tvari, u našem istraživanju izolirana su dva soja *L.*

*monocytogenes* otporna na linezolid koji se preporučuje u terapiji humane listerioze. Rijetka su izvješća o otpornosti *L. monocytogenes* na linezolid, no CONTER i sur. (2009.) bilježe visok udio linezolid-rezistentnih sojeva iz hrane i proizvodnih pogona, no u interpretaciji rezultata koriste kriterije za stafilokoke. U svakom slučaju rast dvaju naših izolata nije bio zaustavljen u prisutnosti linezolida na Muller-Hinton F agaru.

Prvu liniju obrane u liječenju listerioze predstavlja ampicilin s gentamicinom pa je značajno utvrditi udio rezistentnih *L. monocytogenes* na te tvari. Naši su rezultati pokazali odsutnost otpornosti što je povoljan nalaz, za razliku od nekih novijih istraživanja (QUENDERA i sur., 2016.). Također, svi izolati u našem istraživanju bili su osjetljivi i na trimetoprim/sulfametoksazol (lijek izbora u slučaju alergija na peniciline), te na streptomycin, azitromicin, rimfapicin i ciprofloksacin. Za razliku od navedenog, pojedini autori izvješćuju o nalazu *L. monocytogenes* iz hrane otpornih na trimetoprim ili rifampicin (CONTER i sur., 2009., GRANIER i sur., 2011.; QUENDERA i sur., 2016.), no radi se o rijetkim slučajevima u odnosu na broj rezistentnih na druge tvari.

S obzirom na utvrđene MIC vrijednosti pojedinih antimikrobnih tvari u našem istraživanju (n=10) provedena je njihova usporedba s EUCAST distribucijom MIC vrijednosti izolata *L. monocytogenes* (EUCAST, 2016.). MIC vrijednosti ampicilina u našem istraživanju za većinu izolata *L. monocytogenes* u rasponu su trenutnih EUCAST podataka. Međutim, najveći broj naših izolata distribuiran je u rasponu MIC vrijednosti od 0,125-0,25, dok je u EUCAST bazi većina u području od 0,25-0.5 µg/ml, što govori o manjoj otpornosti naših izolata. Pri usporedbi treba uzeti u obzir da EUCAST baza (pristup 10. lipnja 2016) trenutno raspolaže s 543 izolata *L. monocytogenes*. ECOFF vrijednost od 1 µg/ml je određena za ampicilin, što je utvrđeno za jedan izolat u našem istraživanju (3.8 %, u odnosu na 5,5 % izolata prema EUCAST podacima).

Slični odnos distribucije *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima je zabilježen i za gentamicin. Naime, EUCAST determinira najučestalije MIC gentamicina od 0,5-1 µg/ml, dok je u našem istraživanju to između 0,094 do 0,125 µg/ml, što također ide u prilog veće osjetljivosti naših izolata *L. monocytogenes* (n=26) na gentamicin u odnosu na EUCAST obrađene izolate (n=317). MIC vrijednosti vankomicina u našem istraživanju su bile u uskom rasponu od 0,5 do 1 µg/ml, što je sukladno EUCAST vrijednostima. Ipak, i u ovom slučaju najveći broj naših izolata pokazuje manju MIC vrijednost (0,75 µg/ml) u odnosu na dominirajućih 1 µg/ml EUCAST izolata *L. monocytogenes*.

U slučaju streptomicina, raspon MIC vrijednosti naših izolata *L. monocytogenes* kretao se u rasponu od 1-6 µg/ml, dok EUCAST podaci bilježe vrijednosti od 4-8 µg/ml što ponovno ukazuje na veću osjetljivost naših izolata na streptomycin. Međutim, utvrdili smo dva izolata koja pokazuju značajno veće MIC vrijednosti (veću otpornost) – 16, odnosno 96 µg/ml. MIC vrijednosti linkomicina za *L. monocytogenes* distribuirane su prema EUCAST-u između 1 i 4 µg/ml, dok je u našem istraživanju raspon bio nešto nižih vrijednosti – od 0,75 do 3 µg/ml, što upućuje na veću osjetljivost naših izolata na linezolid. EUCAST je postavio ECOFF za linezolid od 4 µg/ml, pa se prema tom kriteriju izolat *L. monocytogenes* koji je pokazao MIC od 12 µg/ml smatra rezistentnim. Uzevši u obzir i tri izolata koja nisu bila inhibirana linezolidom, ukupno smo determinirali 4 otporna izolata *L. monocytogenes* na linezolid (15,38 %).

Većina izolata *L. monocytogenes* prema EUCASTU je distribuirana s obzirom na MIC oksacilina u vrijednosti od 4 µg/ml (176 od 223 izolata), dok je u našem istraživanju najučestalija bila vrijednost od 2 µg/ml. Jedan izolat *L. monocytogenes* značajno je odstupao od navedenih vrijednosti, odnosno MIC oksacilina je iznosila 96 µg/ml i pokazatelj je veće otpornosti na oksacilin. MIC vrijednosti trimetoprim/sulfametoksazola u našem su istraživanju najčešće utvrđene u vrijednosti od 0,008 µg/ml, što odgovara podacima EUCAST-a. Veće vrijednosti od postavljene ECOFF granice otpornosti od 0,064 µg/ml nisu

zabilježene, dok se u bazi EUCAST-a bilježe pojedinačni izolati s MIC-om za trimetoprim/sulfametoksazol od 0,125 do 0,5 µg/ml. MIC vrijednosti ciprofloksacina za *L. monocytogenes* prema EUCAST-u se kreću od 0,5 do 2 µg/ml, s najučestalijom utvrđenom vrijednosti od 1 µg/ml. U našem istraživanju zabilježene su niže MIC vrijednosti, a najčešće od 0,75 µg/ml.

## 6. ZAKLJUČAK

Višestruko otporni izolati *L. monocytogenes* izdvojeni su iz pogona mesne industrije s radnih površina, opreme i sirovina u procesu proizvodnje trajnih kobasica.

Nalaz sojeva *L. monocytogenes* otpornih na vankomicin/ linezolid/ ampicilin/ oksacilin ukazuje na rizik prijenosa antimikrobne rezistencije kroz lanac proizvodnje gotove hrane.

Izolati *L. monocytogenes* iz hrane životinjskog podrijetla bili su osjetljivi na klinički relevantne antimikrobne tvari koje se koriste u terapiji listerioze.

## 7. LITERATURA

1. BERTSCH, D., M. MUELLI, M. WELLER, A. URUTY, C. LACROIX, L. MEILE (2014.): Antimicrobial susceptibility and antibiotic resistance gene transfer analysis of foodborne, clinical, and environmental *Listeria* spp. isolates including *Listeria monocytogenes*. *MicrobiologyOpen* 3, 118-127.
2. CHARPENTIER, E., P. COURVALIN (1999.): Antibiotic resistance in *Listeria* spp. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43, 2103-2108.
3. CONTER, M., D. PALUDI, E. ZANARDI, S. GHIDINI, A. VERGARA, A. IANIERI (2009.): Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.* 128, 497-500.
4. EUCAST/ European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (2016.): Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0.2016. <http://www.eucast.org>.
5. GARIPCIN, M., E. SEKER (2015.): Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in cattle and farm workers in Turkey. *Vet. Arhiv* 85, 117-129.
6. GRANIER, S.A., C. MOUBARECK, C. COLANERI, A. LEMIRE, S. ROUSSEL, T.-T.- DAO, P. COURVALIN, A. BRISABOIS (2011.): Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolates from food and the environment in France over a 10-year period. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 2788-2790.
7. HARAKEH, S., I. SALEH, O. ZOUHAIRI, E. BAYDOUN, E. BARBOUR, N. ALWAN (2009): Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy-based food products. *Sci. Total Environ.* 407, 4022-4027.
8. HRVATSKA AGENCIJA ZA HRANU (2016.): Godišnje izvješće o zoonozama u Hrvatskoj za 2014. godinu. Osijek, 1-40.
9. LEITI, O, J.W. GROSS, C.U. TUAZON (2005): Treatment of brain abscess caused by *Listeria monocytogenes* in a patient with allergy to penicillin and trimethoprim-sulfamethoxazole. *Clin. Infect. Dis.* 40, 907-908.

10. MORVAN, A., C. MOUBARECK, A. LECLERCQ, M. HERVÉ-BAZIN, S. BREMONT, M. LECUIT, P. COURVALIN, A. LE MONNIER (2010): Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* strains isolated from humans in France. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54, 2728-2731.
11. QUENDERA, A.P., C. VARELA, A.S. BARRETO, T. SEMEDO-LEMSADDEK (2016.): Characterization of *Listeria monocytogenes* from food and food related settings. *Int. Food Res. J.* 23, 909-912.
12. SHARMA, P., S. K. TOMAR, P. GOSWAMI, V. SANGWAN, R. SINGH (2014.): Antibiotic resistance among commercially available probiotics. *Food Res. Int.* 57, 176-195.
13. SU, X., J. ZHANG, W. SHI, X. YANG, Y. LI, H. PAN, D. KUANG, X. XU, X. SHI, J. MENG (2016.): Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from foods and humans. *Food Control* 70, 96-102.
14. ŠEOL, B., K. MATANOVIĆ, S. TERZIĆ (2010.): Antimikrobna terapija u veterinarskoj medicini. Medicinska naklada, Zagreb.
15. TEMPLE, M.E., M.C. NAHATA (2000.): Treatment of listeriosis. *Ann. Pharmacother.* 34, 656-661.
16. TEUBER, M. (2001.): Veterinary use and antimicrobial resistance. *Curr. Opin. Microbiol.* 4, 493-499.
17. ZDOLEC, N. (2005.): Antibiotici – štetne tvari? *Mljekarski list* 42, 6, 16-18.
18. ZDOLEC, N. (2011.): Jedno zdravlje. *Meso* 12, 386.
19. ZDOLEC, N. (2015.): Otpornost bakterija na antibiotike u mlijeku zdravih krava. *Mljekarski list* 52, 10, 48-49.
20. ZDOLEC, N., V. DOBRANIĆ, I. BUTKOVIĆ, A. KOTURIĆ, I. FILIPOVIĆ, V. MEDVID (2016.a): Antimicrobial susceptibility of milk bacteria from healthy and drug-treated cow udder. *Vet. arhiv* 86, 2, 163-172.
21. ZDOLEC, N. (2016.b): Antimicrobial resistance of fermented food bacteria. U: *Fermented Foods, Part I: Biochemistry and Biotechnology*. Montet, D., R. C. Ray, (Ur.). CRC Press, Boca Raton, pp. 263-281.

## 8. SAŽETAK

U radu je istražena osjetljivost na antimikrobne tvari bakterije *Listeria monocytogenes* (n=26) izoliranih iz hrane i proizvodnih pogona primjenom E-testa. Određene su MIC vrijednosti ampicilina, gentamicina, vankomicina, streptomicina, linezolida, azitromicina, rimfapicina, oksacilina, trimetoprim/sulfametoksazola i ciprofloksacina. Svi su izolati bili osjetljivi na klinički relevantne antimikrobne lijekove gentamicin, streptomicin, azitromicin, rifampicin, trimetoprim/sulfametoksazol i ciprofloksacin. Distribucija izolata *L. monocytogenes* prema MIC vrijednostima bila je za većinu tvari u nižem rasponu u odnosu na EUCAST podatke. Pet izolata (19,23 %) *L. monocytogenes* bilo je otporno na najmanje jednu tvar, a svi su izolirani s radnih površina, sirovine i opreme u mesnoj industriji. Dva su izolata bila otporna na vankomicin, po tri na linezolid i oksacilin, a jedan na sve tri tvari. Jedan izolat je pokazao otpornost na vankomicin, linezolid i ampicilin. Također, u otpornih izolata izmjerene su i visoke MIC vrijednosti za azitromicin-rifampicin, ampicilin-oksacilin, odnosno streptomicin-linezolid. Rezultati ukazuju na nisku razinu otpornosti *L. monocytogenes* iz hrane na klinički relevantne antimikrobne lijekove. S druge strane nalaz višestruko otpornih *L. monocytogenes* na radnim površinama i opremi u mesnoj industriji upućuje na rizik prijenosa antimikrobne rezistencije kroz lanac proizvodnje hrane.

Ključne riječi: *Listeria monocytogenes*, hrana, antimikrobna rezistencija



## 9. SUMMARY

### DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* FROM FOOD BY E-TEST

In this study the antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* from food and food processing facilities (n=26) was tested by E-test. Minimal inhibitory concentrations of ampicillin, gentamicin, vancomycin, streptomycin, linezolid, azitromycin, rifampicin, oxacillin, trimethoprim/sulphamethoxazol and ciprofloxacin were measured. All isolates were susceptible to clinically relevant antibiotics gentamicin, streptomycin, azitromycin, rifampicin, trimethoprim/sulphamethoxazol and ciprofloxacin. Distribution of *L. monocytogenes* according to MIC levels ranged for most agents in lower values compared to EUCAST data. Five isolates (19.23 %) of *L. monocytogenes* was resistant at least to one antimicrobial agents, and all originated from raw material, food contact surfaces and equipment in meat processing plant. Two isolates were resistant to vancomycin, three to linezolid and oxacillin, and one to all three agents. One isolate showed the resistance to vancomycin, linezolid and ampicillin. Also, in the case of resistant isolates, the high-level MIC of azitromycin-rifampicin, ampicillin-oxacillin and streptomycin-linezolid were recorded. Results show the low level of resistance toward clinically relevant antimicrobials in *L. monocytogenes* from food. Contrary, the occurrence of multi-resistant *L. monocytogenes* strains in meat-processing facility samples indicates the risk of antimicrobial resistance transfer along the food producing chain.

Key words: *Listeria monocytogenes*, food, antimicrobial resistance

## **10. ŽIVOTOPIS**

Tomislav Rajković rođen je 19. veljače 1989. godine u Zagrebu. Osnovnu školu završio je 2003. godine u Sv. Ivanu Žabnu, a Srednju gospodarsku školu u Križevcima, smjer Veterinarski tehničar 2007. godine. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao je iste godine, a apsolvirao 2016. godine.