

# Patogenost enterobakterija

---

Šifner, Marija

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:747778>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Marija Šifner**

7297/PT

# **PATOGENOST ENTEROBAKTERIJA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Biologija 1

**Mentor:** Doc.dr.sc. Tomislav Vladušić

**Zagreb, 2019.**

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija**

**Zavod za biokemijsko inženjerstvo**  
**Laboratorij za biologiju i genetiku mikroorganizama**

**Znanstveno područje: Biotehničke znanosti**  
**Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija**

**Patogenost enterobakterija**

***Marija Šifner, 0058209660***

**Sažetak:** Enterobacteriaceae (enterobakterije) ili crijevne bakterije velika su skupina široko rasprostranjenih Gram-negativnih bacila. Neki članovi ove obitelji uobičajeni su stanovnici gastrointestinalnog trakta, a pojedine vrste su izraziti patogeni za ljude te životinje i biljke. Lako dospijevaju u prehrambeni lanac pa su česti uzročnici kvarenja hrane što rezultira više ili manje opasnim bolestima. U ovom radu, predstavljeni su neki od najznačajnijih rodova ove obitelji, putevi kojim dospijevaju u organizam, raznolikost mehanizama njihove patogenosti i rezistencija na antibiotike kojima se pokušavaju suzbiti, prevencija, ali i korisnost njihovog postojanja.

**Ključne riječi:** enterobakterije, infekcija, patogenost, rezistencija

**Rad sadrži:** 35 stranica, 3 slika, 4 tablica, 83 literaturnih navoda, 0 priloga

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** doc.dr.sc. Tomislav Vladušić

**Pomoć pri izradi:** doc.dr.sc. Tomislav Vladušić

**Datum obrane:** 14. lipnja 2019.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**University undergraduate study Food Technology**

**Department of Biochemical Engineering**  
**Laboratory for Biology and Microbial Genetics**

**Scientific area: Biotechnical Sciences**  
**Scientific field: Food Technology**

### **Pathogenesis of enterobacteria**

***Marija Šifner, 00580209660***

**Abstract:** Enterobacteriaceae or enteric bacteria are a large group of widely present Gram-negative bacilli. Some members of this family are common inhabitants of the gastrointestinal tract, and some species are significant pathogens for humans, animals and plants. They easily get into the food chain and are common causes of food spoilage resulting in more or less serious diseases. In this paper, presented are some of the most important genera of the family, pathways into an organism, diversity of mechanisms for their pathogenicity and resistance to the antibiotics used to eradicate them, prevention methods, but also the usefulness of their existence.

**Keywords:** Enterobacteriaceae, infection, pathogenicity, resistance

**Thesis contains:** 35 pages, 3 figures, 4 tables, 83 references, 0 supplements

**Original in:** Croatian

**Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** doc.dr.sc. Tomislav Vladušić

**Technical support and assistance:** doc.dr.sc. Tomislav Vladušić

**Defence date:** June 14<sup>th</sup>, 2019

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO .....</b>	<b>2</b>
2.1. UZROCI INFEKCIJA .....	2
2.2. OBOLJENJA I MEHANIZMI .....	3
2.2.1. <i>Escherichia</i> .....	3
2.2.2. <i>Salmonella</i> .....	6
2.2.3. <i>Shigella</i> .....	7
2.2.4. <i>Proteus</i> .....	7
2.3. MEHANIZAM INFEKCIJE - <i>Salmonella</i> .....	8
2.4. ENTEROBAKTERIJE U HRANI .....	12
2.5. TROVANJE HRANOM - EPIDEMIJE .....	16
2.6. OTPORNOST NA ANTIBIOTIKE.....	18
2.6.1. MEHANIZMI OTPORNOSTI .....	19
2.6.1.1. REZISTENCIJA NA BETA-LAKTAMSKE ANTIBIOTIKE.....	20
2.6.1.2. REZISTENCIJA NA KO-TRIMOKSAZOL .....	21
2.6.1.3. REZISTENCIJA NA KINOLONE .....	21
2.7. KONTROLA I PREVENCIJA.....	26
2.8. KORIST ENTEROBAKTERIJA .....	27
<b>3. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>29</b>
<b>4. POPIS LITERATURE .....</b>	<b>30</b>

## 1. UVOD

Enterobacteriaceae (enterobakterije) ili crijevne bakterije (grč. enteron=crijevo) su jedna od najvažnijih skupina bakterija poznatih čovjeku. Obuhvaćaju veliku grupu Gram-negativnih bacila koje ne stvaraju spore. Fakultativni su anaerobi, i uz neke izuzetke, dijele sposobnost redukcije nitrata u nitrite i fermentacije glukoze i drugih šećera. Iako je nekoliko rodova nepokretno, većina bakterija ove skupine ima mogućnost kretanja pomoću flagela, odnosno bičeva (Donnenberg, 2015).

Sojevi nekih vrsta ove obitelji su bezazleni komenzali, dok su drugi izuzetni patogeni kako za ljude tako i za životinje te biljke. Široko su rasprostranjene, u vodi, tlu, okolišu općenito i upravo ta sveprisutnost omogućava nekim bakterijama neizbježan ulazak u prehrambeni lanac. Kao strani entiteti u nekom organizmu, nasele se i umnože, tj. izazovu infekciju sa simptomima primjetnim ili ne te uzrokuju manje ili više ozbiljne bolesti. One enterobakterije kojima je gastrointestinalni trakt uobičajeno stanište također mogu izazvati promjene i štetiti domaćinu u zdravstvenom smislu ukoliko je narušena ostala normalna mikrobna flora.

Uz enterobakterije najviše se vežu oni slučajevi kojima su izazvale promjene ulaskom u organizam putem vode i hrane, no naravno, taj put nije jedini. Neke od njih su odgovorne za kvarenje hrane općenito pa negativno doprinose značajnom bacanju hrane i ekonomskim gubitcima. Kao takve, izolirane iz hrane ukazuju na slabu higijenu okruženja i neadekvatnu obradu, posebno toplinsku obradu, u globalu neuspješno proveden proces obrade koji rezultira prekontaminacijom ili postkontaminacijom.

Osim problema koje uzrokuju u organizmu ljudi i životinja, izazivaju promjene i na biljkama. Neke enterobakterije koje su komenzali u probavnom sustavu ljudi i životinja, mogu biti izraziti patogeni za biljke. Najčešće promjene do kojih dovode su na listovima, uvenu i mijenjaju boju, zatim unutarne propadanje kako ploda, tako i drugih dijelova te kako infekcija odmiče, prouzrokuju brojne bolesti i na kraju, potpuno uništenje biljke (Garcia - González i sur., 2018).

Obitelj Enterobacteriaceae trenutno uključuje 53 roda i više od 210 vrsta, s tim da ti brojevi novim istraživanjima sve više rastu (Jenkins i sur., 2017). U ovom radu predstaviti će se one koje su do sada ostavile najviši značaj u znanstvenim istraživanjima, njihova patogenost, mehanizmi kojima to postižu, borba protiv antibiotika, ali i njihova korist.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. UZROCI INFEKCIJA**

Određeni članovi ove obitelji dio su normalne flore životinja uključujući i ljude iako se mnoge od njih, kao patogeni, često vežu uz infekcije koje posljedično izazivaju i bolesti (Jenkins i sur., 2017). Dva su osnovna tipa infektivnih bolesti koje su povezane s enterobakterijama: intestinalne (crijevne) i ekstraintestinalne (izvan crijeva) bolesti. Putevi prijenosa crijevne infekcije uobičajeno su fekalno-oralni, s osobe na osobu, direktnim kontaktom sa životinjama i njihovom okolinom ili konzumacijom kontaminirane hrane ili vode. Također je moguć endogeni put infekcije (npr. bakterijska translokacija iz crijeva u krv) što rezultira ekstraintestinalnim bolestima, što je puno češće zapaženo kod domaćina s oslabljenim imunološkim sustavom (Jenkins i sur., 2017).

Danas najčešći uzrok infekcija, te kao takav najučestaliji uzrok bolesti izazvanih enterobakterijama, je konzumacija kontaminirane hrane i vode. Odgovorne su za kvarenje raznih namirnica uključujući voće i povrće, meso, jaja, mlijeko i mliječne proizvode, kao i ribu i druge morske plodove. Posljedica toga su bolesti koje se prenose hranom, ali i ekonomski gubitci (Baylis i sur., 2011). Tijekom provođenja mikrobioloških analiza, prisustvo enterobakterija u hrani često je indikator fekalnog zagađenja, tj. nedovoljne higijene tijekom proizvodnje, rukovanja i neodgovarajućeg čuvanja odnosno skladištenja određene namirnice. U današnje vrijeme, zbog relativno brze i jednostavne detekcije, enterobakterije izolirane iz hrane dokaz su slabe higijene tog proizvodnog procesa ili neadekvatne obrade, posebno toplinske (Baylis i sur., 2011). Također, i bez ljudskog posredstva namirnice životinjskog podrijetla (meso, mlijeko, jaja) mogu biti kontaminirana crijevnim bakterijama same životinje ili zbog upotrebe stajskih gnojiva.

Namirnice u kojima se ustanovi prisutnost enterobakterija smatraju se zdravstveno neispravnima, te u svrhu sprječavanja zaraze, hrana podliježe brojnim testovima i kontrolama. Prvi simptomi koji se općenito javljaju su bol, dijareja (krvava ili vodena), povraćanje, povišena temperatura, malaksalost, a potom može doći do ozbiljnijih oboljenja koja, ukoliko se ne liječe na vrijeme, završavaju smrću.

## 2.2. OBOLJENJA I MEHANIZMI

Rod ***Serratia*** trenutno sadržava 14 priznatih vrsta od kojih je najčešće izolirana *Serratia marcescens*. Uobičajena crijevna bakterija za koju se smatra da nije patogena u gastrointestinalnom traktu. Međutim, u stanju je izazvati bolničke infekcije u drugim tjelesnim sustavima osobito infekcije dišnog i mokraćnog sustava, ali i meningitis, bakterijemiju i različite tipove infekcija rana. Do infekcije dolazi putem kontaminirane hrane, kontaminirane bolničke opreme ili ruku medicinskog osoblja (Ochieng i sur., 2014). S druge strane, ***Yersinia*** obuhvaća veliku grupu fakultativno anaerobnih bakterija koje pripadaju obitelji Enterobacteriaceae. Od 11 vrsta, samo 3 se smatraju patogenima za ljude, a od njih najznačajnija je *Y. enterocolitica*. Odgovorna je za crijevne bolesti, uključujući enterokolitis vezan s dijarejom u dojenčadi i male djece, zatim akutni ileitis i mezenterični limfadenitis kod starije djece i mladih odraslih ljudi, ali i rijetka ekstraintestinalna oboljenja uključujući infekcije mokraćnog sustava i respiratornog trakta, infekcije koštano-zglobnog sustava, endokarditis i dr. (Sabina i sur., 2011). Kolera je dobro poznata bolest uzrokovana crijevnom infekcijom koju, produkcijom toksina, izaziva bakterija *Vibrio cholerae*, roda ***Vibrio***. Prevladava u područjima s nezadovoljavajućim higijenskim uvjetima i u područjima pogođenim prirodnim katastrofama. Rezultira velikim količinama vodene stolice uzrokujući brzu dehidraciju koja može napredovati do hipovolemijskog šoka i metaboličke acidoze (Ojeda Rodriguez i Kahwaji, 2018). Bakterije roda ***Klebsiella*** najčešće se povezuju uz bolničke infekcije. Medicinski najvažnija vrsta ovog roda je *Klebsiella pneumoniae* koja uzrokuje značajan udio bolničkih infekcija mokraćnog sustava, upale pluća, septikemije i infekcija mekih tkiva (Podschun i Ullmann, 1998).

Osim ovih, istražen je još velik broj enterobakterija i bolesti koje one izazivaju, a neke od njih se ipak posebno ističu. Zbog njihove učestalosti, najopasniji te time i najznačajniji patogeni, kako s medicinskog tako i ekonomskog stajališta, predstavljeni su u nastavku.

### 2.2.1. *Escherichia*

*E. coli* je uobičajeni stanovnik gastrointestinalnog trakta ljudi i toplokrvnih životinja i kao komenzal živi u obostranoj koristi udružen s domaćinom. Međutim, jedna je od najčešćih patogena ljudi i životinja i kao takva, odgovorna je za širok spektar oboljenja (Allocati i sur., 2013). Neki sojevi razvili su sposobnost uzrokovanja bolesti gastrointestinalnog, mokraćnog i čak središnjeg živčanog sustava (Bardiau i sur., 2010) izazivajući trajna oštećenja mozga, uzrokovana napadima, moždanim udarom, komom, te upale moždanih ovojnica (meningitis) (Parikh i sur., 2012). Na osnovu virulentnog faktora (molekule koje omogućuju bakteriji



kolonizaciju domaćina na staničnoj razini (Sharma i sur., 2016)) kojeg posjeduju te procesima patogenosti, patogeni sojevi *E. coli* podijeljeni su u različite patogrupe, a one su široko grupirane kao intestinalne i ekstraintestinalne (Kaper i sur., 2004; Croxen i Finlay, 2009; Gomes i sur., 2016; Pasqua i sur., 2017). Intestinalne uključuju najmanje šest patotipova koji se razlikuju u mehanizmima virulencije, infektivnim procesima i oštećenjima izazvanim u ciljnim stanicama: enteropatogena *E. coli* (EPEC), Shiga toksin producirajuća *E. coli* (STEC), enterotoksigena *E. coli* (ETEC), enteroinvazivna *E. coli* (EIEC), enteroagregativna *E. coli* (EAEC), difuzno adherentna *E. coli* (DAEC), adherentno invazivna *E. coli* (AIEC), nedavno indetificiran patotip. U grupu ekstraintestinalnih *E. coli* ubrajaju se dva različita patotipa koji ciljaju različite dijelove tijela, a to su: uropatogena *E. coli* (UPEC) i neonatalni meningitis uzrokujuća *E. coli* (NMEC) (Pasqua i sur., 2017). U nastavku slijede primjeri različitosti nekih od najznačajnijih sojeva *E. coli* i načina njihove patogenosti.

#### • Enterotoksigena *E. coli* (ETEC)

Producira jedan od dva enterotoksina; termolabilan, LT (osjetljiv na povišene temperature pa se uništava na 65 °C u roku od 30 minuta) i termostabilan, ST (izrazito stabilan i ne uništava se ni pri temperaturi od 100 °C) enterotoksin. LT se pokazao vrlo sličan kolera toksinu, fiziološki, strukturno i antigenski te je sličnog načina djelovanja. Molekulska masa i struktura podjedinica ova dva toksina je identična; aktivna (A) podjedinica je okružena s pet identičnih veznih (B = *binding*) podjedinica. Kada ETEC kolonizira tanko crijevo i oslobodi LT, LTB podjedinica ireverzibilno se veže na GM1 gangliozid (sijalinska kiselina koja sadrži glikosfingolipide - u izobilju u živčanom sustavu (Yu i sur., 2013)), A podjedinica aktivira enzim adenilat-ciklazu, raste koncentracija cikličkog AMP-a što dovodi do izlučivanja klorida u stanice kripte i inhibira se prolaz natrijevog klorida u vrhove vila. Kada niz ovih reakcija premaši kapacitet apsorpcije crijeva, rezultat je vodena dijareja (Quadri i sur., 2005).

Enterotoksin ST je peptid male molekulske mase građen od 18 do 19 aminokiselina. Dva su tipa; STp i ST<sub>h</sub>, te su identičnog mehanizma djelovanja. Kada se otpusti u tanko crijevo, veže se reverzibilno na gvanilat ciklazu što dovodi do porasta razine cikličkog GMP-a. Kao i kod LT-a, povećava se izlučivanje klorida u stanicama kripte, dolazi do inhibicije apsorpcije natrijevog klorida te posljedično dolazi do vodene stolice (Quadri i sur., 2005).

Osim toksina, ETEC producira i kolonizacijske faktore. To su uglavnom fibrilarni proteini koji omogućuju organizimima da koloniziraju tanko crijevo i dovode do izražaja jedno ili oba od već spomenutih enterotoksina u neposrednoj blizini epitela crijeva (Quadri i sur., 2005).

EPEC je najčešći uzrok bakterijske dijareje kod djece i odraslih koji žive u područjima svijeta gdje je neadekvatna čistoća vode i loše sanitarne mjere. Također, najčešći je uzrok putničkog proljeva. Učinkovito liječenje EPEC dijareje je rehidracijom, a antibiotici se ne koriste rutinski osim u slučaju putničkog proljeva (Quadri i sur., 2005).

- **Enteropatogena (EPEC), enterohemoragična (EHEC) i verotoksična *E. coli* (VTEC)**

Početno prijanjanje na stanice domaćina je prvi korak infekcije kod enteropatogenog (EPEC), enterohemoragičnog (EHEC) i verotoksičnog (VTEC) soja *E. coli*. Posredovano je mnogim mehanizmima i po tome se ističu od ostalih sojeva *E. coli*. Važnost ovog koraka prilikom infekcije leži u tome da je prijanjanje prvi kontakt između bakterije i intestinalne stanice bez kojeg ostali koraci se ne mogu dogoditi.

**EPEC soj** kolonizira tanko crijevo i kod ljudi uzrokuje obilnu vodenu dijareju. Glavni je uzročnik dječjih dijareja u razvijenim zemljama, posebno kod djece mlađe od dvije godine. Do prijenosa dolazi oralno-fekalnim kontaktom s kontaminiranom hranom ili rukama. U goveda, enteropatogena *E. coli* uzrokuje dijareju u mladim teladi koje mogu postati kronične. Ekonomski gubici u takvim slučajevima su značajni. Osim navedenih, EPEC soj je također pronađen u psima, mačkama, zečevima, svinjama, ovcama i kozama.

Infekcije uzrokovane **EHEC sojem** u ljudima su karakterizirane kao općenito izazivanje proljeva, ali obično je popraćenom hemoragijskim kolitisom s, u nekoliko posto slučajeva, bubrežnim posljedicama (hemolitičko-uremički sindrom, HUS) što može dovesti do smrti.

EHEC soj se također može pronaći u fekalnoj flori raznih životinja (stoka, ovce, koze, svinje, mačke, psi, perad). Domaće životinje su najčešće izvor kontaminirane hrane i ljudske infekcije. U mnogo slučajeva, EHEC soj infektira putem biljne i životinjske hrane koja je onečišćena izmetom. Drugi dobro poznati izvor kontaminacije je sekundarni prijenos sa zaraženih osoba na druge.

**VTEC soj** uzrokuje infekcije pretežito u ljudima i svinjama, ali također mogu biti nađene u širokom spektru domaćih i divljih životinja. U ljudima infekcije s VTEC nisu česte, ali kada se i dogode, često su povezane s hemolitičko-uremičkim sindromom.

Patogenost EPEC infekcije može se uvjetno podijeliti u 3 stupnja: (1) početno prijanjanje, specifičnim adhezinima i kolonizacija crijeva; (2) translokacija bakterijskih signala u eukariotske stanice putem tip III sekrecijskog sustava koji uzrokuju preraspodjelu citoskeleta u enterocitima; i (3) prijanjanje bakterije na eukariotske stanice specifičnim proteinima, intimin proteinima. Koraci 2 i 3 zajedno uzrokuju formaciju A/E lezija (oštećenja).

EHEC infekcije uključuju četvrti korak koji se sastoji od produkcije verotoksina dok kod VTEC infekcija koraci 2 i 3 ne postoje i verotoksini se stvaraju nakon crijevne kolonizacije (Bardiau i sur., 2010).

#### • Uropatogena *E. coli* (UPEC)

Za razliku od već spomenutih sojeva *E. coli* koje uzrokuju infekcije unutar crijeva (intestinalne), uropatogena *E. coli* je soj koji izaziva ekstraintestinalne infekcije odnosno infekcije mokraćnog (urinarnog) sustava. Osobe s visokim rizikom za simptome ovog tipa infekcije su novorođenčad, djevojčice predškolske dobi, spolno aktivne žene te starije žene i muškarci (Mobley i sur., 2009). Kod žena spolna aktivnost povećava učestalost infekcija, a uporaba spermicidnih krema dovodi do poremećaja mikroflore rodnice što olakšava umnožavanje bakterije i povećava rizik od nastanka infekcije (Hooton, 2000; Barišić, 2011). Ova enterobakterija razvila je mnoštvo virulentnih faktora i strategija koje olakšavaju bakterijski rast, postojanost unutar mokraćnog sustava domaćina i izbjegavanje imunološkog odgovora. Jednom kad dospije u mokraćni sustav, UPEC kolonizira mjehur i uzrokuje cistitis koji uobičajeno prolazi bez posljedica, ali također može se uzdići uretrom (mokraćnom cijevi) do bubrega uzrokujući pijelonefritis koji može ostaviti trajne posljedice pa čak i rezultirati smrću (Wiles i sur., 2008).

Iako su svi sojevi specifičnih svojstava, nije isključeno da neki od sojeva ne prouzrokuju infekcije kao i oni drugi. Primjerice, iako je EHEC vodeći uzrok dijareje (kao posljedica infekcije debelog crijeva) i HUS-a, može uzrokovati i infekcije urinarnog trakta što znači da je i EHEC uropatogena bakterija.

#### 2.2.2. *Salmonella*

Rod enterobakterija koji sintezom endotoksina, po kemijskoj strukturi lipopolisaharid-protein kompleks, izaziva vrlo ozbiljne i dugotrajne bolesti, salmoneloze. Najčešći način zaraze je konzumacija kontaminirane hrane, a rizične namirnice su uglavnom jaja, mliječni proizvodi te sirovo meso, ali ni voće i povrće nisu isključeni. Osim toga, do zaraze može doći nepranjem ruku prije jela nakon kontakta sa životinjama što podrazumijeva prijenos bakterije iz fecesa životinja, s ruku u usta. Isto tako, moguće je direktno širenje bakterije s osobe na osobu posredstvom ruku, objekata ili hrane što je česti slučaj u bolničkim infekcijama za koje se *Salmonella* dokazala kao česti uzrok. Dva najopasnija oblika salmoneloza su trbušni tifus kojeg izaziva *Salmonella typhi* te gastroenteritis kojeg izaziva *Salmonella enteritidis* (Jeffrey,

2012). Nakon perioda inkubacije koji traje 6-42 sata javljaju se prvi simptomi kao što su nagla pojava mučnine, povraćanje, proljev, bolovi u trbuhu, povišena temperatura. Zbog obilnog povraćanja i proljeva može doći do dehidracije koja, ukoliko se ne reagira na vrijeme, može rezultirati smrću. Na koji način dolazi do toga i kojim mehanizmima patogenosti se koristi, objašnjeno je na stranicama 8-12.

### **2.2.3. *Shigella***

Infekcija je uobičajeno ograničena na distalni ileum i debelo crijevo. Na početku, invazija u epitelne stanice domaćina odvija se kroz M stanice i uključuje dva lokusa (*ipa* i *mxi-spa*). Invazijski plazmidni antigeni (IpA, IpB, IpC i IpD) su kodirani *ipa* operonom, a *mxi-spa* operon kodira komponente tip III sekrecijskog sustava (T3SS) koji prenosi Ipa proteine iz bakterija u stanice domaćina, te se izaziva bakterijska invazija. Slijedi unos bakterije pomoću IpaB i eventualno IpaC proteina, inducira se liza vezikule i bakterija se oslobađa u epitelnu citoplazmu. Slijedi replikacija bakterijskih stanica izazivajući upalni odgovor domaćina (Baylis i sur., 2011). Neke *Shigella* vrste produciraju enterotoksine 1 i 2 koji igraju ulogu u oslabljenoj apsorpciji tekućine i hranjivih tvari. Citotoksin *Shigella dysenteriae* serotip 1 odgovoran je za citotoksičnost i vaskularna oštećenja u debelom crijevu i drugim organima, kao što su bubregi, izazivajući krvavu dijareju i komplikacije kao što je hemolitičko-uremički sindrom (Aslam i Okafor, 2019). Osim dijareje, uobičajeni simptomi vezani za *Shigella* infekcije su groznica, mučnina, povraćanje, bolovi abdomena i nadutost. U slučajevima dizenterije, stolica može sadržavati krv, sluz ili gnoj zato što su uništene epitelne stanice intestinalne sluznice u rektumu (Baylis i sur., 2011).

### **2.2.4. *Proteus***

Enterobakterija koja, uz bakterije roda *Escherichia*, uzrokuje najčešće infekcije mokraćnog sustava. Oportunistička bakterija što znači da započinje razmnožavanje kada padne imunitet organizma. Pri tome dolazi do prijelaza iz probavnog sustava u mokraćni sustav. Ondje sintetizira ureazu, enzim koji hidrolizira ureu do amonijaka i CO<sub>2</sub> čime se povećava lužnatost urina, a to pogoduje stvaranju kristala. Ukoliko se nastavi razmnožavanje, kristal (kamenac) će se s vremenom sve više povećavati i doći će do oštećenja funkcije bubrega.

### 2.3. MEHANIZAM INFEKCIJE - *Salmonella*

*Salmonella* je prva otkrivena i izolirana iz crijeva svinja zaraženih klasičnom svinjskom kugom, 1855. godine (Eng i sur., 2015), a to otkriće pripisuje se američkom epidemiologu, T. Smithu, bakteriologu i patologu koji je dao puno doprinosa medicinskoj znanosti dalekosežne važnosti (Schultz, 2008). Ovaj bakterijski soj dobio je ime tek kasnije i to po imenu Dr. Daniela Elmera Salmona, američkog patologa koji je radio zajedno sa Smithom. Nomenklatura za rod *Salmonella* je sporna i još uvijek se razvija. Trenutno, u upotrebi je nomenklaturni sustav preporučen Svjetskom Zdravstvenom Organizacijom (WHO) (Popoff i sur., 2003; Eng i sur., 2015) po kojem se rod *Salmonella* klasificira u dvije vrste, a to su *Salmonella bongori* i *Salmonella enterica* koja se dalje klasificira u šest podvrsta na temelju genske srodnosti i biokemijskih svojstava (Reeves i sur., 1989; Eng i sur., 2015). Aglutinacijska svojstva somatskog O, flagelarnog H i kapsularnog Vi antigena koriste se za razlikovanje više od 2600 serološki različitih salmonela (Velge i sur., 2012).

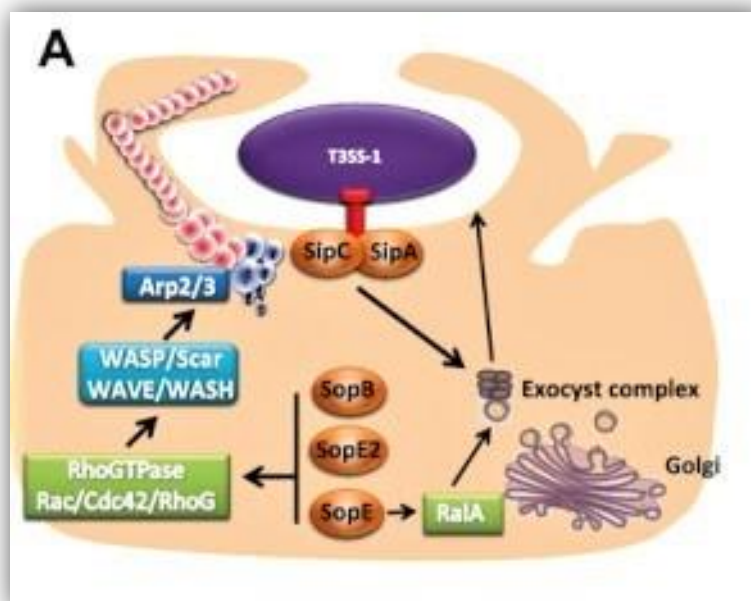
Otprilike 99% od *Salmonella* sojeva koji uzrokuju infekcije u ljudima i drugim sisavcima pripadaju vrsti *Salmonella enterica* (Kurtz i sur., 2017). Serotipovi ostalih podvrsta obično su izolirani iz hladnokrvnih životinja i okoliša, ali rijetko iz ljudi. Dok su neki serotipovi ograničeni na nekoliko životinjskih vrsta, drugi su sposobni inficirati kako hladnokrvne i toplokrvne životinje, tako i biljke. Bitna značajka patogenosti je sposobnost prolaska niza prepreka koje zahtijevaju invaziju velikog broja fagocitnih i nefagocitnih stanica. Donedavno je bilo prihvaćeno da je jedini put invazije u eukariotske stanice tip III sekrecijski sustav (T3SS), ali nedavni dokazi pokazali su da *Salmonella* može prouzrokovati infekciju i na T3SS neovisan način, a to su Zipper i Trigger mehanizmi invazije u stanicu (Velge i sur., 2012). Međutim, na patogenezu ne utječu samo doza i put inokulacije nego i genetska pozadina te imunološki sustav domaćina (Calenge i sur., 2009; Velge i sur., 2012). Molekularni mehanizmi na kojima se temelji kolonizacija salmonele, patogeneza i prijenos opisani su uglavnom za slučajeve kod glodavaca dok se vrlo malo zna o ovim mehanizmima za životinje s farmi i za ljude (Velge i sur., 2012). Ni jedan drugi bakterijski patogen ne pokazuje tako izvanrednu sposobnost zaraze različitih domaćina i izazivanja tolikih bolesti kao što je to *Salmonella*.

Infekcije domaćina se obično iniciraju unosom kontaminirane hrane ili vode te prolaskom bakterija od želudca do crijeva. Ondje se bakterije pridržavaju i ulaze u stanice koje oblažu crijevni epitel. Prolazak kroz crijevni zid iniciran je transcitozom tj. invazijom enterocita ili M stanica na apikalnoj strani, migracijom na bazolateralnu stranu te egzocitozom u intersticijalni prostor lamine proprije (Velge i sur., 2012). Ovisno o domaćinu i o kojem se serotipu bakterije radi, zapaženi su različiti načini ponašanja pa tako neki

serotipovi su ograničeni samo na područje crijeva dok se drugi translociraju u distalne organe (Velge i sur., 2012).

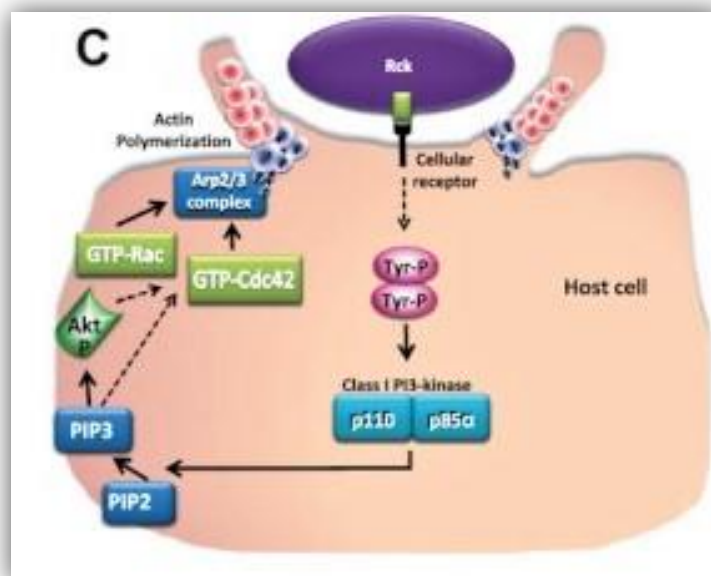
Za patogenost salmonele je ključan korak ulaska u stanice domaćina kako bi preživjela i uzrokovala bolest i više je načina na koji to postiže. „Trigger“ mehanizam podrazumijeva drastične citoskeletne pregradnje poznate kao „membranski nabori“. S druge strane „Zipper“ mehanizmom (ulaz posredovan receptorom) bakterija je čvrsto vezana za staničnu membranu domaćina i pokreću se samo manje promjene u citoskeletnom proteinu specifičnim kontaktom između bakterijskog liganda i receptora na površini stanice domaćina. Važna razlika ova dva mehanizma je ta da je u prvom ulazak potaknut „iznutra“ djelovanjem bakterijskih efektora koje dostavljaju sekrecijski sustavi, konkretno tip III sekrecijski sustav (T3SS), a kod drugog „izvana“ aktivacijom receptora stanice domaćina. U oba slučaja, bakterija otima fiziološke procese stanice modulacijom postojećih staničnih signalnih kaskada (Velge i sur., 2012). Tek nedavno je otkriveno da je *Salmonella* prva bakterija koja je pokazala da je moguć ulazak u stanice pomoću ova dva mehanizma.

Otoci patogenosti (Pathogenicity islands = PAIs) su genetički elementi integrirani u genom bakterija koji daju fenotip virulencije bakterijama koje su ga stekle (Velge i sur., 2012). Trenutačno je identificirano 21 različiti otok patogenosti za rod *Salmonella* iako su za mnoge od njih samo pretpostavljene njihove funkcije bez jasne uloge u patogenezi salmonele (Blondel i sur., 2009; Velge i sur., 2012). Jedan od njih, SPI-1, nosi sve gene koji su potrebni za biosintezu funkcionalnog T3SS aparata. T3SS je proteinski kompleks građen od više podjedinica sposoban za ubrizgavanje efektora direktno iz bakterijske citoplazme u citosol stanice domaćina. Efektori moduliraju stanične procese u korist patogena. T3SS čini kompleks igle i dijela koji omogućuje prolaz izlučenih proteina kroz unutarnje i vanjske bakterijske membrane, te translokona koji stvara pore u staničnoj membrani domaćina.



**Slika 1.** Shematski prikaz „Trigger“ mehanizma (Velge i sur., 2012)

Na slici 1. prikazan je shematski prikaz „Trigger“ mehanizma kojim *Salmonella* prodire u stanicu. Koristeći tip III sekrecijski sustav, *Salmonella* izravno ubacuje bakterijske efektore (SipA, SipC, SopB, SopE, SopE2) u eukariotsku stanicu. SopE, SopE2 i SopB aktiviraju RhoGTPazu Rac/Cdc42/RhoG kako bi se omogućila pregradnja aktinskog citoskeleta putem staničnih proteina; WASP/Scar/WAVE/WASH koji potom aktiviraju Arp2/3 kompleks. S druge strane, efektor SipA i SipC izravno se vežu na aktin. Da bi se potaklo formiranje membranskih nabora potrebno je regrutiranje kompleksa egzociste, a to se postiže efektorima SipC i SopE uz protein RalA (Velge i sur., 2012).



**Slika 2.** Shematski prikaz „Zipper“ mehanizma (Velge i sur., 2012)

„Zipper“ mehanizam, karakteriziran kao slabija pregradnja membrane, shematski je prikazan na slici 2. Rck ligand na površini vanjske membrane salmonelle uzajamno djeluje s receptorom na membrani stanice domaćina, što dovodi do aktivacije enzima tirozin kinaza (fosforilacijom) i PI3 kinaze klase I koji aktiviraju PIP3 i Akt, te male enzime GTPaze Rac1 i Cdc42 što dovodi do aktivacije kompleksa Arp2/3 i konačno polimerizacije aktina (Velge i sur., 2012).

Dakle, oba načina dovode do preraspodjele aktinskog citoskeleta, na strani kontakta bakterije i stanice domaćina, pa se bakterijske stanice obuhvaćaju i uklapaju u membranski vezane vezikule koje su izgrađene od membrane stanice domaćina (Eng i sur., 2015). U normalnim okolnostima, prisustvo stranog entiteta bi kod stanica domaćina izazvalo imunološki odgovor, što rezultira fuzijom lizosoma i izlučivanjem probavnih enzima kako bi razgradili intracelularne bakterije. Kako infekcija napreduje, *Salmonella* koristi i drugi po redu tip III sekrecijski sustav, T3SS-2, kodiran s SPI-2, koji oslobađa dodatne proteinske efektore kroz membranu salmonelle koja se sad nalazi u vezikuli omogućujući bakteriji opstanak i replikaciju (Velge i sur., 2012) te mijenjajući strukturu vezikule s ciljem onemogućavanja i blokiranja fuzije lizosoma (Eng i sur., 2015).

Period inkubacije u slučaju gastroenteritisa ovisi o dozi bakterija. Simptomi uobičajeno počinju 6 do 48 sati nakon konzumacije kontaminirane hrane ili vode i uobičajeno se javljaju u obliku mučnine, povraćanja, proljeva i bolova u abdomenu, na što se žali



najmanje dvije trećine pacijenata. Mialgija i glavobolja su česte, a povišena temperatura i groznica su također uobičajeni. Trajanje ovisi, ali najčešće je od dva do sedam dana.

Enteričke groznice su teški oblici salmoneloze, a najbolje proučena crijevna groznica je tifus kojeg uzrokuje *Salmonella typhi*, iako bilo koja vrsta salmonela može uzrokovati ovu vrstu bolesti. Simptomi započinju nakon inkubacije u periodu od 10 do 14 dana, a uključuju povišenu temperaturu, glavobolju, mialgiju te zatvor. Crijevne groznice su ozbiljne infekcije i mogu biti kobne ako se antibiotici ne primijene odmah. Općenito, ozbiljniji oblik infekcija javlja se u novorođenčadi, odraslih osoba starijih od 50 te već oboljelih osoba.

#### 2.4. ENTEROBAKTERIJE U HRANI

Kao što je već spomenuto, patogeni koji se prenose hranom vodeći su uzročnici bolesti. Procjenjuje se da godišnje uzrokuju od 6,5 do 33 milijuna slučajeva bolesti koje završe s približno 9000 smrtnih slučajeva (Fatem Al-Mutairi, 2011). Od svih rodova porodice Enterobacteriaceae, *Salmonella* predstavlja vodećeg uzročnika trovanja hranom.

*Proteus*, *Escherichia* i *Salmonella* mogu dospjeti u hranidbeni lanac fekalnom kontaminacijom pa se te bakterije mogu povezati s određenom hranom kao što su meso i perad. *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* i *Pantoea* obično se nalaze u okolišu (tlo, voda, biljke). *Erwinia*, *Brenneria* i *Pectobacterium* spp. povezane su s biljkama pa se mogu pronaći na voću i povrću. Druge bakterije, kao što su *Enterobacter*, *Hafnia* i *Yersinia*, široko su rasprostranjene stoga se često susreću u hrani. Enterobacteriaceae mogu izazvati kvarenje hrane širokog raspona prehrambenih proizvoda tj. mlijeka i mliječnih proizvoda, mesa, ribe i morskih plodova, voća, povrća i druge hrane. Njihov rast i metabolička aktivnost mogu rezultirati neugodnim okusom, mirisom, promjenom boje i drugim organoleptičkim svojstvima. Te promjene mogu proizaći zbog enzimske razgradnje proteina ili lipida, produkcijom hlapljivih komponenti i plinova (Baylis i sur., 2011).

Kontaminacija **mlijeka** može se dogoditi direktno životinjama koje ih prenose u mlijeko ili indirektno tijekom procesa proizvodnje, prikupljanjem i prijevozom, putem opreme ili poljoprivrednika koji ne poštuju higijenske mjere. Zaražene životinje mogu prenijeti patogene organizme fecesom pa se mlijeko kontaminira i okolišem (voda, tlo, stočna hrana) (Motarjemi i sur., 2014).

U mlijeku i mliječnim proizvodima neki sojevi enterobakterija mogu uzrokovati gorčinu produkcijom enzima koji razara kazein, mliječni protein. Termostabilnost neki lipaza i proteaza sugerira da tretmani pasterizacije, HTST (visoka temperatura i kratko vrijeme) i

UHT (ultra visoka temperatura), ne inaktiviraju ove enzime. Osim promjena u okusu, neke Enterobacteriaceae, poput *Serratia* spp., mogu izazvati crvenkasti pigment, dok druge bakterije mogu uzrokovati promjene drugih boja (ICMSF, 1998; Baylis i sur., 2011). U ranoj fazi zrenja tijekom proizvodnje sira, Enterobacteriaceae mogu izazvati kvarenje zvano „rano napuhavanje“ koje rezultira rupama u samom proizvodu, a nastaje stvaranjem plinova za vrijeme fermentacije laktoze (ICMSF, 1998; Baylis i sur., 2011). *Proteus*, *Escherichia* i *Enterobacter* povezani su s nedostacima koji uključuju stanje zvano „ljigava skuta“ u svježem siru (Jay, 2000; Baylis i sur., 2011). *Serratia* spp. i drugi članovi obitelji Enterobacteriaceae vežu se uz kvarenje svježih deserata od vrhnja koje je karakterizirano zgrušnjavanjem vrhnja djelovanjem produciranih kiselina i plinova (Sutherland i sur., 1986; Baylis i sur., 2011).

**Jaja** su posebno rizična namirnica i česti uzrok infekcija patogenim bakterijama koje su prisutne izvana na ljusci ili u unutrašnjosti. Perad može nositi bakteriju i kontaminirati unutrašnjost jajeta i prije nego se formira ljuska, dok se sama ljuska može kontaminirati patogenim bakterijama dospjelih iz okoliša, iz fecesa ili površine na koju se liježu.

U Sjedinjenim Američkim Državama provedeno je istraživanje (Musgrove i sur., 2018) na jajima kojim se nastojalo utvrditi broj enterobakterija i srodnih vrsta na opranim i neopranim ljuskama jaja kako su napredovala kroz lanac obrade. Tri komercijalna postrojenja (X, Y, Z) odabrana su za uzimanje uzoraka. Jaja su skupljana u različitim fazama prije, tijekom i nakon obrade (kao što su pretpranje, nakon prvog i drugog pranja, dezinfekcija, sušenje, podmazivanje, pakiranje) te su podvrgnuta analizama. Identificirano je ukupno 837 izolata tijekom 9 posjeta postrojenjima. Najviše izolata je identificirano na postrojenju X koje je ujedno i najstarije, Y postrojenje je jedino koje ne koristi fazu ponovnog pranja ukoliko se uoči da su jaja i dalje prljava, a postrojenje Z je jedino koje ne podmazuje jaja. Rezultati su pokazali da su se na ljuskama nakon obrade zadržali sljedeći rodovi enterobakterija: *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Listonella*, *Providencia* i *Vibrio*, a na neopranim ili djelomično obrađenim ljuskama jaja našli su se rodovi *Cedecea*, *Chryseomonas*, *Erwinia*, *Hafnia*, *Kluyvera*, *Leclercia*, *Morganella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Rahnella*, *Serratia*, *Sphingobacterium*, *Vibrio* i *Xanthomonas*. U tablici je vidljiv postotak prisutnih enterobakterija pronađenih u različitim fazama procesa.

**Tablica 1.** Prisutnost enterobakterija (%) prije, tijekom i nakon procesa obrade  
(Musgrove i sur., 2008.)

POSTROJENJE	PRIJE	TIJEKOM	NAKON
X	<b>70.5</b>	<b>24.6</b>	<b>5.1</b>
Y	<b>77.9</b>	<b>10.3</b>	<b>11.8</b>
Z	<b>83.2</b>	<b>10.0</b>	<b>6.8</b>

*Escherichia coli*, izolirana češće od bilo koje druge pojedinačne vrste, i *Enterobacter* identificirani su u svakom postrojenju tijekom svake posjete i činili su 55,8% identificiranih izolata. Na kraju procesa obrade, na ljusci od jaja činila je samo oko 2% prisutnosti na svakom od postrojenja što dokazuje da se u nekim slučajevima *E. coli* može prilagoditi i preživjeti pod utjecajem korištenih deterdženata. Također, u svakom postrojenju kako prije tako i tijekom procesa, identificirana je *Salmonella*. Jedan od tri uzorka vode prikupljenih tijekom analize bio je pozitivan na salmonelu.

Studijom su pokazali da enterobakterije ostaju, ali se i eliminiraju tijekom procesa obrade s tim da usavršavanje učinkovitosti procesa uvijek mora biti glavni cilj. Podaci su pokazali da su komercijalni postupci pranja uspješni u uklanjanju značajnog udjela enterobakterija s ljuske jaja (Musgrove i sur., 2008).

**Meso** i mesni proizvodi su najčešći izvor čijom konzumacijom dolazi do otrovanja rodnom *Salmonella* (Fatem Al-Mutairi, 2011). Osim salmonele, ostali česti uzročnici bolesti uzrokovanih konzumacijom mesnih proizvoda su *Escherichia coli*, *Proteus* i *Klebsiella*. U prehrambenoj industriji, sirovo meso najviše podliježe kontaminaciji patogenima.

Rast enterobakterija u mesu je najizrazitiji na temperaturi skladištenja višoj od 5 °C. U svježem mesu iskorištavaju glukozu i druge jednostavne šećere i kada ih iscrpe, mogu razgraditi slobodne aminokisline i druge srodne jednostavne dušikove spojeve. Kada se to dogodi, javljaju se primjetni mirisi i kvarenje postaje očito.

Istraživanjem u Gizi (Egipat) nastojalo se ispitati kolika je učestalost enterobakterija (*Escherichia coli*, enteropatogena *E. coli* (EPEC), *Proteus*, *Klebsiella*, *Salmonella* i *Citrobacter*) u nekim mesnim proizvodima. Uzorci su prikupljeni iz različitih supermarketa. Tehnike ispitivanja bile su brojanje bakterijskih kolonija s čvrste hranidbene podloge, mikroskopsko ispitivanje, MPN metoda (eng. Most Probable Number), biokemijske tehnike (IMViC testovi), serološka identifikacija. Iz dobivenih rezultata utvrdili su da se ispitivane enterobakterije

nalaze u svakom uzorku analiziranih mesnih proizvoda. Izuzetak je uzorak kofta u kojem nisu identificirane bakterije *Salmonella* te *Citrobacter*. Najveći postotak (20%) zastupljenosti od ukupnog broja uzoraka (75) dosegla je *Escherichia coli*, a slijede ju *Klebsiella* (10,66%) te *Proteus* (7,7%). Također, unutar 12 od 15 uzoraka (80%) u kojima je prvotno identificirana *E. coli* utvrđena je prisutnost enteropatogene *E. coli* (EPEC). Prisutnost EPEC u mesu i mesnim proizvodima dokazuje da je do kontaminacije došlo putem fekalija ili vode. Isto tako, potvrđuje neadekvatne higijenske uvjete tijekom proizvodnje (Fatem Al-Mutairi, 2011).

Dvije važne karakteristike bakterijskog kvarenja **ribe** enterobakterijama su njihova mogućnost da produciraju H<sub>2</sub>S i da reduciraju trimetilamin oksid (TMAO) na trimetilamin (TMA) koji ima oštar miris čak i u niskim koncentracijama. Većina enterobakterija, osim *Erwinia* i *Shigella* spp. može reducirati TMAO u TMA (Barret i Kwan, 1985; Baylis i sur., 2011) što dovodi do kvarenja. Osim promjena u organoleptičkim svojstvima, još važnija je za spomenuti aktivnost enzima histidin dekarboksilaze kod nekih enterobakterija, koji dovodi do produkcije histamina u ribama što može u konačnici rezultirati trovanjem (Baylis 2006; Baylis i sur., 2011).

Meko truljenje je uobičajena vrsta kvarenja **voća** i **povrća** koje uzrokuju enterobakterije, ponajprije *Erwinia* spp.. To je rezultat enzima pektinaza koji razgrađuju pektine što rezultira, karakterističnim kašastim izgledom ponekad popraćenim i lošim mirisom. (Baylis i sur., 2011).

U studiji (Al-Kharousi i sur., 2016) kojom se nastojalo identificirati mikrobne zajednice na voću i povrću odabrano je ono koje se uglavnom jede u sirovom obliku. Izabrano je 7 vrsta svježeg uvezenog iz različitih zemalja svijeta ili lokalno proizvedenog voća (banana, datulje, mango, papaja, nar, rajčica, lubenica) i 6 vrsta povrća (kupus, paprika, mrkva, krastavac, salata, radič). Analiza se provodila 2014. godine u Omanu s ciljem dobivanja informacija o sanitarnim uvjetima voća i povrća konzumiranih u ovom dijelu svijeta što bi u konačnici pomoglo u poboljšanju njihove kvalitete i sigurnosti za potrošnju. Identifikacijom 130 bakterija i 97 izolata najviše nađena vrsta *E. coli* (15 izolata) izolirana samo iz uzoraka povrća, a slijedili su *Klebsiella pneumoniae* (13 izolata), te *Enterobacter cloacae* (12 izolata). Za povrće se pokazalo da ima veću APC vrijednost nego voće, a to pripisuju tome što je povrće bliže tlu nego voće. APC (Aerobic Plate Count) je mjera koja prikazuje broj različitih bakterijskih skupina, konkretno u voću i povrću korištenom u ovoj studiji. Koristi se za praćenje kvalitete higijene proizvoda tijekom obrade i distribucije, ali se istim teško može utvrditi sigurnost nekog proizvoda. Lisnato povrće pokazalo je veće APC vrijednosti od

nelisnatog, pa su tako uvezena salata i lokalno proizveden kupus imali najveći zabilježeni broj mikroorganizama. Najmanje kontaminirano voće je nar na kojemu nije identificirana ni jedna bakterijska skupina, dok su lubenica (kontakt s tlom) i papaja (obložena prašinom) pokazali visoke APC vrijednosti. Za sok i ekstrakte nara pokazalo se da imaju antibakterijsko djelovanje čemu dodatno doprinosi niska pH vrijednost nara koja iznosi 3,5 i kao takva, također može doprinijeti inhibitornoj aktivnosti prema bakterijama (Al-Kharousi i sur., 2016).

Neka istraživanja (Siragusa i sur., 1998; Al-Kharousi i sur., 2016) pokazala su snažnu povezanost između APC vrijednosti i prisutnosti *E. coli* i u govedini gdje je 88% uzoraka bilo pozitivno na istu bakteriju.

Prethodnom studijom uočene visoke APC vrijednosti i brojnost enterobakterijskih vrsta pokazuju da higijenski uvjeti voća i povrća u Omanu nisu zadovoljavajući i da se svakako trebaju poboljšati. Razumijevanje složenog mikrobiološkog sustava koje je jedinstven za svaki proizvod u određenoj zemlji važno je kako bi se uspostavili kontrolirani sustavi koji se zatim mogu primijeniti tijekom branja, proizvodnje, distribucije i marketinga s ciljem kontrole kvarenja i patogenih mikroba (Al-Kharousi i sur., 2016).

Kako bi ispitani proizvodi bili oslobođeni potvrđenih patogena u što većoj mjeri s ciljem postizanja sigurnosti za ljudsko zdravlje, potrebno je: provoditi rutinska mikrobiološka ispitivanja kako u mesnoj industriji, tako i u svim drugim proizvodnim pogonima, zatim osigurati higijensku svijest osoblja koje rukuje s hranom u industriji, restoranu ili u domaćinstvima, isključiti mogućnost unakrsne kontaminacije tj. spriječiti prijenos bakterija s jedne vrste namirnice, sirove ili ne, na drugu vrstu namirnice (direktno, preko ruku, radnih površina, pribora i opreme) (Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, HAPIH). Primjenom HACCP sustava (Hazard Analysis Critical Control Point) tijekom svih koraka proizvodnje, rukovanja i skladištenja, osigurava se da rizik nastanka potencijalno opasne hrane bude sveden na minimum ili potpuno uklonjen.

Bez obzira na izvor, može se preventirati nastanak bolesti ukoliko se primjenjuju adekvatni uvjeti obrade hrane (npr. visoka temperatura pri termičkoj obradi, odvojiti sirovo i termički obrađeno).

## **2.5. TROVANJE HRANOM - EPIDEMIJE**

Iako se u pogonima proizvodnje hrane i općenito u prehrambenoj industriji održavaju visoke mjere zdravstvene sigurnosti, slučajevi trovanja hranom su svakodnevica diljem

svijeta. Posljednjih nekoliko godina do toga dolazi najviše u domaćinstvima te u restoranima (posebno fast food restorani) kao posljedica niskog stupnja higijene (fekalno onečišćenje) i što je češće, kao posljedica nedovoljne termičke obrade. Međutim, takvi slučajevi često se javljaju na svim mjestima dostupnim za velik broj ljudi, uključujući i javne ustanove (npr. bolnice). U nastavku slijedi nekoliko slučajeva koji su zapamćeni upravo zbog velikog broja zaraženih ljudi te zabilježenog broja smrtnih slučajeva.

### **1) *Jack in the Box E. coli* epidemija (1993.)**

Epidemija uzrokovana bakterijom *E. coli* (O157:H7) koja se nalazila u pljeskavicama od goveđeg mesa. Slučaj je uključivao 73 restorana brze hrane u Kaliforniji, Idaho, Washingtonu te Nevadi i rezultirao je sa 732 zaražene osobe. Većina žrtava bila su djeca mlađa od 10 godina. Četvero djece je umrlo, a trajne posljedice, uključujući oštećenje bubrega i mozga, zadobilo je 178 osoba. Iako su prvotno zbog kontaminacije goveđeg mesa s *E. coli* okrivili dobavljača, otkrilo se da je ovaj lanac brze hrane zapravo zanemario sigurnosne mjere određene zakonima koji nalažu da meso treba biti termički obrađeno na temperaturi od 68°C koja je dovoljna da u potpunosti usmrti *E. coli*. Da su primijenili temperaturu obrade višu od tada korištenih 60°C, epidemija bi bila izbjegnuta (Australian Institute of Food Safety, 2016).

### **2) Epidemija *E. coli* u Njemačkoj (2011.)**

Najveća epidemija koja je zadesila Europu dogodila se u Njemačkoj, 2011. godine, tijekom svibnja i lipnja. Uzročnik epidemije bila je enterohemoragična *E. coli* (EHEC) koja je produkcijom Shiga toksina kod oboljelih izazvala krvave proljeve te hemolitičko-uremički sindrom (HUS). 53 osoba je umrlo, a ukupno je bilo zaraženo 3950 ljudi. Glavni uzrok ove epidemije bile su sjemenke piskavice uvezene iz Egipta iako se prvotno smatralo da je epidemiju prouzrokovalo svježe povrće s jedne njemačke farme (Burger, 2012).

### **3) Kikiriki maslac epidemija, *Salmonella***

Slučaj epidemije u kojem je zaraženo 714 osoba bakterijom *Salmonella typhimurium* konzumacijom kikiriki maslaca. Epidemija je zahvatila 46 savezne države (SAD) u razdoblju od rujna 2008. do ožujka 2009., a više od polovice zaraženih bila su djeca mlađa od 16

godina. Zabilježeno je 9 smrtnih slučajeva. Kikiriki maslac nije bio dostupan potrošačima u trgovinama mješovitom robom, nego je bio distribuiran u škole, sveučilišta, bolnice, restorane, pekarnice i sl. Također, koristio se kao sastojak mnogih drugih proizvoda. Uzrok ove kontaminacije bili su nehigijenski uvjeti u proizvodnom pogonu (plijesan, insekti) (Center for Disease Control and Prevention, 2009).

#### **4) Epidemija *Salmonella enteritidis* u jajima**

Epidemija pri kojoj je zabilježeno 1412 slučajeva zaraze salmonelom iz jaja s jedne poljske peradarske farme, u više europskih zemalja, uključujući i Hrvatsku, u razdoblju od 2012. do kraja siječnja 2017. godine (Europski centar za sprječavanje i kontrolu bolesti, ECDC). Međutim, i nakon tog izbijanja kojim je zabilježen najveći broj zaraženih, i dalje se prijavljuju infekcije koje su povezane s tim slučajem što ukazuje da nisu uklonjeni svi izvori kontaminacije. Tijekom 2017. i 2018. godine zabilježen je još 421 slučaj, a ove godine (2019.) prijavljeno je čak 11 slučajeva trovanja salmonelom kao dio epidemije koja je započela još 2012. godine (Food Safety News). Neki od slučajeva povezani su s konzumacijom jaja koja su korištena u raznim jelima i poslužena u ugostiteljskim objektima i restoranima, a čak 2,7 milijuna jaja je uklonjeno iz lokalnih trgovina pod vlasništvom tri velika trgovačka lanca. Najviše slučajeva je prijavljeno tijekom ljetnih mjeseci. Masovno povlačenje zaraženih jaja i mjere kontrole poduzete su u Poljskoj te na međunarodnoj razini. Europske zemlje u kojima se zabilježio najveći broj zaraze su Ujedinjeno Kraljevstvo (600 slučajeva), Nizozemska (gotovo 300 slučajeva) i Belgija (približno 200 slučajeva). Zabilježena su čak dva slučaja smrti - pacijent u Mađarskoj i petogodišnje dijete u Hrvatskoj.

#### **2.6. OTPORNOST NA ANTIBIOTIKE**

Kao što je već dokazano, enterobakterije su se pokazale kao primarni uzročnici velikog broja infektivnih bolesti. Pojedine vrste bakterija posjeduju prirodnu otpornost na određene grupe antibiotika, što je urođena karakteristika vrste i na istu treba računati prilikom odabira terapije za infekcije u kojima su takve bakterijske vrste očekuju kao mogući patogeni. Puno veći problem (zdravstveni, društveni i ekonomski) današnjice predstavlja stečena otpornost na antibiotike koja se javlja kod bakterija koje bi prirodno trebale biti osjetljive na taj antibiotik. Zbog stalne evolucije otpornosti bakterija na antibiotike,

neophodno je trajno praćenje otpornosti da bi se poboljšale smjernice za antibiotsko liječenje (Sotto i sur., 2001; Barišić, 2011). Antibiotička rezistencija predstavlja biološki rizik kojim sve više raste smrtnost životinja i ljudi.

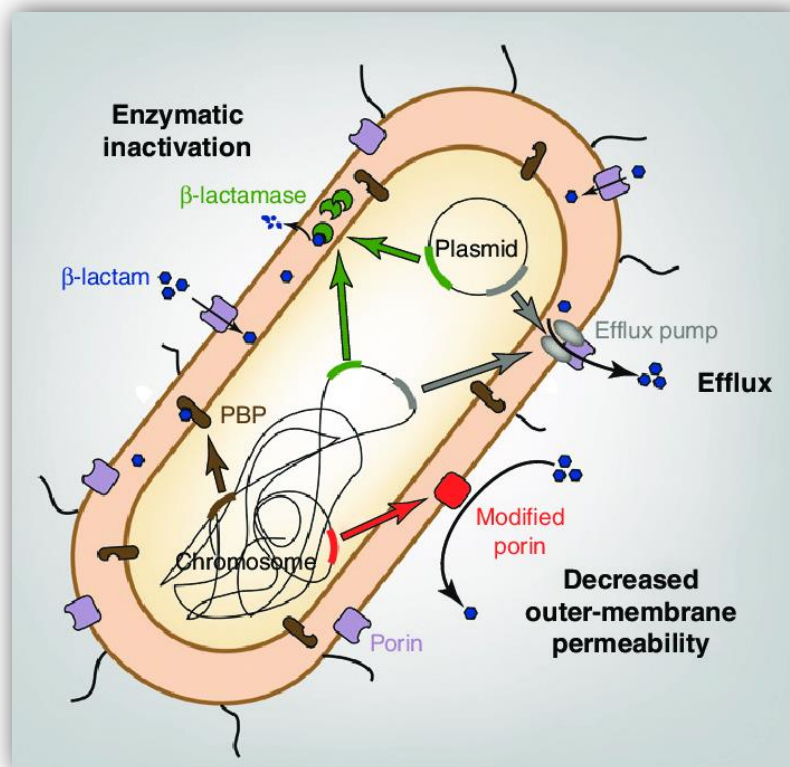
Zbog svoje relativno niske toksičnosti i visoke djelotvornosti **beta-laktamski** antibiotici su najčešće upotrebljavani antibiotici pa stoga stjecanje otpornosti enterobakterija na ovu grupu antibiotika najviše zabrinjava. U tu skupinu ubrajaju se skupine antibiotika kao što su: penicilini, cefalosporini, karbapenemi i dr. Ampicilin je bio prvi penicilinski antibiotik s djelotvornošću na gram-negativne bakterije (*E. coli*, *P. mirabilis*, salmonelle i šigele) te je nazvan penicilinom širokog spektra. Međutim, ampicilin i I. generacija cefalosporina ne djeluju na *Klebsiella* spp., *P. vulgaris*, *C. diversus* te *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp., *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri* zbog prirodnih beta-laktamaza u tim vrstama. Danas je u Hrvatskoj zabilježena rezistentnost na ampicilin i to kod 50% *E. coli* i 30% *P. mirabilis* (Andrašević i Tambić Andrašević, 2006).

Također, pri liječenju infekcija mokraćnog sustava i infekcija probavnog sustava visoko mjesto zauzimaju **ko-trimoksazol** i **kinoloni**, s obzirom da ove grupe antibiotika učinkovitije uništavaju mikroorganizme iz mokraćnog sustava i rjeđe za posljedicu imaju dugotrajno kliconoštvo crijevnih patogena nego ostale grupe antibiotika. Međutim, upravo ta velika uporaba ko-trimoksazola dovela je do široko rasprostranjene otpornosti na ovaj antibiotik kod većine enterobakterija, posebice *E. coli* koja je najčešći uzročnik infekcija mokraćnog sustava. Navedene grupe antibiotika bit će više pojašnjene u nastavku s obzirom na njihovu učestalost korištenja.

### **2.6.1. MEHANIZMI OTPORNOSTI**

Enterobakterije mogu razviti otpornost na antibiotike promjenom ciljnog mjesta ili mehanizmom pumpe koja izbacuje antibiotik iz stanice (Slika 3.). Zatim smanjenom propusnosti stanične stijenke za prolaz antibiotika zbog nedostatka ili modifikacije transportnih proteina (porinski proteini), s tim da je otpornost posredovana na ovakav način samo nižeg stupnja što znači da ne dolazi do potpunog prekida nego samo smanjenog unosa antibiotika u stanicu. Najčešći i najbitniji mehanizam otpornosti kojeg su razvile enterobakterije je mehanizam proizvodnje enzima koji razaraju unesene antibiotike.





**Slika 3.** Primarni mehanizmi otpornosti enterobakterija na antibiotike (Nordmann i sur., 2012.)

### 2.6.1.1. REZISTENCIJA NA BETA-LAKTAMSKE ANTIBIOTIKE

Beta-laktamski antibiotici djeluju, pojednostavljeno, po principu inhibicije sinteze peptidoglikana koji izgrađuje staničnu stijenku bakterija. U svojoj molekularnoj strukturi sadrže beta-laktamski prsten koji se veže za PBP (*penicillin binding protein*) ili enzim transpeptidazu, enzim odgovoran za formiranje umrežene strukture peptidoglikana. Dakle, djelovanjem enzima inhibira se sinteza peptidoglikana tj. stanične stijenke i u konačnici, bakterijska stanica je oštećena.

Kako bi se obranile od beta-laktamskih antibiotika, sve enterobakterije (osim roda *Salmonella*) su osigurale način kojim suzbijaju njihovo djelovanje, a to je produkcija enzima, beta-laktamaza. To su enzimi koji otvaraju beta-laktamski prsten i na taj način ga inaktiviraju, odnosno, antibiotik gubi svoju funkciju i ne ulazi u interakciju s transpeptidazama. U konačnici, ne dolazi do inhibicije sinteze peptidoglikana. Do danas je otkriven veliki broj različitih enzima koji razaraju beta-laktame, a trenutno se upotrebljavaju dvije klasifikacije: funkcionalna klasifikacija (Bush i sur., 1995; Andrašević i sur., 2009) i molekularna klasifikacija beta-laktamaza (Ambler, 1980; Andrašević i sur., 2009).

Beta-laktamski antibiotici su penicilini, cefalosporini, karbapenemi te monobaktami. Karbapenemi su stabilni na djelovanje spomenutih beta-laktamaza, no postoje beta-laktamaze tzv. karbapenemaze koje razaraju i ove moćne antibiotike. Osim posredstvom karbapenemaza rezistencija može biti uzrokovana i smanjenom propusnošću vanjske membrane zbog gubitka ili promjene strukture porina te pojačanim efluksom karbapenema iz stanice ili kombinacijom ovih mehanizama (Barišić, 2011).

### **2.6.1.2. REZISTENCIJA NA KO-TRIMOKSAZOL**

Ko-trimoksazol ili trimetoprim-sulfametoksazol je često bio prvi lijek izbora u liječenju infekcija mokraćnog sustava zbog odličnog odgovora na uzročnike bolesti tog područja. Međutim, široka uporaba ovog antibiotika dovela je do visoke otpornosti *E. coli* u mnogim zemljama. U Europi i SAD-u više od 20% izolata *E. coli* rezistentno je na ovaj antibiotik (Andrašević i Tambić Andrašević, 2006).

Više od 50% ko-trimoksazol rezistentnih *E. coli* u SAD-u pripada klonalnoj grupi A (engl. *clonal group A*, CGA) koja pokazuje sposobnost izazivanja ekstraintestinalnih infekcija, a isti taj soj prisutan je i u Europi (Johnson, 2005; Andrašević, 2009). U Hrvatskoj je 2008. godine otpornost *E. coli* na ko-trimoksazol iznosila 24% s rasponom otpornosti ovisno o laboratoriju od 17% do 35% (Tambić Andrašević i Tambić, 2017).

Sulfametoksazol je sulfonamid koji djeluje izravno u sintezi folata unutar mikrobnih organizama. Kao konkurent *p*-aminobenzoičnoj kiselini (PABA) natječe se za vezanje na enzim dihidropteroatnu sintetazu i ihibira konverziju PABA i dihidropteroat difosfata u dihidrofolat. Inhibiranje produkcije intermedijera dihidrofolata utječe na normalnu bakterijsku sintezu folata potrebnih za bakterijski rast i replikaciju. Isto tako, trimetoprim je direktan kompetitor enzima dihidrofolat reduktaze uzrokujući inhibiciju pri čemu se sprječava redukcija dihidrofolata u tetrahidrofolat tj. zaustavlja se produkcija tetrahidrofolata koji je potreban u sintezi purina i pirimidina, nužnih za sintezu DNA i proteina.

Ukoliko se sulfametoksazol i trimetoprim koriste sami, djeluju samo bakteriostatski, ali ako se koriste u kombinaciji, dakle kao sulfametoksazol-trimetoprim tj. kao ko-trimoksazol djeluju baktericidno jer blokiraju bakterijsku biosintezu esencijalnih nukleinskih kiselina i proteina (Kemnic i Coleman, 2019).

### **2.6.1.3. REZISTENCIJA NA KINOLONE**

Kinoloni su dostupni od 1960-ih godina, a otkriveni su u procesu sinteze i purifikacije klorokina (Chen i Lo, 2003; Barišić, 2011). Nalidiksična kiselina je prvi predstavnik kinolona,

u kliničkoj uporabi od 1962. godine i korištena je isključivo za liječenje infekcija mokraćnog sustava (Oliphant i Green, 2002; Barišić, 2011). Osamdesetih godina uvedeni su noviji i snažniji fluorirani kinoloni (norfloksacin, ciprofloksacin) sa širim spektrom djelovanja koji se mogu primijeniti kod infekcija kosti, zglobova, za liječenje sustavnih infekcija te za liječenje infekcija spolnog, probavnog i dišnog sustava (Hooper, 1998; Li, 2005; Barišić, 2011). Kinoloni su posebno prikladni za liječenje infekcija mokraćnog sustava jer postižu visoku koncentraciju u mokraći i imaju širok spektar djelovanja (Drago i sur., 2001; Barišić, 2011). Fluorokinoloni imaju malo utjecaja na anaerobne bakterije crijevne flore dok značajno utječu na gram-negativne bakterije (eliminiraju bakterije porodice Enterobacteriaceae) (Barišić, 2011).

Do rezistencije na fluorokinolone dolazi uslijed mutacija gena koji kodiraju za ciljno mjesto kinolona, tj. podjedinice enzima giraze (*gyrA*, *gyrB*) i DNA topoizomeraze IV (*parC*) odgovornih za sintezu DNA (Andrašević, 2009). U dijelovima GyrA i parC postoje regije koje su povezane s otpornošću na kinolone. Zamjenom aminokiselina u tom području dolazi do porasta rezistencije na kinolone jer mutacije mijenjaju ciljna mjesta na koje se vežu kinoloni i na takav način smanjuju afinitet za njihovo vezanje.

Mutacije su najčešći mehanizam obrane enterobakterija na kinolone, ujedno i najviše proučavane (Webber, 2001). Osim toga, otpornosti doprinosi smanjena propusnost stijenke bakterije (smanjena aktivnost porina - kanali kroz koje prolaze molekule) te aktivno izbacivanje antibiotika iz stanice (ekspresija efluksne pumpe). Također, otpornost na kinolone može nastati i zbog prisutnosti plazmida koji nosi gen otpornosti na kinolone, *qnr* (Ruiz, 2003). Nadalje, pretjerana i nekontrolirana uporaba kinolona u kliničkoj i veterinarskoj medicini dovodi do sve veće otpornosti bakterija te smanjuje učinkovitost kinolona za buduću primjenu. Točnije, uporaba jednog predstavnika kinolona dovodi do razvoja otpornosti na cijelu kinolonu skupinu antibiotika (Wolfson, 1989; Barišić, 2011).

Među države s najvećom potrošnjom antibiotika te države s najvišim stopama otpornosti na kinolone ubrajaju se Španjolska i Portugal (Kahlmeter, 2003; Oteo i sur., 2005; Barišić, 2011). Jedna španjolska studija pokazala je da su 45% svinja i 90% pilića bili nosioci sojeva *E. coli* otpornih na kinolone što predstavlja najveću do sada opisanu prevalenciju takve otpornosti u svijetu (Garau i sur., 1999; Barišić, 2011).

U Europi se bilježi stalni porast rezistencije *E. coli* na kinolone, a u šest europskih zemalja rezistencija na fluorokinolone je veća od 25%. U Hrvatskoj rezistencija na ciprofloksacin iznosi oko 10% u *E. coli*, a u ostalih enterobakterija zabilježene su stope u

rasponu od 5% (*P. mirabilis*) do 14% (*K. pneumoniae*) (Andrašević i Tambić Andrašević, 2006).

Yulistiani i sur. (2017) proveli su istraživanje u gradu Surabaya (Indonezija) kojim su nastojali ispitati rezistenciju na antibiotike enterobakterija izoliranih iz pilećeg mesa. Ispitivanju su podvrgnuta 203 izolata enterobakterija (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Yersinia* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Edwardsiella* spp. i *Morganella* spp.), a uzorci pilećeg mesa su prikupljeni s nekoliko različitih mjesta prodaje. Istraživači su koristili Kirby-Bauer metodu kako bi ispitali osjetljivost ili otpornost bakterija na korištene antibiotike. To je metoda u kojoj se koriste diskovi s odabranim antibiotikom kako bi se utvrdio utjecaj istoga na odabranu vrstu bakterija. Na površinu hranjive podloge (Mueller-Hinton agar) s izoliranom vrstom bakterija sterilno su postavljeni sljedeći antibiotici: tetraciklin, gentamicin, cefoksitin, sulfametoksazol, nalidiksična kiselina, kloramfenikol. Nakon provedene inkubacije, 18 do 20 h na 37°C, preciznim digitalnim mjerenim instrumentima su određeni promjeri (u mm) čistih i jasnih zona koje su nastale oko antibiotika.

Rezultati istraživanja pokazali su da su svi izolati (n=203) pokazali otpornost u određenoj mjeri na sve korištene antibiotike (Yulistiani i sur., 2017). Najveća otpornost se pokazala za antibiotik tetraciklin (69,95%), a slijede ga nalidiksična kiselina (54,19%), sulfametoksazol (42,36%), kloramfenikol (12,81%), cefoksitin (6,40%), a najmanja otpornost enterobakterija pokazala se za gentamicin (5,91%) (Tablica 2.).

**Tablica 2.** Otpornost enterobakterija na više vrsta antibiotika (Yulistiani i sur., 2017)

<b><i>Enterobacteriaceae</i> izolati (n=203)</b>			
<b>Klasa i antibiotik</b>	Broj osjetljivih izolata (%)	Broj intermedijarnih izolata (%)	Broj rezistentnih izolata (%)
tetraciklin ( <b>TE</b> )	47 (23,15)	14 (6,90)	142 (69,95)
aminoglikozid - <b>gentamicin</b> ( <b>CN</b> )	187 (92,12)	4 (1,97)	12 (5,91)
cefalosporin - <b>cefoksitin</b> ( <b>FOX</b> )	185 (91,13)	5 (2,46)	13 (6,40)
inhibitori folatnog puta - <b>sulfametoksazol/sulfametizol</b> ( <b>SXT</b> )	112 (55,17)	5 (2,46)	86 (42,36)

kinoloni - <b>nalidiksična kiselina (NA)</b>	76 (37,44)	17 (8,37)	110 (54,19)
fenikoli - <b>kloramfenikol (C)</b>	159 (78,32)	18 (8,87)	26 (12,81)

Yulistiani i sur. (2017) istaknuli su da je visoka rezistencija na tetraciklin upravo zbog njegove široke upotrebe na peradarskim farmama. Također, autori navode da je do rezistencije moglo doći i zbog nepravilne upotrebe ovog antibiotika.

U tablici 3. prikazane su razlike u otpornosti (%) za pojedine vrste obitelji Enterobacteriaceae na navedene antibiotike. Na tetraciklin najveću otpornost pokazale su *Salmonella* spp. i *E. coli*, a to je moguće zato što su dominantne vrste patogenih bakterija koje se nalaze u mesu i kao takve, najviše su izložene antibioticima i mogu najčešće razviti otpornost.

**Tablica 3.** Otpornost sojeva obitelji Enterobacteriaceae na više različitih antibiotika (Yulistiani i sur., 2017)

Bakterijski soj	Prevalencija otpornosti na antibiotike (%)					
	tetraciklin	gentamicin	cefoksitin	sulfametoksazol/ sulfametizol	nalidiksična kiselina	kloramfenikol
<b><i>Salmonella</i> spp. (n=43)</b>	36 (83,72)	0 (0,00)	2 (4,65)	14 (32,56)	24 (55,81)	6 (13,95)
<b><i>Escherichia coli</i> (n=53)</b>	42 (79,24)	7 (13,21)	1 (1,89)	28 (52,83)	29 (54,72)	5 (9,43)
<b><i>Shigella</i> spp. (n=16)</b>	8 (50,00)	0 (0,00)	1 (6,25)	8 (50,00)	14 (87,50)	2 (12,50)
<b><i>Citrobacter</i> spp. (n=22)</b>	17 (77,27)	1 (4,54)	2 (9,09)	10 (45,45)	12 (54,54)	5 (22,73)
<b><i>Klebsiella</i> spp. (n=13)</b>	8 (61,54)	2 (15,38)	1 (7,69)	5 (38,46)	7 (53,85)	2 (15,38)
<b><i>Yersinia</i> spp. (n=15)</b>	7 (46,67)	1 (6,67)	2 (13,33)	2 (13,33)	7 (46,67)	1 (6,67)
<b><i>Proteus</i> spp. (n=24)</b>	17 (70,83)	1 (4,17)	1 (4,17)	12 (50,00)	12 (50,00)	3 (12,50)
<b><i>Enterobacter</i></b>	3	0	1	3	2	1

<b>spp. (n=7)</b>	(42,86)	(0,00)	(14,28)	(42,86)	(28,57)	(14,28)
<b><i>Serratia</i> spp.</b>	2	0	2	2	3	1
<b>(n=6)</b>	(33,33)	(0,00)	(33,33)	(33,33)	(50,00)	(16,67)
<b><i>Erdwarsiella</i></b>	2	0	0	2	1	0
<b>spp. (n=3)</b>	(66,67)	(0,00)	(0,00)	(66,67)	(33,33)	(0,00)
<b><i>Morganella</i></b>	0	0	0	0	0	0
<b>spp. (n=1)</b>	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)

Ispitivanjem je također utvrđena višestruka otpornost nekih sojeva enterobakterija na određene antibiotike (Yulistiani i sur., 2017). Višestruka otpornost je tip rezistencije u kojem bakterija pokazuje otpornost na nekoliko antibiotika istovremeno. 61,08% od ukupnog broja izolata enterobakterija pokazalo je višestruku otpornost na najmanje 3 korištena antibiotika (Tablica 4.). *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Yersinia* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. te *Edwardsiella* spp. su enterobakterije koje su pokazale rezistenciju na 2 ili više antibiotika korištenih u ovom ispitivanju.

**Tablica 4.** Višestruka otpornost na antibiotike obitelji Enterobacteriaceae (Yulistiani i sur., 2017)

Bakterijski soj	Broj antibiotika na koje postoji rezistencija							Višestruka otpornost soja (%)
	0	1	2	3	4	5	6	
<b><i>Salmonella</i></b>	4	13	13	9	4	0	0	26
<b>(n=43)</b>	(9,30)	(30,23)	(30,23)	(20,94)	(9,30)	(0,00)	(0,00)	(60,46)
<b><i>E.coli</i></b>	7	9	18	8	11	0	0	37
<b>(n=53)</b>	(13,21)	(16,98)	(33,96)	(15,09)	(20,75)	(0,00)	(0,00)	(69,81)
<b><i>Shigella</i></b>	1	5	4	4	2	0	0	10
<b>(n=16)</b>	(6,25)	(31,25)	(25,00)	(25,00)	(12,50)	(0,00)	(0,00)	(62,50)
<b><i>Citrobacter</i></b>	3	5	4	7	2	1	0	14
<b>(n=22)</b>	(13,64)	(22,73)	(18,18)	(31,82)	(9,09)	(4,54)	(0,00)	(63,64)
<b><i>Klebsiella</i></b>	3	2	3	3	2	0	0	8
<b>(n=13)</b>	(23,08)	(15,38)	(23,07)	(23,07)	(15,38)	(0,00)	(0,00)	(61,54)
<b><i>Yersinia</i></b>	4	4	6	0	1	0	0	7
<b>(n=15)</b>	(26,67)	(26,67)	(40,00)	(0,00)	(6,67)	(0,00)	(0,00)	(46,67)
<b><i>Proteus</i></b>	4	6	6	5	3	0	0	14

<b>(n=24)</b>	(16,67)	(25,00)	(25,00)	(20,83)	(12,50)	(0,00)	(0,00)	(58,33)
<b><i>Enterobacter</i></b>	3	1	1	1	1	0	0	3
<b>(n=7)</b>	(42,86)	(14,28)	(14,28)	(14,28)	(14,28)	(0,00)	(0,00)	(42,86)
<b><i>Serratia</i></b>	1	2	1	2	0	0	0	3
<b>(n=6)</b>	(16,67)	(33,33)	(16,67)	(33,33)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(50,00)
<b><i>Erdwarsiella</i></b>	1	0	1	1	0	0	0	2
<b>(n=3)</b>	(33,33)	(0,00)	(33,33)	(33,33)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(66,67)
<b><i>Morganella</i></b>	1	0	0	0	0	0	0	0
<b>(n=1)</b>	(100,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)
<b>Ukupno</b>	32	47	57	40	26	0	0	124
<b>(n=203)</b>	(15,76)	(23,15)	(28,08)	(19,70)	(12,81)	(0,00)	(0,00)	(61,08)

Istaknuli su da višestruka otpornost može biti izazvana na dva načina. Unutar iste stanice, bakterije mogu imati više gena koji od kojih svaki kodira za otpornost na jedan antibiotik ili može doći do pojačane ekspresije gena koji kodiraju za proteine kojima je uloga izbacivanje antibiotika poput pumpe.

Iz dobivenih rezultata, potvrđeno je da je meso peradi izvor višestruko otpornih sojeva enterobakterija. Navode da bi se uzgoj i metode proizvodnje trebali unaprijediti i poboljšati kako bi se smanjila rezistencija bakterija s obzirom na opasnosti koje izazivaju za ljudsko zdravlje. Također, nužne su promjene kako bi, u konačnici, potrošači dobili nekontaminirani i zdravstveno ispravan proizvod (Yulistiani i sur., 2017).

## 2.7. KONTROLA I PREVENCIJA

Općenito, strategije za prevenciju i kontrolu širenja patogenih enterobakterija su sigurna i mikrobiološki ispravna voda, dobra praksa rukovanja kako bi se smanjio rizik od kontaminacije hrane, sanitarne mjere, cijepljenje i obrazovanje javnosti. Pristup sigurnoj vodi primarni je cilj prevencije infekcija uzrokovanih *E. coli*. Iako taj problem ne utječe izravno na europske zemlje, milijuni ljudi širom svijeta još uvijek nema pristup poboljšanim izvorima vode (WHO/UNICEF Joint Monitoring Programme for Water Supply and Sanitation, 2012; Allocati i sur., 2013). Mjere za sprječavanje infekcija iz prehrambenih proizvoda uključuju odgovarajuću temperaturu kuhanja i skladištenja. U samo nekim područjima Europe i SAD-a dozvoljeno je korištenje tehnologije iradijacije za visoko rizične proizvode s ciljem redukcije

bakterijske prisutnosti, ali ograničeno je na samo nekoliko proizvoda. S druge strane, ozračivanje hrane ne može se koristiti kao zamjena za higijensku i zdravstvenu praksu.

Bolničke mjere koje ograničavaju rizik od širenja multirezistentnih patogena uključuju sprječavanje unakrsne kontaminacije provođenjem strogih higijenskih standarda kao i kontrolu nad upotrebom antimikrobnih lijekova (Mielke, 2010; Allocati i sur., 2013). Glavna sredstva za širenje patogena su ruke bolničkih radnika i medicinskih uređaja, a pravilna higijena ruku je ključna za sprječavanje unakrsne kontaminacije.

Općenito je prihvaćeno da je antimikrobna rezistencija povezana s potrošnjom antibiotika. Neprikladna uporaba antimikrobnih sredstava povećava otpornost patogena kao i kod normalne bakterijske flore u ljudi. Upravo iz tog razloga, racionalna i odgovorna uporaba antibiotika trebala bi biti preduvjet za sprječavanje nastanka i prijenosa rezistentnih bakterija. Uz to, odgovarajuće strategije za praćenje i nadzor antibiotika neophodne su za kontrolu i ograničavanje otpornosti, praćenje promjena u bakterijskim populacijama te razvoj prikladnih terapijskih strategija. Također, treba se posvetiti velika pozornost rizicima koji su povezani s ispuštanjem antimikrobnih sredstava u okoliš (Allocati i sur., 2013; Gillings, 2013).

Za ljude, cijepljenje može biti važna primarna preventivna strategija u borbi protiv najštetnijih sojeva *E. coli* (ETEC, UPEC, NMEC). Međutim, do danas nije na raspolaganju djelotvorno cjepivo kojim bi se spriječile infekcije. S druge strane, za *Salmonella enterica* postoje dva tipa cjepiva kojim se preventira enterička groznica no ona su ograničena samo prevencijom infekcija u dojenčadi (Lin i sur., 2001; Eng i sur., 2015).

## **2.8. KORIST ENTEROBAKTERIJA**

Kao što je već poznato, *E. coli* je prirodni stanovnik crijeva sisavaca i kao takva ima pozitivne učinke na domaćina. Živi u relativno tankom sloju sluzi koja oblaže crijevo i raste u kompleksu, zajednici s više vrsta drugih mikroorganizama s kojima se natječe za niz hranjivih tvari (Chang i sur., 2004; Beloin i sur., 2008; Blount, 2015). Dok se dugo smatralo da je s domaćinom u vezi isključivo kao komezal, dakle osigurava si hranu, a zauzvrat daje vrlo malo, postalo je sve jasnije da je veza domaćina i *E. coli* uzajamna, odnosno mutualizam. *E. coli* koristi svom domaćinu na više načina. Produciira vitamin K i vitamin B<sub>12</sub>, oba potrebna za domaćine sisavce (Bentley i Meganathan, 1982; Lawrence i Roth, 1996; Blount, 2015). Također, troši kisik koji ulazi u crijevo i na taj način održava optimalno okruženje za ostale susjedne anaerobne bakterije. Možda najvažnije, *E. coli* u crijevima konkurentno isključuje patogene iz svoje niše (Chang i sur. 2004; Blount, 2015).



Fang K. i suradnici objavili su 2018. godine studiju kojom su istražili i objasnili sposobnost probiotika *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) da nadmaši formiranje biofilma patogena kao što su enterohemoragična *E. coli* (EHEC), *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *S. epidermidis*. Također, otkrili su da EcN izlučuje bifunkcionalni periplazmički protein (DegP) izvan stanica kojim kontrolira i druge biofilmove.

Kada EcN kolonizira na površini crijeva s mnoštvo drugih mikroorganizama uključujući probiotičke, neprobiotičke i patogene bakterije, EcN stimulira intestinalne epitelne stanice da produciraju  $\beta$ -defenzin 2 (Fang i sur., 2018). To poboljšava imunološki odgovor domaćina (Schlee, 2007; Fang i sur., 2018), potiče izlučivanje mikrokinina kao antimikrobnih sredstava specifičnih za soj (Patzner i sur., 2003; Fang i sur., 2018) te inhibira rast i formiranje biofilma drugih sojeva *E. coli* (Hancock i sur., 2010; Mohsin i sur., 2015; Fang i sur., 2018). Kako EcN nadilazi procese formiranja biofilma drugih sojeva *E. coli* te ima li EcN mogućnost inhibicije biofilma drugih bakterijskih vrsta osim *E. coli*, ostaje još uvijek slabo shvaćeno (Fang i sur., 2018).

### 3. ZAKLJUČAK

Kao jedna od najvažnijih skupina bakterija poznatih čovjeku, Enterobacteriaceae ili crijevne bakterije pokazuju veliki utjecaj na zdravlje organizma kako ljudi, tako životinja i biljaka, pozitivno, ali i negativno. Mnoge od njih, ali posebno ističući rodove *Escherichia* i *Salmonella*, pokazale su se kao značajni i vrlo opasni uzročnici bolesti.

Vrlo lako mogu dospjeti u organizam i to zato što su vrlo raširene u okolišu, a najjednostavniji put za prijenos im je putem hrane i vode s tim da ni drugi načini nisu isključeni. Jednom kad se nasele u organizmu, raznim biokemijskim procesima i mehanizmima izazivaju zdravstveni problem. Bezazleni stanovnici gastrointestinalnog trakta mogu izazvati problem ukoliko se ne ponašaju normalno u sredini u kojoj uobičajeno obitavaju ili ukoliko je u istoj narušena mikrobna flora.

Svaki od rodova (*Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Vibrio*, *Yersinia*...) ove obitelji je specifičan i jedinstven po načinu na koji utječe na druge organizme. Velik su problem prehrambene industrije jer mogu izazvati kvarenje širokog raspona prehrambenih proizvoda. Namirnice u kojima se ustanovi njihova prisutnost, smatraju se zdravstveno neispravnima i neprihvatljivima. Osim toga, dosta veliki zdravstveni, društveni i ekonomski problem današnjice vezan uz ove bakterije je stečena otpornost na antibiotike koja se javlja kod bakterija koje bi prirodno trebale biti osjetljive na taj antibiotik. Zbog stalne evolucije otpornosti i mehanizmima kojima se bore protiv antibiotika, neophodno je trajno praćenje otpornosti da bi se poboljšale smjernice za antibiotsko liječenje. Kako bi se spriječio nastanak i prijenos rezistentnih bakterija nužna je racionalna i odgovorna uporaba antibiotika. Naravno, osim te prevencije, kontrola širenja patogenih enterobakterija postiže se visokim stupnjem higijene, dobrom praksom rukovanja i obrade hrane, mikrobiološkom ispravnosti vode, sanitarnim mjerama te obrazovanjem javnosti.

U konačnici, neke enterobakterije pokazuju svoj pozitivan utjecaj pa tako neke od njih koriste svom domaćinu produkcijom vitamina, ali i održavanjem optimalnog okruženja za ostale prisutne bakterije te isključuju formiranje biofilma nekih drugih patogena.

#### 4. POPIS LITERATURE

1. AIFS (2016) Australian Institute of Food Safety. AIFS <<https://www.foodsafety.com.au/resources/articles/5-infamous-food-poisoning-cases-in-history>> Pristupljeno 20. ožujka 2019.
2. Al-Kharousi Z.S., Guizani N., Al-Sadi A.M., Al-Bulushi I.M., Shaharoon B. (2016) Hiding in Fresh Fruits and Vegetables: Opportunistic Pathogens May Cross Geographical Barriers.
3. Allocati N., Masulli M., Alexeyev M., Di Ilio C. (2013) *Escherichia coli* in Europe: An Overview.
4. Ambler R.P. (1980) The structure of beta-lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **289**: 321 - 331.
5. Andrašević S., Vranić-Ladavac M., Tambić Andrašević A. (2009) Osjetljivost enterobakterija na antibiotike.
6. Andrašević S., Tambić Andrašević A. (2006) Rezistencija uzročnika urogenitalnih infekcija na antibiotike.
7. Aslam A., Okafor C.N. (2019) *Shigella* (Shigellosis).
8. Bardiau M., Szalo M., Mainil J.G. (2010) Initial adherence of EPEC, EHEC and VTEC to host cells.
9. Barišić Z. (2011) Uropatogena *Escherichia coli*: Povezanost otpornosti na kinolone s prisutnošću činitelja virulencije.
10. Barrett E.L. i Kwan H.S. (1985) Bacterial reduction of trimethylamine oxide. *Annual Reviews in Microbiology* **39**: 131 - 149.
11. Baylis C., Uyttendaele M., Joosten H., Davies A. (2011) The Enterobacteriaceae and Their Significance to the Food Industry.
12. Baylis C.L. (2006) Enterobacteriaceae In Food spoilage microorganisms.
13. Beloin C., Roux A., Ghigo J.M. (2008) *Escherichia coli* biofilms. *Current Topics in Microbiology and Immunology* **322**: 249 – 289.
14. Bentley R., Meganathan R. (1982) Biosynthesis of vitamin K (menaquinone) in bacteria. *Microbiological Reviews* **46**: 241 – 280.
15. Blondel C.J., Jimenez J.C. Contreras I., Santiviago C.A. (2009) Comparative genomic analysis uncovers 3 novel loci encoding type six secretion systems differentially distributed in *Salmonella* serotypes. *BMC Genomics* **10**: 354.
16. Blount Z.D. (2015) The unexhausted potential of *E.coli*.

17. Burger R. (2012) EHEC O104:H4 In Germany 2011: Large Outbreak of Bloody Diarrhea and Haemolytic Uremic Syndrome by Shiga Toxin-producing *E. coli* via Contaminated Food.
18. Bush K., Jacoby G.A., Medeiros A.A. (1995) A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* **39**: 1211 - 1233.
19. Calenge F., Lecerf F., Demars J., Feve K., Vignoles F., Pitel F. (2009) QTL for resistance to *Salmonella* carrier state confirmed in both experimental and commercial chicken lines. *Animal Genetics* **40**: 590 - 597.
20. CDC (2009) Center for Disease Control and Prevention. CDC <<https://www.cdc.gov/salmonella/2009/peanut-butter-2008-2009.html>> Pristupljeno 2. veljače 2019.
21. CDC Centers for Disease, Control and Prevention <<https://www.cdc.gov/features/salmonellaeggs/index.html>> Pristupljeno 13. travnja 2019.
22. Chang D.E., Smalley D.J., Tucker D.L., Leatham M.P., Norris W.E., Stevenson S.J., Anderson A.B., Grissom J.E., Laux D.C., Cohen P.S., Conway T. (2004) Carbon nutrition of *Escherichia coli* in the mouse intestine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* **101**: 7427 – 7432.
23. Chen F.J., Lo H.J. (2003) Molecular mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* **36**: 1 - 9.
24. Croxen M.A., Law R.J., Scholz R., Keeney K.M., Wlodarska M., Finlay B.B. (2009) Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Clinical Microbiology Reviews* **8**: 26 - 38.
25. Donnenberg M.S. (2015) Enterobacteriaceae. U: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 8. izd., str. 2503.
26. Drago L., De Vecchi E., Mombelli B., Nicola L., Valli M., Gismondo M.R. (2001) Activity of levofloxacin and ciprofloxacin against urinary pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **48**: 37 - 45.
27. ECDC, European Centre for Disease Prevention and Control - An agency of the European Union <<https://ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-multi-country-outbreak-salmonella-enteritidis-infections-linked>> Pristupljeno 7. lipnja 2019.
28. Eng S-K., Pusparajah P., Mutalib N-S., Ser H-L., Chan K-G., Lee L-H. (2015) *Salmonella*: A review on pathogenesis epidemiology and antibiotic resistance. 284 - 293 str.

29. Fang K., Jin X., Hong S.H. (2018) Probiotic *Escherichia coli* inhibits biofilm formation of pathogenic *E. coli* via extracellular activity of DegP.
30. Fatem Al-Mutairi M. (2011) The Incidence of Enterobacteriaceae Causing Food Poisoning in Some Meat Products.
31. FSN, Food Safety News <<https://www.foodsafetynews.com/2019/05/u-k-reports-more-salmonella-cases-linked-to-polish-eggs/>> Pristupljeno 7. lipnja 2019.
32. Garau J., Xercavins M., Rodriguez-Carballeira M., Gomez-Vera J.R., Coll I., Vidal D., Llovet T., Ruiz-Bremon A. (1999) Emergence and dissemination of quinolones-resistant *Escherichia coli* in the community. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **43**: 2736 - 41.
33. García-González T., Sáenz-Hidalgo H.K., Silva-Rojas H.V., Morales-Nieto C., Vancheva T., Koebnik R., Ávila-Quezada G.D. (2018) *Enterobacter cloacae*, an Emerging Plant - Pathogenic Bacterium Affecting Chilli Pepper Seedlings.
34. Gillings M.R. (2013) Evolutionary consequences of antibiotic use for the resistome, mobilome and microbial pangenome.
35. Gomes T. A. T., Elias W. P., Scaletsky I. C. A., Guth B. E. C., Rodrigues J. F., Piazza R. M. F., (2016). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Microbiology* **47**: 3 – 30.
36. Hancock V., Dahl M., Klemm P. (2010) Probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 outcompetes intestinal pathogens during biofilm formation. *Journal of Medical Microbiology* **59**: 392 - 399.
37. HAPIH, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu - Centar za sigurnost hrane <<https://www.hah.hr/potrosacki-kutak/trovanje-hranom>> Pristupljeno 16. travnja 2019.
38. Hooper D.C. (1998) Expanding uses of fluoroquinolones: opportunities and challenges. *Annals of Internal Medicine* **129**: 908 - 10.
39. Hooton T.M. (2000) Pathogenesis of urinary tract infections: an update. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **46**: 1 - 7.
40. ICMSF (1998) Micro-organisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities 2. izd., str. 643 - 715.
41. Jay J.M. (2000). Modern Food Microbiology.
42. Jeffrey K. (2012) Clinical Bacteriology. U: Elsevier's Integrated Review Immunology and Microbiology, 2.izd., Jeffrey K., str. 105 - 120.
43. Jenkins C., Rentenaar R.J, Landraud L., Brisse S. (2017) Enterobacteriaceae. U: Infectious diseases, 4. izd., Cohen J., Powderly W.G., Opal Steven M., str. 1565.

44. Johnson J.R., Murray A.C., Kuskowski M.A., (2005) Distribution and characteristics of *Escherichia coli* clonal group A. *Emerging Infectious Diseases journal* **11**: 141 – 5.
45. Kahlmeter G. (2003) An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **51**: 69 - 76.
46. Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H. L. T. (2004) Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* **2**: 123 - 140.
47. Kemnic T.R., Coleman M. (2019) Trimethoprim Sulfamethoxazole.
48. Kurtz J.R., Goggins J.A., McLachlan J.B. (2017) *Salmonella* infection: interplay between the bacteria and host immune system.
49. Lawrence J.G., Roth J.R. (1996) Evolution of coenzyme B12 synthesis among enteric bacteria: evidence for loss and acquisition of a multigene complex. *Genetics* **143**: 11 – 24.
50. Li X.Z. (2005) Quinolone resistance in bacteria: emphasis on plasmid-mediated mechanisms. *International journal of antimicrobial agents* **25**: 453 - 463.
51. Lin F.Y., Ho V.A., Khiem H.B., Trach D.D., Bay P.V., Thanh T.C., Kossaczka Z., Bryla D.A., Shiloach J., Robbins J.B., Schneerson R., Szu S.C. (2001) The efficacy of a *Salmonella typhi* Vi conjugate vaccine in two-to-five-year-old children. *The New England Journal of Medicine* **344**: 1263 - 9.
52. Mielke M. (2010) Prevention and control of nosocomial infections and resistance to antibiotics in Europe-Primum non-nocere: elements of successful prevention and control of healthcare-associated infections. *International Journal of Medical Microbiology* **300**: 356 - 350.
53. Mobley H.L., Donnenberg M.S., Hagan E.C. (2009) Uropathogenic *Escherichia coli*
54. Mohsin M., Gaenther S., Schierack P., Tedin K., Wieler L.H. (2015) Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 reduces growth, Shiga toxin expression, release and thus cytotoxicity of enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *International Journal of Medical Microbiology* **305**: 20 – 26.
55. Motarjemi Y., Moy G.G., Jooste P.J., Anelich L.E. (2014) Food Safety Management. A Practical Guide for the Food Industry: str. 83 - 117.
56. Musgrove M.T., Northcutt J.K., Jones D.R., Cox N.A., Harrison M.A. (2008) Enterobacteriaceae and Related Organisms Isolated from Shell Eggs Collected During Commercial Processing.
57. Nordmann P., Dortet L., i Poirel L. (2012). Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: Here is the storm! *Trends in Molecular medicine*, 18(5), str. 263 -

272. <[https://www.researchgate.net/figure/Primary-mechanisms-of-b-lactam-resistance-in-Enterobacteriaceae-Hydrophilic-channels\\_fig2\\_223962339](https://www.researchgate.net/figure/Primary-mechanisms-of-b-lactam-resistance-in-Enterobacteriaceae-Hydrophilic-channels_fig2_223962339)> Pristupljeno 10. ožujka 2019.
58. Ochieng J.B., Boisen N., Lindsay B., Santiago A., Ouma C., Ombok M., Fields B., Colin Stine O., Nataro J.P. (2014) *Serratia marcescens* is injurious to intestinal epithelial cells.
59. Ojeda Rodriguez J.A., Kahwaji C.I. (2018) *Vibrio cholerae*.
60. Oliphant C.M., Green G.M. (2002) Quinolones: a comprehensive review. *American Family Physician* **65**: 455 - 64.
61. Oteo J., Lázaro E., de Abajo F.J, Baquero F., Campos J. (2005) Spanish members of EARSS. Antimicrobial-resistant invasive *Escherichia coli*, Spain.
62. Parikh V., Tucci V., Galwankar S. (2012) Infections of the nervous system. *International Journal of Critical Illness and Injury Science* **2**: 82 - 97.
63. Pasqua M., Michaelacci V., Di Martino M.L., Tozzoli R., Grossi M., Colonna B., Morabito S., Prosseda G. (2017) The Intriguing Evolutionary Journey of Enteroinvasive *E.coli* (EIEC) toward Pathogenicity.
64. Patzer S.I., Baquero M.R., Bravo D., Moreno F., Hantke K. (2003) The colicin G, H and X determinants encode microcins M and H47, which might utilize the catecholate siderophore receptors FepA, Cir, Fiu and Iron. *Microbiology* **149**: 2557 – 2570.
65. Podschun R. i Ullmann U. (1998) *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Reviews* **11**: 589 - 603.
66. Popoff M.Y., Bockemühl J., Gheesling L.L. (2003) Supplement 2001 (no.45) to the Kauffmann-White scheme. *Research in Microbiology* **154**: 173 - 174.
67. Quadri F., Svennerholm A-M., Farugue A.S.G., Bradley Sack R. (2005) Enterotoxigenic *Escherichia coli* in Developing Countries: Epidemiology, Microbiology, Clinical Features, Treatment, and Prevention.
68. Reeves M.W., Evins G.M., Heiba A.A., Plikaytis B.D., Farmer J.J. (1989) Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb.nov. *International Journal of Medical Microbiology* **27**: 313 – 320.
69. Ruiz J. (2003) Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **51**: 1109 – 1117.
70. Sabina Y., Rahman A., Ray R.C., Montet D. (2011) *Yersinia enterocolitica*: Mode of Transmission, Molecular Insights of Virulence, and Pathogenesis of Infection.

71. Schlee, M., Wehkamp J., Altenhoefer A., Oelshlaeger T.A., Stange E.F., Fellermann K. (2007) Induction of human  $\beta$ -defensin 2 by the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is mediated through flagellin. *Infection and Immunity* **75**: 2399 – 2407.
72. Schultz M. (2008) Theobald Smith.
73. Sharma A.K., Dhasmana N., Dubey N., Kumar N., Gangwal A., Gupta M., Singh Y. (2016) Bacterial Virulence Factors: Secreted for Survival.
74. Siragusa G. R., Dorsa W. J., Cutter C. N., Bennett G. L., Keen J. E., i Koochmaraie M. (1998) The incidence of *Escherichia coli* on beef carcasses and its association with aerobic mesophilic plate count categories during the slaughter process. *Journal of Food Protection* **10**: 1269 – 1274.
75. Sotto A., De Boever C.M., Fabbro-Peray P., Gouby A., Sirot D., Jourdan J. (2001) Risk factors for antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients with urinary tract infections: a prospective study. *International Journal of Medical Microbiology* **39**: 438 - 44.
76. Sutherland J.P., Varnam A.H. and Evans M.G. (1986) A Colour Atlas of Food Quality Control. London, Wolfe Publishing.
77. Tambić Andrašević A., Tambić T. (2017) Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2008. g. Zagreb: Akademija medicinskih znanosti Hrvatske.
78. Velge P., Wiedemann A., Rosselin M., Abed N., Boumart Z., Chaussé A.M., Grépinet O., Namdari F., Roche S.M., Rossignol A., Virlogeux-Payant I. (2012) Multiplicity of *Salmonella* entry mechanisms, a new paradigm for *Salmonella* pathogenesis.
79. Webber M, Piddock LJ. (2001) Quinolone resistance in *Escherichia coli*. *Veterinary Research* **32**: 275 - 84.
80. Wiles T.J., Kulesus R.R., Mulvey M.A. (2008) Origins and Virulence Mechanisms of Uropathogenic *Escherichia coli*.
81. Wolfson J.S., Hooper D.C. (1989) Fluoroquinolone antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* **2**: 378 - 424.
82. Yu R.K., Tsai Y-T., Ariga T., Yanagisawa M. (2013) Structures, biosynthesis, and functions of gangliosides - An Overview.
83. Yulistiani R., Praseptiangga D., Raharjo D., Shirakawa T. (2017) Prevalence of Antibiotic - resistance *Enterobacteriaceae* strains isolated from Chicken Meat at Traditional Markets in Surabaya, Indonesia.



## Izjava o izvornosti

*Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.*

Marija Šifner

ime i prezime studenta