

Monitorowanie występowania oporności na antybiotyki u szczepów *Salmonella* i *Campylobacter* izolowanych od zwierząt

Dariusz Wasyl¹, Jacek Osek²

z Zakładu Mikrobiologii¹ i Zakładu Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego² Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Odkrycie antybiotyków i ich zastosowanie w leczeniu i zapobieganiu chorob ludzi i zwierząt należy uznać za jedno z najważniejszych osiągnięć nauk medycznych początku XX wieku. Niestety, we wszystkich znanych przypadkach, równocześnie z wykorzystaniem tych substancji, pojawiało się zjawisko oporności bakterii (1). Powszechne stosowanie antybiotyków do zwalczania chorób zakaźnych stworzyło korzystne warunki do selekcji, szerzenia się i utrzymywania się opornych na antybiotyki szczepów bakteryjnych, zdolnych do wywołania zakażenia. W ostatnich latach wzrosła jednak również świadomość o konsekwencjach, jakie w aspekcie zdrowia publicznego, mogą wiązać się z selekcją bakterii opornych na antybiotyki w populacji zwierząt rzeźnych oraz ogólnosiwiatowym handlem zarówno samymi zwierzętami, jak i żywnością pochodzenia zwierzęcego. Prowadzone obecnie w kilku krajach Unii Europejskiej programy monitorowania antybiotykooporności niektórych drobnoustrojów różnią się stosowanymi antybiotykami, metodami, kryteriami interpretacji wyników i przede wszystkim sposobem pobierania próbek do oceny tego zjawiska. Wskutek tego nie ma możliwości porównania wyników uzyskiwanych w poszczególnych krajach, które jest wymagane zapisami artykułu 7 dyrektywy 2003/99/WE (2). Dlatego też istnieje pilna potrzeba ustalenia jednolitego we wszystkich krajach Unii Europejskiej, sposobu monitorowania występowania zjawiska antybiotykooporności (3, 4, 5).

Celem artykułu jest zapoznanie lekarzy weterynarii oraz osób zajmujących się higieną żywności i pasz z podejmowanymi przez Wspólnotę działaniami w zakresie monitorowania antybiotykooporności bakterii, ze szczególnym uwzględnieniem *Salmonella* i *Campylobacter*.

Działalność Europejskiego Urzędu do spraw Bezpieczeństwa Żywności i skutki prawne

Europejski Urząd do spraw Bezpieczeństwa Żywności (EFSA – European Food Safety

Authority) został powołany w 2002 r. na mocy rozporządzenia (WE) nr 178/2002 (6) w celu zapewnienia doradztwa naukowego oraz wsparcia naukowo-technicznego w zakresie prawodawstwa i polityki Wspólnoty, we wszystkich dziedzinach, które wywierają bezpośredni lub pośredni wpływ na bezpieczeństwo żywności i pasz. EFSA opracowuje opinie naukowe w zakresie ochrony zdrowia i bezpieczeństwa żywności, które stanowią podstawę do przygotowywania i wdrażania we Wspólnocie działań mających na celu ochronę zdrowia publicznego.

W związku z powyższymi zadaniami, w 2006 r. Komisja Europejska zleciła EFSA opracowanie wytycznych dotyczących zharmonizowanego systemu monitorowania antybiotykooporności, który mógłby zostać wdrożony przez wszystkie kraje Wspólnoty. Do realizacji tego zadania EFSA powołała ekspercką grupę roboczą działającą pod egidą Forum Doradczego do spraw zbierania danych dotyczących występowania zoonoz (Task Force on Zoonoses Data Collection). W oparciu o opracowane rekomendacje (7) Komisja Europejska przyjęła decyzje dotyczące monitorowania antybiotykooporności *Salmonella* (8) oraz *Campylobacter* (9). Poniżej przedstawione zostały kluczowe elementy proponowanego programu monitorowania.

Populacje i gatunki zwierząt oraz bakterii objęte monitorowaniem antybiotykooporności

Zgodnie z zapisami rozporządzenia (WE) nr 2160/2003, kraje Wspólnoty są zobligowane do opracowania i wdrożenia krajowych programów zwalczania występowania *Salmonella* w stadach reprodukcyjnych kur, niosek towarowych, brojlerów, świń i indyków (10). Programy te określają sposoby pobierania i badania próbek gwarantując, że cała populacja danego gatunku lub sektora produkcji zwierząt, lub jej reprezentatywna część będzie regularnie badana w każdym z krajów. Użyte szczepy *Salmonella* można natomiast wykorzystać w celu monitorowania

Monitoring of antimicrobial resistance in *Salmonella* and *Campylobacter* strains isolated from animals

Wasył D.¹, Osek J.², Department of Mikrobiologia¹, Department of Hygiene of Food of Animal Origin², National Veterinary Research Institute, Puławy

In accordance with Directive 2003/99/EC, Member States in the European Union should monitor, assess, and report on antimicrobial resistance of zoonotic agents, however the monitoring programmes in place differ widely. To assure comparable data the European Commission has asked European Food Safety Authority to prepare detailed specifications for harmonized schemes on antimicrobial resistance monitoring. The objective of these specifications is to lay down provisions for a monitoring resistance in *Salmonella* spp. in layers and broilers of *Gallus gallus*, turkeys and pigs and *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in broilers. Common set of antimicrobials, concentration ranges and interpretative criteria based on epidemiological cut-off values should be considered as a step towards a gradual implementation of comprehensive resistance monitoring of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. animal strains at the Community level. The isolates should be collected through already existing programmes where the sampling frame covers all epidemiological units of the national production. The target number of *Salmonella* and *Campylobacter* isolates for each animal study population under survey is to be selected and analyses should be performed at the national reference laboratories using minimal inhibitory concentration method.

Keywords: *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., animal strains, antimicrobial resistance

antybiotykooporności. Z naukowego punktu widzenia uzasadnione jest monitorowanie antybiotykooporności na każdym z możliwych etapów produkcji zwierzęcej. Najwięcej korzyści może jednak przynieść skupienie monitoringu na tych populacjach zwierząt, na kontakt z którymi najbardziej narażony jest konsument. Dlatego też wykorzystywane w badaniach izolaty *Salmonella* od brojlerów, indyków i tuczników powinny pochodzić z okresu bezpośrednio poprzedzającego ubój, podczas gdy szczepy ze stad kur niosek towarowych mogą być izolowane przez cały okres nieśności. Nie rekomendowano natomiast oznaczania antybiotykooporności *Salmonella* izolowanych ze stad reprodukcyjnych drobiu i świń, jako że szczepy te nie mają bezpośredniego wpływu na zdrowie konsumenta, a zakażone stada są w zwykłe eliminowane z dalszego użytkowania.

Powyższe argumenty uzasadniają też wybór *Campylobacter*, jako drugiego rodzaju bakterii objętego monitorowaniem. Istotny udział tych drobnoustrojów w wywoływaniu zatruc pokarmowych u ludzi,

przekraczający liczebnie nawet infekcje *Salmonella* (11), skłonił Wspólnotę do podjęcia zharmonizowanego programu mającego na celu ustalenie częstości występowania tego patogenu w stadach brojlerów i tuskach drobiowych (9). Izolaty uzyskane w czasie realizacji tego projektu stwarzają doskonałą okazję do analizy zjawiska antybiotykooporności.

Program monitorowania antybiotykooporności nie przewiduje pobierania próbek od zwierząt wykazujących objawy kliniczne choroby oraz badania szczepów uzyskanych z próbek klinicznych w laboratoriach diagnostycznych. Analiza takich próbek mogłaby bowiem prowadzić do nie odpowiadającego rzeczywistości oszacowania występowania i profilu badanej antybiotykooporności. Do czynników, które wypaczałyby wyniki takiej analizy można zaliczyć różny stopień zaangażowania lekarzy weterynarii w pobieranie i wysyłanie próbek do badań laboratoryjnych, czy też intensywność obserwowanych objawów klinicznych, która skłania do potwierdzania rozpoznania klinicznego badaniami laboratoryjnymi. Co więcej, od zwierząt wykazujących objawy kliniczne próbki mogą być pobierane po rozpoczęciu antybiotykoterapii, a niekiedy dopiero w chwili, gdy leczenie okazało się nieskuteczne.

Metody wykrywania, identyfikacji i przechowywanie izolatów

Wspominane wcześniej krajowe programy określają metodę izolacji *Salmonella* (12) i *Campylobacter* (9) oraz czas przechowywania wyisobnionych bakterii w laboratorium. Objęte badaniem antybiotykooporności szczepy *Salmonella* powinny być rozpoznane do poziomu serowaru, a *Campylobacter* – różnicowane do gatunku *C. coli* lub *C. jejuni*. Chociaż rozpoznanie nie powinno mieć wpływu na wybór szczepów do badania, to sprawozdawczość powinna być prowadzona oddzielnie dla poszczególnych serowarów *Salmonella* i gatunków *Campylobacter*. Szczepy powinny być oznakowane w niepowtarzalny sposób oraz zaopatrzone w informacje dotyczące źródła i czasu izolacji, które są kluczowe w późniejszej analizie epidemiologicznej.

Liczba badanych izolatów

Z każdej populacji zwierząt lub sektora produkcji badaniu antybiotykooporności podlegać powinno co najmniej 170 izolatów uzyskanych w ciągu roku z różnych jednostek epidemiologicznych. Jednostką epidemiologiczną jest stado w przypadku kur niosek towarowych, brojlerów i indyków, oraz gospodarstwo w przypadku

tuczniaków. Taka liczba badanych szczepów pozwoli, ze z góry założoną dokładnością, wyznaczyć odsetek izolatów opornych na daną substancję antybakteryjną, a także wykryć zmiany tego odsetka w kolejnych latach. Liczba badanych izolatów została wyznaczona przy założeniach, że 1) zarówno badane populacje zwierząt, jak i występujących w nich bakterii są nieskończenie liczne, 2) stosowane metody diagnostyczne cechuje doskonała (100%) czułość i specyficzność oraz 3) 95% przedział ufności i 80% moc wykrycia zmian w czasie 3 lat realizacji programu. Kraj może zbadać większą liczbę izolatów, aczkolwiek badanie 170 izolatów wystarczy, aby wykryć 15% spadek częstości występowania antybiotykooporności w sytuacji, gdy zjawisko to jest powszechne (scenariusz pesymistyczny: oporność na daną substancję występuje w 50% badanej populacji bakteryjnej). W przypadku scenariusza optymistycznego (nie więcej niż 0,1% badanej populacji bakterii jest oporna na daną substancję antybakteryjną) badanie 170 izolatów wykryje wzrost częstości występowania oporności do 2% w ciągu roku.

Należy podkreślić, że analiza wyników zbiorczych monitorowania występowania antybiotykooporności na poziomie Wspólnoty będzie cechowała się o wiele większą dokładnością i umożliwi uzyskanie cennych informacji na temat występowania tego zjawiska w nielicznych subpopulacjach, takich jak np. rzadko występujące serowary *Salmonella*.

Kryteria wyboru substancji antybakteryjnych

W realizowanych obecnie krajowych programach monitorowania antybiotykooporności *Salmonella* (DANMAP – Dania, MARAN – Holandia, NARMS – USA, CIPARS – Kanada) wykorzystywanych jest od 12 do 19 różnych substancji antybakteryjnych. Spośród 36 stosowanych antybiotyków tylko 4 są wykorzystywane we wszystkich wymienionych programach, co dowodzi potrzeby ujednoczenia stosowanych substancji antybakteryjnych i uzasadnienia dokonanego wyboru (7). Wykrycie oporności na każdy z zalecanych antybiotyków powinno dostarczyć informacji istotnych z epidemiologicznego punktu widzenia, ze szczególnym uwzględnieniem aspektu zdrowia publicznego. Substancje te powinny gwarantować możliwie najwyższą czułość w wykrywaniu mechanizmów oporności zarówno na określony antybiotyk, jak i klasę antybiotyków, a także niektórych wzorców oporności będących skutkiem oporności krzyżowej lub współwystępowania określonych mechanizmów oporności.

Monitorowanie antybiotykooporności *Salmonella*

W opracowanych specyfikacjach zalecono, aby spośród licznych aminoglikozydów w programie monitorowania uwzględniona była streptomycyna. Oporność *Salmonella* na tę substancję jest wskaźnikiem występowania wieloopornych fenotypów *S. Typhimurium* DT104 (13). Oporność na aminoglikozydy, takie jak kanamycyna, neomycyna, amikacyna, apramycyna, jest skutkiem wytwarzania przez bakterie enzymów modyfikujących (np. acetylo-, adenylo- i fosfotransferazy). Mechanizmy te cechuje duży stopień oporności krzyżowej, a dobrym jej indykatorem wydaje się być gentamycyna (14).

Monitorowanie powinno dotyczyć oporności na chloramfenikol, w przypadku którego, pomimo obowiązującego od 1994 r. zakazu stosowania u zwierząt rzeźnych, ciągle notowany jest wysoki odsetek szczepów opornych (13). Geny odpowiedzialne za syntezę acetylotransferazy, głównego mechanizmu oporności na chloramfenikol, są związane z markerami warunkującymi oporność na inne antybiotyki i ich użyciu towarzyszy selekcja oporności na chloramfenikol. Wykorzystanie stosowanego w medycynie weterynaryjnej florfenikolu daje mniejsze korzyści epidemiologiczne, gdyż szczepy odporne na tę substancję są odporne również na chloramfenikol.

Penicyliny należy stosować bez dodatku inhibitorów betalaktamaz (kwas klawulanowy), gdyż wykrycie oporności na kombinację tych substancji ma istotnie ograniczoną wartość epidemiologiczną. Chociaż istnieje drobne różnice w mocy działania penicylin o szerokim spektrum, amoksylicyna i ampicylina wykazują stuprocentową oporność krzyżową. Do celów monitoringowych należy zatem zastosować ampicylinę, na którą wrażliwe powinny być wszystkie bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*.

Cefalosporyny są najliczniejszą grupą substancji antybakteryjnych stosowanych w medycynie i weterynarii. Mimo że znanych jest wiele mechanizmów odpowiedzialnych za oporność na tę klasę antybiotyków, to ciągle wykrywane są nowe cefalosporyny, wykazujące różnicowaną aktywność w stosunku do różnych substratów. Za jedno z największych zagrożeń współczesnej antybiotykoterapii uznaje się wzrost częstości występowania drobnoustrojów wytwarzających betalaktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBLs – expanded spectrum beta-lactamases). Ze względu na różnorodność tych enzymów, wykrycie wszystkich mechanizmów w trakcie rutynowego monitorowania jest mało prawdopodobne.

Stwierdzenie oporności na proponowany w panelu cefotaksym (III generacja), lub ampicylinę, która wykazuje pełną oporność krzyżową z I generacją cefalosporyn, powinno być wskazaniem do dalszych, szczegółowych badań ukierunkowanych na wykrycie i identyfikację właściwego mechanizmu i oporności. Wiele innych cefalosporyn może być równie skutecznych jak cefotaksym wskaźnikiem wystąpienia oporności na antybiotyki betalaktamowe. Należy jednak pamiętać, że np. ceftazydim i cefpodoxym mogą wykazywać wyniki fałszywie dodatnie (15).

Do niedawna sądzono, że jedyny mechanizm oporności Enterobacteriaceae na chinolony polega na mutacjach punktowych genu *gyrA*. Skutkiem jednej mutacji jest oporność na kwas nalidiksowy i obniżona wrażliwość na fluorochinolony. Oporność na tę ostatnią grupę antybiotyków jest skutkiem 2 mutacji punktowych. W 1998 r. opisano nowy mechanizm oporności *Klebsiella pneumoniae*, który polega na wytwarzaniu białka blokującego aktywność fluorochinolonów (16). Kilka wariantów genów *qnr* kodujących ten mechanizm zostało zidentyfikowanych na plazmidach, które mogą być przekazywane między różnymi gatunkami bakterii, w tym *Salmonella* (17, 18). W 2006 r. opisano odmianę acetylotransferazy warunkującej oporność na aminoglikozydy, która w wyniku zmiany sekwencji aminokwasów jest zdolna do specyficznej inaktywacji ciprofloksacyny. Występowanie powyższych mechanizmów uzasadnia potrzebę monitorowania oporności zarówno na kwas nalidiksowy, jak i ciprofloksacynę.

Sulfametoksazyd jest najczęściej stosowanym substratem stosowanym do wykrywania oporności na sulfonamidy, która jest szczególnie istotna w kontekście wieloopornych fenotypów *S. Typhimurium* DT104. Oporność na trimetoprim, który jest używany w leczeniu zwierząt i ludzi w formie skojarzonej z sulfonamidami, powinna być monitorowana niezależnie. Obserwowane w warunkach klinicznych synergiczne działanie obu substancji jest skutkiem inhibicji niezależnych procesów w syntezie kwasu foliowego bakterii, a ich rozróżnienie ma znaczenie epidemiologiczne.

Tetracyklina jest reprezentantem klasy antybiotyków, na które oporność jest efektem aktywnego wypompowywania substratu z komórki bakteryjnej (geny *tet*). Oksy-, doksy- i chlortetracykliny różnią się mocą, ale z wyjątkiem minocykliny wykazują pełną oporność krzyżową.

Monitorowanie antybiotykooporności *Campylobacter*

Makrolidy (erytromycyna, klarytromycyna i azytromycyna) są powszechnie stosowane

w leczeniu zakażeń *Campylobacter* u ludzi. Nabyta oporność obserwowana również u szczepów izolowanych od zwierząt, ma charakter krzyżowy i jest najczęściej wykrywana przy użyciu erytromycyny. Oporność na chinolony jest skutkiem pojedynczej mutacji punktowej genu *gyrA*, a do jej wykrycia wystarczające jest użycie ciprofloksacyny (19). Tetracyklina, streptomycyna i gentamycyna uzupełniają zalecany panel antybiotyków, który z uwagi na niestosowanie antybiotyków betalaktamowych do zwalczania zakażeń *Campylobacter*, nie zawiera penicylin i cefalosporyn.

Metoda badania i kryteria interpretacji wyników

Stosowane w poszczególnych krajach i laboratoriach metody oznaczenia antybiotykooporności, polegające na dyfuzji substancji antybakteryjnej do pożywki agarowej, charakteryzuje duża różnorodność. Wynika ona z różnych sposobów przygotowania hodowli bakteryjnej, pożywki, techniki posiewu, koncentracji substancji w krążku lub tabletkę, sposobu odczytu i kryteriów interpretacji. Dodatkowo, w przypadku *Campylobacter*, uzyskiwane wyniki wykazują często brak powtarzalności (20). Aby osiągnąć optymalną czułość wykrywania nabytej oporności bakterii na substancje antybakteryjne oraz porównywalność wyników uzyskiwanych w różnych krajach Wspólnoty, konieczne jest określenie najmniejszego stężenia hamującego wzrost bakterii (MIC – minimal inhibitory concentration). Dla bakterii tlenowych, niewymagających specjalnych warunków hodowlanych, takich jak *Salmonella*, dostępną jest metoda znormalizowana (21). Oznaczenia *Campylobacter* należy wykonać zgodnie z rekomendacjami Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). W obu przypadkach wyniki należy interpretować na podstawie epidemiologicznych wartości odcięcia (epidemiological cut-off values), które są opracowywane przez European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing na podstawie dystrybucji wartości MIC szczepów dzikich (20, 22, 23). Powszechnie stosowane kliniczne kryteria interpretacji (clinical breakpoints) proponowane przez CLSI nie są właściwe w monitorowaniu ukierunkowanym na aspekty epidemiologiczne.

Laboratoria wykonujące badania

Ze względu na konieczność stosowania metody referencyjnej (MIC) oraz potrzebę precyzyjnej selekcji izolatów do badania, oznaczenia powinny być wykonane w krajowych laboratoriach referencyjnych ds. antybiotykooporności. Laboratoria te powinny posługiwać się zwalidowaną

i akredytowaną metodą oznaczania najmniejszego stężenia hamującego wzrost bakterii oraz skutecznie uczestniczyć w badaniach biegłości organizowanych regularnie przez wspólnotowe laboratorium referencyjne ds. antybiotykooporności (Community Reference Laboratory – Antimicrobial Resistance).

Podsumowanie

Krajowe programy monitorowania oporności zostały wdrożone przez szereg krajów na całym świecie. Większość z nich skupia się na bakteriach patogennych, takich jak *Salmonella*, czasami obejmuje także bakterie indykatorowe. Monitoring antybiotykooporności jest realizowany również w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym w Puławach w ramach programu wieloletniego. Autorzy niniejszej publikacji uczestniczą w pracach grupy roboczej i Forum Doradczego EFSA, które opracowały omawiane rekomendacje, jak również zalecenia dotyczące opornych na metycylinę *Staphylococcus aureus* (24). Obecnie opracowane są wytyczne do monitorowania antybiotykooporności indykatorowych szczepów *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium* i *E. faecalis*. Dokumenty te stanowią merytoryczne uzasadnienie dla aktów prawnych opracowywanych przez Komisję Europejską (8, 9). Aktualnie wiedza na temat oporności na antybiotyki bakterii występujących u zwierząt jest niewystarczająca w większości krajów Wspólnoty. Powyższe uregulowania pozwolą na zgromadzenie porównywalnych danych na temat antybiotykooporności, a także wykrywanie nowo pojawiających się problemów związanych z tym zjawiskiem. Nadrzędnym celem tych działań jest ochrona zdrowia konsumentów.

Piśmiennictwo

- Levy S. B.: Microbial resistance to antibiotics. An evolving and persistent problem. *Lancet* 1982, 2, 83-88.
- Dyrektywa 2003/99/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 17 listopada 2003 r. w sprawie monitorowania chorób odzwierzęcych i odzwierzęcych czynników chorobotwórczych, zmieniająca decyzję Rady 90/424/EWG i uchylająca dyrektywę Rady 92/117/EWG. *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej* 2003, L 325, 31-40.
- Franklin A., Acar J., Anthony F., Gupta R., Nicholls T., Tamura Y., Thompson S., Threlfall E. J., Vose D., van Vuuren M., White D. G., Wegener H. C., Costarrica M. L.: Antimicrobial resistance, harmonisation of national antimicrobial resistance monitoring and surveillance programmes in animals and in animal-derived food. *Rev. Sci. Tech.* 2001, 20, 859-870.
- White D. G., Acar J., Anthony F., Franklin A., Gupta R., Nicholls T., Tamura Y., Thompson S., Threlfall E. J., Vose D., van Vuuren M., Wegener H. C., Costarrica M. L.: Antimicrobial resistance, standardisation and harmonisation of laboratory methodologies for the detection and quantification of antimicrobial resistance. *Rev. Sci. Tech.* 2001, 20, 849-858.
- Aarestrup F. M.: Monitoring of antimicrobial resistance among food animals, Principles and limitations. *J. Vet. Med. B* 2004, 51, 380-388.
- Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające

- ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, polewujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności. *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej* 2002, **L 031**, 1-24.
7. European Food Safety Authority: Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection including a proposal for a harmonized monitoring scheme of antimicrobial resistance in *Salmonella* in fowl (*Gallus gallus*), turkeys, and pigs and *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in broilers. *The EFSA Journal* 2007, **96**, 1-46.
 8. Decyzja Komisji z dnia 12 czerwca 2007 r. w sprawie zharmonizowanego monitorowania oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe w przypadku *Salmonella* u drobiu i świń (2007/407/WE). *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej* 2007, **L 153**, 26-29.
 9. Decyzja Komisji z dnia 19 lipca 2007 r. w sprawie wkładu finansowego Wspólnoty na rzecz badania dotyczącego występowania i oporności przeciwdrobnoustrojowej *Campylobacter* spp. w stadach brojlerów oraz występowania *Campylobacter* spp. i *Salmonella* spp. w tuszach brojlerów, prowadzonego w państwach członkowskich (2007/516/WE). *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej* 2007, **L 190**, 25-37.
 10. Rozporządzenie (WE) nr 2160/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 17 listopada 2003 r. w sprawie zwalczania salmonelli i innych określonych odzwierzęcych czynników chorobotwórczych przenoszonych przez żywność. *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej* 2003, **L 325**, 1-15.
 11. Osek J.: Zoonozy i ich czynniki etiologiczne w świetle raportu EFSA za 2005 r. *Życie Wet.* 2007, **82**, 294-301.
 12. PN-EN ISO 6579,2002/A1: 2007 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda wykrywania *Salmonella* spp.
 13. Wasyl D., Sandvang D., Skov M. N., Baggesen D. L.: Epidemiological characteristics of *Salmonella* Typhimurium isolated from animals and feed in Poland. *Epidemiol. Infect.* 2006, **134**, 179-185.
 14. Shaw K. J., Rather P. N., Hare R. S., Miller G. H.: Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol. Rev.* 1993, **57**, 138-163.
 15. Hope R., Potz N. A., Warner M., Fagan E. J., Arnold E., Livermore D. M.: Efficacy of practised screening methods for detection of cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2007, **59**, 110-113.
 16. Martinez-Martinez L., Pascual A., Jacoby G. A.: Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998, **351**, 797-799.
 17. Gay K., Robicsek A., Strahilevitz J., Park C. H., Jacoby G., Barrett T. J., Medalla F., Chiller T. M., Hooper D. C.: Plasmid-mediated quinolone resistance in non-Typhi serotypes of *Salmonella enterica*. *Clin. Infect. Dis.* 2006, **43**, 297-304.
 18. Cavaco L. M., Hendriksen R. S., Aarestrup F. M.: Plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnrS1* detected in *Salmonella enterica* serovar Corvallis strains isolated in Denmark and Thailand. *J. Antimicrob. Chemother.* 2007, **60**, 704-706.
 19. Robicsek A., Strahilevitz J., Jacoby G. A., Macielag M., Abbanat D., Park C. H., Bush K., Hooper D. C.: Fluoroquinolone-modifying enzyme, a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat. Med.* 2006, **12**, 83-88.
 20. Lo Fo Wong D. M., Hendriksen R. S., Mevius D. J., Veldman K. T., Aarestrup F. M.: External quality assurance system for antibiotic resistance in bacteria of animal origin in Europe (ARBAO-II), 2003. *Vet. Microbiol.* 2006, **115**, 128-139.
 21. ISO 20776-1: 2006. Kliniczne badania laboratoryjne oraz systemy diagnostyczne in vitro Oznaczenia wrażliwości czynników zakaźnych i ocena przydatności gotowych testów do oznaczania wrażliwości na antybiotyki i chemioterapeutyki Część 1: Referencyjna metoda oznaczania in vitro aktywności antybiotyków i chemioterapeutyków wobec szybko rosnących bakterii tlenowych wywołujących choroby zakaźne.
 22. Kahlmeter G., Brown D. F., Goldstein F. W., MacGowan A. P., Mouton R. W., Osterlund A., Rodloff A., Steinbakk M., Urbaskova P., Vatopoulos A.: European harmonization of MIC breakpoints for antimicrobial susceptibility testing of bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003, **52**, 145-148.
 23. Cornaglia G., Hryniewicz W., Jarlier V., Kahlmeter G., Mittermayer H., Stratchounski L., Baquero F.: European recommendations for antimicrobial resistance surveillance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004, **10**, 349-383.
 24. European Food Safety Authority: Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection including a proposal for technical specifications for a baseline survey on the prevalence of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in breeding pigs. *The EFSA Journal* 2007, **129**, 1-14.