

Ewelina Rodak

ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ BAKTERII KWASU MLEKOWEGO

Zakład Biotechnologii Mleka Katedry Biotechnologii, Mikrobiologii
i Oceny Żywności Wydziału Technologii Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: dr hab. *A. Pluta*

Hasła kluczowe: antybiotykooporność, bakterie mlekowe, horyzontalny transfer genów.

Key words: antibiotic resistance, lactic acid bacteria, horizontal gene transfer.

Bakterie kwasu mlekowego (LAB – Lactic Acid Bacteria) fermentują cukry z wytworzeniem kwasów, szczególnie kwasu mlekowego. Jest to grupa bakterii Gram – dodatnich, dzieląca się na rodzaje: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* i inne (1). Od wieków są stosowane w wytwarzaniu produktów żywnościowych i pasz, a dzisiaj wykorzystywane w wytwarzaniu mleka fermentowanego, serów, masła. Bakterie LAB znalazły również istotne zastosowanie w przemyśle mięsnym, przy produkcji wina, kawy, w przemyśle wytwórczym soków i wielu innych branżach przemysłu spożywczego (2). Korzystnie wpływają na dobre samopoczucie gospodarza w szczególności przez kolonizowanie śluzówki jelita, uszczelniając ściany nabłonka jelitowego tak, aby nie przedostawały się przez niego do krwi szkodliwe substancje. Wygrywają z bakteriami chorobotwórczymi konkurencję o substancje odżywcze. Bakterie kwasu mlekowego poprawiają funkcjonowanie śluzówki układu pokarmowego, stymulują działanie układu odpornościowego, syntetyzują substancje odżywcze i ułatwiają ich biodostępność, łagodzą objawy nietolerancji laktozy, redukują ryzyko pojawienia się alergii u obciążonych nim osób oraz zmniejszają prawdopodobieństwo wystąpienia niektórych nowotworów. Specyficzną cechą tych bakterii jest ich zdolność do przedostawania się w stanie żywym do jelita grubego, osiedlenia się w nim i rozmnażania (3).

Antybiotykooporność bakterii stanowi obecnie duży problem. Zbyt powszechne, nadmierne i często niewłaściwe stosowanie antybiotyków spowodowało zwiększenie liczby mikroorganizmów patogennych dla człowieka. Określenie obecności i sposobów przenoszenia oporności u bakterii jest kluczowe dla kontroli i zapobiegania antybiotykooporności (4). Przypuszcza się, że LAB mogą działać jako zbiorniki genów oporności na antybiotyki, podobnych do tych u ludzkich patogenów. Geny kodujące oporność na tetracykliny, erytromycyny i wankomycyny zostały wykryte u *Lactococcus lactis*, enterokoków, a ostatnio w rodzaju *Lactobacillus* wyizolowanych z fermentowanych produktów mięsnych i mlecznych (5). Z tego powodu muszą być one bardzo szczegółowo badane pod względem oporności na antybiotyki. Bak-

terie mlekowe, aby mogły być sklasyfikowane jako pro biotyczne, muszą spełniać następujące warunki: muszą być niepatogenne, nie mogą zawierać genów oporności na antybiotyki zdolnych do transferu do innych bakterii, wywierać korzystny wpływ na organizm, utrzymywać się w dużej liczbie komórek w produktach spożywczych i zachowywać żywotność przez cały okres przydatności produktu, przetrwać drogę przez przewód pokarmowy do jelita, wykazywać wysoką adherencję do nabłonka jelita i zdolność do kolonizacji światła przewodu pokarmowego, a także produkować substancje antybakteryjne (6).

SPOSOBY NABYWANIA PRZEZ BAKTERIE OPORNOŚCI NA ANTYBIOTYKI

Wyróżnia się dwa typy oporności: naturalną, zwaną też wrodzoną (ang. intrinsic) i nabytą. Oporność naturalna jest to stała cecha gatunku, szczepu lub całej grupy bakterii i nie wiąże się z dodatkową zmianą genetyczną (7, 8). Jest ona najczęściej wynikiem nieskutecznej penetracji antybiotyku przez ściany i błony komórkowe. Na przykład bakterie z rodzaju *Mycoplasma* są zawsze odporne na antybiotyki *beta*-laktamowe, ponieważ nie mają ściany komórkowej, antybiotyki te blokują proces syntezy peptydoglikanu ściany. Wysoki stopień oporności naturalnej na chloramfenikol wykazują bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, szczególnie *P. aeruginosa*. Jest ona powodowana słabą penetracją błony zewnętrznej przez antybiotyk (9).

Nabywanie oporności oznacza, że bakterie początkowo wrażliwe stają się odporne na antybiotyki. Dzieje się tak w wyniku zmian zachodzących w ich genomie na skutek mutacji lub nabycia od innych bakterii opornych genu lub zespołu genów determinujących oporność (4).

Oporność nabyta powstaje u organizmów, które początkowo są wrażliwe na antybiotyk, a następnie stają się odporne w wyniku zmian w ich genomie na skutek mutacji spontanicznej lub poprzez nabycie od innych bakterii opornych, genu lub zespołu genów determinujących oporność – horyzontalne przeniesienie genów (5). Horyzontalne przekazywanie genów (HGT) jest to wymiana DNA między komórkami bakterii, natomiast wertykalne przekazywanie genów oznacza dziedziczenie genu przez potomstwo. Istnieją trzy rodzaje horyzontalnego przekazywania genów: transformacja, transdukcja i koniugacja (10).

Transformacja polega na pobieraniu przez komórki kompetentne materiału genetycznego uwalnianego przez inne komórki. Obcy fragment DNA po dostaniu się do komórki bakterii może być włączony do genomu bakterii w wyniku rekombinacji homologicznej lub zostać zniszczony (11).

Transdukcja jest to proces, polegający na przekazywaniu genów za pośrednictwem bakteriofagów. Po przyłączeniu bakteriofaga do receptora, będącego na powierzchni komórki, następuje wprowadzenie DNA do wnętrza bakterii. Bakteriofag wykorzystuje procesy metaboliczne tej komórki do replikacji wirusowego DNA i produkcji białek wirusowych. Po złożeniu nowych bakteriofagów komórka ulega lizie – cykl lityczny. Fagowy DNA może także włączyć się do chromosomu bakteryjnego (postać profaga), co nazywamy lizogenią (11).

Biologiczna rola koniugacji polega głównie na bezpośrednim przenoszeniu plazmidów i transpozonów koniugacyjnych między komórkami (12, 13). Plazmid koniugacyjny koduje białka tworzące kanał między dawcą i biorcą (mostek koniugacyjny) oraz białka, które nacinają plazmid w *oriT*. Po przecięciu jedna nić, zakotwiczona w mostku koniugacyjnym zostaje przekazana do biorcy. Polimeraza DNA replikuje, zarówno u dawcy, jak i u biorcy, brakującą nić plazmidu. Następnie, po uwolnieniu końców, dochodzi do odtworzenia kolistej formy plazmidu w obu komórkach (14). Istnieją także plazmidy mobilizowalne, które nie mają genów potrzebnych do utworzenia mostka koniugacyjnego. Mogą one korzystać z istniejącego już w komórce mostka koniugacyjnego (4).

Na plazmidach znajdują się geny odpowiedzialne za wiele cech bakterii m.in.: metabolizm węglowodanów, produkcję bakteriocyn i egzopolisacharydów, oporność na antybiotyki i jony metali ciężkich. Przykładowymi plazmidami zidentyfikowanymi w bakteriach mlekowych są: plazmid pAM β 1 (oporność na antybiotyki grupy MLS – makrolidy, linkozamidy, streptograminy) i pRE25 (oporność na chloramfenikol i erytromycynę) u *Enterococcus faecalis*, plazmid pGT633 (oporność na erytromycynę) z *Lactobacillus reuteri*, plazmid pK214 (wielolekowa oporność) u *Lactococcus lactis*, plazmid pMD5057 (oporność na tetracyklinę) u *Lactobacillus plantarum* (5, 15, 16, 17).

Wśród elementów transpozycyjnych, zdolnych do zmiany miejsca w genomie, wyróżnia się sekwencje insercyjne (IS, ang. insertion sequences) i transpozony (Tn) (14). Sekwencje insercyjne (IS) są odcinkami DNA, które zawierają gen kodujący transpozazę, otoczony z obu stron odwróconymi sekwencjami powtórzonymi. Enzym ten umożliwia elementom insercyjnym przenoszenie w dowolne miejsce DNA (18).

Transpozony (Tn), potocznie zwane „skaczącymi genami”, mają bardziej złożoną strukturę. Wyróżniamy transpozony złożone, które składają się z dwóch sekwencji insercyjnych znajdujących się po obu stronach genów kodujących oporność na antybiotyki lub innych genów nie związanych z ruchem transpozonu (np. Tn10). W transpozonach niezłożonych (typ Tn3) geny kodujące dodatkowe cechy są otoczone krótkimi odwróconymi sekwencjami, a transpozycja jest replikatywna i wymaga produktów dwóch genów (19).

Transpozony koniugacyjne różnią się od klasycznych transpozonów tym, że mogą być przekazywane nie tylko w obrębie DNA jednej komórki, ale też pomiędzy komórkami. Normalnie występują w formie zintegrowanej z plazmidem lub chromosomem bakteryjnym. W odpowiedzi na niektóre sygnały transpozony te wycinają się, tworząc formy kolisty niezdolne do replikacji. Przekazywanie zachodzi podobnie jak w przypadku plazmidów koniugacyjnych. W komórce biorcy transpozon włącza się do genomu (4). Transpozony koniugacyjne są obecne także u bakterii mlekowych. Niosą geny oporności na różne antybiotyki, geny związane z produkcją bakteriocyn i fermentacją sacharozy. Zostały odkryte m.in. u *Enterococcus faecalis* (Tn916, Tn918, Tn920, Tn925, Tn2702), *Enterococcus faecium* (Tn5233) i *Lactococcus lactis* (Tn5276, Tn5301) (5).

Elementami genetycznymi, które zaobserwowano niedawno są integrony. Są one zbudowane z trzech elementów koniecznych do przechowywania egzogen-nych genów. Są to: odcinek kodujący integrazę (*intI*), miejsce rekombinacji (*attI*)

oraz silny promotor. Budowa integronów umożliwia im „schwytanie” genów oraz ich ekspresję. Kasetą genową ma postać kolistą w cytoplazmie komórki i nie ma zdolności do replikacji, a ramka odczytu znajdująca się w kasecie nie posiada promotora transkrypcji. Włączenie kasety do struktury integronu nadaje jej zdolność do replikacji i umożliwia ekspresję genów niesionych przez kasetę (najczęściej oporności na antybiotyki). Wszystkie włączone geny wyrażane są z jednego promotora obecnego w integronie (Pc). Stwarza to poważne zagrożenie, gdyż presja selekcyjna wywołana obecnością jednego antybiotyku zapobiega eliminacji całej grupy genów z danego szczepu (oporność na antybiotyki niespokrewnione). Takie zgrupowanie może być przeniesione do plazmidu lub koniugacyjnego transpozonu, a także do innych bakterii (13).

PARAMETRY CHARAKTERYZUJĄCE RELACJĘ ANTYBIOTYK – DROBNOUSTRÓJ

Jednym z parametrów opisujących relację pomiędzy antybiotykiem i drobnoustrojem jest minimalne stężenie hamujące wzrost (MIC). Jest to najmniejsze stężenie, które w określonych warunkach, całkowicie hamuje wzrost komórek w podłożu płynnym lub na podłożu stałym. Antybiotyk w stężeniu poniżej wartości MIC także działa na bakterie, wywołując np. zmiany kształtu komórek czy składu białek powierzchniowych. Stężenia antybiotyków mniejsze od wartości MIC mogą również powodować zmniejszenie liczby komórek bakterii w hodowli. Uwzględniając te fakty wprowadzono dodatkowe mierniki: MBC – minimalne stężenie bakteriobójcze, w którym liczba komórek bakterii zdolnych do wytwarzania kolonii, a więc bakterii żywych, zmniejsza się do 0 (w praktyce poniżej 0,1%). Inne wskaźniki są to MIC 50 lub MIC 90, określające stężenia antybiotyku hamujące wzrost 50% lub 90% badanych szczepów bakterii. Rzadziej spotykana jest wartość MAC – minimalne stężenie antybiotyku indukujące zmiany morfologiczne komórek bakteryjnych (4). W tab. I przedstawiono zakres MIC dla wybranych bakterii mlekowych.

TRANSFER GENÓW OPORNOŚCI POMIĘDZY KOMÓRKAMI BAKTERII

W ostatnich latach bakterie kwasu mlekowego są badane pod względem możliwości przenoszenia genów oporności na antybiotyki. Geny te, będące na ruchomych elementach genetycznych, są podstawą do wielu badań nad możliwością transferu do bakterii patogennych. Jednak większość danych dotyczy enterokoków, natomiast liczba raportów na temat laktokoków i pałeczek kwasu mlekowego jest ograniczona (20).

W ostatnim dziesięcioleciu pojawiły się enterokoki odporne na wankomycynę (VRE), które są częstą przyczyną zakażeń szpitalnych. Enterokoki izolowane z mięsa surowego i fermentowanego mleka (szczególnie szczepy *Enterococcus faecalis* i *E. faecium*) były badane na oporność na wiele różnych antybiotyków. Wiadomo,

że w większości były one wrażliwe na ampicylinę i wankomycynę (21). Jak wykazano w badaniach, oporność bakterii z rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* ma inne podłoże genetyczne niż oporność występująca u enterokoków. Nie stwierdzono bowiem obecności homologicznych genów *van*. Jest to dowód na bezpieczeństwo stosowania bakterii z rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* jako probiotyków, pod względem oporności na wankomycynę (22).

Tab e l a I. Zakres MIC dla wybranych gatunków bakterii

Tab l e I. MIC range for selected bacteria species

Pochodzenie	Gatunek bakterii	Zakres MIC ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)			Źródło cytowania
		Penicylina G	Amoksycylina	Cefoksytyna	
Tradycyjny hiszpański ser pleśniowy typu Cabrales	<i>Lactococcus lactis</i>	<0,06–1	0,25–1	0,5– >128	<i>Florez i współpr.</i> 2005
	<i>Enterococcus durans</i>	<0,06–4	0,25	0,5–64	
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	0,25–16	0,25–1	32– >128	
	<i>Lactobacillus casei</i>	<0,06–0,5	0,25–1	>128	
	<i>Leuconostoc citreum</i>	<0,06–0,25	0,25–2	16–64	
Przewód pokarmowy ludzi	<i>Bifidobacterium longum</i>	<0,06–2	<0,25–2	0,5– 64	<i>Delgado i współpr.</i> 2005
	<i>B. bifidum</i>	<0,06–0,12	<0,25	0,5–1	
	<i>Lactobacillus gasseri</i>	<0,06–0,12	<0,25–0,5	<0,05–64	
	<i>Lb. delbrueckii</i>	<0,06	<0,25	1–16	
	<i>Lb. casei</i>	0,12–2	0,5–1	>64	
	<i>Lb. plantarum</i>	4	0,5	32	
	<i>Lb. rhamnosus</i>	0,12–0,5	0,5–1	>64	
Produkty mleczne i preparaty farmaceutyczne	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lb. casei</i> <i>Lb. bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	0,01–1	Ampicylina	Cefalotin	<i>D' Aimmo i współpr.</i> 2007
			0,5	2	
		0,01–1	2	32	
		0,01	0,5	0,5	
		0,01–0,5	0,01–0,5	0,1–0,5	

Kiwaki i Sato (23) badali oporność na streptomycynę różnych szczepów bakterii *Bifidobacterium breve* izolowanych z różnych środowisk i probiotycznego szczepu *Bifidobacterium breve* Yakult. Szczep ten wykazał najwyższą oporność na streptomycynę (MIC – 512) odbiegającą wartością od pozostałych szczepów bakterii gatunku *B. breve*. Molekularna analiza wykazała mutację w genie *rpsL* (odpowiedzialny za rybosomowe białko S12). Zmiana jednego nukleotydu w sekwencji genu *rpsL* (adenina na guaninę) spowodowała zmianę aminokwasu z lizyny na argininę w miejscu aktywnym białka rybosomowego. Oporność szczepu *B. breve* Yakult na streptomycynę jest wynikiem mutacji chromosomowej i jest mało prawdopodobne, aby mogła być przeniesiona do innych organizmów na drodze horyzontalnego transferu genów (23).

Bakterie mlekowe z rodzajów *Lactobacillus*, *Lactococcus* i *Bifidobacterium* wykazują głównie oporność związaną z produkcją białek chroniących rybosom przed działaniem tetracyklin. U szczepów bakterii gatunków *Bifidobacterium longum*, *B.*

bifidum i *B. animalis* stwierdzono obecność genów *tetW* i *tetO* (21). U bakterii z rodzaju *Lactobacillus* najczęściej występującym genem oporności jest gen *tetM*. *Devirgiliis* i współpr. (24) wykazali obecność genu *tetM* na plazmidzie koniugacyjnym Tn916 u *Lactobacillus paracasei* izolowanego z włoskiego sera typu mozzarella. W sześciu różnych szczepach bakterii z rodzaju *Lactobacillus* także stwierdzono obecność genów *tetM*, które nie znajdowały się na plazmidach ale prawdopodobnie na chromosomie. Geny oporności na tetracyklinę znaleziono na plazmidzie pMD5057 ze szczepu *Lactobacillus plantarum* 5057, a także na plazmidzie wielolekowej oporności pK214 ze szczepu *Lactococcus lactis* K214 (25). Oporność bakterii jelitowych na tetracykliny została skorelowana z użyciem tego antybiotyku, co zasugerowało, że rosnąca presja antybiotykowa stwarzana przez szerokie stosowanie antybiotyków w weterynarii i medycynie z pewnością przyczynia się do rozpowszechniania oporności bakterii jelitowych (26).

Obecność genu *erm(B)* na chromosomie stwierdzono u bakterii *Lactobacillus johnsonii*. Analiza tego genu i regionów okalających sugeruje, że pochodzi on z plazmidu pRE25 z *Enterococcus faecalis*, ale nieznanym jest mechanizm integracji i rearanżacji tego genu u *Lactobacillus johnsonii* (21). Wysoką oporność na erytromycynę ($MIC > 1 \text{ mg/cm}^3$) nadaje plazmid pLEM3, który został wyizolowany ze szczepu *Lactobacillus fermentum* LEM89 (pochodzącego z kału świni). Region odpowiedzialny za oporność wykazał w 98,2% homologię do genu znajdującego się na koniugacyjnym transpozonie Tn1545 pochodzenia enterokokowego. U szczepów bakterii z rodzaju *Enterococcus* także stwierdza się obecność genów *erm(B)*, które nadają wysoką oporność typu MLS (27).

Ouoba i współpr. (28) potwierdzili możliwość horyzontalnego transferu genu *erm(B)* (oporności na erytromycynę) z *Lactobacillus reuteri* L4:12002 do komórek *Enterococcus faecalis*. Dowiedli, że szczep *Lactobacillus reuteri* L4:12002 nie może być stosowany jako probiotyczny.

Koniugacyjny plazmid pRE25 (oporność na chloramfenikol i erytromycynę) jest przekazywany z *Enterococcus faecalis* RE25 do *Listeria innocua*, *E. faecalis* JH2-2 i *Lactococcus lactis* BU2-60 z frekwencją 10^{-5} – 10^{-6} (16). Natomiast plazmid pAM β 1 (oporność MLS), wyizolowany z *Enterococcus faecalis*, jest zdolny do transferu pomiędzy bakteriami z rodzajów *Lactococcus*, *Lactobacillus* i *Enterococcus* (16).

Gevers i współpr. (29) wykazali, że 7 z 14 szczepów bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, wyizolowanych z surowej fermentowanej kiełbasy, opornych na tetracyklinę, miało zdolność do transferu oporności *in vitro* do komórek *Enterococcus faecalis* z frekwencją od 10^4 do 10^6 transkoniugantów na jednego biorcę. Dwa z tych szczepów mogły także przekazać oporność do *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, podczas gdy nie znaleziono opornych transkoniugantów wśród *Staphylococcus aureus*.

PODSUMOWANIE

Zbyt powszechne, nadmierne i często niewłaściwe stosowanie antybiotyków, spowodowało, że dotąd stosowane terapie lekowe obecnie nie dają efektów ze względu na rosnącą oporność bakterii. Systematycznie wzrasta liczba badań nad opornością na antybiotyki bakterii mlekowych z powodu ich szerokiego zastosowania w żywie-

niu ludzi i zwierząt. Nie ma bariery dotyczącej oporności nabytej pomiędzy patogennymi, potencjalnie patogennymi i komensalnymi bakteriami mlekowymi. Identyczne geny odpowiedzialne za oporność np.: na tetracykliny (*tet(M)*), erytromycynę (*erm(AM)*), chloramfenikol (*cat*), streptomycynę (*str*), znaleziono we wszystkich tych trzech grupach bakterii. W związku z tym, szczepy stosowane jako kultury starterowe i probiotyki muszą być szczegółowo badane pod względem oporności na antybiotyki. Nie mogą one zawierać genów oporności na antybiotyki zdolnych do transferu do innych bakterii.

E. Rodak

ANTIBIOTIC RESISTANCE IN LACTIC ACID BACTERIA

PIŚMIENNICTWO

1. Miller N., Wetterstrom W.: The Cambridge World History of Food. 2000; Vol. 2: 1123–1139. – 2. Wood B.: Microbiology of Fermented Foods. ITP, London, 1998; Vol. 2: 781–842. – 3. Ammor M.S., Florez A.B., Mayo B.: Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food Microbiology, 2006; 27: 559–570. – 4. Markiewicz Z., Kwiatkowski Z.A.: Bakterie Antybiotyki Lekooporność. PWN, Warszawa, 2001; 97–116. – 5. Mathur S., Singh R.: Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria – a review. Int. J. Food Microbiol., 2005; 281–295. – 6. Danielsen M., Wind A.: Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents, Int. J. Food Microbiol., 2003; 82(1): 1–11. – 7. Irving W., Boswell T., Ala'Aldeen D.: Mikrobiologia medyczna. Red. Szewczyk E.M., PWN, Warszawa, 2008; 285–287. – 8. Mättö J.: Phenotypic assessment of drug resistance in LAB and bifidobacteria. ACE-ART project, Rome, 2005. – 8. Normark B.H., Normark S.: Evolution and spread of antibiotic resistance. J. Intern Med, Stockholm, 2002; 91–106. – 9. Davies J.: Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. Science 264, 1994; 375–382.
11. Węgleński P.: Podstawowe koncepcje genetyczne i wybrane metody analizy genetycznej u różnych grup organizmów. W: Genetyka molekularna, PWN, Warszawa, 2008; 16–18. – 12. Kunicki–Goldfinger W.J.H.: Życie bakterii, PWN, Warszawa, 2006; 334–339. – 13. Salyers A.A., Whitt D.D.: Mikrobiologia. Różnorodność, chorobotwórczość i środowisko. PWN, Warszawa, 2003; 139–160. – 14. Schlegel H.G.: Mikrobiologia ogólna. PWN, Warszawa, 2008; 563–565, 579–580. – 15. Tannock G.W.: Conjugal transfer of plasmid pAMβ1 in *Lactobacillus reuteri* and between lactobacilli and *Enterococcus faecalis*. Appl. Environ. Microbiol., 1987; 53(11): 2693–2695. – 16. Teuber M., Meile L., Schwarz F.: Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from food. Antonie van Leeuwenhoek, 1999; 76(1–4): 115–137. – 17. Hummel A.S., Hertel C., Holzapfel W.H., Franz C.M.A.P.: Antibiotic resistance of starter and probiotic strains of lactic acid bacteria. Appl. Environ. Microbiol., 2007; 73(3): 730–739. – 18. Brown T.A.: Genomy, PWN, Warszawa, 2008; 259–261. – 19. Węgleński P.: Genetyka molekularna. PWN, Warszawa, 2002; 270–279. – 20. Wegener H.C., Madsen M., Nielsen N., Aarestrup F.M.: Isolation of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* from food. Int. J. Food Microbiol., 1997; 35: 57–66.
21. Ammor M.S., Florez A.B., van Hoek A.H.A.M., de los Reyes-Gavilan C.G., Aarts H.J.M., Margolles A., Mayo B.: Molecular characterization of intrinsic and acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria and bifidobacteria. JMMB, 2008; 14(1–3): 6–15. – 22. Klein G., Hallman C., Casas I.A., Abad J., Louwers J., Reuter G.: Exclusion of *vanA*, *vanB* and *vanC* type glycopeptides resistance in strains of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus rhamnosus* used as probiotics by polymerase chain reaction and hybridization methods. J. Appl. Microbiol., 2000; 89: 814–815. – 23. Kiwaki M., Sato T.: Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium breve* strains and genetic analysis of streptomycin resistance of probiotic *B. breve* strain Yakult. Int. J. Food Microbiol., 2009; 134(3): 211–215. – 24. Devirgiliis C., Coppola D., Barile S., Colonna B., Perozzi G.: Characterization of the Tn916 conjugative transposon a food-borne strain of *Lactobacillus paracase*, Appl. Environ. Microbiol., 2009; 75(12): 3866–3871. – 25. Danielsen M.: Characterization of the tetracycline resistance plasmid pMD5057 from *Lactobacillus plantarum* 5057

reveals a composite structure. *Plasmid* 48, 2002; 98-103. – 26. *Scott K.P., Melville C.M., Barbosa T.M., Flint H.J.*: Occurrence of the new tetracycline resistance gene *tet(W)* in bacteria from the human gut. *AAC*, 2000; 44(3): 775-777. – 27. *Portillo A., Ruiz-Larrea F., Zarazaga M., Alonso A., Martinez J.L., Torres C.*: Macrolides resistance genes in *Enterococcus* spp. *AAC*, 2000; 44(4): 967-971. – 28. *Ouoba L.I.I., Lei V., Jensen L.B.*: Resistance of potential probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria of African and European origin to antimicrobials: Determination and transferability of the resistance genes to other bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008; 121(2): 217-224. – 29. *Gevers D., Huys G., Swings J.*: In vitro conjugal transfer of tetracycline resistance from *Lactobacillus* isolates to other Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 2003; 225(1): 125-130.

Adres: 02-782 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159C.