

**ANTIBIOTICKÁ REZISTENCIA ČELADE *ENTEROBACTERIACEAE*  
IZOLOVANEJ Z OVČÍCH MLIEČNYCH PRODUKTOV  
ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *ENTEROBACTERIACEAE* GENERA ISOLATED  
FROM SHEEP MILK PRODUCTS**

*Lukáš Hleba, Miroslava Kačániová, Juraj Čuboň, Peter Haščík, Jaroslav Pochop, Simona Kunová, Michal Mihok*

**ABSTRACT**

The aim of the study was to analyze the antibiotic resistance of bacteria, genera *Enterobacteriaceae*, isolated from sheep milk products (sheep cheese, bryndza, žinčica). Resistance or susceptibility was determined by disc diffusion method. The interpretation zones of inhibition around discs were formed according to BSAC 2008 Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing. Three antibiotics viz., Enrofloxacin, Streptomycin and Chloramphenicol were used in the present experiment. High susceptibility was noted in all isolates. The highest resistance or susceptibility of sheep milk products (75 %) was found in the sheep cheese sample on Streptomycin (S10) antibiotic. From the point of intermediate susceptibility higher value (50 %) of sheep cheese on antibiotic Enrofloxacin was noted, while 100 % susceptibility was observed for the bacteria from the family *Enterobacteriaceae* isolated from žinčica on Chloramphenicol (C30) and Streptomycin.

**Key words:** antibiotic resistance, *Enterobacteriaceae*, sheep milk products

---

**ÚVOD**

Antimikrobiálna rezistencia je v súčasnosti považovaná za závažný zdravotný, sociálny a ekonomický problém. Antimikrobiálna rezistencia baktérií je biologické nebezpečenstvo, ktoré zvyšuje morbiditu, resp. mortalitu zvierat, ľudí a ovplyvňuje verejné veterinárske zdravie a verejné zdravie (EFSA, 2008). Antimikrobiálna rezistencia je schopnosť baktérií odolávať inhibičným alebo letálnym účinkom antibiotík. Prirodzená alebo primárna rezistencia je geneticky podmienená necitlivosť niektorých baktérií na určité antibiotikum bez predchádzajúcej väzby na kontakt s ním (Key et al., 2000). Zvyšovanie spotreby antibiotík vo veterinárnej a humánnej medicíne je v poslednom období sprevádzané fenoménom nárastu bakteriálnej rezistencie. Využitie antimikrobiálnych látok vo výžive zvierat, pri produkcii rastlín, krmív a potravín môže mať negatívny dopad na verejné zdravie cez nárast rezistentných baktérií alebo baktérií produkujúcich rezistentné gény, ktoré prechádzajú do organizmu ľudí priamo alebo nepriamo (Bíreš et al., 2009). Rezistencia baktérií na antibiotiká sa znižuje ak baktérie prestanú byť v bezprostrednom kontakte s antibiotikom, čo konštatujú vo svojej práci Zahurul Haque Asna a Ashraful Haq (2000). Títo autori skúmali vplyv chloramphenicolu a iných antibiotík na *Salmonella thypi* počas troch rokov a zistili, že v roku 1996 bolo rezistentných vzoriek *S. thypi* 59,6 %, 32 % v roku 1997 a v roku 1998 len 1,9 % rezistentných vzoriek *S. thypi* na použité antibiotiká.

Väčšina technológií pri výrobe a spracovaní potravín redukuje výskyt patogénov, vrátane baktérií rezistentných na antibiotiká. Experimentálne sledovania ale potvrdzujú, že technológie ošetrovania potravín založené na poškodení bunkových membrán a enzýmov môžu prispieť ku generovaniu alebo transferu antimikrobiálnej rezistencie (Lado a Yousef, 2002; Kharazmi et al., 2002; Mc Mahon et al., 2007). Zároveň Mottar (1989), Ondrašovič et al., (1996, 2000) zistili, že zavedenie chladiarenskej techniky v celom procese získavania a spracovávaní mlieka zvýšilo význam prítomnej psychrotrofnej mikroflóry, ktorá sa môže pri nízkych teplotách aktívne množiť. Mlieko získané za hygienicky uspokojivých podmienok obyčajne obsahuje menej než 10 % psychrotrofných mikroorganizmov z celkového počtu mikroorganizmov, ktorých hodnota nepresahuje  $10^4$  v 1 ml mlieka. Mottar (1989) a

**Reinheimer et al. (1990)** zároveň konštatujú, že počet psychrotrofných baktérií v mlieku získanom v hygienicky nedostatočných podmienkach môže byť aj vyšší a môže dosiahnuť hodnoty vyššie ako 75-80 % z celkovej mikroflóry. Je známe, že psychrotrofné mikroorganizmy sú pasterizáciou devitalizované, ale ďalším závažným problémom je možná postpasterizačná kontaminácia týmito mikroorganizmami predovšetkým vtedy, ak je hygiena v spracovateľskom podniku nedostatočná. **Ducková a Čanigová (2004)** zdôrazňujú, že mikroorganizmy sa do mlieka dostávajú predovšetkým z technologických zariadení a vonkajšieho prostredia. **Görner a Valík (2004)** rozdeľujú kontamináciu surového mlieka na primárnu a sekundárnu. K primárnym zdrojom kontaminácie zaraďujú baktérie z cisterny vmena a ceckových kanálikov, mikroorganizmy z povrchu vmena, z tela a výkalov dojnice, z krmív a prachu, ako aj z rúk a odevu dojiča, mikroorganizmy z plôch, s ktorými sa mlieko styka pri jeho dojení, doprave v potrubiach, pri jeho filtrovaní, chladení a uchovávaní a pri jeho doprave do mliekarenského závodu. Zvláštnym prípadom je primárna kontaminácia mlieka choroboplodnými mikroorganizmami z infikovaného vmena. Sekundárna kontaminácia závisí podľa **Görnera a Valíka (2004)** od času započatia chladenia mlieka po jeho nadojenie, teploty chladenia mlieka a času, za ktorý môžu mikroorganizmy v mlieku rásť a metabolizovať. Najviac skúmanou oblasťou pri hodnotení mikrobiologickej kvality mlieka z pohľadu rezistencie baktérii na antibiotiká je skupina enterokokov, ale v poslednom období sa sledujú aj baktérie z čeľade *Enterobacteriaceae*, ktoré sú fakultatívnymi a niektoré aj obligátnymi patogénmi. Baktérie z čeľade *Enterobacteriaceae* sú organizmy tvoriace súčasť črevnej mikroflóry človeka a zvierat. Sú rezistentné na rôzne antibiotiká ako napríklad cephalosporiny, penicilíny (**Van den Bogaard, 2002**).

**Keyser et al. (2008)** konštatujú, že v posledných rokoch sa hromadia problémy s baktériami rezistentnými na antibiotiká a vedú k predpovedi, že sa vraciame do doby pred objavom antibiotík. Jednou z možností ako tomu predísť môže byť zavedenie nových antibakteriálnych preparátov, ktoré fungujú na báze blokovania mechanizmu virulencie baktérií, presnejšie sekrečného systému typu III (T3SS). Infekcie spôsobené rezistentnými druhmi mikroorganizmov zapríčiňujú nákladnú liečbu zvierat ako aj ľudí. Tieto infekcie predlžujú chorobný stav a ak nie sú liečené správnymi alternatívnymi antibiotikami môže dôjsť k zvýšenej mortalite (**Witte, 2006**).

V nadväznosti na vyššie uvedené poznatky bolo cieľom našej práce zistiť antibiotickú rezistenciu čeľade *Enterobacteriaceae* v ovčích mliečnych produktoch získaných z komerčného chovu Slovenskej republiky.

## MATERIÁL A METODIKA

Antibakteriálna rezistencia, resp. ich citlivosť na antibiotiká sme testovali na baktériách z čeľade *Enterobacteriaceae*. Vzorky ovčích mliečnych produktov (ovčí syr, bryndza, žinčica) pre zisťovanie antibakteriálnej rezistencie boli odobraté z komerčného chovu SR. Následne boli vzorky transportované v sterilnom médiu do mikrobiologického laboratória KMi FBP SPU Nitra a riedené vo fyziologickom roztoku. Kultivácia čeľade *Enterobacteriaceae* bola vykonaná na selektívnom agare (McConkey agar) a inkubovaná pri teplote 37 °C počas 24 hodín. Vyrastené inokulum *Enterobacteriaceae* bolo vyizolované z agaru a prenesené do fyziologického roztoku, v ktorom sme riedením pripravili štandardnú denzitu roztoku na úroveň 0,5 McF°. Následne sme pomocou mikro-pipety preniesli 100µl vzorky na Mueller-Hinton agar. Na povrch sme v primeraných rozostupoch rozmiestnili antibiotické disky. Citlivosť, resp. rezistencia čeľade *Enterobacteriaceae* na antibiotiká bola testovaná pomocou troch antibiotík: Enrofloxacin (ENR) 5 µg na disk, Streptomycin (S 10) 10 µg na disk a Chloramphenicol (C 30) 30 µg na disk. Inkubácia s antibiotickými diskami prebehla pri 37 °C počas 24 hodín. Interpretácia inhibičných zón bola hodnotená podľa **BSAC**

**2008** Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing (tabuľka 1). Výsledky boli porovnávané s kontrolným kmeňom *E. coli* ATCC 25922.

**Tabuľka 1** Interpretácia inhibičných zón pre *Enterobacteriaceae* podľa BSAC

<i>Enterobacteriaceae</i>				
Antibiotikum	Množstvo antibiotika v disku (µg)	Inhibičná zóna (mm)		
		R <sup>1</sup>	I <sup>2</sup>	S <sup>3</sup>
ENR	5	≤ 15	16 - 20	≥ 21
S 10	10	≤ 12	-	≥ 13
C 30	30	≤ 12	13 - 17	≥ 18

**Legenda:** <sup>1</sup> – rezistentné, <sup>2</sup> - intermediárne, <sup>3</sup> - citlivé

Zo získaných údajov sme pomocou štatistického programu Statgraphics vypočítali základné variačno-štatistické hodnoty (aritmetický priemer, smerodajná odchýlka, minimum, maximum, variačný koeficient) a na určenie preukaznosti rozdielov medzi sledovanými chovmi sme použili t-test.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

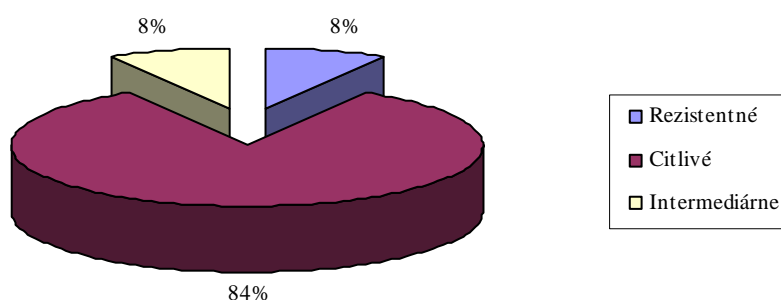
V práci sme sa zamerali na sledovanie rezistencie baktérií čeľadi *Enterobacteriaceae*, ktoré sú považované za rezervoár rezistentných génov v chove hospodárskych zvierat na antibiotiká. Tieto rezervoáre rezistentných baktérií poskytujú potenciálny zdroj rezistentných génov, ktoré sa prenášajú medzi baktériami a taktiež do životného prostredia. Okrem životného prostredia sa rozširujú aj medzi zvieratami a v konečnom dôsledku môžu prechádzať aj do potravy človeka. Preto je identifikácia týchto rezervoárov a mechanizmus prenosu kľúčom k redukcii a znižovaniu rezistentných baktérií v komerčnej sfére potravinového reťazca človeka (**Nováková et al., 2009**).

Percentuálnym vyjadrením rezistencie, resp. citlivosti sledovaných ovčích mliečnych produktov (tabuľka 2) nášho experimentu sme zistili, že najväčšiu rezistenciu (75 %) vykazovala vzorka ovčieho syra na antibiotikum Streptomycín (S 10). Z hľadiska vyhodnotenia úrovne intermediárnej citlivosti boli najvyššie hodnoty (50 %) u ovčieho syra na antibiotikum Enrofloxacín a 100 %-tne citlivé boli baktérie z čeľade *Enterobacteriaceae* izolované zo žinčice na Chloramphenicol (C 30) a Streptomycín.

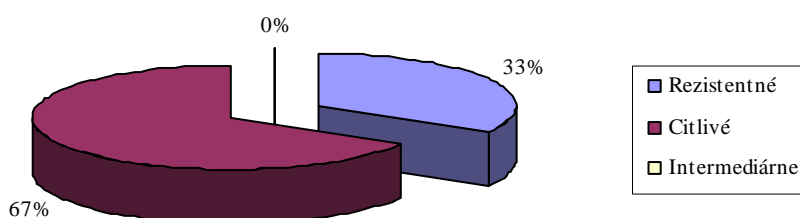
**Tabuľka 2** Percentuálne vyjadrenie rezistencie, resp. citlivosti v jednotlivých ovčích mliečnych produktoch a priemerné hodnoty inhibičných zón v mm

<i>Enterobacteriaceae</i>					
ATB	Ovčie mliečne produkty	Rezistentné	Intermediárne	Citlivé	R <sup>1</sup> , I <sup>2</sup> , S <sup>3</sup> v priemerných hodnotách
<b>C 30</b>	bryndza	25%	0%	75%	I
	syr	0%	25%	75%	S
	žinčica	0%	0%	100%	S
<b>S 10</b>	bryndza	25%	0%	75%	S
	syr	75%	0%	25%	R
	žinčica	0%	0%	100%	S
<b>ENR 5</b>	bryndza	50%	25%	25%	I
	syr	0%	50%	50%	S
	žinčica	50%	0%	50%	I

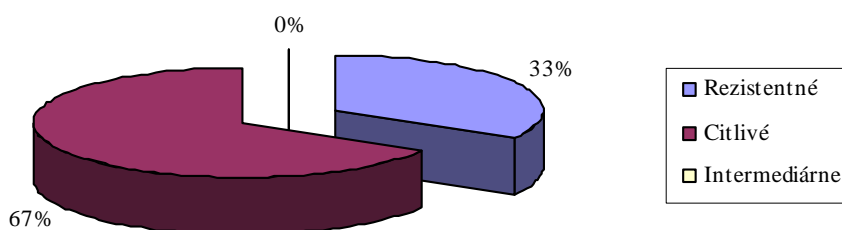
Percentuálne zastúpenie citlivosti, resp. rezistencie baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae* v ovčích mliečnych produktoch spolu na jednotlivé použité antibiotiká sú zobrazené v grafoch 1, 2, 3.



**Obrázok 1** Percentuálne zastúpenie citlivosti, resp. rezistencie v ovčích mliečnych produktoch spolu na Chloramphenicol (C 30)



**Obrázok 2** Percentuálne zastúpenie citlivosti, resp. rezistencie v ovčích mliečnych produktoch spolu na Streptomycín (S 10)



**Obrázok 3** Percentuálne zastúpenie citlivosti, resp. rezistencie v ovčích mliečnych produktoch spolu na Enrofloxacin (ENR 5)

Z experimentu sme zistili, že najväčšiu citlivosť spolu v ovčích mliečnych produktoch (graf 1) mala čeľaď *Enterobacteriaceae* na Chloramphenicol (84 %). Na Streptomycin bolo citlivých 67 % a na Enrofloxacin 42 %. Rezistentných baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae* bolo pri použití Enrofloxacinu a Streptomycinu 33 %, a pri použití Chloramphenicolu 8 %.

Základné štatistické vyhodnotenie inhibičných zón po jednotlivých ovčích produktoch (bryndza, syr, žinčica), resp. spolu sú uvedené v tabuľke 3 a 4.

**Tabuľka 3** Základné štatistické ukazovatele inhibičných zón pri jednotlivých vzorkách z ovčích mliečnych produktov na použité antibiotiká

ATB	Ukazovateľ	$\bar{x}$	s	minimum	maximum	v (%)
C 30	Bryndza	15,5	9,88	1	23	63,76
	Syr	20	4,39	15	25	21,98
	Žinčica	21,75	2,98	19	26	13,73
S 10	Bryndza	13	6,97	4	21	53,66
	Syr	7,5	10,84	0	23	144,63
	Žinčica	17	3,36	15	22	19,80
ENR 5	Bryndza	15,25	12,14	3	30	79,66
	Syr	22	5,71	17	30	25,98
	Žinčica	18,5	7,89	12	28	42,68

**Legenda:**  $\bar{x}$  - aritmetický priemer, s - smerodajná odchýlka, v – variačný koeficient

Štatistickým vyhodnotením inhibičných zón vytvorených po aplikácii antibiotických diskov a následnej inkubácii sme zistili, že pri použití Chloramphenicolu bola najväčšia variabilita (63,76 %) vo vzorkách bryndze, kde hodnoty minimálneho priemeru inhibičnej zóny boli od 1 do 23 mm a priemer inhibičnej zóny bol 15,5 mm. Najmenšiu variabilitu pri Chloramphenicole (13,73 %) a Streptomícine (19,80 %) vykazovali vzorky žinčice a pri Enrofloxacine vzorky ovčieho syra (25,98 %) zo sledovaných mliečnych ovčích produktov.

Z hľadiska najnižšej variability zo sledovaných ovčích produktov boli hodnoty inhibičných zón pri vzorkách žinčice na antibiotikum Chloramphenicol od 19 do 26 mm a pri Streptomycíne od 15 do 22 mm. Pri najmenšej variabilite na antibiotikum Chloramphenicoboli boli hodnoty inhibičných zón vzoriek ovčieho syra od 15 do 25 mm. Naopak najväčšiu variabilitu (144,63 %) z celého sledovania experimentu sme zaznamenali vo vzorkách ovčieho syra pri použití antibiotika Streptomycín, kde hodnoty inhibičných zón vzoriek syra boli od 0 do 23 mm.

**Tabuľka 4** Základné štatistické ukazovatele inhibičných zón pri vzorkách z ovčích mliečnych produktov na použité antibiotiká

ATB	Ukazovateľ	$\bar{x}$	s	minimum	maximum	v (%)	Preukaznosť medzi ATB
<b>C 30</b>		19,08	6,47	1	26	33,92	C30:S10 <sup>+</sup>
<b>S 10</b>		12,5	8,06	0	23	64,50	C30:ENR5 <sup>-</sup>
<b>ENR 5</b>		18,58	8,62	3	30	46,43	ENR5:S10 <sup>-</sup>

**Legenda:** - =  $P \geq 0,05$ , + =  $P \leq 0,05$ , ATB - antibiotika

Hodnotením ovčích mliečnych výrobkov spoločne na jednotlivé použité antibiotiká (tabuľka 4) sme zistili, že priemerná inhibičná zóna okolo disku s Chloramphenicolom bola 19,08 mm, pričom minimálne hodnoty boli na úrovni 1 mm a maximálne na úrovni 26 mm. Pri použití Streptomycínu bol priemer inhibičnej zóny 12,5 mm, s minimálnymi hodnotami 0 mm a maximálnymi 23 mm. Priemerná inhibičná zóna okolo disku, ktorý obsahoval antibiotikum Enrofloxacin bola 18,58 mm, pri minimálnych hodnotách 3 mm a maximálnych na úrovni 30 mm.

Štatistickým vyhodnotením a porovnaním mliečnych ovčích produktov spolu na priemer inhibičných zón medzi sledovanými antibiotikami sme zistili preukazný rozdiel ( $P \leq 0,05$ ) len medzi Chloramphenicolom a Streptomycínom.

Podobné výsledky ako sme zistili v našom experimente pri antibiotiku Streptomycín zistili aj **Solomakos et al. (2009)**, sledovali antimikrobiálnu rezistenciu *E. coli* O157 v ovčom mlieku pochádzajúceho z Grécka. Ich výsledky ukazujú, že taktiež najväčšiu rezistenciu vykazovali *E. coli* O157 na Streptomycín, ale aj na Ampicillín. Na rozdiel od výsledkov **Solomakosa et al. (2009)** na rezistenciu, resp. citlivosť na antibiotikum Chloramphenicol, ktorí zistili hodnoty približne na rovnakej úrovni vo všetkých testovaných vzorkách sa v našom experimente táto tendencia nepotvrdila.

**Farzana et al. (2009)** zistili, že v mliečnych indiánskych výrobkoch khoya a bufri bola rezistencia baktérií *E. coli* v 100 % hodnotách na Chloramphenicol a podobné výsledky zaznamenali vo svojej práci aj **Dupont et al. (1978)**. V našom experimente sme rezistenciu sledovanej čelade baktérií zistili len na úrovni 8 %.

Viacerí výskumníci ako **Lira et al. (2004)**, **Picozzi et al. (2005)**, **Caro et al. (2007)**, **Čížek et al. (2007)**, ktorí sa zaoberali antibiotickou rezistenciou *E. coli*, resp. čelade *Enterobacteriaceae* izolovanej z mlieka a mliečnych výrobkov sa stretli v názore, že výsledky antibiotickej rezistencie sa líšia podobne ako aj výsledky nášho experimentu od štúdií k štúdií.

## ZÁVER

Používanie antibiotík v chovoch hospodárskych zvierat v dnešnej dobe zapríčiňuje, že stále viac obligátnych a fakultatívnych patogénnych mikroorganizmov je rezistentných na rôzne komerčne používané antibiotiká. Výsledky nášho experimentu poukazujú na to, že aj v komerčnom chove oviec Slovenskej republiky boli antibiotiká používané, alebo boli gény rezistencie do chovu zavlečené z externého prostredia, pretože na všetky použité antibiotiká (Chloramphenicol, Streptomycin, Enrofloxacin) sa vyskytli rezistentné izoláty baktérií z čelade *Enterobacteriaceae*. Výsledky nášho experimentu potvrdzujú aj skutočnosť, že antibiotické preparáty prechádzajú nielen do tráviaceho traktu zvierat, ale aj do ich konečných produktov (napr. mlieka), čím zapríčiňujú rezistenciu baktérií na použité antibiotiká. Baktérie, resp. ich rezistentné gény, nachádzajúce sa v mlieku a mliečnych produktoch, ktoré sú využívané ďalej v potravinovom reťazci človeka môžu pri nežiadúcom premnožení spôsobovať infekcie a ochorenia, ktoré sú ťažko liečiteľné.

**LITERATÚRA**

- BÍREŠ, J. - HÚSKA, M. – VASIL, M. 2009. Antimikrobiálna rezistencia – aktuálny problém vo veterinárnej medicíne a vo verejnom zdraví, In *Potravinárstvo*, roč. 3, 2009, č. 2, s. 1 – 3.
- BSAC. 2008. BSAC Methods for antimicrobial susceptibility testing, Version 7,1 february 2008, British society for antimicrobial chemotherapy, Griffin house, Birmingham, UK.
- CARO, I. – GARCÍA-ARMESTO, M. R. 2007. Occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Spanish raw ewe's milk cheese. In *J. Food Microbiol.* vol. 116, 2007, p. 410–413.
- CARO, I. – MATEO, J. – GARCÍA-ARMESTO, M. R. 2007. Phenotypical characteristics of Shigalike toxin *Escherichia coli* isolated from sheep dairy products. In *Lett. Appl. Microbiol.* vol. 45, 2007 p. 295–300.
- ČÍŽEK, A. – DOLEJSKÁ, M. – NOVOTNÁ, R. – HAAS, D. – VYSKOČIL, M. 2007. Survey of Shiga toxigenic *Escherichia coli* O157 and drug-resistant coliform bacteria from in-line milk filters on dairy farms in the Czech Republic. In *J. Appl. Microbiol.* vol. 104, 2007, p. 852–860.
- DUCKOVÁ, V. – ČANIGOVÁ, M. 2004. Psychrotrofná mikroflóra mlieka. In *Mliekárstvo*, roč. 35, 2004, č. 3, s. 32 – 35.
- DUPONT, H.L. – WEST, H. – EVANS, D.G. – OLARTE, J. – EVANS, D.J. 1978. Antimicrobial susceptibility of enterotoxigenic *Escherichia coli*. In *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 4, 1978, p. 100-102.
- EFSA. 2008. Foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard. In *Draft Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards* (Question No EFSA– Q-2007- 089). Draft endorsed on 6 March 2008.
- FARZANA, K. – AKHTAR, S. – JABEEN, F. 2009. Prevalence and antibiotic resistance of bacteria in two ethnic milk based products, In *Pak. J. Bot.*, vol. 41, 2009, no. 2, p. 935 – 943.
- GÖRNER, F. – VALÍK, L. 2004, Aplikovaná mikrobiológia potravín. Bratislava: Malé centrum, 2004, 528 s. ISBN 80-967064-9-7.
- KEY, K. S. – FRAIMOW, H. S. – ABRUTYN, A. 2000. Pathogens resistant to antimicrobial agents: Epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management. In *Infect. Dis. Clin. N. Am.*, vol. 14, 2000, no. 3, p. 293-319.
- KEYSER, P. – ELOFSON, M. – ROSELL, S. – WOLF-WATZ, H. 2008. Virulence blockers as alternatives to antibiotics: type III secretion inhibitors against Gram-negative bacteria, In *Journal of Internal Medicine*, vol. 264, 2008, no. 1, p. 17-29.
- KHARAZMI, Y. – HAMMES, W. P. – HERTELL, C. 2002. Construction of a marker rescue system in *Bacillus subtilis* for detection of horizontal gene transfer in food. In *Syst. Appl. Microbiol.*, vol. 25, 2002, no. 3, p.471-477.
- LADO, B. – YOUSEF, A. 2002. Alternative foodpreservation technologies: efficacy a mechanisms. In *Microbes and Infection.* vol. 4, 2002, no. 6, p. 433-440.
- LIRA, W. M. – MACEDO, C. – MARIN, J. M. 2004. The incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in cattle with mastitis in Brazil. In *J. Appl. Microbiol.* vol. 97, 2004, p. 861–866.
- MCMAHON, M. A. S. – BLAIR, I. S. – MOORE, J. E. – Mc DOWELL, D. A. 2007. The rate of horizontal transmission of antibiotic resistance plasmids is increased in food preservation-stressed bacteria. In *J. Appl. Microbiol.*, vol. 10, 2007, no. 3, p. 1883- 1888.
- MOTTAR, J. F. 1989. Effect on the quality of dairy products, In *Enzymes of Psychrotrophs in Raw Food*, CRC Press, Inc., Boca raton, Florida, 1989, p. 227 – 243.
- NOVAKOVA, I. – KAČÁNIOVÁ, M. – HAŠČÍK, P. – PAVLIČOVÁ, S. – HLEBA, L. 2009. The resistant to antibiotics in strains *E.coli* and *Enterococcus* sp. isolated from rectal swabs of lambs and calves, In *Lucrari stiintifice Zootehnie si Biotehnologii*, vol. 42, no.2, 2009, p. 322-326.

- ONDRAŠOVIČ, M. 1996. Veterinárna starostlivosť o životné prostredie. Košice: Data Help, 1996. 110 s.
- ONDRAŠOVIČ, M. – ONDRAŠOVIČOVÁ, O. – PARA, L. – VARGOVÁ, M. – KRAJŇÁK, M. – ALBERTO DA SILVA, J. 2000. Kontrola účinnosti čistenia a dezinfekcie v prvovýrobe mlieka. Zborník prednášok z II. Stredoeurópskeho bujatrického kongresu: „Chorobnosť a ekonomika chovu hovädzieho dobytku.“ Vysoké Tatry, 2000, s. 269 – 272. ISBN 80-88985-11-0.
- PICOZZI, C. – FOSCHINO, R. – HEUVELINK, A. – BEUMER, R. 2005. Phenotypic and genotypic characterization of sorbitol-negative or slow-fermenting (suspected O157) *Escherichia coli* isolated from milk samples in Lombardy region. In *Lett. Appl. Microbiol.* vol. 40, 2005, p. 491–496.
- REINHEIMER, J.A. – DEMKOW, M.R. – CONDIOTI, M.C. 1990. Inhibition of coliform bacteria by lactic acid bacteria. In *Australian Journal of Dairy Technology*, vol. 45, 1990, p. 41 – 46.
- SOLOMAKOS, N. – GOVARIS, A. – ANGELIDIS, A. S. – POURNARAS, S. – BURRIEL, A.R. – KRITAS, S. K. – PAPAGEORGIOU, D. K. 2009. Occurrence, virulence genes and antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from raw bovine, caprine and ovine milk in Greece. In *Food Microbiology*, vol. 26, 2009, p. 865-871.
- VAN DEN BOOGARD, A. E. – WILLEMS, R. – LONDON, N. – TOP, J. – STOBBERINGH, E. E. 2002. Antibiotic resistance on faecal enterococci in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. In *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 49, p. 497-505.
- WITTE, W. 2000. Selective pressure by antibiotic use in livestock. In *Internet Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 16, 2000, p. 19-24.
- ZAHURUL HAQUE ASNA, S. M. – ASHRAFUL HAQ, A. J. 2000. Decrease of antibiotic resistance in *Salmonella typhi* isolated from patients attending hospitals of Dhaka City over a 3 year period, In *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 16, 2000, s. 249-251.

### Pod'akovanie

Práca bola financovaná grantovou agentúrou VEGA č. 2/0012/08.

### Kontaktná adresa:

Ing. Lukáš Hleba, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KHSŽP, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, email: [lukas.hleba@gmail.com](mailto:lukas.hleba@gmail.com)  
doc. Ing. Miroslava Kačániová, PhD., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KMí, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, email: [miroslava.kacaniova@uniag.sk](mailto:miroslava.kacaniova@uniag.sk)  
doc. Ing. Juraj Čuboň, CSc., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KHSŽP, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, email: [juraj.cubon@uniag.sk](mailto:juraj.cubon@uniag.sk)  
doc. Ing. Peter Haščík, PhD., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KHSŽP, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, email: [peter.hascik@uniag.sk](mailto:peter.hascik@uniag.sk)  
Ing. Jaroslav Pochop, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KMí, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, email: [pochop.jaroslav@gmail.com](mailto:pochop.jaroslav@gmail.com)  
Ing. Simona Kunová, PhD., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KHBP, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, email: [simona.pavlicova@uniag.sk](mailto:simona.pavlicova@uniag.sk)  
Ing. Michal Mihok, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KHSŽP, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, email: [michal.mihok@uniag.sk](mailto:michal.mihok@uniag.sk)