

---

## TESTING OF RESISTANCE OF GRAM-POSITIVE AND GRAM-NEGATIVE BACTERIA TO CERTAIN ANTIBIOTICS

**Tijana Milanović**

Academy of Technical and Educational Vocational Studies Nis-Department Vranje, Serbia,  
[tijana.milanovic@akademijanis.edu.rs](mailto:tijana.milanovic@akademijanis.edu.rs)

**Gordana Bogdanović**

Academy of Technical and Educational Vocational Studies Nis-Department Vranje, Serbia,  
[gordana.bogdanovic@akademijanis.edu.rs](mailto:gordana.bogdanovic@akademijanis.edu.rs)

**Abstract:** Various infections can be treated with antibiotics, and their use dates back half a century. They belong to the group of the most successful drugs around the world. The cause of bacterial infections can be different, while the development of infection can be influenced by immunity, genetic factors, age, diet and climatic factors. The flora of the skin differs in certain parts of the body. The most favorable parts for the growth and development of bacteria and the appearance of infections are in the areas of folds on the skin (under the armpits, groin area, between the fingers, etc.). The number of bacteria on the skin decreases with the depth of the stratum corneum. The method of treating bacterial infections is carried out on the basis of certain principles. It is desirable to use antiseptics in combination with antibiotics, which can act both physically and chemically on the cell wall or on the breakdown of proteins. The antibiogram method ensures the use of a "desirable" antibiotic. A less toxic antibiotic is chosen, and the possibility of developing resistance is taken into account. This ensures fast and effective drug action and wound healing, while avoiding antibiotic resistance. Their frequent and uncontrolled use leads to the development of resistance that reduces or jeopardizes the effect of treating the disease. Then the amount of antibiotics applied, which has the maximum effect under normal conditions, is not enough to inhibit bacteria. This application has led to the development of numerous resistance mechanisms, and thus to an increase in mortality and morbidity rates. Bacteria can be naturally resistant to a particular antibiotic, but they can also acquire resistance. During the treatment of infections, antibiotics do not have the ability to distinguish pathogenic bacteria that caused the infection from non-pathogenic bacteria of normal flora. Due to that, resistance of bacteria of normal flora develops. Increasing the resistance of bacteria, and insufficient development of new types of antibiotics, can lead to serious problems in the application and action of therapies. Antimicrobial resistance is the cause of severe infections, complications and increased mortality. The combined use of several measures to reduce the use of antibiotics is more effective than the use of individual measures. In order for the infections to be adequately treated, the susceptibility of the isolates to conventional antibiotics, which are most often used in the treatment of infected wounds and skin infections, was examined. The susceptibility of bacteria, tested by the antibiogram method, will be presented in this paper. The analysis is presented depending on the gram-reaction. Isolated gram-positive bacterial species are representatives of the genera *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. epidermidis*) and *Enterococcus faecalis*. Isolated gram-negative bacterial species are representatives of the genera *Proteus* (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*), *Citrobacter*, *Klebsiella*, as well as *Escherichia coli* species. The degree of effect of antibiotics on the tested bacteria was determined by the antibiogram method.

**Keywords:** Resistance, bacteria, antibiotic, antibiogram

## ISPITIVANJE REZISTENCIJE GRAM-POZITIVNIH I GRAM-NEGATIVNIH BAKTERIJA NA ODREĐENE ANTIBIOTIKE

**Tijana Milanović**

Akademija tehničko-vaspitačkih strukovnih studija Niš, Odsek Vranje,  
[tijana.milanovic@akademijanis.edu.rs](mailto:tijana.milanovic@akademijanis.edu.rs)

**Gordana Bogdanović**

Akademija tehničko-vaspitačkih strukovnih studija Niš, Odsek Vranje,  
[gordana.bogdanovic@akademijanis.edu.rs](mailto:gordana.bogdanovic@akademijanis.edu.rs)

**Rezime:** Antibiotičima se mogu lečiti različite infekcije, a njihova upotreba datira još od pre pola veka. Spadaju u grupu najuspešnijih lekova širom sveta. Uzrok bakterijskih infekcija može biti različit, dok na razvoj infekcija može uticati imunitet, genetski faktori, starost, ishrana i klimatski faktori. Flora kože razlikuje se na pojedinim delovima

tela. Najpovoljniji delovi za rast i razvoj bakterija i pojavu infekcija su u predelima pregiba na koži (ispod pazuha, područje prepona, između prstiju i sl.). Broj bakterija na koži se smanjuje idući sa dubinom rožnatog sloja. Metod lečenja bakterijskih infekcija sprovodi se na osnovu određenih principa. Poželjno je da se u kombinaciji sa atibioticima, primenjuju i antiseptici, koji mogu da deluju i fizički i hemijski na ćelijski zid ili na razgradnju proteina. Metodom antibiograma osigurava se primena „poželjnog“ antibiotika. Bira se manje toksičan antibiotik, i vodi se računa o mogućnosti razvoja rezistencije. Na taj način se osigurava brzo i efikasno dejstvo lekova i saniranje rana, a istovremeno se izbegava i rezistencija na antibiotike. Njihova česta i nekontrolisana upotreba dovodi do razvoja rezistencije koja umanjuje ili ugrožava efekat lečenja bolesti. Tada primenjena količina antibiotika, koja ima maksimalan efekat u normalnim uslovima, nije dovoljna za inhibiciju bakterija. Ovakva primena je dovela do razvijanja mnogobrojnih mehanizama otpornosti, a samim tim i do povećanja stope smrtnosti i morbiditeta. Bakterije mogu biti i prirodno otporne na određeni antibiotik, ali i mogu steći rezistenciju. Tokom lečenja infekcija antibiotici nemaju sposobnost razlikovanja patogenih bakterija koje su infekciju uzrokovale od nepatogenih bakterija normalne flore. Zbog toga dolazi i do razvoja rezistencije bakterija normalne flore. Povećanjem rezistentnosti bakterija, a nedovoljnim razvitkom novih vrsta antibiotika, može doći do ozbiljnih problema u primeni i delovanju terapija. Antimikrobna rezistencija je uzrok teških infekcija, komplikacija i povećanog mortaliteta. Kombinovana primena više mera radi smanjenja primene antibiotika je efikasnija od primene pojedinačnih mera. Kako bi infekcije bile adekvatno lečene ispitivana je osetljivost izolata prema konvencionalnim antibioticima koji su najčešće korišćeni u tretmanu inficiranih rana i kožnih infekcija. U radu će biti prikazana osetljivost bakterija, testirana metodom antibiograma. Analiza je prikazana u zavisnosti od gram-reakcije. Izolovane gram-pozitivne bakterijske vrste su predstavnici rodova *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. epidermidis*) i *Enterococcus faecalis*. Izolovane gram-negativne bakterijske vrste su predstavnici rodova *Proteus* (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*), *Citrobacter*, *Klebsiella*, kao i vrste *Escherichia coli*. Metodom antibiograma određen je stepen dejstva antibiotika na ispitivane bakterije.

**Ključne reči:** Rezistencija, bakterija, antibiotik, antibiogram

## 1. UVOD

Glavni uzrok nastanka antibakterijske rezistencije jeste upotreba antibiotika. Uloga antibiotika je lečenje bakterijskih infekcija. Preterana i nepažljiva upotreba antibiotika stvara rezistenciju na određenu vrstu ili na grupu antibiotika (WHO, 2018). Uzrok bakterijskih infekcija može biti različit, dok na razvoj infekcija može uticati imunitet, genetski faktori, starost, ishrana i klimatski faktori (Knežević-Vukčević et al., 2020). Najpovoljniji delovi za rast i razvoj bakterija i pojavu infekcija su u predelima pregiba na koži (ispod pazuha, područje prepona, između prstiju i sl.), (Maria et al., 2017). Broj bakterija na koži se smanjuje idući sa dubinom rožnatog sloja (Gawkrodger and Arden-Jones, 2020). Poželjno je da se u kombinaciji sa atibioticima, primenjuju i antiseptici, koji mogu da deluju i fizički i hemijski na ćelijski zid ili na razgradnju proteina. Metodom antibiograma osigurava se primena „poželjnog“ antibiotika (Šumarina, 2020). Bira se manje toksičan antibiotik, i vodi se računa o mogućnosti razvoja rezistencije. Na taj način se osigurava brzo i efikasno dejstvo lekova i saniranje rana, a istovremeno se izbegava i rezistencija na antibiotike (Josić, 2020).

## 2. MATERIJAL I METODE

Ispitivanje osetljivosti bakterijskih izolata sa kože i različitih povreda na koži, rađena su na antibioticima po šemama Instituta za javno zdravlje. Kako bi infekcije bile adekvatno lečene ispitivana je osetljivost izolata prema konvencionalnim antibioticima koji su najčešće korišćeni u tretmanu inficiranja kože i kožnih infekcija (Karkwan et al., 2018). Osetljivost je testirana metodom antibiograma, a analiza je prikazana u zavisnosti od gram-reakcije (Law et al., 2019). Bakterijski izolati su označavani kao senzitivni (osetljivi), intermedijerno senzitivni (prelazno osetljivi) ili rezistentni (otporni), (Lobanovska et al., 2017). Metodom antibiograma dobijamo stopu osetljivosti ili rezistentnosti za svaku bakterijsku vrstu (McKenna, 2020).

## 3. REZULTATI

Testirana je osetljivost izolata prema antibioticima koji su najčešće korišćeni u tretmanu bakterijskih infekcija kože. Analiza rezultata prikazana je u zavisnosti od gram-reakcije (gram-pozitivna ili gram-negativna), antibiogram metodom.

### - Rezistencija gram-pozitivnih izolata

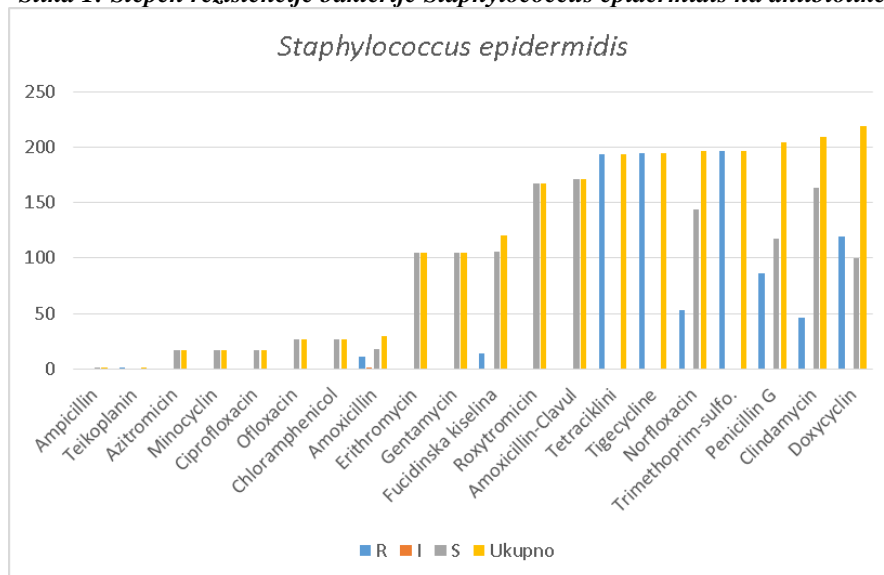
Od ukupno 986 uzoraka, uzorkovanih sa kože, 554 pripadaju gram-pozitivnim bakterijama. Izolovane gram-pozitivne bakterijske su *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* i *Enterococcus faecalis*.

Kao prvi izbor terapije u lečenju infekcija izazvanih bakterijskom vrstom *Staphylococcus aureus* mogu se koristiti azitromicin, minociklin, doksociklin. Vrsta *Staphylococcus aureus* je pokazala veliku rezistentnost prema antibioticima: amoksicilinu, amplicilinu, gentamicinu, tetraciklinu i eritromicinu.

*Staphylococcus epidermidis* potpunu rezistentnost pokazuje prema trimetoprim-sulfametoksazolu, tigeciklinu i tetraciklinu. Visoka otpornost *S. epidermidis* je utvrđena i u slučaju penicilina G, doksociklina, klindamicina. Kao izbor terapije u lečenju infekcija izazvanih vrstom *S. epidermidis* koristi se gentamicin, eritromicin i ampicilin (Slika 1).

Ispitivanjem rezistencije sojeva bakterijske vrste *Enterococcus faecalis* potvrđena je rezistencija bakterije prema eritromicinu. Dok se kao terapija u lečenju infekcija može koristiti vankomicin, ciprofloksacin, imipenem.

**Slika 1: Stepen rezistencije bakterije *Staphylococcus epidermidis* na antibiotike**



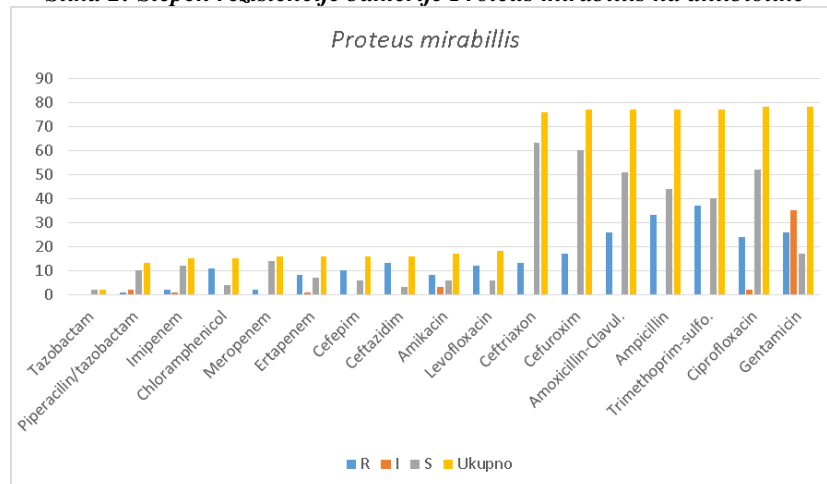
- R – Otporan
- I – Umereno osjetljiv
- S – Osetljiv
- Y osa – Broj testiranih izolata

**- Rezistencija gram-negativnih izolata**

Od ukupno 986 uzoraka, uzorkovanih sa kože, 432 pripadaju gram-negativnim bakterijama. Izolovane gram-negativne bakterijske su *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Citobacter*, *Esherichia coli* i *Klebsiella*.

Testiranjem bakterije *Proteus mirabilis* na antibiotike, potvrđena je rezistentnost bakterije na vrste antibiotika: ceftriaksin, ampicilin, trimetoprim-sulfametoksazol (Slika 2).

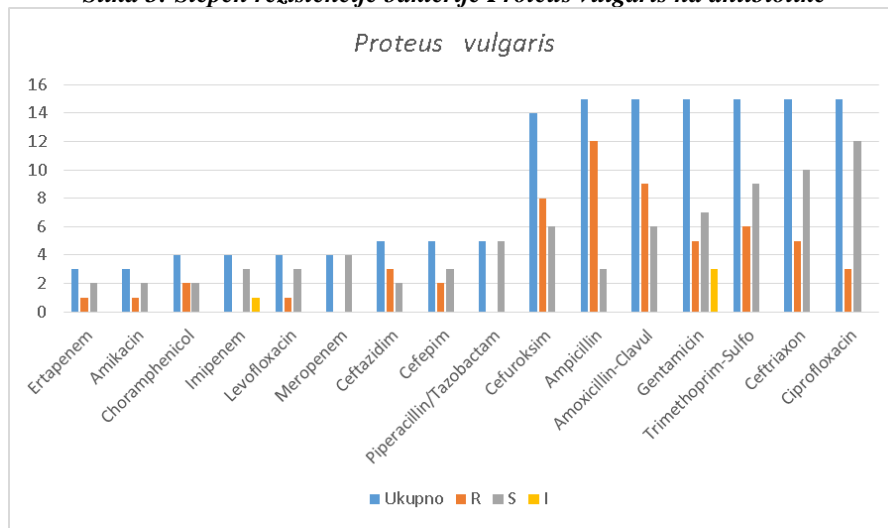
**Slika 2: Stepen rezistencije bakterije *Proteus mirabilis* na antibiotike**



- R – Otporan
- I – Umereno osetljiv
- S – Osetljiv
- Y osa – Broj testiranih izolata

Testiranjem rezistencije bakterije *Proteus vulgaris* različite vrste antibiotika, uočeno je da je 100% osetljivosti izolata uočena u slučaju piperacilin/tazobaktama. Najveća rezistentnost je uočena u slučaju ampicilina, amoksicilin-klavulonske kiseline i cefuroksima, dok je umerena osetljivost na antibiotik gentamicin (Slika 3).

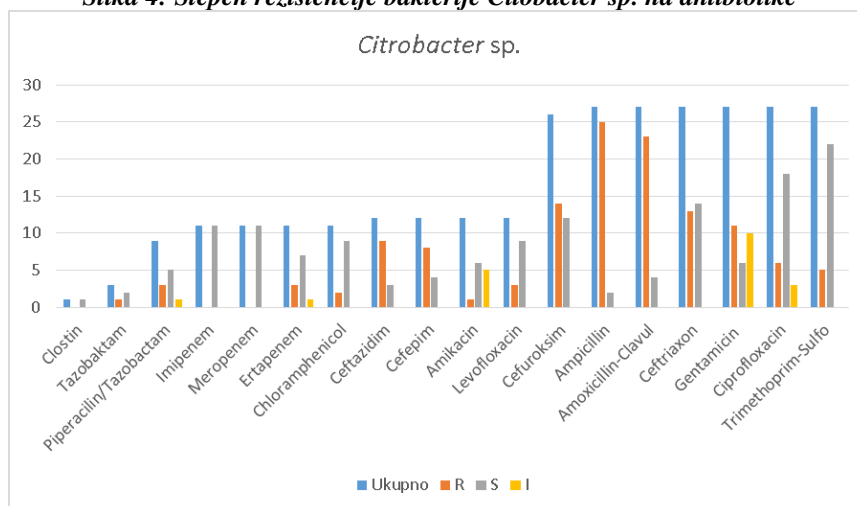
**Slika 3: Stepen rezistencije bakterije *Proteus vulgaris* na antibiotike**



- R – Otporan
- I – Umereno osetljiv
- S – Osetljiv
- Y osa – Broj testiranih izolata

Rezultati ispitivanja rezistentnosti bakterije roda *Citrobacter* sp. na antibiotike se vidi na slici 4. Najveću rezistentnost bakterije su pokazala prema ampicilinu i amoksicilin/klavulanskoj kiseline. U lečenju inficiranih rana efikasno se primenjuju trimetoprim/sulfametoksazol, ciprofloksacin, ceftriaxon, cefuroksim, imipenem i meropenem.

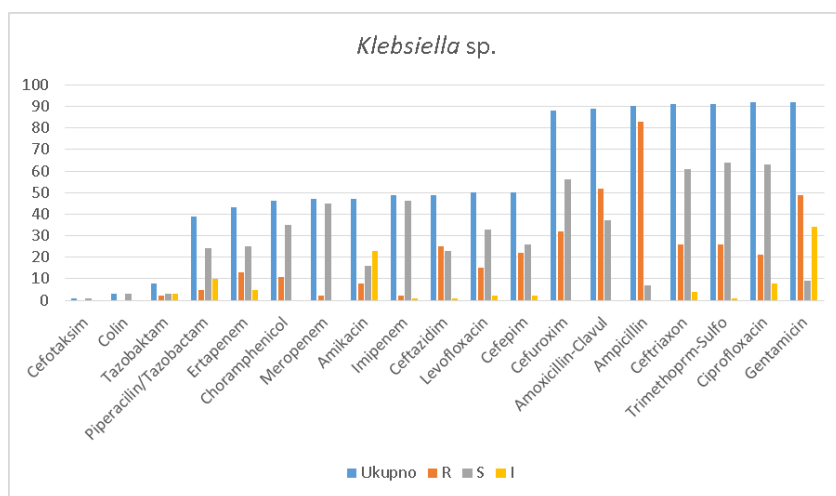
**Slika 4: Stepen rezistencije bakterije *Citobacter* sp. na antibiotike**



- 
- R – Otporan
  - I – Umereno osetljiv
  - S – Osetljiv
  - Y osa – Broj testiranih izolata

Ispitivanje rezistencije izolata roda *Klebsiella* rađeno je na 19 različitih antibiotika. Ubedljivo najveću rezistentnost pokazali su prema ampicilinu (80% rezistentnih sojeva), zatim gentamicinu, i amoksicilin/klavulanskoj kiselini (50% rezistentnih izolata). Najmanju rezistentnost pokazali su prema meropenemu, imipenemu i hloramfenikolu (osim retkih intermedijerno senzitivnih izolata, većina je bila osetljiva), kao i levofloksacim, amikacin i ertapenem gde je broj prelazno osetljivih izolata bio veći, ali svakako nisu uočeni rezistentni sojevi (Slika 5).

**Slika 5: Stepen rezistencije bakterije *Klebsiella sp.* na antibiotike**



- 
- R – Otporan
  - I – Umereno osetljiv
  - S – Osetljiv
  - Y osa – Broj testiranih izolata

#### 4. DISKUSIJA

Ispitivana je osetljivost identifikovanih izolata iz briseva uzetih sa površine kože na različite antibiotičke lekove. Bakterijska vrsta *S. aureus* bila je najotpornija prema testiranim antibioticima iz grupe penicilina (ampicilin i amoksicilin), dok je *S. epidermidis* 100% rezistencije pokazao u slučaju grupa tetraciklina, glicilciklina trimethoprim-sulfametoksazol. Sa druge strane, otpornost predstavnika roda *Enterococcus* bila je nešto manja, s obzirom da ni za jedan testirani antibiotik nije uočena rezistencija 100% izolata. Ovde je relativno velika otpornost uočena prema tetraciklinima, eritromicin i gentamicin.

Sa druge strane, na osnovu analize dobijenih rezultata za gram-negativne bakterije najveći procenat rezistencije utvrđen je kod grupe antibiotika penicilina širokog spektra. Iz ove grupe, najveća rezistentnost je uočena za ampicilin i amoksicilin/klavulonsku kiselinu. Bakterijske vrste *Proteus mirabilis* i *P. vulgaris*, *Klebsiella sp.* i *Esherichia coli* su izrazito otporne prema aminoglikozidu i gentamicinu, a *Citrobacter sp.* i *Klebsiella sp.* i prema cefuroksimu i ceftriaksomu (Manchanda et al., 2010).

#### 5. ZAKLJUČAK

Analiza ukupnih rezultata metode antibiograma potvrdila je najveću bakterijsku rezistenciju na antibiotik ampicilin. U nešto manjem procentu potvrđena je rezistencija bakterija na gentamicin. Značajno manja rezistencija je potvrđena na antibiotike cefuroksim i eritromicin; trimetoprim/sulfametoksazol, tetracikline, amoksicilin, ceftazidim, cefepim. Rezistenciju ispod 1,5% pokazali su antibiotici trigeciklin, penicilin, amikacin, gentamicin i ceftriakson, pa se oni statistički mogu smatrati odgovarajućom terapijom u lečenju kožnih infekcija. Naravno, primenjena terapija ne dozvoljava generalizacije – za svaki izolat, koji je uzročnik neke konkretne infekcije,

neophodno je uraditi metodu antibiograma i jasno odrediti koja bi terapija bila efikasna u svakom konkretnom slučaju. Upravo se efikasnost lečenja bakterijskih infekcija i ogleda u pravilnoj primeni i tačnoj terapiji antibioticima.

#### LITERATURA

- Gawkrodger, D., & Ardern-Jones, M. (2020). *Dermatology: An illustrated color text*. Elsevier Science, 7th Edition, UK
- Josić, J. (2020). Antibiotička rezistencija: prošlost, sadašnjost i buduće strategije, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- Karkman A., ThuyDo T., FionaWalsh F., & Virta M. (2018). Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water. *Trends in Microbiology*: Volume 26, Issue 3: str. 220-228.
- Knežević-Vukčević, J., Nikolić, B., Berić, T., Vuković-Gačić, B., & Stanković, S. (2020). Mikrobiologija. Univerzitet u Beogradu-Biološki fakultet. Beograd
- Laws, M., Shaaban, A., & Rahman, K.M. (2019). Antibiotic resistance breakers: current approaches and future directions, *FEMS Microbiology Reviews*, vol.43;5 pp.490–516
- Lobanovska, M., & Pilla G. (2017). Penicillin's Discovery and Antibiotic Resistance: Lessons for the Future?, *Yale Journal of Biology and Medicine* 90, pp. 135-145
- Manchanda, V., Sanchaita, S., & Singh, N.P. (2010). Multidrug Resistant Acinetobacter. *Journal of Global Infectious Diseases*. Sep-Dec; 2(3): 291–304
- Maria, T., Giorgio, G., & Massimo, M. (2017). Uropathogenic Escherichia coli (UPEC) Infections: Virulence Factors, Bladder Responses, Antibiotic, and Non-antibiotic Antimicrobial Strategies Department of Life Sciences and Systems Biology, University of Turin, Torino, Italy
- McKenna, M. (2020). The antibiotic paradox: why companies can't afford to create lifesaving drugs. *Nature*, 584(7821), 338-341
- Šimurina, M. (2020). Antimikrobna rezistencija-pravni aspekt zlouporabe antibiotika, Pravni fakultet, Split.
- World Health Organization (WHO), (2018). Global Action Plan on Antimicrobial Resistance