

'21

SERIES UMS



KNJIGA APSTRAKATA ABSTRACT BOOK

SIMPOZIJUM

NOVE I PONOVO AKTUELNE MIKROBNE INFEKCIJE

15 - 16. oktobar 2021.

SIMPOZIJUM

PRODUKCIJA BIOFILMA

Rizik za nastanak Intrahospitalnih infekcija i problem higijene u proizvodnji i distribuciji hrane.

26. novembar 2021.

SIMPOZIJUM

MIKROBIOLOGIJA ŽIVOTNE SREDINE

16. decembar 2021.

21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

AKTUELNE
MIKROBNE
INFEKCIJE

15 - 16. oktobar 2021.

SIMPOZIJUM

PRODUKCIJA
BIOFILMA

Rizik za nastanak Intra-hospitalnih
infekcija i problem higijene
u proizvodnji i distribuciji hrane.

26. novembar 2021.

SIMPOZIJUM

MIKROBIOLOGIJA
ŽIVOTNE SREDINE

16. decembar 2021.

BIOMÉRIEUX

ProMedia
Specialists In Laboratory Supplying



Labena

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

NOVE I PONOVO AKTUELNE MIKROBNE INFEKCIJE

15 - 16. oktobar 2021.

ONLINE PROGRAM

NOVE I PONOVO AKTUELNE MIKROBNE INFEKCIJE

PETAK, 15. OKTOBAR 2021.

13.00 – 13.10	CEREMONIJA OTVARANJA	
13.10 – 14.25	PLENARNA PREDAVANJA Predsedavajući: <i>Lazar Ranin (Srbija)</i>	
13.10 – 13.35	<i>Branko Jovčić (Srbija)</i>	Multirezistentni patogeni
13.35 – 14.00	<i>Jelena Veličković (Srbija)</i>	Multipla rezistencija kao novi-stari izazov u lečenju bakterijskih infekcija
14.00 – 14.25	<i>Philippe Glaser (Francuska)</i>	<i>Enterobacteriales</i> rezistentne na karbapeneme
14.25 – 17.10	SESIJA 1 UZROČNICI INTRAHOSPITALNIH INFEKCIJA Predsedavajući: <i>Nataša Opavski (Srbija)</i>	
14.25 – 14.45	<i>Vera Mijač (Srbija)</i>	ESBL produkujuće <i>Enterobacterales</i>
14.45 – 15.05	<i>Anika Trudić (Srbija)</i>	Rezistencija enterobakterija na karbapeneme u Srbiji
15.05 – 15.25	<i>Bojana Luković, Ina Gajić (Srbija)</i>	Rezistencija <i>Acinetobacter baumannii</i> na karbapeneme
15.25 – 15.45	<i>Jovana Kabić (Srbija)</i>	Multirezistentni i ekstenzivno rezistentni sojevi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
15.45 – 16.05	<i>Snežana Jovanović (Srbija)</i>	Vankomicin rezistentan enterokok
16.05 – 16.25	<i>Predrag Stojanović (Srbija)</i>	Infekcije izazvane <i>Clostridioides difficile</i> kod dece
16.25 – 16.45	<i>Nataša Nikolić (Srbija)</i>	Rezistencija kliničkih izolata <i>Clostridioides difficile</i> na antibiotike
16.45 – 17.10	DISKUSIJA	
17.10 – 17.40	KOMPANIJSKO PREDAVANJE - BIOMERIEUX <i>Maja Abram (Hrvatska)</i> - Pacijent a ne uzorak – sindromski pristup u kliničkoj mikrobiologiji	
17.40 – 17.50	DISKUSIJA	
17.50 – 19.50	SESIJA 2 UZROČNICI VANBOLNIČKIH BAKTERIJSKIH INFEKCIJA I BOLESTI KOJE IMAJU PROFESIONALNI KARAKTER Predsedavajući: <i>Dragana Vuković (Srbija)</i>	
17.50 – 18.10	<i>Tomica Milosavljević (Srbija)</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
18.10 – 18.30	<i>Eva Ružič-Sabljić (Slovenija)</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i>
18.30 – 18.50	<i>Ina Gajić, Nataša Opavski (Srbija)</i>	Karakterizacija invazivnih sojeva grupe A streptokoka u Srbiji
18.50 – 19.10	<i>Dragana Vuković (Srbija)</i>	Rezistencija <i>Mycobacterium spp.</i> na antituberkulozne lekove
19.10 – 19.30	<i>Suzana Bukovski (Hrvatska)</i>	<i>Neisseria spp.</i>
19.30 – 19.50	DISKUSIJA	

NOVE I PONOVO AKTUELNE MIKROBNE INFEKCIJE

SUBOTA, 16. OKTOBAR 2021.

PLENARNA PREDAVANJA	
09.30 – 09.55	Predsedavajući: Vladimir Petrović (Srbija)
09.30 – 09.55	<i>Vladimir Petrović (Srbija)</i> Uloga nacionalnih referentnih laboratorija i instituta za javno zdravlje u nadzoru infektivnih bolesti
SESIJA 3	
UZROČNICI INFEKCIJA IZAZVANIH KONTAMINIRANOM HRANOM I VODOM	
09.55 – 13.20	Predsedavajući: Vladimir Petrović (Srbija)
09.55 – 10.15	<i>Svetlana Raketić (Srbija)</i> Verifikacija i validacija mikrobioloških metoda
10.15 – 10.35	<i>Biljana Miljković Selimović (Srbija)</i> <i>Campylobacter jejuni</i> – rezistencija na antibiotike
10.35 – 10.55	<i>Nijaz Tihić (BIH)</i> Enterohemoragična <i>Escherichia coli</i>
10.55 – 11.15	<i>Branko Velebit (Srbija)</i> Virusne infekcije izazvane kontaminiranom hranom
11.15 – 11.35	<i>Marina Dinić, Branislava Kocić (Srbija)</i> Osetljivost kliničkih izolata stafilokoka i enterokoka na antimikrobne lekove
11.35 – 11.55	<i>Snežana Mladenović-Antić, Branislava Kocić (Srbija)</i> Antimikrobna osetljivost MDR i XDR Gram-negativnih bacila izolovanih od pacijenata Kliničkog centra Niš u periodu od 2017-2021.godine
11.55 – 12.15	<i>Božidar Udovički (Serbia)</i> Procena izloženosti aflatoksinu B1 putem hrane u Republici Srbiji
12.15 – 12.40	DISKUSIJA

KOMPANIJSKO PREDAVANJE - LABENA	
12.40 – 13.00	<i>Kristina Robal (Srbija)</i> - Molekularna dijagnostika patogena u kliničkoj i sanitarnoj mikrobiologiji upotrebom (multiplex open-system) Real Time PCR panela
13.00 – 13.10	DISKUSIJA

SESIJA 4	
ANTIPARAZITSKI I ANTIGLJIVČNI LEKOVI: IZAZOVI U TERAPIJI NOVIH BOLESTI I PROBLEMI REZISTENCIJE	
13.10 – 14.50	Predsedavajući: Ivana Čolović Čalovski (Srbija)
13.10 – 13.30	<i>Ivana Čolović Čalovski (Srbija)</i> Primena ivermektina u profilaksi i terapiji COVID-19
13.30 – 13.50	<i>Stefan Mijatović (Srbija)</i> Kako je ivermektin našao put u lečenju različitih infektivnih i neinfektivnih bolesti
13.50 – 14.10	<i>Sanja Mitrović (Srbija)</i> Problem rezistencije gljiva na antimikotike i nova rešenja
14.10 – 14.30	<i>Eleonora Dubljanin (Srbija)</i> Mehanizmi rezistencije <i>Aspergillus</i> spp. i preporuke za primenu antimikotika u terapiji aspergiloze
14.30 – 14.50	DISKUSIJA

14.50 – 15.00	CEREMONIJA ZATVARANJA
---------------	------------------------------

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

**NOVE I PONOVO AKTUELNE
MIKROBNE INFEKCIJE**

15 - 16. oktobar 2021.

APSTRAKTI

NOVE I PONOVO AKTUELNE MIKROBNE INFEKCIJE

ENTEROBAKTERIJE KOJE PRODUKUJU BETA LAKTAMAZE PROŠIRENOG SPEKTRA DELOVANJA (ESBL-E) - DETEKCIJA I ZNAČAJ KOLONIZACIJE

Vera Mijač

ESBL su enzimi koji razlažu beta laktamski prsten i prisutne su kod enterobakterija i drugih Gram-negativnih bakterija, a prenose se najčešće mobilnim genskim elementima. To je heterogena grupa enzima koja dovodi do rezistencije na većinu beta laktamskih antibiotika izuzev karbapenema, a među njima nazastupljenije porodice su CTX-M, SHV i TEM. Rasprostranjenost ESBL-E je globalna i u stalnom je porastu u razvijenim zemljama i kod nas, gde su stope učestalosti veće u odnosu na evropski prosek. Širenje ESBL je posledica propagacije CTX-M-15 koji je vremenom potisnuo TEM i SHV u Evropi i šire, a danas je najrasprostranjeniji tip ESBL enzima. ESBL-E predstavljaju veliki zdravstveni problem, posebno u bolničkoj sredini gde su infekcije, ali i kolonizacija gastrointestinalnog trakta ovim bakterijama češće.

Zbog toga u rizičnim populacijama hospitalizovanih pacijenata (kao npr. imunodeficientni bolesnici i sl.) potrebno je raditi skrining kolonizacije, radi prevencije infekcija, identifikacije potencijalnih izvora i njihovog suzbijanja. Procedura skrininga se najčešće vrši kultivisanjem rektalnih briseva na komercijalnim selektivnim i diferencijalnim podlogama uz neophodnu potvrdu ESBL fenotipa. Povećanje osetljivosti detekcije se postiže prethodnim obogaćenjem, tj. inkubiranjem u hranjivom bujonu. Rizici za kolonizaciju ESBL-E su brojni, a kod odraslih najvažniji su prethodna hospitalizacija, boravak u ustanovama za negu starih lica, upotreba antibiotika, putovanja u nerazvijenije zemlje i dr. Kod dece, faktor rizika za kolonizaciju je vaginalni porođaj u slučaju kolonizacije majke, rođenje carskim rezom, hospitalizacija, invazivne procedure i dr. Stope kolonizacije u populaciji veoma variraju i više su u nerazvijenijim zemljama, a procena je da je do 15% svetske populacije kolonizovano ESBL-E.

ključne reči: beta laktamaze proširenog spektra delovanja (ESBL), enterobakterije, kolonizacija, skrining

CARBAPENEM-RESISTANT ENTEROBACTERALES IN SERBIA

Anika Trudić

Beta-lactam antibiotics are one of the most commonly prescribed drug classes with numerous clinical indications. The most prevalent mechanism of resistance in Gram-negative bacteria is the production of beta-lactamases. Also, any modulation that restricts entry of beta-lactams such as porin alteration or loss, as well as extrusion by efflux pumps will confer antibiotic resistance. Based on their primary structure beta-lactamases are distributed into Ambler classes A, B, C and D. The most clinically important beta-lactamases in Enterobacterales include plasmid mediated extended spectrum beta-lactamases, AmpC enzymes and carbapenemases. Carbapenemases are characterized by the ability to hydrolyze all classes of beta-lactams with few exceptions and are generally not inhibited by beta-lactamase inhibitors. Once thought to be rare, carbapenem-resistant Enterobacterales represent a major public health concern.

First reports of carbapenem resistant isolates in Serbia are from 2012. In following years national studies have shown that the most common carbapenemase was NDM, found in *Klebsiella pneumoniae* isolates usually from large clinical centers, but also strains with NDM and OXA-48 were detected. Recent reports suggest that carbapenem resistance of invasive *K. pneumoniae* is between 35 to 39%. Also, OXA-48 producing *K. pneumoniae* is the most prevalent carbapenemase, thus strains with NDM and OXA-48 are still found occasionally. Resistance to other non-beta-lactam antibiotics such as colistin has also been detected in carbapenemase-resistant *K. pneumoniae* in Serbia. The 'second generation' beta-lactamase inhibitors such as avibactam, vaborbactam and relebactam were developed. Different combinations with 3rd generation of cephalosporins, carbapenems or monobactam, effective against carbapenemases may lead to improvement in therapeutic options which are often limited. First results with ceftazidime-avibactam in Serbia are promising for OXA-48 or KPC producing *K. pneumoniae*. For NDM producing isolates, often resistant to non-beta-lactam antibiotics, drug choice is extremely narrow. Detection of carbapenemase in Enterobacterales is of great importance not only for surveillance purposes and infection control, but also for exploring better therapeutic options.

GENETIČKA OSNOVA REZISTENCIJE SOJEVA ACINETOBACTER BAUMANNII IZOLOVANIH U BOLNICAMA SEKUNDARNOG I TERCIJARNOG NIVOVA U REPUBLICI SRBIJI NA KARBAPENEME

B. Lukovic, I. Gajic

Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Uvod: Poslednjih godina dolazi do dramatičnog porasta rezistencije *Acinetobacter baumannii* na karbapeneme i klonskog širenja karbapenem rezistentnih *A. baumannii* (CRAB) sojeva širom sveta.

Metod: U ovoj studiji analizirani su klinički uzorci pacijenata hospitalizovanih širom Srbije tokom 2018. godine. Kriterijum za uključivanje sojeva u studiju bila je izolacija nerepetitivnih bakterija *A. calcoaceticus* - *baumannii* (Acb) kompleksa iz kliničkih uzoraka inficiranih pacijenata. *A. baumannii* je identifikovan detekcijom blaOXA-51 gena. Testiranje osetljivosti na antibiotike izvršeno je disk difuzionom i bujon mikrodilucionom metodom. CRAB izolati su testirani na prisustvo stečenih karbapenemaza (OXA-24, OXA-23, OXA-58, OXA-143, IMP, VIM, GIM, SPM, SIM, NDM, GES i KPC) PCR metodom i Sangerovim sekvenciranjem. Klonska povezanost kliničkih izolata ispitana je PFGE, MLST i WGS metodom.

Rezultati: Od testiranih 280 bakterija Acb kompleksa njih 237 identifikovano je kao *A. baumannii*. Prevalencija CRAB izolata iznosila je 93,7%. Iako su izolati pokazali visoku osetljivost na kolistin (95,7%) i tigeciklin (75,1%), deset sojeva je bilo panrezistentno. Detektovani su sledeći geni koji kodiraju stečene karbapenemaze: blaOXA-24 (44,2%), blaOXA-23 (34,5%) i blaNDM-1 (3,2%). PFGE je definisao šest različitih klastera. MLST analizom CRAB izolatima su dodeljena tri tipa sekvence: ST2, ST492 i ST636. WGS je ukazao na visok stepen genetičke srodnosti testiranih sojeva koji se grupišu u četiri glavna klastera.

Zaključak: Ova studija svedoči o visokoj prevalenciji rezistencije *A. baumannii* na karbapeneme. Ona je rezultat prisustva blaOXA-72, blaOXA-23 i blaNDM-1 gena među CRAB izolatima i njihove klonske propagacije u bolnicama širom Srbije.

Ključne reči: *Acinetobacter baumannii*, CRAB, blaOXA-72, blaOXA-23 i blaNDM-1

VANCOMYCIN RESISTANT ENTEROCOCCUS SPP. (VRE)

Snezana Jovanović

Department for medical microbiology, University Clinical Center of Serbia (UCCS), Belgrade, Serbia

Enterococci are natural inhabitants of the gastrointestinal tract of humans and other animals. Causative agents of invasive and non-invasive infections. Commensals of humans and mammals became more dangerous and difficult to treat when they gained another feature: vancomycin resistance genes. With the emergence of vancomycin resistance, treatment options for infections caused by this microorganism became narrower. VRE was first isolated in England (in 1986.) and France (1987.). The first strain of VRE was isolated in Serbia in 2002. in UCCS.

Enterococcus faecalis has been reported to be responsible for 80 to 90% of all clinical isolates, while *Enterococcus faecium* accounted for 5 to 15%. Other *Enterococcus* species are encountered much less frequently and account for less than 5% of clinical isolates.

The mechanism of vancomycin resistance is due to preventing the synthesis of peptidoglycan precursors of the bacterial cell wall by blocking two steps: the transglycosylation and the transpeptidation.

The success of *E. faecium* and *E. faecalis* in evolving as multi-resistant nosocomial pathogens is associated with their capacity to harbour and spray adaptive genetic materials, including antimicrobial resistance genes encoded by mobile genetic elements. *E. faecium* is intrinsically more frequently reported as being more resistant to antibiotics—especially to vancomycin—than *E. faecalis* is. Extensive genomic recombination has occurred in the *E. faecalis* species due to mobile genetic elements and phages capable of inducing adaptive immunity with the acquisition of a CRISPR–Cas system. This protects *E. faecalis* from acquiring external DNA sequences carrying the vancomycin resistance genes *vanA* and *vanB*.

The prevalence of VRE colonization among high-risk inpatients in Serbia is higher than European average. According to the CAESAR network, Serbia has the high rates of invasive VRE isolates in previous years, and is ranked among the countries with the highest VRE rate on the European continent

VRE colonization is the most common precedes VRE infection, rapid identification and isolation of hospitalized patients at risk for VRE colonization is one of the key steps in controlling VRE transmission among patients and one of the recommended measures to control hospital- acquired-infection.

Key words: VRE; antimicrobial resistance; vancomycin resistance ; *E. faecium*; *E. faecalis*



SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

15 - 16. oktobar 2021.

NOVE I PONOVO AKTUELNE MIKROBNE INFEKCIJE

INFEKCIJE IZAZVANE CLOSTRIDIODES (C.) DIFFICILE KOD DECE

Prof. dr Predrag Stojanović

Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu

Institut za javno zdravlje Niš, Centar za mikrobiologiju

Nacionalna referentna laboratorija za anaerobne infekcije - Clostridioides difficile

C. difficile je najznačajniji infektivni uzročnik dijareje, nastale nakon upotrebe antibiotika, kod odraslih hospitalizovanih bolesnika (1). Međutim, prisustvo ove bakterijske vrste u intestinumu dece, kao i uloga u nastanku oboljenja još uvek je kontraverzna. Dok se većina istraživača slaže da je *C. difficile* značajan uzročnik dijareje kod hospitalizovane dece sa nekom od teških osnovnih bolesti, kod dece sa vanbolničkom dijarejom (community-acquired CDI, CA - CDI), istraživači izveštavaju da je *C. difficile* na trećem mestu infektivnih izazivača dijareje a pojedini ga stavljaju i na prvo mesto. Nasuprot njima postoje studije koje pokazuje da CA-CDI kod dece nije značajna (2, 3, 4, 5). U tumačenju kliničkog značaja ove bakterijske vrste posebnu nedoumicu unosi i prisustvo drugih enteropatogenih vrsta pored *C. difficile* (mešovite infekcije, ko-infekcija). Analize dosadašnjih istraživanja, pokazuju da je kod dece prijavljeno 20.7% ko-infekcija (najčešće virusne (46%), bakterijske (14.9%), parazitarne (0.01%), ali 39% slučajeva nema prijavljen patogen) (6). Kod dece, prisustvo *C. difficile* i drugih enteropatogenih vrsta dovodi do velikih poteškoća u dešifrovanju pravog uzročnika, jer postoje značajne razlike u pristupu testiranja gastrointestinalnih ko-infekcija kao i nedostatak jasnih definicija CDI i ko - infekcija slučajeva (naročito kod dece mlađe od 5 godina).

Nedoumici oko značaja prisustva *C. difficile* u intestinumu dece posebno doprinosi visoka stopa asimptomatskog nosilaštva kod dece mlađe od 1 godine kao i statističke analize koje pokazuju da ne postoji značajna razlika u praćenim parametrima između dece koja su nosioci *C. difficile* i dece sa CDI ($p > 0.05$) (4, 5). Zbog toga je i stav Američkog Pedijatrijskog Udruženja da u ovom uzrastu treba testirati decu samo sa rizičnim faktorima kao što su Hirshsprungs disease ili drugim bolestima koje su praćene ozbiljnim poremećajima motiliteta creva (5). Dosadašnja istraživanja nisu dala jasnu eksperimentalnu potvrdu različitih teorija visoke stope nosilaštva toksigenih sojeva *C. difficile* kod dece tokom prve godine života bez nastanka CDI (mali broj bakterija *C. difficile* prisutnih u crevima, kolonizacija netoksigenim sojevima koja deluje protektivno, odsustvo - maskiranost - nezrelost receptora za toksine u tom periodu života, dojenje (zbog prisustvo protektivnih faktora u majčinom mleku - IgA koji se vezuje za receptore toksina, promene aciditeta gastro intestinalnog trakta (GIT) (dojene bebe imaju niži pH fecesa što pogoduje rastu *Bifidobacterium* spp., a inhibira rast i vezivanje *C. difficile* za enterocite), kompetitivni uticaj flore koja se dobija majčinim mlekom), neonatalna crevna flora, porast titra antitela prema toksinima *C. difficile* itd.) (2, 3, 7, 8). Međutim, postoje prikazi slučajeva neonatusa i infantusa sa nekrotizirajućim enterokolitisom, prolongiranom dijarejom i PMC povezanog sa *C. difficile* (9).

NOVE I PONOVO AKTUELNE MIKROBNE INFEKCIJE

Visoka stopa nosilaštva kod dece povezana je sa predhodnim hospitalizacijama, osnovnom bolešću i primenom više od dva antibiotika. U studiji Reaxach et al. (10) ukazuje se da deca sa ozbiljnim osnovnim bolestima lakše podležu kolonizacijama toksigenim sojevima *C. difficile*. Takva deca su češće i podvrgnuta različitim terapijama i hospitalizacijam što doprinosi nastanku CDI.

Kliničke manifestacije CDI kod dece variraju od dijareja različite težine i dehidracije, disbalansa elektrolita, kolitisa, PMC, toksičnog megakolona i posledične perforacije creva, disfunkcije i oštećenje bubrega, hipertenzije i smrti. Ishod i težina CDI kod dece je još uvek slabo razumljiva u odnosu na odrasle. Deca obično imaju lakšu kliničku sliku blagog toka i povoljnog ishoda ali se mogu javiti i ozbiljne komplikacije (2). Istraživanjem u Srbiji (11) potvrđeno je da deca sa CA-CDI imaju blažu kliničku sliku od dijareje izazvane drugim uzročnicima. Teški oblici CDI se javljaju kod hospitalizovane dece i mogu se u pojedinim slučajevima objasniti teškom osnovnom bolešću. PMC je u neonatalnom periodu redak i opisan je u pojedinačnim slučajevima (9). Istraživanjem u Srbiji utvrđen je smrtni ishod kod dvoje dece tokom epizode CDI ali su oba deteta imala teške osnovne bolesti (Morbus Crohn i leukemiju). Kod ove dece CA-CDI nije zvanično proglašen uzrokom smrti (11).

Uprkos primeni terapije (fidaxomicin, vancomycin i/ili metronidazol, itd.), povratne/rekurentne forme CDI (rCDI) se mogu javiti kod do 24% dece (12). Tokom istraživanja u Nišu (13), 21.13% dece je razvilo rCA-CDI, što je saglasno sa predhodnim studijama koja su sagledavala hospitalizovanu decu (20-25%), ali su viši od nekih predhodnih istraživanja (10,6% i 12%). To može biti i posledica različitih kriterijuma u klasifikaciji i dijagnostici CDI ali po pojedinim autorima i posledica i širenje ribotipa 027 (12).

Faktori rizika značajni za nastanak CDI kod dece su istraživani od strane velikog broja istraživača (10). Osnovni utvrđeni faktori rizika su bili: prisustvo teške osnovne bolesti, davanje citostatske i antibiotske terapije, Cronova bolest, transplantacija organa, imunodeficijencija, Hirschprungova bolest, kao i prevremeno rođenje, stanja koja su praćena prekidom pokretljivosti creva i anatomske obstrukcije (strikture kolona).

Rezultati istraživanja sprovedenog u Nišu (11), potvrđuju i povezanost nastanka CA-CDI kod dece sa uzimanjem dva ili više antibiotika ($p < 0.0001$), što je saglasno sa nalazom i zaključkom Adams i sar. (14) da kombinovana antibiotska terapija (jedan antibiotik za drugim) dovodi do šireg spektra antibakterijskog dejstva, rezultirajući disbalansom normalne gastrointestinalne flore, onemogućavajući njen oporavak.

Međutim, uloga antibiotika u nastanku CA-CDI kod dece nije u potpunosti razjašnjena. Analizom predhodnih istraživanja zapaža se da do 40% dece nije uzimalo antibiotike pre nastanka CA-CDI u zavisnosti od istraživanja (5, 7, 8). Kod ove dece potrebno je tragati za drugim faktorima rizika koji mogu uticati na nastanak CA-CDI (npr. laksativi, lekovi za smanjenje kiselosti želuca itd.).

Dosadašnja istraživanja su identifikovala nekoliko nezavisnih faktora rizika za nastanak rCDI kod dece (osnovna hronična bolest, predhodne hirurške intervencije, traheostomalna tuba, predhodna CA-CDI, davanje dodatnih – pratećih antibiotika (nisu usmereni prema *C. difficile*, eng. non-CDI) tokom trajanja CDI tretmana, broj različitih klasa antibiotika, prisustvo tube za veštačku ishranu itd.) (2, 3, 4).

NOVE I PONOVO AKTUELNE MIKROBNE INFEKCIJE

U studiji urađenoj u Nišu, 93,3% dece sa rCA-CDI imalo je neku osnovnu bolest, a čak 46,7% leukemiju (13). Slični su i nalazi i u drugim istraživanjima koja identifikuju malignitete kao najznačajnije rizične faktore za nastanak CDI i rCDI u pedijatrijskoj populaciji (15), pri čemu prisustvo maligniteta povećava rizik od nastanka rCDI za 3,4 puta (15). Deca sa malignitetima su često izložena bolničkim uslovima i antibioticima širokog spektra dejstva, koji su dokazano povezani sa nastankom CDI. Možda se radi o kumulativnom efektu više faktora rizika, jer onkološki pacijenti često pored antibiotika uzimaju i imunosupresivne lekove kao i citostatike.

Rezultati istraživanja u Nišu pokazuju da je 66.7% dece imalo inicijalnu epizodu CDI i rCDI izazvanu ribotipom 027 (relaps) što ukazuje na mogući značaj ovog ribotipa u nastanku rCDI (13). U prilog ovoj hipotezi idu i istraživanja Tschudin Sutter S. (16), koja ukazuju da je predhodna CA-CDI nezavisni faktor rizika za nastanak rCDI, što autor objašnjava cirkulacijom hipervirulentnih sojeva 027 u zajednici, van bolnica. U utvrđivanju značaja ribotipa 027, posebno je potrebno razmotriti značaj predhodnih hospitalizacija i poseta vanbolničkim ustanovama i jednodnevnim bolnicama, jer su hipervirulentni ribotipovi najzastupljeniji upravo u ovim sredinama (17).

Rezultati istraživanja u Nišu ukazuju da težina inicijalne epizode CDI može ukazati na mogućnost nastanka rCDI (13). Tokom inicijalne epizode CDI, deca sa rCDI su imala više maksimalne vrednosti broja leukocita, nivoa CRP-a, telesne temperature (>38.5 °C), duže trajanje dijareje kao i teži stepen dehidracije. Razloge težeg oblika inicijalne epizode CDI kod dece sa rCDI, treba tražiti u činjenici da su ova deca (93,3%) imala vrlo teške osnovne bolesti, kao i da je inicijalna epizoda u većini slučajeva (66.7%) bila izazvana ribotipom 027 za koji je poznato da je kod odraslih bolesnika povezan sa nastankom težih oblika bolesti, morbiditetom i mortalitetom (17).

Literatura:

1. Stojanovic P. Analysis of risk factors and clinical manifestations associated with Clostridium difficile disease in Serbian hospitalized patients. *Braz J Microbiol.* 2016 Oct - Dec; 47(4): 902-910.
2. Santiago B, Guerra L, Garcia-Morin M, Gonzalez E, Gonzalez A, Martos A, et al. Clostridium difficile in children hospitalized with diarrhea. *An Pediatr (Barc.).* 2015; 82(6): 417-25.
3. Crews J, Anderson L, Waller K, Swartz M, DuPont H, Starke J. Risk factors for community-associated Clostridium difficile associated diarrhea in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2015; 34:919-23.
4. Tamma P, Sandora T. Clostridium difficile infection in children: Current state and unanswered questions. *Journal of Pediatric Infectious Diseases Society.* 2012; 3: 230-43
5. Schutze GE, Willoughby RE, Committee on infectious Disease et al. Clostridium difficile infection in infants and children. *Pediatrics* 2013; 131: 196-200.

NOVE I PONOVO AKTUELNE
MIKROBNE INFEKCIJE

6. de Graaf H, Pai S, Burns DA, Karas JA, Enoch DA, Faust SN. Co-infection as a confounder for the role of *Clostridium difficile* infection in children with diarrhoea: a summary of the literature. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015 Jul;34(7):1281-7.
7. Borali E, Ortisi G, Moretti C, Stacul E, Liprere R, Gesu G, Giacomo C. Community-acquired *Clostridium difficile* infection in children: a retrospective study. *Digestive and liver disease*. 2015; 47: 842-6.
8. Trejo FM, Minnaard J, Perez PF, De Antoni GL. Inhibition of *Clostridium difficile* growth and adhesion to enterocytes by *Bifidobacterium* supernatants. *Anaerobe*. 2006; 12(4):186-193.
9. Pokorn M, Radsel A, Cizman M, et al. Severe *Clostridium difficile* associated disease in children. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2008; 27: 944-6.
10. Reaxach C, Tang – Feldman Y, Cantrell M, Cohen S. Epidemiologic surveillance of *Clostridium difficile* diarrhea in a freestanding pediatric hospital and a pediatric hospital at a university medical center. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2006; 56: 109-14.
11. Predrag S, Branislava K, Nikola S, Niko R, Zorica SR, Stanković-Đorđević D. Community-acquired *Clostridium difficile* infection in Serbian pediatric population. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018 Jun;37(6):1061-9.
12. Abou Chakra CN, Pepin J, Sirard S, Valiquette L. Risk factors for recurrence, complications and mortality in *Clostridium difficile* infection: a systematic review. *PloS One* 2014; 9(6): e98400.
13. Predrag S, Kuijper EJ, Nikola S, Vendrik KEW, Niko R. Recurrent community-acquired *Clostridium* (*Clostridioides*) *difficile* infection in Serbian children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020 Mar; 39(3):509-516.
14. Adams DJ, Eberly MD, Rajnik M, Nylund CM. Risk Factors for Community-Associated *Clostridium difficile* Infection in Children. *J Pediatr* 2017; 186: 105-9
15. Nicholson M, Thomsen I, Slaughter J, Creech CB, Edwards K. Novel risk factors for recurrent *Clostridium difficile* infection in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015; 60: 18-22.
16. Tshcudin-Sutter S, Tamma P, Milstone A, perl T. Predictors of first recurrence of *Clostridium difficile* infection in children. *The pediatric Infectious Disease Journal* 2014; 33: 414-6.
17. Rao K, Higgins P, Young V. An observational cohort study of *Clostridium difficile* ribotype 027 and recurrent infection. *mSphere* 2018; 3:e00033-18.

KARAKTERIZACIJA INVAZIVNIH SOJEVA GRUPE A STREPTOKOKA

Ina Gajić, Nataša Opavski

Uvod: Poslednjih decenija, uočen je porast invazivnih infekcija izazvanih grupom A streptokoka (GAS). Promene u klonskom sastavu invazivnih sojeva GAS (iGAS) povezane su sa širenjem uspešnih genetičkih linija i porastom učestalosti ovih infekcija. Cilj studije bio je da se ispita molekularna epidemiologija iGAS u Srbiji.

Materijal i metode: U studiju je uključeno ukupno 60 sojeva GAS izolovanih iz normalno sterilnih regija ili kultura rana praćenih nekrotizirajućim fasciitisom ili streptokoknim toksičnim šok sindromom u periodu od 2011. do 2018. godine. Karakterizacija sojeva je obuhvatila ispitivanje osetljivosti na antibiotike, emm tipizaciju i detekciju speA gena.

Rezultati: Najčešće kliničke manifestacije iGAS infekcija bile su sepsa (n=46, 76,7%) i infekcije mekih tkiva (n=9, 15%). Ukupne stope rezistencije iGAS su bile: eritromicin-8,3%, klindamicin-6,6%, norfloksacin-3,3%, tetraciklin-3,3%. Dominantan mehanizam rezistencije iGAS na makrolide bila je izmena ribozoma (80%). IMLS fenotip (60%) je bio kodiran ermA/ermB genima, cMLS fenotip (20%) ermB genom, a aktivni efluks makrolida (20%) mefA genom. Rezistencija na tetracikline je bila posredovana mehanizmom izmene ribozoma kodiranom tetO genom (3,3%). emm genotipizacijom je identifikovano 14 emm tipova. Najčešći su bili emm1 (48,3%), emm12 (8,3%), emm28 (8,3%), emm89 (6,7%), emm3 (5%) i zajedno su činili 76,7% testiranih sojeva. speA gen je detektovan kod 41,7% iGAS, pri čemu su speA1-3 aleli bili najčešći i prisutni kod 80% speA pozitivnih sojeva.

Zaključak: Klonska ekspanzija iGAS u Srbiji uglavnom je bila posledica fiksacije i diseminacije genotipa emm1/klaster A-C3/speA1-3 (28,3%), koji je bio izuzetno stabilan u posmatranom periodu. Nije uočena genetička povezanost iGAS rezistentnih na makrolide i tetracikline.

Ključne reči: grupa A streptokoka, invazivni sojevi, emm tipizacija, speA

VALIDACIJA I VERIFIKACIJE MIKROBIOLOŠKIH METODA

Svetlana Raketić

Uloga mikrobioloških laboratorija u osiguranju bezbednosti hrane je velika.

Cilj svake laboratorije je da rezultat ispitivanja bude tačan, i zbog toga svaki analitičar mora dobro poznavati metodu koju primenjuje u svojoj laboratoriji. Proces uvođenja novih metoda u rutinski rad laboratorije je precizno definisan standardom ISO 17025, a jedan od ključnih momenata u tom procesu je verifikacija metoda.

Verifikacija metoda je postupak kojim korisnička laboratorija demonstrira da validovana metoda "radi" u skladu sa tehničkim karakteristikama metode utvrđenim u studiji validacije, i da odgovara svojoj nameni. Verifikacija mikrobioloških metoda za ispitivanje hrane vrši se u skladu sa zahtevima ISO 16140-3: 2021 Protokol za verifikaciju referentnih metoda i validovanih alternativnih metoda u jednoj laboratoriji.

Uslov za verifikaciju metoda u korisničkoj laboratoriji je da ona mora biti potpuno validovana, a to znači da je prošla studiju poređenja u jednoj laboratoriji i međulaboratorijsku studiju.

Verifikacija potpuno validovanih metoda se vrši u dve faze:

- verifikacija implementacije
- verifikacija prehrambenih artikala

Verifikacija implementacije se sprovodi pre verifikacije prehrambenih artikala, čime laboratorija dokazuje da može pravilno izvesti validovanu metodu. Uvek se ispituje jedan prehrambeni artikal, pri čemu se za kvalitativne metode bira prehrambeni artikal iz kategorije hrane uključene u validacionu studiju, a za kvantitativne, bilo koji iz obima validacije metode. Verifikacija prehrambenih artikala se vrši nakon verifikacije implementacije, da bi laboratorija pokazala da može adekvatno izvesti metodu sa drugim prehrambenim artiklima koje rutinski ispituje.

U ovom slučaju, prilikom izbora prehrambenih artikala za verifikaciju, laboratorija se fokusira na prehrambene artikale koje testira u toku rutinskog rada, a koji su istovremeno i u obimu validacije metode (ne moraju biti ispitani u validacionoj studiji).

Tehničke karakteristike koje se određuju u postupku verifikacije se razlikuju kod kvantitativnih i kvalitativnih metoda.

Kod kvalitativnih metoda i pri verifikaciji implementacije, i pri verifikaciji prehrambenih artikala, određuje se procenjeni limit detekcije 50- e LOD50 .

Kod kvantitativnih metoda, prilikom verifikacije implementacije određuje se unutarlaboratorijska standardna devijacija reproducirabilnosti, a prilikom verifikacije prehrambenih artikala određuje se procenjeni bias.

Rezultat verifikacije mora biti u skladu sa limitima koji su dati u standardu, za svaku performansu.

Ukoliko su rezultati neadekvatni, laboratorija mora izvršiti analizu, naći uzrok neadekvatnog rezultata i sprovesti korektivne mere. Nakon toga, postupak verifikacije se mora ponoviti.

Verifikacija metoda po novom standardu se mora izvršiti za svaku novu metodu u obimu akreditacije, kao i za svaki novi matriks koji dodajemo već akreditovanoj metodi.

Metode koje se nalaze u obimu akreditacije se ne moraju ponovo verifikovati primenom novog standarda, sve dok se ne desi značajna promena u metodi koja ima uticaj na same performanse.

CAMPYLOBACTER JEJUNI – DRUG RESISTANCE

Prof. Dr Biljana Miljković-Selimović, Tatjana Babić MD, Ph.D., Prof. Dr Branislava Kocić

Reference laboratory for Campylobacter and Helicobacter, Institute for Public Health Niš
School of Medicine University in Niš

Campylobacter jejuni (*C. jejuni*) and Campylobacter coli (*C. coli*) cause about 90% of human infections leading to bacterial gastroenteritis. The clinical manifestations of this disease are acute diarrhea, possible systemic complications, as well as post-infectious sequels. The most commonly used antibiotics in the treatment of campylobacteriosis are macrolides, tetracyclines and fluoroquinolones, and the resistance to them is a significant public health problem.

Macrolide resistance in *C. jejuni* is based on modification of the target site of action by point mutation or methylation of 23S rRNA, thereby inhibiting macrolide binding. In addition to this mutation, another macrolide resistance gene, *erm* (B), has been discovered in patients traveling to Southeast Asia.

In *C. jejuni* and *C. coli*, resistance to tetracycline is linked to ribosomal protective genes, which encode resistance to tetracyclines, derived from Gram-positive bacteria, e.g., enterococci and streptococci. Resistance to tetracyclines is bound to plasmid and chromosome encoded *tet* O ribosomal protective protein.

Resistance of *C. jejuni* and *C. coli* to fluoroquinolones occurs as a result of mutations in the region that determines resistance to quinolones, a *gyrA* gene located on the QRDR. This gene encodes an A subunit of the target enzyme. Most highly resistant *C. jejuni* have substituted threonine (Thr-86) isoleucine (Ile), which is sufficient to allow high-grade resistance. Recently, there has been a recording the growth of resistance rate to ciprofloxacin and tetracyclines, which has been rapidly increasing in Campylobacter spp. in Europe, while erythromycin resistance levels remained relatively low.

Two main mechanisms of macrolide resistance, ribosomal target modifications and active efflux, may be involved. High-level resistance is mainly caused by mutations at positions 2,058 and 2,059 (*Escherichia coli* numbering) of the 23S rRNA gene [2, 3, 11, 18]. In addition, several modifications in the ribosomal proteins L4 and L22, which are associated with macrolide resistance, have been reported in Campylobacter [2, 3, 11, 18]. The other resistance mechanism is mediated by the CmeABC efflux pump, which protects Campylobacter against erythromycin, tetracyclines, bile salts, detergents and dyes [2, 13]. Suk-Kyung LIM, 2016

The multiplex PCR results showed that 51.8% (43/83) and 48.2% (40/83) of the 83 thermophilic Campylobacter spp. isolates were *C. jejuni* and *C. coli*, respectively. In the screening of tetracycline resistance genes, 83.1% of Campylobacter spp. isolates (69/83) were positive for *tet* (O) (Figure 1). *tet* (O) was seen in 92.5% of *C. coli* isolates (37/40) and 74.4% of *C. jejuni* isolates (32/43). *tet* (A) was found in 18% of Campylobacter spp. isolates (15/83), including 7 (16.3%) *C. jejuni* and 8 (20%) *C. coli* (Figure 2). Nine (11%) Campylobacter spp. isolates were positive for both *tet* (O) and *tet* (A). *tet* (B) and *tet* (S) resistance genes were not seen in these Campylobacter spp. isolates. EFLUX and Four tetracycline resistance genes (*tet* (O), *tet* (A), *tet* (B) and *tet* (S)) n Abdi-Hachesoo, 2014

SUSCEPTIBILITY PATTERN OF CLINICAL ISOLATES OF STAPHYLOCOCCI AND ENTEROCOCCI.

Marina Dinić^{1,2}, Branislava Kocić^{1,2}, Snežana Mladenović-Antić².

1 Faculty of Medicine University of Niš, Serbia

2 Public Health Institute Niš, Serbia

Acquired resistance of bacteria to antimicrobial agents represents, for sure, their evolutionary process. Even though at the present time resistance of Gram-negative bacteria is a great clinical challenge, Gram-positive cocci staphylococci and enterococci have significant role in etiology of infections in hospitalized patients. Considering the virulence of *Staphylococcus aureus*, the increase of critically ill patients, and the increased use of invasive devices in hospital settings, surveillance of resistance to antimicrobial agents is of clinical concern. Staphylococci and enterococci represent a part of normal microbial flora of humans and they are opportunistic pathogens that cause local and systemic infections. There are some factors that favor opportunistic infections in hospitalized patients. These factors include local factors - lesions of the skin, presence of implants, and/or general deficiencies of immune system. The species of genus *Staphylococcus* that are responsible for majority of human infections are *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) and *Staphylococcus epidermidis* (*S.epidermidis*). *S.aureus* may cause infections of any part of human body, ranging from mild to severe and potentially fatal. Beside the ability of *S.aureus* to carry and produce a variety of virulence factors, it has several mechanisms of resistance to antimicrobial agents. *S.epidermidis* is the most common isolate of staphylococci obtained from samples of hospitalized patients. The most important infections are infections associated with medical devices considering the ability of *S.epidermidis* to colonize biomaterials and biofilm formation. Intrinsic resistance of enterococci to a number of antibiotics along with acquired resistance to glycopeptides represents a challenge in therapy. Antibiotic use in hospital settings often eliminate competitors from gastrointestinal tract of hospitalized patients and can facilitate invasion of enterococci.

Thus, the data about antimicrobial resistance of circulating Gram-positive cocci in clinical settings are important for optimal initial and causative treatment of infection. In the Center for microbiology, Public Health Institute Niš, we performed the study of susceptibility of 2497 isolates of staphylococci and 1038 isolates of enterococci isolated from January 2018 to December 2020. Isolates were obtained from patients hospitalized in Clinical center Niš. We analyzed isolates obtained from various patient samples, except samples originated from urogenital tract. Susceptibility testing was performed according to EUCAST standard.

Keywords: staphylococci, enterococci, susceptibility pattern.

Acknowledgments

This work was supported by Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia, Project No 31079.

ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF GRAM-NEGATIVE BACILLI AT THE CLINICAL CENTER OF NIŠ, SERBIA

Mladenovic-Antic Snezana¹, Kocic Branislava^{1,2}, Dinic Marina^{1,2}

1 Institute of Public Health of Nis,

2 Faculty of Medicine of Nis

Background: Antimicrobial resistance represents one of the most serious threats humans face today. The aim was to investigate the antimicrobial susceptibility of Gram-negative bacilli, including carbapenemase-producing Enterobacteriales (CPE) to Imipenem/Relebactam (I/REL), carbapenems, amikacin, ciprofloxacin and colistin. The study included 3920 GNB isolates Gram-negative bacilli from the Enterobacteriales, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp, and 56 CPE isolates from ICU patients at the Clinical Center of Niš. Materials: Antibiotic susceptibility to carbapenems and comparators was performed by Kirby-Bauer disc diffusion method, Bio Rad tablets, by the Vitek 2 system, and to colistin by broth microdilution, according to the EUCAST protocol. Susceptibility testing of imipenem-relebactam was performed by MIC Test Strips. Carbapenemase genes in enterobacteria were detected using PCR.

Results: There was a total of 3920 GNB isolates Gram-negative bacilli from the Enterobacteriales, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. and the most common were: *Escherichia coli* with 38% MDRs and 0.2% XDRs, *Klebsiella pneumoniae* (81.2% were MDR and 7.9% were XDR), *Acinetobacter* spp. isolates 92.1% MDR, and 19.3% XDR and *Pseudomonas aeruginosa* 52.8% were MDR and 19.2% were XDR. The CPE consisted primarily of *Klebsiella pneumoniae* (40) and *Enterobacter cloacae* (13), followed by *Citrobacter freundii* (1), *Escherichia coli* (1) and *Serratia marcescens* (1). Of the 40 isolates of *Klebsiella pneumoniae*, 10 were NDM producers, 22 produced OXA-48 carbapenemases, 8 produced OXA-48/NDM enzymes and one isolate produced KPC/OXA-48 enzymes; of the 13 isolates of *Enterobacter cloacae*, 9 produced NDM enzyme, 3 isolates OXA-48/NDM and one isolate produced KPC/OXA-48 enzymes. *Serratia marcescens* and *Citrobacter freundii* produced NDM carbapenemases. The imipenem-relebactam was considerably more active than imipenem (MIC_{50/90}, 2/2 mg/L vs. 16/≥16 mg/L) in the two KPC/OXA-48 producing isolates; of all 22 OXA-48 producers 14 isolates were sensitive to imipenem (MIC₅₀ ≤ 2 μg/ml). There were 7 resistant isolates to imipenem vs. 1 resistant to imipenem-relebactam (MIC_{50/90}, 3/8 mg/L vs. 8/≥16 mg/L, respectively). Relebactam provided weak potentiation of imipenem activity against enterobacteria with NDM enzymes, lowering the imipenem MIC₅₀ and MIC₉₀ from 16 to 3 mg/L, and from > 16 to 6 mg/L, respectively. -Table 1. More isolates were susceptible to I-REL than to any comparator except colistin, despite the fact that the majority of carbapenemases were nonKPC.

Conclusions: High level of resistance of gram-negative bacilli in the Clinical Center Nis requires continuous monitoring of antimicrobial resistance. The most common carbapenemases at the Clinical Center of Niš are OXA-48 and NDM. Even though relebactam is a β-lactamase inhibitor of class A and class C β-lactamases, we detected a reduction in MIC imipenem (increased susceptibility of strains) using relebactam. This fact could influence the decision to use imipenem-relebactam in the treatment of infections caused by CPE.

Keywords: Antimicrobial resistance, Carbapenemase, Gram-negative bacilli

DIETARY EXPOSURE ASSESSMENT TO AFLATOXIN B1 IN REPUBLIC OF SERBIA

B. Udovicki, A. Rajkovic

Department of Food Safety and Quality Management, Faculty of Agriculture, University of Belgrade, Nemanjina 6, 11080, Zemun, Belgrade, Serbia

Aflatoxins (AFs) are a group of highly toxic mycotoxins and a major concern for the food safety and public health. Within the AFs group, aflatoxin B1 (AFB1) occurs at the highest levels in numerous food products and is considered as the most potent type. A total of 463 samples of products susceptible to contamination with AFB1 were collected and analysed by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and by Liquid Chromatography with tandem Mass Spectrometry (LC/MS-MS) method. Food consumption surveys were performed using a Food Frequency Questionnaire (FFQ) and 24-h recall-based method. Monte Carlo simulation was performed to estimate the intake of AFB1 through each food category, while a simple distribution approach was performed to estimate the overall exposure of tested population groups.

Risk characterization was performed by calculation of the Margin of Exposure (MOE) and by calculation of the number of possible hepatocellular carcinoma (HCC) cases. Based on the 24-h recall-based method the highest exposure was observed in children with the mean overall estimated daily intake (EDI) in the range of 1.20–1.66 ng kg⁻¹ bw day⁻¹, followed by adolescents 0.94–1.32 ng kg⁻¹ bw day⁻¹, adult females 0.52–0.72 ng kg⁻¹ bw day⁻¹ and adult males with the mean overall EDI in the range of 0.47–0.66 ng kg⁻¹ bw day⁻¹ for the lower (LB) and upper bound (UB) scenario. MOE values that resulted from the mean values of the overall EDI of AFB1 were low, indicating high concern for all population groups. Based on these mean values of the overall EDI estimates of possible HCC cases were in the range of 0.01–0.02 cases/year/105 individuals, depending on the population group.



SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

15 - 16. oktobar 2021.

NOVE I PONOVO AKTUELNE MIKROBNE INFEKCIJE

IVERMECTIN IN PROPHYLAXIS AND THERAPY OF COVID-19

Ivana Čolović Čalovski, Eleonora Dubljanin, Aleksandar Džamić

Institute for Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine University of Belgrade, Serbia

Ivermectin is an FDA-approved broad spectrum anti-parasitic agent shown to have anti-viral activity against a broad range of viruses in vitro. In addition to the fact that this drug has shown the activity against viruses such as HIV-1, Dengue-DENV, West Nile Virus and Influenza, his antiviral activity against SARS-Co-2 corona virus was shown in vitro. We processed different investigations to assess the efficacy and safety of ivermectin compared to no treatment, placebo, or any other proven intervention for people with COVID-19 as inpatients or outpatients for ivermectin pre&postexposure as prophylaxis or treatment.

There are more than 60 studies that strongly prove positive effect of use of ivermectin in prophylaxis (84-96% improvement), early treatment (64-76%) and late treatment (30-59%) in COVID-19 in&outpatients. Also, these papers shown that use of ivermectin had 44% improvement in need of mechanical ventilation and 57% improvement in need of intensive care support in different stages of diseases. Impact on mortality rate is 96% of improvement when ivermectin is used as prophylaxis and 64% as early treatment.

On the other hand, there are studies showing that use of ivermectin in COVID-19 patients in any stage of disease have low to very low quality of the evidence in improvement clinical recovery, admission to intensive care, need for mechanical ventilation or any other aspect of disease.

In addition, ivermectin use for treating COVID-19 patients is still on pending and WHO recommendation is that it can be used only in clinical trials.

HOW IVERMECTIN HAS FOUND ITS WAY IN THE TREATMENT OF INFECTIOUS AND NON-INFECTIOUS DISEASES

Antiparasitic and antifungal drugs:
treatment challenges Oral presentation

Mijatović Stefan¹, Mitrović Sanja¹

¹ Laboratory of Parasitology-Myology, Institute for Microbiology and Immunology,
Faculty of Medicine, University of Belgrade, Serbia

The aim of our study was to show anthelmintic and insecticidal effect of ivermectin based on recent studies, as well as potential application of this wonder drug in treatment of different infectious and non-infectious diseases in human medicine.

This drug as a mixture of chemically modified avermectins produced by the bacterium *Streptomyces avermitilis* has a broad-spectrum activity with minor side effects. As positive allosteric modulator, in nanomolar concentration ivermectin interacts with glutamate-gated chloride channels of roundworms and different arthropods, but not flukes and tapeworms. At higher concentration also acts as an allosteric modulator of ion channels found in different host cells. In tissue culture in micromolar concentration ivermectin shows anti-inflammatory, anticancer, antimetabolic, antiviral, antimalarial and antibacterial activity.

For prevention and treatment of roundworm infections, currently ivermectin is approved for onchocerciasis, lymphatic filariasis, as well as strongyloidiasis especially its life-threatening conditions – hyperinfective syndrome and disseminated strongyloidiasis. Its effect in therapy of other intestinal and tissue-dwelling roundworm infections proved less successful. As effective insecticide and acaricide, ivermectin is an indispensable drug in the treatment of crusted scabies. Moreover, ivermectin as topical therapy has also been shown to be effective in the treatment of Papulopustular rosacea.

Current clinical trials should show the true effect of ivermectin in the treatment of Dengue fever and SARS-CoV-2 infection. Undoubtedly that this wonder drug from mud remedy will find application in the treatment of many diseases, but we must first investigate its potentials in detail.

Key words: ivermectin, roundworms, mites

THE PROBLEM OF ANTIFUNGAL DRUG RESISTANCE AND NEW SOLUTIONS

Sanja Mitrović¹, Ivana Čolović Čalovski¹

¹ Institute for microbiology and immunology, Faculty of Medicine, University of Belgrade, Serbia

The global incidence of mycoses has increased dramatically in recent years, especially of invasive fungal infections, which characterized high morbidity and mortality (30–80%). Only a few classes of antifungal drugs are available, so the emergence of resistance to single drug classes and multidrug resistance (to two or more classes), greatly hampers patient management.

Azole resistance among *Candida* and *Aspergillus* species and echinocandin resistance in *Candida* are among the most challenging problems in clinical mycology, followed by multidrug resistance among some *Candida*, especially *C. glabrata*. The spread of agriculturally derived azole-resistant *Aspergillus fumigatus* are also alarming. Particular concern has been raised about *Candida auris* which is a cause of nosocomial outbreaks and resistant to multiple antifungal agents; only 7 and 46% of isolates are susceptible to fluconazole and voriconazole, respectively.

Drug resistance mechanisms include altered drug-target interactions, reduced cellular drug concentrations mediated by drug efflux transporters, and permeability barriers associated with biofilms. They are naturally occurring in less susceptible species and, are acquired in strains of susceptible organisms. *C. auris* is inherently multidrug resistant, but other species typically develop resistance through stepwise selection of multiple drug-resistance mechanisms. Cellular stress induced by drug treatment promotes adaptation with development of resistance.

Development of rapid diagnostic methods for detecting fungal infections and antifungal resistance, their monitoring and surveillance, as well as discovery of new drugs, are priorities in medical mycology research. Some of novel antifungals been in development in recent years.

Key words: antifungal drugs, azole resistance, echinocandin resistance, *Candida*, *Aspergillus*, *C. auris*

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

15 - 16. oktobar 2021.

NOVE I PONOVO AKTUELNE MIKROBNE INFEKCIJE

RESISTANCE MECHANISMS IN ASPERGILLUS SPP. AND RECOMMENDATIONS FOR ANTIFUNGAL USE IN THE TREATMENT OF ASPERGILLOSIS

Eleonora Dubljanin, Stefan Mijatović, Aleksandar Džamić

Institute for Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine University of Belgrade, Serbia

In recent decades, there has been a substantial increase in the occurrence of invasive fungal infections due to *Aspergillus* spp. throughout the world. The emergence of resistance to single drug classes and now multidrug resistance greatly hampers patient management because only a few classes of antifungal drugs are available. Over the past decade, the development of less toxic drugs has contributed to the expansion of antifungal use for prophylaxis, empirical and directed therapy, which has in turn led to increased drug resistance. The use of medically related antifungal drugs in agriculture has resulted in environmental reservoirs for some drug-resistant pathogens. The emergence of drug resistance to any one drug class severely limits therapy because so few treatment options are available.

Drug resistance mechanisms include altered drug-target interactions, reduced cellular drug concentrations mediated by drug efflux transporters, and permeability barriers associated with biofilms. Cellular stress induced by drug treatment promotes adaptation, which contributes to breakthrough resistance. The global spread of azole-resistant *Aspergillus* species is particularly concerning.

Antifungal resistance is on the rise, and is an emerging threat to patient management and clinical success. An effective antifungal stewardship programme is essential to control drug resistance, and should incorporate rapid fungal diagnostics, therapeutic drug monitoring, and clinical intervention teams. The development of better diagnostic tools and strategies that allow targeted use of antifungals is essential to preserve drug effectiveness. Ultimately, there remains a need for new antifungal drugs against novel targets, as well as implementation of efficient policies for infection control and treatment.

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

**PRODUKCIJA
BIOFILMA**

26. novembar 2021.

ONLINE PROGRAM

21

SERIES
UMS

SIMPOZIJUM

26. novembar 2021.

PRODUKCIJA BIOFILMA

14.20 – 14.30

CEREMONIJA OTVARANJA

14.30 – 14.50	<i>Suzana Vidaković (Srbija)</i>	Biofilmovi patogenih bakterija u prehrambenoj industriji
14.50 – 15.10	<i>Aleksandra Šmitran (BiH)</i>	Uticaj nanočestica i nanokompozita na produkciju biofilma nefermentujućih bakterija
15.10 – 15.30	<i>Milka Malešević (Srbija)</i>	Uloga N-acil- homoserin laktona DU 606 lanca u inhibiciji formiranja biofilma vrste <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
15.30 – 15.50	<i>Lidja Šenerović (Srbija)</i>	Primena enzima u prevenciji i tretmanu hroničnih bakterijskih infekcija
15.50 – 16.10	<i>Vesna Lazić (Srbija)</i>	Uticaj ekstrakata gljive <i>Inonotus obliquus</i> na formiranje biofilma patogenih bakterija
16.10 – 16.30	<i>Luís Daniel Rodrigues Melo (Portugal)</i>	The complexity involved in phage/biofilm - Interactions: The <i>Staphylococcus case</i>
16.30 – 16.50	<i>Verica Aleksić Sabo (Srbija)</i>	Potencijalni antimikrobni agensi za eradikaciju biofilma <i>Acinetobacter baumannii</i>
16.50 – 17.10	<i>Petar Knežević (Srbija)</i>	The other side of the coin - certain bacteriophages can contribute to biofilm formation
17.10 – 18.10	DISKUSIJA	

18.10 – 18.20

CEREMONIJA ZATVARANJA

21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

**PRODUKCIJA
BIOFILMA**

26. novembar 2021.

APSTRAKTI

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

26. novembar 2021.

PRODUKCIJA BIOFILMA

BIOFILMOVI PATOGENIH BAKTERIJA U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI

Suzana Vidaković Knežević^{1*}, Dubravka Milanov¹, Slobodan Knežević¹, Radoslava Savić Radovanović², Jasna Kureljušić³, Sunčica Kocić-Tanackov⁴, Neđeljko Karabasil²

1 Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad, Srbija

2 Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Srbija

3 Naučni institut za veterinarstvo „Srbije“, Beograd, Srbija

4 Tehnološki fakultet Novi Sad, Novi Sad, Srbija

Patogene bakterije prenosive hranom, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes* i *Yersinia enterocolitica*, sposobne su da formiraju biofilme na različitim površinama koje dolaze u kontakt sa hranom, uključujući visokozastupljene plastične i površine nerđajućeg čelika. Biofilm čine skupine sinhronizovanih bakterija u matriksu, od ekstracelularnih polimernih supstanci, koje funkcionišu kao višecelijski organizam. Njegovo formiranje odvija se kroz više faza, a na stepen formiranog biofilma veliki uticaj imaju faktori spoljašnje sredine, uslovi temperature i dostupnost hranljivih materija.

Kratko vreme potrebno za primarnu adheziju bakterijskih ćelija za glatke površine i veća rezistencija bakterija u organizovanom ekosistemu ukazuju na povećanje verovatnoće pojave unakrsne kontaminacije sirovina i proizvoda u pogonima prehrambenih industrija. Struktura zrelih biofilмова štiti bakterije od uticaja hemijskih sredstava za sanitaciju, pri čemu su standardne sanitarne operativne procedure ograničene.

Alternativne metode primene prirodnih antimikrobnih sredstava, poput etarskih ulja, ogledaju se u narušavanju integriteta bakterijskih ćelija koja vodi do njihove lize. Minimalne baktericidne koncentracije etarskih ulja origana i timijana redukuju biomasu formiranih biofilмова za 30% do 90%, čime se smatraju budućim rešenjem.

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

26. novembar 2021.

PRODUKCIJA BIOFILMA

UTICAJ NANOČESTICA I NANOKOMPOZITA NA PRODUKCIJU BIOFILMA NEFERMENTUJUĆIH BAKTERIJA

prof. dr Aleksandra Šmitran

Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci

Otkrićem biofilma je dešifrovan jedan od načina in vivo antimikrobne rezistencije na antibiotike koji su pokazivali dobru aktivnost na bakterije ispitivane klasičnim metodama antibiograma. Za eradikaciju biofilma su neophodne izuzetno velike doze antimikrobnih supstanci koje dovode do toksičnog dejstva. Novija antibiofilm istraživanja baziraju se na nanočesticama i nanokompozitima, koje zahvaljujući svojoj specifičnoj građi imaju sposobnost efikasnijeg prodiranja u biofilm. Nanočestice su supstance građene od molekula nanometarskog prečnika. Nanokompoziti su sistemi za isporučivanje lijekova koji se sastoje od aktivne supstance nanoveličine koja se vezuje za organski ili neorganski matriks, koji stabilizuje otpuštanje aktivne supstance. Takođe, treba naglasiti da postoji mogućnost ispitivanja dejstva bioaktivnih supstanci tokom stvaranja biofilma, kao i na prethodno stvoreni biofilm.

Odlični produktori biofilma su nefermentujuće bakterije rodova *Pseudomonas* i *Acinetobacter*, koji su bili cilj našeg ispitivanja. Naša istraživanja su ispitivala efikasnost nanočestica metalnih oksida titanijuma, cinka, bakra i željeza, kao i nanokompozita pirofilit-srebra. Analizirana je njihova antibiofilm aktivnost tokom stvaranja biofilma, kao i na već prethodno stvoreni biofilm. Ispitivanja su vršena metodom po Stepanoviću i saradnicima, u mikrotitarskoj ploči, a količina stvorenog biofilma je spektrofotometrijski mjerena nakon bojenja gencijana ljubičastom bojom. Uočeno je da su ispitivane aktivne supstance pokazale bolji efekat na sprečavanje stvaranja biofilma tokom njegovog stvaranja, nego na već stvoreni biofilm. Naši rezultati, kao i rezultati drugih istraživača ukazuju na značaj mjera koje treba sprovesti u cilju sprečavanja nastanka biofilma, jer zasad stvoreni biofilm predstavlja izuzetno veliki izazov koji još uvijek nismo u mogućnosti pobijediti dosad poznatim bioaktivnim supstancama različitog porijekla. Podaci iz ovog predavanja su dio projekta br. 19.032/961-78/19. odobrenog od strane Ministarstva za naučnotehnološki razvoj, visoko obrazovanje i informaciono društvo Republike Srpske.

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

26. novembar 2021.

PRODUKCIJA BIOFILMA

ULOGA N-ACIL HOMOSERIN LAKTONA DUGOG LANCA U INHIBICIJI FORMIRANJA BIOFILMA VRSTE PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Milka Malešević

Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu, Beograd,
Srbija Sažetak predavanja

Pseudomonas aeruginosa jedan je od najznačajnijih uzročnika unutarbolničkih infekcija čiji je terapijski tretman konvencionalnim antibioticima sve češće neefikasan usled rezistencije na antibiotike. Osim toga, posedovanje sistema međucelijske komunikacije (quorum sensing, QS) ovom patogenu omogućava fleksibilnost u regulaciji ekspresije gena uključenih u virulenciju, formiranje biofilma, produkciju sekundarnih metabolita i faktora koji imaju ulogu u zaštiti od imunskog sistema domaćina. Sposobnost formiranja biofilma predstavlja jednu od najznačajnijih virulentnih karakteristika *P. aeruginosa* i zaslužna je za uspostavljanje hroničnih infekcija, stoga direktno utiče na progresiju bolesti i dugotrajnu perzistenciju. Inovativni vidovi kontrole infekcija, poput utišavanja međucelijske komunikacije bakterija, a time i onemogućavanja formiranja biofilma i inhibicije patogenog fenotipa su stoga od izuzetnog značaja.

Naše istraživanje zasnovano je na proučavanju prirodnog svojstva bakterija koje dele ekološke niše da sarađuju, ali i kompetiraju, na osnovu čega je analiziran klinički izolat *Delftia tsuruhatensis* 11304 koji tokom infekcija kolokalizuje sa *P. aeruginosa* pri čemu dovodi do smanjenja virulentnog fenotipa kroz sprečavanje formiranja biofilma ovog patogena. Pokazano je da *D. tsuruhatensis* 11304 produkuje N-acil homoserin laktone dugog lanca (AHL) od 12 do 18 C atoma (C12-HSL, C14-HSL, C16-HSL, C18-HSL, N-3-okso-C18-HSL i dihidroksi-C18-HSL) koju u sastavu ukupnog etil-acetantog ekstrata kliničkog izolata 11304 inhibiraju virulenciju *P. aeruginosa* i rekonstituišu osetljivost na antibiotike. Takođe, po prvi put je u okviru ovog istraživanja opisano prisustvo dihidroksi-C18-HSL u biološkim uzorcima..

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

26. novembar 2021.

PRODUKCIJA BIOFILMA

PRIMENA ENZIMA U PREVENCIJI I TRETMANU HRONIČNIH BAKTERIJSKIH INFEKCIJA

Lidija Šenerović

Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu

Bakterije se obično smatraju slobodnoživućim jednoćelijskim organizmima. Međutim, danas se zna da je preovladavajući način života mikroorganizama biofilm. Biofilmovi su kompleksne strukture, sačinjene od bakterija uronjenih u vanćelijski matriks koji same proizvode. Široki spektar različitih infekcija povezan je sa prisustvom bakterijskih biofilmova, od onih povezanih sa biofilmovima formiranim na medicinskim pomagalicama do hroničnih infekcija tkiva, poput onih koje se javljaju u plućima pacijenata sa cističnom fibrozom ili u hroničnim ranama. Jedna od ključnih razlika između ćelija u biofilmovima i planktonskih formi je njihova smanjena osetljivost na antibiotike. Rezistencija odnosno tolerancija biofilmova na antibiotike je multifaktorijelna i zavisi od vrste bakterija, uslova rasta, stadijuma razvoja biofilma i specifičnosti antibiotika. Sposobnost formiranja biofilmova doprinosi patogenom potencijalu bakterija, njihovoj toleranciji i rezistenciji na antibiotike pa se stoga intenzivno razvijaju različiti pristupi za borbu protiv infekcija praćenih njihovim formiranjem. Ako se prisustvo biofilma detektuje rano tokom infekcije, on se može efikasno tretirati antibioticima. Međutim, dijagnoza početnih faza formiranja biofilmova često je teška i neefikasna, što je i glavni razlog za nastanak kliničkih stanja praćenih zrelih biofilmovima. Ukoliko se nalaze na pristupačnim površinama tretman zrelih biofilmova postiže se njihovim mehaničkim ili hirurškim uklanjanjem.

Alternativni pristup tretiranju biofilma zasniva se na njegovom slabljenju i disperziji korišćenjem agenasa sa anti-biofilm svojstvima poput surfaktanata, malih molekula koji inhibiraju puteve za sintezu matriksa biofilma, ili primenom enzima koji degraduju specifične komponente matriksa.

Cilj naših istraživanja je da identifikujemo enzime poreklom iz sredinskih mikroorganizama koji inhibiraju proces formiranja biofilmova kod patogenih bakterija, odnosno specifično deluju na pojedine komponente matriksa biofilma.

UTICAJ EKSTRAKATA GLJIVE *INOTUS OBLIQUUS* NA FORMIRANJE BIOFILMA PATOGENIH BAKTERIJA

Vesna Lazić, Maja Kozarski, Jovana Vunduk, Ana Doroški, Anita Klaus

Institut za prehrambenu tehnologiju i biohemiju, Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, 11080 Beograd, Srbija,

vesna.lazic@gmail.com; maja@agrif.bg.ac.rs; vampum00@yahoo.com; anchi.doroski@gmail.com ; aklaus@agrif.bg.ac.rs;

Inotus obliquus (Čaga) je medicinski značajna gljiva čija micelija je tamne boje, a razvija se u kori breze. Pripada porodici Hymenochaetaceae. Ekstrakti *I. obliquus* koriste se širom Severne i Istočne Evrope, Koreje i Rusije jer se pretpostavlja da pokazuju anitimikrobne, antioksidativne, antiinflamatorne i antitumorske aktivnosti. Hemijski testovi pokazuju da *I. obliquus* proizvodi širok spektar sekundarnih metabolita, uključujući fenolna jedinjenja, melanine, ugljene hidrate i proteine.

Zadatak ovog istraživanja je bio da se utvrdi hemijski sastav, kao i antimikrobna i antiadhezivna i antibiofilmska sposobnost dobijenih subkritičnih vodenih ekstrakata *I. obliquus* poreklom iz Mongolije (IM) i sa planine Vlasina, Srbija (IS). Utvrđen je ukupan sadržaj proteina, ugljenih hidrata i fenola, a visok sadržaj fenola u oba ekstrakta. Fenolne kiseline su identifikovane hemijskom analizom HPLC i potvrđeno je prisustvo hlorogenske kiseline u najvećoj koncentraciji, katehina, p-kumarinske kiseline i cimetine kiseline.

Antimikrobni potencijal subkritičnih vodenih ekstrakata ispitan je mikrodilucionom metodom. Antiadhezivna i antibiofilmska sposobnost praćena je korišćenjem Gram pozitivnih bakterija *Listeria monocitogenes*, *Enterococcus faecalis* i *Staphylococcus aureus*, kao i Gram negativnih *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*. Najznačajnija proizvodnja biofilma zabeležena je kod *E. faecalis* (treća kategorija) i *S. aureus* (druga kategorija). Uočeno je da su ekstrakti IS i IM doveli do 90% adhezije kod *E. faecalis* i *S. aureus* kao i do redukcije biofilma, odnosno da je došlo do smanje sposobnost ove dve bakterije da formiraju biofilm. Gram pozitivne bakterije su se pokazale kao osetljivije u prisustvu oba testirana subkritična vodena ekstrakta (MBC - 20 mg/mL u svim eksperimentima). Prema dobijenim vrednostima MIC, IM (5 mg/mL, 2,5 mg/mL, 2,5 mg/mL) je ispoljio jači efekat od IS (10mg/mL, 5 mg/mL, 5 mg/mL) na *L. monocitogenes*, *E. faecalis* i *S. aureus*. Ova istraživanja pokazala su da su testirani subkritični vodeni ekstrakti *I. obliquus* veoma efikasni u sprečavanju nastanka biofilma, posebno onih odabranih Gram-pozitivnih bakterija. Ovo otkriće bi moglo biti veoma korisno u borbi protiv biofilma, uzimajući u obzir sve probleme i opasnosti koje oni nose.

Ključne reči: *Inotus obliquus*, antiadheziona sposobnost, sposobnost antibiofilma

POTENTIAL ANTIMICROBIAL AGENTS FOR ACINETOBACTER BAUMANNII BIOFILM ERADICATION

Verica Aleksić Sabo ^a, Suzana Jovanović Šanta ^b, Petar Knežević ^a

a Department of Biology and Ecology, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovica 3, 21 000, Novi Sad, Vojvodina, Serbia

b Department of Chemistry, Biochemistry and Environmental Protection, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovica 3, 21 000, Novi Sad, Vojvodina, Serbia

A. baumannii possesses numerous phenotypic and genotypic characteristics responsible for pronounced resistance to a large number of different antimicrobial agents. One of the main reasons for the limited number of currently available antimicrobial agents effective in *A. baumannii* eradication is that most antibiotics effectively act on planktonic cells. However, this bacterium often forms biofilm which provide phenotypic resistance to conventional antibiotics. Current research is focused on finding unconventional anti-*A. baumannii* agents, especially those of natural origin. The most commonly studied are bacteriophages, antimicrobial peptides, bile salts, essential oils, plant extracts and their bioactive compounds. The traditional use of these natural agents in the treatment of various diseases is well known. According to the results of our recent research, the essential oils of *Myrtus communis* and *Eucalyptus camaldulensis* express a significant anti-biofilm effect on the formation and eradication of *A. baumannii* biofilm, as well as bile salts on the biofilm formation process. By applying the essential oils of *M. communis* in a concentration of 2-4 $\mu\text{L mL}^{-1}$, the biofilm production was reduced by 60-100%, and of *E. camaldulensis* by 65-100%. Essential oils exhibited their anti-biofilm activity at the same concentrations on the eradication of 24 h old biofilm (*M. communis* removed 45-96% and *E. camaldulensis* 58-100%). Bile salt, sodium deoxycholate inhibited the formation of biofilm by 80-100% at a concentration of 2 mg mL^{-1} , and sodium henodeoxycholate by 15-98%, depending on the *A. baumannii* strain.

Examined essential oils and bile salts at these concentrations had an even more pronounced effect on planktonic cells present in the medium during the biofilm formation process, inhibiting their growth and/or reducing their metabolic activity. However, in some cases sub-inhibitory concentrations of examined agents stimulated biofilm production, suggesting its application as anti-biofilm agents in super-inhibitory concentrations. The anti-biofilm effect of the examined natural unconventional agents is promising alternative in combat against antibiotic resistant *A. baumannii*.

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

MIKROBIOLOGIJA ŽIVOTNE SREDINE

16. decembar 2021.

ONLINE PROGRAM

21

SERIES
UMS

SIMPOZIJUM

16. decembar 2021.

MIKROBIOLOGIJA ŽIVOTNE SREDINE

14.00 – 14.10

CEREMONIJA OTVARANJA

14.10 – 18.10	Moderator: <i>Nikoleta Lugonja (Srbija)</i>	
14.10 – 14.30	<i>Miroslav M. Vrvic (Srbija)</i>	Stanje i perspektive mikrobiologije životne sredine
14.30 – 14.45	<i>Srđan Miletić (Srbija)</i>	Mikroorganizmi kao ključne karike protoka supstanci i energije u ekosferama
14.45 – 15.05	<i>Blažo Lalević (Srbija)</i>	Ekološka uloga mikroorganizama u vodenim ekosistemima
15.05 – 15.30	<i>Jelena Jovičić-Petrović (Srbija)</i>	Zemljišni mikroorganizmi i zdravlje agroekosistema
15.30 – 15.50	<i>Gordana Racić (Srbija)</i>	Mikroorganizmi i zagađujuće supstance u životnoj sredini
15.50 – 16.20	<i>Vladimir Beškoski (Srbija)</i>	Biotehnologija i mikrobiologija životne sredine
16.20 – 16.40	<i>Alexandra-Maria Nascutiu (Rumunija)</i>	Biotechnology at the crossroad of science and ethics
16.40 – 16.55	<i>Vanja Vlajkov (Srbija)</i>	Izolati iz prirodnog okruženja kao aktivne komponente biokontrolnih preparata
16.55 – 17.15	<i>Olja Šovljanski (Srbija)</i>	Multifunkcionalnost bakterijskih izolata sa biokalificujućim potencijalom
17.15 – 18.10	DISKUSIJA	

18.10 – 18.20

CEREMONIJA ZATVARANJA

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

MIKROBIOLOGIJA ŽIVOTNE SREDINE

16. decembar 2021.



APSTRAKTI

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

16. decembar 2021.

MIKROBIOLOGIJA ŽIVOTNE SREDINE

ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY: STATE-OF-THE ART AND PERSPECTIVES

Miroslav M. Vrvić

BREM GROUP LLC, 11090 Belgrade-Rakovica, Str. Oslobođenja 39b, Serbia
(mmvrvic@bremgroup.com)

The environment, all of the inorganic and organic nature that surrounds us on the planet, is the environment in which we live, as part of the biosphere along with microorganisms, plants and animals. In addition to the biosphere, our planet also consists of: geosphere, hydrosphere and atmosphere. Microorganisms are ubiquitous, that is, they inhabit every corner of the Earth, every part of our body and every plant and animal. Therefore, but not only because of that, but above all because of the unbelievable metabolic pathways.

Environmental microbiology, which studies the relationships and interactions of microorganisms with the environment and the impact on the environment and its preservation-remediation, is the application of ecological microbiology, which deals with the same field, but without the impact on the environment. This scientific field is also a part of environmental biotechnology.

Now the focus of environmental microbiology is microorganisms and their activity in the decomposition of environmental contaminants by bioremediation technologies, which predominantly refers to petroleum pollutants and toxic elements in hazardous waste and polluted soil, water, exhausted gases,...

Perspectives are certainly in the further development and improvement of bioremediation techniques, aimed at persistent organic pollutants (POPs), but also plastics, especially micro and nanoplastics. The discovery of the bacterium *Ideonella sakaiensis* in 2016, which breaks down PET packaging, is undoubted proof that the future is on the side of microorganisms.

Keywords: environmental microbiology, biotechnology, bioremediation, microbiological degradation, POPs, plastics

MICROORGANISMS AS KEY LINKS IN THE FLOW OF SUBSTANCES AND ENERGY IN ECOSPHERES

Srđan Miletić¹

¹ University of Belgrade - Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy

The most energy on Earth derives from radiant energy of the sun, which is transformed into chemical and mechanical energy. Energy links species, and flows through ecosystems because changing the energy available at one part of the food chain causes changes throughout the ecosystem.

Movements and transformations of elements and their compounds by biochemical activity of the ecosphere where they circulate with characteristic pathways between its abiotic and biotic parts are called biogeochemical cycles (BGCC). They include physical transformations, such as dissolution, precipitation, evaporation, and fixation, such as chemical changes, biosynthesis, biodegradation, redox reactions, and also various combinations of these changes. There are biogeochemical cycles for chemical elements, such as for carbon, hydrogen, nitrogen, oxygen, phosphorus, selenium, mercury, iron and sulfur.

Microorganisms play crucial role in the BGCC's though production, decomposition, and fixation of biogenic elements and compounds, as well as symbiotic relationships with other organisms.

Due to high diversity of microorganisms, their various metabolic and biosynthetic pathways and unpredictable number of compounds with the most diverse structures as well as functions of secondary metabolites microorganisms are applied in many aspects of human life: the decomposition of pollutants and toxic wastes (biodegradation or bioremediation of domestic, agricultural, and industrial wastes), the efficient utilization of limited natural resources (bioleaching) and transformations of chemical substances that can be used by other organisms.

Key words: Aquatic ecosystems, microorganisms, organic matter synthesis and decomposition

ECOLOGICAL ROLE OF MICROORGANISMS IN AQUATIC ECOSYSTEMS

Blažo Lalević¹

¹ University of Belgrade, Faculty of agriculture, Belgrade – Zemun, Serbia

BACKGROUND

Freshwater microorganisms are universally present in aquatic ecosystems and their ecological impact is of fundamental importance. The abundance and activities of the freshwater microorganisms are strongly influenced by their physical and chemical ecosystem properties. Although microbes play important role in the synthesis and decomposition of organic matter, food chain, and biogeochemical transformation of nutrients, they are also known as indicators of fecal contamination and agents of water quality deterioration. Autotrophic microbes are involved in organic matter formation via photosynthesis, while heterotrophic (primarily bacterial) in organic matter decomposition.

Freshwater organisms can be divided into two main groups: pelagic (present in the main body of water) and benthic organisms (present in the sediments). In aquatic ecosystems, microbial biomass mostly originated from algal development; algae are the most important primary producers in freshwaters.

Aquatic organisms may increase their abundance by natural processes and human activities. Human activities, such as the disposal of industrial wastewaters and agricultural waste, lead to eutrophication, which can be defined as an increase of nutrient content in aquatic ecosystems, causing the development of algae and macrophyte and deterioration of freshwaters quality. As a response to microbiological pollution, freshwaters have the ability of autoperification, which represents facultative oligotrophs/ heterotrophs ratio. Higher values of this parameter indicate the good autoperification ability of freshwaters.

Key words: Aquatic ecosystems, microorganisms, organic matter synthesis and decomposition

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

16. decembar 2021.

MIKROBIOLOGIJA ŽIVOTNE SREDINE

SOIL MICROORGANISMS AND AGROECOSYSTEM HEALTH

Jelena Jovičić-Petrović

Faculty of Agriculture, University of Belgrade

jelenap@agrif.bg.ac.rs

Modern society is dealing with serious global challenges including climate change, food insecurity, pollution, as well as loss of natural resources and biodiversity. Agroecosystem health ensures productivity and resilience of ecosystem services to various disturbances. The agroecosystem processes are based on the diversity of soil microbes as the main pillar of agricultural sustainability. Numerous ecosystem functions and services provided by soil microbes include nutrient cycling, bioremediation, climate regulation, soil formation, pest regulation, and providing plant resilience to environmental stress. Soil biodiversity is a source of beneficial microbes such as biofertilizers, biostimulators, bioremediation agents, and biopesticides, whose application in agriculture can help avoid and reduce pollution with improved crop yields at the same time.

While the application of microbial inoculants directly modulates the rhizosphere community, various agricultural practices (such as crop rotation and intercropping) increase diversity and recruit specific groups of beneficial microorganisms. Culture-independent techniques bring the possibility to access taxonomic diversity and community networks in agricultural soil as well as to develop tools for biodiversity monitoring. The development of modern techniques for biodiversity assessment is in the race with accelerated diversity loss. Pollution, soil erosion, acidification, and loss of soil organic matter are some of the main consequences of agricultural intensification. Nitrogen-fixing bacteria and mycorrhizal fungi represent the most studied beneficial microbes whose activity in soil is restricted by improper agricultural practices.

Preservation of above-ground diversity is not sufficient, and soil management strategies need to consider changes in the underground biodiversity.

Key words: agricultural sustainability, agroecosystem, ecosystem services, soil microbiome.

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

16. decembar 2021.

MIKROBIOLOGIJA ŽIVOTNE SREDINE

MIKROORGANIZMI I ZAGAĐUJUĆE SUPSTANCE U ŽIVOTNOJ SREDINI

Racić Gordana

Fakultet ekološke poljoprivrede, Univerzitet Edukons, Vojvode Putnika 87, Sremska Kamenica 21208, Srbija

Zagađujuće supstance u životnoj sredini predstavljaju svaku supstancu koja deluje štetno na ekosistem i remete fizičke, hemijske i biološke komponente životne sredine. Zagađivanje nastalo oslobađanjem zagađujućih supstanci u životnu sredinu (prirodnim ili antropogenim putem) može biti globalno i lokalno, čime narušava prirodnu ravnotežu nekog područja. Stoga dobro postavljen, kontinuiran monitoring, zasnovan na redovnom praćenju koncentracija zagađujućih supstanci predstavlja osnov državama za pravovremeno reagovanje i donošenje odluka u vezi sa stanjem životne sredine. Kako bi se poštovali principi održivog razvoja, u cilju smanjenja koncentracija zagađujućih supstanci predlažu se različite metode remedijacije za njihovo uklanjanje.

Metoda remedijacije koja koristi mikroorganizme ili neke njihove metabolite, poput enzima, za transformacije ili degradacije zagađujućih supstanci naziva se bioremedijacija. Biološkim tretmanom moguće je potpuno degradirati ili transformisati opasne organske zagađivače u bezopasne proizvode. Pored organskih zagađivača, ova metoda je primenjiva i na uklanjanje teških metala, kako iz zemljišta tako i iz voda i vazduha. Metode bioremedijacije dele se na in situ i ex situ. Za razliku od in situ tehnika koje se sprovode na samom mestu zagađenja, ex situ metode zahtevaju iskopavanje zagađenog zemljišta, transport i remedijaciju. Ono što je zajedničko za obe metode je neophodna karakterizacija mikroorganizama i njihova identifikacija, kako bi se utvrdili najpogodnija vrsta za uklanjanje zagađivača od interesa. Primena metagenomike, koja se zasniva na primeni savremenih tehnika u proučavanju mikrobioloških zajednica kao celine, polako se prevazilaze dugotrajne klasične metode kultivacije i identifikacije mikroorganizama.

Ključne reči: zagađenje, životna sredina, bioremedijacija, metagenomika

BIOTECHNOLOGY AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY

Vladimir Beškoski

University of Belgrade – Faculty of Chemistry, Department of Biochemistry

Environmental biotechnology is an important branch of biotechnology that addresses environmental challenges, such as the removal of pollution, generation of renewable energy and fine chemicals, obtaining metals in an environmentally friendly way, by exploiting biological processes. Environmental microorganisms play a central role in the biogeochemical cycles of elements on our planet, as well as in the interaction with numerous pollutants that can be found in the environment. Remediation is a term that is generally used for “cleaning” or restoration of a polluted place environment and can be done with more or less success by physical and/or chemical methods. Bioremediation is an essential branch of environmental biotechnology that involves the use of living organisms and/or their parts, primarily microorganisms, to remove pollutants, harmful and toxic substances, and even Persistent Organic Pollutants (POPs) from the soil, water, and sediment.

Reactions catalyzed by enzymes of microorganisms in bioremediation can produce additional biomass, metabolites, or, in the case of complete mineralization of organic compounds, inorganic products. The tremendous metabolic diversity and potential of certain microorganisms enable them to use substrates such as petroleum hydrocarbons as a source of carbon, which are “inedible” for many other organisms. The approach chosen by nature involves the biotransformation of the “inedible” to the conventional metabolic intermediates, which can then be available to a more significant number of organisms. In this way, by the action of microorganisms, hydrocarbons can be decomposed under aerobic and anaerobic conditions. Bioremediation involves the use of a microbial community (consortium) whose individual members have the broadest possible biodegradation abilities. The goal is to transform harmful substances into substances that do not have toxic effects on humans and the environment. Therefore, successfully conducted bioremediation enables the increase of biodiversity in the cleaned environment.

Environmental isolates can be also used for oxidative depolymerization of lignin into added-value compounds, such as phenolic monomers and/or dicarboxylic acids, which could be an excellent alternative to aromatic petrochemicals. Microorganisms can also be used for the production of renewable energy by utilizing agricultural waste. In this way, the amount of waste that would have to be treated is reduced, and the use of non-renewable fossil fuels is also reduced.

Microorganisms can also successfully interact with inorganic compounds. The ability to change the oxidative state of metals and thus make them more soluble or less soluble is now used to obtain important metals in biohydrometallurgical processes but also to remove heavy metals from the environment.

In addition, the use of microorganisms in agriculture has become a central part of organic and sustainable food production in the last decade. Today, it is clear that the probiotic role of microorganisms in agriculture is much greater than nitrogen fixation only.

Reference:

D.A. Vallero, Environmental Biotechnology: A Biosystems Approach, Academic Press, 2015

'21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

16. decembar 2021.

MIKROBIOLOGIJA ŽIVOTNE SREDINE

IZOLATI IZ PRIRODNOG OKRUŽENJA KAO AKTIVNE KOMPONENTE BIOKONTROLNIH PREPARATA

Vanja Vlajkov

Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija

Ključne reči: biološka kontrola, Bacillus, bioproces, scale up

Porast globalne svesti o negativnim posledicama konvencionalne poljoprivredne prakse koja se oslanja na primenu sintetski dobijenih preparata za zaštitu bilja, uslovio je rastući trend interesovanja za biopesticide. Segment industrije biopesticida sa najvećem stopom rasta na svetskom tržištu, odnosi se na preparate koji sadrže mikroorganizme i proizvode njihovog metabolizma kao aktivne komponente. Razvoj mikrobioloških preparata direktno je uslovljen dostupnošću potentnog izolata kao kandidata za primenu u rešavanju problema konkretnog biljnog oboljenja, što upućuje na značaj prvog koraka razvoja bioprocesnog rešenja odnosno odabir odgovarajućeg biokatalizatora. Izolate iz prirodnog okruženja, s akcentom na predstavnike roda Bacillus, pored primarnog efekta suzbijanja fitopatogenih vrsta, karakteriše svojstvo ispoljavanja niza benefičnih uticaja na biljnu proizvodnju, što ih ujedno i čini prvim izborom kao ključnih činilaca bioprocesnih rešenja za proizvodnju mikrobioloških biopesticida. Pored fokusa na biološke aspekte potencijalnog biokontrolnog agensa, razvoj preparata podrazumeva struktuiranu evaluaciju tehničkih aspekata proizvodnje, mogućnosti formulacije i komercijalnih kriterijuma plasmana na tržište. Detaljno razmatranje i optimizacija pojedinačnih faza biotehnološkog postupka proizvodnje imaju za cilj definisanje parametara okruženja, koji će omogućiti ispoljavanje maksimalne efikasnosti odabranog proizvodnog mikroorganizma. Imperativ je kreirati skalabilno bioprocesno rešenje primenjivo u uslovima proizvodnje koja nadmašuje laboratorijske kapacitete i stvoriti uslovi za komercijalizaciju preparata i izlazak na tržište.



SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

16. decembar 2021.

MIKROBIOLOGIJA ŽIVOTNE SREDINE

MULTIFUNKCIONALNOST BAKTERIJSKIH IZOLATA SA BIOKALCIFIKUJUĆIM POTENCIJALOM

MULTIFUNCTIONALITY OF BACTERIAL ISOLATES WITH BIOCALCIFIFYING POTENTIAL

Olja Šovljanski^{1*}, Ana Tomić¹, Siniša Markov¹

1 Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, 21 000 Novi Sad, Srbija

* oljasovljanski@uns.ac.rs

U odigravanju biokalcifikacije, procesa stvaranja karbonatnog depozita u prirodi, jednu od najznačajnijih uloga imaju bakterije sa biokalcifikujućim potencijalom. Sporogene, alkalofilne ili alkalorezistentne bakterije imaju mogućnost da u gotovo svim ekosistemima izazovu proces nazvan bakterijski indukovana precipitacija karbonata (BIPK). Tokom ovog procesa dolazi do hemijske precipitacije ekstracelularno produkovanih karbonatnih jona i akumuliranih kalcijumovih jona u sistemu. Značaj ovog procesa se ogleda u potencijalu inženjerske primene u različitim oblastima biotehnologije, kako u uklanjanju neorganske materije u prirodi, tako i u dobijanju precipitata sa komercijalnim potencijalom. Bakterije sa biokalcifikujućim potencijalom mogu da indukuju precipitaciju različitim metaboličkim putanjama, pod aerobnim, mikroaerofilnim ili anaerobnim uslovima u ekosistemima u kojima je pojava kalcijum karbonata neizbežna. Izučavanjem ponašanja bakterijskih ćelija sa biokalcifikujućim potencijalom i njihovog okruženja u toku BIPK, uočavaju se razlike u sakupljanju karbonatnih kristala i formiranja precipitata određene faze i morfologije. Takođe, multifunktionalnost bakterijskih izolata BIPK ogleda se i kroz dodatnu ulogu bakterije u ovom procesu, a odnosi se na doprinos fizičkih predispozicija pojedinačnih ćelija i karakteristika ćelijskih površina. Iz tog razloga, ovim istraživanjem je prikazan specifičan postupak definisanja multifunktionalosti sporogenih i alkalorezistentnih/alkalofilnih predstavnika bakterijske populacije kalcitnih zemljišta sa aspekta višestruke uloge ćelija u procesu bakterijski indukovane precipitacije karbonata.

Cljučne reči: Bacillus; Sporosarcina; bakterijski indukovana precipitacija karbonata; ureoliza;

Zahvalnica: Rezultati istraživanja prikazani u ovom radu su deo Programa finansiranja od strane Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije (ugovorni br. 451-03-68/2021-14/200134).

21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

AKTUELNE
MIKROBNE
INFEKCIJE

15 - 16. oktobar 2021.

SIMPOZIJUM

PRODUKCIJA
BIOFILMA

Rizik za nastanak Intra-hospitalnih
infekcija i problem higijene
u proizvodnji i distribuciji hrane.

26. novembar 2021.

SIMPOZIJUM

MIKROBIOLOGIJA
ŽIVOTNE SREDINE

16. decembar 2021.

SPONZOR

ProMedia
Specialists In Laboratory Supplying



Labena



21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

AKTUELNE MIKROBNE INFEKCIJE

15 - 16. oktobar 2021.

SIMPOZIJUM

PRODUKCIJA BIOFILMA

Rizik za nastanak Intra-hospitalnih
infekcija i problem higijene
u proizvodnji i distribuciji hrane.

26. novembar 2021.

SIMPOZIJUM

MIKROBIOLOGIJA ŽIVOTNE SREDINE

16. decembar 2021.

PLATINASTI SPONZOR

BIOMÉRIEUX

21

SERIES
UMS



SIMPOZIJUM

AKTUELNE
MIKROBNE
INFEKCIJE

15 - 16. oktobar 2021.

SIMPOZIJUM

PRODUKCIJA
BIOFILMA

Rizik za nastanak Intra-hospitalnih
infekcija i problem higijene
u proizvodnji i distribuciji hrane.

26. novembar 2021.

SIMPOZIJUM

MIKROBIOLOGIJA
ŽIVOTNE SREDINE

16. decembar 2021.

ORGANIZATOR



www.nb.rs | 86.cp6



ISBN-978-86-914897-7-9

MANAGEMENT COORDINATOR

ARIA^{one}®
Since 1996
Conference & Consulting