

O REĐIM UZROČNICIMA MASTITISA KRAVA - *Serratia marcescens* -

Milanov Dubravka¹, Prunić Bojana¹, Košarčić
Slavica¹, Potkonjak Aleksandar²

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

²Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad

Kratak sadržaj

Serratia marcescens je smatrana saprofitskom bakterijom iz životnog okruženja i tek više decenija nakon otkrića je prepoznata kao uzročnik bolesti biljaka i širokog spektra beskičmenjaka i kičmenjaka. Svrstana je u važne humane patogene, odgovorna je za niz slučajeva bolničkih infekcija, a zbog sve učestalije rezistencije na više klasa antibiotika, postaje rastući problem u očuvanju javnog zdravlja. Kod mlečnih krava *S. marcescens* izaziva uglavnom subkliničke mastitise hroničnog toka, po čemu se bitno razlikuje od koliformnih uzročnika, pa i drugih bakterija iz familije *Enterobacteriaceae*. Inficirane krave retko pokazuju lokalne, a još ređe sistemske znake infekcije, ali mesecima, pa čak i godinama izlučuju mlekom ovu bakteriju i predstavljaju izvor infekcije za druge jedinke u zapatu. Iako pripada uzročnicima mastitisa poreklom iz životnog okruženja, *S. marcescens* može da se prenese sa krave na krave i tokom muže. Tretman antibioticima je uspešan u malom broju slučajeva. Većinu izolata *S. marcescens* iz životnog okruženja karakteriše produkcija crvenog pigmenta - prodigiozina, čija je uloga u fiziologiji bakterija nepoznata. Ovaj sekundarni metabolički produkt *S. marcescens* predmet je brojnih istraživanja u oblasti farmacije i bioinženjeringa, zbog njegovog antibakterijskog, antifungalnog, antiprotozoalnog (antimalaričnog) dejstva i njegove imunomodulatorne i antikancerogene aktivnosti.

Ključne reči: *Serratia marcescens*, mastitis, prodigiozin

¹ E mail: dubravka@niv.ns.ac.rs

LESS COMMON AETIOLOGICAL AGENT OF BOVINE MASTITIS

- *Serratia marcescens* -

Milanov Dubravka¹, Prunić Bojana¹, Košarčić
Slavica¹, Potkonjak Aleksandar²

¹Scientific Veterinary Institute „Novi Sad“, Novi Sad

²Faculty of Agriculture, Department of Veterinary Medicine, Novi Sad

Abstracts

Serratia marcescens was considered originally a saprophytic bacteria in the environment, and many decades after the discovery it was actually recognized as a pathogen of plants and a wide range of invertebrates and vertebrates. It has been identified as an important human pathogen that causes a number of hospital-acquired infections. Due to the increase of resistance to a variety of antibiotics, the bacteria is recognized as *an important public health* issue. *S. marcescens* causes subclinical, chronic mastitis in dairy cows, which makes it significantly different from other members of *Enterobacteriaceae* family, such as coliform bacteria. In infected cows clinical signs are mostly mild, but for months, or even years, the bacteria is secreted in milk and infection of other cows in the herd may occur via the milking system. The antibiotic treatment of mastitis caused by *S. marcescens* is considered less efficient. Most isolates of *S. marcescens* from the environment are characterized by a production of red pigment - prodigiosin, with the unknown function in bacterial physiology. This secondary metabolic product of *S. marcescens* is the subject of research in the field of pharmacy and bioengineering, because of its antibacterial, antifungal, antiprotozoal (antimalarial) and immunomodulatory effects, as well as anticancer activities.

Key words: *Serratia marcescens*, mastitis, prodigiosin

Godinama unazad *Serratia marcescens* je samo sporadično izolovana iz mleka krava sa mastitisom na farmama našeg epizootiološkog područja. Prethodne godine, ova bakterija je izolovana iz 21 od ukupno 350 uzoraka mleka sa jedne farme mlečnih krava holštajn-frizijske rase u Vojvodini. Neposredno podstaknuti ovim zapažanjem, u priči koja sledi, podsećamo stručnu javnost na ovu bakteriju i neke manje ili više poznate činjenice o njoj.

Istorijat

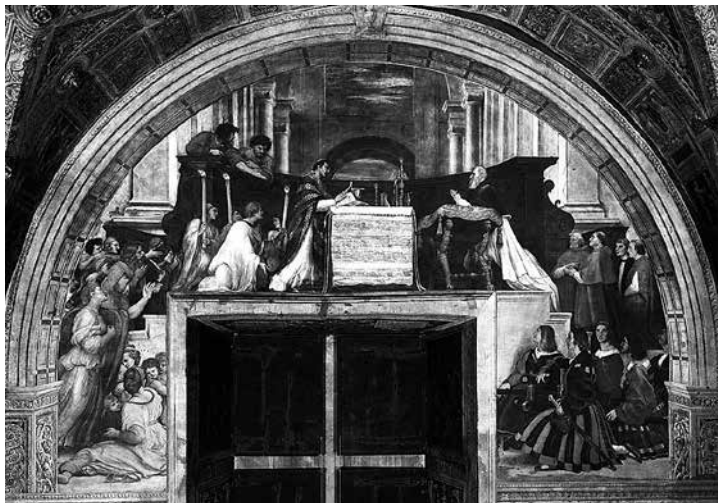
S. marcescens je otkrio 1819. godine italijanski farmaceut Bartolomeo Bizio (Slika. 1), a četiri godine kasnije dao joj naziv „*Serratia*“ u čast Serafino Serrati, italijanskog fizičara koji je izumeo parobrod, i „*marcescens*“ od latinskog glagola koji označava „propadanje“, zbog nestajanja tamno ružičastog do crvenog pigmenta ove bakterije u subkulturama. Ehrenberg joj je 1848. godine promenio naziv u *Monas prodigiosus* („čudesna bakterija“), a on je kasnije modifikovan u *Bacillus prodigiosus*. Od 1920. godine vraćen joj je prvobitni naziv (Wikipedia: *Serratia_marcescens*).



Slika 1. Bartolomeo Bizio
(30.10.1791-27.09.1862)

S. marcescens je ubikvitarna u prirodi i uobičajeno se može naći u zemljištu, vodi, vazduhu, biljkama, životinjama i hrani. Namirnice sa visokim sadržajem skroba su odlična sredina za život ove bakterije, a rast se zapaža i pri čuvanju namirnica na niskim temperaturama. Još je u 6. veku pre nove ere Pitagora zapazio crvenu tečnost „koja izlazi iz hleba“, a u preko 35 istorijskih zapisa opisana je pojava „Isusove krvi“ na hlebu tokom pričešća. Impresivno crvene kolonije *S. marcescens*, nalik kapljicama krvi, danas su naučno objašnjenje za „pretvaranje hleba u Isusovo telo“, što je vekovima bio predmet religioznih zabluda i ushićenja verenika. Jedan takav događaj iz 1263. godine Rafael

je prikazao na fresci *Mass at Bolsena* Arhijerejske palate u Vatikanu (Slika 2). U čast tog čudesnog događaja, Papa Urban IV je 1624. godine ustanovio „Priznik tela Hristovog“.



Slika 2. The Mass at Bolsena, freska, 1512

Raphael Sanzio (Italian: Raffaello, 1483 – 1520) Apostolska Palata, Vatikan, Italija
http://allart.biz/photos/image/Raphael_21_The_Mass_at_Bolsena.html

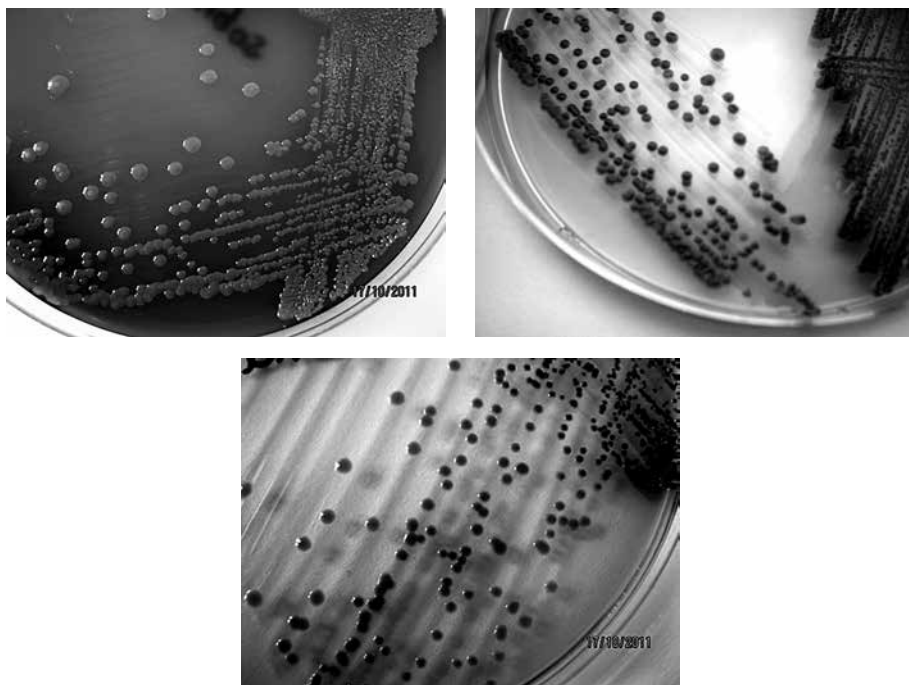
Do sredine 50-tih godina prošlog veka *S. marcescens* je smatrana saprofitskom bakterijom iz životnog okruženja, pa je zbog pigmentisanih, a time i lako prepoznatljivih kolonija često korišćena u eksperimentima kao biološki marker. U ogledima o značaju pranja ruku, ruke su potapane u suspenziju *S. marcescens*, nakon čega je dokazivano njeno prenošenje rukovanjem sa osobe na osobu. Američka mornarica je 26. i 27. septembra 1950. godine sprovedla eksperiment pod nazivom „*Operation Sea-Spray*“ gde je *S. marcescens* ispuštena u vazduh iznad zaliva San Francisco u naseljenim oblastima. Iako je vojska tvrdila da je reč o bakteriji bezopasnoj za ljudsko zdravlje, narednih dana u lokalnoj bolnici ustanovljen je porast broja respiratornih infekcija (pneumonija) i jedanaest slučajeva ozbiljnih infekcija urinarnog trakta (sa jednim smrtnim ishodom) (Wikipedia: *Serratia marcescens*).

Taksonomija, izolacija i identifikacija

Serratia spp. su gram negativne štapičaste bakterije (0,5-0,8 x 0,9-2,0 µm) iz familije *Enterobacteriaceae*. Katalaza su pozitivne, oksidaza negativne, veoma pokretne, zahvaljujući peritrihno raspoređenim flagelama. Deset vrsta se

trenutno nalazi u rodu *Serratia*: *S. marcescens*, *S. entomophila*, *S. ficaria*, *S. fonticola*, *S. grimesii*, *S. liquefaciens*, *S. odorifera*, *S. plymuthica*, *S. proteamaculans* i *S. rubidaea*. Sve vrste, osim *S. fonticola* hidrolizuju DNK, lipide i proteine (želatin, kazein) (Grimont i Grimont, 2005).

S. marcescens raste lako na standardnim laboratorijskim podlogama kao što su krvni i *MacConkey* agar u aerobnim i anaerobnim uslovima, na temperaturama od 4-40°C, u opsegu pH vrednosti od 5 do 9 (Slika 3). Sojevi koji ne proizvode pigment veoma su slični drugim članovima familije *Enterobacteriaceae*. Postoji više tipova diferencijalnih i selektivnih podloga za izolaciju *Serratia* vrsta, a *Capryllate Thallous* (CT) agar smatra se najboljom.



Slika 3: Kolonije *Serratia marcescens* na krvnom, *MacConkey* i neutralnom agaru (inkubacija na sobnoj temperaturi) (dr Dubravka Milanov, NIV-NS)

S. marcescens proizvode ekstraselularne hitinaze, više proteaza, nukleaza i lipaze (Hines i sar., 1988). Fermentuje saharozu i glukozu uz produkciju gasa (<10% Durhamove cevčice). Redukuje nitrate, koristi citrate kao izvor ugljenika, a proizvode i želatinaze koje rastapaju želatin na temperaturama ispod 25°C. Svi izolati *S. marcescens* su laktoza negativni, metil-red negativni i Voges-Proskauer pozitivni. Interesantno je da API 20E sistem korektno iden-

tifikuje samo 85% izolata *S. marcescens* (Hejazi i Falkiner, 1997). Zbog sposobnosti ove bakterije da oksidiše arabinozu u API sistemu, arabinoza pozitivni sojevi *S. marcescens* se identifikuju kao *S. liquefaciens* (Hejazi i Falkiner, 1997). Skoro svi sojevi *S. marcescens* produkuju jedan citotoksin (ShlA) koji izaziva lizu eritrocita ljudi i životinja.

Kod *S. marcescens* je opisano 28 somatskih antigena (O1 do O28) i 25 flagelarnih antigena (H1 do H25). Predložena je dalja podela antigena O5 (u O5a, O5b, O5c), O10 (u O10a, O10b) i O16 (u O16a, O16b, O16c, O16d) (Grimont i Grimont, 2005).

Pigment *S. marcescens* - prodigiozin

Crvene pigmente sintetišu različite bakterije iz rodova *Actinomyces*, *Streptomyces* i *Serratia*. Pigment *S. marcescens*, prodigiozin, prvi je izolovao i opisao Kraft 1902. godine, a ovaj pigment je izolovan i iz drugih vrsta bakterija kao što su: *Serratia plymuthica*, *Serratia rubidaea*, *Pseudomonas magnisorubra*, *Hahella chejuensis*, *Vibrio gazogenes* i *Vibrio psycroerythreus* (Mekhael i Yousif, 2009). Neki sojevi *S. marcescens* koji pripadaju biotipu A4a mogu sintetisati *pyrimine*, rastvorljivi rozi pigment, a opisan je i žuti rastvorljivi pigment kod sojeva *S. marcescens* koji pripadaju biotipu A8a i koji su izolovani samo iz urina ljudi (Trias i sar., 1988). Žuti pigment je primarni metabolit uključen u katabolizam aromatičnih jedinjenja *S. marcescens* (Trias i sar., 1988).

Prodigiozin sintetišu sojevi *S. marcescens* koji pripadaju biogrupama A1 i A2/6 i većina sojeva *S. plymuthica* i *S. rubidaea* (Grimont i Grimont, 2005). Prodigiozin je linearni tripirol ($C_{20}H_{25}N_3O$) male molekulske težine čija se biosinteza odvija u ćelijama stacionarne faze rasta. Biosinteza prodigiozina je račvast proces tokom kojeg se odvojeno sintetišu komponentne tripirola: mono i bipirol. Prodigiozin nije neophodan za primarni metabolizam rasta i umnožavanja bakterija, pa se smatra sekundarnim metabolitom čija funkcija u ćelijskoj fiziologiji nije poznata. Pretpostavka je da ima ulogu u disanju bakterija, a postoji i stav da u prirodnim uslovima on povećava hidrofobnost ćelijske površine bakterija, što doprinosi njihovoj rasprostranjenosti u prirodi. Pigment je vezan za unutrašnju membranu ćelije i nerastvorljiv je u vodi (Vinas i sar., 1983).

Većina izolata *S. marcescens* poreklom iz životnog okruženja je pigmentirana, dok najveći broj kliničkih izolata ne produkuje pigment (Hejazi i Falkiner, 1997; Carbonell i sar., 2000). Postoji interesantna hipoteza po kojoj *S. marcescens* limitira sintezu prodigiozina u organizmu domaćina, jer on deluje kao antigen koji pokreće ćelijski i humoralni imunski odgovor. Od ukupno 938 sojeva *S. marcescens* izolovanih tokom deset godina iz uzoraka sputuma,

briseva rana, konjunktiva i urina pacijenata, kao i sa površina pomoćnih medicinskih uređaja (katetera) u bolnicama, 32 (3,4%) su proizvela pigment (Carbonell i sar., 2000). Smatra se da hromogeni biotipovi retko izazivaju infekcije (Venil i Lakshmanaperumalsamy, 2009) i da su osetljiviji na antibiotike u odnosu na nepigmentirane sojeve (Carbonell i sar., 2000).

Na biosintezu prodigiozina utiče temperatura inkubacije, sastav podloge, koncentracija raspoloživog kiseonika i pH vrednost. Maksimalna produkcija prodigiozina zapaža se umnožavanjem bakterija u hranljivom bujonu na pH8 i na temperaturi od 28°C - 30°C (Venil i Lakshmanaperumalsamy, 2009; Mekhael i Yousif, 2009). Sintaza pigmenta je inhibirana inkubacijom u anaerobnim uslovima i na temperaturi od 37°C (Carbonell i sar., 2000; Grimont i Grimont, 2005). Prodigiozin je osetljiv na svetlost. Antibiotici, kao što su cefoksitin, eritromicin, tobramicin, co-trimoksazol, imipenem i nitrofurantoin inhibiraju sintezu prodigiozina kod izolata *S. marcescens* iz urina (Ang-Kucuker i sar., 2000). Kumarinska komponenta ekstrakta korena biljke *Ferula persica* pokazuje inhibitorni efekat na produkciju prodigiozina (Iranshahi i sar., 2004). Članovi roda *Ferula* su široko rasprostranjeni u centralnoj Aziji, a koren ove biljke se u tradicionalnoj medicini Irana koristi u terapiji šećerne bolesti.



Slika. 4: Uticaj temperature inkubacije na sintezu prodigiozina *S. marcescens* (inkubacija 5 dana u hranljivom bujonu na 28°C (levo) i 37°C (desno) (dr Dubravka Milanov, NIV-NS))

Brojna istraživanja su pokazala raznovrsne efekte prodigiozina: antifungalno, antibakterijsko, algicidno, antiprotazoalno (antimalarično) dejstvo, imunomodulatornu (imunosupresivnu) i antikancerogenu aktivnost (D'Alessio i

sar., 2000; Mekhael i Yousif, 2009; Han i sar., 2001; Kavitha i sar., 2010). Antibakterijsko delovanje prodigiozina izraženije je *in vitro* prema gram-pozitivnim bakterijama (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus avium* i *Streptococcus pyogenes*) u odnosu na gram-negativne (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Proteus mirabilis* i *Klebsiella pneumoniae*) (Mekhael i Yousif, 2009). Smatra se da je ova aktivnost prodigiozina rezultat njegove sposobnosti da prođe kroz membranu i inhibira ciljne enzime kao što su DNK giraza i topoizomeraza IV, što inhibira rast bakterija (Mekhael i Yousif, 2009). Soj *S. marcescens* NCTC 10211 pokazuje inhibitorni efekat na *Helicobacter pylori*, uzročnog agensa ulkusa želuca. Buduća istraživanja komponente koja pokazuje ovaj inhibitorni efekat omogućava razvoj novih lekova u terapiji gastričnog ulkusa.

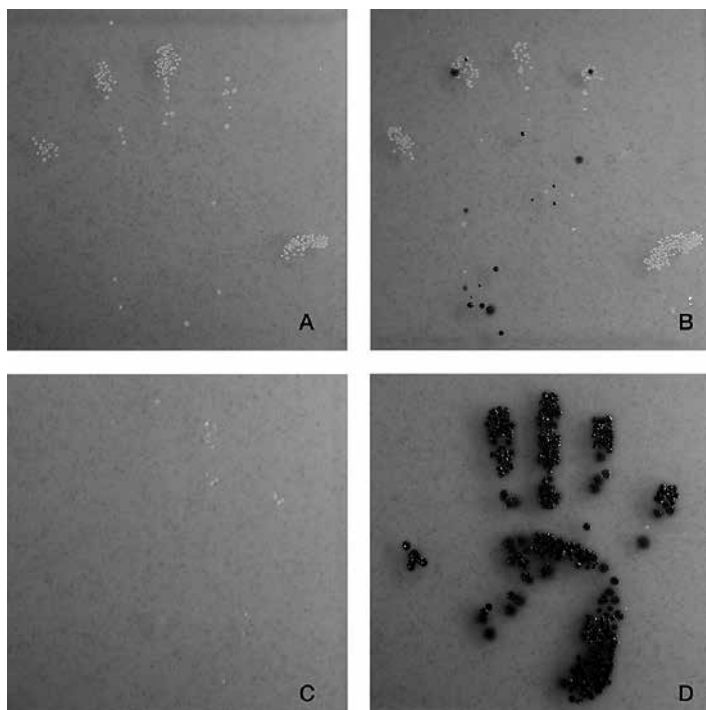
Prodigiozin je i kandidat u terapiji malignih oboljenja. *In vitro* je ispitana njegova citotoksična moć na kulturama humanih tumorskih ćelija (pluća, kolona, bubrega, jajnika, mozga, melanoma i leukemije) indukcijom ćelijske smrti (apoptoze) i inhibicijom ćelijske proliferacije (Venil i Lakshmanaperumalsamy, 2009). U zavisnosti od doze, prodigiozin pokazuje snažno antikanцерogeno i apoptotično delovanje na ćelije humanog karcinoma grlića materice (Hela-229 linija ćelija) (Kavitha i sar., 2010). Dokazan je i imunosupresivni efekat prodigiozina na proliferaciju T-limfocita i istražuju se mogućnosti njegove primene u terapiji autoimunih bolesti (Han i sar., 2001). Prodigiozin se smatra i biološkim kontrolnim agensom protiv štetnih algi u moru (Venil i Lakshmanaperumalsamy, 2009).

S. marcescens kao uzročnik bolesti

S. marcescens je uzročnik bolesti ljudi, životinja, biljaka i insekata. Vodom za piće i različitim namirnicama ova bakterija dospeva u digestivni trakt ljudi, ali nije uobičajeni deo crevne mikroflore i unošenje hranom ili vodom rezultira prolaznom kolonizacijom sluzokože orofaringealne regije i debelih creva, bez znakova infekcije. Smatra se da prvi klinički izveštaj o infekciji izazvanoj *S. marcescens*-om datira iz 1913. godine, kada je opisan slučaj jednog pacijenta sa bronhiektazijom i krvavim sputumom. Mikroskopskim pregledom sputuma nije otkriveno prisustvo eritrocita, ali su zapažene brojne gram-negativne bakterije. Za ovaj sindrom ustanovljen je naziv pseudohemoptoza. Kod ljudi *S. marcescens* izaziva septikemije, meningitis, pneumonije, infekcije rana i urinarnog trakta, a infekcije su često i letalne (Hejazi i Falkiner, 1997). Opisane su i infekcije očiju, osteomijelitis, septični artritis, infekcije mekih tkiva i kože, cerebralni apsces, endokarditis i infekcije dojki kod žena posle porođaja. *Serratia marcescens* je veoma značajan patogen u neonatalnoj intenzivnoj nezi i kod

novorođenčadi može izazvati teške infekcije (meningitis, pneumonije, bakterijemije) praćene visokim morbiditetom i mortalitetom. Od šezdesetih godina prošlog veka, *S. marcescens* je svrstana u značajne uzročnike bolničkih infekcija, a njihov broj je u poslednje tri decenije u stalnom porastu. Intervencije sa visokim rizikom uključuju kateterizacije, lumbalnu punkciju, peritonealnu dijalizu, hirurške zahvate i tretman opekotina, a dugotrajna terapija antibioticima takođe povećava rizik od infekcije.

Rastvori za parenteralnu primenu mogu biti kontaminirani sa *S. marcescens*. Smatra se da su bakterijemije (sa devet smrtnih ishoda) kod 19 bolničkih pacijenata u *Alabama hospital* 2011. godine, direktna posledica primene infuzionih rastvora kontaminiranih *S. marcescens* (<http://www.myfoodpoisoninglawyer.com>). Zabeleženi su i slučajevi infekcija ljudi transfuzijom kontaminirane krvi ili komponenata krvi (Hejazi i Falkiner, 1997). *S. marcescens* je u stanju da preživi i raste u sapunu, dezinficijensima, antisepticima i destilovanoj vodi (Hejazi i Falkiner, 1997). Takođe može kontaminirati meka očna sočiva.



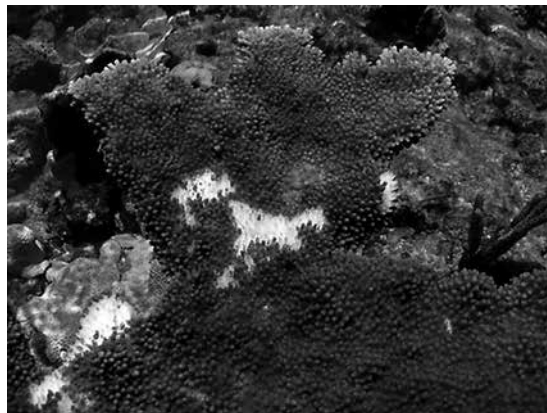
Slika. 5. Kontrolisana studija o broju bakterija na rukama (pritisak na površinu agar-a) pre (A i C) i posle (B i D) pranja ruku sapunom koji sadrži 4,51 log₁₀ CFU/mL (A i B) i 7,51 log₁₀ CFU/mL (C i D) *S. marcescens*

<http://aem.asm.org/cgi/content-nw/full/77/9/2898/F1>

Tretman infekcija kod ljudi može biti težak zbog otpornosti ove bakterije na antibiotike, kao što su ampicilin, tetraciklini, prva i druga generacija cefalosporina. Pojedini izolati *S. marcescens* su rezistentni na aminoglikozide (Coria-Jimenez i Ortiz-Torres, 1994) i ciprofloksacin (Körner i sar., 1994). *S. marcescens* poseduje R faktore, specifičan tip plazmida za koje su vezani jedan ili više gena odgovornih za rezistenciju na antibiotike. Otpornost *S. marcescens* na lekove odnosi se i na aktivnost efluks pumpi. Jedna od prvih opisanih je SdeXY, koja redukuje osetljivost ove bakterije na eritromicin, tetraciklin, norfloksacin, benzalkonijum-hlorid, etidium-bromid, akriflavin i rodamin 6G (James i Sherman, 2005).

U veterinarskoj medicini *Serratia marcescens* je od značaja kao uzročnik mastitisa i infekcija reproduktivnog trakta krava, mastitisa ovaca (Tzora i Fthenakis, 1988), septikemije pilića, a postoji nekoliko izveštaja o infekcijama konja, septikemiji koza, infekcijama egzotičnih ptica i sistemskim infekcijama pasa i mačaka (Das i sar., 1988). Seme bikova može biti izvor infekcije za krave (Das i sar., 1988). *S. marcescens* izaziva infekcije i kod guštera i kornjača (gastroenteritis).

Tokom poslednjih 10 godina u vodama oko obale Floride i u Karipskom moru, nestalo je 90% jedne vrste korala (*Acropora palmata*) zbog bolesti nazvane „bele boginje“ (Slika 6). Bolest je opisana prvi put 1996. godine, a od 2002. je poznato da je uzročnik ove bolesti *S. marcescens* poreklom iz neobrađenog fekalnog otpada humanog porekla (Patterson i sar., 2002). Genetske analize su potvrdile da je soj koji izaziva bolest poreklom iz kanalizacije, a ne iz životnog okruženja ili životinja. Veštačka infekcija humanim sojem *S. marcescens* izazvala je ovu bolest korala za 4-5 dana. Tako je *Serratia marcescens* do danas jedina poznata bakterija poreklom od ljudi koja je uzročnik bolesti okeanskih beskičmenjaka.



Slika 6: „Bele boginje” korala (James W. Porter, University of Georgia)

<http://green.blogs.nytimes.com/2011/08/18/in-the-first-known-case-human-bacteria-kills-coral/>

***S. marcescens* kao etiološki agens mastitisa mlečnih krava**

Do 50-tih godina prošlog veka, *S. marcescens* nije bila poznata kao uzročnik mastitisa mlečnih krava (Barnum i sar., 1958). Danas se zna da mastitis krava mogu izazvati različite vrste iz roda *Serratia*: *S. marcescens*, *S. rubidea* i *S. liquefaciens*, a *S. marcescens* se načešće izoluje (Todhunter i sar., 1991; Bannerman i sar., 2004). Udeo *Serratia* vrsta u etiologiji infekcija mlečne žlezde izazvanih Gram negativnim bakterijama, iznosi oko 9-12% (Bannerman i sar., 2004). Najčešće je broj krava sa *Serratia* mastitisom u zaptima mali, ali prevalenca u pojedinim slučajevima može biti veća od 20% (Di Guardo i sar., 1997). Širenju infekcije doprinosi neblagovremeno otkrivanje inficiranih jedinki koje izlučuju bakterije mlekom i kontaminiraju životnu sredinu, opremu i pribor za mužu.

Izvori infekcije sa *S. marcescens* su raznovrsni, zbog rasprostranjenosti ove bakterije u životnom okruženju, ali se uzročnik može preneti sa krave na kravu i opremom i priborom za mužu (Isaksson i Holmberg, 1984). Ukoliko je infekcija raširena u zapatu, važno je utvrditi njen izvor i uraditi tipizaciju izolovanih sojeva. Identifikacija jednog soja ukazuje na kontagiozni karakter infekcije ili dominaciju jednog soja u okruženju, dok potvrda različitih sojeva *S. marcescens* ukazuje na više različitih izvora. Često izvor infekcije ostane neutvrđen, uprkos ispitivanjima okruženja i opreme za mužu (Wilson i sar., 1990; Ruegg i sar., 1992).

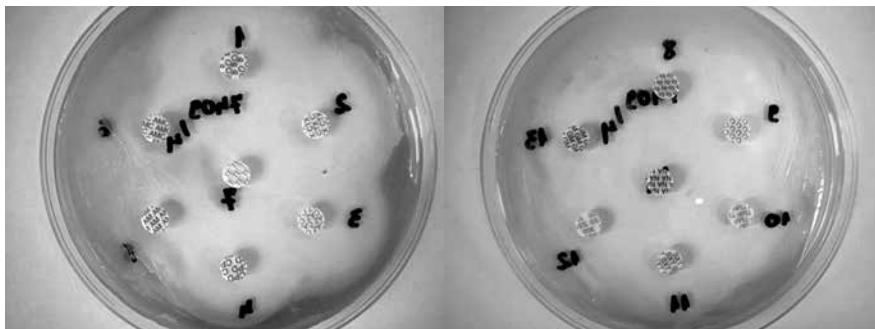
Serratia vrste dospevaju u vime tokom laktacije i u periodu zasušenja (Todhunter i sar., 1991; Ruegg i sar., 1992). U periodu zasušenja, umnožavanju bakterija u mlečnoj žlezdi doprinosi njihov efikasan sistem za deponovanje gvožđa. Krave na početku laktacije imaju nešto veći rizik od nastanka *Serratia* mastitisa zbog stresa i imune supresije karakteristične za postpartalni period. Krave sa visokom mlečnošću nisu pod većim rizikom od nastanka infekcije.

Trajanje i težina kliničkih manifestacija mastitisa izazvanih Gram-negativnim bakterijama, zavisi od sposobnosti imunskog sistema (pre svega neutrofilnih granulocita) da blagovremeno prepozna i ukloni patogene. Neki sojevi *Serratia* produkuju potentan citotoksin specifičan za leukocite, koji im omogućava zaštitu od fagocitoze. Najčešće infekcije rezultiraju blagim, subkliničkim mastitisom sa promenama u boji i konzistenciji mleka (pahuljice i ugrušci) (Di Guardo i sar, 1997; Ohnishi i sar., 2011; Pinzon-Sanchez i Ruegg, 2011). Klinički slučajevi mastitisa uglavnom nisu praćeni sistemskim znacima infekcije, što ih bitno razlikuje od infekcija izazvanih koliformnim bakterijama. Kod veštačke intramamarne infekcije jedne četvrti vimena, zabeležen je prolazni porast telesne temperature, porast broja somatskih ćelija (prvenstveno neutrofila) i smanjenje mlečnosti prvog dana posle infekcije (Bannerman i sar., 2004). Infekcija je izazvala samo kratkotrajno, prolazno povećanje nivoa

IL8 i C5a u mleku. Porast koncentracije IL8 u mleku kod infekcije sa *S. marcescens*, sličan je onim ustanovljenim kod infekcije sa *E. coli* (Shuster i sar., 1997). Infekcije mlečne žlezde sa *S. marcescens* uglavnom traju više meseci, prosečno duže od 160 dana (Bannerman i sar., 2004). Histološki se zapaža nepurulentni mastitis, proliferacija fibroznog tkiva u hroničnom toku i hiperplastični limfadenitis supramamarnih limfnih čvorova (Di Guardo i sar., 1997).

Među izolatima *S. marcescens* iz mleka krava sa mastitisom dominantni serotipovi su O6 i O5 (Ohnishi i sar., 2011). Većina sojeva ovih serotipova proizvodi pigment, a serotip O6 je najčešći u životnom okruženju. Istraživanja potvrđuju da većina izolata *S. marcescens* iz mleka krava sa mastitisom potiče iz životine sredine, kao i da se oni razlikuju od humanih kliničkih izolata po osetljivosti na antibiotike i fenotipskim karakteristikama. Početkom devedesetih godina, među humanim izolatima *S. marcescens* i *Pseudomonas aeruginosa*, ustanovljeni su sojevi koji proizvode plazmidski posredovane imipenimaze (plazmid-mediated imipenemase (IMP)-1) tip *metallo-β-lactamase* (MBL), ali ovakvi sojevi nisu izolovani iz mleka krava sa mastitisom (Ohnishi i sar., 2011).

Naši izolati *S. marcescens* pokazali su dobru osetljivost na gentamicin (10 µg), trimetoprim-sulfametoksazol (1,25/23,75 µg), cefalosporine (cefprozime 10 µg; ceftazidime 30 µg; cefotaxime 30 µg), ciprofloksacin (5µg), hloramfenikol (30 µg), nalidiksičnu kiselinu (30 µg), streptomycin (10 µg) i sulfonamide (300 µg) i rezistenciju na penicilin (10µ), ampicilin (10 µg), amoksicilin-klavulonsku kiselinu (20/10µg) i tetraciklin (30µg) (Slika 7).



Slika 7. Osetljivost *S. marcescens* na antibiotike
(izolat iz mleka krave sa mastitisom, dr Dubravka Milanov, NIV-NS)

I pored toga što su izolati *S. marcescens* iz mleka krava uobičajeno osetljivi *in vitro* na antibiotike, njihova primena u terapiji mastitisa ne daje zadovoljavajuće rezultate i nije preporučljiva. Znaci poboljšanja se mogu zapaziti, ali je to stanje uglavnom privremeno, a uspeh terapije manji od 14% (<http://ahdc.vet.cornell.edu>). Postoje izveštaji o ograničenom uspehu kod intramamarne

aplikacije sterilnog fiziološkog rastvora. Ovaj tretman menja osmolaritet i pomaže u eliminaciji bakterija iz žlezde (Petersson-Wolfe i sar., 2011). Zbog ograničenog uspeha u tretmanu infekcija, naglasak treba da bude stavljen na prevenciju.

Glavna preventivna mera kod pojave mastitisa izazvanih sa *Serratia* vrstama odnosi se na higijenu držanja krava, čistu i suhu prostirku, bilo da su krave u laktaciji ili u periodu zasušenja. Upotreba neorganske prostirke (pesak) smanjuje broj ovih bakterija u okruženju. Neophodno je otkriti sve inficirane jedinice u zapatu jer one mlekom kontaminiraju prostirku i opremu za mužu. Inficirane krave treba odvojiti i voditi poslednje na mužu. Rastvor za potapanje sisa treba prekontrolisati na kontaminaciju *Serratia* vrstama, jer on može biti izvor infekcije za zdrave krave. Ostatak dezinficijensa koji je korišćen za potapanje sisa, nikada ne treba vraćati u originalno pakovanje i ponovo koristiti kod sledeće muže. Dezinfekciju pribora za mužu ne bi trebalo izvoditi 0,5% chlorhexidin-glukonom i kvarternim amonijumovim jedinjenjima, jer postoje izveštaji o otpornosti *Serratia* spp. na ove dezinficijense.

Istraživanja u okviru projekta TR 31071: "Istraživanje farmakoloških karakteristika antimikrobnih agenasa, uvođenje novih tehnoloških rešenja i alternativnih metoda profilakse s ciljem da se poboljša kontrola infektivnih oboljenja životinja", finansiranog od Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

LITERATURA

1. Ang-Kucuker M., Buyukbaba-Boral O., Tolun V., Torumkuney D., Susever S., Ang O.: Effect of some antibiotics on pigmentation in *Serratia marcescens*. *Zentralbl. Bakteriol.* 289, 781-785, 2000
2. Bannerman D.D., Paape M.J., Goff J.P., Kimura K., Lippolis J.D., Hope J.C.: Innate immune response to intramammary infection with *Serratia marcescens* and *Streptococcus uberis*. *Vet. Res.* 35: 681-700, 2004
3. Barnum D.A., Thackeray E.L., Fish N.A.: An Outbreak of Mastitis Caused by *Serratia marcescens*. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. Vol. XXII (11), 392-395, 1958
4. Carbonell G.V., Della Colleta H.H.M., Yano T., Darini A.L.C., Levy C.E., Fonseca B.A.L.: Clinical relevance and virulence factors of pigmented *Serratia marcescens*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 28: 143-149, 2000
5. Coria-Jimenez R. and Ortiz-Torres C.: Aminoglycoside resistance patterns of *Serratia marcescens* strains of clinical origin. *J. Epidemiol. Infect.* 112, 125-131, 1994

6. D'Alessio R., Bargiotti A., Carlini O., Colotta F., Ferrari M., Gnocchi P., Isetta A., Mongelli N., Motta P., Rossi A., Rossi M., Tibolla M., Vanotti E.: Synthesis and immunosuppressive activity of novel prodigiosin derivatives. *J. Med. Chem.* 43, 2557 – 2565, 2000
7. Das A.M., Paranjape V.L., Pitt T.L.: *Serratia marcescens* infection associated with early abortion in cows and buffaloes. *Epidemiology and Infection.* 101, 143-149, 1988
8. Di Guardo G., Battisti A., Agrimi U., Forletta R., Reitano M.E., Calderini P.: Pathology of *Serratia marcescens* mastitis in cattle. *Journal of veterinary medicine. Series B.* 44, 9, 537-546, 1997
9. Grimont P.A.D., Grimont F.: Genus XXXIV. *Serratia*. In: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (eds) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 2. Springer, 799-811, 2005
10. Han S.B., Park S.H., Jeon Y.J., Kim Y.K., Kim H.M., Yang K.H.: Prodigiosin blocks T cell activation by inhibiting interleukin-2R α expression and delays progression of autoimmune diabetes and collagen-induced arthritis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 299, 2, 415-425, 2001
11. Hejazi A., Falkiner F.R.: *Serratia marcescens*. Review article. *J. Med. Microbiol.* 46, 903-912, 1997
12. Hines D.A., Saurugger P.N., Ihler G.M., Benedik M.J.: Genetic analysis of extracellular proteins of *Serratia marcescens*. *J Bacteriol.* 170, 4141-4146, 1988
13. http://ahdc.vet.cornell.edu/sects/QMPS/Articles/Serratia_mastitis_%20fact_%20Sheet.pdf *Serratia* species and Mastitis - QMPS fact sheet. Cornell University, College of Veterinary Medicine, 2005.
14. <http://www.myfoodpoisoninglawyer.com/2011/03/srratia-marcesens-outbreak-attacks-19-in-alabama-hospitals-tpn-identified-as-source/>
15. Iranshahi M., Shahverdi A.R., Mirjani R., Amin G., Shafiee A.: Umbelliprenin from *Ferula persica* Roots Inhibits the Red Pigment Production in *Serratia marcescens*. *Z. Naturforsch.* 59c, 506-508, 2004
16. Isaksson A., Holmberg O.: *Serratia*-mastitis in cows as a herd problem. *Nord. Vet. Med.* 36,354-360, 1984
17. James C., Natalie Sherman N.: *Microbiology: a Laboratory Manuel*. 7th edition. Pearson Education. Inc. 2005.
18. Kavitha R., Aiswariya S, Ratnavali C.M.G.: Anticancer activity of red pigment from *Serratia marcescens* in Human cervix carcinoma. *International Journal of PharmTech Research.* 2, 1, 784-787, 2010
19. Körner R.J., Nicol A., Reeves D.S., MacGowan A.P., Hows J.: Ciprofloxacin resistant *Serratia marcescens* endocarditis as a complication of non-Hodgkin's lymphoma. *J Infect.* 29, 1, 73-76, 1994
20. Mekhael R., Yousif Y.S.: The role of red pigment produced by *Serratia marcescens* as antibacterial and plasmid curing agent. In: The 2nd Kurdistan

- Conference on Biological Sciences J. Duhok. Univ. 12, 1, 268-274, 2009
21. Ohnishi M., Sawada T., Hirose K., Sato R., Hayashimoto M., Hata E., Yonezawa C., Kato H.: Antimicrobial susceptibilities and bacteriological characteristics of bovine *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* isolates from mastitis. *Veterinary Microbiology*. Article in press, 2011, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113511003518>.
 22. Petersson-Wolfe C.S., Costello S., Currin J., Virginia Tech: *Serratia* spp.—A Practical Summary for Controlling Mastitis. (<http://www.extension.org/pages/61743/serratia-sppa-practical-summary-for-controlling-mastitis>), 2011
 23. Patterson K.L., Porter J.W., Ritchie K.B., Polson S.W., Mueller E., Peters E.C., Santavy D.L., Smith G.W.: The etiology of white pox, a lethal disease of the Caribbean elkhorn coral *Acropora palmata*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 99, 8725-8730, 2002
 24. Pinzón-Sánchez C., Ruegg P.L.: Risk factors associated with short-term post-treatment outcomes of clinical mastitis. *J. Dairy Sci.*, 94, 3397–3410, 2011
 25. Ruegg P.L., Guterbock W.M., Holmberg C.A., Gay J.M., Weaver L.D., Walton R.W.: Microbiologic investigation of an epizootic of mastitis caused by *Serratia marcescens* in a dairy herd. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 200, 2, 184-9, 1992
 26. Shuster D.E., Kehrli M.E. Jr, Rainard P., Paape M.: Complement fragment C5a and inflammatory cytokines in neutrophil recruitment during intramammary infection with *Escherichia coli*. *Infect. Immun*. 65, 3286–3292, 1997
 27. Tzora A., Fthenakis G.C.: Mastitis in dairy ewes associated with *Serratia marcescens*. *Small Ruminant Research*, 29 125-126, 1998
 28. Todhunter D.A., Smith K.L., Hogan J.S.: *Serratia* species isolated from bovine intramammary infections. *J. Dairy Sci.*, 74, 1860–1865, 1991
 29. Trias J., Vinas M., Duinea J., Loren J.: Induction of yellow pigmentation in *Serratia marcescens*. *Applied and Environmental Microbiology*. 54, 12, 3138-3141, 1988
 30. Venil C.K., Lakshmanaperumalsamy P.: An Insightful Overview on Microbial Pigment, Prodigiosin. *Electronic Journal of Biology*. 5, 3, 49-61, 2009
 31. Vinas M., Loren J.G., Guinea J.: Particulate bound pigment of *Serratia marcescens* and its association with cellular envelopes. *Microbios Lett*. 24: 19-26, 1983
 32. Wilson D.J., Kirk J.H., Walker R.D., Bosworth Q.W.: *Serratia marcescens* mastitis in a dairy herd. *J Am Vet Med Assoc.*, 196, 7, 1102-5, 1990

Primljeno: 15.04.2012.
Odobreno: 20.05.2012.