

**(Pagal priemonę „Moksliniai tyrimai bitininkystės sektoriuje“ atlikto tyrimo ataskaitos forma)**

**Nacionalinis maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institutas**

I. PAGRINDINIAI DUOMENYS APIE TYRIMĄ					
Pavadinimas – bičių patogeninių bakterijų ir mikrobiotos antimikrobinio atsparumo bei antimikrobinio atsparumo genų paplitimo Lietuvoje analizė (tęstinė tema).					
Kryptis – 8.3.1. varozės erkių biologijos ir kitų bičių ligų, kenkėjų ir kovos su jais priemonių tyrimai.					
II. TYRIMO VYKDYTOJAI					
Eil. Nr.	Pareigybė atliekant tyrimą (pasirenkama)	Mokslo laipsnis	Vardas, pavardė	Telefonas, el. paštas	Darbovietės pavadinimas, pareigos
Tyrimo vadovas					
1.	Petras Mačiulskis	daktaras	Petras Mačiulskis	069807654, petras.maciulskis@nmvrvi.lt	NMVRVI direktoriaus pavaduotojas
Kiti tyrimo vykdytojai					
2.	Grupės vadovas	Magistras	Česlova Butrimaitė-Ambrozevičienė	052780473, ceslova.ambrozeviciene@nmvrvi.lt	NMVRVI Bakteriologinių tyrimų skyriaus vedėja
3.	Tyrėjas	Magistras	Tatjana Kutyrionova	052780473, tatjana.kutyriova@nmvrvi.lt	NMVRVI Bakteriologinių tyrimų skyriaus vyr. specialistė
4.	Tyrėjas	Magistras	Irina Rusak	0 52780473 irina.rusak@nmvrvi.lt	NMVRVI Bakteriologinių tyrimų skyriaus vyriausioji veterinarijos gydytoja
5.	Tyrėjas	Bakalauras	Rima Vitkūnienė	0 52780473, rima.vitkuniene@nmvrvi.lt	NMVRVI Bakteriologinių tyrimų skyriaus laborantė
6.	Tyrėjas	daktaras	Simona Pilevičienė	05278 0459, simona.pileviciene@nmvrvi.lt	NMVRVI Molekulinės biologijos ir GMO tyrimų skyriaus vedėja

7.	Tyrėjas	daktaras	Žygimantas Janeliūnas	05278 0459, zygimantas.janeliunas@nmvrvi.lt	NMVRVI Molekulinės biologijos ir GMO tyrimų skyriaus vyriausiasis bioinžinierius
----	---------	----------	-----------------------	--	--

### III. SANTRUMPOS IR SUTARTINIAI ŽENKLAI

Santrumpa ar sutartinis ženklas	Paiškinimas
AAG	Atsparumo antimikrobinėms medžiagoms genas
AAM	Atsparumas antimikrobinėms medžiagoms
CLSI	Klinikinių ir laboratorinių standartų institutas
DNA/DNR	Deoksiribonukleorūgštis
EUCAST	Europos antimikrobinio jautrumo tyrimų komitetas
KSV	Kolonijas sudarančių vienetų skaičius
MALDI-TOF	Lazerinė desorbcinė jonizacijos masių spektrometrija
MYPGP	Agaro terpė
NGS	Naujos kartos sekoskaita
SDP	Standartinė darbo procedūra
GA	Galimai atspari

### IV. PAGRINDINIŲ REZULTATŲ SANTRAUKA

Suaugusių bičių mėginiai buvo tiriami dėl bičių patogeninių bakterijų (*Paenibacillus larvae*) ir bičių mikrobiotos (*Enterobacteriaceae* spp.) atsparumo antimikrobinėms medžiagoms (AAM) ir antimikrobinio atsparumo genai (AAG). Tyrimai buvo atliekami bakteriologiniais ir molekuliniais tyrimo metodais. Suaugusių bičių mėginiai paimti iš įvairių bitynų 48 Lietuvos rajonuose. Ištyrus 103 suaugusių bičių mėginius nustatytos *Enterobacteriaceae* šeimos 38 bakterijų rūšys. Ant bičių pavirčiau aptiktos 20, o žarnyne 31 bakterijų rūšis. Bičių paviršiuje nustatytos 76, o žarnyne – 164 bakterijų padermės. Suaugusių bičių mėginiuose *Paenibacillus larvae* bakterijų neaptikta. Bičių paviršiuje ir žarnyne dažniau aptinkamos *Hafnia alvei* ir *Pantoea agglomerans* bakterijos. *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp. bakterijoms nustatytas atsparumas antimikrobinėms medžiagoms. Didžiausias atsparumas aptiktas ampicilinui ir amoksacilinui su klavulano rūgštimi, kurie yra pirmo pasirinkimo antimikrobinės medžiagos, naudojamos bakterinių ligų gydymui. Antimikrobinio atsparumo genų tyrimas parodė, kad bičių mikrobiotoje yra antimikrobinio atsparumo genų, kurie koduoja bakterijų atsparumą ne tik pirmojo pasirinkimo antibiotikams, bet ir platesniam antimikrobinų medžiagų spektrui. Antimikrobinio atsparumo genai buvo nustatyti 13,3 proc. *Hafnei alvei* bakterijų, išskirtų iš bičių paviršiaus, ir 35,6 proc. iš žarnyno, taip pat 6,7 proc. *Escherichia coli* bakterijų, išskirtų iš žarnyno. *Hafnei alvei* bakterijos, turinčios blaACC-1 ir blaACC-3 antimikrobinio atsparumo genus, yra atsparios amoksicilinui, amoksicilinui su klavulano rūgštimi, ampicilinui, ampicilinui su klavulano rūgštimi, cefotaksimui, cefoxitinui, ceftazidimui, piperacilinui, piperacilinui su tazobaktamu, tikarcilinui ir tikarcilinui su klavulano rūgštimi. *Hafnei alvei* bakterijos, turinčios aph(6)-Id; aph(3'')-Ib antimikrobinio atsparumo genus, yra atsparios streptomycinui. *Escherichia coli* bakterijos, turinčios blaTEM-1B antimikrobinio atsparumo geną, yra atsparios amoksicilinui, ampicilinui, piperacilinui, tikarcilinui, cefalotinui. *Escherichia coli* bakterijos, kurioms nustatytos mutacijos, yra atsparios ciprofloksacinui ir nalidiksino rūgščiai. Bičių mikrobiotos tyrimas dėl atsparumo antimikrobinėms medžiagoms (AAM) ir atsparumo antimikrobinėms medžiagoms genų (AAG) rodo netiesioginį antimikrobinų medžiagų naudojimo žmonių ir gyvūnų sveikatos priežiūros srityje poveikį aplinkai.

**Raktiniai žodžiai:** bičių šeimos, mikrobiota, AAM, AAG, paplitimas, bakteriologiniai ir molekuliniai tyrimai

### V. TURINYS

## ĮVADAS

Atsparumas antimikrobiniais vaistams yra reiškinys, atsiradęs kartu su antimikrobinų vaistų atradimu ir vartojimu, o jo eksponentinis augimas vyksta sparčiai dėl netinkamo antimikrobinų vaistų naudojimo tiek žmonių, tiek veterinarijos medicinoje [WHO, 2021]. Šiuo metu visuotinai nerimaujama dėl plačiai paplitusio atsparumo antibiotikams, o vis daugiau įrodymų rodo, kad žarnyno mikrobiota yra labai svarbi užtikrinant atsparumą antibiotikams [Sun et al., 2023]. Antimikrobinės medžiagos ir jų biologiškai aktyvūs metabolitai įvairiais būdais gali patekti į aplinką. Jie gali pasiekti vandens telkinius per miesto nuotekas ir agroekosistemas tręšiant antibiotikais užterštu nuotekų dumbliu, mėšlu, nuosėdomis ar biokietosiomis medžiagomis [Serwecińska, 2020; Tuvo et al., 2023]. Žemės ūkio ir gyvulininkystės plotai gali būti potencialus AAM ir AAG rezervuaras, nes dirvožemio bakterijoms gali turėti įtakos gyvūnų mėšlas, gautas iš gyvūnų, gydytų antimikrobinėmis medžiagomis [Ježak, Kozajda, 2022; Zalewska et al., 2021]. Daugybė vabzdžių rūšių buvo tirtos visame pasaulyje, siekiant įvertinti aplinkos antimikrobinį atsparumą. Daugeliu atvejų iš vabzdžių išskirtos bakterijų padermės buvo atsparios arba turėjo AAG, ypač pagrindiniams antimikrobiniais vaistams, naudojamiems žmonėms ir gyvūnams gydyti. Aplinkos bakterijų populiacijos gali būti AAM ir AAG rezervuarai [Resci, Cilia, 2023]. Bitės yra socialūs vabzdžiai, glaudžiai sąveikaujantys su juos supančia aplinka. Bičių žarnyno mikrobiota vaidina svarbų vaidmenį šeiminko sveikatai, biologijai ir sąveikai su supančia aplinka [Ganeshprasad et al., 2022]. Suaugusios bitės (*Apis mellifera*) gali būti naudojamos aplinkos taršai antimikrobinėmis medžiagomis stebėti. Kiekvienos bitės kūno paviršius padengtas šeriais ir plaukeliais, kuriais jos skrydžio metu gaudo žiedadulkes ir kitų tipų daleles. Bičių šeima per dieną surenka daug nektaro ir žiedadulkių. Bitės nuskrenda apie 1,5 km nuo avilio [Cilia et al., 2023; Piva et al., 2020; Cenci-Goga et al., 2020]. AAG paplitimas bitės paviršiaus ir žarnyno mikrobiotoje gali kelti potencialią riziką ne tik jos pačios sveikatai, bet ir visuomenės bei gyvūnų sveikatai dėl galimo AAG platinimo. Naujausi analizės rezultatai rodo, kad bitės žarnynas yra antibiotikų atsparumo genų rezervuaras, tikriausiai dėl antibiotikų naudojimo bitininkystėje istorijos ir horizontalaus genų perdavimo iš labai užterštos aplinkos. Šie antibiotikų atsparumo genai kaupiasi bitės žarnyne ir gali būti perduoti patogeniui, netgi turėdami potencialą išplisti augalų apdulkinimo, socialinės sąveikos ir kitais būdais [Sun et al., 2023]. 2024 m. tyrimai parodė, kad Lietuvoje dažniausiai aptinkamos *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. padermės buvo atsparios beta laktaminiais antibiotikams (ampicilinui ir amoksicilinui su klavulano rūgštimi). Bičių mikrobiotoje identifikuoti AAG, koduojantys AAM įvairių klasių antibiotikams, buvo nustatyti 18 Lietuvos savivaldybių. Todėl buvo nuspręsta tęsti bičių patogeninių bakterijų ir mikrobiotos antimikrobinio atsparumo bei antimikrobinio atsparumo genų paplitimo Lietuvoje analizę.

## DĖSTOMOJI ATASKAITOS DALIS

Tyrimo objektas – Suaugusių bičių mėginiai

### Bakteriologinio tyrimo metodika.

Mėginių paruošimas. **Bitės** (10 vnt.) užpilamos steriliu fiziologiniu tirpalu 10 ml, paskalaujamos, paruošiamas nuoplovinis skystis. Iš 10 **bičių išimamos žarnos** į sterilią Petri lėkštelę, sutrinamos. Paruošti mėginiai naudojami tolimesnėms tyrimams. *Enterobacteriaceae* spp. bakterijų kultivavimas ir identifikavimas. Paruošti bičių šeimos mėginiai pirmiausia sėjami ant Kraujo ir selektyvaus MacConkey agarų, kurie inkubuojami  $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, (24±3) val. Tyrimai atliekami pagal (SDP B.59 (1.5)). Išaugusios būdingos bakterijų kolonijos identifikuojamos MALDI-TOF sistema (pagal SDP B.10 (1.4)). Sutrintos bičių žarnos sėjamos ant Kraujo ir selektyvaus MacConkey agarų, kurie inkubuojami  $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, (24±3) val. Tyrimai atliekami pagal (SDP B.59 (1.5)). Išaugusios būdingos bakterijų kolonijos identifikuojamos MALDI-TOF sistema (pagal SDP B.10 (1.4)). *Paenibacillus larvae* kultivavimas ir identifikavimas: 30 suaugusių bičių 30s homogenizuojama 20 ml sterilaus fiziologinio tirpale. Filtruojama per filtrinį popierių, centrifuguojama, nuosėdos resuspenduojamos fiziologiniame tirpale. Dedama į vandens vonelę ir laikoma 10 min.  $(80\pm 1)^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Pasėjama kraujo ir pasirinktinai MYPGP agaruose (pagal SDP B.32 (1.4)), auginama  $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$  temperatūroje nuo 2 iki 7 dienų aerobinėmis sąlygomis. Išaugus būdingoms bakterijų kolonijoms, identifikavimas atliekamas pagal SDP B.10 (1.4) (MALDI-TOF (lazerinės desorbcinės jonizacijos masių spektrometrijos) sistema) procedūra.

**Bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimas.** Tyrimas atliekamas pagal SDP B.7 (1.6). Tyrimui atrinktos analizuojamos bakterijų padermės. Naudojant gryną bakterijų kultūrą, ruošiama 0,5

McFarland'o drumstumo ( $1,5 \times 10^8$  KSV/ml) bakterijų suspensija. Mueller-Hinton agarą paviršiuje špateliu paskleidžiama 100 µl paruoštos bakterijų suspensijos. Petri lėkštelė paliekama kambario temperatūroje iki 5 min., kad suspensija geriau įsigertų į agarą. Uždėjus antibiotikų diskus, po 15 min. Petri lėkštelės apverčiamos ir inkubuojamos sąlygose, kurios yra optimaliausios konkrečiai bakterijų rūšiai (*Enterobacteriaceae* spp. aerobinėse sąlygose (16 – 18) val.,  $+(35 \pm 1)^\circ\text{C}$  temperatūroje, *Paenibacillus larvae* mikroaerofilinėse sąlygose  $+(35 \pm 1 - 37 \pm 1)^\circ\text{C}$  temperatūroje 2–4 dienas.

Tyrimai atlikti pagal NMVRVI paruoštas procedūras SDP B.32 (1.4) „Bičių europinio ir amerikinio puvinų nustatymas“, SDP B.59 (1.5) „Indikatorinės-simbiotinės *Escherichia coli* nustatymas klinikinėje, patologinėje medžiagoje ir maisto produktuose“, SDP B.10 (1.4) „Mikroorganizmų identifikavimas MALDI-TOF sistema“. Išskirtoms pasirinktoms bakterijų kultūroms buvo atliekami jautrumo antimikrobinėms medžiagoms testas pagal SDP B.7 (1.6) „Antimikrobinio rezistentiškumo nustatymas diskų difuzijos metodu“. Atsparumo antimikrobinėms medžiagoms (AAM), rezultatai buvo vertinami pagal EUCAST ir CLSI rekomendacijas.

### Molekulinių tyrimų metodika:

- Bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms nustatymas atliekamas analizuojant viso genomo sekoskaitos duomenis.

- Tyrimui reikalinga aukštos kokybės *Paenibacillus larvae* ir *Enterobacteriaceae* spp DNR ruošama pagal (SDP G.66 (1.5) su QIAGEN „QIAamp DNA Blood Mini Kit ir Zymo Research „DNA Clean & Concentrator. 200 µL bakterijų suspensijos sumaišoma su 20 µl QIAGEN Protease ir su 200 µl AL buferio. Gautas tirpalas inkubuojamas  $56^\circ\text{C}$  temperatūroje apie 10 min. Po lizės į tirpalą pridedama 200 µl etanolio (96 – 100 %) ir sunašamas į valymo kolonėlės QIAamp Spin Column ir centrifuguojamas. Sekančiais žingsniais kolonėlės plaunamos buferiais AW1 ir AW2, o išvalyta DNR eliuojama su dejonuzuotu vandeniu. Gautas tirpalas papildomai valomas ir koncentruojamas su „DNA Clean & Concentrator™ – 25“, naudojant dvigubą tūrį DNA Binding Buffer. Mišinys valomas kolonėlėmis „Zymo-Spin IITM plaunant su DNA Wash Buffer. Išvalyta DNR eliuojama su dejonuzuotu vandeniu, o gautas DNR kiekis įvertinamas fluorimetru.

Viso genomo sekoskaita atliekama pagal (SDP G.16 (1.2). Bibliotekos ruošimas atliekamas su Invitrogen™ Collibri™ ES DNA Library Prep Kit for Illumina™, priklausomai nuo gautos DNR koncentracijos imama 1-100 ng DNR ir atliekama fermentinė DNR fragmentacija su 5X Fragmentation and dA-tailing Enzyme Mix. DNR pirmiausia fragmentuojama 30 min  $37^\circ\text{C}$  temperatūroje, o paskui formuojamos dA-uodegos  $65^\circ\text{C}$  temperatūroje 10 min. Prie fragmentuotos DNR sekančiu žingsniu liguojami dvigubi indeksai-adapteriai (Collibri™ Dual-Dual-Indexed) su 7X Ligation Master Mix  $20^\circ\text{C}$  temperatūroje 30 min. Gautas indeksuotas DNR tirpalas valomas magnetinių dalelių tirpalu DNA Cleanup Beads, atliekant tris magnetinių dalelių – DNR surišimo žingsnius su nuosekliai kintamu magnetinių dalelių kiekiu, atitinkamai: 60 µL, 45 µL ir 20 µL. Gautas pirminis DNR bibliotekos tirpalas toliau amplifikuojamas su 2X Collibri Library Amplification Master Mix atliekant 3-12 anilinimo ciklą, priklausomai nuo įneštos DNR koncentracijos. Po amplifikacijos tirpalas paeiliui valomas su 40 µL ir 50 µL DNA Cleanup Beads. Gauta DNR biblioteka įvertinama kiekybiškai fuorimetru ir atliekant kiekybinę Tikro-laiko PGR reakciją su Collibri™ Quantification rinkiniu. Skiesta iki 1:10000 ir 1:100000 DNR biblioteka amplifikuojama atliekant pirminę denatūraciją 2 min  $95^\circ\text{C}$ . Toliau seka 35 ciklai denatūracijos  $95^\circ\text{C}$  temperatūroje 30 s ir anilinimo  $60^\circ\text{C}$  temperatūroje 45 s. Pagal kiekybinius duomenis įvertinta bibliotekos koncentracija nM, toliau naudojama sekoskaitai. Neilgų DNR sekų sekoskaita atliekama su Illumina miSeq analizatoriumi naudojant sekoskaitos tinkinį MiSeq Reagent Kit v2 naudojant skiestą biblioteką iki 4nM. Biblioteka denatūruojama 0,2N NaOH tirpalu, skiedžiama iki 20pM ir analizuojama sekvenatoriuje.

Gauti sekoskaitos žaliaviniai duomenys analizuojami bioinformatikos įrankiais pagal (KSP 7.2.1.G.2.). Analizės metu įdentikuojami galimi atsparumo antimikrobinėms medžiagoms (rezistentiškumo) genai pagal antibiotiku klases.

### Darbai atlikti pagal darbo planą

Mokslinio tyrimo darbai atlikti pagal kalendorinį darbo planą, nurodytą 1 lentelėje.

1 lentelė. Tyrimo darbo planas.

Darbai/periodas	Sausis	Vasaris – Kovas	Balandis-gegužė	Birželis - liepa	Rugpjūtis
Mokslinės literatūros analizė, tyrimo aprašymo rengimas					
Paraiškos pateikimas					
Priemonių ir medžiagų įsigijimas					
Tyrimo metodų parengimas ir patikrinimas					
Mėginių tyrimas					
Rezultatų analizė ir studijos ataskaitos rengimas ir pristatymas					

### Tyrimo rezultatai ir jų aptarimas

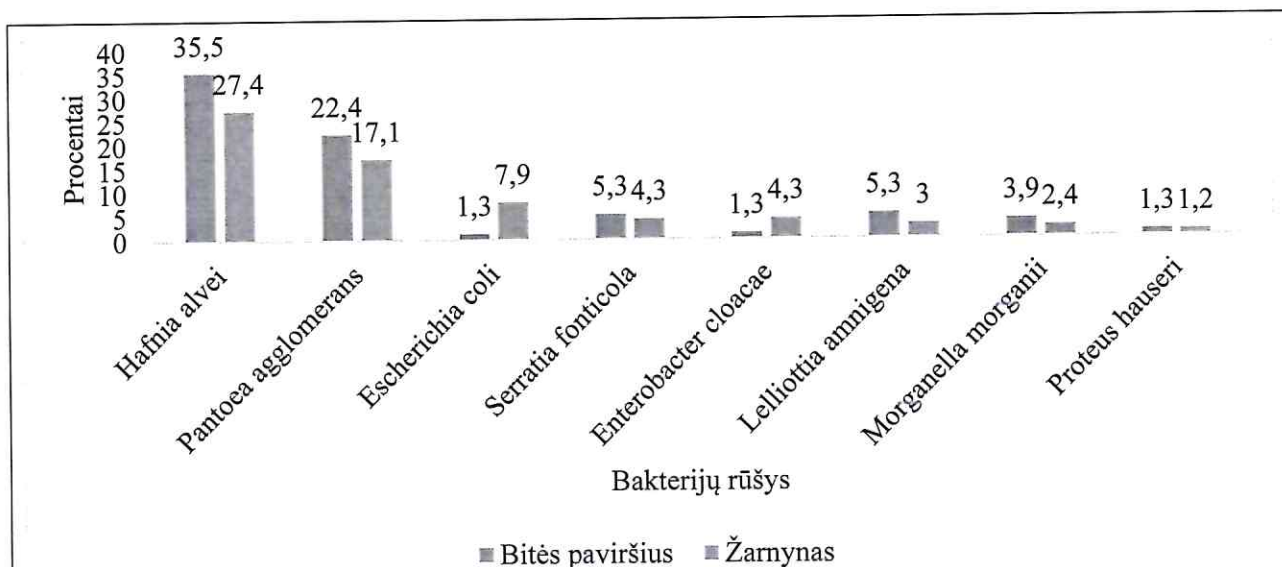
#### Bakteriologinio tyrimo rezultatai

Bičių aplinkos užterštumas antimikrobinėmis medžiagomis suteikia įžvalgų apie AAM ir AAG epidemiologinį pasiskirstymą [Resci, Cilia, 2023; Brudzynski, 2021]. Bičių žarnyno mikrobiota vaidina svarbų vaidmenį bičių fiziologijoje ir medžiagų apykaitoje. Bičių sveikatą reguliuoja simbiotiniai mikroorganizmai, kolonizuojantys žarnyną subalansuotomis proporcijomis. Tyrimai parodė, kad šios naudingos bakterijos gali sustiprinti bičių imuninę sistemą, darydamos didelę įtaką jų imunologinių atsakų reguliavimui ir taip padėdamos apsiginti nuo patogeninių ligų. Kitas svarbus bičių sveikatos aspektas yra jų įgimta imuninė sistema, susijusi su jų gebėjimu sintetinti antimikrobinius peptidus (AMP) [Mojgani et al., 2025]. Šiam tyrimui suaugusių bičių mėginiai paimti iš įvairių bitynų 48 Lietuvos rajonuose. Ištyrus 103 suaugusių bičių mėginius nustatytos *Enterobacteriaceae* šeimos 38 bakterijų rūšys. Ant bičių paviršiaus aptiktos 20, o žarnyne 31 bakterijų rūšis. Bičių žarnyne nustatytos 164 bakterijų padermės (2 lentelė; priedo 1 lentelės). Suaugusių bičių mėginiuose *Paenibacillus larvae* bakterijų neaptikta.

#### 2 lentelė. *Enterobacteriaceae* spp.ir jų padermių skaičius aptiktas suaugusių bičių mėginiuose

Mėginių skaičius, vnt.	Tiriamo mėginio pavadinimas	Bičių mėginių skaičius, kuriose aptiktos <i>Enterobacteriaceae</i> spp., vnt.	Išskirtų <i>Enterobacteriaceae</i> spp. skaičius, vnt.	Nustatytų padermių skaičius, vnt.
103	Bičių paviršius	52	20	76
	Bičių žarnynas	89	31	164

Bičių mikrobiotoje dažniau aptinkamos bakterijos *Hafnia alvei* ir *Pantoea agglomerans* (1 pav.; priedo 1 lentelė). *Hafnia alvei* yra viena iš kelių *Enterobacteriaceae* rūšių, kurios sporadiškai aptinkamos bičių žarnyne ir gali būti oportunistiniai patogenai [Sabaté et al., 2009]. *Hafnia alvei* gali sukelti ligą bitėms, nuo kurios jos mirštą [Wang et al., 2025]. *Hafnia alvei* yra vienas iš patogenų, sukeliančių sepsį suaugusioms bitėms [Lang et al., 2022]. Bičių mikrobiota gali sukelti imuninių genų ekspresijos padidėjimą ir sumažinti *Hafnia alvei* ir kitų patogeninių bakterijų paplitimą, o tai rodo, kad imuninis priminimas yra mikrobo apsauginio poveikio pagrindas [Wang et al., 2022]. *Pantoea agglomerans*, dažna bičių aplinkoje randama bakterija, gali turėti tiek teigiamą, tiek neigiamą poveikį bitėms. Nors kai kurios padermės gali būti naudingos, kitos gali veikti kaip patogenai, galintys paveikti bičių sveikatą ir elgesį. Svarbu pažymėti, kad poveikis gali skirtis priklausomai nuo konkrečios padermės ir sąveikos konteksto [Lorenzi et al., 2022].



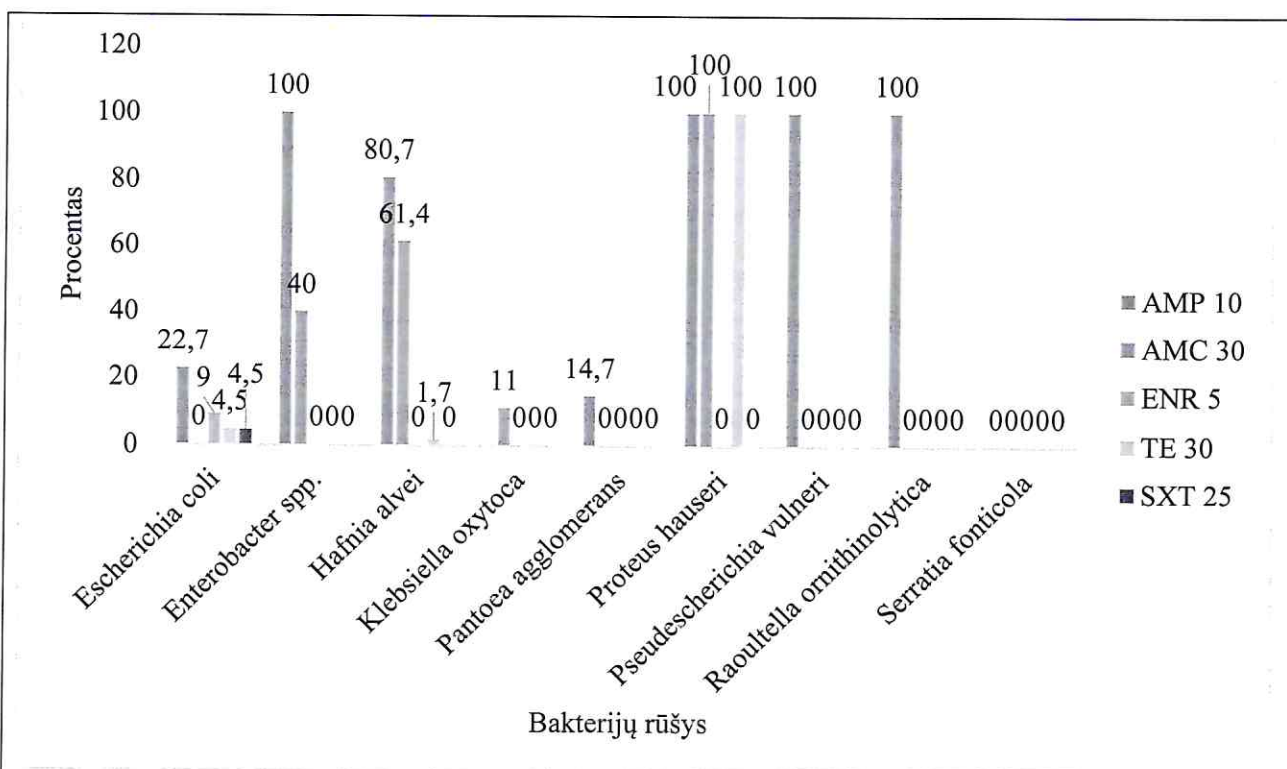
1 pav. Bakterijų paplitimas bičių paviršiuje ir žarnyne

Pasirinktomis *Escherichia coli* ir *Hafnia alvei*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp. bakterijoms nustatytas atsparumas antimikrobinėms medžiagoms (ampicilinui (AMP10), amoksacilinui su klavulano rūgštimi (AMC 30), amikacinui (AK 30), ciprofloksacinui (CIP 5), ceftazidimui (CAZ 30), enrofloksacinui (ENR 5), gentamicinui (GN 10), imipenemui (IMP 10), tetraciklinui (TE 30), sulfametoksazolui/trimetoprimui (SXT 25)). Ištirtas 135 padermių atsparumas antimikrobinėms medžiagoms (3 lentelė).

3 lentelė. Bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms proc.

Bakterijų pavadinimas	Padermių skaičius	Atsparumas antimikrobinėms medžiagoms, proc.				
		AMP10	AMC 30	AK 30	CIP 5	CAZ 30
<i>Escherichia coli</i>	22	22,7	0	0	9	0
<i>Enterobacter spp.</i>	5	100	40	0	0	0
<i>Hafnia alvei</i>	57	80,7	61,4	0	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	9	GA	11	0	0	0
<i>Pantoea agglomerans</i>	34	14,7	0	0	0	0
<i>Proteus hauseri</i>	1	100	100	0	0	0
<i>Pseudoescherichia vulneri</i>	1	100	0	0	0	0
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2	100	0	0	0	0
<i>Serratia fonticola</i>	4	0	0	0	0	0
Iš viso:	135					
		ENR 5	GN 10	IMP 10	TE 30	SXT 25
<i>Escherichia coli</i>	22	9	0	0	4,5	4,5
<i>Enterobacter spp.</i>	5	0	0	0	0	0
<i>Hafnia alvei</i>	57	0	0	0	1,7	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	9	0	0	0	0	0
<i>Pantoea agglomerans</i>	34	0	0	0	0	0
<i>Proteus hauseri</i>	1	0	0	0	100	0
<i>Pseudoescherichia vulneri</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2	0	0	0	0	0
<i>Serratia fonticola</i>	4	0	0	0	0	0
Iš viso:	135					

Didžiausias atsparumas aptiktas ampicilinui ir amoksacilinui su klavulano rūgštimi (3 lentelė; 2 pav.).



1 pav. Bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms

*Escherichia coli* padermių atsparumas ampicilinui buvo 22,7 proc., ciprofloksacinui – 9,0 proc., enrofloksacinui – 9 proc., tetraciklinui 4,5 proc. ir sulfametoksazolui/trimetoprimui – 4,5 proc. *Enterobacter spp.* bakterijų padermių atsparumas ampicilinui buvo 100 proc. ir amoksicilinui su klavulano rūgštimi 40 proc. *Hafnia alvei* atsaprumas ampicilinui buvo 80,7 proc., amoksicilinui su kavulano rūgštimi 61,4 proc., ciprofloksacinui – 1,7 proc. *Klebsiella oxytoca* padermės yra galimai atsparios amoksicilinui. Joms nustatytas 11 proc. atsparumas amokscilinui su kalvulano rūgštimi. *Pantoea agglomerans* padermių atsparumas ampicilinui buvo 14,7 proc. *Proteus hauseri* padermės buvo 100 proc. atsparios ampicilinui, amoksicilinui su kalvulano rūgštimi ir tetraciklinui. *Pseudoescherichia vulneri* ir *Raoultella ornithinolytica* padermės buvo 100 proc. atsparios ampicilinui. *Serratia fonticola* padermės buvo jautrios visiems antibiotikams.

#### Molekulinių tyrimų rezultatai

45 bakterijos tirtos siekiant nustatyti atsparumo antimikrobinėms medžiagoms genus ir atsparumą antibiotikų klasėms (4 lentelė). Antimikrobinio atsparumo genai buvo nustatyti 13,3 proc. *Hafnei alvei* bakterijų, išskirtų iš bičių paviršiaus, ir 35,6 proc. iš žarnyno, taip pat 6,7 proc. *Escherichia coli* bakterijų, išskirtų iš žarnyno (4 lentelė). *Hafnei alvei* bakterijoms išskirtoms iš bičių paviršiaus aptikti blaACC-3 antimikrobinio atsparumo genai. *Hafnei alvei* bakterijoms išskirtoms iš bičių žarnyno aptikti blaACC-1, blaACC-3, aph(6)-Id ir aph(3'')-Ib antimikrobinio atsparumo genai. *Escherichia coli* bakterijoms, išskirtoms iš žarnyno, aptikti blaTEM-1B antimikrobinio atsparumo genas ir dvi genų mutacijos (16S-rrsB mutacija p.D82G (nukleotidai gac>ggc) ir p.D87G (nukleotidai gac>ggt); bei mutacija p.A56T nukleotidai: gcc>acc)).

4 lentelė. Bakterijos tirtos dėl atsparumo genų ir atsparumo antibiotikų klasei

Bakterijų pavadinimas	Išskyrimo vieta	AAG	Nėra atsparumo
<i>Hafnia alvei</i>	bitės	6 (13,3 proc.)	0
	žarnos	16 (35,6 proc.)	0
<i>Pantoea agglomerans</i>	bitės	0	0
	žarnos	0	15 (33,3 proc.)

<i>Escherichia coli</i>	bitės	0	0
	žarnos	3 (6,7 proc.)	5 (11,1 proc.)
<b>Iš viso:</b>		<b>25 (55,6 proc.)</b>	<b>20 (44,4 proc.)</b>

*Hafnei alvei* bakterijos, turinčios blaACC-1 ir blaACC-3 antimikrobinio atsparumo genus, yra atsparios amoksicilinui, amoksicilinui su klavulano rūgštimi, ampicilinui, ampicilinui su klavulano rūgštimi, cefotaksimui, cefoxitinui, ceftazidimui, piperacilinui, piperacilinui su tazobaktamu, tikarcilinui ir tikarcilinui su klavulano rūgštimi. *Hafnei alvei* bakterijos, turinčios aph(6)-Id; aph(3'')-Ib antimikrobinio atsparumo genus, yra atsparios streptomycinui. *Escherichia coli* bakterijos, turinčios blaTEM-1B antimikrobinio atsparumo geną, yra atsparios amoksicilinui, ampicilinui, piperacilinui, tikarcilinui, cefalotinui. *Escherichia coli* bakterijos, kurioms nustatytos mutacijos (16S-rrsB mutacija p.D82G (nukleotidai gac>ggc) ir p.D87G (nukleotidai gac>ggt) mutacija; mutacija p.A56T nukleotidai: gcc>acc), yra atsparios ciprofloksacinui ir nalidiksino rūgščiai (priedo 2 lentelė).

#### IŠVADOS IR REKOMENDACIJOS

1. Atsparumo antimikrobinėms medžiagoms atsiradimą ir plitimą spartina žmogaus veikla, daugiausia netinkamas ir per didelis antimikrobinų medžiagų naudojimas žmonių, gyvūnų ir augalų bakterinėms infekcijoms gydyti. Bičių mikrobiotos tyrimas dėl atsparumo antimikrobinėms medžiagoms (AAM) ir atsparumo antimikrobinėms medžiagoms genų (AAG) rodo netiesioginį antimikrobinų medžiagų naudojimo žmonių ir gyvūnų sveikatos priežiūros srityje poveikį aplinkai.
2. Ištyrus 103 suaugusių bičių mėginius nustatytos *Enterobacteriaceae* šeimos 38 bakterijų rūšys. Ant bičių paviršiaus aptiktos 20, o žarnyne 31 bakterijų rūšis. Bičių žarnyne nustatytos 164 bakterijų padermės. Suaugusių bičių mėginiuose *Paenibacillus larvae* bakterijų neaptikta. Bičių mikrobiotoje dažniau aptinkamos bakterijos *Hafnia alvei* ir *Pantoea agglomerans*.
3. Didžiausias atsparumas aptiktas ampicilinui ir amoksacilinui su klavulano rūgštimi, kurie yra pirmo pasirinkimo antimikrobinės medžiagos, naudojamos bakterinių ligų gydymui. *Escherichia coli* padermių atsparumas ampicilinui buvo 22,7 proc., ciprofloksacinui – 9,0 proc., enrofloksacinui – 9 proc., tetraciklinui 4,5 proc. ir sulfametoksazolui/trimetoprimui – 4,5 proc. *Enterobacter* spp. bakterijų padermių atsparumas ampicilinui buvo 100 proc. ir amoksicilinui su klavulano rūgštimi 40 proc. *Hafnia alvei* atsparumas ampicilinui buvo 80,7 proc., amoksicilinui su klavulano rūgštimi 61,4 proc., ciprofloksacinui – 1,7 proc. *Klebsiella oxytoca* padermės galimai atsparios amoksicilinui ir 11 proc. atsparumas amoksicilinui su klavulano rūgštimi. *Pantoea agglomerans* padermių atsparumas ampicilinui buvo 14,7 proc. *Proteus hauseri* padermės buvo 100 proc. atsparios ampicilinui, amoksicilinui su klavulano rūgštimi ir tetraciklinui. *Pseudomonas aeruginosa* ir *Raoultella ornithinolytica* padermės buvo 100 proc. atsparios ampicilinui.
4. Antimikrobinio atsparumo genai buvo nustatyti 13,3 proc. *Hafnei alvei* bakterijų, išskirtų iš bičių paviršiaus, ir 35,6 proc. iš žarnyno, taip pat 6,7 proc. *Escherichia coli* bakterijų, išskirtų iš žarnyno. *Hafnei alvei* bakterijoms išskirtoms iš bičių paviršiaus aptikti blaACC-3 antimikrobinio atsparumo genai. *Hafnei alvei* bakterijoms išskirtoms iš bičių žarnyno aptikti blaACC-1, blaACC-3, aph(6)-Id ir aph(3'')-Ib antimikrobinio atsparumo genai. *Escherichia coli* bakterijoms, išskirtoms iš žarnyno, aptikti blaTEM-1B antimikrobinio atsparumo genas ir dvi genų mutacijos (16S-rrsB mutacija p.D82G (nukleotidai gac>ggc) ir p.D87G (nukleotidai gac>ggt); bei mutacija p.A56T nukleotidai: gcc>acc)). Antimikrobinio atsparumo genų tyrimas parodė, kad bičių mikrobiotoje yra antimikrobinio atsparumo genų, kurie koduoja bakterijų atsparumą ne tik pirmojo pasirinkimo antibiotikams, bet ir platesniam antimikrobinų medžiagų spektrui.
5. Bičių mikrobiotos padermių vienalypis ir (arba) daugialypis atsparumas skirtingoms antimikrobinų medžiagų klasėms gali būti susijęs su esama aplinkos tarša.
6. Rekomenduojama tęsti tyrimus, siekiant objektyviai įvertinti ir valdyti galimas aplinkos užterštumo antimikrobinėmis medžiagomis priežastis ir šaltinius, bei sumažinti galimą aplinkos užterštumą antimikrobinėmis medžiagomis.

NAUDOTOS LITERATŪROS SĄRAŠAS.

1. Brudzynski K. (2021). Honey as an ecological reservoir of antibacterial compounds produced by antagonistic microbial interactions in plant nectars, honey and honey bee. *Antibiotics* . 2021;10(5) doi: 10.3390/antibiotics10050551.551
2. Cilia G., Resci I., Scarpellini R., Zavatta L., Albertazzi S., Bortolotti L., Nanetti A., Piva S. (2023). Antimicrobial-Resistant Environmental Bacteria Isolated Using a Network of Honey Bee Colonies (*Apis mellifera* L. 1758). *Transbound Emerg Dis*. 2023 Nov 27;2023:5540574. doi: 10.1155/2023/5540574. PMID: 40303743; PMCID: PMC12016942.
3. Cenci-Goga B.T., Sechi P., Karama M., Ciavarella R., Pipistrelli M.V., Goretti E., Elia A.C., Gardi T., Pallottini M., Rossi R., Selvaggi R., Grispoli L. (2020). Cross-sectional study to identify risk factors associated with the occurrence of antimicrobial resistance genes in honey bees *Apis mellifera* in Umbria, Central Italy. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2020 Mar;27(9):9637-9645. doi: 10.1007/s11356-020-07629-3. Epub 2020 Jan 10. PMID: 31925681.
4. Ganeshprasad D.N., Lone J.K., Jani K., Shouche Y.S., Khan K.A., Sayed S., Shukry M., Dar S.A., Mushtaq M., Sneharani A.H. (2022). Gut Bacterial Flora of Open Nester Honeybee, *Apis florea*. *Front. Ecol. Evol*. 10:837381. doi: 10.3389/fevo.2022.837381
5. Jeżak K., Kozajda A. (2022). Occurrence and spread of antibiotic-resistant bacteria on animal farms and in their vicinity in Poland and Ukraine—review. *Environmental Science and Pollution Research* . 2022;29(7):9533–9559. doi: 10.1007/s11356-021-17773-z.
6. Lang H., Duan H., Wang J., Zhang W., Guo J., Zhang X., Hu X., Zheng H. (2022). Specific Strains of Honeybee Gut *Lactobacillus* Stimulate Host Immune System to Protect against Pathogenic *Hafnia alvei*. *Microbiol Spectr*. 2022 Feb 23;10(1):e0189621. doi: 10.1128/spectrum.01896-21. Epub 2022 Jan 5. PMID: 34985299; PMCID: PMC8729767.
7. Lorenzi A.S., Bonatelli M.L., Chia M.A., Peressim L., Quecine M.C. (2022). Opposite Sides of *Pantoea agglomerans* and Its Associated Commercial Outlook. *Microorganisms*. 2022 Oct 20;10(10):2072. doi: 10.3390/microorganisms10102072. PMID: 36296348; PMCID: PMC9610544.
8. Mojgani N., Bagheri M., Ashique S., Islam A., Moharrami M., Modirrousta H., Hussain A. (2025). Honeybee defense mechanisms: Role of honeybee gut microbiota and antimicrobial peptides in maintaining colony health and preventing diseases. *Microb Pathog*. 2025 Jan;198:107161. doi: 10.1016/j.micpath.2024.107161. Epub 2024 Nov 26. PMID: 39603566.
9. Piva S., Giacometti F., Marti E., Massella E., Cabbri R., Galuppi R., Serraino A. (2020). Could honey bees signal the spread of antimicrobial resistance in the environment? *Lett Appl Microbiol*. 2020 May;70(5):349-355. doi: 10.1111/lam.13288. Epub 2020 Mar 10. PMID: 32096241.
10. Resci I., Cilia G. (2023). The use of honey bee (*Apis mellifera* L.) as biological monitors for pathogenic bacteria and antimicrobial resistance: a systematic review. *Environmental Pollution* . 2023;333 doi: 10.1016/j.envpol.2023.122120.122120
11. Sabaté D.C., Carrillo L., Audisio M.C. (2009). Inhibition of *Paenibacillus* larvae and *Ascosphaera apis* by *Bacillus subtilis* isolated from honeybee gut and honey samples. *Res Microbiol*. 2009 Apr;160(3):193-9. doi: 10.1016/j.resmic.2009.03.002. Epub 2009 Apr 7. PMID: 19358885.
12. SDP B.7 Antimikrobinio rezistentiškumo nustatymas diskų difuzijos metodu (6 leidimas)
13. SDP B.10 Mikroorganizmų identifikavimas MALDI-TOF Sistema (2 leidimas)
14. SDP B.32 Bičių europinio ir amerikinio puvinių nustatymas (4 leidimas)
15. SDP B.59 Indikatorinės simbiotinės *Escherichia coli* nustatymas klinikinėje, patologinėje medžiagoje ir mėsos mėginiuose (4 leidimas)
16. SDP G.66 Mėginių paruošimas ir nukleorūgščių ekstrakcija (5 leidimas)
17. SDP G.16 Bakterijų DNR analizė naujos kartos sekoskaita (2 leidimas)

18. Serwecińska L. (2020). Antimicrobials and Antibiotic-Resistant Bacteria: A Risk to the Environment and to Public Health. *Water*. 2020; 12(12):3313. <https://doi.org/10.3390/w12123313>
19. Sun H., Li H., Zhang X., Liu Y., Chen H., Zheng L., Zhai Y., Zheng H. (2023). The honeybee gut resistome and its role in antibiotic resistance dissemination. *Integr Zool*. 2023 Nov;18(6):1014-1026. doi: 10.1111/1749-4877.12714. Epub 2023 Apr 9. PMID: 36892101.
20. Tuvo B., Scarpaci M., Bracaloni S., Esposito E., Costa A.L., Ioppolo M., Casini B. (2023). Microplastics and Antibiotic Resistance: The Magnitude of the Problem and the Emerging Role of Hospital Wastewater. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2023, 20, 5868. <https://doi.org/10.3390/ijerph20105868>
21. Wang J., Lang H., Zhang W., Zhai Y., Zheng L., Chen H., Liu Y., Zheng H. (2022). Stably transmitted defined microbial community in honeybees preserves *Hafnia alvei* inhibition by regulating the immune system. *Front Microbiol*. 2022 Dec 1;13:1074153. doi: 10.3389/fmicb.2022.1074153. PMID: 36532452; PMCID: PMC9751035.
22. WHO (World Health Organization), 2021. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) 2021. Report 2021 ISBN 9789240005587.
23. Zalewska M., Błażejewska A., Czapko A., Popowska M. (2021). Antibiotics and antibiotic resistance genes in animal manure—consequences of its application in agriculture. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12 doi: 10.3389/fmicb.2021.610656.610656

### Priedas

1 lentelė. Bičių paviršiuje ir žarnyne aptiktos *Enterobacteriaceae* spp. padermės

Išskirtos <i>Enterobacteriaceae</i> šeimos padermės	Bičių paviršius	Bičių žarnynas
<i>Citrobacter braakii</i>	-	7
<i>Citrobacter freundii</i>	2	3
<i>Citrobacter koseri</i>	-	1
<i>Citrobacter gillenii</i>	-	1
<i>Enterobacter asburiae</i>	1	-
<i>Enterobacter bugandensis</i>	2	3
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	7
<i>Enterobacter ludwigii</i>	-	1
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	-	1
<i>Enterobacter ludwigii</i>	-	1
<i>Escherichia coli</i>	1	13
<i>Hafnia alvei</i>	27	45
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	3
<i>Klebsiella aerogenes</i>	-	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2
<i>Kodamaea ohmeri</i>	-	1
<i>Kluyvera ascorbata</i>	-	1
<i>Kluyvera intermedia</i>	-	2
<i>Lelliottia amnigena</i>	4	5
<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	-	2
<i>Moellerella wisconsensis</i>	-	2
<i>Morganella morganii</i>	3	4
<i>Pantoea agglomerans</i>	17	28

<i>Pantoea vagans</i>		1
<b><i>Proteus hauseri</i></b>	1	2
<i>Proteus vulgaris</i>		1
<b><i>Providencia alcalifaciens</i></b>	1	2
<i>Providencia rettgeri</i>	2	4
<i>Providencia rustigianii</i>		1
<b><i>Rahnella aquatilis</i></b>	2	4
<b><i>Raoultella ornithinolytica</i></b>	2	3
<i>Raoultella terrigena</i>	-	1
<b><i>Serratia fonticola</i></b>	4	7
<i>Serratia luguefaciens</i>	1	2
<i>Serratia marcescens</i>	-	1
<i>Serratia plymuthica</i>	1	-
<i>Serratia proteamaculans</i>	2	-
<b><i>Weissella viridescens</i></b>	-	1
<b>Viso:</b>	<b>76</b>	<b>164</b>

2 lentelē. Bakteriju atsparumo genai ir jų atsparumas antimikrobinēms medžiagoms

Bakterijos pavadinimas	Bakterijos išskyrimo vieta	Atsparumo genas	Atsparumas antimikrobinēms medžiagoms
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	atsparumo nėra	
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Escherichia coli</i>	žarnos	atsparumo nėra	
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	atsparumo nėra	
<i>Escherichia coli</i>	žarnos	blaTEM-1B	Amoksicilinas, Ampicilinas, Piperacilinas, Tikarcilinas, Cefalotinas
<i>Hafnia alvei</i>	bitės	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Hafnia alvei</i>	bitės	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas,

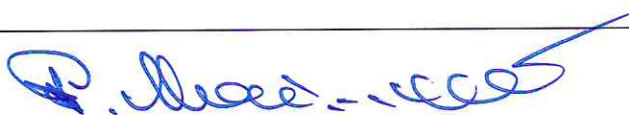
			Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Escherichia coli</i> ,	žarnos	atsparumo nėra	
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	atsparumo nėra	
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-1	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	atsparumo nėra	
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	atsparumo nėra	
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	atsparumo nėra	
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Escherichia coli</i>	žarnos	Nėra atsparumo	
<i>Escherichia coli</i>	žarnos	Nėra atsparumo	
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	Nėra atsparumo	
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	Nėra atsparumo	
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-1a	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Escherichia coli</i>	žarnos	16S-rrsB mutacija p.D82G (nukleotidai gac>ggc) ir p.D87G (nukleotidai gac>ggt)	Ciprofloksacinas, nalidiksino rūgštis
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	Nėra atsparumo	

<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Escherichia coli</i>	žarnos	Nėra atsparumo	
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	Nėra atsparumo	
<i>Pantoea agglomerans</i>	bitės	Nėra atsparumo	
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	Nėra atsparumo	
<i>Hafnia alvei</i>	bitės	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	Nėra atsparumo	
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	aph(6)-Id; aph(3")-Ib	Streptomicinas
<i>Pantoea agglomerans</i>	bitės	Nėra atsparumo	
<i>Hafnia alvei</i>	bitės	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Hafnia alvei</i>	bitės	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	Nėra atsparumo	
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Escherichia coli</i>	žarnos	Mutacija p.A56T Nukleotidai: gcc>acc)	Ciprofloksacinas, nalidiksino rūgštis
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis

<i>Hafnia alvei</i>	bitės	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis
<i>Pantoea agglomerans</i>	žarnos	atsparumo nėra	
<i>Hafnia alvei</i>	žarnos	blaACC-3	Amoksicilinas, Amoksicilinas + klavulano rūgštis, Ampicilinas, Ampicilinas + klavulano rūgštis, Cefotaksimas, Cefoxitinas, Ceftazidimas, Piperacilinas, Piperacilinas + tazobaktamas, Tikarcilinas, Tikarcilinas + klavulano rūgštis

Direktoriaus pavaduotojas

(Vadovo ar įgalioto asmens  
pareigų pavadinimas)



(Parašas)

Petras Mačiulskis

(Vardas, pavardė)