

# **TDK DOLGOZAT**

**Kerek Ádám**

**2018**

# ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM



Gyógyszertani és Méregtani Tanszék

## Kisállatklinikákon és kisállatkórházakban előforduló multirezisztens kórokozók jelenlétének vizsgálata

*Investigation of multiresistant bacteria at small animal clinics and small animal hospitals*

Készítette:

**Kerek Ádám**

V. évf. ao. hallgató

Témavezető:

Dr. Jerzsele Ákos

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, egyetemi docens

Társ témavezető:

Dr. Sterczér Ágnes

ÁTE, Belgyógyászati Tanszék és Klinika, egyetemi docens

**Budapest**

**2018**

## TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés .....	5
2. Irodalmi áttekintés .....	6
2.1. A <i>Staphylococcus aureus</i> .....	6
2.2. A <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> .....	8
2.3. Az <i>Enterococcus faecium</i> és <i>Enterococcus faecalis</i> .....	10
2.4. A <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	12
2.5. Az érzékenységi vizsgálatra használt antibiotikumok rövid jellemzése .....	13
3. Célkitűzések .....	17
4. Anyag és Módszer .....	18
4.1. Mintavételi helyek .....	18
4.2. A mintavétel módja .....	19
4.3. Chromagar <i>Staph aureus</i> táptalaj .....	19
4.4. PYR-teszt .....	21
4.5. Chromagar Orientation táptalaj .....	21
4.6. ENC 8 teszt .....	23
4.7. Chromagar <i>Pseudomonas</i> táptalaj .....	24
4.8. Korongdiffúziós érzékenységi vizsgálat .....	24
4.9. Mikrohígítós vizsgálat .....	27
5. Eredmények .....	29
6. Megbeszélés .....	35
7. Összefoglalás .....	38
8. Summary .....	40
9. Irodalomjegyzék .....	42

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ARA	Arabinóza
ARG	Arginin
CLED	Cisztin-laktóz-elektrolit hiányos
CLSI	Klinikai és Laboratóriumi Szabványügyi Intézet
Fc	Kristályosítható rész
GLR	$\beta$ -glükuronidáz
HACCP	Veszélyelemzés és kritikus eltérő pontok
IgG	Immunoglobulin G
KESC	<i>Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter</i> vegyes telep
LPS	Lipopoliszacharid
MAN	Mannit
McF	McFarland
MIC	Minimális gátló koncentráció
MLZ	Melezitóza
MPAE	Multirezisztens <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
MRSA	Meticillin-rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSP	Meticillin-rezisztens <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
PABA	Para-amino-benzoésav
PBP	Penicillin-kötő fehérje
PCR	Polimeráz láncreakció
PHS	Alkalikus foszfatáz
PYR	Pirrolidonyl-aminopeptidáz
RAF	Raffinóz
SOE	Szorbóz
SOR	Szorbit
VRSA	Vankomicin-rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i>
VRE	Vankomicin-rezisztens <i>Enterococcus</i> ok

## 1. BEVEZETÉS

A felgyorsult világban, a túlnépesedett civilizáció okozta globális változások következtében nélkülözhetetlenné vált az antibiotikumok használata. Az egyre szélesebb körben való – és sokszor nem előírászerű alkalmazásuk – miatt az antibiotikumokkal szembeni rezisztencia is rohamosan terjed.

A kisállatpraxisban előforduló kórokozók közül a *Staphylococcus aureus* és *Staphylococcus pseudintermedius*, az *Enterococcus faecium* és *Enterococcus faecalis*, valamint a *Pseudomonas aeruginosa* baktériumok multirezisztenciája jelenti a legnagyobb problémát, ezért ezek vizsgálatát tűztük ki célunkként.

Témaválasztásomat indokolja, hogy a magyar szakirodalom meglehetősen hiányos az ilyen vizsgálati eredményekben. A kutatás létjogosultságát bizonyítja, hogy számos olyan külföldi tanulmánnyal találkoztam, ami potenciális veszélyforrásnak tekinti ezeket a multirezisztens kórokozókat, mivel házi kedvenceink a tulajdonosaikat is megfertőzhetik.

Az első antibiotikum felfedezésétől, a szintetikus antibiotikumok előállításáig eltelt idő ugyan néhány évtizedben mérhető, de a rezisztencia terjedése is ugyanilyen rohamos. Sokan úgy gondolták, hogy az antibiotikumokkal az ember elsöpri majd a fertőző betegségeket. Idővel azonban az emberek rádöbrentek, hogy nem lehet megfontolatlanul használni őket, napjainkra a rezisztencia kialakulása sokkal gyorsabb folyamat, mint amilyen ütemben újabb antibiotikumokat fedeznek fel. Ha nem vigyázunk ezekre a „csodaszerekre”, akkor könnyen lehet, hogy unokáinkat nem lesz mivel gyógyítani. Az állatorvoslásban felelőtlenül alkalmazott antibiotikumok által kisselektált rezisztens kórokozók ugyanis bizonyítottan okozhatnak humán kórházi fertőzéseket is. Pánrezisztens kórokozók jöhetnek létre, amik egy adott antibiotikum családra rezisztensek.

A fent említett – potenciálisan multirezisztens – kórokozók érzékenységi vizsgálatának létjogosultsága van, hiszen a legtöbb megbetegedést, főleg kórházi körülmények között (nozokomiális kórokozók) ezek okozzák. Az utóbbi években végzett humán kutatások egyértelműen ezt támasztják alá. Az állatorvosi medicina területe ugyanakkor ilyen felmérésekben szegényes, hazánkban hasonló témájú felmérés nem áll rendelkezésre.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. A *Staphylococcus aureus*

A *Staphylococcus aureus* Gram-pozitív, gömb alakú baktérium. Fénymikroszkópos vizsgálattal, megfelelő nagyítással a látótérben 1  $\mu\text{m}$  nagyságú, gömb alakú baktériumokat láthatunk. Gyakran szőlőfürtszerű képleteket alkot, erre utal görög eredetű neve is, a „Staphylo”, ami szőlőfürtöt jelent. Ezek a baktériumok csillótlanak és burkuk sincs (Medveczky és mtsai., 1998).

Tenyésztésük igen egyszerű, hiszen erre nézve igénytelenek, aerob kórokozók (fakultatív anaerob). Közönséges agart használva táptalajként, 37 °C-os temperált közegben 1-3 mm-es kerek, fénylő telepeket képez. Pigmenttermelésre képes, viszont ehhez néhány napra van szüksége (Medveczky és mtsai., 1998). Tenyésztésükre gyakran Baird-Parker agart használnak (VetBact, 2017).

A *S. aureus* kataláz-pozitív kórokozó. Az egyes fajok elkülönítése hemolizáló képességük és szénhidrátbontó képességük alapján történik. Erős hemolízist okoz, bontja a mannitot, a szacharózt és a trehalózt. Számos extracelluláris enzimet termel, úgy mint koaguláz, fibrinolizin, hialuronidáz, foszfátáz, hőstabil dezoxiribonukleáz, acetoin, lipázok, valamint zselatinbontó és kazeinbontó enzimek (Medveczky és mtsai., 1998). A *Staphylococcus aureus subs. aureus* meghatározó virulencia faktorai:

- $\alpha$ -toxin (hemolizin): fehérje, sejtek széteséséhez vezet, vérlemezkék és monociták felületén található  $\alpha$ -toxin receptorokhoz kapcsolódik.
- $\beta$ -toxin (hemolizin): ez egy szfingomielináz (foszfolipáz).
- $\gamma$ -toxin (hemolizin): fehérje, a sejtek szétesését okozza.
- $\delta$ -toxin (hemolizin): egy 26 aminosavból álló peptid, biodetergens hatása van, számos sejtfele szétesését okozza.
- A-fehérje: a külső membránon található.
- koaguláz: extracelluláris fehérje, kötődik a prothrombinhoz és komplexet képez, a trombin-proteáz aktivitása megindul, így a fibrinogén fibrinné alakul.

Mindegyik *S. aureus* hordoz a felületén egy virulenciafaktornak tekinthető fehérjét, ezt protein-A-nak nevezzük. Ez a fehérje képes az immunoglobulin G (IgG) molekulák

kristályosítható részen (Fc) keresztül immunoglobulinokat megkötni (Medveczky és mtsai., 1998).

Ellenálló képessége kiváló, beszáradt váladékokban több hónapig életben marad, 60 °C-on 30 percet bír ki. A 3%-os formalin oldatot fél óráig, a 3%-os klórlúgot és a 0,5%-os szervesjód tartalmú szereket 10 percig éli túl (Medveczky és mtsai., 1998).

Főként gennyes sebfertőzések, bőrfertőzések, felső légúti fertőzések, húgyúti fertőzések kialakításában játszik szerepet, valamint külső hallójárat-gyulladást, ritkábban méhgyulladást okoz. Megfelelő immunállapot mellett természetesen is előfordul a bőrön és a garatnyálkahártyán. Emberben leggyakrabban mandulagyulladást, hörgőgyulladást, ízületi gyulladást, bőrgyulladást, valamint szívbelhártya-gyulladást okoz (Medveczky és mtsai., 1998).

Az antibiotikumok felfedezése előtt gyakran halálos kimenetelű fertőzést okozó kórokozó volt. Alexander Fleming 1928-ban fedezte fel a penicillint, ami az akkori időben hatásos antibiotikumnak bizonyult ellene. A rezisztencia viszont nagyon gyorsan kialakult, a baktériumok elkezdtek béta-laktamáz enzimeket termelni (Gálfi és mtsai., 2015).

1959-ben fedezték fel a penicillináznak ellenálló penicillinek első hatóanyagát, a meticillint. Az első rezisztens törzsek azonban hamar megjelentek erre a hatóanyagra is. A rezisztencia világviszonylatban rohamosan terjed, az Egyesült Államokban 2003-ban humán kórházakban 60 %-ban találtak meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) törzseket (Klevens, és mtsai., 2006).

A meticillin rezisztens törzsekre fejlesztették ki a glükopeptid antibiotikum vankomicint, ami elsősorban a humán gyógyászat számára fenntartott hatóanyag. Az első intermediér vankomicin-rezisztens törzsek 1997-ban jelentek meg Japánban, majd 2002-ben az USA-ban leírták az első vankomicin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (VRSA) törzset (McGuinness, 2017).

A köznyelvben az MRSA „húsevő baktériumként” szerepel (Kalmár, 2013). A humán medicinában a meticillin-rezisztencia arány meghaladja a 25%-ot. A sebészeti beavatkozások után kialakult fertőzések 19,5%-áért felelős (EARS-Net, 2015).

Németországban végeztek egy felmérést *S. aureus* rezisztencia tekintetében. 2008-2009 között több tartományban, állatgondozók háztartásában élő egészséges kutyáiból (284 db) és macskáiból (300 db) vettek orrtampon és fültampon mintákat. Penicillin esetén kutyáknál 49%-os, macskáknál 30%-os; oxacillin esetén kutyáknál 5%-

os, macskáknál 2%-os; gentamicin esetén kutyáknál 2%-os, macskáknál 0,3%-os; doxiciklin esetén kutyáknál 12%-os, macskáknál 4%-os; eritromicin esetén kutyáknál 25%-os, macskáknál 19%-os; rifampicinre mindkét fajban 0%-os és klóramfenikol esetén kutyáknál 8%-os és macskáknál 1%-os rezisztenciát állapítottak meg (Gandolfi-Decristophoris és mtsai., 2013).

Egy 2007-2012 között, egy dél-afrikai állatkórházban végzett *Staphylococcus* rezisztencia felmérés során macskákban klindamicin esetén 34,2%-os, ampicillinnel 32,4%-os, lincomycin-spectinomycin esetén 31,6%-os, penicillinnel szemben 29%-os rezisztenciát állapítottak meg. Az esetek 63%-ában egy antibiotikummal szembeni rezisztenciát, 15,8%-ban multirezisztenciát írtak le (Qekwana és mtsai., 2017).

Egy öt éves felmérés során (2010-2015) Franciaországban vizsgáltak lovakat, kutyákat és macskákat MRSA törzsekre. 130 eset közül gentamicin esetén 50%-os, klóramfenikollal 20,8%-os, tetraciklineknél 60%-os, erithromicinnel szemben 33,1%-os, enrofloxacin esetén 48,5%-os rezisztenciát állapítottak meg (Haenni és mtsai., 2017).

Egy 2017-es TDK munka során az Állatorvostudományi Egyetem Lógyógyászati Tanszék és Klinikáján vizsgálták a beérkező lovak sebváladék, hashátya, kötőhártya, orrtampon és tüdő mintáiban az MRSA rezisztenciát korongdiffúzióval. A vizsgálat során amoxicillin-klavulánsavra 75,7%-os, cefquinomra 11,4%-os, klóramfenikolra 38,9%-os, oxitetraciklinre 96,6%-os, rifampinra 20%-os, potenciált szulfonamidra 86,4%-os rezisztenciát találtak. A kutatás során Magyarországon először írták le az ST398-t011 genotípusú MRSA klónt (Morvay, 2017).

## **2.2. A *Staphylococcus pseudintermedius***

Kis kerek, 1-2 mm átmérőjű szürkésfehér, átlátszatlan telepeket képez, sima szélekkel. Gyakran ad kettős hemolízist véres agaron, teljes keskeny belső zónával és széles részleges külső zónával. Fakultatív anaerob (VetBact, 2017).

A *S. aureus*tól való elkülönítésére leggyakrabban lila agart maltózzal vagy cisztin-laktóz-elektrolit hiányos (CLED) agart használnak (VetBact, 2017).

Columbia agaron (juh vér) kettős hemolízist ad, pigmentet nem képez. A külső gyűrű  $\beta$ -hemolízis (részleges), viszont 4 °C-on tárolva (hideg-meleg hemolízis) teljes hemolízist ad (Devriese és mtsai., 2005).



A *Staphylococcus pseudintermedius* egy koaguláz pozitív faj. DNS-áz pozitív, eszculináz negatív és ureáz pozitív. A biokémiai tesztek közül Voges-Proskauer pozitív. Szénhidrátok közül bontja a D-glükózt, a laktózt, a maltózt, a szukrózt, a trehalózt. (VetBact, 2017)

Clumping faktorra negatívak. Pozitív acetoin,  $\beta$ -glükozidáz, arginin-dihidroláz, nitrát-redukciós, pirrolidonil-dihidroláz és ONPG ( $\beta$ -galaktozidáz) tesztre (Devriese és mtsai., 2005). Elsősorban kutyák és macskák dermatitisét és otitis externáját okozza, ezen kívül kimutatták jelentőségét pyoderma, endometritis és cystitis esetén is (VetBact, 2017). A többi *Staphylococcus* fajtól való elkülönítése csupán 2005-ben történt meg, molekuláris (tRNS)technikákkal (Devriese és mtsai., 2005).

Hollandiában végeztek 2009-2010 között egy felmérést, kutyatartók háztartásainak a környezetéből vett mintákban vizsgálták a meticillin-rezisztens *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) jelenlétét. 236 mintából 43-ban találták meg az MRPS jelenlétét, tehát az előfordulása 18,2%-os volt (Laarhoven és mtsai., 2011).

Az első meticillin-rezisztens *S. pseudintermedius* törzs kimutatása egy külső hallójárat-gyulladásban szenvedő kutyából történt 2015-ben Nyugat-Indiában. 2 év alatt 114 kutyát vizsgáltak meg, belőlük 65 koaguláz pozitív *Staphylococcus* törzset izoláltak. Ezeknek 58,5%-a neomicinre, 49,2%-a streptomycinre, 49,2%-a penicillinre, 44,6%-a polimixinre B-re volt rezisztens. Továbbá 32,3%-a doxiciklinre, 23,1%-a norfloxacinra, 20%-a amoxicillin-klavulánsavra, 20%-a ciprofloxacinra, 18,5%-a enrofloxacinra, 16,9%-a gentamicinre, 9,2%-a cefalotinra volt rezisztens. A minták közül 40 (61,5%) volt 3 vagy annál több antibiotikumra rezisztens, 10 minta (15,4%) pedig minden vizsgált antibiotikumra. A fajazonosítás polimeráz láncreakció (PCR) segítségével történt, amely során a 65 mintából 23 minta (35,4%) volt *S. pseudintermedius*. A mecA gén elemzése során 2 *S. pseudintermedius* lett oxacillin rezisztens (Dziva és mtsai., 2015).

Az első *S. pseudintermedius* okozta zoonotikus fertőzést 2017-ben publikálták. Skóciában egy 47 éves férfi fertőződött meg Husky kutyáitól. A tulajdonos homlokán egy súlyos ekcéma-szerű elváltozás alakult ki, valamint kisebb elváltozások a hasán és a lábán. A sebből vett bakteriológiai mintából fajazonosítást követően *Clostridium perfringens* és *S. pseudintermedius* (PCR vizsgálattal) mutattak ki. A páciens flucloxacillint (500 mg), penicillint (500 mg), klór-fenint (4 mg) és Fucibet krémet kapott, amitől teljesen felépült. Viszont a kutyáin is azonosították a *S. pseudintermedius*-t, bár azok semmiféle elváltozást

nem mutattak, hiszen egy oppurtunista kórokozóról van szó. Ezután a kutyákon és a férfin talált törzsek PCR elemzése során 80%-os hasonlóságot találtak (Robb és mtsai., 2017).

### 2.3. Az *Enterococcus faecium* és *Enterococcus faecalis*

Az enterococcusok (régebben streptococcusok) gömb vagy ovális alakú, 0,5-1,0 µm nagyságú coccusok (Medveczky és mtsai., 1998).

Tenyésztésük viszonylag igényes, ehhez vérsavót, élesztőkivonatot és glükózt igényelnek. Mivel a bélflórában élnek, ezért tenyésztésükhöz 5% CO<sub>2</sub>-ot kell biztosítani, tenyésztésük 37 °C-on történik. Véres agaron 24 óra alatt 1 mm körüli fényes, élesen elhatárolódó telepeket képeznek (Medveczky és mtsai., 1998).

A *Streptococcus* fajoktól való elkülönítésüket egyértelművé teszik tulajdonságaik, jól szaporodnak mind +10 °C-on és +45 °C-on is, valamint jól tolerálják a 9,6-os pH-t, a 6,5%-os konyhasót tartalmazó táptalajt. Biokémiai tulajdonságai közül kiemelendő, hogy bontják az eszkulint, tehát feketére színezik a táptalajt (Medveczky és mtsai., 1998).

Biokémiai tulajdonságaik alapján elkülöníthetők, mivel az *E. faecalis* eltűri a telluritot, az *E. faecium* pedig nem. Az *E. faecalis* nem bontja az arabinózárt (ARA), az *E. faecium* viszont igen (Whittenbury, 1964). Továbbá az *E. faecalis* piruvát hasznosító, míg az *E. faecium* nem tudja hasznosítani azt (Day és mtsai., 2001).

A kedvezőtlen környezeti feltételek mellett is képesek túlélni, ezért a környezetben mindenhol megtalálhatók. Az intestinalis traktusban fordulnak elő leggyakrabban, éppen ezért, a fertőződés ragályfogó tárgyak útján is létrejöhet (Czirók, 1999).

Mivel fakultatív patogének, ezért gondot általában csak akkor okoznak, ha a bélflóra egyensúlya felborul és így el tudnak szaporodni. A két állatorvosi gyakorlati szempontból lényeges faj az *E. faecium* és *E. faecalis*. Ezek a bélsatornában is megtalálható, a természetes bélflóra részét képező fakultatív kórokozók (Medveczky és mtsai., 1998).

A humán medicinában a leggyakrabban izolált faj az *E. faecalis*, második helyen pedig az *E. faecium* áll. Az előbbi 25-50% közötti rezisztenciával, az utóbbi 5-10%-os rezisztenciával bír aminoglikozidokkal szemben. A sebészeti beavatkozások után kialakult fertőzések 14,5%-áért felelnek (EARS-Net, 2015).

Humán adatok alapján leggyakrabban húgyúti fertőzést, endocarditist, sebfertőzést, valamint bacteraemiát és szepszist okoznak (Poh és mtsai., 2006).

Mindkét faj az emberek és az állatok béltraktusában megtalálható, valamint mindenhol jelen van a környezetben. Bár általában ártalmatlanok, mégis nozokomiális kórokozóknak tartjuk őket. Húgyúti fertőzést, hasüregi fertőzést, sebfertőzést, endocarditist és bakteriaemiát is okozhatnak. A tengerparti környezetben gyakori kórokozók, az emberi székletben található törzsek pedig virulensebbek, mint az állati bélsárban találhatóak. Egy Puerto Rico-ban készült tanulmány során vizsgálták a strandok szennyezettségét, a talált törzsek mezőgazdasági szennyvízből, emberi székletből és állati bélsárból egyaránt származtak. A törzsek virulenciáját PCR-rel vizsgálták. A fertőződés tehát összefüggésbe hozható a nem megfelelően végzett kézmosással is (Ferguson és mtsai., 2016).

Egy 2014-es felmérés során kutyákból és macskákból vettek mintákat *Enterococcus* fajok vizsgálatára. Összesen 115 esetben állapítottak meg rezisztenciát. A 115 esetből PCR módszerrel azonosított fajok közül 42 (36,5%) volt *E. faecium* és 36 (31,3%) volt *E. faecalis*. 32 esetben (27,8%) 2-4 antibiotikumra, 68 esetben (59,1%) 5-9 antibiotikumra és 15 esetben (13%) több, mint 9 antibiotikumra találtak rezisztenciát. A legnagyobb arányú rezisztenciát tetraciklinre találták, ez 97,5% volt. Erithromicinre 81,7%-os, klóramfenikolra 61,8%-os és rifampicinre 60,8%-os rezisztenciát állapítottak meg. Ampicillinre 56,5%-os, imipenemre 56,4%-os, nitrofurantoinra 49,6%-os, gentamicinre 40,8%-os volt a rezisztencia. Ritkább volt a rezisztencia az amoxicillin, a piperacillin és penicillin tekintetében, ezeknél 39,1%, 31,2% és 30,4%-os értéket állapítottak meg. Sztreptomycinre már csak 18,2%, ciprofloxacinra pedig csupán 7,8% volt a rezisztencia (Iseppi és mtsai., 2015).

Egy 2015-ös felmérés során kutyákból és macskákból izolált *E. faecalis* minták antibiotikum rezisztenciáját vizsgálták Iránban. A minták közül penicillinre kutyák és macskák között is 0%-os, vankomicinre kutyáknál 3,8%-os, macskáknál 0%-os, eritromicin esetén kutyák és macskák esetén is 0%-os, norfloxacinra kutyáknál 15,4%-os, macskáknál 28,6%-os és ciprofloxacin esetén kutyáknál 0%-os, macskáknál 42,9%-os rezisztenciát találtak (Gulhan és mtsai., 2015).

Egy 2015-ös felmérés során Koreában egy katonai kutyakiképző iskolában vettek 65 kutya bélsarából mintát. *Enterococcus* fajokra nézték az antibiotikum rezisztenciát, életkorra lebontva. A felnőtt állatok között eritromicinre 12,50%-os, klóramfenikolra 0,00%-os, ciprofloxacinra 70,83%-os rezisztenciát találtak (Bang és mtsai., 2017).

## 2.4. A *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas aeruginosa* egy Gram-negatív baktérium. Fénymikroszkóp alatt 1,5-5 µm nagyságú, pálca alakú, egyetlen poláris csillóval rendelkező kórokozó. Polárisan még fimbriákat is találhatunk rajta. Elterjedése széles körű, a vizekben, szennyvizekben, a talajban, a növényeken és az állatok bélcsatornájában, ritkán a bőrön is megtalálhatjuk. (Medveczky és mtsai., 1998).

Tenyésztésre nem igényes, közönséges táptalajon a leggyorsabban 37 °C-on nő. Sima szélű telepeket képez, véres agaron tenyésztve β-hemolízist ad. Kétféle pigment termelésére is képes, a kék (piocianin) és a sárga (fluoreszcein) – amely közül mindkettő a táptalajba képes diffundálni – ezek keverednek, így zöld elszíneződést mutat. Viszont, ha túl sokáig hagyjuk állni a levegőn, akkor annak oxigén tartalma eloxidálja a pigmenteket, amitől barna szín keletkezik. A nemzetség elnevezése pontosan ebből, azaz a görög „Aeruge” szóból ered, ami rozsdát jelent. A táptalajokon kitenyésztett telepek jellegzetes, aromás illatot árasztanak (Medveczky és mtsai., 1998).

Biokémiai vizsgálva, kataláz pozitív, oxidáz pozitív, valamint ureáz pozitív fajról van szó. Ezen kívül a nitrátokat nitráttá redukálja. Cukorbontása közül kiemelendő a mannit, melynek átalakítása során sav keletkezik. A zselatint és a kazeint pedig hidrolizálja. Sejtfalában hőstabil antigének találhatók, amely alapján – agglutinációs próbával – számos szerocsoportot lehet elkülöníteni (Medveczky és mtsai., 1998).

Ellenálló képességéről azt kell tudni, hogy beszáradva csupán néhány napot bír ki, 60 °C-on már 1-2 perc alatt elpusztul. A fertőtlenítőszerekre szintén nagyon érzékeny. Viszont, amire figyelni kell, hogy a kvaterner ammóniumsókban képes akár elszaporodni is. A kórokozó baktériumok közül talán ennél a leggyorsabb a rezisztencia kialakulása az egyes antibiotikumokra (Medveczky és mtsai., 1998).

Mivel fakultatív kórokozó, ezért hajlamosító tényezők kellene, hogy elszaporodjon. Humán vonalon leginkább az égett sebekben okoz fertőzést, kötőhártyagyulladás, közép- és belső-fülgyulladás esetén találkozhatunk vele. Csecsemőknél bélgyulladásért és vérmérgezésért felelős leggyakrabban. Kuttyákban kötőhártya-gyulladás, valamint fülgyulladás esetén azonosították (Medveczky és mtsai., 1998).

Régebben kék gennybaktériumnak nevezték (*Bacterium pyocyaneus*), mivel a sebekben csak a kék (piocianin) pigmentet termeli (Medveczky és mtsai., 1998).

2012-ben a humán medicinában aminoglikozid, ceftazidim, fluorokinolon, piperacillin és tazobaktám, valamint karbapenem rezisztenciáját is megállapították. A karbapenem rezisztencia 10%-os volt, a fluorokinolon, piperacillin, tazobaktám és karbapenem rezisztencia együttesen pedig elérte a 14%-ot. A sebészeti beavatkozások után kialakult fertőzések 5,4 %-áért felel (EARS-Net, 2015).

Egy 2017-ben Japánban készült tanulmány során, egy állatkórházban gyűjtöttek 200 *P. aeruginosa* mintát kutyáktól és macskáktól rezisztencia vizsgálat céljából. A kutatás során megállapították, hogy a törzsek 9%-a ciprofloxacinra, 12,5%-a cefotaximra, 4,5%-a gentamicinre, 2,5%-a amikacinra és 35,5%-a foszfomicinre volt rezisztens (Yukawa és mtsai., 2017).

## 2.5. Az érzékenységi vizsgálatra használt antibiotikumok rövid jellemzése

Az antibiotikumok felfedezését követően a baktériumok rezisztenciája is szinte azonnal megjelent. Az első antibiotikumot, a penicillin-G-t elsőként Sir Alexander Fleming fedezte fel 1928-ban. Az akkoriban gyakorta halálos kimenetelű fertőzéseket okozó *S. aureus* ellen kiváló szernek bizonyult. A rezisztencia azonban rohamosan terjedt, 1950-ben már a törzsek 40%-a, 1960-ban pedig már 80%-a mutatott rezisztenciát. Sokáig, mind a humán gyógyászatban és állatgyógyászatban használt antibiotikumok felhasználása indokolatlanul, túlzott mértékben történt. A rezisztencia ma már minden kórokozónál valamilyen szinten megfigyelhető és ez magával hozta a háziállatokban is kialakult rezisztens baktériumtörzseket, valamint a zoonózisok terjedését (Gálfi és mtsai., 2015).

Sir Alexander Fleming 1928-as felfedezése új kaput nyitott a gyógykezelések terén. Munkájával elindította a mai napig tartó antibiotikum kutatást és fejlesztést (Gálfi és mtsai., 2015). Saját szavait idézve: "Amikor 1928. szeptember 28-án kicsivel hajnal után felkeltem, egyáltalán nem terveztem, hogy a világ első antibiotikumának, vagy baktériumölőjének felfedezésével forradalmasítom az orvostudományt. Pedig, azt hiszem, éppen ezt tettem." (Pai-Dhungat and Parikh, 2015). Bár saját kutatásait 1931-ben felfüggesztette, munkáját Howard Florey és Ernst Chain fejezte be 1939-ben. Emberek gyógykezelésére először John Bumstead és Orvan Hess alkalmazta egy *Streptococcus* faj okozta septicémiában haldoklón. Világviszonylatban 1943-tól kezdték el használni. A három kutató munkájukért 1945-ben Nobel-díjat vehetett át (Gálfi és mtsai., 2015).

A **penicillin** a  $\beta$ -laktámok közé tartozó antibiotikum.  $\beta$ -laktám és tiazolidin gyűrűből épül fel, az R1-oldallánca határozza meg a spektrumát, az R2-oldallánca pedig a

farmakokinetikai tulajdonságait. A baktériumok sejtfalszintézisét gátolja, hatásmódja szerint időfüggő baktericid. A baktériumok sejtfalán található penicillin-kötő fehérjéhez (PBP) kötődik, aminek a szerkezetét viszont a baktérium mutációval meg tudja változtatni, a rezisztencia ilyen módon alakul ki ellene. Spektruma szűk, főként Gram-pozitív baktériumok ellen hatásos, a baktériumok által termelt  $\beta$ -laktamáz bontja (Gálfi és mtsai., 2015).

Az **oxacillin** egy penicillináz stabil félszintetikus penicillin. Kizárólag Gram-pozitív baktériumok ellen hat, a  $\beta$ -laktamáznak ellenáll. Savrezisztens, a csoport közül a legkevésbé lipofil, *Staphylococcus* ellen hatékony, viszont MRSA törzsekre nem hat. Per os is adható, kutyában azonban felszívódása bizonytalan, nagy egyedi különbségeket mutat (Gálfi és mtsai., 2015).

A **ceftazidim** a cefalosporinok közé tartozó, szintén  $\beta$ -laktám antibiotikum. Hatos gyűrűt tartalmaz, így a karboxil csoportja közel van a hasítási helyhez, ezáltal jobban védi a  $\beta$ -laktamáz bontása ellen. Szintén sejtfalszintézis gátló és időfüggő baktericid hatásmódú. A harmadik generációba tartozik, parenteralisan adható. Kifejezetten *P. aeruginosa* okozta súlyos fertőzések kezelésére használják a kisállatgyógyászatban (Gálfi és mtsai., 2015).

Az **imipenem**  $\beta$ -laktám vázas karbapenem, a laktám-gyűrűhöz kapcsolódó öttagú gyűrűben szénatom van (kén helyett). Nagyon széles hatásspektrummal bír (az ismert antibiotikumok közül a legszélesebb), nagyon hatékony és nagyon drága is. Úgynevezett „páncélszekrény” antibiotikum, a humán gyógyászat számára tartalékolt. MRSA ellen viszont nem hatékony (Gálfi és mtsai., 2015).

Az **aztreonam** monobaktám, a  $\beta$ -laktám-gyűrűhöz nem kapcsolódik másik gyűrű közvetlenül. Gram negatív baktériumok ellen kimagasló hatékonyságú szer. „Páncélszekrény” antibiotikum, a humán gyógyászat számára tartalékolt, végső esetben *P. aeruginosa* ellen használható (Gálfi és mtsai., 2015).

A **gentamicin** a *Micromonospora purpurea* által termelt aminoglikozid. A glikozidos kötés és az amino csoportok miatt rossz farmakokinetikával bír, vizelettel aktívan ürül. A fehérjesszintézist gátolja a 30S riboszómális alegységen, úgynevezett *misstranslatiot* okoz (félreolvasás) a fehérjesszintézis során. Így értelmetlen fehérje szintetizálódik a sejtmembránban, a baktérium pedig szétesik. Koncentrációfüggő baktericid hatásmóddal bír, zavarja az elektrontranszportot, mRNS, tRNS lebomlást indukál. Az egyik leghatékonyabb és leggyakrabban használt aminoglikozid (Gálfi és mtsai., 2015).

A **tobramicin** szerkezetileg dezoxi-kanamycin. Tulajdonságaiban a gentamicinre hasonlít. A leghatékonyabb aminoglikozid *P. aeruginosa* ellen és *Staphylococcus* ellen is hatékony. A hallást és egyensúlyozást a leginkább károsító aminoglikozid, ezért elsősorban topikálisan (szemcsepp) alkalmazzuk (Gálfi és mtsai., 2015).

A **doxiciklin** egy tartós hatású félszintetikus tetraciklin. 4 benzolgyűrűből épül fel, lipofil és jó a felszívódása, sárga színű vegyület. A fehérjeszintézist gátolja a 30S riboszómális alegységen. Bakteriosztatikus hatással bír, de a vizeletben baktericid hatást is elérhet. Spektruma nagyon széles: aerobok, anaerobok, Gram-pozitív és Gram-negatív kórokozók, kivéve a *Pseudomonas* és a *Mycobacterium*. Tartós hatású, nagyobb koncentrációban a húgyhólyag sejtmembrán intenzitását is befolyásolja. Elsődlegesen választott antibiotikum Lyme-kór, chlamydiosis, anaplasmosis kezelésére, valamint a szívférgesség esetén a féreggel szimbiozisan élő *Wolbachia* elpusztítására (Gálfi és mtsai., 2015).

Az **eritromicin** a *Saccharopolyspora erythraea* által termelt makrolid. Makrociklikus lakton-gyűrűből és cukormolekulákból épül fel. Fehérjeszintézist gátol az 50S riboszómális alegységen, hatásmódja bakteriosztatikus. Az egyik legrégebbi makrolid, *Camphylobacter*, légúti fertőzések kezelésére használják (Gálfi és mtsai., 2015).

A **klóramfenikol** egy kis molekulatömegű, rendkívül lipofil vegyület. Fehérjeszintézist gátló az 50S riboszómális alegységen. Bakteriosztatikus hatású. Széles hatásspektrumú. Minden 30-60 ezredik ember érzékeny rá és dózisfüggetlen fatális kimenetelű aplasztikus anaemia alakul ki a vele történő érintkezés során. Társállatoknál ez szintén megfigyelhető. MRSA, MRSP kezelésére is használják (Gálfi és mtsai., 2015).

A **polimixin-B** a *Bacillus polymyxa* által termelt polipeptid. Rendkívül hidrophil, hatásmechanizmusa alapján a sejtmembránt detergens-szerűen feloldja. Koncentráció függő baktericid hatásmóddal bír. A lipopoliszacharidhoz (LPS) való kötődés révén feloldja azokat, így az enterotoxinokat megköti. *P. aeruginosa* okozta otitis externa kezelésére szokták használni topikálisan (Gálfi és mtsai., 2015).

A **vankomicin** egy glükopeptid. Sejtfalszintézis gátló, a D-alanin építőelemek leválását indukálja a carrier molekulákról. Első generációs időfüggő baktericid hatásmódú antibiotikum. Elsősorban MRSA és MRSP kezelésére használják. Az utóbbi két évtizedben megjelentek a VRSA és a vankomicin-rezisztens enterococcus (VRE) törzsek is (Gálfi és mtsai., 2015).

A **rifampicin** az *Amycolaptopsis mediterranei* által termelt antibiotikum felszintetikus változata. Az RNS szintézist gátolja, a DNS-függő RNS polimeráz  $\beta$ -alegységeihez kötődik. Időfüggő baktericid. MRSA kezelésére is használják, viszont a rezisztencia nagyon hamar kialakul ellene. Indukálja a máj mikroszómális enzimeit, fokozza más gyógyszerek metabolizmusát (Gálfi és mtsai., 2015).

A **szulfometoxazol** a szulfonamidok közé tartozik. A szulfonamidokat Gerhard Domagk fedezte fel 1932-ben. Az IG Farben vegyipari konszern bakteriológiai kutatóintézetében dolgozott, ahol rájött, hogy a festékanyagként használt szulfanilamid származéknak, a protozoáknak baktericid hatása van. Saját lányának életét mentette meg vele, aki véletlenül egy tüvel szúrta meg magát játék közben, aminek következtében *Streptococcus* fertőzést kapott. A penicillin elterjedése előtt a szulfonamidokat használták széles körben a fertőzések kezelésére. Felfedezéséért Gerhard 1939-ben orvosi Nobel-díjat kapott, amit azonban csak 1947-ben, a világháború után vehetett át (Jeśman és mtsai., 2011). A para-amino-benzoesav (PABA) analógja, rövid hatásidejű antibiotikum, ami kompetitív módon gátolja a PABA kapcsolódását a dihidropterát szintetáz enzimmal, ami így nem tud beépülni a folsavba. Bakteriosztatikus hatású (Gálfi és mtsai., 2015).

A **norfloxacin** a fluorokinolonok közé tartozó, kinolin kettős gyűrűből felépülő antibiotikum, aminek, a gyűrűjének a 3. pozíciójában karboxil csoport, a 4. pozíciójában egy keton csoport, a 6. pozíciójában pedig egy fluor található. A fluor jelentősen megnöveli a hatékonyságát. Hatásmechanizmusa szerint úgynevezett DNS-giráz gátló, gátolja a baktériumok DNS szintézisét, a II-es típusú (DNS szál kitekerése, szétkapcsolása, felcsavarása) és IV-es típusú (az új DNS összekapcsolása és felcsavarása) topoizoméráz kapcsolódásának a gátlása révén. Koncentrációfüggő baktericid hatásmódú. A 2.1-es generációba tartozik, szűk spektrumú antibiotikum. A **ciprofloxacin** a 2.2-es generációba tartozik, hatásspektruma jobb, *P. aeruginosa* ellen kifejezett a hatása. *Staphylococcus* ellen is hatásosan alkalmazható. Az **ofloxacin** szintén 2.2-es generációs fluorokinolon, *P. aeruginosa* ellen kifejezett a hatása. *Staphylococcus* ellen szintén hatásosan alkalmazható. A **gatifloxacin** 4. generációs fluorokinolon, széles hatásspektrumú, *P. aeruginosa* ellen hatásos, de kevésbé hatásos, mint a második generációs szerek (Gálfi és mtsai., 2015).

A **nitrofurantoin** szabad nitro csoportja révén a génekhez kötődik, genotoxikus, mutagén és karcinogén, baktericid hatású. Hatásos a Gram-negatív *E. coli*, *Salmonella*, *Mycoplasma* és a *staphylococcus* ellen. Használata enterális kórképek, húgyúti fertőzések és bőrkezelések során indikált (Gálfi és mtsai., 2015).



### 3. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásunk célja, hogy az állatorvosi gyakorlatban – nagy forgalmú kisállatklinikákon és kisállatkórházakban – felmérjük a leggyakoribb problémát okozó bakteriális, esetlegesen multirezisztens törzsek jelenlétét. A téma aktualitását bizonyítja, hogy ilyen jellegű szakmai publikációban a magyar állatorvoslás igencsak hiányt szenved. A kutatás elvégzéséhez öt budapesti kisállatklinikát, illetve kisállatkórházat kértünk fel, akik az anonimitásuk megőrzése mellett beleegyeztek a vizsgálatba.

A legjelentősebb kórokozó, aminek a környezetben előforduló multirezisztens törzseit kerestük a *S. aureus*. A *S. pseudintermedius* szintén nagy jelentőséggel bír ebben a tekintetben. A természetes bélflóra alkotói közé tartozó *E. faecalis* és *E. faecium*, a bélflóra egyensúlyának felborulása során okoz jelentős megbetegedést, melynek multirezisztens törzsei szintén előfordulnak. Ezen kívül vizsgáltuk még a *P. aeruginosa* multirezisztens törzseinek (MPAE) a jelenlétét is.

A fenti kórokozók mindegyike képes állatkórházakban kialakuló, súlyos nozokomiális fertőzés kialakítására, különösen sebészi beavatkozásokon átesett állatoknál. A multirezisztens törzsek előfordulásának vizsgálata az állatkórházakban ezért kiemelkedő jelentőségű.

## 4. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 4.1. Mintavételi helyek

A felmérésben részt vevő öt klinikán, „veszéylelemzés és kritikus ellenőrzőpontok” („HACCP”) jellegű, kritikus pontokat figyelembe véve vettünk mintákat. Az egyes helyszíneken a mintavételi helyek listáját és azok megoszlását az **1-es táblázat** szemlélteti.

Hely/db	1. helyszín	2. helyszín	3. helyszín	4. helyszín	5. helyszín
Ajtókilincs	3	3	3	3	3
Billentyűzet	1	1	1	1	1
Ruházat	3	3	3	3	3
Váróterem	2	2	2	2	2
Vizsgáló	5	5	5	5	5
Műtő	5	5	5	5	5
Röntgen	2	2	2	2	2
Kórház	5	5	5	5	5
WC	1	1	1	1	1
Kéz*	2	2	2	2	2
Orr*	1	1	1	1	1
Összesen	30	30	30	30	30
mindösszesen				150 db	

\* Önkéntes alapon a dolgozók kézfelületéről és orrnyálkahártyájáról vett minták.

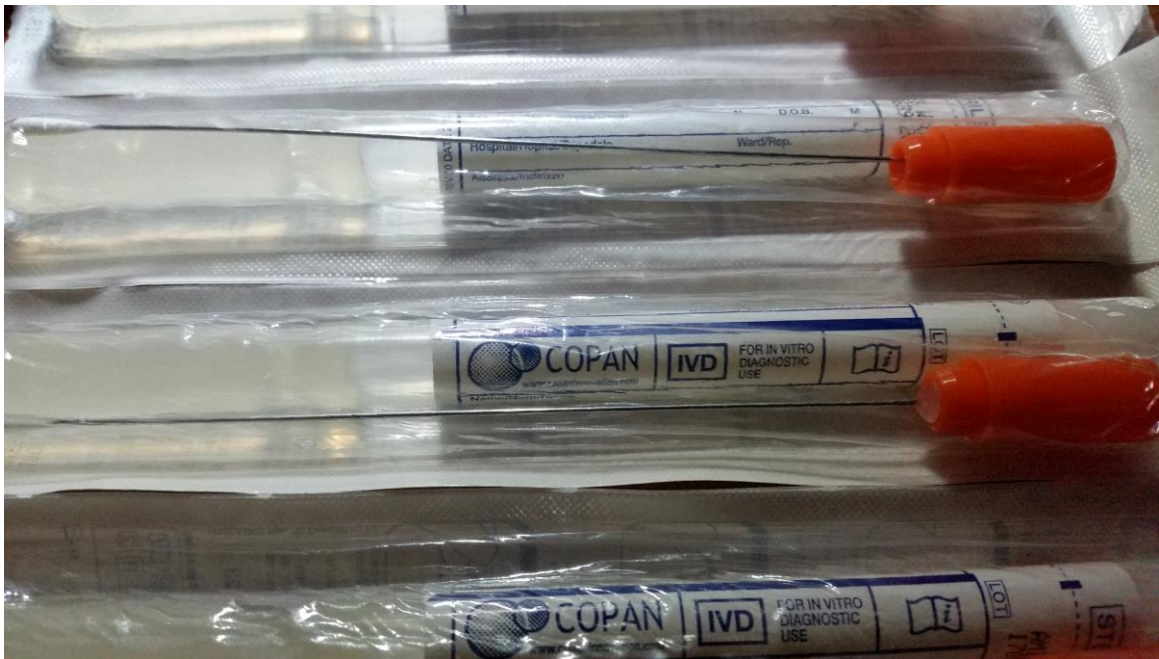
**1. táblázat.** Mintavételi helyek és mennyiségek arányos megosztása az egyes helyszíneken történt mintavétel során (Készítette: Kerek Ádám)

Mindegyik helyszínen 30 mintavétel történt. Az ajtókilincsek fertőzést közvetítő szerepe a legjelentősebb. A billentyűzet kiváló felület a vizsgált kórokozók megtelepedésére, a mintavétel különös tekintettel volt a leggyakrabban használt „space” és „enter” gombokra. A vizsgálóban használt köpeny, műtős ruha szintén kontaminálódik az állatok különféle testnedveivel, szőrével. A várakozással töltött idő során az állatok leginkább a földről és egymástól kontaminálódhatnak különféle kórokozókkal. A műtő és a röntgen helyiségében a kezelő asztalon, a padlón és a szörnyíró gépek, valamint a fonendoszkóp felületén számíthatunk leginkább baktériumok jelenlétére. A kórházi

részlegben elhelyezett állatok környezetének vizsgálata, valamint a mellékhelyiség szintén informatív lehet. Ezen kívül a klinikákon dolgozó személyzettől önkéntes alapon történt a kézfelületükről (bőr), valamint az orrnyálkahártyájukról mintavétel.

#### 4.2. A mintavétel módja

Mintavételre transzport készletet használtunk, ami Amies-típusú, szén nélküli, normál alumínium pálcás mintavevő (**1. ábra**). A mintavétel során a tampont először a transzport táptalaj zseléjébe merítettük, majd a környezetből mintát vettünk standard módon, 5x5 cm-es felületről. A transzport táptalaj 24-48 óráig biztosítja a baktériumok életben maradását, a táptalajra való átoltásnak ezen időn belül kell megtörténnie. A tenyésztéshez steril műanyag Petri-csészéket (90 x 14,2 mm, sugár sterilizált, 3 büttyös) használtunk.

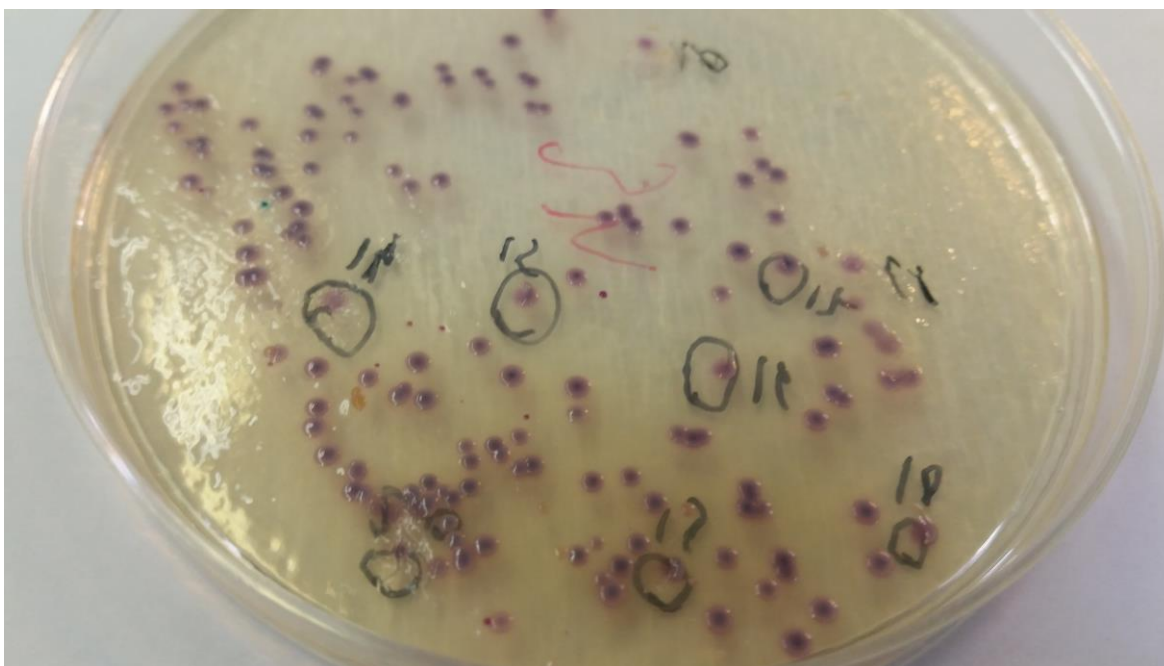


**1. ábra.** Amies-típusú mintavevő készlet transzport táptalajjal, a minták levételét követően 24-48 óráig biztosított a baktériumok túlélése (Készítette: Kerek Ádám)

#### 4.3. Chromagar Staph aureus táptalaj

A *S. aureus* tenyésztéséhez speciális, *Chromagar Staph aureus* táptalajt használtunk. Ez egy szelektív táptalaj, amely izolálásra és telepszámlálásra is alkalmas. A táptalaj hozzáadott színező szubsztrátumot tartalmaz, amely megkönnyíti az egyes kórokozók elkülönítését. A telepképzéshez mindösszesen 24 óra szükséges.

Gátlóanyagokat tartalmaz, a Gram-negatív baktériumok, az élesztőgombák és egyes Gram-pozitív coccusok szaporodásának visszaszorítására. A baktériumok a szubsztrátokból (kromogének), vízben nem oldódó színes termékeket szabadítanak fel, specifikus enzimek hidrolizáló hatására. A *S. aureus* mályvaszínű telepeket (2. ábra), a *S. saprophyticus* zöld, kékes-zöld telepeket képez, a *Proteus mirabilis* részleges vagy teljes gátlást mutat, minden más kórokozó színtelen vagy világos sárga, átlátszó, enyhén opálos telepet képez ezen a táptalajon. A *S. aureus* egyes törzsei aranysárga pigmentet termelnek, ezért a telepek lehetnek narancssárgás mályvaszínűek is.



**2. ábra.** *S. aureus* telepek mályvaszínű telepjei, bekarikázva a vizsgált telepképző egységeket (Készítette: Kerek Ádám)

A levett mintákat szélesztettük, majd inkubáltuk 20 órán át, aerob körülmények között sötétben, 37 °C-on, megfordított helyzetben, azaz agaros oldalával felfelé. A transzport táptalajról történő átoltáshoz szuszpenziót készítettünk, 1 ml steril fiziológiás sóoldattal (0,85% NaCl). A szuszpenzió sűrűsége McFarland (McF) 2-3 standard<sup>1</sup>. Ezt a szuszpenziót szélesztettük a táptalajon.

A gyártó adatai alapján a táptalaj átlagos érzékenysége 99,5%, specificitása 99,4%. A táptalaj elkészítésének a menete: A doboz tartalmát (82,5 g) 1 liter desztillált vízben kell feloldani, addig kell keverni, amíg kellően besűrűsödik, ezután autoklávba kell

<sup>1</sup> McFarland standard: A baktériumok hozzávetőleges számának megállapítására szolgál egy folyadékban, a zavarosság mértéke alapján. A 2-3 érték 6-9 x 10<sup>8</sup> db szuszpendált baktérium/ml. (McFarland J., 1907)

helyezni 5 percre 110 °C-on, ezután vízfürdőben 45-50 °C-ra kell lehűteni, majd steril Petri-csészékbe kell adagolni. Várni kell, amíg megszilárdul és megszárad, felhasználásig sötétben tároljuk, szobahőmérsékleten 1 napig, hűtőben (2-8 °C) 1 hónapig használható fel. A táptalajok öntése és szárítása steril fülke alatt történt, steril körülmények között.

A *S. pseudintermedius* szintén telepet képez a *Chromagar Staph aureus* táptalajon, ahol szintén mályvaszínű telepeket ad.

#### 4.4. PYR-teszt

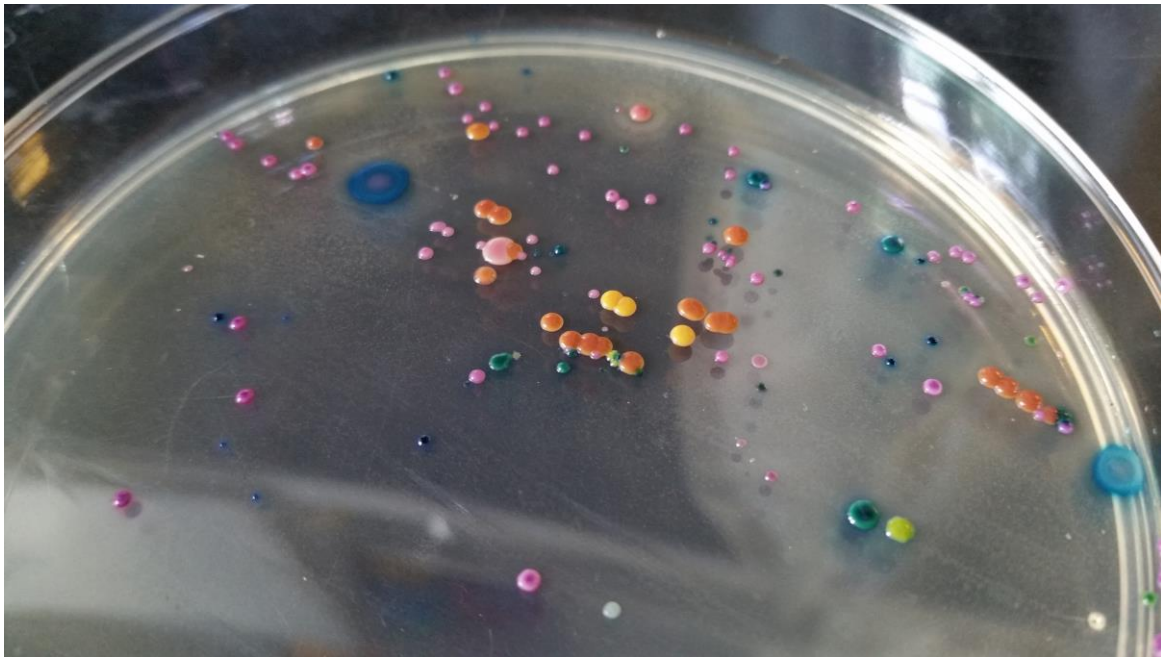
A *S. aureus* és a *S. pseudintermedius* elkülönítése pirrolidonil-aminopeptidáz-teszt (PYR) és PYR-reagens segítségével történik. A *S. aureus* negatív, a *S. pseudintermedius* pozitív reakciót ad. A teszt a pirrolidonil aril-amidáz kimutatására alkalmas, ez egy bakteriális enzim, ami hidrolizálja az 1-pirolglutaminsav-p-naftilamidot, β-naftil-aminná. Ennek jelenléte a reagensben található N,N-dimetilaminocinnamaldehyddel piros reakciót ad (Compton és mtsai., 2017). Ehhez 5 perc inkubációs időre van szükségünk, a pozitív eredményt a vörös szín megjelenése jelzi. A teszt továbbá segít kizárni az ugyancsak negatív eredményt adó *S. epidermidis* és *S. saprophyticus* fajokat is (Lubbers és mtsai., 2016).

#### 4.5. Chromagar Orientation táptalaj

Az *Enterococcus*-fajok tenyésztéséhez speciális, *Chromagar Orientation* táptalajt használtunk. Ez egy nem szelektív táptalaj, ami az enterococcusok fajok elkülönítését és telepszámlálását teszi lehetővé. A táptalaj szubsztrátokat (kromogének) tartalmaz, amelyből sajátos bakteriális enzimek hatására színes vegyületek szabadulnak fel. Az enterococcusok béta-glükozidázokkal rendelkeznek. Az *Enterococcus* fajok jó-kiváló növekedést mutatnak, kis telepeket képeznek, valamint kékeszöld-kék színűek (**3. ábra**). A táptalajon további megjelenő fajok és telepképzésük:

- *Escherichia coli*: jó-kiváló növekedés, közepes-széles telepek, sötét rózsaszínű, áttetsző telepek.
- *Enterobacter cloacae*: jó-kitűnő növekedés, közepes méretű telepek, sötétkék, lila udvarral vagy anélkül.
- *Proteus mirabilis*: jó-kiváló növekedés, közepes méretű telepek, halvány-drapp színűek, borostyánszínű - barna udvarral, rajzása részlegesen vagy teljesen gátolt.

- *Streptococcus agalactiae*: elégséges-jó növekedés, pontszerű-kicsi telepek, világos kékeszöld-világos kék színűek, udvarral vagy anélkül.
- *S. aureus*: jó-kiváló növekedés, közepes-kis méretű telepek, természetes színűek (fehér-krém).
- *S. saprophyticus*: elégséges-jó növekedés, átlátszatlanok, világos-élénk rózsaszínűek.
- egyéb baktériumok: színtelenek vagy nagyon világos borostyán színűek, áttetszők.



**3. ábra.** Az *Enterococcus* kékeszöld telepjeinek és egyéb színeképző baktériumok elkülönítése *Chromagar Orientation* táptalajon (Készítette: Kerek Ádám)

A levett mintákat szélesztettük, majd inkubáltuk 20-24 órán át, aerob körülmények között, sötétben, 35-37 °C-on, megfordított helyzetben, azaz agaros oldalával felfelé. A gyártó adatai alapján a táptalaj átlagos érzékenysége 98,5%, specificitása 97,0%.

A táptalaj elkészítésének a menete: A doboz tartalmát (33 g) 1 liter desztillált vízben kell feloldani, addig kell keverni, amíg kellően besűrűsödik, ezután forraljuk fel (100 °C) az oldatot, folyamatos keverés közben, majd autoklávba kell helyezni 15 percre 121 °C-on, ezután vízfürdőben 45-50 °C-ra kell lehűteni, majd steril Petri-csészékbe kell adagolni. Várni kell, amíg megszilárdul és megszárad, felhasználásig sötétben tároljuk, szobahőmérsékleten 1 napig, hűtőben (2-8 °C) 2 hónapig használható fel.



#### 4.6. ENC 8 teszt

Az *E. faecium* és *E. faecalis* elkülönítésére ENC 8 tesztet és alkalikus foszfatáz (PHS) reagenst használtunk. Az elkülönítéshez 9 biokémiai reakciót használhatunk fel összesen. Klasszikus 96 lyukú mikrotiter lemezen egy teszt 8 lyukat foglal el. Minden egyes lyukban víztelenített szubsztrát található. A bakteriális szuszpenzió hozzáadását követően, azok különféle anyagsere folyamataik révén színváltozást produkálnak. A bakteriális szuszpenziót 1 ml steril fiziológiás sóoldatban (0,85% NaCl) készítjük el. A szuszpenzió sűrűsége McF 2-3 standard. Minden lyukba 0,1 ml homogenizált szuszpenziót kell mérni. Az arginin (ARG) tesztet (H lyuk) 2-3 csepp parafin olajjal kell befedni. Az inkubáció 35 °C-on az inkubációs tasakban, a kiértékelés 18-24 óra múlva, az értékelő lap alapján történt, az „A” lyukba pedig PHS reagens cseppenthető, ami a 9. biokémiai reakciónak felel meg.

Az azonosítást úgynevezett oktális kód segíti, mégpedig a következő módon: a kilenc lyukat hármas csoportokra osztjuk, a pozitív eredmény esetén az első tesztet egyes (1), a második tesztet kettes (2), a harmadik tesztet négyes (4) számjeggyel látjuk el. Ezeket egymás mellé írva háromjegyű kódot kapunk. Az azonosító táblázatból a kód alapján az eredmény leolvasható. A független tesztelések alapján a módszer érzékenysége 97%-os. A színváltozást, valamint az *E. faecalis* és *E. faecium* elkülönítésének szempontjait a következő táblázat mutatja be (2. táblázat).

sor	H	G	F	E	D	C	B	A	A'
kód***	ARG	SOE	MAN	ARA	SOR	RAF	MLZ	GLR	PHS
pozitív	vörös	sárga	sárga	sárga	sárga	sárga	sárga	sárga	sárga
negatív	sárga	vörös	vörös	vörös	vörös	vörös	vörös	vörös	vörös
<i>E. faecalis</i>	+	-	+	-	+	-	(+)	-	(+)
<i>E. faecium</i>	+	-	+	+	(-)	-	-	-	-

\*\*\*A kódok a következő tesztek jelölik: ARG (arginin), SOE (szorbóz), MAN (mannit), ARA (arabinóza), SOR (szorbit), RAF (raffinóz), MLZ (melezitóza), GLR (β-glükuronidáz), PHS (alkalikus foszfatáz).

Magyarázat: a „+” 90-99%-os, a „(+)” 66-89%-os, a „(-)” 11-33%-os, a „-” 1-10%-os biztonsággal történő kiértékelést jelent. Az oktális kód *E. faecalis* esetén 520, 521, 524, 525, *E. faecium* esetén pedig 510 és 530.

**2. táblázat.** *E. faecalis* és *E. faecium* elkülönítése ENC 8 tesztel és PHS reagenssel, a színreakciók függvényében történik az oktális kód leolvasása (Készítette: Kerek Ádám)

#### 4.7. Chromagar *Pseudomonas* táptalaj

A *P. aeruginosa* tenyésztéséhez speciális, *Chromagar Pseudomonas* táptalajt használtunk. A táptalaj szubsztrátokat (kromogének) tartalmaz, amelyből sajátos bakteriális enzimek hatására színes vegyületek szabadulnak fel. A *P. aeruginosa* kékes-zöld telepeket formál (4. ábra). Továbbá telepet képeznek még a *Klebsiella* fajok, melynek színe lila. A *S. aureus*, az *E. faecalis* és az *Eserichia coli* telepképzése gátolt. A levett mintákat szélesztettük, majd inkubáltuk 24 órán át, aerob körülmények között sötétben, 37-41 °C-on, megfordított helyzetben, azaz agaros oldalával felfelé.

A táptalaj elkészítésének a menete: A doboz tartalmát (45,5 g) 1 liter desztillált vízben kell feloldani, addig kell keverni, amíg kellően besűrűsödik, ezután forraljuk fel (100 °C) folyamatos keverés közben, ezután vízfürdőben 45-50 °C-ra kell lehűteni, majd steril Petri-csészékbe kell adagolni. Várni kell, amíg megszilárdul és megszárad, felhasználásig sötétben tároljuk, szobahőmérsékleten 1 napig, hűtőben (2-8 °C) 1 hónapig használható fel.



**4. ábra.** A *Pseudomonas aeruginosa* kékes-zöld telepei jól azonosíthatók a differenciáló táptalajon (Készítette: Kerek Ádám)

#### 4.8. Korongdiffúziós érzékenységi vizsgálat

A fajazonosítást követően a minták szintenyesztése tripton-szója agaron történt, 24 órán át, 37 °C-on. A szélesztés során az azonosított baktérium telepekből megfelelő



sűrűségű szuszpenziót készítettünk és azt szélesztettük a táptalajra. Minden mintát 2 db Petri-csészére oltottunk.

A ráoltást követően történt az antibiotikum korongok ráhelyezése. Minden Petri-csészére, baktérium-fajonként eltérően 10-10 fajta korongot helyeztünk. A korongok elhelyezése egymástól azonos távolságban történt, egy Petri-csészére (9 cm-es átmérő), a Klinikai és Laboratóriumi Szabványügyi Intézet (CLSI) ajánlását figyelembe véve 5 korongot helyeztünk. A korongok tartalma a táptalajba diffundál és a vizsgált baktérium érzékenységétől függően kisebb-nagyobb mértékben gátolja a telepek növekedését. A korongok körül, ún. gátlási zónák jönnek létre, ezek átmérője alapján határozható meg az érzékenység a CLSI határértékei alapján.

A korongdiffúziós módszer alapján történő rezisztencia-vizsgálat standardizált adatok szerint történt. Ennek az iránymutatására a CLSI 26. kiadását (2018) használtuk. Az ajánlott agar rétegvastagság 3-4 mm. A baktérium telepekből steril sóoldatban (0,85% NaCl) készítettünk 0,5 McF sűrűségű szuszpenziót ( $1-2 \times 10^8$  szuszpendált baktérium/ml).

A CLSI (2018) által ajánlott standard gátlási zónák nagyságát és a vizsgált antibiotikum fajtaát a *S. aureus* esetén a **3. táblázat**, a *S. pseudintermedius* esetén a **4. táblázat**, az *E. faecium*-nál az **5. táblázat**, az *E. faecalis* esetén a **6. táblázat** és a *P. aeruginosa*-nál a **7. táblázat** mutatja.

<i>Staphylococcus aureus</i>							
Antibiotikum	Mennyisége	Zónaátmérők (mm)			MIC (µg /ml)		
		S	I	R	S	I	R
vankomicin	30 µg	>21	-	<17	<2	4 - 8	>16
oxacillin****	30 µg	>22	-	<21	<2	-	>4
szulfametoxazol	300 µg	>17	13 - 16	<12	<256	-	>512
rifampicin	5 µg	>20	17 - 19	<16	<1	2	>4
penicillin	10 units	>29	-	<28	<0,12	-	>0,25
eritromicin	15 µg	>23	14 - 22	<13	<0,5	1 - 4	>8
gentamicin	10 µg	>15	13 - 14	<12	<4	8	>16
ciprofloxacin	5 µg	>21	16 - 20	<15	<1	2	>4
doxiciklin	30 µg	>16	13 - 15	<12	<4	8	>16
klóramfenikol	30 µg	>18	13 - 17	<12	<8	16	>32

\*\*\*\*Az oxacillin CLSI (2018) ajánlása 30 µg, nekünk 10 µg-os kiszerelés állt rendelkezésünkre. S: érzékeny (susceptible), I: átmenet (intermediate), R: rezisztens (resistant).

**3. táblázat.** A *Staphylococcus aureus* rezisztencia vizsgálatára használt antibiotikumok és azok gátlási zónái (CLSI, 2018)

<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>							
Antibiotikum	Mennyisége	Zónaátmérők (mm)			MIC (µg /ml)		
		S	I	R	S	I	R
vankomicin	30 µg	>21	-	<17	<2	4 - 8	>16
oxacillin****	1 µg	>18	-	<17	<0,25	-	>0,5
szulfametoxazol	300 µg	>17	13 - 16	<12	<256	-	>512
rifampicin	5 µg	>20	17 - 19	<16	<1	2	>4
penicillin	10 units	>29	-	<28	<0,12	-	>0,25
eritromicin	15 µg	>23	14 - 22	<13	<0,5	1 - 4	>8
gentamicin	10 µg	>15	13 - 14	<12	<4	8	>16
ciprofloxacin	5 µg	>21	16 - 20	<15	<1	2	>4
doxiciklin	30 µg	>16	13 - 15	<12	<4	8	>16
klóramfenikol	30 µg	>18	13 - 17	<12	<8	16	>32

\*\*\*\*Az oxacillin CLSI (2018) ajánlása 1 µg, nekünk 10 µg-os kiszorítás állt rendelkezésünkre. S: érzékeny (susceptible), I: átmenet (intermediate), R: rezisztens (resistant).

**4. táblázat.** A *Staphylococcus pseudintermedius* rezisztencia vizsgálatára használt antibiotikumok és azok gátlási zónái korongdiffúzió és minimális gátlási koncentráció (MIC) meghatározása alapján (CLSI, 2018)

<i>Enterococcus faecium</i>							
Antibiotikum	Mennyisége	Zónaátmérők (mm)			MIC (µg /ml)		
		S	I	R	S	I	R
rifampicin	5 µg	>20	17 - 19	<16	<1	2	>4
penicillin	10 units	>15	-	<14	<8	-	>16
vankomicin	30 µg	>17	15 - 16	<14	<4	8 - 16	>32
eritromicin	15 µg	>23	14 - 22	<13	<0,5	1 - 4	>8
norfloxacin	10 µg	>17	13 - 16	<12	<4	8	>16
doxiciklin	30 µg	>16	13 - 15	<12	<4	8	>16
klóramfenikol	30 µg	>18	13 - 17	<12	<8	16	>32
ciprofloxacin	5 µg	>21	16 - 20	<15	<1	2	>4
gatifloxacin	5 µg	>18	15 - 17	<14	<2	4	>8
nitrofurantoin	300 µg	>17	15 - 16	<14	<32	64	>126

Magyarázat: S: érzékeny (susceptible), I: átmenet (intermediate), R: rezisztens (resistant).

**5. táblázat.** Az *Enterococcus faecium* rezisztencia vizsgálatára használt antibiotikumok és azok gátlási zónái (CLSI, 2018)

<i>Enterococcus faecalis</i>							
Antibiotikum	Mennyisége	Zónaátmérők (mm)			MIC (µg /ml)		
		S	I	R	S	I	R
rifampicin	5 µg	>20	17 - 19	<16	<1	2	>4
penicillin	10 units	>15	-	<14	<8	-	>16
vankomicin	30 µg	>17	15 - 16	<14	<4	8 - 16	>32
eritromicin	15 µg	>23	14 - 22	<13	<0,5	1 - 4	>8
norfloxacin	10 µg	>17	13 - 16	<12	<4	8	>16
doxiciklin	30 µg	>16	13 - 15	<12	<4	8	>16
klóramfenikol	30 µg	>18	13 - 17	<12	<8	16	>32
ciprofloxacin	5 µg	>21	16 - 20	<15	<1	2	>4
gatifloxacin	5 µg	>18	15 - 17	<14	<2	4	>8
nitrofurantoin	300 µg	>17	15 - 16	<14	<32	64	>126

Magyarázat: S: érzékeny (susceptible), I: átmenet (intermediate), R: rezisztens (resistant).

**6. táblázat.** Az *Enterococcus faecalis* rezisztencia vizsgálatára használt antibiotikumok és azok gátlási zónái (CLSI, 2018)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>							
Antibiotikum	Mennyisége	Zónaátmérők (mm)			MIC (µg /ml)		
		S	I	R	S	I	R
aztreonam	30 µg	>22	16 - 21	<15	<8	16	>32
imipenem	10 µg	>19	16 - 18	<15	<2	4	>8
gentamicin	10 µg	>15	13 - 14	<12	<4	8	>16
norfloxacin	10 µg	>17	13 - 16	<12	<4	8	>16
ofloxacin	5 µg	>16	13 - 15	<12	<2	4	>8
gatifloxacin	5 µg	>18	15 - 17	<14	<2	4	>8
tobramicin	10 µg	>15	13 - 14	<12	<4	8	>16
polimixin-B	300 units	>12	-	<11	<2	4	>6
ciprofloxacin	5 µg	>21	16 - 20	<15	<1	2	>4
ceftazidim	30 µg	>18	15 - 17	<14	<8	16	>32

Magyarázat: S: érzékeny (susceptible), I: átmenet (intermediate), R: rezisztens (resistant).

**7. táblázat.** A *Pseudomonas aeruginosa* rezisztencia vizsgálatára használt antibiotikumok és azok gátlási zónái (CLSI, 2018)

#### 4.9. Mikrohígításos vizsgálat

A korongdiffúziós teszt alapján az oxacillin és vankomicin rezisztencia vizsgálat a CLSI ajánlása alapján nem ad megbízható eredményt. Ezért oxacillin és vankomicin esetén a törzsekből minimális gátlóanyag koncentráció (MIC) meghatározást végeztünk. A MIC-

érték minimális gátló koncentrációt jelent, ami az antibiotikumnak az a legkisebb koncentrációja, ami még gátolja az adott törzsek növekedését.

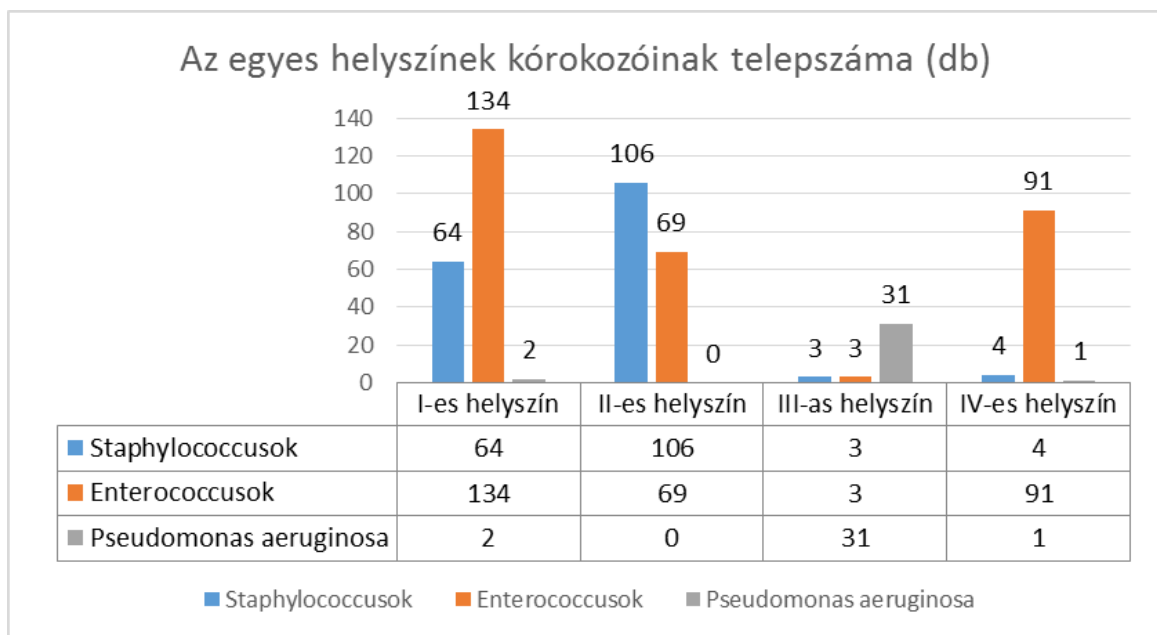
Oxacillin esetén 16-0,03125 µg/ml közötti hígítási sort készítettünk. *S. auerus* esetén érzékenynek a 2 µg/ml határértéket, rezisztensnek pedig a 4 µg/ml határértéket tekintjük. *S. pseudintermedius* esetén érzékenynek a 0,25 µg/ml határértéket, rezisztensnek pedig a 0,5 µg/ml határértéket tekintjük.

Vankomicin esetén 64-0,125 µg/ml közötti hígítási sort készítettünk. *S. auerus* esetén érzékenynek a 2 µg/ml határértéket, rezisztensnek pedig a 16 µg/ml határértéket tekintjük. (CLSI, 2018).

## 5. EREDMÉNYEK

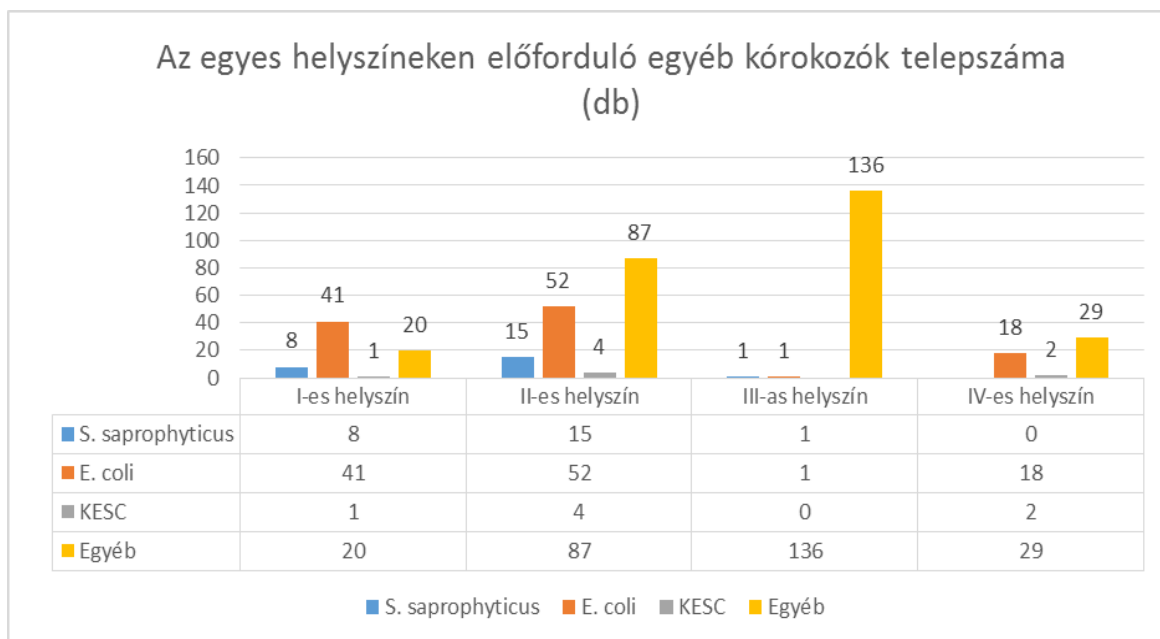
Az egyes helyszíneken a vizsgált kórokozók telepszámának megoszlását az **5. ábra** szemlélteti. Staphylococcusok esetén összesen 177 db telep, enterococcusok esetén összesen 297 db telep és *P. aeruginosa* esetén összesen 34 db telep nőtt ki a standard mintavétel során.

Az öt helyszín közül egy esetében a vett mintákból a 24 órás inkubációs idő alatt értékelhető információt nem kaptunk. 48 órás inkubációs időt várva az adatok értékelhetőek lettek volna, de a táptalajok használati útmutatója (megnövekedő fals pozitív eredmények) és az eredmények összehasonlíthatósága miatt ezektől az adatoktól eltekintettünk. Ennek a hibának az okát később kiderítettük, a tampont a mintavétel során nem merítették bele a transzport táptalaj zseléjébe, így a baktériumok tapadása a sima felületekről nem vagy alig valósulhatott meg



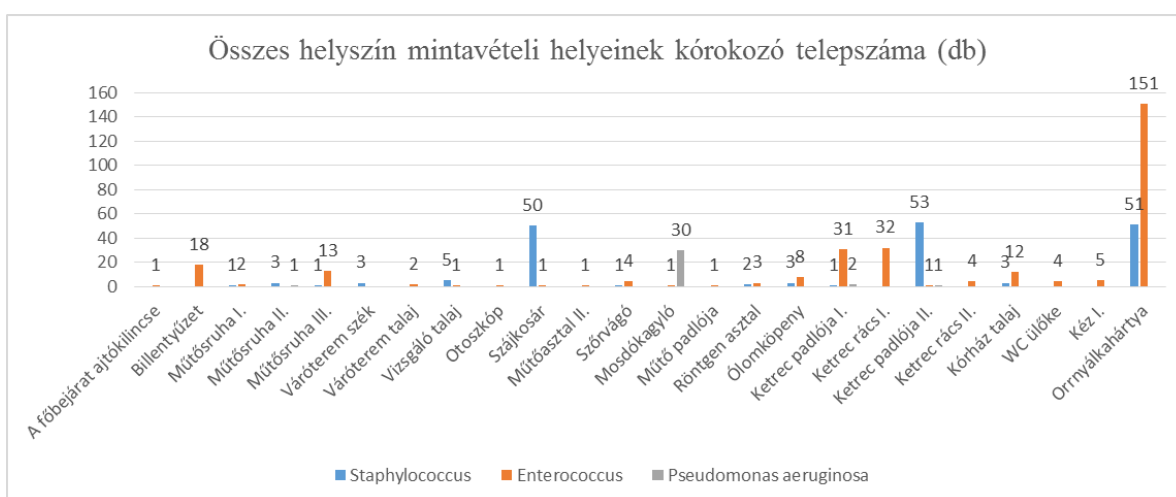
**5. ábra.** Az egyes helyszínek kórokozóinak telepszáma, jól látható, hogy a legtöbb telepet enterococcusok képezték, utána következtek a staphylococcusok és a legkevesebb telepet a *P. aeruginosa* adta (Készítette: Kerek Ádám)

Az egyes helyszíneken előforduló egyéb kórokozók telepszámát a **6. ábra** szemlélteti. *S. saprophyticus* esetén összesen 24, *E. coli* esetén összesen 112, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* vegyes telep (KESC) esetén összesen 7 és egyéb kórokozókból összesen 272 formált telepet.



**6. ábra.** Az egyes helyszínek egyéb kórokozóinak telepszáma, amely közül a legtöbb egyéb baktérium volt, ezt követte az *E. coli*, a *S. saprophyticus* és végül a KESC  
(Készítette: Kerek Ádám)

A mintavételi helyekről vett mintákból kitenyészett telepszámok alapján elmondható, hogy a legtöbb (53) *Staphylococcus* a kórházi részek padozatán, az orrnyálkahártyákon 51, a szájkosarak belső felületén 50 volt megtalálható. Az enterococcusok közül a legnagyobb mintaszám (151) az orrnyálkahártyákon volt, a ketrekrácsokon összesen 63, a billentyűzeteken 18, a kórház padozatán 12 volt megtalálható (7. ábra).

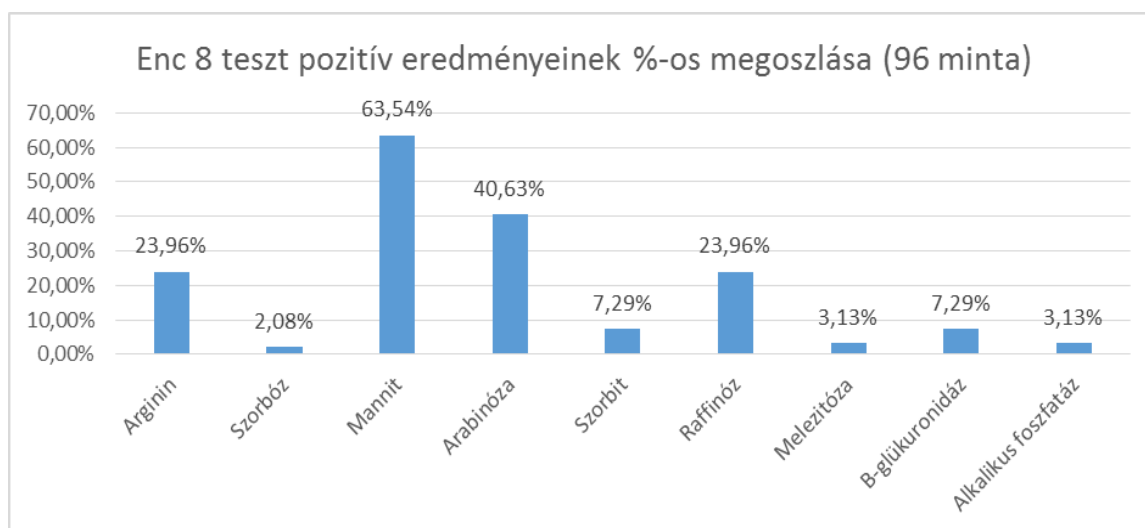


**7. ábra.** Az összes helyszín mintavételi helyeinek kórokozó telepszáma, jól látható, hogy a legtöbb kórokozó a orrnyálkahártyákon volt megtalálható (Készítette: Kerek Ádám)

Ezen kívül ki kell még emelni, hogy nagy mennyiségű *Escherichia coli* telep tenyésztett ki a szájkosarak belső felületéről (30), a kórházi padozatokról (21) és az ornyálkahártyákból (20).

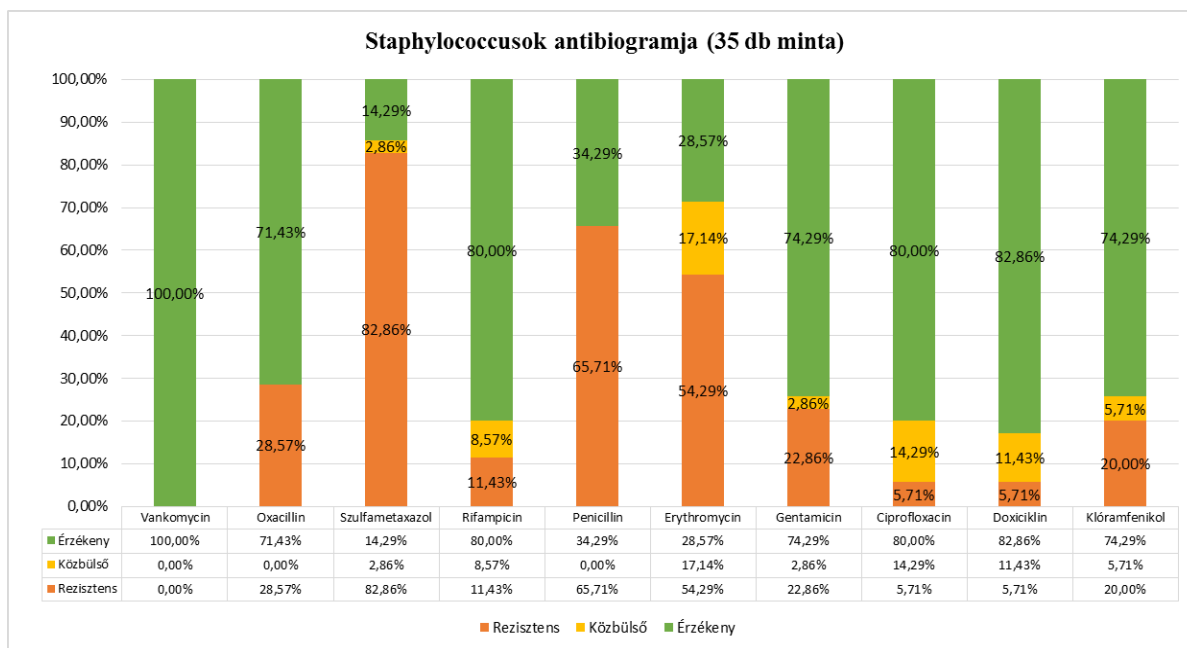
A 177 db *Staphylococcus* (mályvaszínű) telepből 35 db-ot vizsgáltunk meg PYR-teszttel. A vizsgálat eredménye alapján 22 minta bizonyult PYR pozitívnak és 13 minta PYR negatív.

Az ENC 8 tesztet a 297 *Enterococcus* (türkiz kék) telepből 96 mintán végeztük el. Az egyes pozitív biokémiai tesztek arányát az **8. ábra** mutatja. A legtöbb pozitív eredményt a mannit adta (63,54%), a legkevesebb pozitivitást pedig a szorbóz (2,08%) mutatta (**8. ábra**).



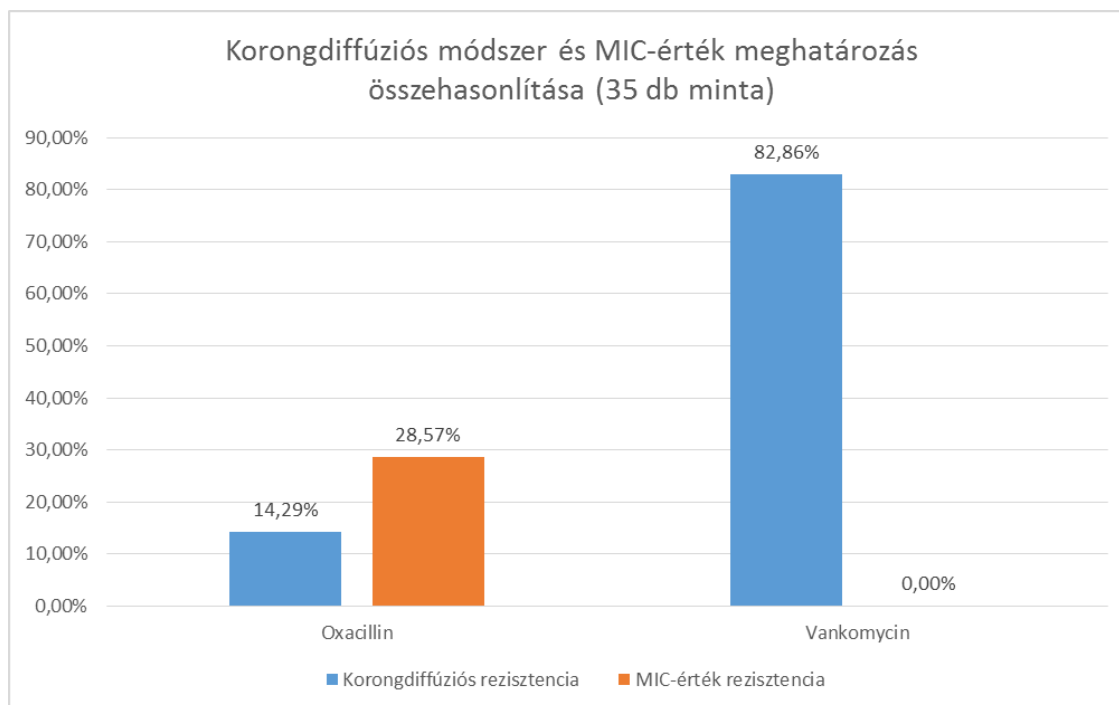
**8. ábra.** Az ENC 8 teszt pozitív eredményeinek %-os megoszlása, amelyek közül a legtöbb esetben a mannit (63,54%) és az arabinóza (40,63%) volt pozitív (Készítette: Kerek Ádám)

*Staphylococcus*ok esetén az érzékenységi eredményeket a **9. ábra** szemlélteti. A korongdiffúziós teszt alapján az oxacillin és vankomicin rezisztencia vizsgálata a CLSI ajánlása alapján nem ad megbízható eredményt. Ezért, oxacillin és vankomicin esetén a törzsekből MIC-érték meghatározást végeztünk. Az így kapott eredmények alapján elmondható, hogy vankomicin-rezisztenciát nem találtunk. Oxacillinre vizsgálva a 28,57%-os rezisztencia kizárólag *S. pseudintermedius*ra vonatkozik (MRSP). MRSA törzset nem találtunk.



**9. ábra.** A Staphylococcusok antibiotikum érzékenységi eredményei alapján látható, hogy szulfametaxazol (82,86%) és eritromicin (54,29%) találtuk a legmagasabb rezisztenciát  
(Készítette: Kerek Ádám)

Oxacillin és vankomicin esetén a korongdiffúziós és MIC-érték meghatározásos módszer összehasonlítását a **10. ábra** szemlélteti.

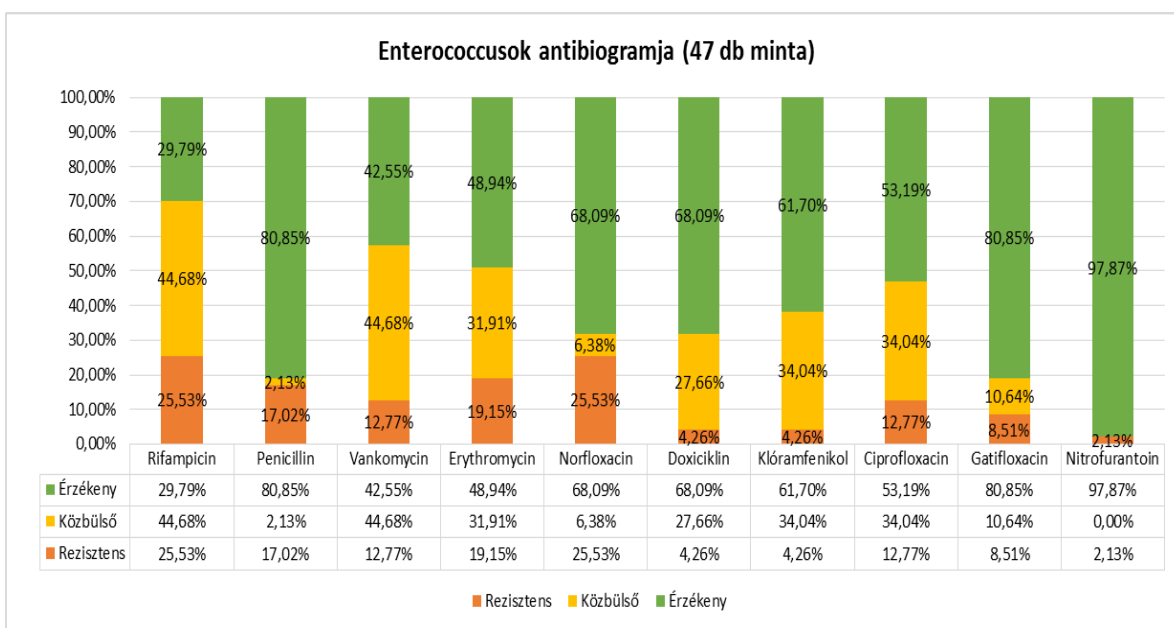


**10. ábra.** Korongdiffúziós módszer és MIC-érték meghatározás összehasonlítása, ami jól tükrözi a CLSI irányelvét, mely szerint a korongdiffúzió nem megbízható oxacillin és vankomicin esetén (Készítette: Kerek Ádám)



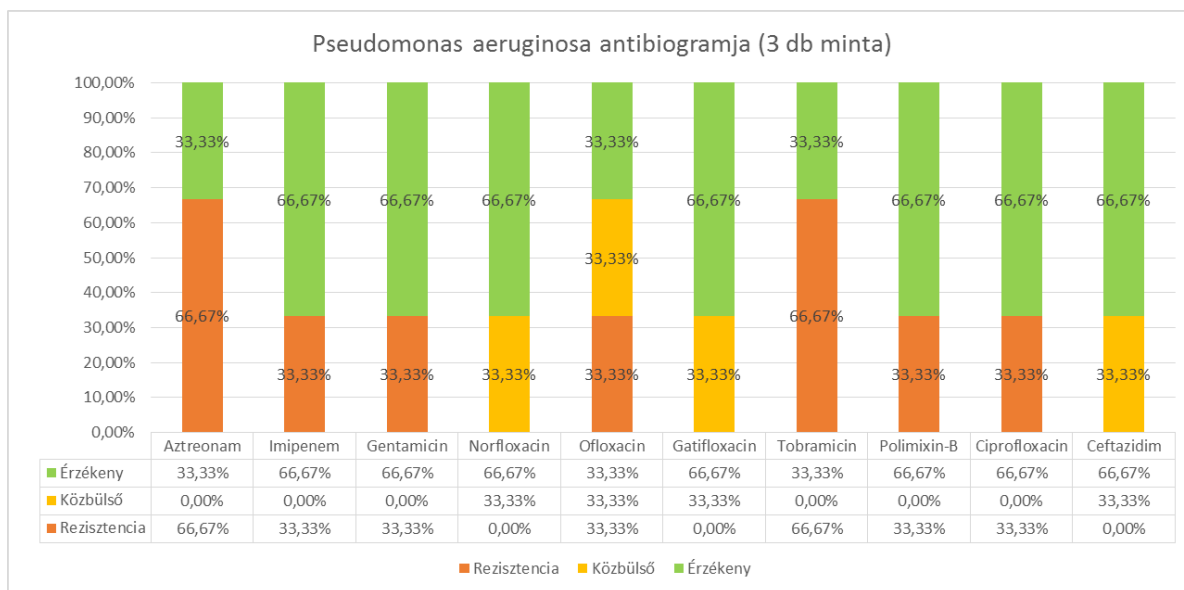
Oxacillin esetén *S. auerusnál* érzékenynek a 2 µg/ml határértéket, rezisztensnek pedig a 4 µg/ml határértéket tekintjük. *S. pseudintermedius* esetén érzékenynek a 0,25 µg/ml határértéket, rezisztensnek pedig a 0,5 µg/ml határértéket tekintjük. Vankomicin esetén *S. auerusnál* érzékenynek a 2 µg/ml határértéket, rezisztensnek pedig a 16 µg/ml határértéket tekintjük.

Az *Enterococcus* minták esetén elmondható, hogy a legmagasabb rezisztencia rifampicinre és norfloxacinra volt 25,53%. Eritromicin esetén 19,15%-os, penicillinnél 17,02%-os, vankomicin és ciprofloxacinnál 12,77%-os, gatifloxacinnál 8,51%-os, doxiciklin és klóramfenikol esetén 4,26%-os rezisztencia-arányt találtunk. A legkisebb arányú rezisztencia nitrofurantoinnál (2,13%) volt megfigyelhető (11. ábra). A nitrofurantoinra való nagyfokú érzékenység azért is kiemelendő, mert a húgyúti fertőzések rezisztenciája esetén elsődlegesen választott antibiotikum.



**11. ábra.** Az *Enterococcus*ok antibiotikum érzékenységi vizsgálat eredményei, a legmagasabb rezisztencia rifampicin (25,5%), még a legalacsonyabb nitrofurantoin (2,13%) volt kimutatható (Készítette: Kerek Ádám)

A *P. aeruginosa* minták száma minimális volt. Ezek rezisztenciája a kiemelt fontosságú aztreonam és tobramicin esetén emelendő ki (12. ábra). A minimális mintaszám ellenére kiemelendő, hogy a három minta közül egy multirezisztens (aztreonam, gentamicin, tobramicin, ciprofloxacinn rezisztencia), egy pedig pánrezisztens volt (imipenem, ofloxacin, tobramicin, polimixin-B rezisztencia).



**12. ábra.** A *Pseudomonas aeruginosa* antibiotikum érzékenység vizsgálatának eredményei, a legmagasabb rezisztencia tobramicin és aztreonam (66,67%) volt megfigyelhető és egy esetben imipenem rezisztenciát is találtunk (Készítette: Kerek Ádám)

Staphylococcusok közül 2 minta volt nyolc, 9-9 minta négy és öt, 8 minta három, 2 minta kettő és 1 minta három antibiotikumra rezisztens, 2 minta volt érzékeny minden vizsgált antibiotikumra (**8. táblázat**). Enterococcusok esetén 2 minta volt hét, 1 minta hat, 1 minta öt, 2 minta négy, 1 minta három, 19 minta egy antibiotikumra rezisztens, 17 minta mindenre érzékeny (**8. táblázat**). A *P. aeruginosa* minták közül 2 minta négy, 1 minta egy antibiotikumra volt rezisztens (**8. táblázat**).

Rezisztencia szám	Staphylococcusok	Enterococcusok	P. aeruginosa
0	2	17	0
1	3	19	1
2	11	4	0
3	4	1	0
4	11	2	2
5	2	1	0
6	1	1	0
7	1	2	0
8	0	0	0
9	0	0	0
10	0	0	0

**8. táblázat.** Az egyes kórokozók antibiotikum rezisztencia száma, látható, hogy staphylococcusok esetén a legtöbb esetben 2, illetve 4 antibiotikumra, enterococcusok esetén 0, illetve 1 antibiotikumra rezisztens törzset találtunk (Készítette: Kerek Ádám)

## 6. MEGBESZÉLÉS

A mintavevő használata során egy esetben nem mártottuk a mintavevő tampon részt a steril transzport táptalajba a mintavétel előtt. A specifikus táptalajok gyártója által ajánlott 24 órás inkubációs idő alatt ezen nem nőttek telepek. 48 órás inkubációs időt követően a telepformálás látható volt, de a magas fals pozitív eredmények elkerülése végett és az eredmények standardizálása (24 órás inkubáció) miatt ezeket az eredményeket figyelmen kívül hagytuk. Ez a szárazon történő mintavétel alacsony csíraszámával magyarázható. Elmondható, hogy a környezetből történő mintavétel során a magasabb csíraszám elérése érdekében érdemes a mintavevő tampon végét steril transzport táptalajjal nedvesíteni.

A *Chromagar Staph aureus* táptalajon mályvaszínű telepeket képez mind a *S. aureus* és a *S. indereidius*, valamint a *S. pseudindereidius* is. A *S. aureus* elkülönítése az utóbbi kettőtől PYR-tesztel lehetséges, viszont az utóbbi két faj egymástól való elkülönítése a szoros genetikai rokonság miatt kizárólag PCR-rel lehetséges.

A *Chromagar Orientation* táptalaj gyakorlati szempontból hasznosnak bizonyult, számos nem vizsgált kórokozó jelenlétére mutatott rá. Az ENC 8 biokémiai teszt jól működött, de számos *Enterococcus* faj nem volt azonosítható.

A vankomicin és oxacillin rezisztencia megállapítása *staphylococcusok* esetén a CLSI ajánlása alapján nem megbízható. Ezért ebben az esetben MIC-érték meghatározás elvégzése elengedhetetlen volt a reprezentatív eredményekhez. A *Staphylococcus* és *Enterococcus* minták száma megfelelő volt az adatok reprezentatív értékeléséhez, viszont a *P. aeruginosa* telepek száma kevés volt ahhoz, hogy abból következtetéseket tudjunk levonni.

Ugyan a témában 2017-ben készült egy hasonló TDK, ami a meticillin-rezisztens *S. aureus* jelenlétét vizsgálta, de az a ló klinikára beérkező lovak testváladékáiból vett minták alapján, MIC-érték meghatározás során vizsgálta az antibiotikum rezisztenciát és PCR-rel azonosították a törzseket (Morvay, 2017).

Németországban 2008-2009 között egészséges kutyákon és macskákon végeztek *S.auerus* antibiotikum rezisztencia felmérést (Gandolfi-Decristophoris, 2013). Penicillin esetén kutyáknál 49%-os, macskáknál 30%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 65,71%-os rezisztenciát mutattunk ki. Oxacillin esetén kutyáknál 5%-os, macskáknál 2%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 28,57%-os rezisztenciát mutattunk ki.

Gentamicin esetén kutyáknál 2%-os, macskáknál 0,3%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 22,86%-os rezisztenciát mutattunk ki. Doxiciklin esetén kutyáknál 12%-os, macskáknál 4%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 5,71%-os rezisztenciát mutattunk ki. Eritromicin esetén kutyáknál 25%-os, macskáknál 19%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 54,29%-os rezisztenciát mutattunk ki. Rifampicinre mindkét fajban 0%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 11,43%-os rezisztenciát mutattunk ki. Klóramfenikol esetén kutyáknál 8%-os és macskáknál 1%-os rezisztenciát állapítottak meg, mi a környezetben 20,00%-os rezisztenciát mutattunk ki.

Egy 2007-2012 között végzett *Staphylococcus*-rezisztencia felmérés során (Qekwana és mtsai., 2017) macskáknál penicillinre 29%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 65,71%-os rezisztenciát mutattunk ki. Az esetek 63%-ában egy antibiotikummal szembeni rezisztenciát, 15,8%-ban multirezisztenciát írtak le, mi az esetek 8,6%-ában találtunk egy antibiotikummal szembeni rezisztenciát és 85,7%-ban multirezisztenciát.

Egy ötéves franciaországi felmérés során lovak, kutyák és macskák között vizsgáltak MRSA rezisztenciát (Haenni és mtsai., 2017), klóramfenikolra 20,8%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 20,0%-os rezisztenciát mutattunk ki. Eritromicinnel szemben 33,1%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 54,29%-os rezisztenciát mutattunk ki.

Az Állatorvostudományi Egyetem Lógyógyászati Tanszék és Klinikáján végzett MRSA rezisztencia felmérés (Morvay, 2017) során klóramfenikolra 38,9%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 20,8%-os rezisztenciát mutattunk ki, rifampinra 20%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 11,43%-os rezisztenciát mutattunk ki. Hollandiában végeztek 2009-2010 között egy felmérést, kutyatartók háztartásainak a környezetéből vettek mintákat és az MRSP jelenlétét vizsgálták (Laarhoven és mtsai., 2011). 18,2%-os MRSP előfordulást találtak, mi 28,57%-os MRSP előfordulást találtunk.

Nyugat-Indiában 2 év alatt vizsgált kutyák *S. pseudintermedius* (Dziva és mtsai., 2015) rezisztenciája során penicillinre 49,2%-os, doxiciklinre 32,3%-os, gentamicinre 16,9%-os rezisztenciát állapítottak meg. A mi környezeti *Staphylococcus* mintáink penicillinre 65,71%-os, doxiciklinre 5,71%-os, gentamicinre 22,86%-os rezisztenciát mutattak. Náluk a minták közül 61,5% volt 3 vagy annál több antibiotikumra rezisztens, 15,4% pedig minden vizsgált antibiotikumra. Nálunk 54,3% volt 3 vagy annál több antibiotikumra rezisztens minta, minden antibiotikumra rezisztens törzset nem találtunk.

Egy 2014-es felmérés során kutyákból és macskákból vettek mintákat *Enterococcus*-fajok vizsgálatára (Iseppi és mtsai., 2015), eritromicinre 81,7%-os, klóramfenikolra 61,8%-os, rifampicinre 60,8%-os, nitrofurantoinra 49,6%-os, penicillinre 30,4%-os, ciprofloxacinra 7,8%-os rezisztenciát találtak. A környezeti mintáink között eritromicinre 19,15%-os, klóramfenikolra 4,26%-os, rifampicinre 25,53%-os, nitrofurantoinra 2,13%-os, penicillinre 17,02%-os, ciprofloxacinra 12,77%-os rezisztenciát találtunk. Náluk 2-4 antibiotikumra a rezisztencia 27,8%-os, 5-9 antibiotikumra 59,1%-os és 9-nél több antibiotikumra 13%-os volt. A mi környezeti mintáink között 2-4 antibiotikumra 14,9%-os rezisztenciát, 5-9 antibiotikumra 8,5%-os rezisztenciát találtunk. 9-nél több antibiotikumra rezisztenciát nem találtunk.

Egy 2015-ös felmérés során kutyákból és macskákból izolált *E. faecalis* minták antibiotikum rezisztenciáját vizsgálták Iránban (Gulhan és mtsai., 2015). Penicillinre kutyák és macskák között is 0%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 17,02%-os rezisztenciát mutattunk ki. Vankomicinre kutyáknál 3,8%-os, macskáknál 0%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 12,77%-os rezisztenciát mutattunk ki. Eritromicin esetén kutyák és macskák esetén is 0%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 19,15%-os rezisztenciát mutattunk ki. Norfloxacinra kutyáknál 15,4%-os, macskáknál 28,6%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 25,53%-os rezisztenciát mutattunk ki. Ciprofloxacin esetén kutyáknál 0%-os, macskáknál 42,9%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 12,77%-os rezisztenciát mutattunk ki.

Egy 2015-ös felmérés során Koreában egy katonai kutyakiképző iskolában vettek 65 kutya bélisrából mintát *Enterococcus* fajok antibiotikum rezisztenciájának vizsgálata céljából, életkorra lebontva (Bang és mtsai., 2017). A felnőtt állatok között eritromicinre 12,50%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 19,15%-os rezisztenciát mutattunk ki. Klóramfenikolra 0,00%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 4,26%-os rezisztenciát mutattunk ki. Ciprofloxacinra 70,83%-os rezisztenciát találtak, mi a környezetben 12,77%-os rezisztenciát mutattunk ki.

Egy 2017-ben Japánban készült tanulmány során (Yukawa és mtsai., 2017) állatkórházban gyűjtöttek 200 *P. aeruginosa* mintát kutyáktól és macskáktól rezisztencia vizsgálat céljából. Az ő esetükben 25 minta volt ciprofloxacinra és 9 minta gentamicinre rezisztens. A mi esetünkben a talált törzsek száma (3 db) minimális ahhoz, hogy ezt érdemben össze tudjuk hasonlítani, de találtunk ciprofloxacin és gentamicin rezisztens törzseket mi is.

## 7. ÖSSZEFOGLALÁS

Elsőként végeztünk magyarországi kisállatklinikákon felmérő rezisztencia vizsgálatot. Összesen 5 budapesti kisállatklinikán és kisállatkórházban vizsgáltuk a környezetben előforduló bakteriális kórokozók jelenlétét. Helyszínenként 30 db kritikus pontnak ítélt helyről történt a mintavétel. Egy helyszíntől eltekintve az eredmények relevánsak voltak. A táptalajokon összesen 177 db *Staphylococcus* genusba, 297 db *Enterococcus* genusba tartozó és 34 db *P. aeruginosa* telep képződött.

A mintavételi pontok közül a legkritikusabb az állatorvosok orrnyálkahártyája (202 db telep), a kórházak padlója (89 db telep), a szájkosarak (51 db telep), a kórházi ketrecek rácsai (36 db telep). A legtöbb *Staphylococcus*-telep a kórházak padlóján (53), az orrnyálkahártyákon (51) a szájkosarakon (50) volt. A legtöbb *Enterococcus*-telep az orrnyálkahártyákon (151), a ketrecek padlóján és rácsain (32-32), valamint a billentyűzeteken (18) volt. A legtöbb *P. aeruginosa* telepet a mosdókagylókban találtuk (30).

A staphylococcusok telepei közül 35 db-ot vizsgáltunk PYR-tesztel, amiből 22 pozitívnak (*S. aureus*) és 13 negatívnak (*S. pseudointermedius*) bizonyult. Az *Enterococcus*-telepek közül 96-ot vizsgáltunk meg fajazonosítás céljából ENC-8 tesztel, amely alapján 9 *E. faecium* és 2 *E. faecalis* izolátum került megállapításra. Az *E. faecium* minták a kórházi részből, a röntgenasztalról, az állatorvosok ruhájáról és a váróteremből kerültek ki, az *E. faecalis* minták pedig a röntgenasztalról és a váróteremből.

A *Staphylococcus*-minták (35) 82,86%-a szulfametoxazolra, 65,71%-a penicillinre, 54,29%-a erytromicinre, 28,57%-a oxacillinre, 22,86%-a gentamicinre rezisztens volt, a minták 20,00%-a klóramfenikolra, 11,43%-a rifampicinre, 5,71%-a ciprofloxacinra és 5,71%-a doxiciklinre volt rezisztens. Vankomicin rezisztens staphylococcusokat nem találtunk. A minták közül a mind a 7 antibiotikumra rezisztens izolátum az egyik állatorvos orrnyálkahártyáról származott. Az oxacillin rezisztencia a CLSI irányelvek szerint MIC-érték meghatározással 28,57 % (ellentétben a korongdiffúziós teszt eredményével: 14,29 %).

Az *Enterococcus*-minták (96) 25,53%-a norfloxacinra, 25,53%-a rifampicinre, 19,15%-a erytromicinre, 17,02%-a penicillinre volt rezisztens, 12,77%-a ciprofloxacinra, 12,77%-a vankomicinre, 8,51%-a gatifloxacinra, 4,26%-a doxiciklinre, 4,26%-a klóramfenikolra és 2,13%-a nitrofurantoinra volt rezisztens. Az *Enterococcus*-minták

közül a mind a 7 antibiotikumra rezisztens minták a billentyűzetről és a kórházi ketrecből kerültek ki.

A *P. aeruginosa* minták között egy törzs aztreonamra volt rezisztens, ezt a kórház padlójáról izoláltuk. Egy másik törzs multirezisztens volt (aztreonam, gentamicin, tobramicin, ciprofloxacin rezisztencia). A harmadik törzs pánrezisztens volt (imipenem, ofloxacin, tobramicin, polimixin-B rezisztencia). A *P. aeruginosa* minták közül a 4 antibiotikumra rezisztens minták a ruhaneműről és a mosdókagylóról kerültek ki.

## 8. SUMMARY

The aim of our study was to conduct a survey of resistance in companion animal veterinary clinics in Hungary, Budapest. Five small animal clinics and small animal hospitals were investigated for the presence of bacterial pathogens in the environment. Sampling took place from 30 sites critical to each location. Apart from one practice the results were relevant. A total of 177 *Staphylococcus* spp., 297 *Enterococcus* spp. and 34 *P. aeruginosa* colonies were formed on the culture media.

Of the sampling points the most critical were nasal mucosa of veterinarians (202 colonies), the hospitals' floor (89 colonies), the muzzles (51 colonies), the railing of the hospital cages (36 colonies). Most staphylococcal colonies were on hospitals floors (53 pcs), on nasal mucous membranes (51 pcs) and on the muzzles (50 pcs). Most *Enterococcus* colonies were found on nasal mucosa (151 pcs), on cages' floor on railings (32-32 pcs) and on the keyboards (18 pcs). Most *P. aeruginosa* colonies were found in the wash basins (30 pcs).

We tested 35 of the staphylococcal colonies with PYR assay, 22 of which were positive (*S. aureus*) and 13 were negative (*S. pseudointermedius*). Of the *Enterococcus* colonies, 96 were tested for species identification using ENC-8 test, which determined 9 *E. faecium* and 2 *E. faecalis* isolates. The *E. faecium* samples were taken from the hospital section, the X-ray table, the veterinarian's clothes and the waiting room, and *E. faecalis* samples from the X-ray table and the waiting room.

*Staphylococcus* samples (35 pcs) were resistant at a ratio of 82.86% to sulfamethoxazole, 65.71% to penicillin, 54.29% to erythromycin, 28.57% to oxacillin, 22.86% to gentamicin, 20.00% to chloramphenicol, 11.43% to rifampicin, 5.71% to ciprofloxacin and 5.71% to doxycycline. Vancomycin resistant staphylococci were not found. Of the samples, all 7 antibiotic-resistant isolates were derived from a veterinarian's nasal mucosa. Oxacillin resistance, according to the CLSI guidelines, was 28.57% by MIC-value determination (unlike the disc diffusion test: 14.29%).

*Enterococcus* samples (96 pcs) were resistant at a ratio of 25.53% to norfloxacin, 25.53% to rifampicin, 19.15% to erythromycin, 17.02% to penicillin, 12.77% to ciprofloxacin, 12.77% to vancomycin, 8.51% to gatifloxacin, 4.26% to doxycycline, 4.26% to chloramphenicol and 2.13% to nitrofurantoin. Of the *Enterococcus* samples, resistant to each of the seven antibiotics were isolated from the keyboard and from the hospital cage.



Among *P. aeruginosa* samples a strain was resistant to aztreonam, it was isolated from the floor of the hospital. Another strain was multi-resistant (aztreonam, gentamicin, tobramycin, ciprofloxacin resistance). The third strain was pan-resistant (imipenem, ofloxacin, tobramycin, polymyxin-B resistance). Of the *P. aeruginosa* samples, four antibiotic-resistant samples were found on the laundry and the wash basin.

## 9. IRODALOMJEGYZÉK

- 1) Bang Kiman, An Jae-Uk, Kim Woohyun, Dong Hee-Jin, Kim Junhyung, Cho Seongbeom, 2017: Antibiotic resistance patterns and genetic relatedness of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from military working dogs in Korea. *Journal of Veterinary Science*, 18(2): 229–236.
- 2) Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-eighth Informational Supplement. M100-S21, Wayne, PA, USA: *CLSI*.
- 3) Compton Samantha T., Kania Stephen A., Robertson Amy E., Lawhon Sara D., Jenkins Stephen G., Westblade Lars F., Bemis David A., 2017: Evaluation of Pyrrolidonyl Arylamidase Activity in *Staphylococcus delphini*. *Journal of Clinical Microbiology*, Mar; 55(3): 859–864.
- 4) Czírók Éva, 1999: *Klinikai és járványügyi bakteriológia*. Budapest: Melánia Kiadó.
- 5) Day A.M., Sandoe J.A.T., Cove J.H., Phillips-Jones M.K., 2001: Evaluation of biochemical test scheme for identifying clinical isolates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Letters in Applied Microbiology*, 33, 392-396.
- 6) Devriese Luc A., Vancanneyt Marc, Baele Margo, Vaneechoutte Mario, De Graef Evelyne, Snauwaert Cindy, Cleenwerck Ilse, Dawyndt Peter, Swings Jean, Decostere Annemie, Haesebrouck Freddy, 2005: *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 1569-1573.
- 7) Dziva Francis, BVSc, Wint Crystal, Auguste Tennille, Heeraman Carolyn, Dacon Cherrelle, Yu Priscilla, Koma Lee M., 2015: First identification of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains among coagulase-positive staphylococci isolated from dogs with otitis externa in Trinidad, West Indies. *Infection Ecology & Epidemiology*, 5: 10.3402/iee.v5.29170.
- 8) EARS-Net, 2015: Annual epidemiological report - Antimicrobial resistance and healthcare-associated infections. Stockholm, *Surveillance reports*.
- 9) Ferguson Donna M., Talavera Ginamary Negrón, Ríos Hernández Luis A., Weisberg Stephen B., Ambrose Richard F., Jay Jennifer A., 2016: Virulence Genes among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Isolated from Coastal Beaches and Human and Nonhuman Sources in Southern California and Puerto Rico. *Journal of Pathogens*, 2016: 3437214.
- 10) Gálfi Péter, Csikó György, Jerzsele Ákos, 2015: *Állatorvosi Gyógyszertan III*. Budapest, Bíró Family Nyomda és Könyvkiadó.
- 11) Gandolfi-Decristophoris Paola, Regula Gertraud, Petrini Orlando, Zinsstag Jakob, Schelling Esther, 2013: Prevalence and risk factors for carriage of multi-drug resistant *Staphylococci* in healthy cats and dogs. *Journal of Veterinary Science*, 14(4): 449–456.
- 12) Gulhan T., Boynukara B., Ciftci A., Sogut M. U., Findik A., 2015: Characterization of *Enterococcus faecalis* isolates originating from different sources for their virulence factors and genes, antibiotic resistance patterns, genotypes and biofilm production. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 16(3): 261–266.
- 13) Haenni Marisa, Châtre Pierre, Dupieux-Chabert Céline, Métayer Véronique, Bes Michèle, Madec Jean-Yves, and Frédéric Laurent, 2017: Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Horses, Cats, and Dogs Over a 5-Year Period in France. *Front Microbiol*, 8: 2493.
- 14) Iseppi Ramona, Messi Patrizia, Anacarso Immacolata, Bondi Moreno, Sabia Carla, Condò Carla, de Niederhausern Simona, 2015: Antimicrobial resistance and virulence traits in *Enterococcus* strains isolated from dogs and cats. *New Microbiologica*, 38, 369-378.
- 15) Jeśman C1, Młodzik A, Cybulska M., 2011: History of antibiotics and sulphonamides discoveries. *Pol Merkur Lekarski*. 30(179):320-2.

- 16) Kalmár Éva, 2013: A "Húsevő baktériumok" családfája. Forrás: [http://criticalbiomass.blog.hu/2013/03/05/a\\_husevo\\_bakteriumok\\_csaladfaja](http://criticalbiomass.blog.hu/2013/03/05/a_husevo_bakteriumok_csaladfaja). Megtekintve: 2018.03.25.
- 17) Klevens R.M., Edwards J.R., Tenover F.C., McDonald L.C., Horan T., Gaynes R., 2006: Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units in US hospitals 1992-2003. *Clinical Infectious Diseases*, 42. p. 389-391.
- 18) Laarhoven Laura M., de Heus Phebe, van Luijn Jeanine, Duim Birgitta, Wagenaar Jaap A., van Duijkeren Engeline, 2011: Longitudinal Study on Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Households. *PLoS One*, 6(11): e27788.
- 19) McFarland J., 1907: Nephelometer: an instrument for media used for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association*, 14:1176-8.
- 20) McGuinness Will A., Malachowa Natalia, DeLeo Frank R., 2017: Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Yale Journal of Biology Medicine*, Jun; 90(2): 269-281.
- 21) Medveczky István, Rusvai Miklós, Varga János, Tuboly Sándor, 1998: *Állatorvosi járványtan I. - Állatorvosi mikrobiológia, bakteriológia, virológia, immunológia*. Budapest, Mezőgazda kiadó.
- 22) Morvay Flóra, 2017: *A Lógyógyászati Tanszék és Klinikán izolált meticillin-rezisztens Staphylococcus aureus törzsek részletes vizsgálata*. TDK-dolgozat.
- 23) Pai-Dhungat JV, Parikh F. 2015: Sir Alexander Fleming (1881-1955). *J Assoc Physicians India*. 63(3):104
- 24) Poh CH, Oh HM, Tan Al., 2006: Epidemiology and clinical outcome of enterococcal bacteraemia in an acute care hospital. *Journal of Infection*, 52 (5):383-6.
- 25) Qekwana Daniel Nenene, Sebola Dikeledi, Oguttu James Wabwire, Odoi Agricola, 2017: Antimicrobial resistance patterns of *Staphylococcus* species isolated from cats presented at a veterinary academic hospital in South Africa. *BMC Veterinary Research*, 13:286.
- 26) Robb Andrew R, Wright Elizabeth D, Foster Adele ME, Walker Robert, Malone Colin, 2017: Skin infection caused by a novel strain of *Staphylococcus pseudintermedius* in a Siberian husky dog owner. *JMM Case Reports*, 4 (3): jmmcr005087.
- 27) VetBact, 2017: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. Forrás: <http://www.vetbact.org/index.php?artid=20>. Megtekintve: 2018.03.25.
- 28) VetBact, 2017: *Staphylococcus pseudointermedius*. Forrás: <http://www.vetbact.org/?artid=135#>. Megtekintve: 2018.03.28.
- 29) Whittenbury R., 1965: The differentiation of *Streptococcus faecalis* and *S. faecium*. *Journal of general Microbiology*, 38, 279-287.
- 30) Yukawa Shoichiro, Tsuyuki Yuzo, Sato Tomomi, Fukuda Akira, Usui Masaru, Tamura Yutaka, 2017: Antimicrobial Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Dogs and Cats in Primary Veterinary Hospitals in Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 70, 461-463.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek dr. Jerzsele Ákosnak, aki szakmai irányításával és segítségével lehetővé tette a kutatási témám megvalósulását. Köszönöm dr. Sterczer Ágnes társ-témavezetőmnek, hogy tanácsaival, útmutatásával hozzájárult a diákköri munkám elkészüléséhez.

Köszönöm dr. Gálfi Péternek, a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék vezetőjének, hogy kutatási témámat befogadta és biztosította a tanszék Mikrobiológiai Laboratóriumának használatát.

Köszönöm dr. Makrai Lászlónak, hogy szaktanácsaival útmutatást nyújtott és segített a baktérium törzsek azonosításában. Köszönet illeti dr. Somogyi Zoltánt, aki a laboratóriumi munkákban nyújtott segítséget.

A vizsgálat elvégzésében az EFOP 3.6.3 pályázat nyújtott anyagi segítséget. A kutatás az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-17-2-I-ÁTE-2 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.

Végül hálával tartozom legjobb barátomnak, Majoros Gergőnek, aki a munkám menetét végig figyelemmel kísérte és támogatásával, barátságával gördülékenyebbé tette a dolgozat elkészítését.

## KONZULENSI ELLENJEGYZÉS

Alulírott .....**dr. Jerzsele Ákos**..... Igazolom, hogy  
.....**Kerek Ádám**..... (a hallgató neve)  
.....**Kisállatklinikákon és kisállatkórházakban előforduló multirezisztens  
kórokozók jelenlétének vizsgálata** ..... című szakdolgozatát ismerem, azt beadásra és  
védezésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2019 november 22.



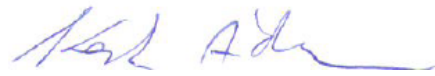
.....  
témavezető neve és aláírása

Gyógyszertani és Méregtani tanszék

## NYILATKOZAT

Alulírott.....**Kerek Ádám**.....nyilatkozom, hogy diplomadolgozatom, melynek címe.....**Kisállatklinikákon és kisállatkórházakban előforduló multirezisztens kórokozók jelenlétének vizsgálata**..... tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a....**2018**.....évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2019. november 22.



.....  
a hallgató neve és aláírása

## HuVetA

### ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT\*

Név: Kerek Ádám .....

Elérhetőség (e-mail cím): kerekadam03@gmail.com.....

A feltöltendő mű címe: Kisállatklinikákon és kisállatkórházakban előforduló  
multirezisztens kórokozók jelenlétének vizsgálata .....

A mű megjelenési adatai: TDK 2018 .....

Az átadott fájlok száma: 1 db.....

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyezik, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrészt mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (**egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel**):

- ☒ engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- ☐ az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- ☐ a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- ☐ csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, **nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:**



Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénysértő módon visszaélne.

Budapest, 2019. év november hó 22. nap

aláírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa

---

*A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutjra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgálta, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.*

*A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén*

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése, a nyílt hozzáférés támogatása.*