

Állatorvostudományi Egyetem
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

**SZARVASMARHÁKBÓL IZOLÁLT *MANNHEIMIA HAEMOLYTICA* ÉS
BIBERSTEINIA TREHALOSI TÖRZSEK ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉGI
VIZSGÁLATA**

Készítette: Kovács Fruzsina



Témavezető: Dr. Tóth Gergely
ÁTE, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék, egyetemi tanársegéd

Budapest, 2023.

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke	3
2. Összefoglalás	5
Summary	6
3. Bevezetés.....	7
4.1. A <i>Mannheimia haemolytica</i> és <i>Bibersteinia trehalosi</i> jellemzése, állatorvosi jelentősége.....	7
4.1.1. A <i>M. haemolytica</i> és <i>B. trehalosi</i> morfológiája, tenyésztése, virulenciája és ellenállóképessége	7
4.1.2. A <i>M. haemolytica</i> és <i>B. trehalosi</i> járványtana, kórfejlődése, a betegség tünetei, kórbonctani képe	8
4.1.3. <i>M. haemolytica</i> és <i>B. trehalosi</i> okozta megbetegedések megelőzési lehetőségei, gyógykezelése	10
4.2. A vizsgálatunkban résztvevő baktériumok azonosítására alkalmas módszerek.....	10
4.3. Antibiotikumokkal szemben kialakuló rezisztencia formái.....	12
4.4. A vizsgálataink során felhasznált antibiotikumok jellemzése	12
4.4.1. Amoxicillin	12
4.4.2. Ceftiofur	13
4.4.3. Enrofloxacin.....	14
4.4.4. Florfenikol.....	14
4.4.5. Gentamicin.....	14
4.4.6. Oxitetraciklin.....	15
4.4.7. Penicillin.....	15
4.4.8. Szulfametoxazol-trimetoprim	16
4.4.9. Tiamulin	16
4.4.10. Tilmikozin	16
4.4.11. Tulatromicin	17

4.5. Rezisztencia viszonyok alakulása a világban.....	17
5. Célkitűzések	22
6. Anyag és módszer	23
6.1. A vizsgálataink során használt baktériumok eredete.....	23
6.2. Minták eloszlása	24
6.3. Minimális gátló koncentráció meghatározása.....	24
6.4. Korongdiffúziós próba	27
6.5. Az eredmények értékelése és a módszerek validálása	28
7. Eredmények:	29
7.1. Minimális gátló koncentráció meghatározása során kapott eredmények ..	29
7.1.1. Amoxicillin	29
7.1.2. Ceftiofur:.....	29
7.1.3. Enrofloxacin.....	30
7.1.4. Florfenikol.....	30
7.1.5. Gentamicin.....	31
7.1.6. Oxitetraciklin.....	31
7.1.7. Penicillin.....	32
7.1.8. Szulfametoxazol-trimetoprim	32
7.1.9. Tiamulin	33
7.1.10. Tilmikozin	33
7.1.11. Tulatromicin	34
7.2. Korongdiffúziós próba során kapott eredmények	34
8. Következtetések	35
9. Irodalomjegyzék	38
10. Köszönetnyilvánítás.....	40

1. Rövidítések jegyzéke

AB: Antibiotikum

ÁDI: Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság

AMC: Amoxicillin-klavulánsav

AML: Amoxicillin

AMP: Ampicillin

B. trehalosi, B.T.: *Bibersteinia trehalosi*

BRDC: Bovine Respiratory Disease Complex, Szarvasmarha légzőszervi betegségkomplexe

CEF: Ceftiofur

ENR: Enrofloxacin

É: Érzékeny

ÉEVI: Élelmezés-egészségügyi várakozási idő

FFC: Florfenikol

GEN: Gentamicin

IM: Intramuszkuláris

IV: Intravénás

KLIN: Klindamicin

KSH: Központi Statisztikai Hivatal

LINC: Linko-spektin, Linkomicin-spektinomicin

M. haemolytica, M.H.: *Mannheimia haemolytica*

MÉ: Mérsékelten érzékeny

M. glucosida: *Mannheimia glucosida*

MIC: Minimum inhibitory concentration, minimális gátló koncentráció

MDR: Multiple Drug Resistance

MH: Mueller Hinton

MRSA: Meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus*

MRSP: Meticillin-rezisztens *Staphylococcus pseudointermedius*

NÉBIH: Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal

OTC: Oxitetraciklin

PABA: Para-amino-benzoésav

***P. haemolytica*, P.H.:** *Pasteurella haemolytica*

PBP: Penicillin Binding Protein, Penicillinkötő fehérje

PCR: Polymerase chain reaction, Polimeráz láncreakció

PEN: Penicillin-G

R: Rezisztens

ROS: Reactive Oxygen Species, Reaktív oxigén szabadgyökök

RR: Relative risk, Relatív kockázat

SC: Szubkután

SXT: Szulfametoxazol-trimetoprim

TIA: Tiamulin

TIL: Tilmikozin

T. pyogenes: *Trueperella pyogenes*

TUL: Tulatromicin

2. Összefoglalás

A *Mannheimia haemolytica* és a *Bibersteinia trehalosi* által előidézett légzőszervi megbetegedések szarvasmarhákban gyakori, jelentős gazdasági kárt okozó kórképek. Ezek leküzdésére igénybe vett antibiotikumok széleskörű használatával az antibiotikum rezisztencia mértéke is növekszik az egész világon. A hatástalanná váló kezelések következtében fennáll a veszély, hogy nem leszünk képesek kontrollálni a betegségeket. Az állattenyésztésben romlik a termelés gazdaságossága és az állati termékek biobiztonságát is egyre kevésbé lehet garantálni. Ezért mérsékelnünk kell az antibiotikumok használatát, elősegíteni a prudens antibiotikum-felhasználást. Ennek első lépése, hogy időről időre felmérjük a fennálló rezisztenciaviszonyokat és ajánlásokat fogalmazzunk meg a megfelelő szerhasználatot illetően.

Kutatásunk célja az volt, hogy meghatározzuk a magyarországi szarvasmarha-állományokban előforduló, légzőszervi betegségekből izolált *M. haemolytica* és *B. trehalosi* törzsek antibiotikum-érzékenységét két különböző módszer segítségével.

Összesen 39 magyarországi tartási helyről 46 törzset vizsgáltunk (35 db *M. haemolytica*, 10 db *B. trehalosi*, 1 db *M. glucosida*). Egy származási helyről csak külön szerotípusba tartozó törzseket válogattunk be.

Az antibiotikum érzékenységi vizsgálatot 11 antibiotikummal (amoxicillin, ceftiofur, enrofloxacin, florfenikol, gentamicin, oxitetraciklin, szulfametoxazol-trimetoprim, penicillin, tiamulin, tilmikozin, tulatromicin) végeztük el, amelyek 10 antibiotikum osztályt képviselnek. Korongdiffúziós és leveshígítós mikromódszert is alkalmaztunk és ezek eredményeit egymással összehasonlítottuk.

Vizsgálatunkban a minimális gátló koncentráció (MIC érték) meghatározása során a legtöbb baktérium érzékenységet mutatott oxitetraciklinre, enrofloxacinra, amoxicillinre, florfenikolra, gentamicinre, tilmikozinra, tulatromicinre és ceftiofurra. Oxitetraciklin, florfenikol, tulatromicin esetében a MIC értékek és a korongdiffúziós próba során kapott értékek nagymértékben korreláltak egymással. Viszont enrofloxacin, amoxicillin, gentamicin, szulfametoxazol-trimetoprim, tiamulin, tilmikozin, penicillin esetében a kapott eredmények eltértek. Ceftiofurnál a leveshígítós mikromódszer alkalmazásával találtunk rezisztens baktériumtörzseket, viszont a korongdiffúziós próba során nem. Nemzetközi vizsgálatokhoz hasonlóan a florfenikol bizonyult a legbiztonságosabb antibiotikumnak, vele szemben figyeltük meg a legkevesebb rezisztenciát mutató törzset. A tiamulin, a penicillin-G tekintetében viszont nagyfokú rezisztencia volt észlelhető.

Summary

Diseases caused by *Mannheimia haemolytica* and *Bibersteinia trehalosi* are common, with significant economic losses. With the widespread use of antibiotics to control these diseases, the rate of antibiotic resistance is increasing all over the world. Due to ineffective treatments, there is a constant risk that we will not be able to control diseases. In animal husbandry, the economy of production is decreasing, and the biosafety of animal products can be guaranteed less and less. Therefore, we have to moderate the use of antibiotics, promote prudent antibiotic use. The first step in this case to assess the existing resistance conditions from time to time and compose recommendations referring to the appropriate use of drugs.

The aim of our study was to determine antibiotic sensitivity of *Mannheimia haemolytica* and *Bibersteinia trehalosi* strains isolated from respiratory diseases in Hungarian cattle using two different methods.

We obtained our samples from a total of 39 farms in Hungary (35 *M. haemolytica*, 10 *Bibersteinia trehalosi*, 1 *M. glucosida*). Strains from different serotype were selected from one place of origin.

The antibiotic sensitivity test was performed with 11 antibiotics (amoxicillin, ceftiofur, enrofloxacin, florfenicol, gentamicin, oxytetracycline, sulfamethoxazole-trimethoprim, penicillin, tiamulin, tilmicosin and tulathromycin), which represent 10 antibiotic classes. Disk diffusion and broth dilution micro methods were also used, and their results were compared.

In our study, during determining the MIC value, most bacteria showed sensitivity to oxytetracycline, enrofloxacin, amoxicillin, florfenicol, gentamicin, tilmicosin, tulathromycin and ceftiofur. In the case of oxytetracycline, florfenicol, tulathromycin, the MIC values obtained the disc diffusion test were highly correlated. However, the results obtained in the case of enrofloxacin, amoxicillin, gentamicin, sulfamethoxazole-trimethoprim, tiamulin, tilmicosin and penicillin were divergent. In the case of ceftiofur, resistant bacterial strains were found only using the broth dilution micro method, but not during the disc diffusion test. Similar to the international studies, florfenicol proved to be the safest antibiotic, we observed the least resistant strains against it. On the other hand, a high degree of resistance was observed in the case of tiamulin and penicillin-G.

3. Bevezetés

Az általunk vizsgált két baktériumfaj, a *M. haemolytica* és *B. trehalosi* a Gram negatív baktériumok közé tartozik, melyek kérődzőkben fordulnak elő és légzőszervi kórképeket idéznek elő. Egészséges állatok normál garat- és felső légúti flórájában is előfordulnak. Ezen kórokozókkal fertőzött állatoknak rossz az általános állapotuk, étvágytalanok, leverték. Ízületgyulladás, tüdőgyulladás, esetleg vetélés is előfordulhat, főképp kiskérődzőkben. Kosoknál, bakoknál esetleg mellékheregyulladás is kialakulhat. 1-3 hónapos gidákban, bárányokban vérfertőzés, septicaemia is megjelenhet, ami az esetek többségében elhulláshoz vezet [1]. Szarvasmarhák esetében a *M. haemolytica* és *B. trehalosi* által okozott két fontosabb kórkép a shipping fever, valamint a Bovine Respiratory Disease Complex (BRDC). Az utóbbi kialakításához gyakran társul még a *Pasteurella multocida*, a *Histophilus somni*, a *Mycoplasma bovis* és a *Trueperella pyogenes* baktérium is. A BRDC világszerte az egyik legjelentősebb betegség a szarvasmarhák körében [2]. A Központi Statisztikai Hivatal adatai szerint a hazai szarvasmarha-állomány 2023-ban 876 ezer egyedre tehető. Jelentős gazdasági kár jöhet létre, ha a kialakult betegségek következtében az állatok csökkent ütemben fejlődnek, lesóványodnak, csökken a fajlagos takarmányfelhasználásuk ezáltal a vágási súlyuk, az állományon belül szétnövés tapasztalható. Emellett a mortalitás, kezelési költségek növekedése, a termelés kiesése és a hasított testérték csökkenése is számottevő gazdasági veszteséget jelent [3–5]. Tejelő tehének vemhesülési aránya, tejtermelése és élettartama is jelentősen csökkenhet [2]. Ennek elkerülése végett célszerű olyan antibiotikumok használata, amelyekkel sikeres gyógyulást érhetünk el. Ehhez szükséges, hogy tisztában legyünk az aktuális rezisztencia viszonyokkal egy adott telepi környezetben. Azonban a rezisztencia viszonyok meghatározása a laboratóriumban számos napot is igénybe vehet, amely idő alatt az adott betegség súlyosbodhat is. Ezáltal nélkülözhetetlen az antibiotikum ajánlások megalkotása, annak érdekében, hogy minél előbb megkezdhesük egy állat kezelését [6].

4. Szakirodalmi áttekintés

4.1. A *Mannheimia haemolytica* és *Bibersteinia trehalosi* jellemzése, állatorvosi jelentősége

4.1.1. A *M. haemolytica* és *B. trehalosi* morfológiája, tenyésztése, virulenciája és ellenállóképessége

A *M. haemolytica* és *B. trehalosi* is a Pasteurellaceae családba tartozó baktériumok. A Pasteurellaceae család fő képviselője a *P. multocida*, amely A és D szerotípusa vesz részt leginkább a BRDC kialakításában. A *M. haemolytica* és *B. trehalosi* Gram-negatív coccoid

pálcák, amelyek poliszacharid burokkal és fimbriával rendelkeznek, viszont csillóval nem. Tenyésztésük szempontjából igényesek, véresagaron β -hemolizálnak, a *P. multocida*-val ellentétben MacConkey agaron is nőnek. Aerob, fakultatív anaerob baktériumok, amelyek kataláz és oxidáz pozitívak. Az ellenállóképességük gyenge, hűtve, 1 hét után a saját tenyészetükben is kipusztulnak, viszont beszáradva napokig, illetve nedves környezetben hetekig is túlélnek. Élesztőt és vérsavót tartalmazó agar, illetve véresagar alkalmas leginkább a kitenyésztésükre [1]. A *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* közös antigén szerkezeti rendszert képeznek. A felületi poliszacharid antigének alapján az előbbi esetében 12, az utóbbi esetében pedig 4 szerotípust különítettünk el [7]. A *M. haemolytica*, a *B. trehalosi* és a *M. glucosida* is korábban a *P. haemolytica* fajba tartozott, viszont különválasztották őket [8]. *M. haemolytica* esetében az A1 és A2 szerotípus kolonizálja leginkább a szarvasmarhák és kiskérődzők felső légútjait. Egyes tanulmányok szerint az A1 és A6-os szerotípus mutatható ki leggyakrabban a gyulladt tüdőszövetből [9]. Az utóbbi évtizedben jelentősen megnőtt az A6-os szerotípus előfordulása [10]. Ebbe a szerotípusba tartozó baktériumok magasabb rezisztenciát is mutatnak [10]. A *B. trehalosi* esetében a T4-es szerotípus a leginkább elterjedt [7]. A *M. haemolytica*-ra jellemző a citotoxin termelés, legfontosabb virulenciafaktora a leukotoxinja, amely a kérődzők leukocitáinak és vérlemezkéinek líziséért felelős. A leukotoxin gén megállapítása polimeráz láncreakció (PCR) segítségével történik mindkét baktérium esetén [11, 12]. Ezen toxin többek között az *Escherichia coli* által termelt exoprotein család (RTX család) tagja. Az acilezett leukotoxin megkötö a kérődzők leukocitáin lévő szarvasmarha CD18-szignálszekvenciájának 5-17. aminosavait, ami sejthalálhoz vezet. Ez a citotoxicitás csak a kérődzők leukocitáira korlátozódik, mert más emlősfajok esetében nem található meg ez a szignálszekvencia. A leukotoxin mediálta neutrofil és leukocita pusztulás rontja más baktériumokkal szembeni ellenállóképességet, ezáltal fibrines tüdőgyulladás is ki tud alakulni [9]. További virulenciafaktorok közé tartoznak a külső membránfehérjék, amelyek védő immunválaszokat biztosítanak, illetve a kolonizációhoz használt adhezinek, neuraminidáz, amelyek csökkentik a légúti nyálkahártya viszkozitását, így a baktériumok könnyebben hozzáférnek a sejtfelszínhez. Ezen kívüli virulenciafaktor a lipopoliszacharid komplexük, amely vérzést, ödémát, hipoxémiát és heveny gyulladást idéz elő [13]. Illetve a fimbriák, a burok-poliszacharid, a szialoglikoproteáz és a transferrin-kötő fehérjék is meghatározott szerepet töltenek be [9].

4.1.2. A *M. haemolytica* és *B. trehalosi* járványtana, kórfejlődése, a betegség tünetei, kórbonctani képe

A *M. haemolytica* és *B. trehalosi* a meglévő hajlamosító tényezők mellett vezetnek klinikai tünetekben megnyilvánuló betegségek kialakulásához. Hajlamosító tényezők közé

tartozik a zsúfoltság, nem megfelelő takarmányozás, nem megfelelő páratartalom, stressz, más fertőző ágensek jelenléte. Ezen kórokozók a légutak nyálkahártyáin telepednek meg és a hajlamosító tényezők hatására gyengítik az állat immunrendszerét. Kommenzalista kapcsolatot tartanak fenn az állati szervezettel, amíg a körülmények meg nem változnak. A *M. haemolytica* előfordulása inkább a nasopharynx régióra tehető, míg a *B. trehalosi* a tonsillák környékén telepedik meg leginkább. A fertőződés általában különböző váladékok belélegzésével vagy pedig szájon át történik [1]. Egészséges borjaknál a belélegzett *M. haemolytica* baktériumok nagy része pár órán belül eliminálódik [9]. A *M. haemolytica* és *B. trehalosi* mellett a *M. glucosida* szintén képes szarvasmarhában tüdőgyulladás és mellhártyagyulladás kialakítására [1]. Szarvasmarhánál gyakran alakul ki az úgynevezett shipping fever, szállítási betegség *M. haemolytica* hatására, nem megfelelő szállítási körülmények mellett, valamint a szállítás okozta stressz hatására. Kimutatták, hogy a szállítás során átmenetileg megnő az állatok plazma kortizol szintje, ami elnyomja a további limfociták keletkezését [14]. Valamint a *M. haemolytica* nagy szerepet tölt be a nem megfelelő körülmények között tartott borjak légzőszervi betegség komplexének (BRDC) kialakításában. A BHV-1, a PI-3, a BVDV és a BRSV is hozzájárulhat ezen kórkép kialakulásához [15]. Az említett légzőszervi betegségek gyakori tünetei: az elesettség, láz, nehezített légzés, savós orrfolyás, köhögés, elfekvés. Súlyosabb esetekben kialakulhat fibrines pleuropneumonia, amelyet intenzív leukocita-invázió jellemez az alveolusokban. Továbbá intraalveoláris vérzés és fibrines lerakódás a tüdőben. A kórokozók fogékony egyedekben a légzőszervrendszerből kitörve akár elhulláshoz is vezető heveny septicaemiát is előidézhetnek [1]. Kórbonctani, makroszkopikus elváltozások: a tüdő elülső lebenyeinek kruppos gyulladása, fibrines pleuritis és pericarditis. Kiskérődzők esetében a *M. haemolytica* 3 hónapos kor alatt septicaemiát alakíthat ki, valamint idősebb életkorban pneumonia, ízületgyulladás és mastitis is megjelenhet. *B. trehalosi* esetében hasonló tüdőelváltozásokra lehet számítani.

Egyes tanulmányok szerint ezen kórokozókkal fertőzött egyedek kisebb mértékű önápolást folytatnak, viszont több szociális ápolást kapnak. Kevesebb időt töltenek egy másik beteg egyed ápolásával. Továbbá a borjak tőgybimbó látogatási gyakorisága csökken. Ezen látható tünetek alapján könnyebb a beteg egyedek monitorozása nagyobb tehenészetekben [16].

A kórokozók diagnosztizálása a kórbonctani kép, megfelelő bakteriológiai és szerológiai vizsgálatok együttes alkalmazásával valósul meg. Kórszövettani vizsgálatokkal a hosszan megnyúlt endothelsejtek, ún. zabsejtek utalhatnak *M. haemolytica* és *B. trehalosi*

törzsek okozta elváltozásokra kérődzőkben. Lehetőség van a Pasteurellaceae családba tartozó légúti kórokozók immunhisztokémiai kimutatására is [17].

4.1.3. *M. haemolytica* és *B. trehalosi* okozta megbetegedések megelőzési lehetőségei, gyógykezelése

Számos országban elterjedt főképp a hízóállatok körében a vakcinázás lehetősége, a megelőzés érdekében. Inaktivált kórokozókat, vagy inaktivált leukotoxint tartalmaznak ezen vakcinák. 4 hetes korban célszerű ismételt vakcinázást alkalmazni. Ezen vakcinák hatékonysága általában nem túl erős, viszont, ahol megtörtént kétszer a vakcináció, ott esetleges fertőzések megjelenésekor kevesebb elhullott egyeddel kellett számolni [1]. A vakcinák szerotípus-specifikusak, ezért is fontos az adott telepen előforduló szerotípusok ismerete. Mivel szarvasmarhában a juhokkal ellentétben leginkább 3 szerotípus (A1, A2, A6) okoz megbetegedést, így egy-egy vakcinát szélesebb körben lehet használni. *B. trehalosi* szerotípusai közül a T4 a leggyakoribb. A gyakorlatban a Magyarországon elérhető vakcinák csak a *M. haemolytica* A1-es szerotípusát tartalmazzák. Egyes tanulmányok szerint *M. haemolytica* A1-es szerotípust tartalmazó vakcina használata esetén kísérletes fertőzések során némely keresztvédelem alakulhat ki a *M. haemolytica* A1 és A6, valamint a *M. haemolytica* A1 és a *B. trehalosi* között [18, 19]. Lehetőség van telepspecifikus autovakcina kifejlesztésére is.

Továbbá fontos a hajlamosító tényezők csökkentése, mivel ezen baktériumok fakultatív patogének, tehát bizonyos faktorok megléte nélkül nem okozhatnak megbetegedést. Biztosítsunk kellő területet az állatok számára, kerüljük el a zsúfoltságot. Megfelelő szellőztetés, páratartalom csökkentése, állatjólét kellő biztosítása, állati stressz csökkentése mind hozzájárul a magasabb termelési mutatók eléréséhez, ezáltal számos betegség kiküszöböléséhez. Bármilyen eltérést tapasztalunk az állatok viselkedésében, elkülönítés szükséges, hogy elkerüljük a kórokozók további terjedését. A beteg egyedeket megfelelő antibiotikum segítségével meghatározott ideig kezelni kell, a megfelelő antibiotikum szintet legalább 7 napig fenn kell tartani [1]. Erre leginkább a makrolid típusú antibiotikumok alkalmasak, mert ioncsapdába kerülnek a tüdő szövetében és nagy koncentrációt tudnak elérni, ezáltal könnyebben pusztítják a megtelepedett baktériumokat.

4.2. A vizsgálatunkban résztvevő baktériumok azonosítására alkalmas módszerek

Egy ismeretlen tenyészet meghatározása során szintenyészetet hozunk létre és el kell végeznünk az elsődleges teszteket. Morfológiai tulajdonságok közé tartozik a Gram szerinti festődés, az alak, nagyság, képez e spórákat és van e csillója, tehát tud-e mozogni az adott baktérium. A *M. haemolytica* és *B. trehalosi* Gram- 1-2 μm -es coccoid pálcák, nem mozognak

és spórával sem rendelkeznek. Tenyésztési tulajdonságok közé tartozik, hogy aerob, anaerob módon vagy speciális légköri igények mellett (mikroaerofil, 10% CO₂) növekedik-e a kórokozó. Végezetül a biokémiai tulajdonságokra vagyunk kíváncsiak, amely a kataláz teszt, oxidáz teszt és az oxidációs-fermentációs teszt.

A *M. haemolytica* és *B. trehalosi* törzsek a Gram- baktériumok közé tartoznak, így Gram festés során rózsaszínűek lesznek. Ezáltal elkülöníthetőek a liláskék Gram+ baktériumoktól. Az egyszerű festési eljárások során, mint a toluidinkékkel történő festés, ezen baktériumok bipolárisan festődnek, ami azt jelenti, hogy csak a két végükön látszik elszíneződés [1].

A baktériumok kioltására a legalkalmasabb a vérsavót, illetve élesztőkivonatot tartalmazó véresagar, esetleg agar. Kis, közepes, nyálkás telepeket képeznek, a törzsek többségében gyenge β -hemolízis is megfigyelhető. A *B. trehalosi* esetében gyakori a nagyobb telep méret és az enyhén sárgás szín [1].

A kataláz teszt során fellépő pezsgés azt jelenti, hogy a kataláz enzim felgyorsította a H₂O₂ lebontását vízre és oxigénre. Ilyen esetben a baktérium kataláz pozitív. Ezen kívül még elvégezzük az oxidáz próbát, mellyel a citokróm oxidáz c enzim meglétét vizsgáljuk. Ennek során ha a reagensben lévő N’N’N’N’-tetrametil-p-feniléndiamin oxidálódik kék színváltozást tapasztalunk, ekkor beszélünk pozitív reakcióról. A *M. haemolytica* és *B. trehalosi* kataláz és lassan oxidáz pozitív baktériumok közé tartoznak, ritkán kataláz negatív törzsek is előfordulnak. Másodlagos tesztek közé tartoznak a cukorbontások (laktóz, glükóz, maltóz, mannit, trehalóz) és a nitrogén tartalmú anyagcseretermékek kimutatása (indol teszt, ornitin dekarboxilációs teszt). Az indol próba során azt vizsgáljuk, hogy a baktérium képes-e a triptofánt indollá, piruváttá, valamint ammóniává bontani [20]. Ezen tesztek alapján történő elkülönítést a következő táblázat tartalmazza [21].

1. táblázat *M. haemolytica* és *B. trehalosi* biokémiai elkülönítő tulajdonságai

	<i>M.</i> <i>haemolytica</i>	<i>B.</i> <i>trehalosi</i>
Glükózbontás	pozitív	pozitív
Maltózbontás	pozitív	pozitív
Mannit bontása	negatív	pozitív
Trehalóz bontása	negatív	pozitív
Indol teszt	negatív	negatív

4.3. Antibiotikumokkal szemben kialakuló rezisztencia formái

Az antibiotikumokkal szembeni rezisztencia lehet természetes (ab ovo), vagy szerzett. A természetes rezisztencia fajtái a mikroorganizmus saját maga által termelt antibiotikumokkal szembeni-, a sejtfal barrier (Gram- baktériumok lipopoliszacharid rétege) vagy a sejtfal hiánya (Mycoplasmák) miatti-, a transzport rendszer hiánya miatti- és a kötőhely hiánya miatti rezisztencia. A szerzett rezisztencia lehet vertikális, ha spontán mutációval az adott mikroorganizmusban jön létre, vagy horizontális, ha más baktériumok adják át. A rezisztencia átadásának 3 lehetősége lehet: transzdukció, konjugáció és transzformáció. A rezisztencia gén kódolási helye szerint lehet plazmidon kódolt rezisztencia, illetve kromoszómális rezisztencia. A rezisztencia mechanizmusai is eltérőek lehetnek: például ha kialakulnak bizonyos inaktíváló enzimek, amelyek elbontják a sejtbe bejutott antibiotikumokat, vagy átalakítják őket. A penicillinek esetében ilyen a β -laktamáz enzim megjelenése [22]. Továbbá, ha megváltozik a sejtfal permeabilitása és nem engedi be ezen szereket a sejt. Valamint, ha fokozódik az efflux pumpák expressziója és kipumpálják a sejtől az antibiotikumokat. A tetraciklinek tekintetében a rezisztencia gének által kódolt 12-TMS és 14 TMS efflux fehérje felelős ezért a folyamatért [22]. Esetlegesen kötőhelyek is módosulhatnak, amely során a szerek nem tudnak bekötődni a megfelelő régiókba és nem tudják kifejteni a hatásukat. Szulfonamidok esetében pedig előfordulhat, hogy az azok által blokkolt anyagcsereút helyett alternatív biokémiai utak jönnek létre, így megkerülve a gátló hatást. A biofilm képzés szintén az antibiotikumokkal szembeni, akár ezerszeres hatékonyság-csökkenést okozhat. A szubletális dózisban alkalmazott antibiotikumok oxidatív stresszt jelentenek a baktériumok számára, ami mutációt indukálhat bennük és antibiotikum rezisztencia kialakulásához vezethet [23].

4.4. A vizsgálataink során felhasznált antibiotikumok jellemzése

4.4.1. Amoxicillin

A penicillinek közé tartozik, amelyek β -laktám antibiotikumok, valamint időfüggő baktericidek. A baktericid hatás azt jelenti, hogy nem csak a baktériumok szaporodását gátolják meg, hanem el is pusztítják őket. A penicillinekkal szembeni rezisztencia leginkább ab ovo, tehát az adott baktériumok kialakulásuktól kezdve nem érzékenyek ezen szerekekkel szemben. Mindemellett megjelentek β -laktamáz termelő baktériumok is, amelyek lebontják a β -laktám gyűrűt. Ezen kívül a penicillinek a Penicillin Binding Protein-hez (PBP) kötődnek a hatásmechanizmusok során és bizonyos bakteriális kórokozók képesek ezen kötőhely megváltoztatására, azáltal, hogy a PBP-t kódoló gének mutációját vonják maguk után [23].

A penicillineken belül 4 csoportot különböztetünk meg. Szűk spektrumú penicillinek, penicillináz-stabil penicillinek, szélesített spektrumú penicillinek, Pseudomonas-ellenes

penicillinek. Az AML a szélesített spektrumú penicillinek közé tartozik. Szájon át történő felszívódása jó. A penicillinek hatásmechanizmusuk során a peptidoglikán váz szintézisének gátlását végzik. Ezt a vázat N-acetil muraminsav és N-acetil glükózamin építi fel és keresztkötések kapcsolják őket össze. Ezeket a kötések pedig transzpeptidáz és karboxipeptidáz enzimek szintetizálják. A penicillinek ezeket az enzimeket képesek gátolni [23]. Sejtfalszintézis akkor van, mikor a baktériumok osztódnak, ezáltal a penicillineket nem szabad bakteriosztatikus antibiotikumokkal kombinációban alkalmazni, mert azok gátolják az osztódást.

Antibakteriális spektrumuk elsősorban a Gram+ baktériumokra terjed ki, mivel ezek vastag peptidoglikán vázzal rendelkeznek, amelyen az antibiotikum könnyen át tud jutni. Viszont a Gram- baktériumok esetében a külső lipopoliszacharid réteg akadályozza az antibiotikum sejtfalon való áthaladását. Ezen kórokozónál a porin csatornákon keresztül képesek bejutni a sejtbe. Azonban bizonyos baktériumoknál, mint a *Pseudomonas aeruginosa* ezen csatornákból csak kevés van, így nagyobb ellenállóképességet mutatnak [23].

Az amoxicillin-klavulánsav az amoxicillin leggyakrabban használt kombinációja, mivel a klavulánsav képes a baktériumok által termelt β -laktamáz enzimek gátlására. Ezáltal az AML be tud jutni a sejtbe és a PBP-hez tud kötődni. A klavulánsav önmagában egy „suicide inhibitor”, aláveti magát a β -laktamáz enzimeknek, megvédi az AML-t. Mivel a Gram-baktériumok gyakran termelnek β -laktamázt, így ezen kórokozók által okozott fertőzésekkel szemben az AMC kombináció hasznosnak bizonyul [23].

4.4.2. Ceftiofur

β -laktám gyűrűvel rendelkező cefalosporinok közé tartozik, azonban ezt a vázat a β -laktamáz enzim kevésbé képes elbontani. Penicillinekhez hasonlóan időfüggő baktericidek. A ceftiofur a 3. generációs cefalosporinok közé tartozik, amelyek a „Highest Priority, Critical Important Antibiotics” csoport képviselői. A 3. és 4. generációs cefalosporinok a B kategóriába tartoznak az antibakteriális szerek között, ez azt jelenti, hogy körültekintő alkalmazásuk elengedhetetlen a nem kívánatos antibiotikum rezisztencia elkerülése érdekében. A cefalosporinokkal szemben kialakuló rezisztencia lehet ab ovo, ez leginkább a *Mycoplasma* és *Rickettsia* sajátossága, valamint β -laktamáz termelés szintén kialakulhat, de ez leginkább az 1. generációs cefalosporinokat veszélyeztetheti. Mindemellett PBP mutáció egyre gyakoribb, ami MRSA és MRSP fertőzéseknel jelenik meg. Ezekre nem hat egyik cefalosporin sem, illetve a penicillinek sem. Ami a hatásmechanizmusát illeti, a penicillinekhez hasonlóan a

sejtfalszintézis gátlása a célja. Dezfuroil-ceftiofur az aktív metabolitja [23]. Kérődzők esetében lábvég és légzőszervi megbetegedésekre a legjobb szerek közé tartozik.

4.4.3. Enrofloxacin

A koncentráció függő baktericid fluorokinolonok közé tartozik. Az előzőekben említett cefalosporinokhoz hasonlóan a „Highest Priority, Critical Important Antibiotics” csoport képviselői. A fluorokinolonok hatásmechanizmusa azon alapul, hogy gátolják a baktériumok DNS szintézisét, megakadályozzák, hogy a II-típusú topoizomeráz (DNS-giráz) és a IV-típusú topoizomeráz hozzákapcsolódjon a DNS-hez. Kérődzők légúti megbetegedéseinél elsősorban a 2. generációba tartozó enrofloxacint szokták alkalmazni „One shot” injekció formájában. Magasabb koncentrációban adott injekció következtében rendkívül gyors pusztítást lehet elérni, Gram- baktériumokkal szemben való alkalmazás esetén endotoxin sokk kialakulásának a veszélye áll fenn. Erre a *M. haemolytica* kimondottan érzékeny. Rezisztencia leginkább a gyrA és a parC gének mutációjának következtében tud kialakulni [23].

4.4.4. Florfenikol

A florfenikol a bakteriosztatikus fenikolok csoportjába tartozik. Hatásmechanizmusuk során a fehérjeszintézist gátolják az 50S riboszóma alegységhez kapcsolódva. Ebből kifolyólag más 50S riboszóma alegység gátlóval együtt nem szabad alkalmazni, mint pl: makrolidok, linkozamidok, mivel antagonizálnák egymás hatását. Lipofil, kis molekulák, ezáltal a farmakokinetikai hatásuk kiváló. Mivel lipofilek, így intenzív metabolizmust okoznak a májban, májbeteg állatoknál kerüljük az alkalmazásukat. Hosszú felezési idő jellemző, kérődzőknél a leghosszabb, 48 óra is lehet. Megoszlásuk kitűnő, vér-agy gáton, vér-tej gáton és vér-prosztata gáton is átjutnak. Élelmiszertermelő állatok esetében a florfenikol bizonyult hatásosnak. Leggyakoribb indikációi: légzőszervi kórképek, lábvégbetegségek, mint a bűdössántaság. Továbbá a *Moraxella bovis* okozta fertőző keratoconjunctivitis. A florfenikolnak igen széles az antibakteriális spektruma, Gram+, Gram- aerob és anaerob baktériumok egyaránt érzékenyek. Rezisztencia kialakulása ritka, mivel az alkalmazásuk sem gyakori [23].

4.4.5. Gentamicin

A gentamicin az aminoglikozidok csoportjába tartozik, amelyek koncentrációfüggő baktericidek. Aminocsoportokat és glikozid kötéseket tartalmaznak. A bakteriosztatikus hatású spektinomycin a kivétel, mert ez nem tartalmaz glikozid kötést. Hatásmechanizmusuk során fals fehérjéket építenek be, ezáltal az adott fehérjék nem tudják ellátni a feladatukat, befolyásolják az elektrontranszportot, növelik a ROS képződését, lipidperoxidációt idéznek elő, károsítják a

sejtmembránt, valamint az RNS-lebomlást indukálják. Ahhoz, hogy be tudjanak jutni a sejtbe oxigén szükséges, emiatt anaerobokkal szemben nem hatékonyak. Spektrumuk Gram- aerobra kiterjed, ezáltal a Pasteurellaceae családdal szemben is bevethetőek. Minél több aminocsoporttal rendelkeznek annál toxikusabbak, főképp oto-és nephrotoxikusak. A fül és vese hámsajtjei rendelkeznek negatív töltésű inozitol-foszfáttal, az aminoglikozidokban lévő aminocsoportok pedig könnyen protonálódnak, így ammóniumion alakul ki belőlük. Az inozitol-foszfát és az ammóniumion pedig összekapcsolódik, ezáltal kumulálódnak a szervezetben. A vesekéregben történő felhalmozódás következtében, hosszú lesz az ÉEVI. Szájon át történő alkalmazás esetén csak akkor szívódnak fel, ha a nyálkahártya sérült [23]. Sejtfalszintézis-gátló antibiotikumokkal együtt szinergista hatást fejt ki.

4.4.6. Oxitetraciklin

A bakteriosztatikus rövid hatású tetraciklinek csoportjába tartozik. Hatásmechanizmusuk során a fehérjeszintézis gátlását végzik a 30S riboszóma alegységhez kapcsolódva. A rövid hatásidejű tetraciklinek esetében a felszívódás az közepes, a takarmány Ca és Mg tartalma befolyásolja, mivel kelátképzők. Hosszú hatású tetraciklinek, mint a doxiciklin, minociklin esetében kiváló felszívódásról és megoszlásról beszélhetünk. Az oxitetraciklin megoszlása is jó, csontba is képes penetrálni. Antimikrobiális spektruma kiterjed Gram+ és Gram-, aerob és anaerob baktériumokra egyaránt. Használata elég gyakori, ezáltal jelentős mértékű rezisztencia kialakult már ezzel az antibiotikummal szemben. Leggyakoribb a gátolt felvétel, illetve az efflux pumpák fokozott expressziója. Ab ovo rezisztenciát mutat a *Pseudomonas aeruginosa*. Tápigényes Gram- kórokozókkal szemben (*Pasteurella*, *Mannheimia*, *Bibersteinia*, *Actinobacillus*) többségében még hatékonyak bizonyult [23].

4.4.7. Penicillin

A penicillin a β -laktám antibiotikumok csoportjába tartozik, amelyet leginkább Gram+ baktériumok okozta betegségek kezelésére alkalmaznak. Hatásmechanizmusuk a peptidoglikán váz szintézisének a gátlása. A vázat keresztkötések kötik össze, amelyeket a karboxipeptidáz és transzpeptidáz enzimek szintetizálják. Ezeket az enzimeket tudják gátolni a penicillinek. Vele szemben előforduló rezisztencia válfajok közé tartozik a sejtfal permeabilitásának a csökkenése, tehát a baktérium nem engedi be az antibiotikumot, így az nem tudja kifejteni a hatását. Gyakori rezisztencia mechanizmus még a β -laktamáz enzimnek a termelése és a kötőhely megváltoztatása. Vizsgálatunk során a legismertebb penicillint, a penicillin-G-t alkalmaztuk, amely más néven a benzilpenicillin. Parenterálisan alkalmazható szer, mivel, ha szájon át adnánk a bélben lévő baktériumok által termelt penicillináz elbontaná. A

benzilpenicillin a természetes penicillinek közé tartozik, csak úgy, mint a fenoximetilpenicillin, másnéven penicillin-V és a prokain benzil-penicillin [23].

4.4.8. Szulfametoxazol-trimetoprim

Szulfonamid és diaminopirimidin kombináció. A szulfonamidok a bakteriosztatikus vegyületek közé tartoznak. A folsavszintézis gátlását végzik, azáltal, hogy kompetitív módon megakadályozzák a PABA kapcsolódását a dihidropteroát-szintetáz enzimhez. Így a PABA nem tud beépülni és nem alakul ki dihidrofolsav, ezáltal zavart szenved a purinbázisok szintézise, ezen keresztül pedig a DNS-szintézis. A diaminopirimidineket az állatorvoslásban szinte kizárólag csak kombinációban alkalmazzák szulfonamidokkal. Ezt a kombinációt potenciált szulfonamidoknak nevezzük és 5:1 arányban alkalmazható (szulfonamid: diaminopirimidin). Külön-külön bakteriosztatikus, együtt alkalmazva pedig időfüggő baktericid hatást fejtenek ki. Azért is alkalmazzák inkább kombinációban ezen szereket, mert a szulfonamidokkal szemben nagyon gyakori a rezisztencia. Leggyakoribb mechanizmusok, hogy a baktériumok kevésbé engedik be ezen antibiotikumokat, valamint PABA-specifikus dihidropteroát-szintetáz enzim termelése. Esetenként PABA fokozott termelése lép fel. Kombinációban szélesebb antibakteriális spektrumot tudunk elérni. Heveny mastitis IV kezelésére is előszeretettel alkalmazhatóak [23].

4.4.9. Tiamulin

A bakteriosztatikus pleuromutilinek csoportjába tartozik, amelyek a fehérjeszintézis gátlását végzik az 50S riboszóma alegységhez kötődve. A tiamulin Gram+ baktériumokkal szemben gyenge, de a Gram- tápigényesek ellen alkalmazható. Rezisztencia kialakulása vele szemben ritka. A tiamulin egy szájon át alkalmazható, diterpén vázas antibiotikum, amelyet leginkább baromfi és sertés kezelésére vesznek igénybe. Sertés esetében hatékony a *Brachyspira hyodysenteriae* és a *Lawsonia intracellularis* okozta betegségek kezelésére. Mindemellett a sertés és baromfi Mycoplasmosis ellen is eredményesen lép fel [23].

4.4.10. Tilmikozin

A bakteriosztatikus makrolidok közé sorolandó, 50S riboszóma alegységhez kapcsolódva gátolják a fehérjeszintézist a fenikolokhoz és a linkózamidokhoz hasonlóan. Ennek következtében könnyen kialakulhat közöttük keresztrezisztencia. Mindemellett csökkent permeabilitás és lebontó enzimek is hozzájárulnak az antibiotikum rezisztencia kialakulásához [23]. A tilmikozin a legtoxikusabb makrolid antibiotikum, kardiotoxikus hatása lehet. Tápigényes Gram- baktériumok és a *Mycoplasma* fajok érzékenyek leginkább. Szarvasmarha és juh esetében SC injekció formában alkalmazható, viszont kecske számára toxikus [23].

4.4.11. Tulatromicin

A tilmikozinhoz hasonlóan szintén bakteriosztatikus makrolid típusú szer, amely az 50S riboszóma alegységen fejt ki a fehérjeszintézis gátlását. Kimagaslóan hatékony a légúti betegségekkel szemben. IM és SC injekciós alkalmazás után akár 6-10 napos hatást is elérhetünk. A makrolidok a légúti betegségek elleni védekezés legfontosabb antibiotikumai, mivel gyenge bázisok és ioncsapdába kerülhetnek az alacsony pH-jú területeken. Jelen esetben az alveoláris makrofágokban nagy intracelluláris koncentrációt képesek elérni. Minél több nitrogén atomot tartalmaznak, annál kedvezőbb a szöveti kumuláció, annál nagyobb az esélye, hogy ioncsapdába kerülnek [23]. Makrolid típusú antibiotikumok tekintetében bebizonyították, hogy a rezisztenciáért felelős gének: erm(42), msr(E), mph(E) kromozómálisan kódoltak és a Pasteurellaceae család más tagjainak exogén génjeivel keverednek [24].

4.5. Rezisztencia viszonyok alakulása a világban

Az Egyesült Államokban vizsgálták a fent említett antibiotikumokkal szembeni rezisztenciát 4 baktériumfaj esetében. A mintákban a második leggyakoribb volt a *M. haemolytica* jelenléte, és negyedik a *B. trehalosi*, ami jól szemlélteti ezen kórokozók a BRDC kialakulásában betöltött fontos szerepét. Összesen 4261 mintát vizsgáltak.

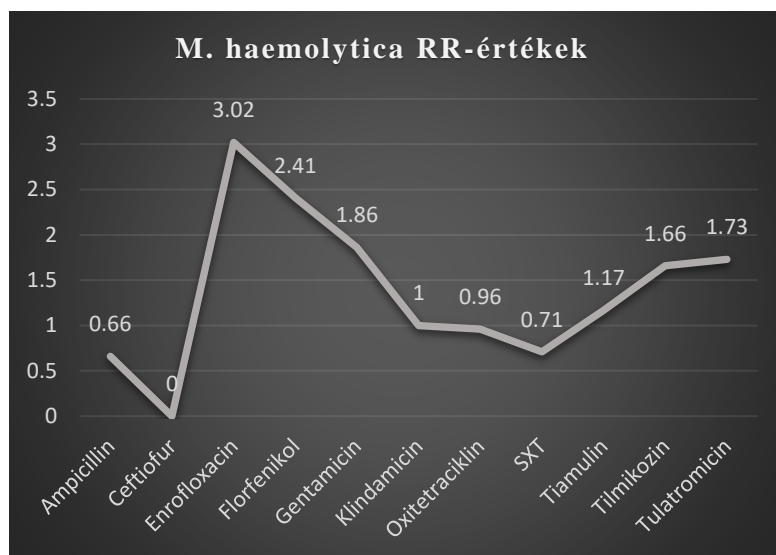
A mintákat több mint 4000 szarvasmarhából vették, amelyek 90%-a tejtermelő állatokból származott. Orrtampon, nasopharyngeális tampon, BAL, illetve boncoláskor gyűjtött tüdőszövet állt a rendelkezésükre. A kutatók 2008 és 2017 közötti időszakot vizsgálták a wisconsini laboratóriumban. Ez idő alatt a *B. trehalosi* volt az elsőszámú baktérium, amelynek leginkább emelkedtek a rezisztencia viszonyai különböző antibiotikumokkal szemben. A második helyet a *M. haemolytica* képviselte.

Számos antibiotikummal szemben végeztek érzékenységi vizsgálatot. *M. haemolytica* esetében a táblázatban (2.táblázat) szerepelt klindamicinnel és oxitetraciklinnel szemben mérték a legnagyobb rezisztencia értékeket [25].

Meghatározták statisztikai elemzések során a rezisztencia relatív kockázatát. Miszerint, ha a relatív kockázat 1-nél nagyobb, akkor a rezisztencia valószínűsége nagyobb a második periódusban tehát 2013-2017 között, mint az első periódus során. Viszont, ha a relatív kockázat 1-nél kisebb, akkor az első periódus során magasabb a rezisztencia előfordulási valószínűsége. Ezen értékek változásait a következő ábra mutatja (1.ábra).

2. táblázat *M. haemolytica* izolátumok antibiotikumokkal szembeni rezisztenciája 4 éves periódusonként

Vizsgált AB	2008-2012	2013-2017
AMP	4%	1%
CEF	1%	0,01%
ENR	2%	1%
FFC	6%	4%
GEN	7%	3%
KLIN	98%	98%
OTC	36%	36%
SXT	8%	3%
TIA	16%	4%
TIL	23%	23%
TUL	8%	9%



1. ábra: *M. haemolytica* esetében a relatív kockázat értékeinek változása a különböző antibiotikumoknál

Ebből kifolyólag az izolált *M. haemolytica* törzseknek növekedett a rezisztenciája a második 4 éves periódus alatt az enrofloxacinnal, florfenikollal, gentamicinnel, tiamulinnal, tilmikozinnal és tulatromicinnel szemben. A *B. trehalosi* esetében sokkal magasabb rezisztencia értékeket tapasztaltak. Kiugróan magas volt a klindamicin és oxitetraciklin esetében (3. táblázat).

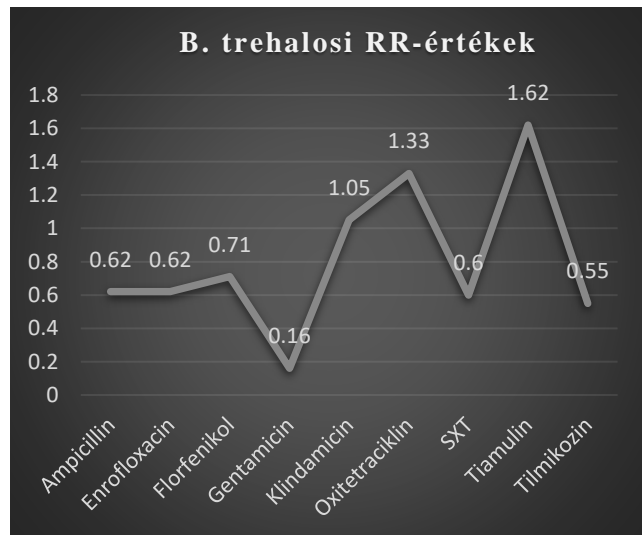
Ami a *M. haemolytica* izolátumokat illeti kevesebb mint 10%-uk volt rezisztens ceftiofural, klórtetraciklinnel, tiamulinnal, trimetoprim-szulfonamiddal, florfenikollal, enrofloxacinnal, gentamicinnel és tulatromicinnel szemben. Ez az arány 12-40 % között mozgott spektinomicin, gamitromicin, tildipirozin, tilmikozin, ampicillin, danofloxacin, penicillin, oxitetraciklin, neomicin és szulfadimetoxin esetében. A rezisztencia leggyakrabban a tilozinnal (99%) és klindamicinnel (98%) szemben lépett fel. A vizsgált periódus során rezisztencia növekedést tapasztaltak gentamicinnel, fluorokinolonokkal, fenikolokkal és makrolidokkal szemben. Viszont rezisztencia csökkenést ampicillinnel és szulfadimetoxinnal szemben. A többi antibiotikummal szemben nem tapasztaltak változást a kutatók.

B. trehalosi izolátumok között az összes rezisztens volt penicillinre és 90% klindamicinre. Oxitetraciklin, szulfadimetoxin, neomicin, tilmikozin, enrofloxacin, ampicillin, spektinomicin, klórtetraciklin, trimetoprim-szulfonamid, florfenikol esetében pedig szintén tapasztaltak rezisztenciát. A megfigyelt évek alatt csökkent a rezisztencia aminoglikozidokkal,

fluorokinolonokkal és makrolidokkal szemben. Míg a szulfonamidoknál és oxitetraciklinnél ez nőtt [25].

3. táblázat: *B. trehalosi* izolátumok antibiotikumokkal szembeni rezisztenciája 4 éves periódusonként

Vizsgált AB	2008-2012	2013-2017
AMP	43%	27%
ENR	47%	29%
FFC	28%	20%
GEN	30%	5%
KLIN	87%	91%
OTC	64%	85%
SXT	32%	19%
TIA	6%	10%
TIL	51%	28%



2. ábra: *B. trehalosi* esetén a relatív kockázat értékeinek változása a különböző antibiotikumoknál

A Winconsin Veterinary Diagnostic Laboratory mintáinak többségét olyan állományokból kapta, ahol már előzetes kezelés történt antibiotikumokkal, viszont ezek hatástalannak bizonyultak. Így egy eleve rezisztensebb populációról kapunk információkat az aktuális rezisztencia viszonyok alakulásával kapcsolatban [25].

Összességében a kutatásban vizsgált kórokozók a klindamicinnel, neomicinnel és tilozinnal szemben mutatták a leggyakoribb rezisztenciát [25]. Összefüggést fedeztek fel ezen 3 antibiotikum között, mivel ezek azok, amelyeket a sertés és a baromfiiparban előszeretettel használtak növekedés serkentésére. Tehát itt is bebizonyosodik, hogy a nem megfelelő antibiotikum használat, milyen széleskörű rezisztencia kialakulásához vezethet, ami nem csak az érintett állományokban jelenhet meg, hanem akár átterjedhet jelen esetben szarvasmarhákra is [26].

Németországban is vizsgálták a szarvasmarhákból izolált *M. haemolytica* és *B. trehalosi* törzsek antibiotikum érzékenységét 2015 júliusa és 2020 júniusa között. Ezen időszak alatt a kutatók 754 izolátumhoz jutottak hozzá 662 BRDC- re gyanús szarvasmarhából. A minták nagyrésze hímivarú, 1-2 hónapos borjából származik, amelyek feltehetően a BRDC-re gyanút

keltő tüneteket mutattak. Ebben a kutatásban szintén a második leggyakoribb kórokozónak bizonyult a *M. haemolytica* és negyediknek a *B. trehalosi* [2].

MDR kategóriába sorolandóak azok az izolátumok, amelyek legalább 1 szerrel szemben rezisztenciát vagy csökkent érzékenységet mutatnak 3 antimikrobiális osztályon belül. A *M. haemolytica* nem fogékony izolátumainak az aránya az első vizsgálati évhez képest 90,24%ról 68%-ra csökkent az utolsó évben. A spektinomycinrel szemben nem érzékeny izolátumok aránya szintén csökkent ezen időszak alatt. Viszont ezen antimikrobiális szerrel szemben a legmagasabb a nem fogékony szarvasmarha izolátumok aránya. A *M. haemolytica* mintákból szegregált kórokozóknak csak az 5,13%-át sorolták az MDR csoportba [2].

Bebizonyították, hogy minél több állat tartózkodik egy adott telepen, annál több antibiotikummal szemben csökkent az érzékenység, tehát növekszik az MDR [2]. Alátámasztja a tényt, hogy a nem megfelelő antibiotikum alkalmazás következtében egy egész állományra terjedhet ki a rezisztencia, ami egy előzetes antibiotikum érzékenységi vizsgálattal és a hatékony szerek váltogatásával orvosolható. A legmagasabb MDR arányt hizlaló telepekről származott szarvasmarhák esetében mérték. Ezen tény pontos okainak felderítéséhez még további kutatások szükségesek, viszont az kellőképpen hozzájárulhat a BRDC kialakulásához, hogy a hizlaló telepekre való szállítás stresszes környezetet teremt az állatok számára, illetve számos különböző gazdaságból származó borjú egy helyen való találkozása is növeli a fertőző betegségek terjedését. Ezeket a borjakat általában metafilaktikusan kezelik, hogy csökkentsék a mortalitási és morbiditási arányt, viszont ezáltal az MDR izolátumok előfordulásának valószínűségét is megnövelik [2]. Továbbá a bajorországi tehenészeti telepeken általában kevés tehenet tartanak egyszerre, a borjakat pedig életük első pár hetében külön tartják, így célzottabb kezelést tudnak a részükre biztosítani [27]. Számos tanulmány bizonyítja, hogy nem csak a gazdaságok jellege, hanem az állatok száma is befolyásolja az MDR izolátumok jelenlétét. Nagyobb gazdaságokban többször alkalmaznak antimikrobiális kezelést, ami esetleg hozzájárulhat multirezisztens baktériumtörzsek megjelenéséhez [27]. Kevesebb állattal rendelkező telepek jobban tudnak a fertőző betegségekkel szemben védekezni, hamarabb észreveszik a klinikai tüneteket mutató egyedeket, illetve célzottabb kezelést tudnak nyújtani [28]. Az összes izolátumhoz képest az MDR izolátumok megoszlását a különböző gazdaságokban a következő táblázatok reprezentálják.

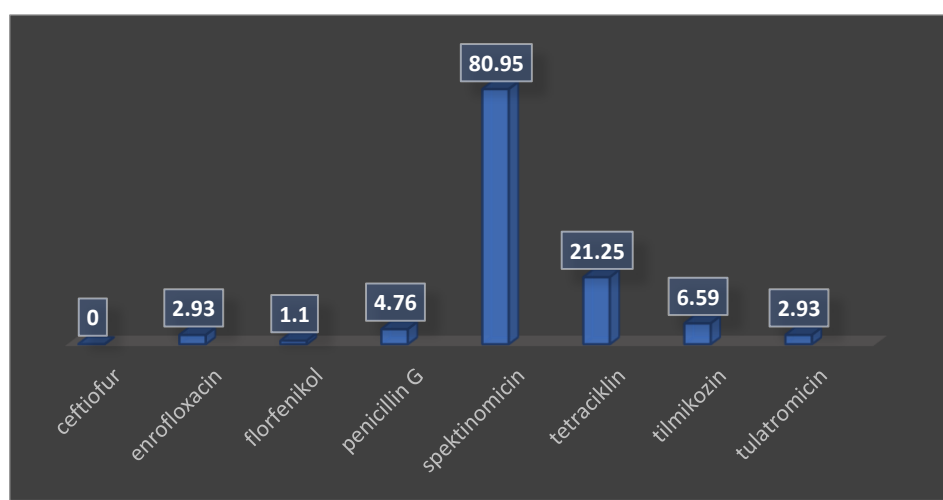
4. táblázat MDR törzsek megoszlása az állatok létszámától függően

Az állatok száma	MDR megoszlás
<100	6,92%
101-300	8,31%
300<	19,49%

5. táblázat MDR törzsek megoszlása a gazdaság típusától függően

Gazdaság típusa	MDR megoszlás
tejgazdaságok	3,29%
kevert állomány	6,52%
hízómarhák	14,92%

Ez alatt a vizsgált időszak alatt a tetraciklinekkel szemben a *M. haemolytica* izolátumoknak a 21,25%-a nem volt érzékeny. Észak-Amerikában a tetraciklineket használják elsősorban kezelésre a BRDC megszüntetésére, valamint a májtályog kialakulásának megelőzésére is [15]. Ráadásul Németországban a tetraciklineket előszeretettel használják a szarvasmarhák hizlalására. Ezáltal BRDC kezelésére nem ajánlatos az alkalmazásuk [2]. Kedvezőtlen helyzetű antimikrobiális készítmények közé tartozik a tularomicin is. Európában még csak 2003 óta engedélyezett szer, viszont rendkívül megemelkedett pár év alatt a vele szemben tanúsított rezisztencia. Gyakorlati szempontból is aggasztó, mivel ezen makrolid típusú antibiotikum egyetlen egy SC injekció beadását követően is akár 7 napon keresztül képes volt fenntartani a minimális gátló koncentrációt [2]. A legmagasabb arányt a spektinomicinnel szemben mutatták ki. Ezen tanulmányban vizsgált *M. haemolytica* izolátumok 80,95%-ban bizonyultak ellenállóknak (3.ábra).



3. ábra: 5 éves időintervallum alatt beszerzett nem fogékony *M. haemolytica* izolátumok arányát (%) mutatja az általuk vizsgált antibiotikumokkal szemben.

A vizsgálatok elvégzése után a BRDC kezelésére a leghatékonyabb szernek a florfenikol bizonyult. Kellő hatékonyságot mutatott a kívánt kórokozókkal szemben, illetve egy SC injekció formájában alkalmazható, így megkönnyíti az állatok kezelését is [2]. Második

leghatékonyabb szernek a β -laktám antibiotikumok közül a penicillin-G mutatkozott. Mindössze 5% alatt volt a nem érzékeny izolátumok aránya az esetében. [2]. A „Highest Priority, Critical Important Antibiotics” csoportba tartozó 3. és 4. generációs cefalosporinok tartalék antibiotikumként funkcionálnak. Csak végső esetben vethetőek be, mikor más szerek nem bizonyultak hatékonyak. Ezen csoportba tartozó ceftiofurral szembeni nem fogékony *M. haemolytica* izolátumok aránya meglepő módon 1% alatt volt. Emellett szintén ide sorolandó enrofloxacin is szintén jó eredményeket szolgáltatott. Ebből kifolyólag ezen szerek alkalmazhatóak előzetes antimikrobiális vizsgálat elvégzése után, egy korlátozott és jól megtervezett terápia kivitelezésére [2].

Wisconsini kutatás során a tetraciklinekkel szembeni tűrőképességet vizsgálták, 34 izolátum közül 1 volt *M. glucosida*. Ez a baktérium egyedi rezisztencia mintázatot mutatott [29]. A tetraciklinekkel szembeni rezisztenciát biztosító PMHT1 plazmid, az eddigi legkisebb tet-gént hordozó plazmid, melyet először mutattak ki a rezisztenciaplazmidok közül ebben a fajban [29].

Állománytípusok között is eltérő rezisztencia mértéket tapasztalhatunk. Tejelő, hízó és csak borjából felépülő állomány nasopharyngeális régiójából vett minták vizsgálata során kimutatták, hogy a rezisztencia legnagyobb mértékben a csak borjából álló állományt érinti [30]. Ezen tanulmány során gyakran előfordult enrofloxacinnal, gentamicinnel, oxitettraciklinnel, tilmikozinnal és potenciált szulfonamidokkal szembeni rezisztencia. Azonban ceftiofurral és florfenikollal szemben nem tapasztaltak fellépő érzékenység csökkenést [30].

5. Célkitűzések

Vizsgálataink célja az volt, hogy megállapítsuk az ország különböző részeiről származó szarvasmarhák klinikai elváltozást mutató szerveiből vett mintákban jelen lévő *M. haemolytica* és *B. trehalosi* baktériumok antibiotikum érzékenységét. Célunk volt megvizsgálni az esetleges összefüggést az antibiotikum rezisztencia és a vizsgált baktériumfajok, azok szerotípusa, földrajzi megoszlása között.

További céljaink közé tartozott, hogy az antibiotikumokkal szembeni ellenállóképességet ne csak egy módszer segítségével vizsgáljuk meg. Így a MIC érték meghatározása során nyert eredményeket a korongdiffúziós módszer értékeivel összevethetjük. Ennek köszönhetően egy átfogóbb képet nyerhetünk az aktuális rezisztencia viszonyokról országszerte.

6. Anyag és módszer

6.1. A vizsgálataink során használt baktériumok eredete

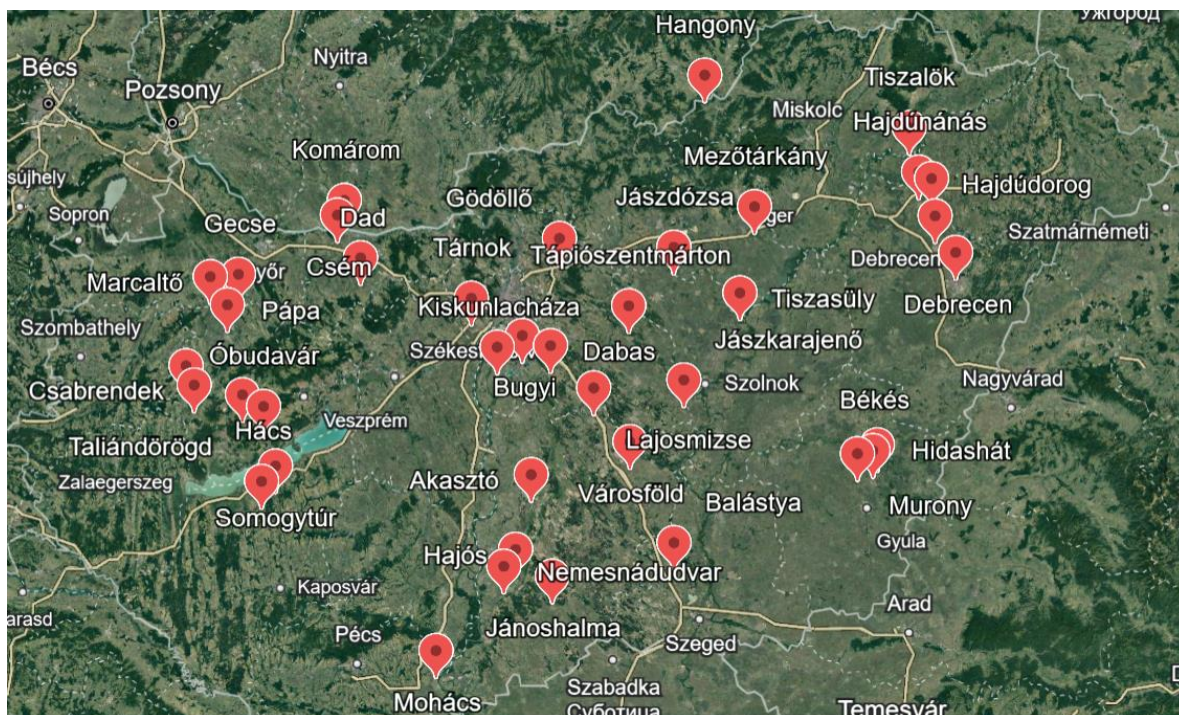
6. táblázat: A vizsgált baktériumtörzsek eredete

Eredet	<i>M. haemolytica</i>	<i>B. trehalosi</i>
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék, ÁTE	22	5
ÁDI, Budapest	12	5
ÁDI, Debrecen	2	0

Minden vizsgált törzs különböző volt, 39 magyarországi helységből származott (4.ábra). Az azonos származási helyű törzsek közül csak a külön szerotípusba tartozókat vettük be a vizsgálatunkba. Ezáltal 46 baktériumtörzsnél vizsgáltuk meg az esetleges rezisztencia előfordulását, amelyek között 35 volt *M. haemolytica*, 10 volt *B. trehalosi* és 1 volt *M. glucosida*. Minden törzs klinikai tüneteket mutató vagy elhullott állatból származott. Ezáltal kórokozó törzseknek tekinthetőek, nem kommenzalistának. A minták származási éveit a következő táblázatban foglaltam össze (7.táblázat). Saját mintavételezést is végrehajtottam a vizsgálatba vonható törzsek gyarapítása céljából. Azonban a saját mintavétel során vett orrtampon mintákból csak *Pasteurella multocida* tenyésztett ki, így ezeket nem vontuk bele a vizsgálatunkba.

7. táblázat Egy adott évből gyűjtött minták száma

MINTA GYŰJTÉSI ÉV	GYŰJTÖTT MINTÁK SZÁMA
2017	3
2018	6
2019	13
2020	8
2021	13
2022	3



4.ábra: *M. haemolytica* és *B. trehalosi* mintáink származási helyei. A települések neve mögött zárójelben feltüntettem az adott helyről beszerzett baktériumtörzsek számát is. Akasztó (1), Balástya (2), Békés(1), Bugyi(4), Csabrendek(2), Csém(1), Dabas(1), Dad(1), Debrecen(3), Gecse(2), Gödöllő(1), Hács(6), Hajdúböszörmény(1), Hajdúdorog(1), Hajdúnánás(2), Hajós(2), Hangony(2), Hidashát(1), Hosztót(1), Jánoshalma(2), Jászdózsa(3), Jászkarajenő(1), Kiskunlacháza(1), Komárom(1), Lajosmizse(2), Marcaltó(2), Mezőtárkány(1), Mohács(1), Murony(2), Nemesnáduvvar(1), Óbudavár(1), Pápa(1), Somogytúr(7), Taliándörögd(1), Tápiószentmárton(1), Tárnok(2), Tiszalök(1), Tiszasüly (1), Városföld (1).

6.2. Minták eloszlása

Az érzékenységi vizsgálatnak alávetett kórokozókat különböző mintákból izoláltuk (8.táblázat). Kutatásunkban felhasznált törzseket a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszéken passzív hemagglutinációs módszerrel szerotípezálták, ezáltal ismertté vált a szerotípusuk [31].

8. táblázat Adott mintából izolált baktériumtörzsek száma (db)

<i>Minta</i>	Izolált baktériumtörzsek száma (db)
<i>Tüdő</i>	32
<i>Orrüreg</i>	7
<i>BAL</i>	4
<i>Lép</i>	2
<i>Vér</i>	1

6.3. Minimális gátló koncentráció meghatározása

Szakirodalmak alapján vizsgált, Magyarországon elérhető, törzskönyvezett antibiotikumokat alkalmaztunk vizsgálatunk során, amelyek különböző antibiotikum osztályba tartoznak és hatékonyan bizonyulnak a Pasteurellaceae család okozta BRDC kezelésében

(9.táblázat). A MIC-érték meghatározása lehetővé teszi a megfelelő hatóanyag kiválasztását adott betegség kezelésére, az antibiotikumok ismert farmakokinetikai tulajdonságai által [32].

9. táblázat A vizsgálatba bevont antibiotikumok antibiotikum osztályonként felsorolva

Antibiotikum osztály	Vizsgálatba bevont antibiotikum
Aminoglikozid	Gentamicin
Cefalosporinok	Ceftiofur
Fenikolok	Florfenikol
Fluorokinolonok	Enrofloxacin
Makrolidok	Tilmikozin
	Tulatromicin
Penicillinek	Amoxicillin
	Penicillin-G
Pleuromutilinek	Tiamulin
Szulfonamid és diaminopirimidin kombináció	Szulfametoxazol-trimetoprim
Tetraciklinek	Oxitetraciklin

3 összetevő szükséges az antibiotikumok minimális gátló koncentrációjának meghatározásához. A táptalaj, munka hígításban lévő antibiotikum oldat és a baktérium szuszpenzió. A táptalaj egy kationok által kiegészített Mueller Hinton leves táptalaj, amibe 0,19 ml CaCl_2 -t és 0,081 ml MgCl_2 -t mértem. A munka hígításban lévő antibiotikum oldatokat (11.táblázat) az antibiotikum törzsoldat (10.táblázat) és a táptalaj megfelelő arányú bemérésével állítottam elő.

10. táblázat A különböző antibiotikum törzsoldatok elkészítéséhez szükséges alkotóelemeket a következő táblázat tartalmazza, illetve feltüntetésre kerültek a vizsgálatunk során alkalmazott antibiotikumok forgalmazási helyei is.

Antibiotikumok	Forgalmazási hely	Oldott anyag mennyisége (mg)	Oldószer mennyisége (ml)
Amoxicillin	Molekula group	64 mg amoxicillin	5 ml PBS
Ceftiofur	Alfa Aesar	64 mg 95%-os ceftiofur sodium	5 ml fiziológias sóoldat
Enrofloxacin	BioChemika	64 mg enrofloxacin	5 ml NaOH-os víz
Florfenikol	Sigma-Aldrich	64 mg florfenikol	5 ml 95%-os alkohol
Gentamicin	Sigma-Aldrich	64 mg gentamicin-sulfate só	5 ml fiziológias sóoldat
Oxitetraciklin	Sigma	64 mg oxitetraciklin-hydrochloride	5 ml fiziológias sóoldat
Penicillin	VWR International	64 mg penicillin-G	5 ml fiziológias sóoldat
Szulfametoxazol-trimetoprim	Sigma	6,4 mg trimetoprim és 10 mg szulfametoxazol	5 ml 95%-os alkohol és 4,112 ml aceton
Tiamulin	Fluka Analytical	64 mg tiamulin fumarate	5 ml fiziológias sóoldat
Tilmikozin	Ofichem	64 mg tilmikozin phosphate	5 ml 95%-os alkohol
Tulatromicin	Pfizer	1 mg tulatromicin	1 ml

11. táblázat A MIC érték meghatározásához szükséges komponens alkotóelemeinek feltüntetése. Felhasznált rövidítések: MH: Mueller Hinton, AB: antibiotikum

	MH táptalaj(ml)	AB törzsoldat(µl)
Amoxicillin	5	100
Ceftiofur	5	50
Enrofloxacin	10	12,5
Florfenikol	5	100
Gentamicin	2,5	100
Oxitetraciklin	5	100
Penicillin	5	100
Szulfametoxazol	-	50
Trimetoprim	4,112	410
Tiamulin	1,25	100
Tilmikozin	1,25	100
Tulatromicin	-	0,5

Harmadik alkotó elem a baktérium szuszpenzió előállítása. 4 ml fiziológiás sóoldatba helyeztem 2 friss, 24 órás tenyészetből származó *M. haemolytica* vagy *B. trehalosi* telepet és vortexszel pedig elkevertem, hogy minél homogénebb szuszpenzióhoz jussak. A **csíraszámlálás** során ellenőrizhetjük, hogy a használt baktérium-szuszenziók elegendő mennyiségű baktériumot tartalmaztak-e. *M. haemolytica* esetében a baktérium szuszpenziót 2 telep és 4 ml fiziológiás víz segítségével készítettük el. A kontroll törzsek, mint *S. aureus* és *E. coli* esetén pedig 1 telep és 8 ml fiziológiás víz arányában. Hígítási sort készítettünk ezekből a baktérium-szuszenziókból és minden egyes hígításból pipetta használatával kimértünk 50 µl-t és steril véresagar táptalajra nyomtuk. Steril üvegbot segítségével a baktériumszuszenziót szétszélesztettük az agar teljes felületén. A véresagart 37 C°-os termosztátba helyeztük és 24 órás inkubációs időt követően megszámoltuk a kinőtt telepek számát. Ezt követően ki tudtuk számolni a CFU/50 µl értékeket. *M. haemolytica* esetén: $3,1 \times 10^7$ CFU/50 µl, *S. aureus* esetén: $2,6 \times 10^7$ CFU/50 µl és *E. coli*-nál pedig: 9×10^7 CFU/50 µl.

6.4. Korongdiffúziós próba

A korongdiffúziós próba során 2 ml fiziológiás sóoldatba tettem 4 baktérium telepet az adott baktériumból, hogy 0,5 McFarland sűrűségű szuszpenziót képezzek, majd vortex segítségével elkevertem, hogy homogén legyen. Ezt követően steril vattatampon segítségével a szuszpenziót Mueller Hinton táptalajra szélesztettem, hogy a táptalaj teljes felületét betöltse. Következő lépés során pedig steril csipesszel antibiotikum korongokat helyeztem el az adott táptalajon. 1-1 korong között legalább 3 cm helyet szükséges hagyni, egy táptalajra pedig legfeljebb 6 korong helyezhető, hogy a gátlási zónák ne fedjék le egymást. Végezetül ezen

táptalajokat 37 C°-os termosztátban inkubáltam 24 óráig, majd a gátlási zónákat mm-es pontossággal vonalzóval lemértem. A vizsgálataimhoz amoxicillin (AML25), ceftiofur (EFT30), enrofloxacin (ENR5), florfenikol (FFC30), gentamicin (CN30), oxitetraciklin (OT30), szulfametoxazol-trimetoprim (SXT25), tilmikozin (TIL15), tiamulin (TIA30), tularomicin (TUL30) és penicillin (PCN) korongokat használtam.

6.5. Az eredmények értékelése és a módszerek validálása

Az eredmények könnyebb kiértékelése céljából 3 csoportot alkottunk egyes antibiotikumokat illetően. Érzékeny (É), mérsékelten érzékeny (MÉ) és rezisztens (R) baktériumokat különítettünk el [33]. Az alapértékek meghatározása során a CLSI standard *Mannheimia haemolytica*-ra vonatkozó adatait alkalmaztuk [33]. Viszont ebben bizonyos antibiotikumok tekintetében nem volt meghatározva határérték, így más fajokra jellemző értékeket vettünk figyelembe [34, 35], illetve szakirodalmi adatokat kerestünk [36, 37].

A MIC értékek meghatározása közben amennyiben hibát vettünk észre, a mérést 1-3 alkalommal megismételtük. Előforduló hiba lehetett: a kontroll csőben nem volt baktériumnövekedés, ennek oka, hogy a baktériumszuspenzió nem tartalmazott élő baktériumokat. Előfordult, hogy trend- és ugrásszerűen nőttek a MIC értékek egy adott vizsgálati tétel során, ennek valószínű oka az antibiotikum törzsoldat bomlása lehet, vagy a baktériumszuspenziók véletlen kontaminációja. Amennyiben lényeges eltérést észleltünk a leveshígítási és a korongdiffúziós eredmények között, szintén megismételtük a mérést.

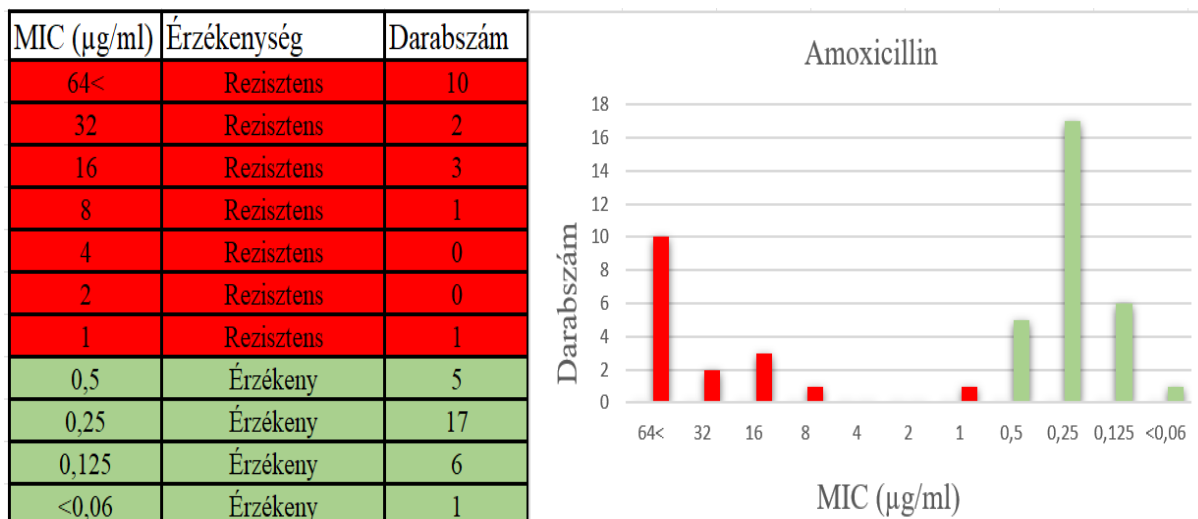
A leveshígítási és a korongdiffúziós módszerek eredményeinek ellenőrzésére ismert érzékenységgű *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) és *Escherichia coli* (ATCC 25922) törzsekkel is elvégeztük a vizsgálatokat minden antibiotikum esetében. A kontroll törzsek eredményei minden esetben az adott törzsre, a CLSI standard szerint megállapított határértékeken belül volt.

7. Eredmények:

7.1. Minimális gátló koncentráció meghatározása során kapott eredmények

7.1.1. Amoxicillin

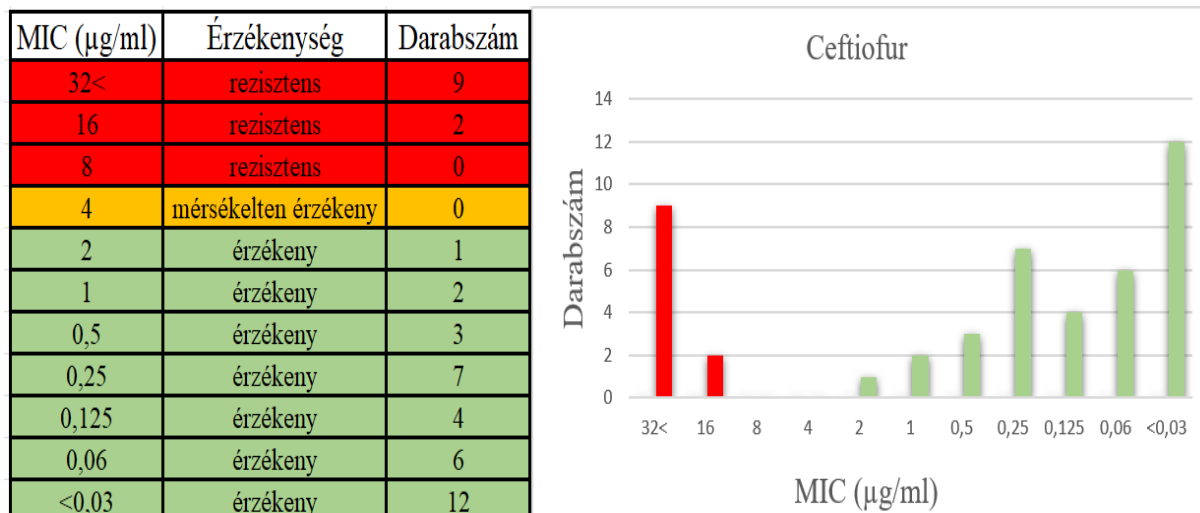
Amoxicillinnel szemben a baktériumtörzsek többsége (29) érzékenységet mutatott. 17 esetben figyelhattunk meg rezisztenciát. Ebből 7 volt *Bibersteinia trehalosi* és 10 *Mannheimia haemolytica*. Ezen adatokat a következő ábrán tüntettem fel.



5. ábra: Az izolált baktériumtörzsek MIC értékeinek szemléltetése amoxicillin esetében.

7.1.2. Ceftiofur:

A ceftiofurral szemben 11 esetben tapasztalhattunk csökkenő érzékenységet. A *Bibersteinia trehalosi* nagyobb fokú ellenállóképessége itt is megmutatkozott, mivel jelen vizsgálatban is 7 esetben erről a baktériumról van szó. 35 baktérium viszont érzékenynek bizonyult. Ezen adatokat a 6. ábra foglalja össze.

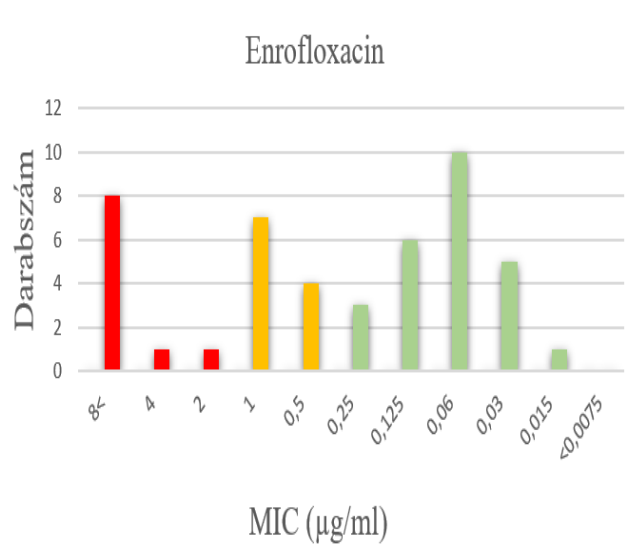


6. ábra: Az izolált baktériumtörzsek MIC értékeinek szemléltetése ceftiofur esetében.

7.1.3. Enrofloxacin

A fluorokinolonok közé tartozó enrofloxacin tanulmányozása során a vizsgált baktériumok között 10 alkalommal mutattunk ki megnövekedett ellenállóképességet. Ebből 5 esetben nem csak a MIC érték, hanem a korongdiffúziós próba is rezisztenciát jelzett. Az előzőekhez hasonlóan itt is a *Bibersteinia trehalosi* volt ellenállóbb 5 esetben. Ezen adatok összefoglalását a 7. ábra tartalmazza.

MIC (µg/ml)	Érzékenység	Darabszám
8<	Rezisztens	8
4	Rezisztens	1
2	Rezisztens	1
1	Mérsékelten érzékeny	7
0,5	Mérsékelten érzékeny	4
0,25	Érzékeny	3
0,125	Érzékeny	6
0,06	Érzékeny	10
0,03	Érzékeny	5
0,015	Érzékeny	1
<0,0075	Érzékeny	0

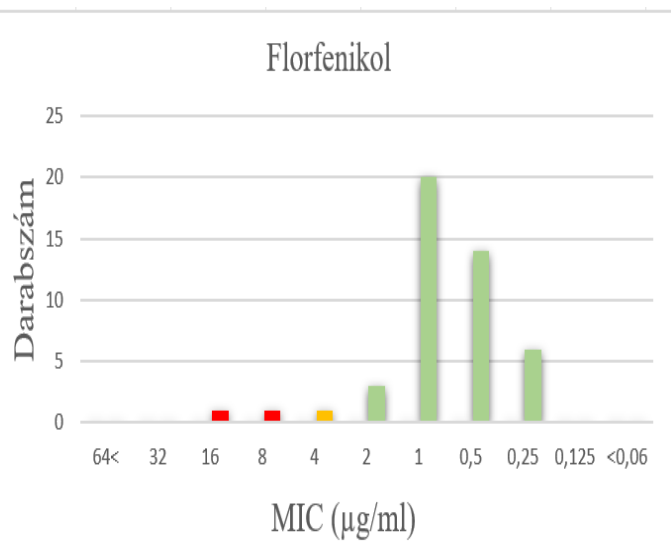


7. ábra: Az izolált baktériumtörzsek MIC értékeinek szemléltetése enrofloxacin esetében.

7.1.4. Florfenikol

Kutatásunk során mindössze kettő baktérium mutatott nagyfokú rezisztenciát florfenikollal szemben. 1 baktérium volt mérsékelten érzékeny a többi pedig érzékenységet mutatott. A 8. ábrán feltüntetett információk alapján látható, hogy a legtöbb baktériumtörzs MIC értéke 1 µg/ml, ez a módusz. A MIC90 (µg/ml) érték 2 µg/ml.

MIC (µg/ml)	Érzékenység	Darabszám
64<	Rezisztens	0
32	Rezisztens	0
16	Rezisztens	1
8	Rezisztens	1
4	Mérsékelten érzékeny	1
2	Érzékeny	3
1	Érzékeny	20
0,5	Érzékeny	14
0,25	Érzékeny	6
0,125	Érzékeny	0
<0,06	Érzékeny	0

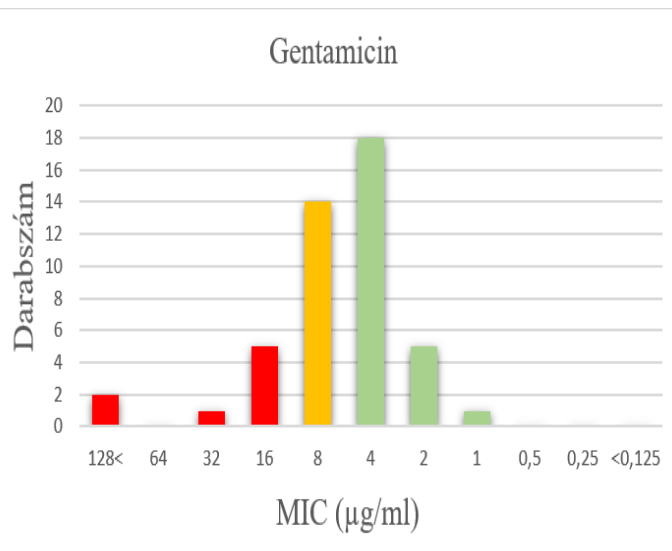


8. ábra: Az izolált baktériumtörzsek MIC értékeinek szemléltetése florfenikol esetében.

7.1.5. Gentamicin

Gentamicin esetében 8 baktériumnál tapasztaltunk rezisztenciát. 14 bizonyult mérsékelten érzékenynek, 24 pedig érzékenységet mutatott. Ezt az arányt a 9. ábra mutatja be. A rezisztens baktériumok közül 6 *Bibersteinia trehalosi* volt.

MIC (µg/ml)	Érzékenység	Darabszám
128<	Rezisztens	2
64	Rezisztens	0
32	Rezisztens	1
16	Rezisztens	5
8	Mérsékelten érzékeny	14
4	Érzékeny	18
2	Érzékeny	5
1	Érzékeny	1
0,5	Érzékeny	0
0,25	Érzékeny	0
<0,125	Érzékeny	0

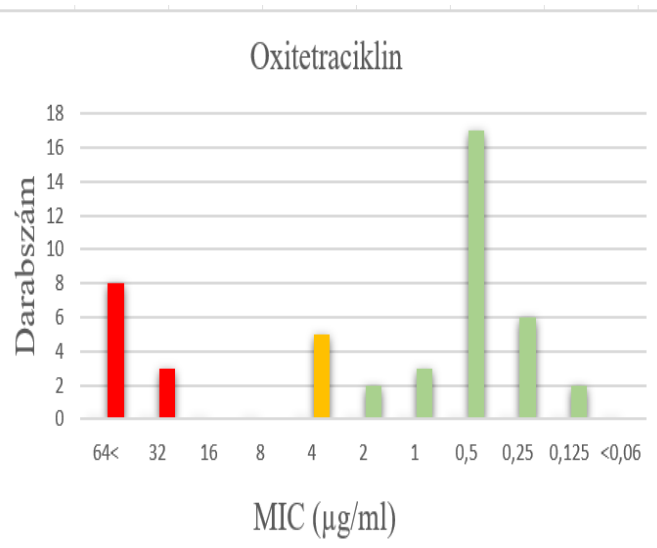


9. ábra: Az izolált baktériumtörzsek MIC értékeinek szemléltetése gentamicin esetében.

7.1.6. Oxitetraciklin

Oxitetraciklinnel szemben a baktériumok többsége (több mint 65%-a) érzékenységet mutatott. 5 baktérium volt mérsékelten érzékeny. Valamint 11 baktérium esetében állapítottunk meg rezisztenciát. Ezen adatokat a következő ábra ismerteti. A rezisztens baktériumok közül 3 volt *Bibersteinia trehalosi* és 8 *Mannheimia haemolytica*.

MIC (µg/ml)	Érzékenység	Darabszám
64<	Rezisztens	8
32	Rezisztens	3
16	Rezisztens	0
8	Rezisztens	0
4	Mérsékelten érzékeny	5
2	Érzékeny	2
1	Érzékeny	3
0,5	Érzékeny	17
0,25	Érzékeny	6
0,125	Érzékeny	2
<0,06	Érzékeny	0

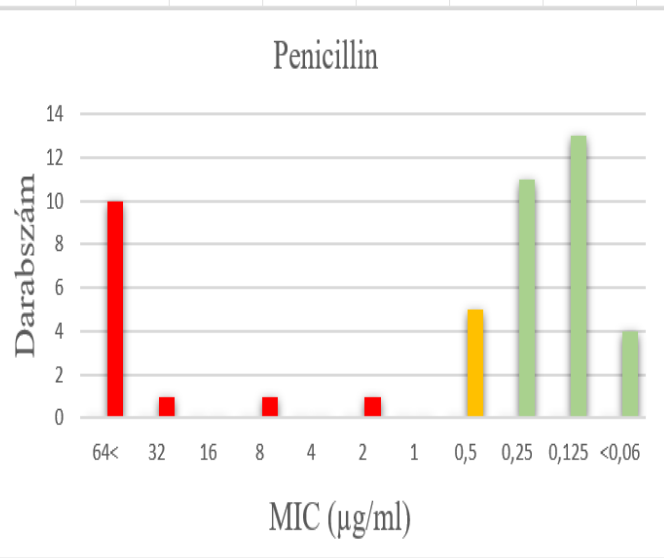


10. ábra: Az izolált baktériumtörzsek MIC értékeinek szemléltetése oxitetraciklin esetében.

7.1.7. Penicillin

A penicillin kapcsán 28%-os rezisztenciát észleltünk (13 baktérium). Ebből szintén *Bibersteinia trehalosi* mutatta nagyobb számban a fokozott ellenállóképességet. 28 baktériumtörzs pedig érzékenynek bizonyult. Mérsékelten érzékeny kategóriába 5 baktérium tartozott. A 11. ábra prezentálja ezt a megoszlást.

MIC (µg/ml)	Érzékenység	Darabszám
64<	Rezisztens	10
32	Rezisztens	1
16	Rezisztens	0
8	Rezisztens	1
4	Rezisztens	0
2	Rezisztens	1
1	Rezisztens	0
0,5	Mérsékelten érzékeny	5
0,25	Érzékeny	11
0,125	Érzékeny	13
<0,06	Érzékeny	4

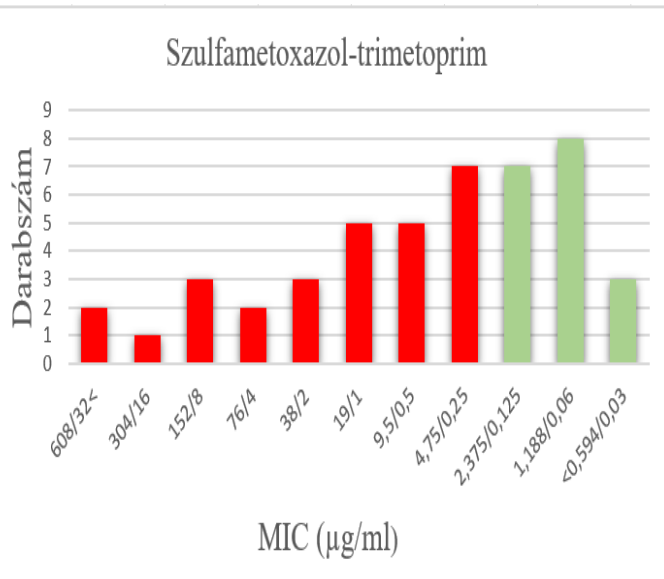


11. ábra: Az izolált baktériumok MIC értékeinek szemléltetése penicillin esetében.

7.1.8. Szulfametoxazol-trimetoprim

28 baktériumtörzsnél tapasztaltunk rezisztenciát a szulfametaxazol-trimetoprim tekintetében. A többi baktérium érzékenynek mutatkozott. A 12. ábrán jól látható, hogy milyen határértéktől tekinthetőek az adott baktériumok rezisztensnek. A 28 rezisztens baktériumtörzsből 8 volt *B. trehalosi* és 20 *M. haemolytica*.

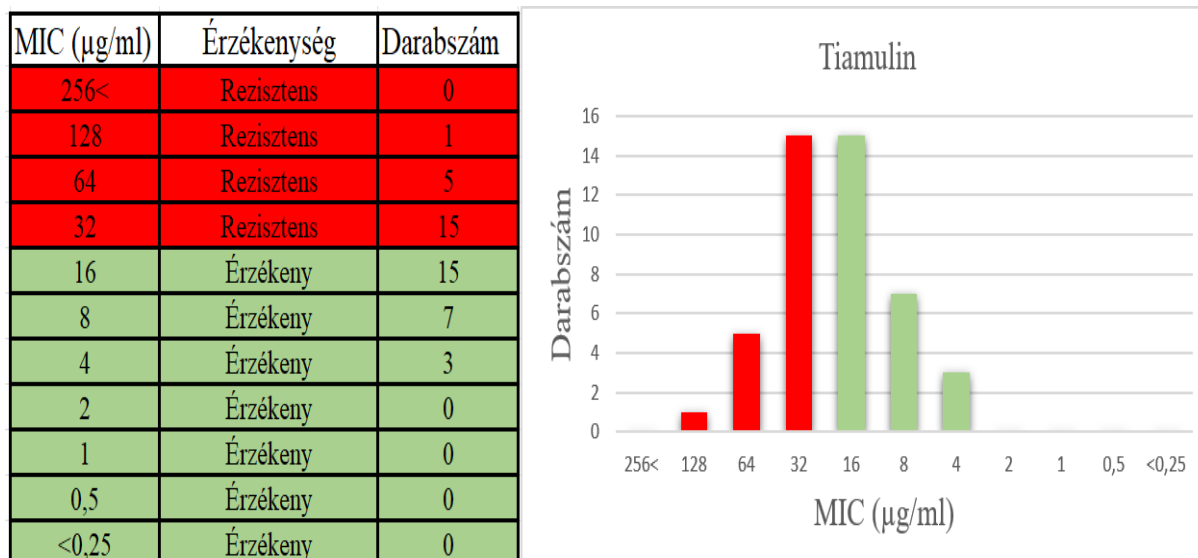
MIC (µg/ml)	Érzékenység	Darabszám
608/32<	Rezisztens	2
304/16	Rezisztens	1
152/8	Rezisztens	3
76/4	Rezisztens	2
38/2	Rezisztens	3
19/1	Rezisztens	5
9,5/0,5	Rezisztens	5
4,75/0,25	Rezisztens	7
2,375/0,125	Érzékeny	7
1,188/0,06	Érzékeny	8
<0,594/0,03	Érzékeny	3



12. ábra: Az izolált baktériumtörzsek MIC értékeinek szemléltetése szulfametoxazol-trimetoprim esetében.

7.1.9. Tiamulin

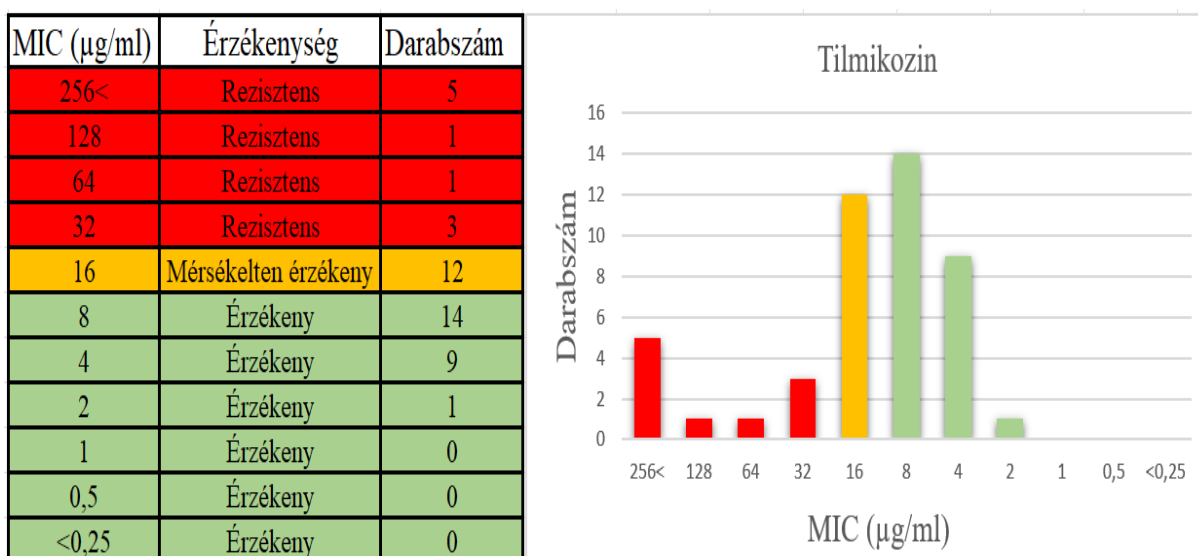
A tiamulin esetében 21 baktérium mutatott rezisztenciát, ami a vizsgált baktériumok több mint 45%-át teszi ki. Felmérésünkben a leveshígítási mikromódszer alkalmazása során ez a 2. legnagyobb rezisztencia arány. Ezt a 13. ábra reprezentálja számunkra. A *B. trehalosi* törzsek 80%-a rezisztenciát mutatott erre az antibiotikumra nézve.



13. ábra: Az izolált baktériumtörzsek MIC értékeinek szemléltetése tiamulin esetében.

7.1.10. Tilmikozin

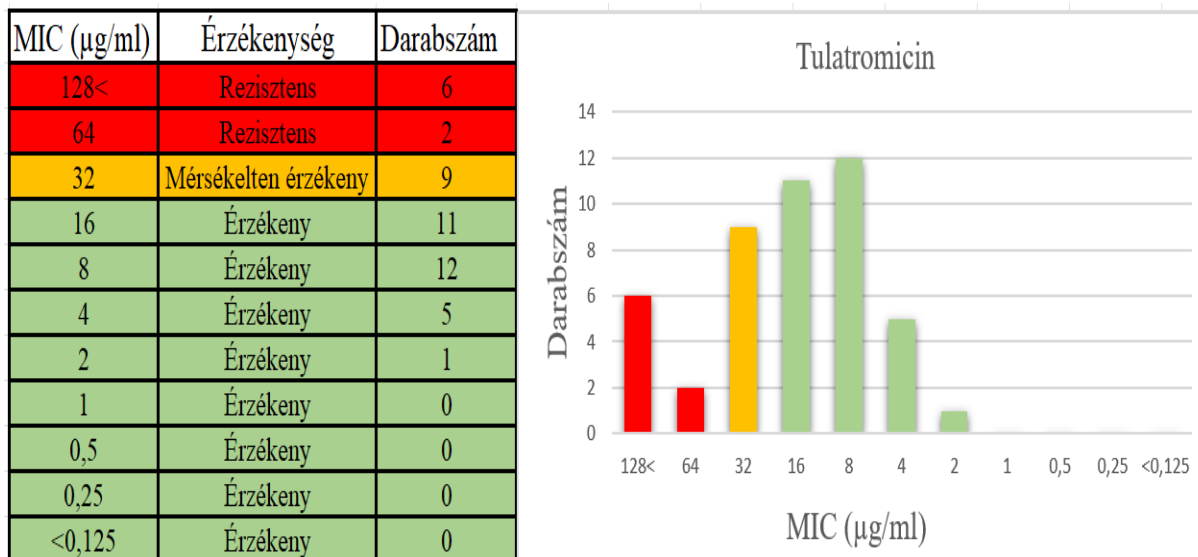
Tilmikozin vizsgálata során 10 esetben tapasztaltunk rezisztenciát. Ez a baktériumok több, mint 21%-át teszi ki. 12 baktérium bizonyult mérsékelten érzékenynek, valamint 24 baktérium volt érzékeny a tilmikozinnal szemben. 14. ábrán megfigyelhető, hogy a legalacsonyabb MIC érték az 2 µg/ml volt. Jelen esetben a 10 rezisztens baktérium közül viszont csak 1 volt *Bibersteinia trehalosi*.



14. ábra: Az izolált baktériumtörzsek MIC értékeinek szemléltetése tilmikozin esetében.

7.1.11. Tulatromicin

Végezetül, ami a tulatromicint illeti 8 baktériumnál tapasztaltunk számottevő ellenállóképesség növekedést. Ez az összes kórokozó több, mint 17%-át tette ki. Mindemellett több, mint 19% volt mérsékelten érzékeny és megközelítőleg 63%-ot tett ki az érzékeny baktériumok aránya. Az eredményeket a 15. ábra tartalmazza.



15. ábra: Az izolált baktériumok MIC értékeinek szemléltetése tulatromicin esetében.

12. táblázat az adott antibiotikumok MIC50 és MIC90 értékeit tartalmazza. A MIC50 és MIC90 értékek meghatározása során azt a legkisebb antibiotikum koncentrációt kerestem meg, ami előbbi esetben a baktériumok 50%-át, utóbbi esetben a baktériumok 90%-át gátolja. Mindemellett feltüntettem a MIC tartományt, amelyben hígítottam az antibiotikumokat, a módozt, mint leggyakoribb elemet és az adott antibiotikummal szemben rezisztens baktériumtörzsek számát.

	MIC tartomány (µg/ml)	MIC50 (µg/ml)	MIC90 (µg/ml)	Módoz (µg/ml)	Határérték (µg/ml)	Rezisztens baktériumtörzsek száma (%)
AML	0,06-64	0,25	64	0,25	1	17 (36,9%)
CEF	0,03-32	0,25	2	0,03	8	11 (23,9%)
ENR	0,0075-8	0,25	8	0,06	2	10 (21,7%)
FFC	0,06-64	1	2	1	8	2 (4,4%)
GEN	0,125-128	4	16	4	16	8 (17,4%)
OTC	0,06-64	0,5	64	0,5	8	11 (23,9%)
PEN	0,06-64	0,25	64	0,125	1	13 (28,3%)
SXT	0,594/0,03-608/32	4,75/0,25	152/8	1,188/0,06	4,75/0,25	28 (60,9%)
TIL	0,25-256	8	128	8	32	10 (21,7%)
TIA	0,25-256	16	64	16 és 32	32	21 (45,7%)
TUL	0,125-128	16	128	8	64	8 (17,4%)

7.2. Korongdiffúziós próba során kapott eredmények

A korongdiffúziós próba eredményeit tükrözi a következő táblázat (13.táblázat). Továbbá szemlélteti a *M. haemolytica* és *B. trehalosi* megoszlását a rezisztens baktériumtörzsek között.

13. táblázat Korongdiffúziós próba során kapott rezisztens baktériumtörzsek megoszlása

	Összes rezisztens baktériumtörzs száma	Rezisztens <i>M.H.</i> baktériumtörzsek száma (%)	Rezisztens <i>B. T.</i> baktériumtörzsek száma (%)
AML	4	3 (8,57%)	1 (10%)
CEF	0	0	0
ENR	5	3 (8,57%)	2 (20%)
FFC	0	0	0
GEN	2	0	2 (20%)
OTC	7	6 (17,14%)	1 (10%)
PEN	4	3 (8,57%)	1 (10%)
SXT	12	7 (20%)	5 (50%)
TIL	7	6 (17,14%)	1 (10%)
TIA	2	2 (5,71%)	0
TUL	6	6 (17,14%)	0

A törzsek többsége minden antibiotikum tekintetében érzékenynek bizonyult. Ceftiofur és florfenikol esetében nem találtunk rezisztens baktériumtörzseket.

8. Következtetések

A leveshígítási módszer során jelentősen több rezisztens baktériumtörzset találtunk, mint a korongdiffúziós módszer esetében. Ennek lehetséges oka lehet a részleges gátlás, amely során a 24 órás inkubációs időt követően a magasabb koncentráción újból növekedésnek indulhatnak a baktériumok. A ceftiofur esetében a leveshígítási mikromódszer alkalmazása során 11 rezisztens baktériumtörzset fedeztünk fel, viszont a korongdiffúziós próba során egyetlen sem. Szulfametoxazol-trimetoprim antibiotikum kombináció esetében 28 baktériumtörzs bizonyult rezisztensnek a leveshígítási mikromódszer alkalmazása során és 12 baktériumtörzs a korongdiffúziós próba során. Mindent összevetve ezzel az antibiotikum kombinációval szemben lépett fel a legnagyobb mértékű rezisztencia. A *B. trehalosi* baktériumtörzsek közül az összes rezisztenciát mutatott egyszerre több antibiotikummal szemben is. Leggyakrabban az amoxicillin, ceftiofur, gentamicin, oxitetraciklin és szulfametoxazol-trimetoprimal szemben csökkent az érzékenységük. A *M. haemolytica*-val szemben a *B. trehalosi* kifejezetten érzékenyebbnek bizonyult tularomicinnel szemben. Előbbi esetben a rezisztens baktériumok aránya 20% volt, utóbbi esetben pedig mindössze 10%. A legtöbb rezisztens *M. haemolytica* baktériumtörzs az A1-es és A2-es szerotípus közül került ki. Mindemellett az A6-os szerotípus

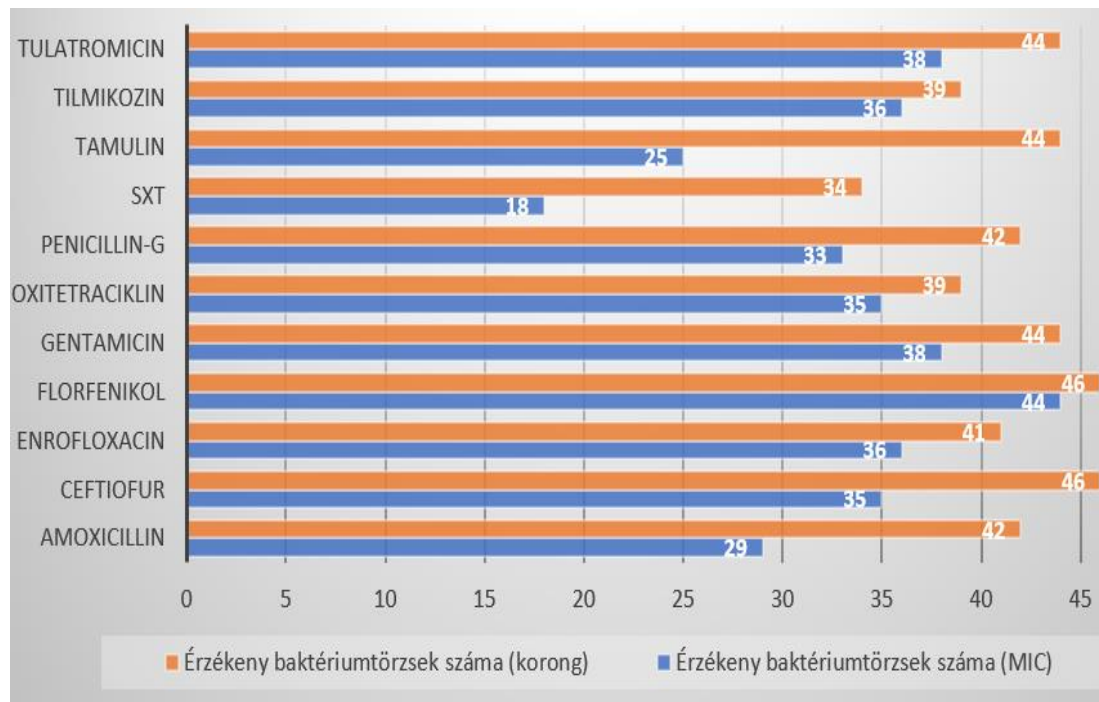
rezisztensnek bizonyult leveshígítós mikromódszer alkalmazása során oxitetra-ciklinnel, enrofloxacin-nal, amoxicillin-nel, penicillin-G-vel, szulfametoxazol-trimetoprim-mel, tiamulin-nal, tilmikozin-nal és tula-tromicin-nel szemben. A korongdiffúziós próba során szintén csökkenő érzékenységet tapasztaltunk ezen antibiotikumokkal szemben, kivéve a szulfametoxazol-trimetoprim és a tiamulin esetén. *B. trehalosi* tekintetében az alacsony mintaszám miatt nem lehet megállapítani, hogy van-e különbség az egyes *B. trehalosi* szerotípusok antibiotikum érzékenysége között. Területi összefüggést nem találtunk, az ország számos különböző pontján jelentek meg rezisztens baktériumtörzsek.

A leveshígítós mikromódszer alkalmazása során a florfenikol bizonyult a legalkalmasabb antibiotikum-nak, mindössze 4%-os rezisztencia volt megfigyelhető. Ez az eredmény a nemzetközi trendekhez illeszkedik. Nagyfokú érzékenység csökkenést tapasztaltunk viszont a tiamulin és penicillin-G esetében. Korongdiffúziós próba során a florfenikol és a ceftiofur bizonyult a legeredményesebbnek, velük szemben nem alakult ki rezisztencia. A szulfametoxazol-trimetoprim-mal szemben pedig a legnagyobb, 26%-os rezisztenciára figyeltünk fel.

Nemzetközi vizsgálatokhoz hasonlóan kutatásunk során is magasabb rezisztencia értékeket tapasztaltunk *B. trehalosi* baktériumtörzsek esetén. Míg a külföldi kutatások alkalmával az oxitetra-ciklin volt az egyik legfőbb antibiotikum, amellyel szemben magasfokú rezisztenciát észleltek, addig saját vizsgálatunk során leginkább a szulfametoxazol-trimetoprim és a tiamulin mutatott jelentős mértékű érzékenység csökkenést. Azonban a florfenikol és a ceftiofur esetén szintúgy alacsony rezisztencia mértéket tapasztaltunk.

A 2 módszer összevetése során leginkább a florfenikol, oxitetra-ciklin, tula-tromicin eredményei korreláltak egymással, többségében ugyanazon baktériumtörzsek bizonyultak rezisztensnek. Enrofloxacin és tilmikozin esetén kismértékű eltérést észleltünk. Mindazonáltal az amoxicillint, ceftiofurt, gentamicint, penicillin-G-t, szulfametoxazol-trimetoprimot és tiamulint illetően jelentős eltérést tapasztaltunk. Az érzékeny baktériumtörzsek számát a következő ábra szemlélteti (16.ábra). A tiamulin MIC értékének meghatározása során 46%-os rezisztenciát tapasztaltunk, míg a korongdiffúziós próba során csak 4 %-ost. Az SXT esetén előbbi esetben több, mint 60%-os rezisztenciát észleltünk, utóbbi esetben pedig 26%-ost. Korongdiffúziós próba használata során kétségtelenül kevesebb rezisztens, viszont több érzékeny baktériumtörzset határoztunk meg.

A két módszer eltéréseinek oka lehet, hogy egyes antibiotikumok esetében nincs meghatározva CLSI standard határérték, így más fajok határértékeit kellett alapul vennünk. A két módszer közül a leveshígítási módszer tekinthető a pontosabbnak. Így elviekben a két módszer eredményeinek eltérése esetén a leveshígítási mikromódszer értékei a meghatározóak. Azonban a módszer összetettsége miatt több az emberi hibalehetőség is a kivitelezése közben.



16. ábra A leveshígítási mikromódszer és a korongdiffúziós próba összevetése során meghatározott érzékeny baktériumtörzsek száma adott antibiotikum esetén.

9. Irodalomjegyzék

1. Varga János, Rusvai Miklós, és Fodor László (2018) A háziállatok fertőző betegségei. Magyar Állatorvosi Kamara Kft., Budapest
2. Melchner A, Berg S van de, Scuda N, Feuerstein A, Hanczaruk M, Schumacher M, Straubinger RK, Marosevic D, Riehm JM (2021) Antimicrobial Resistance in Isolates from Cattle with Bovine Respiratory Disease in Bavaria, Germany. *Antibiotics* 10:. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121538>
3. Griffin D (1997) Economic impact associated with respiratory disease in beef cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 13:367–377. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30302-9](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30302-9)
4. Irsik, M., Langemeier, M., Schroeder, T., Spire, M., & Roder, J. D (2006) Estimating the effects of animal health on the performance of feedlot cattle. *Bov Pract* 65–74
5. Smith RA (2000) Effects of Feedlot Disease on Economics, Production and Carcass Value. *Am Assoc Bov Pract Conf Proc* 125–128. <https://doi.org/10.21423/aabppro20005374>
6. Kehrenberg C, Schulze-Tanzil G, Martel J-L, Chaslus-Dancla E, Schwarz S (2001) Antimicrobial resistance in *Pasteurella* and *Mannheimia*: epidemiology and genetic basis. *Vet Res* 32:323–339. <https://doi.org/10.1051/vetres:2001128>
7. Fodor L, Varga J, Hajtós I, Molnár T (1999) Serotypes of *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella trehalosi* isolated from farm animals in Hungary. *Zentralblatt Vet Reihe B J Vet Med Ser B* 46:241–247
8. Angen O, Mutters R, Caugant DA, Olsen JE, Bisgaard M (1999) Taxonomic relationships of the [*Pasteurella*] *haemolytica* complex as evaluated by DNA-DNA hybridizations and 16S rRNA sequencing with proposal of *Mannheimia haemolytica* gen. nov., comb. nov., *Mannheimia granulomatis* comb. nov., *Mannheimia glucosida* sp. nov., *Mannheimia ruminalis* sp. nov. and *Mannheimia varigena* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 49 Pt 1:67–86. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-1-67>
9. Rice JA, Carrasco-Medina L, Hodgins DC, Shewen PE (2007) *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. *Anim Health Res Rev* 8:117–128. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001375>
10. Katsuda K, Kohmoto M, Mikami O (2013) Relationship between serotype and the antimicrobial susceptibility of *Mannheimia haemolytica* isolates collected between 1991 and 2010. *Res Vet Sci* 94:205–208. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.09.015>
11. Kumar J, Dixit SK, Kumar R (2015) Rapid detection of *Mannheimia haemolytica* in lung tissues of sheep and from bacterial culture. *Vet World* 8:1073–1077. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.1073-1077>
12. Halcyon J. Killion, William Edwards, Jessica-Jennings-Gaines, Mary Wood, Karen Fox, Kerry Sondgeroth (2018) Development and validation of real-time PCR specific for leukotixin gene of *Bibersteinia trehalosi*
13. Dee Griffin, M.M. Chengappa, Jennifer Kuszak, D. Scott McVey (2010) Bacterial Pathogens of the Bovine Respiratory Disease Complex. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 26:381–394. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.04.004>
14. Filion LG, Willson PJ, Bielefeldt-Ohmann H, Babiuk LA, Thomson RG (1984) The possible role of stress in the induction of pneumonic pasteurellosis. *Can J Comp Med* 48:268–274
15. Klima CL, Holman DB, Cook SR, Conrad CC, Ralston BJ, Allan N, Anholt RM, Niu YD, Stanford K, Hannon SJ, Booker CW, McAllister TA (2020) Multidrug Resistance in Pasteurellaceae Associated With Bovine Respiratory Disease Mortalities in North America From 2011 to 2016. *Front Microbiol* 11:606438. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.606438>
16. Hixson CL, Krawczel PD, Caldwell JM, Miller-Cushon EK (2018) Behavioral changes in group-housed dairy calves infected with *Mannheimia haemolytica*. *J Dairy Sci* 101:10351–10360. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14832>
17. Yener Z, Ilhan F, Ilhan Z, Saglam YS (2009) Immunohistochemical detection of *Mannheimia* (*Pasteurella*) *haemolytica* antigens in goats with natural pneumonia. *Vet Res Commun* 33:305–313. <https://doi.org/10.1007/s11259-008-9178-z>
18. Bowersock TL, Sobecki BE, Terrill SJ, Martinon NC, Meinert TR, Leyh RD (2014) Efficacy of a multivalent modified-live virus vaccine containing a *Mannheimia haemolytica* toxoid in calves challenge exposed with *Bibersteinia trehalosi*. *Am J Vet Res* 75:770–776. <https://doi.org/10.2460/ajvr.75.8.770>
19. Crouch CF, LaFleur R, Ramage C, Reddick D, Murray J, Donachie W, Francis MJ (2012) Cross protection of a *Mannheimia haemolytica* A1 Lkt-/*Pasteurella multocida* Δ hyaE bovine respiratory disease vaccine against experimental challenge with *Mannheimia haemolytica* A6 in calves. *Vaccine* 30:2320–2328. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.01.063>
20. McWilliams Maria P. (2009) Indole Test Protocol. *Am Soc Microbiol*
21. Bryan Markey MVB PhD DipStat MRCVS Finola Leonard MVB PhD MRCVS, Marie Archambault DMV MSc PhD Dipl ACVM (2013) *Clinical Veterinary Microbiology* 2nd Edition
22. Geovana B. Michael, Janine T. Bossé, and Stefan Schwarz (2017) Antimicrobial resistance in Pasteurellaceae of Veterinary Origin. *Microbiol Spectr* 6:
23. Gálfi Péter, Csikó György, Jerzsele Ákos (2015) *Állatorvosi gyógyszerteran* III., 2nd ed. Robbie-Vet Kft., Budapest

24. Benoit Desmolaize, Simon Rose, Cornelia Wilhelm, Ralf Warrass, and Stephen Douthwaite (2011) Combination of Macrolide Resistance Determinants in Field Isolates of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida*. *Antimicrob Agents Chemother* 55:4128–4133
25. Holschbach C.L., N. Aulik N, Poulsen K, Ollivett TL (2020) Prevalence and temporal trends in antimicrobial resistance of bovine respiratory disease pathogen isolates submitted to the Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory: 2008–2017. *J Dairy Sci* 103:9464–9472. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17570>
26. Marshall BM, Levy SB (2011) Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. *Clin Microbiol Rev* 24:718–733. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-11>
27. Report of the Federal Ministry of Food and Agriculture on the Evaluation of the Antibiotics Minimisation Concept introduced with the 16th Act to Amend the Medicinal Products Act (16th AMG Amendment). Federal Ministry
28. McEwen SA, Fedorka-Cray PJ (2002) Antimicrobial Use and Resistance in Animals. *Clin Infect Dis* 34:S93–S106. <https://doi.org/10.1086/340246>
29. Kehrenberg C, Salmon SA, Watts JL, Schwarz S (2001) Tetracycline resistance genes in isolates of *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Mannheimia glucosida* and *Mannheimia varigena* from bovine and swine respiratory disease: intergeneric spread of the tet(H) plasmid pMHT1. *J Antimicrob Chemother* 48:631–640. <https://doi.org/10.1093/jac/48.5.631>
30. Catry B, Haesebrouck F, Vliegheer SD, Feyen B, Vanrobaeys M, Opsomer G, Schwarz S, Kruif AD (2005) Variability in acquired resistance of *Pasteurella* and *Mannheimia* isolates from the nasopharynx of calves, with particular reference to different herd types. *Microb Drug Resist Larchmt N* 11:387–394. <https://doi.org/10.1089/mdr.2005.11.387>
31. Blberstein EL (1978) Chapter IX Biotyping and Serotyping of *Pasteurella haemolytica*. In: *Methods in Microbiology*. Elsevier, pp 253–269
32. Roza Eszter, Kardos Gergő, Kovács Dóra, Jerzsele Ákos (2021) Antibakteriális szerek gyakorlati alkalmazása szarvasmarhában 1. rész: Légzőszervi és enterális kórképek Irodalmi összefoglaló. *Magyar Állatorvosok Lapja* 143:67-78. oldal
33. Lubbers BV, Papich MG, Schwarz S, Bowden R, Diaz-Campos DV, Fielder M, Langston C, Li XZ, Martinez MN, Miller C, Morrissey I, Pallotta C, Shryock TR, Simjee S, Sinnott-Stutzman V, Sweeney MT, Traczewski MM, Trott D, Yan SS (2018) CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, 4th edition, VET08. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne
34. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.0, 2023. <http://www.eucast.org>. <https://www.eucast.org/>. Accessed 9 Sep 2023
35. Weinstein MP, Lewis JS, Bobenchik AM, Campeau S, Cullen SK, Galas MF, Golg H, Humphries RM, Kirn TJ, Limbago B, Mathers AJ, Mazzulli T, Richter, SS, Satlin M, Schuetz AN, Simner PJ (2021) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 31st ed. Clinical and Laboratory Standard Institute
36. Jones RN, Pfaller MA, Rhomberg PR, Walter DH (2002) Tiamulin Activity against Fastidious and Nonfastidious Veterinary and Human Bacterial Isolates: Initial Development of In Vitro Susceptibility Test Methods. *J Clin Microbiol* 40:461–465. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.2.461-465.2002>
37. de Jong A, Thomas V, Simjee S, Moyaert H, El Garch F, Maher K, Morrissey I, Butty P, Klein U, Marion H, Rigaut D, Vallé M (2014) Antimicrobial susceptibility monitoring of respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs across Europe: The VetPath study. *Vet Microbiol* 172:202–215. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.04.008>

10. Köszönetnyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani témavezetőmnek, Dr. Tóth Gergelynek, aki laboratóriumi munkám során hasznos tanácsokkal látott el és túllendített a kezdeti bizonytalan lépéseken. Ráadásul még érdekesebbé tette számomra a baktériumok világát.

Továbbá szeretnék köszönetet mondani a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék dolgozóinak Jutasi Alexandrának, Tóth Rékának, Góbi Jessicának, Dr. Makrai László Tanár Úrnak, Dr. Fodor László Tanár Úrnak és Dr. Tenk Miklós Tanszékvezető Úrnak, hogy hozzájárultak dolgozatom sikeres létrejöttéhez.

Köszönettel tartozom az Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság munkatársainak, Dr. Jánosi Szilárd Osztályvezető Úrnak, Süle Zsuzsannának, Szombatiné Boda Ildikónak és Szombati Kittinek.

Témavezetői nyilatkozat TDK dolgozathoz

Alulírott DR. TÓTH GERGELY....., mint témavezető nyilatkozom,
hogy (név) KOVÁCS FRUZZSINA....., VI... évfolyamos hallgató
„SZARVASMARHÁBÓL ROLÁT MANNHEIMIA PRECOYICA ÉS B.T. TÖRZSEK AB ÉRZÉKESÉG.....
című dolgozatát átolvastam és jóváhagytam, részvételét támogatom az
Állatorvostudományi Egyetem 2023 . évi Tudományos Diákköri
Konferenciáján. Továbbá nyilatkozom, hogy a feltöltött TDK dolgozat
plágiumellenőrzésen sikeresen átesett és az esetlegesen feltárt egyezőség az
Egyetemi iránymutatásoknak/szabályoknak megfelel.

Budapest, 2023 év...OKTOBER...hó 18.nap.



.....
témavezető



Diplomamunka konzultációs lap állatorvostan hallgatók részére

A hallgató neve: KOVÁCS FRUZIÁNA

Neptun-kódja: EGN00BA

A témavezető neve és beosztása: DR. TÓTH GERGELY, EGYETEMI TANÁRSÉGÉD

Tanszék: JÁRVÁNYTANI ÉS MIKROBIOLOGIAI TANSZÉK

A diplomadolgozat címe: SZARVASHARHÁKBÓL IZOLÁLT MANNHEIMIA
 HAEMOLYTICA ÉS BIBERSTEINIA TREHALOSI TÖRTZSEK
 ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉGI VIZSGÁLATA

Konzultáció - 1. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2023	02	15		<i>[Signature]</i>
2.	2023	02	22		<i>[Signature]</i>
3.	2023	03	23		<i>[Signature]</i>
4.	2023	04	05		<i>[Signature]</i>
5.	2023	06	22		<i>[Signature]</i>

Érdemjegy az első félév végén: 5

Konzultáció - 2. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2023	09	11		<i>[Signature]</i>
2.	2023	09	12		<i>[Signature]</i>
3.	2023	09	13		<i>[Signature]</i>
4.	2023	09	14		<i>[Signature]</i>
5.	2023	09	15		<i>[Signature]</i>

Érdemjegy a második félév végén: 5

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül nem érvényes. A konzultációs lap a diplomamunka mellékletét képezi!



A diplomamunka - a szakra vonatkozóan - a Tanulmányi- és Vizsgaszabályzatban, valamint az Útmutató a szakdolgozatok/diplomamunkák készítéséhez című mellékletében leírt követelményeknek megfelel.

A diplomamunka befogadható, védésre alkalmasnak találtam.

.....
témavezető aláírása

Hallgató aláírása: Kovács Fruzsina

Tanszéki előadó aláírása: Jánosiné K. Anna Átvétel dátuma: 2023. 10. 31
.....

NYILATKOZAT

Alulírott KOVÁCS FRUZSINA..... nyilatkozom, hogy diplomamunkám, melynek címe
SZARVASHARHÁKBÓL IZOLÁLT MANNHEIMIA HAEMOLYTICA ÉS
BIBERSTEINIA TREHALOSI TÖRZSEK ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉGI VIZSGÁLATA
tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2023.: évi TDK konferencián szerepelt dolgozattal.

Budapest, 2023. 10. 31......

KOVÁCS FRUZSINA Kovács Fruzsina

a hallgató neve és aláírása