

TDK DOLGOZAT

Pincés Tamara

2023

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



Hazai galamb állományokból izolált *Escherichia coli* baktériumtörzsek ECOFF (*Epidemiological cut-off value*) értékének meghatározása

Készítette:

Pincés Tamara

5. évf. ao. hallgató

Témavezető:

Dr. Kerek Ádám

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, egyetemi tanársegéd

Budapest

2023

Tartalomjegyzék

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	3
1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés	5
2.1. Az antimikrobiális rezisztencia jelentősége.....	5
2.2. Az antimikrobiális szerek helyes használatának jelentősége.....	6
2.3. A galambok gazdasági, és a rezisztencia terjesztésében betöltött szerepe	8
2.4. Az <i>Escherichia coli</i> patogenitása.....	9
2.5. A vizsgált hatóanyagok rövid jellemzése	10
2.6. Az epidemiológiai küszöbérték (ECOFF)	13
3. Célkitűzések	15
4. Anyag és módszer.....	16
4.1. A törzsek eredete	16
4.2. A hatóanyag törzskoncentrációk elkészítése	16
4.3. A minimális gátló koncentráció meghatározása	16
4.4. Az ECOFF érték meghatározása.....	19
5. Eredmények.....	20
5.1. A vizsgált baktériumok antibiotikum érzékenysége	20
6. Következtetések.....	28
7. Összefoglalás	31
8. Summary.....	32
9. Irodalomjegyzék	33
10. Köszönetnyilvánítás	38

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AMR	Antimikrobiális rezisztencia (<i>Antimicrobial resistance</i>)
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ECOFF	Epidemiológiai küszöbérték (<i>Epidemiological cut-off value</i>)
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
MDR	Multirezisztens (<i>Mutidrug resistance</i>)
MHB	Müller-Hinton leves (<i>Müller-Hinton broth</i>)
MIC	Minimális gátló koncentráció (<i>Minimum inhibitory concentration</i>)

1. BEVEZETÉS

A házigalamb az élelmiszertermelő állatok közé tartozó, világszerte nagyszámban húsáért, versenyeztetés céljából és hobbi célból tartott madár. Magyarországon a húsgalambok száma kb. 180 ezer. Európa szerte a sportcélra tartott versenygalambok utaztatása során azok több ezer kilométert is megtesznek a hazaút során egy-egy verseny alkalmával. Ennek során ürülékükkel hozzájárulhatnak a bélmikrobiom és annak részét képező rezisztóma széleskörű terjesztéséhez. Mint *minor* élelmiszertermelő állatfaj különösen fontos széleskörű felméréseket végezni a körükben, hogy képet kaphassunk a rezisztencia hazai helyzetéről. A minimális gátló koncentráció (MIC) értékek felhasználásával meghatározhatjuk az ún. epidemiológiai küszöbértékeket (ECOFF) az egyes mikrobák és hatóanyagok tekintetében, mely gyakorlati szempontból szolgáltat értékes információkat az egyes klinikai megbetegedések megfelelő terápiás kezelésének kiválasztásában.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az antimikrobiális rezisztencia jelentősége

Napjaink orvostudományának egy világszerte előforduló, kiemelt jelentőségű problémával kell szembesülnie, amely nem más, mint mind az állat- és a humán-egészségügyi ellátásban előforduló antimikrobiális rezisztencia (AMR) széleskörű terjedése. Ez egyfajta védekezési mechanizmus a mikróbák részéről, amelyet az ellenük használt antimikrobiális ágensek ellen fejlesztettek ki. Az antibiotikumok az orvoslásban igen fontosak a nagy számban előforduló bakteriális megbetegedések gyógykezelésében, ezáltal ezen betegségek visszaszorításában; csökkentik a morbiditást és a mortalitást. A baktériumoknak tulajdonképpen egy ősi tulajdonsága, hogy különböző módokon igyekeznek ellenállni az antimikrobiális szereknek, és időről időre olyan evolúciós változásokon mennek keresztül, amelyek biztosítják a túlélésüket, azonban így csökken az antibiotikumok hatékonysága, ez pedig komoly problémákat okoz a humán-és állat-egészségügyben. Egy-egy ilyen rezisztencia mechanizmus lehet veleszületett vagy szerzett. Az AMR sok esetben mobilizálható géneken található meg, és így a terjedésükben nagy jelentőséggel bírnak a plazmidok, transzpozonok és integronok [1].

Az AMR fő forrása az állattenyésztésre és állatorvoslásra vezethető vissza, aminek számos oka lehet. A bolygónkon a népesség száma fokozatosan nő, és így egyre több élelmiszer előállítására van szükség, ezen belül is a hús előállítása az, ami elsődlegesen összefüggésbe hozható a tárgyalt problémakörrel, hiszen nagyobb mennyiségű húсарu termeléséhez egyre intenzívebb termelési rendszerekre van szükség [2]. A haszonállatok tenyésztése és tartása kapcsán kardinális a minél alacsonyabb áron előállított állati termék [3], és ennek érdekében globálisan széles körben elterjedt az antibiotikumok adása mind a fertőzések megelőzésére, kezelésére, mind a növekedés fokozására [2, 4]. Legnagyobb mennyiségben a sertés és baromfi ágazatban használnak antibiotikumot, 2013-ban Kína volt a legnagyobb antibiotikum felhasználó, hiszen ebben az országban kiugróan sok sertést és baromfit tartanak, mint hústermelő állatot [5]. Ezen túl a rezisztencia India szerte is széles körben elterjedt, itt a legnagyobb a bakteriális betegségek előfordulása, így az antibiotikumok szerepe a morbiditás és a mortalitás limitálásában meghatározó. Délnyugat-Ázsiában, a Közel-Kelet országai is nagy veszélynek vannak kitéve [3]. 2012-ben végeztek egy kutatást Bangladesben, amiből az derült ki, hogy a madarakból származó mintákban jelen levő *Escherichia coli* (*E. coli*) törzsek 22,7%-a multirezisztens (MDR), mely törzsek 30%-os gyakorisággal termelnek kiterjedt spektrumú béta-laktamáz [6].

2.2. Az antimikrobiális szerek helyes használatának jelentősége

Annak érdekében, hogy lassítani tudjuk az AMR terjedését, elengedhetetlen, hogy mindazok, akiknek részük van az antibiotikumok forgalmazásában, eladásában, felhasználásában, azok felismerjék a fennálló problémát és felelősségteljesen járjanak el a jövőben [7]. Fontos az emberek számára az iránymutatás, amely kitér a prevencióra, vagyis arra, hogyan lehet megelőzni, valamint csökkenteni az antibiotikumokra kevésbé vagy nem reagáló baktériumok szelekcióját az állatokban. Ahhoz, hogy fenntartható legyen az antibiotikumok hatékonysága, biztosítani kell azok ésszerű felhasználását és optimalizálni a biztonságot, a szükségességet és a hatékonyságot. Ezek teljesítéséhez elengedhetetlen a megfelelő edukáció. A humán, valamint állatorvosokat, orvostanhallgatókat, asszisztenseket, állattartókat- és tenyésztőket, állatállományokért felelős embereket folyamatos, naprakész információkkal kell ellátni, annak érdekében, hogy közös erővel és összefogással léphessenek fel az AMR megelőzésében vagy terjedésének csökkentésében. Az egyik legfontosabb lépés az orvosok képzésében felhívni a figyelmet az előttünk álló problémára és hangsúlyt fektetni a szükséges tudás megszerzésére; a sorozatosan megrendezésre kerülő továbbképzések, konferenciák napirendi pontjaiba való beillesztés is kiemelten fontos. A tananyag tartalmát illetően, fontos, hogy magába foglalja az antibiotikumok jellemzőit, például a spektrum, idő vagy koncentráció függő hatás, milyen helyzetekben lehet őket alkalmazni, mely fertőzések gyógykezelésére alkalmasak, továbbá a helyes állatorvosi gyakorlat szerinti mintavételezést [2, 7]. Az alapvizsgálatokat követő mintavétel, az abból történő tenyésztés és rezisztenciavizsgálat kiemelt jelentőségű a legpontosabb diagnózis felállításában, ennek hozományaként a megfelelő antibiotikumokkal történő specifikus kezelés növeli a kezelés hatékonyságát és csökkenti a rezisztencia kialakulásának esélyét [7].

A felelős antibiotikum felhasználás részei a tudatos használat, a specifikus kezelés és a szakértelem. Mind az állatorvosi, mind az állattenyésztői munka során elsőbbséget élvez a megelőzés, ide sorolva a vakcinákat és az állatoknak megfelelő tartáskörülmények biztosítását és folyamatos ellenőrzését, hiba jelentkezésekor pedig azok kijavítását [7]. Az optimális állattartás során csökkennek a betegségek és egészségesebbek lesznek az állatok, így kevesebb gyógyszer és antibiotikum felhasználására van szükség. Az állatorvosok felelősége nem elhanyagolható a rezisztencia kialakulásában, és annak terjedésében sem, akár pozitív akár negatív oldalról közelítve meg a dolgot. Az állatorvosok sokat tehetnek az AMR terjedés csökkentésének előre mozdításában, például, ha csak indokolt esetben

alkalmaznak antibiotikumokat, célzottan választják ki a megfelelő hatóanyagot, a kezelések során pedig nem csak az antibiotikumokra hagyatkoznak, gyógykezelési protokollokat használnak, fokozottan figyelve az antibiotikumok előírás szerinti felhasználására. Az Európai Unióban 2006 óta tilos az antibiotikumok prevenció és a hozamfokozás céljából történő felhasználása [2].

Az antibiotikumok esetén is minden hatóanyag használatára vonatkozóan megvannak a megfelelő előírások, amelyek betartásával a célzott hatás elérhető, ezért tehát az állattartó, illetve az állatok kezelését végző személy számára biztosítani kell a kezeléshez szükséges információkat [2, 7]. Mindemellett léteznek bizonyos antibiotikum kombinációk, amelyekben különböző hatóanyagok együttes adásával szinergista hatás érhető el, ami tovább fokozza a kezelés hatékonyságát, illetve csökkenti a felhasznált antibiotikumok mennyiségét, ezáltal hozzájárulva a rezisztencia terjedésének csökkentéséhez [7], mint például az aminoglikozidok és a penicillinek csoportjának hatékony kombinációja [8]. Egy másik nagy kérdés az antibiotikumok „*off label*” módon történő felhasználása. Rendeltetészerűen gyógyszert, így tehát az antibiotikumokat is az előírásoknak megfelelően ajánlatos használni, azonban a gyakorlatban kivételes körülmények között az előírástól indokolt esetben, ajánlástól eltérő módon is felhasználásra kerülhetnek [7].

A rezisztencia kérdéskörével foglalkozó új irányzat a *One Health*, ami egy olyan koncepció melyet többféle természettudományi ágban dolgozó szakember összefogásával és erőfeszítésével alakítottak ki. Legfontosabb irányelvük, hogy a növények, állatok és emberek számára optimális körülményeket és egészséges életteret biztosítsanak. Lényegében ez egy olyan megközelítés, mely szerint az élőlények hatással vannak egymásra, így tehát az egyes problémák megoldását nem lehet szeparáltan kezelni, hanem egyben, átfogóan kell értelmezni mindent [1, 9], ami igaz az AMR területére is, és ahhoz, hogy az antibiotikumok hatékonyságát megőrizzük, lépéseket kell tenni a nem előírászerű felhasználás és a fertőzések terjedésének korlátozása érdekében [1]. Az AMR egy hosszú távú és kifejezetten komplex problémakör, az Egészségügyi Világszervezet (WHO) szerint a legfőbb globális közegészségügyi krízist a jövőben az antibiotikum rezisztens baktériumok fogják okozni, ugyanis a hatékony antibiotikumok felfedezése nem tud lépést tartani a rezisztencia terjedés mértékével szemben [10].

2.3. A galambok gazdasági, és a rezisztencia terjesztésében betöltött szerepe

A *Columba livia domestica*, avagy a házasított galamb [11] a Columbidae családba tartozó madárfaj, mely több mint 350 fajtát számol, és szerte a világban előfordul. A galambok tenyésztése és tartása világszerte elterjedt hobbi és versenyeztetés céljából [12]. A fajtákat két nagy csoportra lehet osztani, ezek közül az egyikbe a hústermelésre használt fajták tartoznak, mint pl. texán, white king, silver king; a másik kategória a hobbiból tartott galambokat foglalja magában, ilyen pl. a moyurponkhi, a shirazi, a lohore. A szirti galamb (*Columba livia*) volt az első házasított madár faj, amelyet az ember 5-10 ezer évvel ezelőtt megszelídített és a húzáért kezdett el tartani és tenyészteni [13]. Előfordulását tekintve a szirti galamb őshonos Európában, Észak-Afrikában, a Közel-Keleten és Kelet-Ázsiában [12], aminek azóta is az elsődleges tenyésztési és tartási célja a hústermelés. A galambok húsa, azon belül is a 3-4 hetes, fiatal galambok húsa kifejezetten ízletes és tápláló fehérjeforrás, melynek igen magas a piaci ára [14].

A galambok tenyésztése és tartása egy igen jövedelmező vállalkozás, ugyanis a galambhús népszerűsége miatt nagy a kereslete, és a mai modern tartástechnológiákkal sokkal hatékonyabban lehet nevelni őket, így nagyobb az előállítható haszon is belőlük, mint régebben. Több oka is van amiért érdemes galambokat tartani, egyszerű és olcsó berendezések is elegendőek a tartásukhoz; illetve olcsó az etetésük, kevés megbetegedés fordul elő közöttük, így mindent összevetve jó profitot ígérnek a galambászok részére [13].

Azonban nem csak házasított galambokkal találkozhatunk környezetünkben, hanem nagyobb számban előfordulnak a vad galambok is, kifejezetten jellemzőek szerte a városokban, közel az emberekhez, tehát a galambokat a szinantrop állatok közé lehet sorolni. A szinantrop élőlények általában kontaminált környezetben élnek, és gyakran interakcióba lépnek az emberekkel, háziállatokkal, és hatással vannak az élelmiszerlánc biztonságára is. Meghatározó szerepük van a zoonotikus kórokozók terjesztésében, ugyanis rezervoárként szolgálnak számukra, melyek megbetegedéseket okozhatnak az emberek és állatok körében egyaránt [15]. A vadállomány sokféle kórokozó hordozásában és terjesztésében játszik kulcsfontosságú szerepet, több mint 40 betegség kialakításáért felelős ágenst is hordozhatnak, beleértve a baktériumokat, vírusokat, parazitákat és gombákat, mindazonáltal pedig az emberre is veszélyt jelentő zoonotikus betegségeket [16].

A baktériumok közül kiemelkednek a *Salmonella* fajok képviselői és az *E. coli*. Az antibiotikum rezisztens baktériumok és az általuk hordozott rezisztenciát gének

kimutathatóak a madarak bélsarából [16]. A vad madarak, különösen a vándorló fajok hozzájárulnak az AMR terjesztéséhez, nagy utat képesek megtenni, így távoli pontokba, különböző földrészekre is el tudják juttatni a rezisztenciát hordozó géneket. A baromfifajok a legjelentősebb rezervoárjai a patogén *E. coli* törzseknek, illetve bennük a legjellemzőbb a MDR jelenléte is. 2019-ben egy Svájcban végzett kísérletből az derült ki, hogy a madarak 5,8%-a fertőzött MDR *E. coli* törzsekkel, és közülük néhányan széles-spektrumú béta-laktamáz termelésért felelős géneket is hordoztak, mint pl. *CTX-M-15*, *CTX-M-55*, *CTX-M-65* [17].

2.4. Az *Escherichia coli* patogenitása

Az *E. coli* baktérium az Enterobacteriaceae családba tartozó Gram-negatív baktérium [10], világszerte előfordul a melegvérű állatok és a hullók gyomor-bélrendszerében és a bélsarában [18]. Laboratóriumi körülmények között 37°C-on inkubálva, 16-18 óra alatt kitűnő növekedést mutat, tenyésztéséhez használhatunk normál, szelektív és differenciáló agarokat is, mint pl. a MacConkey agar. [19]. Ez a baktérium opportunista, vagyis fakultatív patogén, tehát a normál bélmikrobiom részeként is megtalálható a legtöbb állatfaj esetében [9], ahhoz, hogy megbetegedést alakítson ki, hajlamosító tényezőkre van szükség. Ilyen tényező lehet a sérülés, egy primer megbetegedés, környezeti probléma (pl. a levegő magas ammóniatartalma), és a stressz. Mindezek az immunrendszer válaszkészségét csökkentik, és a kialakított immunszuppresszió következtében a szervezet fogékonyabb lesz a fertőzésekre. Gyakorta társfertőzésként találkozunk vele, de primer patogénként is számontartják, az általa kialakított fertőzések, megbetegedések súlyos gazdasági veszteségeket okoznak [10].

Az *E. coli* baktériumok két nagy csoportra oszthatóak aszerint, hogy apatogének vagy patogének. Az apatogén *E. coli* kommenzalista, így megtalálható általánosan a gyomor-bélsatornában, míg a patogén törzs bizonyos körülmények között komoly megbetegedéseket képes okozni [20]. A patogén törzsek további két nagy csoportra oszthatók, extraintesztinális *E. coli* (ExPEC), amely a bélrendszeren kívül fordul elő elsősorban és intesztinális *E. coli* (DEC), amely a bélrendszerben okoz megbetegedéseket. Az extraintesztinális fertőzést okozó *E. coli* törzseket három további csoportra lehet osztani, ezek az uropatogén (UPEC), meningitisz asszociált (MNEC) és avian patogén *E. coli* (APEC) csoportok. A bélrendszerben megbetegedést okozó *E. coli* törzseket hat csoportba sorolhatjuk: enteropatogén *E. coli* (EPEC), verotoxin vagy shigatoxin termelő *E. coli* (VTEC, STEC), enterotoxikus *E. coli* (ETEC), enteroinvazív *E. coli* (EIEC),

enteroaggregatív *E. coli* (EAEC) és diffúzan adherens *E. coli* (DAEC). Az EPEC törzsek egy részének van pilusképző képessége, ez a tipikus EPEC (tEPEC), míg a másik része nem rendelkezik ilyennel, ez az atipikus EPEC (aEPEC) besorolást kapta. A kórokozó terjedhet szájon át, levegő útján vagy vertikálisan. A patogén *E. coli* jelen van a baromfi fajok belében, illetve előfordulhat a baromfi húst tartalmazó termékekben, és így megteremtve a lehetőségét a fertőzések kialakulásának mind a fejlődő, mind a fejlett országokban [21].

Házimadarainkban a madár patogén *E. coli* úgynevezett colibacillózt okoz helyileg vagy szisztémásan [10, 22]. *E. coli* fertőzésre több baromfifaj fogékony, ezek közül ki kell emelni a csirke, a kacs, a pulyka és a galamb fogékonyságát. Különböző elváltozások és megbetegedések alakulhatnak ki, például lokalizált kórképek formájában gasztroenteritisz és ezáltal hasmenés [5], légzőszervi elváltozás, coliform cellulitisz, coliform omfalitisz [9], „swollen head syndrome”, szalfingoperitonitisz [10], „airsacculitis”, perikarditisz, perihepatitisz, poliszerozitisz [23]. A szisztémás forma coliszeptikémiát okoz [24], emellett granulomatózus gyulladást, oszteoartritist, szinóvitist [10], meningitist is okozhat [5]. A fiatal madarak jobban ki vannak téve a fertőzésnek, a legnagyobb mortalitást embrionális korban figyelték meg. Bármely formája is alakul ki az *E. coli* fertőzésnek az komoly gazdasági károkat okoz [10]. Ez a gazdasági kár a mortalitás növekedéséből, a termelés, a szaporaság, a tojástermelés csökkenéséből, illetve a kezelések és profilaxis miatti megnövekedett költségekből adódik [25].

A kommenzalista mikrobióta, kiváltképp a bélrendszerben előforduló fajok fontos szerepet játszanak az AMR terjedésében, ezért az *E. coli* a gyakorta tanulmányozott baktérium fajok közé sorolható, hiszen kiváló indikátora az AMR terjedésének, mert normál körülmények között is része a szervezetnek, illetve széles körben megtalálható a környezetben is, emellett pedig a rezisztencia kialakulására kifejezetten fogékony, mobilis genetikai részükben pedig számos rezisztencia gént képesek hordozni, és továbbadni [10, 18].

2.5. A vizsgált hatóanyagok rövid jellemzése

Az antibiotikumok olyan szerek, melyek a gazdaszervezetben megtalálható mikroorganizmusok életfolyamataira és szaporodására a lehető legnagyobb, míg a gazdaszervezet folyamataira a lehető legkisebb negatív hatással vannak [26, 27].

Az antibiotikumok csoportosítása azok eredete, kémiai szerkezete és hatásuk mechanizmusa alapján történik [28]. A farmakológiai hatás a legtöbb esetben a sejtfal szintézis- és az egyedi metabolikus folyamatok gátlása révén alakul ki [29, 30].

A β -laktám csoportba a penicillinek, a cefalosporinok és az újabb karbapenem és monobaktám típusú szerek tartoznak, melyek közös jellemzője a béta-laktám gyűrű. Ez a molekulaszervezet képes gátolni a bakteriális sejtfal szintézisét. Ebből a tulajdonságukból következően a sejt lízisét okozzák, így baktericid hatásúak, tehát mindenképpen a sejtszám csökkenését eredményezik. Történetileg ezeket fedezték fel elsőként, Sir Alexander Flemming 1928-ban az „ős-penicillint” (Penicillin G) egy ecsetpenész gombafajból izolálta [26]. Az amoxicillin egy az 1970-es évek óta használt félszintetikus hatóanyag. Hatását a *Penicillin Binding Protein* (PBP) kötése révén éri el, amely a bakteriális sejtfal előállításának egyik nélkülözhetetlen enzime. Emiatt a sejtfal permeábilissá válik és következményként a sejt lízise következik be. Megfigyelések alapján a felszívódást követően jó megoszlást mutat a májban, epében, tüdőben, izmokban, csontban, középfülben, arcüreg szekrétumban, tályogokban és ízületi folyadékokban, azonban az agy-gerincvelői folyadékba kis mennyiségben jut át. A béta-laktamáz termelő fajok számának növekedésével a spektruma egyre szűkül, ezért célszerű kombinálni béta-laktamáz gátló szerekkel [31]. Az amoxicillin önmagában nem béta-laktamáz stabil vegyület, így a megfelelő hatás eléréséhez szükséges kombinálni egy béta-laktamáz gátló molekulával, mint amilyen a klavulánsav. A klavulánsav hatékonyan védelmezi az amoxicillint a béta-laktamáz enzim ellen, mint önfeláldozó molekula, így ez a kombináció effektíven használható amoxicillin rezisztens baktériumok ellen is [32].

A ceftriaxon a cefalosporinok csoportjába tartozó hatóanyag. A csoport tagjait négy generációba osztjuk felhasználhatóságuk és spektrumuk alapján, ezek közül a ceftriaxon a harmadik generációba sorolandó. Kiemelkedő aktivitást mutat számos Gram-negatív és egyes Gram-pozitív mikroorganizmusokkal szemben. A legtöbb *Enterobacteriaceae* családba tartozó baktérium és a *Streptococcus pneumoniae* ellen nagy hatékonysággal használható. Az agy-gerincvelői folyadékba való nagyfokú penetrációja miatt kiválóan alkalmazható akut bakteriális meningitisz kezelésére [33].

Az imipenem a béta-laktámokon belül kritikus szereppel rendelkező karbapenem, hiszen kismértékben érzékenyek a béta-laktamázokra, sőt gátolni is képesek azokat és szintén a *penicillin-binding proteinen* (PBP) keresztül fejtik ki hatásukat. Igencsak széles spektrummal rendelkezik, mind Gram-pozitív, mind Gram-negatív patogénekkel szemben hatékony. A széles spektruma miatt első vonalbeli szerként nem használható, azonban más

szerekre rezisztens infekciók esetén használata már felmerülhet. Felhasználása során mellékhatásként beszámoltak neuro- és nefrotoxicitásról, valamint immunmodulációról is [34].

A potenciált szulfonamid egy szulfonamid és egy diaminopirimidin hatóanyag kombinációja. Ez a kombináció két ponton képes gátolni a folsavszintézis folyamatát. Fontos megemlíteni, hogy a gazdaszervezet folsav produkciójára szintén hatással van, így manapság használatuk visszaszorult. Mivel a folsav szintézis híján a sejt saját metabolizmusát és szaporodását redukálja, ebből kifolyólag külön-külön alkalmazva bakteriosztatikus, míg kombinálva alkalmazva időfüggő baktericid hatásmóddal rendelkeznek [27, 35].

A tetraciklinek csoportjába tartozó félszintetikus doxiciklin reverzibilisen gátolja a bakteriális fehérjeszintézisért felelős riboszómák 30S alegységét. Ennek következménye, hogy hatásmódja bakteriosztatikus. Viszonylag széles spektrummal rendelkezik, azonban az elmúlt fél évszázadban történő gyakori alkalmazásuk miatt számos rezisztenciamechanizmus alakult ki velük szemben [36].

Az aminoglikozidok csoportja nevét a szerkezetéről kapta, ide tartozik az általunk is vizsgált neomicin és spektinomycin hatóanyag. Szerkezetileg egy amino csoportokból álló makromolekula. Hatását tekintve a riboszóma 30S alegységen keresztül irreverzibilisen gátolja a mikrobák fehérjeszintézisét, ezért koncentráció függvényében baktericid hatásmóddal rendelkezik. Spektruma főként Gram-negatív mikroorganizmusokat fed le [37–39].

A polimixinek egy szerkezetileg különálló, nem riboszómán ható, ciklikus oligopeptidláncból álló gyógyszercsoport. A polimixin E hatóanyag, más néven kolisztin, főként Gram-negatív baktériumokra hat. Pontos hatásmechanizmusa nem ismert, de feltételezik, hogy a Gram-negatív baktériumok vastag lipopoliszacharidból álló külső membránjának permeabilitását fokozza, ami miatt a sejt lízise következik be [40].

A fluorokinolonok gyógyszercsoportjának a DNS szintézisére van hatása, egészen pontosan a baktériumok DNS-giráz és DNS-topoizomeráz IV enzimeinek gátlása révén. Hatásmódjuk koncentrációfüggő baktericid. Magas aktivitást mutat mind Gram-pozitív, mind Gram-negatív baktériumokkal szemben. Az állatgyógyászatban használt egyik legfontosabb képviselője az enrofloxacin, melyet 1991 óta baromfifajok számára *per os* készítményként alkalmaznak [41].

A florfenikol egy széles-spektrumú antibiotikum, amelyet kizárólag az állatorvoslásban használnak, főként szárazföldi gazdasági és víziállatok fertőzőes betegségeinek

kezelésében. Hatásmechanizmusa alapján a bakteriális riboszóma 50S alegységéhez való kötődése révén és a peptidil-transzferáz nevű enzim antagonizálása révén megakadályozza a sejt fehérjeszintézisét, ami egy reverzibilis folyamat, így bakteriosztatikus hatásmóddal rendelkezik. Spektruma a Gram-pozitív és a Gram-negatív fajokra is kiterjed [42].

A baromfi ágazatban az antibiotikumokkal történő kezelés általában az egész állományra kiterjed, függetlenül attól, hogy egyes egyedek mutatnak-e tüneteket vagy sem, ami azért jelent problémát, mert az antibiotikumok esetleges alacsony dózisban történő adagolása kedvez a rezisztencia kialakulásának és terjedésének. Meghatározó jelentősége a baromfityényszerzésben a brojler ágazatnak van, a legnagyobb mennyiségű brojler húst előállító országoknak, mint Kína, Brazília, USA, és az EU van a legnagyobb ráhatása az antibiotikum rezisztencia helyzetére. Ezen országok mindegyikében engedélyezett a kolisztin alkalmazása. Az EU országaiban általánosan engedélyezett hatóanyagok baromfifélék számára a neomicin, a spektinomycin, az amoxicillin, az enrofloxacin és a doxiciklin [27].

2.6. Az epidemiológiai küszöbérték (ECOFF)

Az Európai Unió antimikrobiális érzékenységet vizsgáló bizottsága az AMR globális terjedésének monitorozása és a megfelelő, időben történő intézkedések céljából bevezette az ún. vad-típusú és nem vad-típusú törzseket elkülönítő vizsgálatokat, amelyek eloszlása előbbi esetén olyan mikroorganizmus populáció, ami fenotípusosan nem rezisztens az egyes hatóanyagokra, utóbbi esetében viszont a rezisztencia már kialakult. Az epidemiológiai töréspont (ECV) a vad-típusú törzseknél az a legmagasabb minimális gátló koncentráció, ahol a vad típusú törzsek legalább 95%-a megfigyelhető [43]. Amennyiben egy törzs a vad-típusú kategóriába esik, az egyben nem hordozhat a vizsgált hatóanyaggal szemben rezisztencia kialakításáért felelős gént. A nem vad-típusú törzsek esetén környezetből felvett vagy mutációval kialakított rezisztenciáról beszélhetünk, és az ezért felelős rezisztencia géneket is hordozzák [44]. Az ECOFF meghatározásakor a MIC-értékeket hisztogramon történő ábrázolása során bimodális eloszlást kapunk, amely eltérő súlyú két normál eloszlás keveréke, azonos szórással, amely eltérő magasságú csúcsokat eredményez [45]. Az ECV és ECOFF meghatározás gyakorlatilag ugyanaz, a különbség, hogy előbbit a *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), utóbbit az *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) használja [46, 47].

Az EUCAST az Európai Klinikai Mikrobiológiai és Infektológiai Társaság (ESCMID) által létrehozott nemzetközileg elismert antimikrobiális hatóanyagok érzékenységével

foglalkozó bizottság, ami az Európai Gyógyszerügynökség (EMA) töréspontokat (*breakpoint*) meghatározó tanácsadó bizottságaként működik. Fő feladata a klinikai töréspontok egységesítése volt [47], amely alapján a baktériumokat a hatóanyagokra való érzékenységük alapján három kategóriába sorolja: érzékeny, köztes vagy rezisztens. Ezek között a kategóriák között a töréspontok nemzetközi szinten eltérőek voltak, aminek kiküszöbölésére az EUCAST új felosztást javasolt, nyilvános adatbázissal és egységes módszertan bevezetésével. Az epidemiológiai határérték az érzékeny vad-típusú törzseknél (WT) $\leq X$ mg/l, még a rezisztens nem vad-típusú törzseknél (non-WT) $> X$ mg/l lett egységesen; a klinikai töréspontokat pedig egységesen a rezisztencia szempontjából $R > Y$ mg/l helyett $R \geq Y$ mg/l-ben fejezik ki, aminek a terápiás kezelésekben van jelentős szerepe [48]. Az EUCAST által alkalmazott rendszert azóta számos Európán kívüli országban is használják [49, 50]. Az ECOFF-értékek meghatározásának egységesítése céljából pedig rendszeresítettek egy ECOFFinder, statisztikai programot [51].

3. CÉLKITŰZÉSEK

Jelen kutatás célja, hogy a korábban hazai galambállományokból gyűjtött és azokon meghatározott MIC-értékkel rendelkező galambokból izolált *E. coli* baktérium törzsek ECOFF-értékét megállapítsuk a vizsgált hatóanyagokra nézve. Vizsgálataink során a CLSI és az EUCAST által meghatározott módszertan alapján az ECOFF meghatározáshoz szükséges hatóanyag kettes alapú koncentrációsorának teljes tartományának figyelembevételével végeztük el a MIC-értékek meghatározását. Eredményeinkkel a galambokból gyűjtött kommenzalista *E. coli* törzsek alapján lehetséges fertőzések kezelésében történő terápia optimális kiválasztásához szeretnénk hozzájárulni.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A törzsek eredete

A minták a korábban magyarországi galambászok körében 2021. nyarán gyűjtött törzsgyűjteményből származtak. Az *E. coli* minták izolálása ChromoBio® Coliform agar (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország) segítségével történt. Az izolált telepeket Trypton-szója agarra (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország) történő átoltás és inkubációt követően Microbank™ rendszerben (Pro-Lab Diagnostics, Richmond Hill, Kanada) lefagyaszttva tartottuk ultramélyhűtőben.

4.2. A hatóanyag törzskoncentrációk elkészítése

A vizsgálatokhoz szükséges törzsoldatokat a hatóanyagokból (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) amoxicillin és amoxicillin-klavulánsav 2:1 arányú keveréke (pH 6, 0,1 mol/l), valamint imipenem esetén (pH 7,2, 0,01 mol/l) foszfát pufferoldatban; ceftriaxon, doxiciklin, spektinomycin, neomicin, kolisztin, tiamulin, linkomicin és vankomicin hatóanyagok esetén desztillált vízben; potenciált szulfonamid esetén szulfametoxazol és trimetoprim 20:1 arányú keverékének, előbbi esetében forró vízben néhány csepp 2,5 mol/l NaOH-val, utóbbi esetében 0,05 mol/l HCl-al desztillált vízben; enrofloxacin esetén néhány csepp 1 mol/l NaOH-oldattal desztillált vízben; a tilozint és a florfenikolt pár csepp 95%-os etanol és desztillált víz segítségével készítettük el.

A vizsgálatot a korábban alsó vagy felső MIC-értékkel nem rendelkező törzsek esetén az ECOFF meghatározáshoz szükséges tartományban (512-0,001 µg/ml) végeztük el.

4.3. A minimális gátló koncentráció meghatározása

Az MIC-értékek meghatározását a CLSI módszertanával végeztük az ECOFF vizsgálat fejezetben leírtakat figyelembe véve [46], a breakpointokat a CLSI és az EUCAST ajánlásai alapján választottuk ki.

A baktériumtörzseket a vizsgálatot megelőző napon 3 ml Müller-Hinton levesbe (MHB) oltottuk, majd 18-24 órán át inkubáltuk 37 °C-on. A vizsgálatokat 96 lyukú mikrotiter lemezt (VWR International, LLC., Magyarország) használtunk. A munkalemezek első oszlopának kivételével a lyukakat 90 µl MHB-vel (1. lépés) töltöttük fel (**1. ábra**). Majd elkészítettük a hatóanyag törzsoldatok kettes alapú hígítását MHB-vel, így minden esetben 512 µg/ml koncentrációtól indítottuk a hígítási sort, majd egy második lemezen tovább folytatva az ECOFF meghatározáshoz szükséges teljes tartományt lefedtük. A kettes alapú hígításból 180 µl-t mértünk a munkalemezek első oszlopába (2. lépés), majd 2-es alapú hígítási sort

készítettünk belőle (3. lépés). A második munkalemez 10. oszlopa után a felesleget pipettaheggyel együtt eldobtuk, így minden oszlopban 90 µl térfogatot alakítottunk ki. Minden baktériumtörzs vizsgálatához egy sort használtunk a munkalemezen (**2. ábra**).

1. lépés: feltöltés

↓ 90 µl

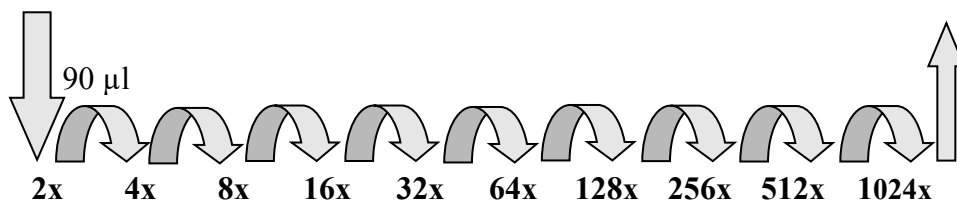
	2x	4x	8x	16x	32x	64x	128x	256x	512x	1024x		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
B		90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
C		90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
D		90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
E		90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
F		90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
G		90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
H		90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-

1. ábra A lemezek feltöltése 90 µl MHB-vel

2. lépés: bemérés

3. lépés: hígítási sor készítése

90 µl feleslegben kidob



	2x	4x	8x	16x	32x	64x	128x	256x	512x	1024x		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
B	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
C	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
D	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
E	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
F	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
G	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
H	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-

2. ábra Kettes alapú hígítási sor készítése, az első oszlop feltöltése 180 µl kiindulási koncentrációval, majd 90 µl tovább mérése és szuszpendálása a 10. oszlopig

Segédlemez segítségével 0,5 McFarland értékre beállítva előkészítettük a baktériumtörzsek ráoltásához szükséges baktériumszuspenziót. A segédlemezeket 240 µl MHB-vel töltöttünk fel (**3. ábra**), minden lyukba 10 µl 0,5-1 percig vortexelt

baktériumszuspenziót mértünk (4. lépés). Végül a baktériumtörzseket az elkészített munkalemezre oltottuk, a kettes alapú hígítási sort tartalmazó lemezek 11. oszlopától kezdve haladva visszafelé 10 µl baktériumszuspenziót pipetázva a segédlemezről (5. lépés). A 11. oszlop pozitív kontrollként szolgált (baktériumszuspenzió, leves), a 12. oszlop negatív kontrollként (leves) funkcionált (4. ábra).

4. lépés: a baktériumszuspenzió 0,5 McFarland értékkel

10 µl



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	240		240		240		240		240		240	
B	240		240		240		240		240		240	
C	240		240		240		240		240		240	
D	240		240		240		240		240		240	
E	240		240		240		240		240		240	
F	240		240		240		240		240		240	
G	240		240		240		240		240		240	
H	240		240		240		240		240		240	

3. ábra A baktériumszuspenzió 25x hígításának elkészítése segédlemezén

5. lépés: a baktériumszuspenzió bemérése

10 µl



	2x	4x	8x	16x	32x	64x	128x	256x	512x	1024x		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
B	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
C	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
D	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
E	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
F	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
G	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
H	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-

4. ábra A baktériumszuspenzió rámerése a munkalemezre a pozitív kontrolltól kezdve

A munkalemezeket 18-24 órán keresztül 37 °C-on inkubáltuk, végezetül vizuálisan elbíraltuk az eredményeket a pozitív (11. oszlop) kontrollhoz viszonyítva. Az értékelés során a – (nincs zavarosodás) és ± (nehezen megítélhető) jelöléseket negatív eredménynek

tekintettük, pozitív eredménynek a + (enyhe zavarosodás), ++ (mérsékelt zavarosodás), +++ (jelentős zavarosodás) számított.

4.4. Az ECOFF érték meghatározása

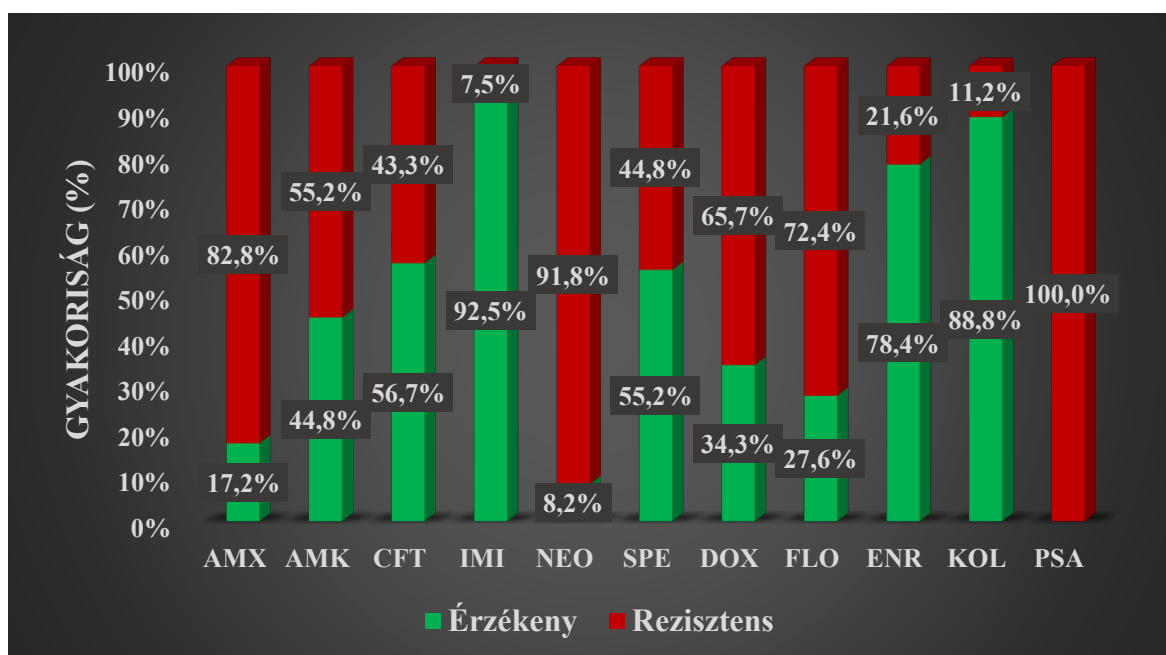
Az ECOFF-értékek meghatározását az ECOFFinder [43] program segítségével végeztük el. Ennek során a 99%-os küszöbértéket vettük figyelembe, ami az a MIC-érték, amely a modellezett vad típusú populáció 99%-át lefedi, ezzel növelve a vad típusú populációra vonatkozó specificitást.

A módszertan során a MIC-értékekből a vizsgált hatóanyag koncentráció tartományban (512-0,001 µg/ml) egy gyakorisági táblázatot készítettünk. A template kitöltése során meg kellett adni a baktérium faj nevét, a vizsgált hatóanyag nevét, valamint jelölni kellett, ha a vizsgált adatok egynél több MIC-eloszlásból származtak. Mindemellett a megfigyelések számát is jelölni kellett. Az elemzés során meg kell adni egy ún. Nest kiindulási értéket, aminek közel kell lennie az izolátumok számához, azonban azzal nem lehet egyenlő. Ezt követően a template Solver makróját futtatva megkapjuk a megfigyelt értékekhez tartozó legjobb illeszkedést leválogató részhalmazt, a program megadja a reziduumokat a megfigyelt számok és az illesztett görbe alapján becsült számok különbségeként. Abban az esetben megbízható a kiválasztott részhalmaz, ha a reziduumok a középen található nullát jelölő vonal mindkét oldalán szóródnak. Végül a program grafikusan ábrázolja a becsült értékek illeszkedését az adatokhoz és az eredmények táblázatos formában lekérhetők.

5. EREDMÉNYEK

5.1.A vizsgált baktériumok antibiotikum érzékenysége

Összesen 134, galambból izolált *E. coli* törzs érzékenységi vizsgálatát végeztük el 15-féle hatóanyagra, amely során 2010 MIC-értéket határoztunk meg. Az **5. ábrán** látható, hogy a galambokból gyűjtött izolátumok 92,5%-a volt érzékeny a humánegészségügy számára tartalékolt, AMEG A kategóriás imipenem hatóanyagra. A kritikusan fontos, AMEG B kategóriás kolisztinre nézve a törzsek 88,8%-a volt érzékeny. A szintén AMEG B kategóriába tartozó enrofloxacin is megőrizte hatékonyságát, a törzsek 78,4%-a volt érzékeny. A neomicin és potenciált szulfonamid (szulfametoxazol és trimetoprim) esetén szinte teljes mértékű volt a rezisztencia. Az amoxicillin hatóanyagra megállapított 82,8%-os rezisztencia és az amoxicillin-klavulánsav esetén tapasztalt 55,2%-os rezisztencia arra utal, hogy a törzsek többsége béta-laktamáz enzimet termel.

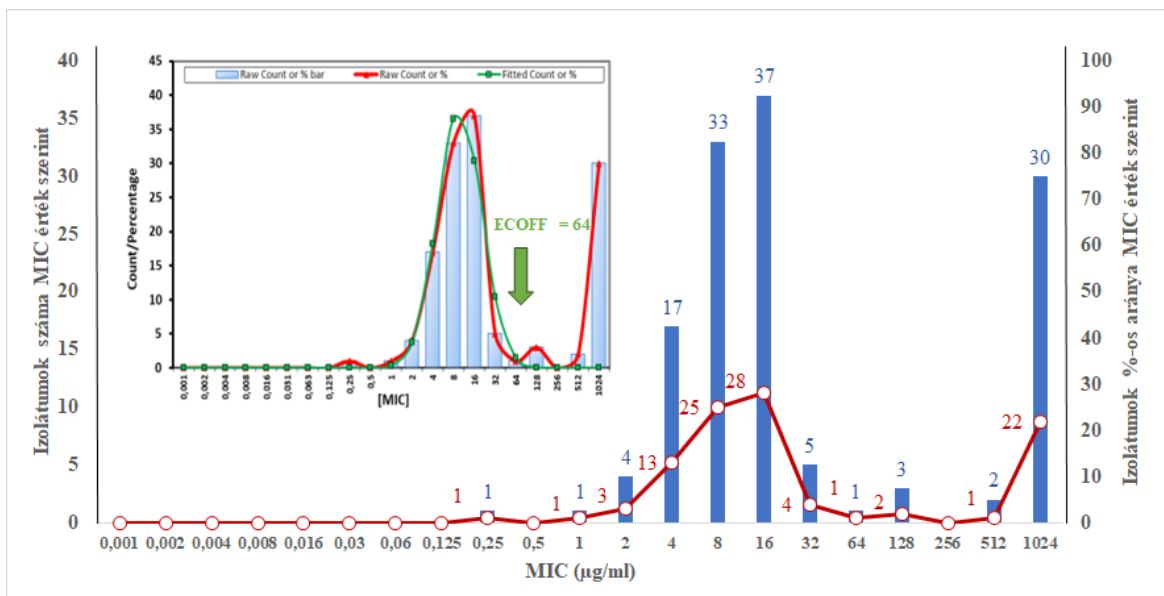


AMX – amoxicillin; AMK – amoxicillin-klavulánsav (4:1 arány); CFT – ceftriaxon; IMI – imipenem; NEO – neomicin; SPE – spektinomycin; DOX – doxiciklin; FLO – florfenikol; ENR – enrofloxacin; KOL – kolisztin; PSA – potenciált szulfonamid (szulfametoxazol-trimetoprim, 20:1 arány)

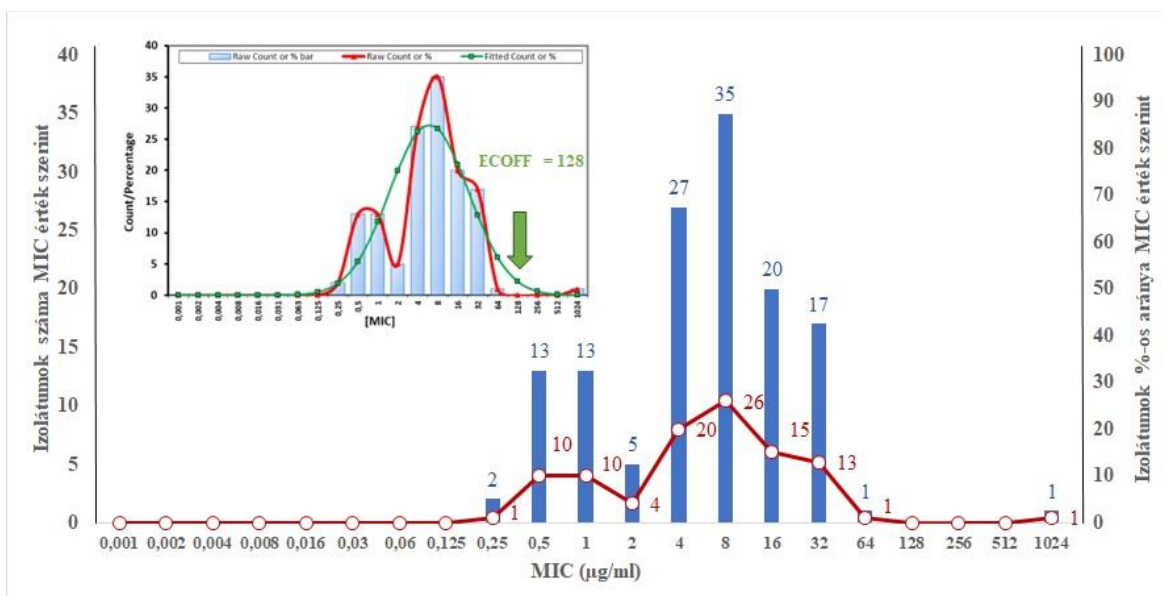
5. ábra Az *E. coli* egyes hatóanyagokkal szembeni érzékenysége és a rezisztencia mértéke galambokból gyűjtött 134 db izolátum esetén

Az ECOFFinder segítségével elvégzett becslés eredményei alapján elmondhatjuk, hogy jelenleg az EUCAST breakpoint ajánlása amoxicillin esetén 8 µg/ml, addig az általunk vizsgált törzsek megoszlása alapján becsült ECOFF-érték a vad típusú törzsek 99%-át figyelembe véve 64 µg/ml volt (**6. ábra**). Amoxicillin-klavulánsav esetén jóval nagyobb az

érzékenység (44,8%), azonban a MIC-értékek megoszlása miatt a becsült ECOFF-érték 128 µg/ml volt (7. ábra).

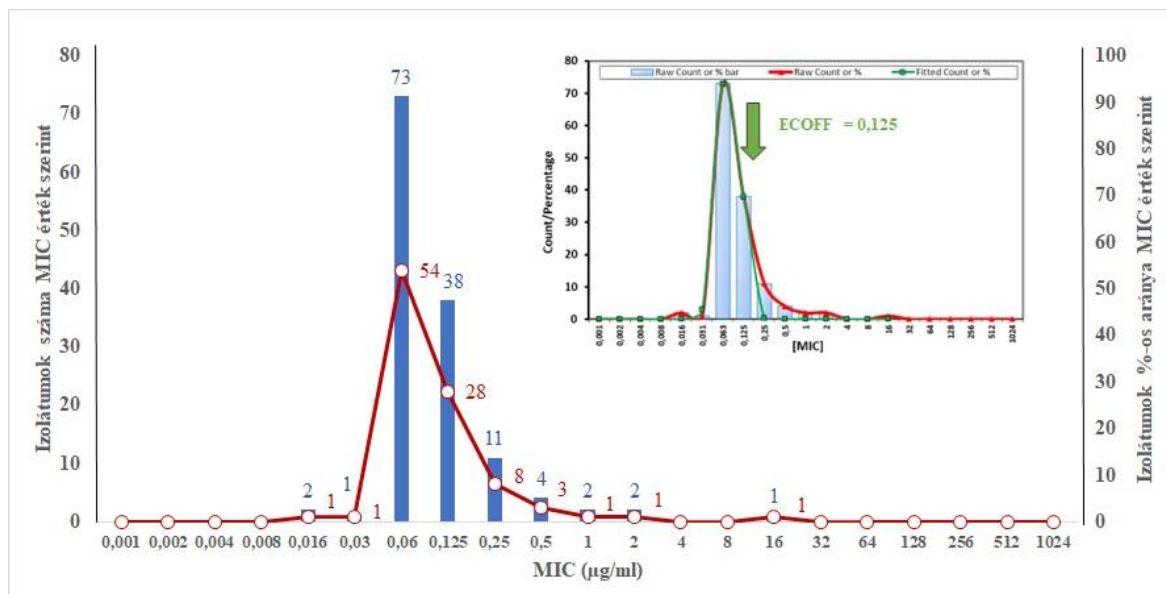


6. ábra *E. coli* (n= 134) esetén kapott MIC-értékek gyakorisága (kék) és százalékos aránya (piros), valamint az ECOFFinder segítségével meghatározott epidemiológiai küszöbérték (ECOFF), amoxicillin hatóanyagra nézve. A zöld nyíl a becsült ECOFF-értéket mutatja.



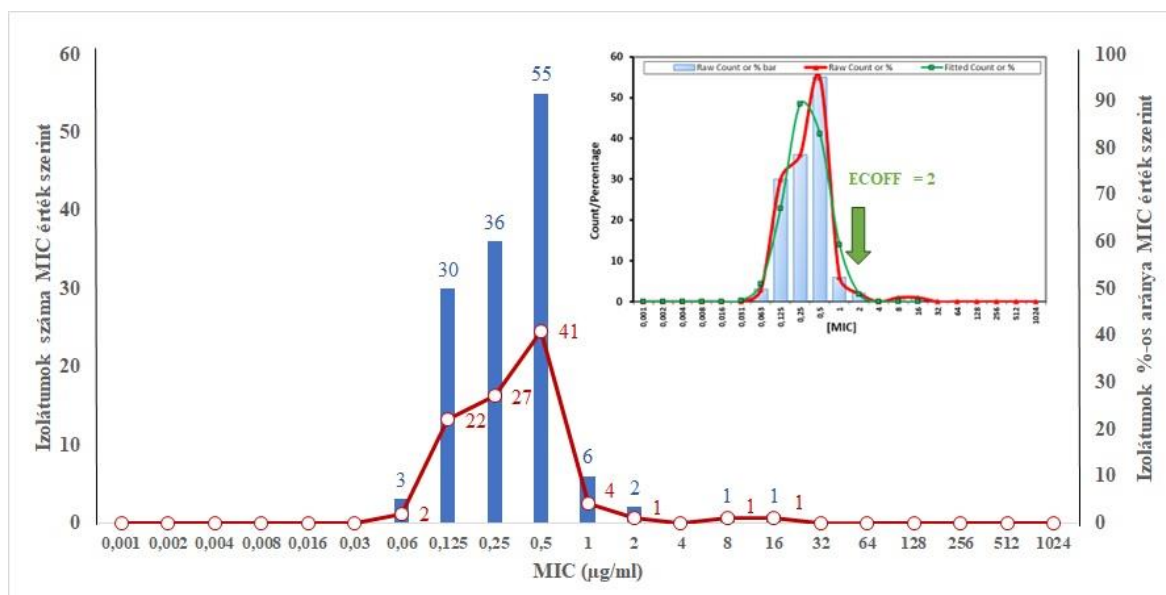
7. ábra *E. coli* (n= 134) esetén kapott MIC-értékek gyakorisága (kék) és százalékos aránya (piros), valamint az ECOFFinder segítségével meghatározott epidemiológiai küszöbérték (ECOFF), amoxicillin-klavulánsav hatóanyagra nézve. A zöld nyíl a becsült ECOFF-értéket mutatja.

Ceftriaxon esetén az EUCAST által meghatározott 0,125 µg/ml breakpoint egybevág az általunk vizsgált törzsek esetén becsült ECOFF-értékkel (8. ábra).



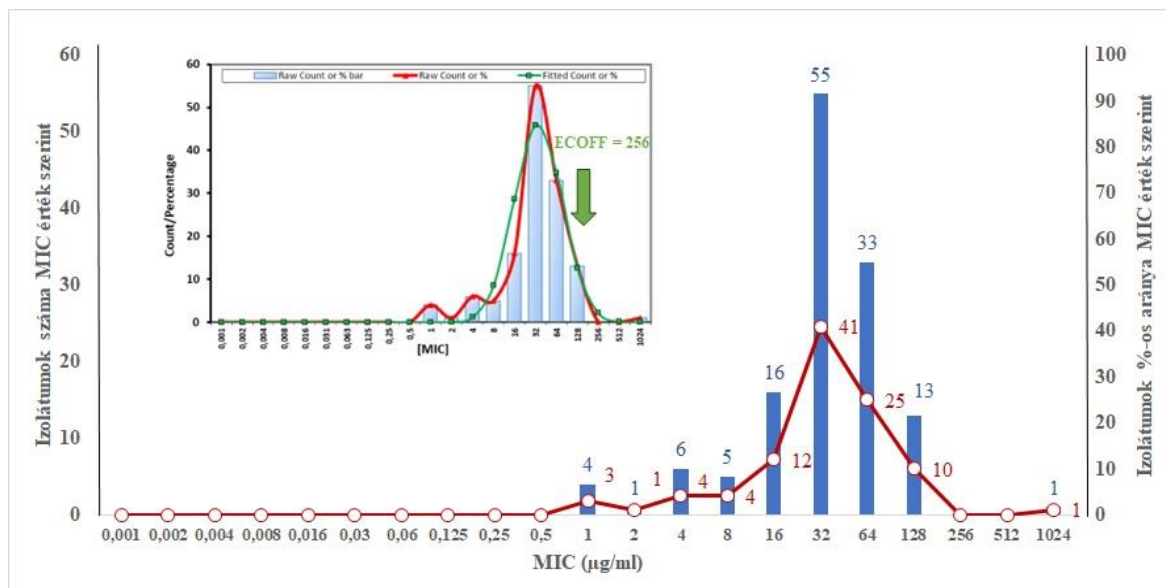
8. ábra *E. coli* (n= 134) esetén kapott MIC-értékek gyakorisága (kék) és százalékos aránya (piros), valamint az ECOFFinder segítségével meghatározott epidemiológiai küszöbérték (ECOFF), ceftriaxon hatóanyagra nézve. A zöld nyíl a becsült ECOFF-értéket mutatja.

Imipenem esetén a nemzetközileg elfogadott breakpoint 0,5 µg/ml, vizsgálataink során azonban mi 2 µg/ml becsült ECOFF-értéket kaptunk (9. ábra).



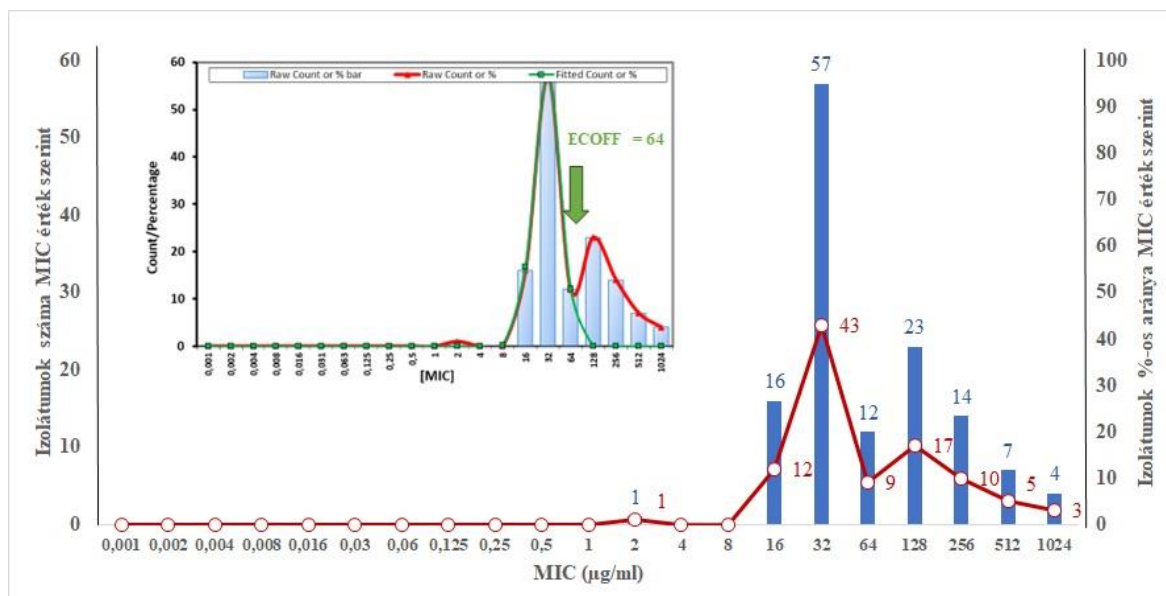
9. ábra *E. coli* (n= 134) esetén kapott MIC-értékek gyakorisága (kék) és százalékos aránya (piros), valamint az ECOFFinder segítségével meghatározott epidemiológiai küszöbérték (ECOFF), imipenem hatóanyagra nézve. A zöld nyíl a becsült ECOFF-értéket mutatja.

Neomicin esetén gyakori rezisztenciát tapasztaltunk (8 µg/ml breakpoint), a becült ECOFF-érték *E. coli* törzsekre nézve 256 µg/ml lett (10. ábra).



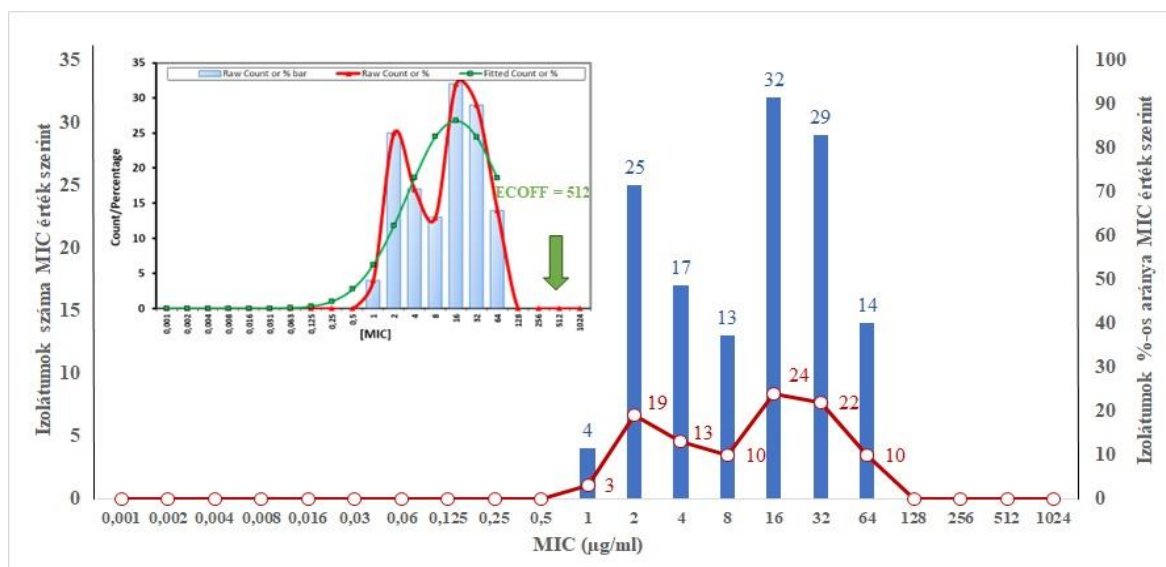
10. ábra *E. coli* (n= 134) esetén kapott MIC-értékek gyakorisága (kék) és százalékos aránya (piros), valamint az ECOFFinder segítségével meghatározott epidemiológiai küszöbérték (ECOFF), neomicin hatóanyagra nézve. A zöld nyíl a becült ECOFF-értéket mutatja.

Spektinomycin esetén a breakpoint 64 µg/ml volt, vizsgálataink során a becült ECOFF-érték megegyezett ezzel (11. ábra).



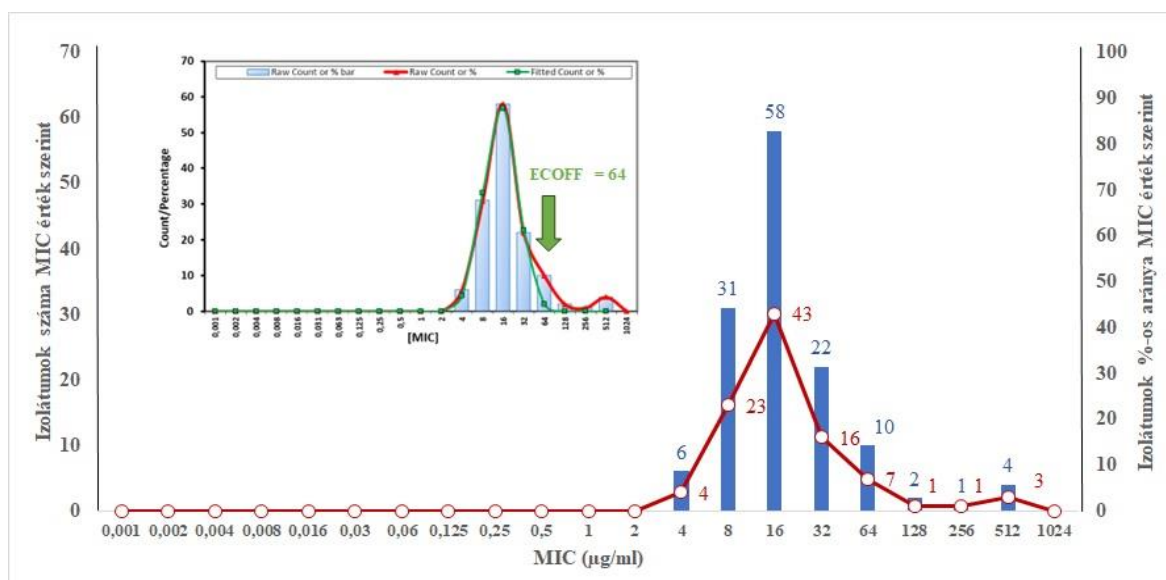
11. ábra *E. coli* (n= 134) esetén kapott MIC-értékek gyakorisága (kék) és százalékos aránya (piros), valamint az ECOFFinder segítségével meghatározott epidemiológiai küszöbérték (ECOFF), spektinomycin hatóanyagra nézve. A zöld nyíl a becült ECOFF-értéket mutatja.

Doxiciklin esetén az EUCAST 8 µg/ml breakpointot határoz meg, azonban az általunk vizsgált törzsek magas MIC-értéke miatt ezek megoszlása jóval magasabb értéktartomány felé tolódott, így a becsült ECOFF-értékünk 512 µg/ml lett (**12. ábra**).



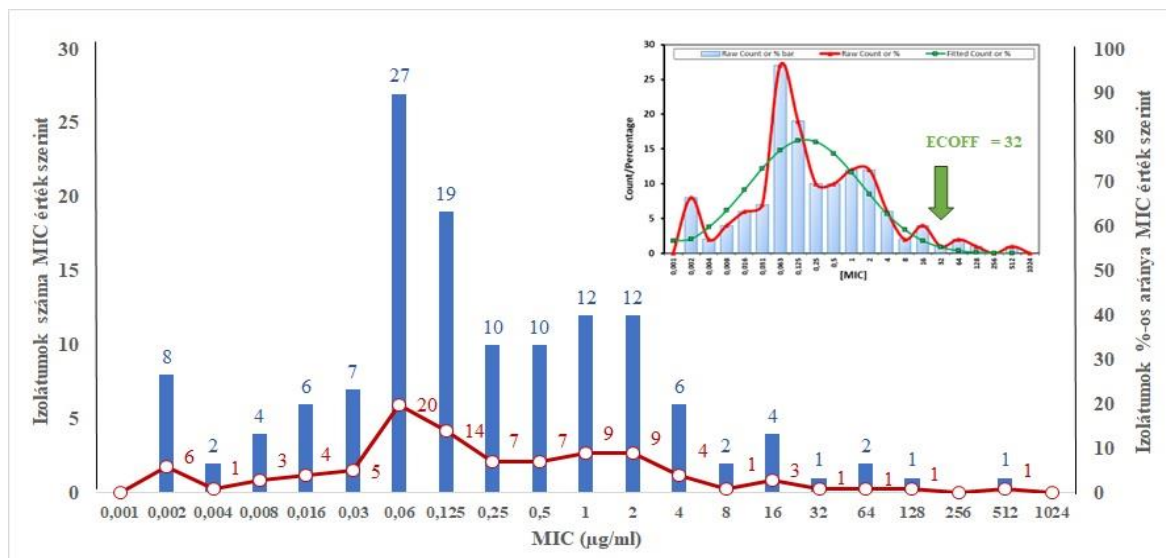
12. ábra *E. coli* (n= 134) esetén kapott MIC-értékek gyakorisága (kék) és százalékos aránya (piros), valamint az ECOFFinder segítségével meghatározott epidemiológiai küszöbérték (ECOFF), doxiciklin hatóanyagra nézve. A zöld nyíl a becsült ECOFF-értéket mutatja.

Florfenikolnál a leggyakoribb MIC-érték egybeesik a 16 µg/ml rezisztencia határral, így ennek jövőbeli változására lehet számítani a becsült 64 µg/ml ECOFF-értékkel (**13. ábra**).



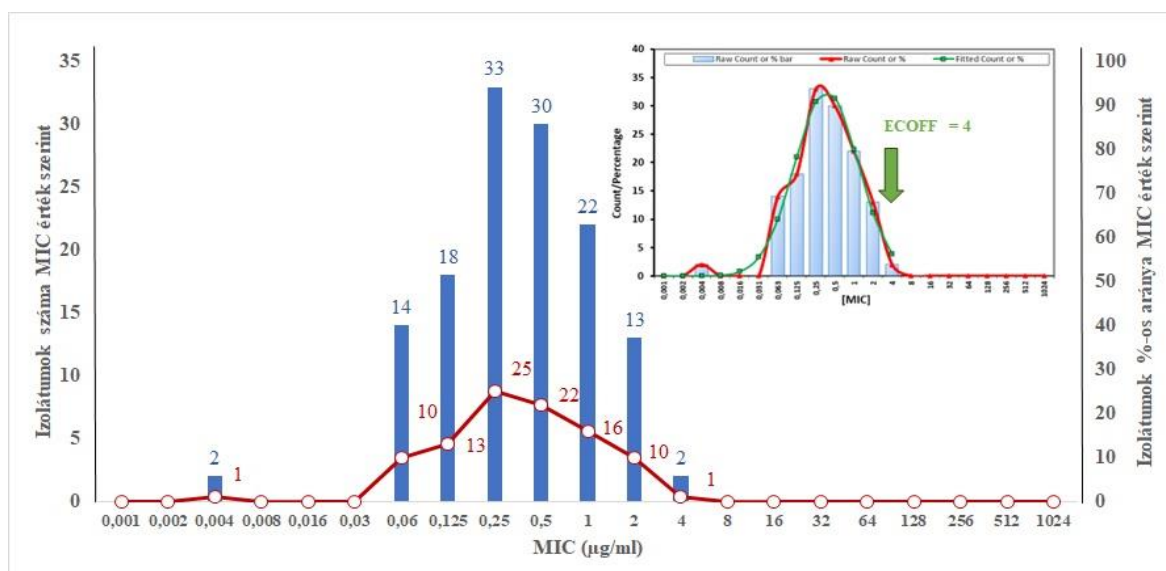
13. ábra *E. coli* (n= 134) esetén kapott MIC-értékek gyakorisága (kék) és százalékos aránya (piros), valamint az ECOFFinder segítségével meghatározott epidemiológiai küszöbérték (ECOFF), florfenikol hatóanyagra nézve. A zöld nyíl a becsült ECOFF-értéket mutatja.

Enrofloxacin esetén a MIC-értékek megoszlása széles tartományban figyelhető meg, így az EUCAST által javasolt 2 µg/ml breakpointhoz képest vizsgálataink során 32 µg/ml ECOFF-értéket állapítottunk meg (14. ábra).



14. ábra *E. coli* (n= 134) esetén kapott MIC-értékek gyakorisága (kék) és százalékos aránya (piros), valamint az ECOFFinder segítségével meghatározott epidemiológiai küszöbérték (ECOFF), enrofloxacin hatóanyagra nézve. A zöld nyíl a becsült ECOFF-értéket mutatja.

Kolisztin esetén a 2 µg/ml breakpoint 4 µg/ml koncentrációra való emelésére lehet szükség a jövőben a becsült ECOFF-érték alapján (15. ábra).



15. ábra *E. coli* (n= 134) esetén kapott MIC-értékek gyakorisága (kék) és százalékos aránya (piros), valamint az ECOFFinder segítségével meghatározott epidemiológiai küszöbérték (ECOFF), kolisztin hatóanyagra nézve. A zöld nyíl a becsült ECOFF-értéket mutatja.

1. táblázat Az *E. coli* (n=134) esetén meghatározott MIC-értékekből becsült ECOFF-értékek hatóanyagonként, szürkével kiemelve a vad-típusú törzsek 97,5%-át figyelembe véve, zöld színnel pedig a vad-típusú törzsek 99%-át figyelembe véve

Hatóanyag	Rész-halmaz	MIC Log2			Selected Log2		CV	ECOFF					
		Modal	Módusz	Max	Átlag	SD		97,5% exact	97,5% R'd-up	99% exact	99% R'd-up	97,5%	99%
amoxicillin	≤ 256	16	4	10	2,7901	1,0224	0,8077	27,7	32	36	64	10,3%	1,4%
amoxicillin-klavulánsav	≤ 512	8	3	10	2,0619	1,9558	2,2985	59,5	64	97,8	128	4,4%	1,6%
ceftriaxon	≤ 0,125	0,06	-4	4	-4,1801	0,4229	0,2995	0,1	0,125	0,1	0,125	33,2%	33,2%
imipenem	≤ 8	0,5	-1	4	-2,1805	1,0041	0,7894	0,9	1	1,1	2	10,5%	1,4%
neomicin	≤ 512	32	5	10	4,6282	1,1242	0,9139	113,9	128	151,5	256	9,4%	1,6%
spektinomycin	≤ 64	32	5	10	4,4413	0,5198	0,3723	44	64	50,2	64	14,0%	14,0%
doxiciklin	≤ 64	16	4	6	3,4947	2,3228	3,5155	264,5	512	477,2	512	0,0%	0,0%
florfenikol	≤ 32	16	4	9	3,3705	0,7733	0,577	29,6	32	36	64	19,0%	1,7%
enrofloxacin	≤ 16	0,06	-4	9	-3,0976	3,1416	10,6609	8,3	16	18,5	32	1,4%	0,7%
kolisztin	≤ 4	0,25	-2	2	-1,9435	1,6418	1,6283	2,4	4	3,7	4	2,9%	2,9%

SD – szórási; CV – variációs koefficiens; exact – tényleges érték; R' d-up – felfelé kerekített érték

Az **1. táblázat** összefoglalja az egyes hatóanyagokra meghatározott ECOFF-értékeket és ennek becslése során számolt egyéb paramétereket. A MIC-értékek meghatározásához kettes alapú logaritmikus skálát használunk, ami a tömeghatás törvényéből fakad, mint ahogy a gyógyszer-receptor kölcsönhatás is működik. Magának a logaritmikus skálának azonban nincs alsó vagy felső határa, tehát nem rendelkezik beépített ECOFF-értékkal. Az ECOFF-értékek becsléséhez a rendszer a MIC-értékek megoszlása alapján mindig egy részhalmazt vesz figyelembe. A MIC-értékeket $\log_2$ értékké alakítja, majd ismételtlen megbecsüli az egyes részhalmazok móduszát és kumulatív eloszlását. Ezt követően kiszámolja az átlagot, a szórást és ezek közül azt az értéket választja ki, amely legközelebb áll a tényleges részhalmaz összegéhez. Végül az ún. vad-típusú törzsek 97,5%-át és 99%-át figyelembe véve megbecsüli az ECOFF-értéket. A táblázatban látható modal érték a MIC₅₀ értéknek felel meg, ez általában megegyezik a leggyakoribb MIC-értékkel, mely koncentrációt a program kettes alapú logaritmusba váltja, ez lesz a módusz. A maximum érték a legmagasabb előforduló MIC-érték kettes alapú logaritmusba való átváltott értéke. A szelektált részhalmaz értékeiből a rendszer számol átlagot és szórást, illetve kiszámolja a variációs koefficienset. Ezekből az értékekből pedig megkapjuk a vad-típusú törzsek 97,5%-os, valamint 99%-os lefedettségével kiszámolt tényleges (exact) ECOFF-értékeket, mely már a tízes alapú logaritmusba visszaváltott érték. Ezeket az értékeket a rendszer felfelé kerekíti oly módon, hogy az a hozzá legközelebb eső kettes alapon készített hatóanyag koncentrációjával legyen egyenértékű. Az utolsó két oszlopban pedig százalékosan is megadja az ECOFF-értékeket a táblázat.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

Összesen 134, galambból izolált *E. coli* törzs érzékenységi vizsgálatát végeztük el 15-féle hatóanyagra, amely során 2010 MIC-értéket határoztunk meg. Eredményink alapján a törzsek 82,8%-a volt rezisztens amoxicillinre, ehhez hasonló módon Stenzel és mtsai. 63%-os rezisztenciát mutattak ki [52], ugyanakkor Cordero és mtsai. ampicillinre 6,67%-os [53], Karim és mtsai. amoxicillinre viszont a száj-garat üregi minták esetén 40%-os, a kloáka minták esetén 81,8%-os, összességében pedig 61,9%-os; ampicillinre pedig előbbinél 60%-os, utóbbinál 81,8%-os, összességében 71,4%-os rezisztenciát mutattak ki [54]. Chidamba és mtsai. galambürülékkel szennyezett tetőről gyűjtött esővízből izolált *E. coli* törzsek vizsgálata során amoxicillinre összességében 16,9%-os, ampicillinre 22,7%-os rezisztenciát mutattak ki [55], Wang és mtsai. pedig 39,6%-os rezisztenciát írtak le, ugyanakkor galambhúsból már 70%-os rezisztenciát mutattak ki [19]. Silva és mtsai. enterotoxikus törzseknél 38,5%-os, enteropatogén törzseknél 16,7%-os, shiga-toxin termelő törzseknél ugyanakkor nem mutattak ki, de az enteroinvazív törzsek 100%-os rezisztenciát mutattak, a nem patogén törzseknél pedig csak 4,4%-os rezisztenciát írtak le [56].

Amoxicillin-klavulánsav hatóanyagra nézve 55,2%-os rezisztenciát mutattunk ki, amihez Capita és mtsai. nagyon hasonló eredményt, 48,65%-os rezisztenciát mutattak ki [57], ezzel szemben Stenzel és mtsai. csupán 8%-os [52], Cordero és mtsai. pedig 3,33%-os rezisztenciát mutattak ki [53]. Ceftriaxon hatóanyag esetén 43,3%-os rezisztenciát állapítottunk meg, Chidamba és mtsai. ezzel szemben csak 0,8%-os rezisztenciát írtak le [55]. Silva és mtsai. enterotoxikus, enteropatogén, shiga-toxin termelő, enteroinvazív és nem patogén törzseknél sem mutattak ki rezisztenciát [56]. Capita és mtsai. ceftazidimre 97,6%-os [57], Cordero és mtsai. pedig cefotaximra 1,67%-os rezisztenciát tapasztaltak [53]. Imipenem esetén a 7,5%-os rezisztencia nagynak számít és a hatóanyag szakirodalomban is leírt, ismert stabilitási problémái miatt valószínűleg ennél kisebb mértékű a rezisztencia mértéke, így eredményünket csak tájékoztató jellegűnek tekintjük. Capita és mtsai. a vizsgált törzsek mindegyikénél a hatóanyaggal szembeni érzékenységet állapították meg [57]. Wang és mtsai. meropenem hatóanyagra szintén nem mutattak ki rezisztens törzset [19].

Az aminoglikozidok közül neomicinre 91,8%-os rezisztenciát írtunk le, összehasonlító szakirodalom azonban csak gentamicinre áll rendelkezésre. Chidamba és mtsai. 23,6%-os [55], Karim és mtsai. száj-garat üregi minták esetén 20%-os, kloáka tamponmintákból izolált törzsek esetén 18%-os, összességében pedig 19%-os [54], Stenzel és mtsai. 15%-os [52], Cordero és mtsai. pedig csupán 8,33%-os rezisztenciát figyeltek meg [53], Silva és

mtsai. ugyanakkor egyetlen esetben sem mutattak ki rezisztens törzset [56]. Spektinomycin hatóanyag esetén 44,8%-os rezisztenciát tapasztaltunk, azonban összehasonlító adat nem áll rendelkezésre. Doxiciklin hatóanyag esetében az általunk megállapított rezisztencia mértéke 65,7%-os volt, Stenzel és mtsai. eredményeinkhez hasonlóan nagy, 74%-os rezisztenciát figyeltek meg [52], Wang és mtsai. ellenben 8,7%-os rezisztenciát írtak le [19]. Tetraciklin hatóanyagra Karim és mtsai. száj-garat üregi mintákból izolált törzseknél 70%-os, kloáka mintáknál azonban csak 36,4%-os, összességében 52,4%-os rezisztenciát figyeltek meg [54], Capita és mtsai. szintén 51,35%-os [57], Chidamba és mtsai. azonban már csak 17,4%-os [55], Cordero és mtsai. pedig csak 3,33%-os rezisztenciát írtak le [53], Wang és mtsai. viszont 40,3%-os rezisztenciáról számoltak be, galambhúsból izolált törzseknél már 66,7%-os volt ez az érték [19]. Florfenikol hatóanyagra 72,4%-os rezisztenciát tapasztaltunk, ezzel ellentétben Stenzel és mtsai. 8%-os [52], Wang és mtsai. pedig 8,7%-os rezisztenciát írtak le, azonban galambhúsban ennek a mértéke már 50%-os volt [19].

Enrofloxacin esetén 21,6%-os rezisztenciát állapítottunk meg, ehhez hasonló eredményt kaptak Stenzel és mtsai., akik 22%-os rezisztenciát írtak le [52], kisebb mértékű rezisztenciát figyeltek meg (13%) Kimpe és mtsai. [58], valamint Chidamba és mtsai. 5%-os [55], Wang és mtsai. pedig csak 4%-os rezisztenciát tapasztaltak [19]. Ciprofloxacinra Chidamba és mtsai. 5,4%-os [55], Radimersky és mtsai. pedig 5%-os [59], Karim és mtsai. viszont ciprofloxacinra nem találtak rezisztenciát [54]. Kolisztin hatóanyag esetében 11,2%-os rezisztenciát írtunk le, ezzel szemben Stenzel és mtsai. csupán 2%-os [52], Wang és mtsai. viszont nem mutattak ki rezisztenciát [19]. Potenciált szulfonamidra 100%-os rezisztenciát mutattunk ki, Stenzel és mtsai. csak 53%-os rezisztenciát állapítottak meg [52], Capita és mtsai. vizsgálatai során viszont minden törzs érzékenynek bizonyult [57]. Silva és mtsai. enterotoxikus törzseknél 33,1%-os, enteropatogén törzseknél 26,7%-os, shiga-toxin termelő törzseknél és enteroinvazív törzseknél nem mutattak ki rezisztenciát, de a nem patogén törzseknél 1,9%-os rezisztenciát írtak le [56].

Galambok esetében nem áll rendelkezésre összehasonlító szakirodalmi adat ECOFF-értékek tekintetében. Baromfifélék esetében is csak néhány esetben találhatunk meghatározott értéket. Eredményeink alapján, az adatok bimodális megoszlása lehetővé tette tíz hatóanyag esetén az ECOFF-értékek meghatározását. Galamboknál elsőként határoztunk meg ECOFF-értékeket *E. coli* baktériumra nézve. Amoxicillin esetén 64 µg/ml értéket mutattunk ki, szemben az EUCAST által meghatározott 8 µg/ml értékével [60]. Burch és mtsai. sertéságazatban ugyanakkor 16 µg/ml ECOFF-értéket állapítottak meg a

hatóanyagra [61]. Amoxicillin-klavulánsavra 128 µg/ml értéket állapítottunk meg, az EUCAST 8 µg/ml értékéhez képest [60], Burch és mtsai. sertésben 16 µg/ml ECOFF-értéket figyeltek meg [61]. Ceftriaxon hatóanyagnál a 0,125 µg/ml érték egybevág az EUCAST által megállapított 0,125 µg/ml koncentrációval [60]. Imipenemnél viszont 2 µg/ml ECOFF-értéket kaptunk, az EUCAST pedig 0,5 µg/ml értéket határozott meg [60]. Az aminoglikozidok közé tartozó neomicin 256 µg/ml értéket, a spektinomicin pedig 64 µg/ml értéket mutatott, az EUCAST ezekre a hatóanyagokra 8 µg/ml és 64 µg/ml értéket határozott meg, tehát utóbbi hatóanyag esetében eredményeink egybevágtak a nemzetközileg meghatározott értékkel [60]. Doxiciklin esetében igen nagy, 512 µg/ml értéket figyeltünk meg, az EUCAST ezzel szemben 8 µg/ml értéket írt le [60], ami szintén alátámasztja a tetraciklinek több évtizedes túlhasználatát az állattenyésztésben. Florfenikol hatóanyagra 64 µg/ml koncentrációt kaptunk, ami szintén nagyobb, mint az EUCAST által meghatározott 16 µg/ml érték [60]. A fluorokinolon hatóanyagok szintén gyakran igénybe vett hatóanyagok a baromfiágazatban, enrofloxacin hatóanyag esetében 32 µg/ml értéket határoztunk meg, ami jóval nagyobb, mint a CLSI által baromfira megállapított 2 µg/ml [46], Temmemerman és mtsai. madárpatógén *E. coli* törzseket vizsgálva 0,125 µg/ml ECOFF-értéket figyeltek meg [62]. A kolisztin egy kritikusan fontos hatóanyag, ami a humán egészségügy számára tartalékolt hatóanyag, vizsgálataink során 4 µg/ml értéket állapítottunk meg, ami közel áll az EUCAST által megfigyelt 2 µg/ml értékéhez [60].

Összességében elmondhatjuk, hogy bár a házigalamb a minor élelmiszertermelő állatfajok közé tartozik, állategészségügyi és közegészségügyi jelentősége is kiemelten fontos, hiszen az akár több száz kilométeres vándorlásuk során jelentős mértékben hozzájárulhatnak a bélsaruk ürítésével a bélmikrobiom részét képező rezisztóma terjesztéséhez. Eredményeink alátámasztják a létjogosultságát a sokszor marginális jelentőséggel kezelt galamb ágazat rendszeres és széleskörű monitorozását, különös tekintettel, hogy a szakirodalom meglehetősen szegényes az ilyen vizsgálatokban. Az ECOFF-értékekkel nem csak nemzetközi szinten hasonlíthatjuk össze a nem-vad típusú és vad-típusú törzsek gyakoriságát, hanem az eredmények tükrében és a nemzeti antibiotikum felhasználási szokásokat figyelembe véve megfelelően reagálva építhetjük be az eredményeket az optimális kezelési protokollok kidolgozásába, valamint ezek az eredmények figyelembe vehetők a jogi szabályozásban is, megteremtve ezzel az Egy egészség koncepciót.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az antimikrobiális rezisztencia 21. században betöltött jelentősége az Egy Egészség tükreben a rendszeres antimikrobiális vizsgálatok végzésének létjogosultságát támasztja alá, különösen igaz ez a baromfiágazat egyes területeire. A galambok olyan minor élelmiszertermelő állatok, amelyek szerepe sokszor alábecsült, holott nagy távolságok megtételével jelentős mértékben hozzájárulhatnak a rezisztencia terjesztéséhez.

Kutatásunk során célul tűztük ki, hogy hazai galambállományokból izolált, országos szinten gyűjtött *Escherichia coli* törzseknek az állat- és közegészségügyi szempontból fontos hatóanyagokra meghatározzuk a minimális gátló koncentráció (MIC) értékét, ezáltal a törzsek érzékenységet. Ezt követően epidemiológiai töréspontot (ECOFF) határoztunk meg azokra a hatóanyagokra, ahol az adatok bimodális megoszlása ezt lehetővé tette.

Összesen 134 galambból izolált *Escherichia coli* törzset vizsgáltunk és 2010 MIC-értéket határoztunk meg. Amoxicillin esetén 82,8%-os rezisztenciát figyeltünk meg, amoxicillin-klavulánsav hatóanyagra azonban már csak 55,2%-os volt a rezisztencia mértéke, ami alátámasztja az *Escherichia coli* törzsekre igen gyakran jellemző β -laktamáz termelő törzsek jelenlétét. Előbbi hatóanyagra 64 $\mu\text{g/ml}$, utóbbira 128 $\mu\text{g/ml}$ ECOFF-értéket állapítottunk meg. Ceftriaxon esetén szintén nagymértékű rezisztenciát tapasztaltunk (43,3%), a 0,125 $\mu\text{g/ml}$ ECOFF-érték viszont megegyezett a *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) által megállapított törésponttal. Imipenem esetén a törzseknek csupán 7,5%-a volt rezisztens, viszont 2 $\mu\text{g/ml}$ ECOFF-értéket határoztunk meg. Neomicin esetén a 91,8%-os rezisztencia igen nagy, az ECOFF-érték 256 $\mu\text{g/ml}$ volt, amely eredményeink az aminoglikozidok állatgyógyászatban történő több évtizedes túlhasználatát támasztják alá. Spektinomycin esetén 44,8%-os, doxiciklin esetén pedig 65,7%-os rezisztenciát állapítottunk meg. A kritikusan fontos hatóanyagok közül enrofloxacinra 21,6%-os rezisztenciát mutattunk ki, a meghatározott ECOFF-érték viszont igen nagy, 32 $\mu\text{g/ml}$ volt. Kolisztin esetén a megfigyelt rezisztencia 11,2%-os volt, az ECOFF-értékünk a nemzetközileg tapasztalt értékhez közeli, 4 $\mu\text{g/ml}$ volt. Potenciált szulfonamidra viszont 100%-os rezisztenciát tapasztaltunk, ami viszont sokkal rosszabb helyzetképet mutat, más országokhoz képest.

Összességében elmondhatjuk, hogy eredményeink alátámasztják a galambok körében rendszeresen végzett felmérések létjogosultságát. Számos esetben a szakirodalomban leírt eredményekhez hasonló értékeket kaptunk, az eltérések az eltérő antibiotikum felhasználással magyarázhatóak.

8. SUMMARY

The importance of antimicrobial resistance in the 21st century in the context of One Health underlines the need for regular antimicrobial testing, particularly in certain areas of the poultry sector. Pigeons are a minor food-producing animal whose role is often underestimated, even though they can make a significant contribution to the spread of resistance by travelling long distances.

The aim of our research was to determine the sensitivity of nationally collected *Escherichia coli* strains isolated from domestic pigeon flocks to active substances of animal and public health importance by determining their minimum inhibitory concentration (MIC) values. An epidemiological breakpoint (ECOFF) was then determined for those agents where the bimodal distribution of the data allowed.

A total of 134 *Escherichia coli* strains isolated from pigeons were tested and 2010 MIC values were determined. A resistance rate of 82.8% was observed for amoxicillin, but only 55.2% for the drug amoxicillin-clavulanic acid, confirming the presence of β -lactamase producing strains that are very common in *Escherichia coli*. ECOFF values of 64 $\mu\text{g/ml}$ and 128 $\mu\text{g/ml}$ were found for the former and the latter respectively. Ceftriaxone also showed a high level of resistance (43.3%), whereas the ECOFF value of 0.125 $\mu\text{g/ml}$ was in line with the breakpoint established by the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). For imipenem, only 7.5% of strains were resistant, but an ECOFF of 2 $\mu\text{g/ml}$ was determined. For neomycin, the resistance of 91.8% was very high, with an ECOFF value of 256 $\mu\text{g/ml}$, which our results support the overuse of aminoglycosides in veterinary medicine for several decades. Resistance was found to be 44.8% for spectinomycin and 65.7% for doxycycline. Among the critically important active substances, 21.6% resistance was detected for enrofloxacin, while the defined ECOFF was very high at 32 $\mu\text{g/ml}$. For colistin, the observed resistance was 11.2% and our ECOFF was close to the internationally observed value of 4 $\mu\text{g/ml}$. For potential sulphonamide, however, we observed 100% resistance, which in turn shows a much worse situation compared to other countries.

In conclusion, our results support the justification for regular surveys in pigeons. In many cases, we obtained similar results to those reported in the literature, the differences being explained by different antibiotic use.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Palma E, Tilocca B, Roncada P (2020) Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine: An Overview. *IJMS* 21:1914. <https://doi.org/10.3390/ijms21061914>
2. Lloyd DH, Page SW (2018) Antimicrobial Stewardship in Veterinary Medicine. *Microbiol Spectr* 6:6.3.03. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0023-2017>
3. Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R (2015) Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
4. Prestinaci F, Pezzotti P, Pantosti A (2015) Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health* 109:309–318. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>
5. Yassin AK, Gong J, Kelly P, Lu G, Guardabassi L, Wei L, Han X, Qiu H, Price S, Cheng D, Wang C (2017) Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolates from poultry and livestock, China. *PLoS ONE* 12:e0185326. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185326>
6. Hasan B, Sandegren L, Melhus Å, Drobni M, Hernandez J, Waldenström J, Alam M, Olsen B (2012) Antimicrobial Drug-Resistant *Escherichia coli* in Wild Birds and Free-range Poultry, Bangladesh. *Emerg Infect Dis* 18:2055–2058. <https://doi.org/10.3201/eid1812.120513>
7. Anthony F, Acar J, Franklin A, Gupta R, Nicholls TJ, Tamura Y, Thompson S, Threlfall EJ, Vose DJ, Van Vuuren M, White DG (2001) Antimicrobial resistance: responsible and prudent use of antimicrobial agents in veterinary medicine: -EN- -FR- -ES-. *Rev Sci Tech OIE* 20:829–839. <https://doi.org/10.20506/rst.20.3.1318>
8. Baronia A, Ahmed A (2014) Current concepts in combination antibiotic therapy for critically ill patients. *Indian Journal of Critical Care Medicine* 18:310–314. <https://doi.org/10.4103/0972-5229.132495>
9. McEwen SA, Collignon PJ (2018) Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiol Spectr* 6:6.2.10. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>
10. De Mesquita Souza Saraiva M, Lim K, Do Monte DFM, Givisiez PEN, Alves LBR, De Freitas Neto OC, Kariuki S, Júnior AB, De Oliveira CJB, Gebreyes WA (2022) Antimicrobial resistance in the globalized food chain: a One Health perspective applied to the poultry industry. *Braz J Microbiol* 53:465–486. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00635-8>
11. Salem HM, Khattab MS, Yehia N, El-Hack MEA, El-Saadony MT, Alhimaidi AR, Swelum AA, Attia MM (2022) Morphological and molecular characterization of *Ascaridia columbae* in the domestic pigeon (*Columba livia domestica*) and the assessment of its immunological responses. *Poultry Science* 101:101596. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101596>
12. Shapiro MD, Domyan ET (2013) Domestic pigeons. *Current Biology* 23:R302–R303. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.01.063>
13. (2022) Pigeon Bird and its Uses in Agriculture. 12:
14. Innovatív kutatások a házigalamb-tenyésztésben. In: DEBRECENI EGYETEM. <https://hirek.unideb.hu/innovativ-kutatasok-hazigalamb-tenyesztesben>. Accessed 9 Jul 2022

15. Sano E, Esposito F, Fontana H, Fuga B, Cardenas-Arias A, Moura Q, Cardoso B, Costa GCV, Bosqueiro TCM, Senhorini JA, De Masi E, Aires CC, Lincopan N (2023) One health clones of multidrug-resistant *Escherichia coli* carried by synanthropic animals in Brazil. *One Health* 16:100476. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2022.100476>
16. Şahan Yapıcıer O, Hesna Kandir E, Öztürk D (2022) Antimicrobial Resistance of *E. coli* and *Salmonella* Isolated from Wild Birds in a Rehabilitation Center in Turkey. *Archives of Razi Institute* 77:. <https://doi.org/10.22092/ari.2021.356322.1823>
17. Gil-Gil T, Laborda P, Sanz-García F, Hernando-Amado S, Blanco P, Martínez JL (2019) Antimicrobial resistance: A multifaceted problem with multipronged solutions. *MicrobiologyOpen* 8:. <https://doi.org/10.1002/mbo3.945>
18. Leekitcharoenphon P, Johansson MHK, Munk P, Malorny B, Skarżyńska M, Wadepohl K, Moyano G, Hesp A, Veldman KT, Bossers A, EFFORT Consortium, Graveland H, Van Essen A, Battisti A, Caprioli A, Blaha T, Hald T, Daskalov H, Saatkamp HW, Stärk KDC, Luiken REC, Van Gompel L, Hansen RB, Dewulf J, Duarte ASR, Zając M, Wasyl D, Sanders P, Gonzalez-Zorn B, Brouwer MSM, Wagenaar JA, Heederik DJJ, Mevius D, Aarestrup FM (2021) Genomic evolution of antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Sci Rep* 11:15108. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93970-7>
19. Wang A, Hu C (2022) Antimicrobial Resistance Analysis of *Escherichia coli* Isolated from Pigeons in Qingdao, Shandong Province, China. *Genes* 13:1510. <https://doi.org/10.3390/genes13091510>
20. Poirel L, Madec J-Y, Lupo A, Schink A-K, Kieffer N, Nordmann P, Schwarz S (2018) Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr* 6:6.4.14. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017>
21. Adorján A, Thuma Á, Könyves L, Tóth I (2021) First isolation of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* from geese (*Anser anser domestica*) and first description of atypical EPEC from turkeys and pigeons in Hungary. *BMC Vet Res* 17:263. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02968-w>
22. Maturana VG (2011) Subpathotypes of Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) Exist as Defined by their Syndromes and Virulence Traits. *TOMICROJ* 5:55–64. <https://doi.org/10.2174/1874285801105010055>
23. Yu L, Li W, Li Q, Chen X, Ni J, Shang F, Xue T (2020) Role of LsrR in the regulation of antibiotic sensitivity in avian pathogenic *Escherichia coli*. *Poultry Science* 99:3675–3687. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.03.064>
24. Huja S, Oren Y, Trost E, Brzuszkiewicz E, Biran D, Blom J, Goesmann A, Gottschalk G, Hacker J, Ron EZ, Dobrindt U (2015) Genomic Avenue to Avian Colisepticemia. *mBio* 6:e01681-14. <https://doi.org/10.1128/mBio.01681-14>
25. Tonini Da Rocha D, De Oliveira Salle F, Apellanis Borges K, Quedi Furian T, Pinheiro Do Nascimento V, Luiz De Souza Moraes H, Tadeu Pippi Salle C (2021) Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) and uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC): characterization and comparison. *J Infect Dev Ctries* 15:962–971. <https://doi.org/10.3855/jidc.14217>
26. Gould IM, Bal AM (2013) New antibiotic agents in the pipeline and how they can help overcome microbial resistance. *Virulence* 4:185–191. <https://doi.org/10.4161/viru.22507>

27. Roth N, Käsbohrer A, Mayrhofer S, Zitz U, Hofacre C, Domig KJ (2019) The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: A global overview. *Poultry Science* 98:1791–1804. <https://doi.org/10.3382/ps/pey539>
28. Hutchings MI, Truman AW, Wilkinson B (2019) Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology* 51:72–80. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>
29. Fisher JF, Mobashery S (2023) β -Lactams from the Ocean. *Marine Drugs* 21:86. <https://doi.org/10.3390/md21020086>
30. Lin J, Zhou D, Steitz TA, Polikanov YS, Gagnon MG (2018) Ribosome-Targeting Antibiotics: Modes of Action, Mechanisms of Resistance, and Implications for Drug Design. *Annu Rev Biochem* 87:451–478. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-062917-011942>
31. Huttner A, Bielicki J, Clements MN, Frimodt-Møller N, Muller AE, Paccaud J-P, Mouton JW (2020) Oral amoxicillin and amoxicillin–clavulanic acid: properties, indications and usage. *Clinical Microbiology and Infection* 26:871–879. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.11.028>
32. Boon RJ, Beale AS, Comber KR, Pierce CV, Sutherland R (1982) Distribution of amoxicillin and clavulanic acid in infected animals and efficacy against experimental infections. *Antimicrob Agents Chemother* 22:369–375. <https://doi.org/10.1128/AAC.22.3.369>
33. Klein NC, Cunha BA (1995) Third-generation cephalosporins. *Medical Clinics of North America* 79:705–719. [https://doi.org/10.1016/S0025-7125\(16\)30034-7](https://doi.org/10.1016/S0025-7125(16)30034-7)
34. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA (2011) Carbapenems: Past, Present, and Future. *Antimicrob Agents Chemother* 55:4943–4960. <https://doi.org/10.1128/AAC.00296-11>
35. Eyler RF, Shvets K (2019) Clinical Pharmacology of Antibiotics. *CJASN* 14:1080–1090. <https://doi.org/10.2215/CJN.08140718>
36. Grossman TH (2016) Tetracycline Antibiotics and Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med* 6:a025387. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025387>
37. Porter IA, Wood WJ (1974) Spectinomycin: minimum inhibitory concentrations for *Neisseria gonorrhoeae*. *Sexually Transmitted Infections* 50:289–290. <https://doi.org/10.1136/sti.50.4.289>
38. Gadomska-Gajadur A, Ruśkowski P, Kruk A, Mierzejewska J (2021) Kinetics of neomycin release from polylactide spheres and its antimicrobial activity. *Polim Med* 51:17–24. <https://doi.org/10.17219/pim/139586>
39. Mahmud T (2009) Progress in aminocyclitol biosynthesis. *Current Opinion in Chemical Biology* 13:161–170. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.02.030>
40. El-Sayed Ahmed MAE-G, Zhong L-L, Shen C, Yang Y, Doi Y, Tian G-B (2020) Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: an extended review (2000–2019). *Emerging Microbes & Infections* 9:868–885. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1754133>
41. Grabowski Ł, Gaffke L, Pierzynowska K, Cyske Z, Choszcz M, Węgrzyn G, Węgrzyn A (2022) Enrofloxacin—The Ruthless Killer of Eukaryotic Cells or the Last Hope in the Fight against Bacterial Infections? *IJMS* 23:3648. <https://doi.org/10.3390/ijms23073648>

42. Trif E, Cerbu C, Olah D, Zăblău SD, Spînu M, Potârniche AV, Pall E, Brudașcă F (2023) Old Antibiotics Can Learn New Ways: A Systematic Review of Florfenicol Use in Veterinary Medicine and Future Perspectives Using Nanotechnology. *Animals* 13:1695. <https://doi.org/10.3390/ani13101695>
43. Turnidge J, Kahlmeter G, Kronvall G (2006) Statistical characterisation of bacterial wild-type MIC value distributions and the determination of epidemiological cut-off values. *Clin Microbiol Infect* 12:418–425. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01377.x>
44. Zhang H-L, Wu S-L, Fu J-L, Jiang H-X, Ding H-Z (2021) Research Note: Epidemiological cutoff values and acquired resistance mechanisms of three veterinary antibiotics against *Escherichia coli* from chicken respiratory tract infections. *Poult Sci* 100:1093–1097. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.11.049>
45. Bimodal Distribution - an overview | ScienceDirect Topics. <https://www.sciencedirect.com/topics/mathematics/bimodal-distribution>. Accessed 11 Jun 2023
46. (2018) CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 11. th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
47. Giske CG, Turnidge J, Cantón R, Kahlmeter G Update from the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). *J Clin Microbiol* 60:e00276-21. <https://doi.org/10.1128/jcm.00276-21>
48. Kahlmeter G, Brown DFJ, Goldstein FW, MacGowan AP, Mouton JW, Österlund A, Rodloff A, Steinbakk M, Urbaskova P, Vatopoulos A (2003) European harmonization of MIC breakpoints for antimicrobial susceptibility testing of bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 52:145–148. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg312>
49. Makarov DA, Ivanova OE, Karabanov SY, Gergel MA, Pomazkova AV (2020) Antimicrobial resistance of commensal *Escherichia coli* from food-producing animals in Russia. *Vet World* 13:2053–2061. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.2053-2061>
50. Pantozzi FL, Ibar MP, Nievas VF, Vigo GB, Moredo FA, Giacoboni GI (2014) Wild-type minimal inhibitory concentration distributions in bacteria of animal origin in Argentina. *Rev Argent Microbiol* 46:34–40. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70045-8](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70045-8)
51. Turnidge J, Kahlmeter G, Kronvall G (2006) Statistical characterisation of bacterial wild-type MIC value distributions and the determination of epidemiological cut-off values. *Clin Microbiol Infect* 12:418–425. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01377.x>
52. Stenzel T, Banczerz-Kisiel A, Tykalowski B, Smialek M, Pestka D, Koncicki A (2014) Antimicrobial resistance in bacteria isolated from pigeons in Poland. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 17:. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2014-0023>
53. Cordero J, Alonso-Calleja C, García-Fernández C, Capita R (2019) Microbial Load and Antibiotic Resistance Patterns of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* Isolates from the Meat of Wild and Domestic Pigeons. *Foods* 8:E536. <https://doi.org/10.3390/foods8110536>
54. Karim SJI, Islam M, Sikder T, Rubaya R, Halder J, Alam J (2020) Multidrug-resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. isolated from pigeons. *Vet World* 13:2156–2165. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.2156-2165>

55. Chidamba L, Korsten L (2015) Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates from roof-harvested rainwater tanks and urban pigeon faeces as the likely source of contamination. *Environ Monit Assess* 187:405. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4636-x>
56. Silva VL, Nicoli JR, Nascimento TC, Diniz CG (2009) Diarrheagenic *Escherichia coli* strains recovered from urban pigeons (*Columba livia*) in Brazil and their antimicrobial susceptibility patterns. *Curr Microbiol* 59:302–308. <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9434-7>
57. Capita R, Cordero J, Molina-González D, Igrejas G, Poeta P, Alonso-Calleja C (2019) Phylogenetic Diversity, Antimicrobial Susceptibility and Virulence Characteristics of *Escherichia coli* Isolates from Pigeon Meat. *Antibiotics* 8:259. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040259>
58. Kimpe A, Decostere A, Martel A, Haesebrouck F, Devriese LA (2002) Prevalence of antimicrobial resistance among pigeon isolates of *Streptococcus gallolyticus*, *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Avian Pathology* 31:393–397. <https://doi.org/10.1080/03079450220141679>
59. Radimersky T, Frolkova P, Janoszowska D, Dolejska M, Svec P, Roubalova E, Cikova P, Cizek A, Literak I (2010) Antibiotic resistance in faecal bacteria (*Escherichia coli*, *Enterococcus* spp.) in feral pigeons: Antibiotic-resistant bacteria in pigeons. *Journal of Applied Microbiology* no-no. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04797.x>
60. MIC EUCAST. https://mic.eucast.org/search/?search%5Bmethod%5D=mic&search%5Bantibiotic%5D=-1&search%5Bspecies%5D=261&search%5Bdisk_content%5D=-1&search%5Blimit%5D=50. Accessed 29 Aug 2023
61. Burch DGS, Sperling D (2018) Amoxicillin—current use in swine medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 41:356–368. <https://doi.org/10.1111/jvp.12482>
62. Temmerman R, Garmyn A, Antonissen G, Vanantwerpen G, Vanrobaeys M, Haesebrouck F, Devreese M (2020) Evaluation of Fluoroquinolone Resistance in Clinical Avian Pathogenic *Escherichia coli* Isolates from Flanders (Belgium). *Antibiotics (Basel)* 9:800. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110800>

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

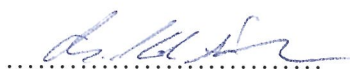
Ezúton szeretném megköszönni mindazoknak, akik segítettek ennek a kutatásnak és a dolgozatnak a létrejöttében. Köszönetet szeretnék mondani az Állatorvostudományi Egyetem Gyógyszertani és Méregtani Tanszék vezetőjének, Dr. Jerzsele Ákosnak, hogy kutatási témámat befogadta. Hálával tartozom témavezetőmnek Dr. Kerek Ádámnak, aki felkészültségével, rátermettségével, precizitásával és segítőkészségével lehetővé tette a kutatás tervezését és előkészítését, a labormunka megvalósítását, a kapott eredmények értelmezését és az irodalmi forrásokból való következtetések levonását.

Az RRF-2.3.1-21-2022-00001 számú projekt a Helyreállítási és Ellenállóképességi Eszköz és Nemzeti Helyreállítási Alapból nyújtott támogatásával, az RRF-2.3.1-21 pályázati program finanszírozásában valósult meg.

Témavezetői nyilatkozat

Alulírott **Dr. Kerek Ádám**, mint témavezető nyilatkozom, hogy **Pincés Tamara**, **ötödik** évfolyamos hallgató „*Hazai galamb állományokból izolált Escherichia coli baktériumtörzsek ECOFF (Epidemiological cut-off value) értékének meghatározása*” 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. október hó 12. nap.



Dr. Kerek Ádám
témavezető