

TDK DOLGOZAT

Harmath Angéla Noémi

2023.

Állatorvostudományi Egyetem
Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



Házinyúl eredetű baktériumtörzsek antibiotikum - érzékenységének vizsgálata

Készítette: Harmath Angéla Noémi
ötödéves állatorvostan-hallgató

Témavezető: dr. Somogyi Zoltán
egyetemi tanársegéd
ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék

Budapest, 2023.

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke	4
2. Bevezetés.....	6
3. Irodalmi összefoglaló	7
3.1. Antibiotikum-rezisztencia	7
3.1.1. Rezisztencia mechanizmusok.....	7
3.1.2. Minimális gátló koncentráció.....	7
3.2. Házi nyúl <i>Escherichia coli</i> okozta megbetegedései	8
3.3. Pasteurellózis.....	9
3.4. <i>Staphylococcus</i> fajok okozta megbetegedések.....	11
3.5. Az antibakteriális szerek rövid bemutatása	12
3.5.1. Penicillinek: amoxicillin, amoxicillin-klavulánsav	12
3.5.2. Cefalosporinok: ceftiofur, cefkvinom	13
3.5.3. Aminoglikozidok: neomicin, gentamicin	13
3.5.4. Tetraciklinek: oxitetracliklin, doxiciklin.....	14
3.5.5. Makrolidok: tilozin, tilmikozin, tilvalozin, tulatromicin.....	14
3.5.6. Linkomicin	15
3.5.7. Tiamulin	15
3.5.8. Florfenikol.....	15
3.5.9. Kolisztin	16
3.5.10. Enrofloxacin	16
3.5.11. Potenciált szulfonamidok	16
4. Célkitűzések	17
5. Anyag és módszer	18
5.1. A mérések során felhasznált minták és a belőlük izolált baktériumtörzsek	18
5.2. A mérések során felhasznált antibiotikumok és azok kettes alapú hígítási sora ...	18
5.3. Leves mikrohígítási módszer	19
6. Eredmények.....	21
6.1. β -laktám antibiotikumok	21
6.2. Aminoglikozidok.....	21
6.3. Tetraciklinek.....	22
6.4. Makrolid antibiotikumok.....	22
6.5. Linkóزامidok.....	23
6.6. Pleuromutilinek	23
6.7. Florfenikol.....	23
6.8. Kolisztin	23
6.9. Enrofloxacin	23
6.10. Potenciált szulfonamidok	24

7. Megbeszélés	26
8. Összefoglalás.....	28
9. Summary	29
10. Irodalomjegyzék.....	30
11. Köszönetnyilvánítás	33

1. Rövidítések jegyzéke

AM	Amoxicillin
AMKL	Amoxicillin – klavulánsav
ARG	Antibiotikum rezisztencia gén
BRD	Szarvasmarhák légzőszervi betegsége
CEFT	Ceftiofur
CEFQ	Cefkvinom
CIA	Kritikusan fontos antibiotikumok
CNF	Citotoxikus nekrotizáló faktor
DOX	Doxiciklin
ECOFF	Epidemiological cut-off – epidemiológiai határérték
EHEC	Enterohemorragiás <i>Escherichia coli</i>
ENR	Enrofloxacin
EPEC	Enteropatogén <i>Escherichia coli</i>
ETEC	Enterotoxikus <i>Escherichia coli</i>
EUCAST	The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FLO	Florfenikol
GEN	Gentamicin
KOL	Kolisztin
LIN	Linkomicin
LT	Hőlabilis enterotoxin
MH	Mueller-Hinton leves
MIC	Minimális gátló koncentráció
MPC	Mutációs prevenció koncentráció
MRSA	<i>Methicillin-rezisztens Staphylococcus aureus</i>
NEO	Neomicin
OTC	Oxitetraciklin
PRDC	Sertések légzőszervi komplex betegsége
PSA	Potenciált szulfonamid
RND	Resistance Nodulation cell Division transzporter
ST	Hőstabil enterotoxin
Stx / Stx1 / Stx2	Shiga toxin 1-es / 2-es típus

TIA	Tiamulin
TILM	Tilmikozin
TILO	Tilozin
TILVA	Tilvalozin
TSB	Trypton-szója leves
TUL	Tulatromicin
VT	Verocitotoxin

2. Bevezetés

Az egyes baktériumfajok antibiotikumokkal szembeni rezisztenciájának vizsgálata a humánegészségügy és az állategészségügy területén kialakuló és fennálló bakteriális fertőzések megfelelő kezelése szempontjából elengedhetetlen. Az kórokozók antibiotikum-érzékenységének és az adott hatóanyagok minimális gátló koncentrációinak (MIC) ismeretében lehetőségünk nyílik a baktériumokkal szembeni célzott és hatékony fellépésre. Az antibiotikumok megfelelő alkalmazása által gátat szabhatunk az újabb bakteriális rezisztencia mechanizmusok megjelenésének, megakadályozva ezzel a rezisztens vagy multirezisztens patogének további szelekcióját és terjedését. Az egyes földrajzi területeken kapott vizsgálati eredmények összehasonlításként szolgálhatnak a már korábban meghatározott hatóanyag koncentrációk határértékeivel, amelyek következtetni engednek a helyes antibiotikum használat meglétére vagy esetleges hiányosságaira. Az állatorvoslás területén az egyes háziállatfajokra engedélyezett antibakteriális szerek megfelelő használata tehát jelentős mértékben hozzájárulhat a közegészségügy területén alkalmazott antibiotikumok hatékonyságának megőrzéséhez. Ezen egészségügyi szempontok mellett pedig az egyes betegségek okozta gazdasági aspektusokat is fontos figyelembe venni élelmiszertermelő állatfajok esetén.

3. Irodalmi összefoglaló

3.1. Antibiotikum-rezisztencia

Az antibiotikum-rezisztencia egy globális probléma, amely a köz- és állategészségügy számára is nagy kihívást jelent. A különböző bakteriális kórokozók folyamatos szelekciója és mutációja révén újabbnál újabb stratégiák jelennek meg, amelyek növelik ellenálló képességüket, ezzel nehezítve az általuk okozott fertőzések elleni védekezés lehetőségeit. A környezeti mikrobiom nagy diverzitásának köszönhetően a patogének számos génre tehetnek szert, amelyeket az antibiotikumok hatásának ellensúlyozására képesek felhasználni. A legtöbb patogén tekintetében azonban a külső környezet kevésbé járul hozzá a rezisztencia mutáción alapuló evolúciójához [1]. A különböző forrásokból származó antibiotikumok környezetbeni megjelenése viszont növeli ennek lehetőségét [2].

3.1.1. Rezisztencia mechanizmusok

A rezisztencia mechanizmusok közé tartoznak a baktériumok által termelt antibiotikumokat elbontó enzimek, valamint a sejtfal átjárhatóságának csökkentése. Ha utóbbi mechanizmus nem sikeres, a baktériumoknak lehetőségük van a hatóanyagok kipumpálására. Jelentős efflux-pumpa az úgynevezett RND transzporter, amely a sejtmembránban a citoplazma felőli részen helyezkedik el. Ezen pumpa hatékonysága függ a külső membrán stabilitásától. A membrán permeabilitásának növekedése ugyanis képes csökkenteni az RND pumpa mediálta efflux hatást. Ezek mellett a baktériumok kötőhely módosításra is képesek [3].

A hatékony mechanizmusokat kódoló géneket a baktériumok át is adhatják. Ilyen út az ún. konjugáció, amelynek egyik lehetséges módja mobilis elemek, plazmidok átadása. Továbbá, kromoszómálisan is öröklődhetnek ezen mechanizmusok. Egy másik átadási forma a transzdukción, amely során bakteriofág felelős az antibiotikum-rezisztencia gén donorból recipiensbe történő átjutásáért. Ha egy rezisztens baktérium elpusztul, annak rezisztencia génjét egy másik baktérium felveheti és beillesztheti saját génkészletébe, ez a transzformáció jelensége [1].

3.1.2. Minimális gátló koncentráció

A minimális gátló koncentráció (MIC) az antibiotikum azon legkisebb gátló koncentrációja, amely mellett a vizsgált baktérium már nem képes szaporodni. A MIC érték meghatározása iránymutatást ad az adott patogénnel szembeni hatékony antibiotikum terápiához, lehetővé teszi a megfelelő antibiotikumnak és dózisának kiválasztását. Meghatározására a mikrohígítási módszert alkalmazzák a leggyakrabban [4].

3.2. Házi nyúl *Escherichia coli* okozta megbetegedései

A normál bélflóra része az *Enterobacteriaceae* családba tartozó *Escherichia coli*, amely számos állatfaj bélsatornájában előfordul, azonban a házi nyúlban a normál bélflórának nem, vagy csak kis számban alkotója. Mivel a nyúl táplálkozása során elengedhetetlen a nagy nyersrost tartalmú takarmány, a cellulózbontás következtében képződött illó zsírsavak savanyú közeget teremtenek, ezt az *E. coli* azonban kevésbé tolerálja. Jellemzően akkor szaporodik el, ha a rostfogyasztás nem megfelelő és a bél pH-ja lúgos irányba tolódik [5].

Az *E. coli* egy Gram-negatív, pálcika alakú, peritrich baktérium, amely fimbriával is rendelkezhet. Tenyésztéséhez különféle differenciáló táptalajokat alkalmaznak. Ellenállóképessége csekély, 70 °C-on rövid időn belül elpusztul, a fertőtlenítőszeres többsége inaktiválja. Hűvös, nedves környezetben pár hónapig életképes [6]. A sejtfal, burok, csilló és fimbria antigének alapján további szerotípusokba és szerocsoportokba sorolható, de a különböző antigének variálódhatnak is. Szerotípusain belül pedig további alcsoportokra bontható. Csoportosítása egyre inkább az egyes antigéneket kódoló genomszakaszok szekvencia-vizsgálata alapján történik [6].

A patogén *E. coli* virulenciafaktorral rendelkezik, képes kötődni a bélhámsejtekhez, de sejtkárosító citotoxint, enterotoxint is termelhet. A fimbria haemagglutinációra is képes, ezáltal is tud a hámsejtek felületéhez kötődni. Ezen adhéziós képesség bizonyos mértékű állatfaji preferenciát is jelent [7]. Fontos enterotoxinok a hőlabilis LT és a hőstabil ST toxinok. Az LT toxinnal szemben nyúlban immunsavó termeltethető, amely az összes törzs által termelt LT toxint képes neutralizálni. Az ST toxin a bél lumenébe történő folyadék kiválasztást okoz, emellett pedig a víz és elektrolit visszaszívást is csökkenti. Ennek következtében alakul ki hasmenés és kiszáradás, az ionvesztés pedig acidotikus állapothoz vezet [7]. További jelentős citotoxinok a shiga toxin (Stx) és verocitotoxin (VT). Ezek képesek gátolni a sejtek riboszómáját, valamint károsítani a vérerek endothel sejtjeit, ezzel ödémát és vérzéses gyulladást okozva. Az *E. coli* Stx1 és Stx2 toxint is termelhet, amelyek hatásmódja azonos, antigenitásban azonban eltérnek [8]. A shiga toxin okozta vérhasmenés progrediálhat, következtében súlyos, akár életet veszélyeztető szisztémás tünetek is kialakulhatnak, mint az akut veseelégtelenség [9]. Az *E. coli* citotoxikus nekrotizáló faktort (CNF) is termelhet, amely nyúlborbe oltva helyi nekrozist, illetve parenterálisan beadva testszerte vérzést okoz. A legtöbb CNF termelő törzs hemolizint is szintetizál [10].

A baktérium elszaporodása hasmenést idéz elő, azonban van szeptikémiát okozó törzs is. Utóbbi citotoxint általában nem termel, a jellemző tüneteket a sejtfalból felszabaduló endotoxin okozza. A szeptikémiát keringési zavar, majd elhullás követi.

Gazdaspecifikusságát a felületi antigének befolyásolják. Kimutatták, hogy az EPEC (enteropatogén *E. coli*) terjedhet állatról emberre, hasonlóan az EHEC (enterohemorragiás *E. coli*) törzsekhez [11]. Az EPEC pozitív nyulak és a hasmenés előfordulása között szignifikáns összefüggés van. A tünetek felnőtt állatban gyakran csak egy adott szervre korlátozódnak, mint például tejmirigygyulladás vagy húgyúti gyulladás [12].

A fertőződés már születéskor bekövetkezhet, az anyaállat vagy a már fertőzött alomtársak által ürített baktériummal, amely a *per os* felvételt követően a vastagbélben telepszik meg. A tünetek megjelenésében fontos a hajlamosító tényezők hatása. Nagyüzemi nyulak esetén a tartási körülmények és a takarmányozás is ide tartoznak [13].

A coli-hasmenés a nyulak 1-3 hónapos korosztályát érinti gyakrabban. A megbetegedés esélye az életkor előrehaladtával jelentősen csökken, de elszórtan felnőtt nyulakat is érinthet. A nyulakból izolált törzsek többsége nem termel enterotoxint és nem rendelkezik fimbriákkal. Egyes esetekben azonban fimbriák nélkül is képes kötődni a bélnyálkahártya sejtjeihez. Jellemző tünetek a vízszerű, nyálkás hasmenés, az étvágytalanság, majd néhány napon belül elhullás, amely az állomány egyharmadát is érintheti [7]. Kórbonctani elváltozás a telt gyomor, valamint a gyulladt és ödémás belek. A béltartalom híg és nyálkás, a bél nyálkahártyáján apró vérzések lehetnek. Ezen elváltozások és a járványtani ismeretek utalnak a fertőzésre, de a biztos diagnózishoz bakteriológiai vizsgálat szükséges [12].

A megbetegedés prognózisa rossz, a gyomor-bélrendszer terhelésének csökkentése érdekében 1-2 napos koplaltatás javasolt, továbbá bőséges ivóvíz ellátás mellett antibakteriális terápia szükséges. Fontos a megfelelő istállóhigiénia fenntartása, a kellő rosttartalmú takarmány etetése, valamint takarmányváltás esetén a fokozatosság [14].

3.3. Pasteurellózis

A pasteurellózis számos állatfajban, köztük nyúlban is gyakori, általános tünetekkel, lázzal, szepszissal járó generalizált, a légző-, vagy egyéb szerveket érintő megbetegedés, amelyet a *Pasteurella multocida* okoz. A baktérium ellenállóképessége csekély, 60 °C-on percek alatt elpusztul, a fertőtlenítőszerrel szemben érzékeny. Gazdaspektruma széles, a virulencia tág határok között mozog [15].

A *Pasteurellaceae* családon belül a *Pasteurella* genusba tartozó *P. multocida* egy fakultatív patogén Gram-negatív baktérium, amely gyakran megtalálható a légutakban, az emésztőcsatornában és a nemiszervek nyálkahártyáján [16].

Buroktípusokba (A, B, C, D, E, F) [17] sorolható, szerotípusok szerinti osztályozása pedig a sejtfalban található O- és a burokból lévő poliszacharid antigének alapján történik. Az A és D buroktípus hialuronsav-burkot is termel, amely a fagocitózist gátolja [18].

Az elsődleges pasteurellózis kialakulása hajlamosító tényezőkhez köthető, lefolyása lehet perakut vagy akut. Ide tartozik a házi nyulak pasteurellózisa is, amely tömeges elhulláshoz vezet. Egy vizsgálat szerint a felnőtt nyulakban a leggyakrabban diagnosztizált megbetegedés [19]. A baromfiból származó *P. multocida* fertőzhet emlősöket és fordítva. A fertőződés *per os* vagy aerogén úton történik meg [16].

A fakultatív patogén törzsek tartósan jelen vannak a felső légutak nyálkahártyáin tünetmentes formában. Társfertőzés során másodlagos pasteurellózis alakulhat ki. A patogén törzsek a fogékony állatfajokban, a véráramba törve elhulláshoz vezető szeptikémiát okoznak. A légzőszervi kórképek között a leggyakoribb a fibrines pleuropneumonia. A magyarországi házi nyúlállományokból izolált törzsek több, mint fele az A, kisebb része pedig az F vagy D buroktípusba tartozik [15].

A baktériummal a nyulak már életük korai szakaszában találkoznak, de a szopós nyulak fertőzöttsége nem haladja meg az 5-10%-ot. Ez azonban 3 hónapos korra akár a 80%-ot is elérheti. Az ilyen korú süldő nyulak esetében már tömeges elhullással is számolni kell. Az USA-ban végzett vizsgálatok szerint a különböző állományokban pasteurellózis miatt elhullott vagy selejtezett nyulak aránya meghaladja az 50%-ot [20, 21].

A fertőzés fenntartása a betegségen átesett, tünetmentes nyulak jelenlétével valósul meg. A választást követően a különböző állományok keverése is kedvez a megbetegedés megjelenésének, amely kártételét növeli a zsúfolt tartás, a párás környezet, továbbá a levegő nagy ammónia koncentrációja [18].

A nyulak pasteurellózisának tünetei a savós orrfolyás, tüszögés és kötőhártya-gyulladás. Pár nap elteltével az orrból ürülő váladék gennyessé válik, majd a folyamat a felső légutakról áterjed a tüdőre, ezzel gennyes bronchopneumoniát okozva. A baktérium a vérpályába törve további szövődményeket okozhat. Gyakori a közép- és belsőfül-gyulladás, amelyet a ferde fejtartás jelez, továbbá gyakoriak a bőr alatti kötőszövetben kialakuló tályogok. A tartási körülmények, a klinikai tünetek, valamint a kórbonctani elváltozások együttesen már kórjelzőek, de pontos diagnózist a bakteriológiai vizsgálat biztosít [21].

A megbetegedés fő kezelési stratégiája az antibakteriális terápia, illetve a betegségen átesett egyedek elkülönítése. Fontos, hogy a kezeléssel egyidejűleg a hajlamosító tényezőket is meg kell szüntetni. A pasteurellózis megelőzésének egyik lehetősége az immunizálás, amelyre általában attenuált vakcinát alkalmaznak.

Ez védettséget nyújt a virulens törzsekkel szemben, így az elhullások száma csökkenthető. A vakcinák hatékonysága változó a különböző antigének miatt [22].

Alternatív kezelési lehetőség a β -glükán alkalmazása. Amellett, hogy fontos szerepet tölt be a pasteurellózis elleni védekezésben, kimutatták, hogy az antibakteriális terápia hatékonyságát is növeli [23, 24]. A lektin megakadályozza a baktérium adhéziót a hámsejtekhez, ezáltal csökkentve a kolonizáció mértékét [25].

A fertőzés megakadályozása érdekében tett erőfeszítések szempontjából a nyúl egy igen fontos állatfaj, hiszen amellett, hogy manapság egyre elterjedtebb kedvenc állat, fontos szerepet tölt be mind a hús-, mind pedig a szőrmeiparban, valamint a gyógyszerkísérletek során is széles körben alkalmazott faj. Vagyis, gazdasági és közegészségügyi szempontból is esszenciális a kielégítő állategészségügyi státusz fenntartása [24].

3.4. *Staphylococcus* fajok okozta megbetegedések

A *Staphylococcus* fajok Gram-pozitív baktériumok. Ellenállóképességük igen nagy, akár a környezetben, akár beszáradt váladékokban hónapokig is életképesek. Megtalálhatóak az emlősök és a madarak nyálkahártyáján, bőrén, emésztőcsatornájában, felső légutaiban, valamint a húgy-nemi traktusban egyaránt. Egyes fajok a tejben és különböző tejtermékekben, valamint nyers húsokban is előfordulnak [26].

A *Staphylococcus* fajok felületi antigénekkal rendelkeznek, amelyekkel kötődnek a sejtekhez. Koaguláz enzim termelés alapján két csoportba tartoznak. Koaguláz-pozitív a *Staphylococcus aureus*, amely a nagyüzemi körülmények között tartott házi nyulak egyik jelentős megbetegedését okozza. Az aerogén, vagy sokszor bőrsérüléseken át történő fertőződés Magyarországon és világszerte is előfordul, leggyakrabban szopós és választási nyulak megbetegedését okozva. A bőr sérülését követően kezdetben helyi gennyesedés, tályogképződés vagy talpfekély alakul ki. Az aerogén fertőzést savós-gennyes orrfolyás, kötőhártya-gyulladás, köhögés, később gennyes bronchopneumonia követi, amelyeket a hajlamosító tényezők súlyosbíthatnak. A vérpályába törve septicémiát, majd ízületgyulladást, középfülgyulladást okoz. Az anyanyulak tejmirigygyulladása az egyik legsúlyosabb gazdasági kártétel, továbbá vetelés is előfordulhat. Bakteriológiai és antibiotikum-érzékenységi vizsgálatot követően a megfelelő antibakteriális szer alkalmazásával csökkenthető a betegség kártétele [26, 27].

3.5. Az antibakteriális szerek rövid bemutatása

Magyarországon házi nyúlra engedélyezett hatóanyagok listáját, valamint azok forgalomban lévő gyógyszerformáit az **1. táblázat** szemlélteti az *E. coli*, *P. multocida* és *Staphylococcus* fajok vonatkozásában.

Baktérium	Hatóanyag	Gyógyszerforma	Engedélyezett készítmények száma
<i>P. multocida</i>	Enrofloxacin	oldat ivóvízbe keveréshez	3
		oldatos injekció	1
	Szulfadimetoxin-trimetoprim	oldat ivóvízbe keveréshez	1
		Tilmikozin	gyógypremixon
<i>E. coli</i>	Enrofloxacin	oldat ivóvízbe keveréshez	3
		oldatos injekció	1
<i>Staphylococcus spp.</i>	Enrofloxacin	oldatos injekció	1
	Szulfadimetoxin-trimetoprim	oldat ivóvízbe keveréshez	1

1. táblázat Magyarországon engedélyezett antibakteriális szerek a házi nyulak egyes bakteriális megbetegedéseire.

3.5.1. Penicillinek: amoxicillin, amoxicillin-klavulánsav

Az amoxicillin a β -laktámokon belül a szélesített spektrumú penicillinek csoportjába tartozó, időfüggő baktericid antibiotikum, amelyet az 1970-es évektől alkalmaznak. Intravénásan alkalmazható nátrium sója, valamint *per os* és intramuszkuláris trihidrát formája van forgalomban. További elterjedt felhasználási módja klavulánsavval történő kombinálása [28]. Egy 2019-es tanulmányban mesterséges körülmények között *S. aureus*-sal megfertőzött nyulakon vizsgálták, hogy 12, illetve 24 órás időközzel, különböző dózisban adott amoxicillin injekciókat követően, hogyan alakul a rezisztens baktériumok száma. A rezisztencia vizsgálat a *S. aureus* plazmidon kódolt, β -laktamáz termelő képességén alapult, amely lehetővé tette a rezisztencia gyors ütemű terjedését [29].

A klavulánsav úgynevezett „öngyilkos” hatóanyag, bár antibakteriális aktivitással nem rendelkezik, de képes lefoglalni a baktériumok β -laktám bontó enzimeit [28]. A kombinációval szembeni rezisztencia is egyre nagyobb méreteket ölt. Egy USA-ban végzett vizsgálatban a macskák húgyutaiból izolált *E. coli* törzsek 100%-ban rezisztensek voltak amoxicillin-klavulánsavval szemben, míg a kutyákból izolált törzsek 92%-a bizonyult érzékenynek [30].

3.5.2. Cefalosporinok: ceftiofur, cefkvinom

A ceftiofur a harmadik generációs cefalosporinok csoportjába tartozó időfüggő baktericid antibiotikum. Szintén a β -laktámok közé sorolható, sejtfal szintézis gátló. Mind a harmadik, mind pedig a negyedik generációs cefalosporinok a CIA, azaz a kritikusan fontos antibiotikumok közé sorolandóak, amelyek humánegészségügyi jelentőséggel bírnak. A ceftiofur a Gram-pozitív baktériumokkal szemben hatékony, míg a Gram-negatívakkal szemben kiemelkedően hatékony [31]. Egy 2023-as ausztrál vizsgálatban 62 nagyüzemi farmon izolált *E. coli* törzs közül 53% volt érzékeny ceftiofurra, továbbá ceftriaxonra, amely szintén egy harmadik generációs cefalosporin [32]. Egy hazai, 2018 és 2021 között folytatott kutatásban, sertés eredetű *P. multocida* törzsek 98,4%-a volt érzékeny a ceftiofurra [33].

A cefkvinom, mint negyedik generációs cefalosporin, igen hatékony a Gram-negatív és Gram-pozitív baktériumokkal szemben is. Alkalmazása azonban CIA antibiotikum lévén kifejezetten megfontolandó. A légúti kórképek mellett mastitis kezelésére is alkalmas. Vizsgálták többek között rágcsáló modellben a mastitis-t okozó *Streptococcus agalactiae* elleni hatékonyságát, amely során ha a plazma koncentrációja tartósan a meghatározott MIC érték felett volt, a baktérium mennyisége szignifikáns csökkenést mutatott [34].

3.5.3. Aminoglikozidok: neomicin, gentamicin

Az aminoglikozidok koncentrációfüggő baktericid antibiotikumok, amelyek a riboszóma 30S alegységének gátlásán keresztül fejtik ki hatásukat. A csoporton belüli amino-csoportok számával az egyes hatóanyagok toxicitása egyenes arányban változik. A neomicin 6 db amino-csoportot tartalmaz, ezzel az egyik legtoxikusabb vegyület a csoportban. Önállóan és penicillinekkal történő kombinációban is igen hatékony, de toxikus tulajdonsága miatt parenterális alkalmazása kerülendő. Az *E. coli* törzsek okozta gyomor-bélrendszeri megbetegedések kezelésére, szájon át alkalmazva hatékony és kevésbé toxikus [35].

A csoport egy szintetikus hatóanyaga a gentamicin. Hatásmechanizmusa megegyezik a neomicinével, de parenterálisan is alkalmazható. A Gram-pozitív baktériumok közül hatékony a *Staphylococcus* fajok okozta kórképek kezelésére, továbbá a Gram-negatívak közül kiemelkedő aktivitást mutat az *E. coli* törzsekkel, az aerob baktériumokkal és a *Pseudomonas aeruginosa*-val szemben is [36].

Egy kínai vizsgálatban malacokból izolált ETEC törzsek érzékenységet mérték fel. Számos esetben találtak gentamicinnel szemben rezisztens törzseket, továbbá 19 izolátum esetén igazolódott, hogy hordoz legalább egy olyan plazmidon kódolt gént, amely felelős a további rezisztencia mechanizmusok kialakulásáért [37].

3.5.4. Tetraciklinek: oxitetraciklin, doxiciklin

A bakteriosztatikus hatásmódú antibiotikumok csoportjába tartozó oxitetraciklin egy természetes tetraciklin. A riboszóma 30S alegységéhez kötődve gátolja a baktériumok szaporodását. Jellemzően rövid hatásideje van, de olajos injekciók formájában hosszú hatástartamú készítmények is vannak forgalomban. Egyes európai országokban a tetraciklinekkel szembeni rezisztencia a közel 67%-ot is elérheti. Az *MRSA* és *Streptococcus pneumoniae* törzsek esetében, globálisan a tetraciklinekkel szembeni rezisztencia aránya 8,7% és 24,3% közé tehető [38].

A hosszú hatástartamú tetraciklinek csoportjába tartozó félszintetikus doxiciklin hatásmechanizmusa megegyezik az oxitetraciklinével. Szájon át és vizes bázisú injekcióként is alkalmazható. A tetraciklinek hatékonyak az intracelluláris kórokozókval szemben (*Mycoplasma*, *Chlamydophyla* és *Rickettsia* fajok), továbbá a légúti megbetegedéseket okozó Gram-negatív tápigényes baktériumokkal szemben, így megfelelő választások lehetnek pasteurellózis esetén is. A tetraciklinek szerzett rezisztenciájuk miatt kevésbé alkalmasak a colibacillosis kezelésére [39]. Az élelmiszer eredetű fertőzésekért sok esetben felelős, főleg baromfi- és sertéshúsból izolált *Salmonella* fajok vizsgálata során megállapították, hogy jelentős rezisztencia áll fenn a tetraciklinekkel szemben. Ezen rezisztenciáért leginkább a plazmidon kódolt mutációk felelősek [40].

3.5.5. Makrolidok: tilozin, tilmikozin, tilvalozin, tulatromicin

A makrolidok a riboszóma 50S alegységének gátlásával akadályozzák meg a baktériumok szaporodását. Lipofilitásuk és gyenge bázikus tulajdonságuk következtében farmakokinetikájuk kiváló, intracellulárisan képesek felhalmozódni, leginkább a makrofágokban [41]. A tilozin régóta alkalmazott természetes makrolid. Szarvasmarhák gasztrointesztinális traktusából izolált *Enterococcus* fajok esetében nagymértékű rezisztenciát írtak le, de sertések proliferatív enteropátiájának [42] és haszonállatok légúti kórképeinek kezelésére igen hatékony [43]. Az USA-ban szarvasmarhákból, míg Németországban szarvasmarhákból és sertésekből izolált *P. multocida* törzsek tilozinnal szembeni rezisztenciája előbbi esetben 23,8%, míg az utóbbiban 2,1% volt [44].

A tilmikozin egy félszintetikus makrolid, amelyet főleg légúti kórképek kezelésére alkalmaznak. A légutakban felhalmozódik, így több napig tartó hatást biztosít. A *P. multocida* és a *Bordetella* fajok okozta légzőszervi kórképekben kifejezetten hatékony. Anaerobokkal szembeni hatékonysága is kiemelkedő, így a *Fusobacterium necrophorum* okozta lábvégbetegségek kezelésére is alkalmas [43].

A tilvalozin szintén egy félszintetikus makrolid, amely a tilozinból eredeztethető. Kiválóan alkalmazható *Lawsonia intracelluláris*, *Brachyspira hyodisenteriae*, továbbá *Mycoplasma* fajok okozta megbetegedések terápiájában [43]. Kínai vizsgálatok szerint már a 2000-es évek elején megjelentek a tilvalozinnal szemben rezisztens *Mycoplasma* törzsek, amelyek száma 2010-ben sem változott [45].

A tulatromicin hasonló tulajdonságokkal és antibakteriális spektrummal rendelkezik, mint a többi makrolid. Az USA-ban a tulatromicinnel szembeni rezisztencia nem haladta meg az 5%-ot a szarvasmarhákból izolált *P. multocida* törzsek között. A németországi szarvasmarha és sertés eredetű *P. multocida* törzsek 100%-a érzékeny volt, míg az *A. pleuropneumoniae* törzsek rezisztenciája 8% alatti volt [44].

3.5.6. Linkomicin

A linkóزامidok csoportjába tartozó linkomicin főként a haszonállat-gyógyászatban alkalmazott bakteriosztatikus hatóanyag, amely a riboszóma 50S alegységének gátlásán keresztül gátolja a fehérjeszintézist. A Gram-pozitív baktériumok érzékenyek, míg a legtöbb aerob Gram-negatív baktérium rezisztens. A Gram-negatív tápigényes baktériumokkal szemben sem hatékony, így önmagában ezen baktériumok okozta kórképek kezelésére nem ajánlott. Spektinomycinrel kombinálva szinergista és additív hatása van. Ez a kombináció lefedi a légzőszervi kórképek bakteriális kórokozóit, köztük a *Mycoplasma* fajokat is [46].

3.5.7. Tiamulin

A tiamulin egy félszintetikus pleuromutilin, amely szintén a riboszóma 50S alegységén fejti ki bakteriosztatikus hatását. Sertésekben a *Brachyspira hyodisenteriae*, a *Lawsonia intracelluláris*, továbbá a Gram-negatív tápigényes baktériumok és a *Mycoplasma hyopneumoniae* okozta kórképek terápiájában használják. Baromfiban a *Mycoplasma* fajok okozta megbetegedések kezelésére alkalmazzák. Számos esetben vizsgálták a hatóanyaggal szembeni rezisztencia mechanizmusokat, de pleuromutilin inaktiváló enzimet termelő baktériumot ez idáig még nem írtak le [46].

3.5.8. Florfenikol

A florfenikol a haszonállat-gyógyászatban alkalmazott bakteriosztatikus hatóanyag. A riboszóma 50S alegységéhez kötődve gátolja a fehérjeszintézist. Kérődzők légzőszervi kórképének, lábvégbetegségének és kötőhártya-gyulladásának, illetve sertés és baromfi légzőszervi megbetegedéseinek, továbbá halak kezelésére is engedélyezett készítményei vannak [46]. Németországi adatok alapján a szarvasmarhákból, sertésekből, kutyákból és macskákból izolált *P. multocida* törzsek 100%-a érzékeny volt florfenikollal szemben [44].

3.5.9. Kolisztin

A kolisztin egy polipeptid, koncentrációfüggő baktericid, CIA antibiotikum, úgynevezett „last-line” lehetőség multirezisztens Gram-negatív baktériumok okozta fertőzésekben. Különösen a karbapenem-rezisztens *Enterobacteriaceae* családba tartozó törzsek, a *Pseudomonas aeruginosa* és a közegészségügyben legnagyobb problémát okozó *Acinetobacter baumannii* okozta fertőzések esetén alkalmazzák. A SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006–2009) az egyik legátfogóbb tanulmányt végezte el a polimixinek hatékonyságával kapcsolatban. Ennek eredménye, hogy a fentebb említett multirezisztens törzsek között a rezisztensek aránya csak 0,1% és 1,5% között volt [47].

3.5.10. Enrofloxacin

Az enrofloxacin a fluorokinolonok csoportjába tartozó koncentrációfüggő baktericid hatóanyag, amelyet az állatgyógyászatban széles körben alkalmaznak. Az enrofloxacin kiemelkedően hatékony légzőszervi, húgyúti és gasztrointesztinális kórképek kezelésére a haszonállat-gyógyászatban, továbbá kisállatok *S. aureus* okozta pyoderma kezelésére. Alkalmazását azonban nagymértékben vissza kell szorítani az állatgyógyászatban, mivel ez a hatóanyag is a kritikusan fontos antibiotikumok csoportjába tartozik. A nyúlágazatban is igen nagy mennyiségben alkalmazzák széles spektruma és kifejezett hatékonysága miatt [48].

3.5.11. Potenciált szulfonamidok

A szulfametoxazol-trimetoprim kombináció hatásmódja időfüggő baktericid. A trimetoprim a dihidro-folát-reduktáz enzimhez kapcsolódva fejti ki gátló hatását, megakadályozva ezzel a tetrahidro-folsav létrejöttét. A szulfametoxazol emellett a dihidro-folsav kialakulását gátolja [49]. Magyarországi sertésekből izolált *P. multocida* törzsek 100%-a, továbbá a *Streptococcus suis* törzsek 94,3%-a volt rezisztens a kombinációval szemben [33].

4. Célkitűzések

Dolgozatom célja, hogy a nagyüzemi nyúlállományokból származó baktériumok antibiotikum-érzékenységének átfogó vizsgálatával, minél több információt nyerjünk erről a kevésbé kutatott területről. Ezáltal egyfajta támpontot szeretnék biztosítani a jövőbeni megfelelő antibakteriális terápiákhoz. Mindemellett, pedig szeretném felhívni a figyelmet az egyes baktériumok növekvő rezisztenciájára és azok potenciális veszélyeire a házi nyúlállományok tekintetében, legfőképp az *Escherichia coli*, a *Pasteurella multocida*, valamint a *Staphylococcus* fajok vonatkozásában. Az antibiotikum rezisztencia gén (ARG) visszaszorítása bár hatalmas jelentőséggel bír az állományok állategészségügyi védelmében és a gazdaság stabilitásának fenntartásában, mégis a legfontosabb cél a közegészségügy védelme ezen rezisztens, vagy sok esetben akár multirezisztens kórokozókkal szemben.

5. Anyag és módszer

5.1. A mérések során felhasznált minták és a belőlük izolált baktériumtörzsek

A magyarországi házi nyúl állományokból származó, különböző szerv- és tamponmintákból a baktérium fajokat az Állatorvostudományi Egyetem Patológia Tanszékén izolálták. Tárolásuk az Állatorvostudományi Egyetem Gyógyszertani és Méregtani Tanszékén, -80 °C-on történt. Az izolátumok eredete a **2. táblázatban** látható.

Baktérium faj	Minták eredete
<i>Pasteurella multocida</i>	tüdő, lép, máj, dobüreg, szívburok, tályog, méhtampon, fültampon, orrtampon, hashártya, pleura, mellüreg
<i>Escherichia coli</i>	vakbél, vastagbél, végbél, bélsár
<i>Staphylococcus spp.</i>	bőr, tüdő, lép, tejmirigy, máj, pleura

2. táblázat A baktérium izolátumok forrásai.

5.2. A mérések során felhasznált antibiotikumok és azok kettes alapú hígítási sora

A mikrohígítási módszer során alkalmazott antibakteriális szerek és azok mérési tartományai a **3. táblázatban** láthatók. A kutatómunkám során a következő antibakteriális szerekkel szembeni érzékenységet vizsgáltuk: amoxicillin (AM), amoxicillin-klavulánsav (AMKL), ceftiofur (CEFT), cefkvinom (CEFK), neomicin (NEO), gentamicin (GEN), oxitetraciklin (OTC), doxiciklin (DOX), tilozin (TILO), tilmikozin (TILM), tilvalozin (TILVA), tulatromicin (TUL), linkomicin (LIN), tiamulin (TIA), florfenikol (FLO), kolisztin (KOL), enrofloxacin (ENR) és potenciált-szulfonamid (PSA, szulfametoxazol-trimetoprim).

Antibiotikumok	Koncentrációk (µg/ml)									
CEFT, CEFQ, KOL, ENR	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
TUL, TIA	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06
AM, AMKL, NEO, GEN, OTC, DOX, TILO, TILM, TILVA, LIN, FLO	64	32	16	8	64	32	16	0,5	0,25	0,125
PSA	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25

3. táblázat A vizsgált antibakteriális szerek koncentráció tartományai.

5.3. Leves mikrohígítási módszer

Az egyes antibiotikumok minimális gátló koncentrációjának megállapításához szükséges méréseket az Állatorvostudományi Egyetem Gyógyszertani és Méregtani Tanszékének laboratóriumában végeztük el. A folyamatok során végig betartottuk a járványvédelmi és biobiztonsági utasításokat.

A módszer előkészítése

A mikrohígítási módszer folyamata során 96 lyukú microplate-ekkel dolgoztunk. Az egyes plate-ek oszlopai 1-10-ig az adott antibiotikum kettes alapú hígítási sorát jelölték, csökkenő sorrendben. A 11. oszlop a pozitív, a 12. oszlop pedig a negatív kontroll volt. A pozitív kontroll csak a mérés során használt levest, valamint az adott baktériumot tartalmazta, antibiotikumot nem. A negatív kontrollba csak leves került. Az egyes antibiotikumokat jelölő plate-eken az egyes sorok más-más baktériumtörzset tartalmaztak.

Baktériumszuszpenzió elkészítése

A méréseket megelőző lépés az adott vizsgálatra szánt baktériumok kioltása volt. A baktériumokat a kioltás során 5 ml táplevesbe helyeztük át, majd termosztátban inkubáltuk 24 órán keresztül, 37 °C-on.

Táplevesek

A kutatómunka során használt táplevesek TSB és MH levesek voltak. A plate-ek első oszlopa kivételével minden oszlopot 90 µl táplevessel töltöttünk fel.

Antibiotikum törzsoldatok

Ahhoz, hogy a megfelelő koncentrációjú antibiotikum oldatot megkapjuk, szükséges volt azok törzsoldatainak megfelelő hígítása. Az 1024 µg/ml töménységű törzsoldatok hígítását követően, azokat vortex segítségével elegyítettük. Az első oszlopba 180 µl antibiotikum oldatból kettes alapú hígítási sort készítettünk, a plate-ek 10. oszlopáig.

Baktériumszuspenzió

A következő lépés a baktériumokat tartalmazó plate elkészítése volt, amely során minden sort 230 µl levessel töltöttünk fel, majd soronként a különböző baktériumtörzsek 20-20 µl-ét adtuk hozzá. Az így elkészült plate-ekről azok 10-10 µl-ét soronként, az antibiotikumokat tartalmazó plate-ek megfelelő sorára pipettáztuk. Fontos volt, hogy a baktériumok hozzáadása a 11. oszloptól, azaz a pozitív kontrolltól kezdődően visszafelé történjen, vagyis a kisebb antibiotikum-koncentrációtól a nagyobb felé haladva, kiküszöbölve azt, hogy a töményebb antibiotikum koncentrációjú oldat a hígabb koncentrációját befolyásolja.

Inkubáció és a MIC értékek leolvasása

A baktérium komponensek hozzáadását követően a plate-ek termosztátban történő, 18-24 órán át tartó inkubálása volt szükséges, 37 °C-on. Ez az időtartam elegendő volt ahhoz, hogy szaporodjanak azok a baktériumok, amelyek adott antibiotikum koncentráció mellett is képesek erre. Az értékek leolvasása során azt kellett megnézni, hogy melyik az a hígítás, amelyben a baktérium még nőni képes. Ez szemmel jól látható, opálos formában mutatkozott meg. A MIC érték az ez előtti, egyel nagyobb koncentráció, amely esetén az adott baktérium már nem volt képes szaporodni.

6. Eredmények

A vizsgálatok során 104 db *Pasteurella multocida*, 85 db *Escherichia coli* és 13 db *Staphylococcus* izolátummal dolgoztunk. A különböző antibakteriális szerek MIC értékeiből baktériumfajonként MIC₅₀ és MIC₉₀ értékeket számítottunk.

6.1. β -laktám antibiotikumok

Az ezen hatóanyagcsoporton belül található penicillinek közül az amoxicillint és amoxicillin-klavulánsav kombinációt vizsgáltuk. Az amoxicillinre, mint szélesített spektrumú penicillinre nézve, a *P. multocida* izolátumok esetén a kapott MIC₅₀ érték 0,25 μ g/ml, míg a MIC₉₀ 64 μ g/ml volt. Az *E. coli* izolátumokat tekintve az antibiotikum ezen két értéke mindkét esetben 64 μ g/ml felett alakult. A *Staphylococcus* fajok MIC₅₀ értéke szintén 0,25 μ g/ml, míg a MIC₉₀ értéke 4 μ g/ml volt.

Az amoxicillin-klavulánsav esetén a *P. multocida* baktériumokat vizsgálva a MIC₅₀ érték 0,25 μ g/ml, a MIC₉₀ érték pedig 8 μ g/ml volt. Az *E. coli* esetén a MIC₅₀ eredménye 16 μ g/ml volt, míg a MIC₉₀ 32 μ g/ml. A *Staphylococcus* izolátumok MIC₅₀ értéke 0,25 μ g/ml, a baktériumokat 90%-ban gátló koncentráció pedig 2 μ g/ml volt.

A cefalosporinok szintén a β -laktámok közé sorolandók. Közülük a harmadik generációs ceftiofur és a negyedik generációs cefkvinom hatóanyagot vizsgáltuk. A kapott értékek jól szemléltetik, hogy esetükben kisebb mértékű rezisztencia áll fenn. A *P. multocida* esetén a ceftiofur MIC₅₀ értéke kevesebb, mint 0,03 μ g/ml, míg MIC₉₀ értéke 2 μ g/ml volt. Az *E. coli* izolátumok vizsgálata során a kapott MIC₅₀ 1 μ g/ml, míg a MIC₉₀ nagyobb volt, mint 16 μ g/ml. A MIC₅₀ érték a ceftiofur esetén a *Staphylococcus* fajokra nézve 1 μ g/ml, a kapott MIC₉₀ pedig 2 μ g/ml. A negyedik generációs cefalosporin esetén a MIC₅₀ a *P. multocida* izolátumok tekintetében szintén kisebb, mint 0,03 μ g/ml, a MIC₉₀ pedig 4 μ g/ml lett. Az *E. coli*-t vizsgálva a MIC₅₀ 0,25 μ g/ml, a MIC₉₀ pedig 4 μ g/ml. A Gram-pozitív *Staphylococcus*-ok esetén MIC₅₀ értéként 0,5 μ g/ml-t állapítottunk meg, MIC₉₀-re pedig 1 μ g/ml-t.

6.2. Aminoglikozidok

Az ebbe a csoportba tartozó antibiotikumok a neomicin és a gentamicin. A *P. multocida* izolátumokat vizsgálva a mért MIC₅₀ érték mindkét hatóanyag esetén 4 μ g/ml volt. A neomicin MIC₉₀ értéke 64 μ g/ml, míg a gentamicin esetében ez az érték 16 μ g/ml volt.

Az *E. coli* minták vizsgálata során a neomicinre nézve 64 μ g/ml-es MIC₅₀ értéket, míg a gentamicin esetén jelentősen kisebb, 4 μ g/ml értéket állapítottunk meg. Mindkét antibiotikum MIC₉₀ értéke nagyobb volt, mint 64 μ g/ml.

A neomicin vizsgálata során a kapott MIC₅₀ és MIC₉₀ a *Staphylococcus* fajok esetében egységesen 64 µg/ml volt. A gentamicin MIC₅₀ értéke ezen izolátumok esetén 8 µg/ml, míg a MIC₉₀ hasonlóan a neomicinhez, 64 µg/ml volt.

6.3. Tetraciklinek

A tetraciklinek közül az oxitettraciklin és a doxiciklin MIC értékeit vizsgáltuk. A *P. multocida* esetén az oxitettraciklin MIC₅₀ értéke 2 µg/ml volt, míg a MIC₉₀ 64 µg/ml. A másik két baktériumfaj esetén ettől eltérő értékeket kaptunk. Az *E. coli* izolátumokat vizsgálva mindkét eredmény nagyobb volt, mint 64 µg/ml, a *Staphylococcus* fajok esetén a MIC₅₀ értéke 64 µg/ml, a MIC₉₀ pedig > 64 µg/ml volt.

A doxiciklin kapott értékei kissé kedvezőbben alakultak. A *P. multocida* izolátumok vizsgálata során a MIC₅₀ 1 µg/ml, míg a MIC₉₀ 16 µg/ml volt. Az *E. coli* esetén nagyobb mértékű rezisztencia volt megfigyelhető, a MIC₅₀ 64 µg/ml, MIC₉₀ értéke pedig több, mint 64 µg/ml volt. A *Staphylococcus* fajok vizsgálati eredménye 2 µg/ml-es MIC₅₀ és 8 µg/ml-es MIC₉₀ értéket mutatott.

6.4. Makrolid antibiotikumok

A *P. multocida* esetén a tularomicin hatóanyagra vizsgált eredmények értékei voltak a legkedvezőbbek a makrolidok csoportján belül. A MIC₅₀ 0,5 µg/ml, a MIC₉₀ pedig 32 µg/ml volt. Bár a tilmikozin MIC₅₀ értéke még kisebb, 2 µg/ml volt, a MIC₉₀ azonban nagyobb volt, mint 64 µg/ml. A tilozin esetén szintén nagy értékeket kaptunk. A MIC₅₀ 32 µg/ml, a MIC₉₀ pedig több, mint 64 µg/ml volt. Hasonlóan alakultak a tilvalozin eredményei is, amelynél 64 µg/ml-es MIC₅₀ és > 64 µg/ml-es MIC₉₀ értéket állapítottunk meg.

Az ebbe a csoportba tartozó 4 antibiotikum vizsgálatát az ismert nagyobb mértékű rezisztencia miatt csak 27 db *E. coli* izolátumra végeztük el. A kapott MIC₅₀ és MIC₉₀ értékek a tularomicin esetén voltak kisebbek, mindkét esetben több, mint 32 µg/ml-t számítottunk. A többi három antibiotikum esetén mindkét kapott érték nagyobb volt, mint 64 µg/ml.

Hasonlóan alakultak az eredmények a *Staphylococcus* izolátumok vizsgálata során is. A tularomicin MIC₅₀ és MIC₉₀ értéke ebben az esetben is nagyobb volt, mint 32 µg/ml. A tilvalozin esetén ez a két eredmény 64 µg/ml volt, míg a tilmikozin és tilozin esetén pedig nagyobb, mint 64 µg/ml.

6.5. Linkóزامidok

A *P. multocida* izolátumok vizsgálata során kapott MIC₅₀ 32 µg/ml, míg a MIC₉₀ érték > 64 µg/ml volt. A linkomicin hatékonyságát szintén 27 db *E. coli* izolátumra vizsgáltuk. A nagyobb mértékű rezisztenciát a kapott eredmények is jól szemléltetik. Nemcsak az *E. coli*, hanem a *Staphylococcus* fajok esetén is mind a MIC₅₀, mind pedig a MIC₉₀ értékek meghaladták a 64 µg/ml-t.

6.6. Pleuromutilinek

A vizsgált antibakteriális hatóanyagok közül a tiamulin tartozik ebbe a csoportba. A *P. multocida* eredményeit tekintve a kapott MIC₅₀ érték 16 µg/ml, a MIC₉₀ pedig több, mint 32 µg/ml volt. A 27 db *E. coli* izolátum vizsgálata során magasabb értékeket kaptunk. A MIC₅₀ és MIC₉₀ is nagyobb volt, mint 32 µg/ml. Ezen értékek a *Staphylococcus* fajok esetén kisebbek voltak, az 50%-os gátló koncentráció 4 µg/ml, míg a 90%-os 32 µg/ml volt.

6.7. Florfenikol

A fenikolok csoportjába tartozó florfenikol MIC értékei baktériumfajonként változatosan alakultak. A *P. multocida* izolátumok vizsgálatakor kapott MIC₅₀ érték 0,5 µg/ml volt, míg a MIC₉₀ 8 µg/ml. A MIC₅₀ az *E. coli* és *Staphylococcus* esetén egyaránt 8 µg/ml volt, míg a MIC₉₀ értékeket tekintve 32 µg/ml az *E. coli*, valamint 16 µg/ml a *Staphylococcus* fajok esetében.

6.8. Kolisztin

A kolisztin MIC₅₀ értékei a *P. multocida* esetén 2 µg/ml, az *E. coli* esetén 0,5 µg/ml, a *Staphylococcus* fajok vizsgálata során pedig > 16 µg/ml voltak. A MIC₉₀ értékeket mindhárom baktérium vizsgálata során 16 µg/ml-nél nagyobbak határoztuk meg.

6.9. Enrofloxacin

A második generációs fluorokinolonok közé tartozó enrofloxacin vizsgálata során, a *P. multocida* izolátumok esetében kapott MIC₅₀ értéke 0,06 µg/ml volt. A MIC₉₀ is kedvezően alakult, 1 µg/ml-t állapítottunk meg. A 85 db *E. coli* esetén mindkét érték nagyobb volt, mint 16 µg/ml, ami súlyos rezisztenciára utal. A *Staphylococcus* fajokat vizsgálva a MIC₅₀ 8 µg/ml, a MIC₉₀ értéke pedig > 16 µg/ml volt.

6.10. Potenciált szulfonamidok

Ebből az antibiotikum csoportból a szulfametoxazol-trimetoprim hatóanyagot vizsgáltuk munkám során. A három baktériumot tekintve a legkedvezőbb eredményt a *P. multocida* izolátumok MIC₅₀ értékének vizsgálata során kaptuk, amely 4 µg/ml, ezzel szemben a MIC₉₀ érték 128 µg/ml volt. Az *E. coli* esetén mindkét esetben rezisztenciára utaló eredményeket állapítottunk meg, 128 µg/ml-es értékek mérésével. A *Staphylococcus* izolátumok esetén a MIC₅₀ 32 µg/ml volt, de a MIC₉₀ szintén 128 µg/ml felett alakult.

A három baktériumfaj vizsgálatának eredményei összefoglalóan a **4., 5. és 6. táblázatban** láthatóak.

Antibakteriális hatóanyag	Izolátumok száma (db)	Kettes alapú hígítási sor (µg/ml)														MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)
		> 128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	>		
AM	104	9		6	0	1	2	1	1	1	11	48	19		5	0.25	64
AMKL	103	0		2	3	5	6	1	3	1	8	47	19		8	0.25	8
CEFT	103	4				0	1	1	6	8	8	4	5	0	3	<0.03	2
CEFQ	103	3				0	0	10	6	7	5	5	5	4	2	<0.03	4
NEO	103	3		8	5	7	19	10	37	8	6	0	0		0	4	64
GEN	103	0		7	2	5	31	13	10	30	3	1	1		0	4	16
OTC	104	8		10	4	0	3	19	17	32	6	4	1		0	2	64
DOX	103	6		4	0	5	2	12	17	17	17	17	2		4	1	16
TILO	103	20		16	21	18	9	4	11	1	1	1	0		1	32	>64
TILM	103	14		2	10	7	7	8	19	5	13	15	1		2	2	>64
TILVA	104	45		36	9	6	5	1	1	0	0	0	0		1	64	>64
TUL	103	8			4	1	2	1	5	8	27	11	17	1	18	0.5	32
LIN	103	18		32	13	30	5	1	1	2	1	0	0		0	32	>64
TIA	102	17			16	26	7	20	7	6	2	1	0	1	0	16	>32
FLO	102	0		0	4	4	5	2	2	14	27	20	12		12	0.5	8
KOL	104	14				9	11	13	17	13	14	5	4	4	0	0	>16
ENR	103	2				0	2	4	2	6	1	4	7	33	19	23	0.06
PSA	104	8	7	3	3	2	14	25	21	16	4	0			1	4	128

4. táblázat *Pasteurella multocida* izolátumok antibiotikum-érzékenységi vizsgálatának eredményei.

Antibakteriális hatóanyag	Izolátumok száma (db)	Kettes alapú hígítási sor (µg/ml)														MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)	
		>	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	>		
AM	85	43		16	1	6	12	4	2	0	0	0	0		1	>64	>64	
AMKL	85	2		1	7	34	27	7	5	2	0	0	0		0	16	32	
CEFT	85	12				4	1	1	8	29	21	5	3	1	0	1	>16	
CEFQ	85	3				4	0	3	2	2	18	11	12	26	1	3	0.25	4
NEO	85	22		32	1	6	9	13	1	0	0	1	0		0	64	>64	
GEN	85	12		17	7	2	3	17	17	9	1	0	0		0	4	>64	
OTC	85	64		19	2	0	0	0	0	0	0	0	0		0	>64	>64	
DOX	85	37		36	3	7	2	0	0	0	0	0	0		0	64	>64	
TILO	27	27		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	>64	>64	
TILM	27	25		0	2	0	0	0	0	0	0	0	0		0	>64	>64	
TILVA	27	25		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	>64	>64	
TUL	27	16			1	3	0	2	4	1	0	0	0	0	0	>32	>32	
LIN	27	25		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	>64	>64	
TIA	27	25			2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	>32	>32	
FLO	85	2		3	10	19	44	5	1	0	1	0	0		0	8	32	
KOL	85	18				3	3	6	1	5	26	17	6	0	0	0.5	>16	
ENR	85	49				4	5	5	5	6	4	4	1	2	0	>16	>16	
PSA	85	54	13	0	1	9	3	2	3	0	0	0			0	>128	>128	

5. táblázat *Escherichia coli* izolátumok antibiotikum-érzékenységi vizsgálatának eredményei.

Antibakteriális hatóanyag	Izolátumok száma (db)	Kettes alapú hígítási sor (µg/ml)														MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)
		>	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03		
AM	13	0		0	0	0	1	1	1	0	1	7	1		1	0.25	4
AMKL	13	0		0	0	0	0	0	2	0	1	8	2		0	0.25	2
CEFT	13	0				0	0	0	3	8	0	0	0	0	0	1	2
CEFQ	13	0				0	0	3	4	6	4	3	0	0	2	0.5	1
NEO	13	0		7	0	0	0	0	2	3	1	0	0		0	64	64
GEN	13	0		4	1	1	1	0	1	4	0	1	0		0	8	64
OTC	13	2		5	2	0	0	2	1	0	1	0	0		0	64	>64
DOX	13	0		0	0	0	2	3	2	3	1	0	1		1	2	8
TILO	13	10		0	2	0	0	0	1	0	0	0	0		0	>64	>64
TILM	13	9		0	2	0	0	0	0	0	2	0	0		0	>64	>64
TILVA	13	1		8	1	0	3	0	0	0	0	0	0		0	64	64
TUL	13	8			3	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	>32	>32
LIN	13	8		2	0	2	1	0	0	0	0	0	0		0	>64	>64
TIA	13	1			2	1	1	2	4	1	0	0	1	0	0	4	32
FLO	13	0		0	0	6	3	0	2	2	0	0	0		0	8	16
KOL	13	11				0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	>16	>16
ENR	13	5				1	1	2	0	2	0	0	0	0	1	8	>16
PSA	13	2	0	0	5	1	2	3	0	0	0	0			0	32	>128

6. táblázat *Staphylococcus spp.* izolátumok antibiotikum-érzékenységi vizsgálatának eredményei.

7. Megbeszélés

A nyúlállományokból izolált, jelentős gazdasági károkat okozó baktériumok antibiotikum-érzékenységének vizsgálata fontos kutatási iránynak számít. A *P. multocida*, *E. coli* és *Staphylococcus* fajok MIC értékeinek ismeretében lehetőségünk nyílik egyéb gazdasági állatfajok esetén is, a bakteriális megbetegedések megfelelő típusú és dózisú hatóanyaggal történő kezelésére. A helyes antibiotikum-használattal visszaszorítható az antibiotikum-rezisztencia rohamos ütemű terjedése, amely a humán bakteriális megbetegedések hatékony kezelési lehetőségei szempontjából is kulcskérdés. Bár a vizsgált hatóanyagok közül házi nyúl kezelésére csak néhány hatóanyag engedélyezett, az antibiotikum-rezisztencia felmérése során törekedni kell a minél szélesebb spektrumon történő vizsgálatok elvégzésére, amelyek nem csak az adott állatfajra vonatkoztathatóak, hanem rámutatnak a rezisztencia közegészségügyi és más állatfajokat érintő voltára is.

A β -laktámok vizsgálata során kimagasló rezisztencia az *E. coli* izolátumok esetén volt megfigyelhető. Amoxicillinre nézve, az EUCAST által meghatározott 8 $\mu\text{g/ml}$ -es határértéket a vizsgált izolátumok 77,65%-a haladta meg [50]. Bár a cefalosporinokkal szemben mindhárom kórokozó érzékeny volt, használatuk CIA antibiotikumok lévén kontraindikált, illetve házi nyúlra Magyarországon nincs engedélyezett készítményük. A cefalosporinok alkalmazása nyulakban súlyos mellékhatásokkal járhat, de a ceftiofur hosszú hatástartamú készítménye egy kísérletben biztonságosnak bizonyult nyulakban [51], így abban az esetben, ha minden más antibakteriális szerrel szemben bizonyítható a rezisztencia, akkor felmerülhet végső megoldásként. Házi nyúl eredetű *Staphylococcus aureus* izolátumok vizsgálata során a ceftiofurral szembeni érzékenység 100% volt [52], amely eredmény hasonló a mi vizsgálatainkhoz. Összességében, a β -laktám antibiotikumok alkalmazása szájon át kerülendő nyulakban, amelynek köszönhetően a rezisztencia ezekkel a szerekkel szemben kismértékű a többi haszonállatfajból izolált baktériumtörzshöz képest.

A neomicinre és gentamicinre a vizsgált baktériumok nagy része rezisztens volt, azonban a gentamicin *P. multocida* izolátumokra nézve kedvezőbb, 16 $\mu\text{g/ml}$ -es MIC₉₀ értéket mutatott. Az EUCAST által meghatározott ECOFF értéket a törzsek kevesebb, mint fele haladta meg [53].

A tetraciklinekre a vizsgált *E. coli* törzsek 100%-a rezisztens volt, amelyet jól tükröznek az egyes európai országokban már 2016-ban leírt 67%-os eredmények is [38]. A *P. multocida* és *Staphylococcus* izolátumok azonban érzékenyebbek voltak ezen hatóanyagokra.

A vizsgált makrolidokkal, valamint a linkomicinnel és tiamulinnal szemben szintén nagymértékű rezisztenciát tapasztaltunk, így alkalmazásuk ebből a szempontból nagyon nagy körültekintést igényel az állatgyógyászat területén.

A florfenikollal szemben az EUCAST határértékei alapján a *P. multocida* csupán 16,67%-a ($1\text{ }\mu\text{g/ml}$) [54], míg az *E. coli* törzsek 17,65%-a ($16\text{ }\mu\text{g/ml}$) volt rezisztens [55]. A *Staphylococcus* fajok érzékenysége szintén megfigyelhető volt a florfenikollal szemben. A kolisztin értékei mindhárom baktériumfaj esetén változatosan alakultak, az enrofloxacinnal szemben a legnagyobb rezisztenciát az *E. coli* törzsek esetében tapasztaltuk. A potenciált szulfonamidok vizsgálata során mindhárom baktériumfaj MIC_{90} értéke elérte vagy meghaladta a $128\text{ }\mu\text{g/ml}$ -t, amely jól tükrözi a fennálló rezisztenciát.

Összefoglalva, vizsgálataink egyfajta iránymutatásul szolgálhatnak további, nyúl eredetű baktérium izolátumok antibiotikum-érzékenységi vizsgálataihoz, amely során hiánypótló következtetések születhetnek az állategészségügy, ezáltal pedig a humánegészségügy területén is. Továbbá, eredményeinket a nyúlállományok ellátását végző állatorvosok is alkalmazhatják a mindennapi gyakorlatban.

8. Összefoglalás

Az antibiotikum-rezisztencia globális problémája a köz- és állategészségügyet egyaránt érinti. Az *Escherichia coli* egy olyan Gram-negatív baktérium, amely megbetegedésért felelős valamennyi háziállatfajban, köztük nyulakban is. A kezdeti hasmenéses tünetek súlyosbodhatnak és vérzéses bélgyulladás, vagy életet veszélyeztető septicémia is kialakulhat. A *Pasteurella multocida* szintén egy Gram-negatív kórokozó, amely általában tünetmentes formában van jelen a nyálkahártyákon. Ha az immunrendszer gyengül hajlamosító tényezők hatására, jelentkeznek az első tünetek főleg légző, vagy egyéb szerveket érintő megbetegedés formájában. A Gram-pozitív baktériumok közül nagyüzemi nyúlállományok esetén gyakoriak a *Staphylococcus* fajok okozta kórképek, amelyek helyi gennyesedéssel, tályogképződéssel, valamint légzőszervi tünetek következtében akár elhullással is járhatnak.

Kutatásom során mikrohígítási módszerrel 18féle antibiotikum (amoxicillin, amoxicillin-klavulánsav, ceftiofur, cefkvinom, neomicin, gentamicin, oxitettraciklin, doxiciklin, tilozin, tilmikozin, tilvalozin, tulatromicin, linkomicin, tiamulin, florfenikol, kolisztin, enrofloxacin és szulfametoxazol-trimetoprim) minimális gátló koncentrációját, valamint az ezekből számolt MIC₅₀ és MIC₉₀ értékét határoztuk meg 104 db *P. multocida*, 85 db *E. coli* és 13 db *Staphylococcus* faj, házi nyúl-eredetű izolátuma esetén.

Az amoxicillinre és amoxicillin-klavulánsavra a legtöbb *P. multocida* és *Staphylococcus* érzékeny, azonban az *E. coli* izolátumok nagy része rezisztens volt. A ceftiofur és cefkvinom hatékonynak bizonyultak mindhárom kórokozóval szemben, az összes minta közül kizárólag az *E. coli* törzsek esetén tapasztaltunk rezisztenciát. A neomicin és a gentamicin vizsgálata során nagy számú izolátumnál figyeltünk meg rezisztenciát mindhárom baktériumfaj esetén. Az oxitettraciklin és doxiciklin tekintetében változatos eredmények születtek, azonban csak az *E. coli* izolátumok esetén állapítható meg egyértelműen a rezisztencia. A tilozin, tilmikozin, tilvalozin, tulatromicin és linkomicin antibiotikumok MIC értékei az *E. coli* és *Staphylococcus* fajok esetén kiugróan nagyok voltak. A *P. multocida* izolátumok kisebb része mutatott érzékenységet ezen hatóanyagokkal szemben, azonban MIC értékeik megoszlása egyenletesebb volt. A tiamulin vizsgálata során az *E. coli* törzsek egyértelmű rezisztenciája volt megállapítható. A *P. multocida* és *Staphylococcus* fajok vizsgálata során azonban változatos eredmények születtek. A florfenikolra a *P. multocida* izolátumok többsége érzékeny volt, azonban a másik két baktériumfaj rezisztenciát mutatott. A kolisztin vizsgálata során mindhárom kórokozó MIC₉₀ értéke meghaladta a 16 µg/ml-es értéket.

Az enrofloxacinnal szemben a *P. multocida* izolátumok érzékenyek, de a legtöbb *E. coli* és *Staphylococcus* rezisztens volt. A szulfametoxazol-trimetoprim esetén az *E. coli* és *Staphylococcus* izolátumok nem voltak érzékenyek, azonban a *P. multocida* izolátumok MIC₅₀ értéke igen kedvező, 4 µg/ml volt.

9. Summary

The global problem of antibiotic resistance affects both public and animal health. *Escherichia coli* is a Gram-negative bacterium that can cause diseases to animal species among them rabbits. The initial symptoms of diarrhea may worsen and hemorrhagic enteritis or even life-threatening septicemia may develop. *Pasteurella multocida* is a Gram-negative pathogen too that is usually asymptomatic on mucous membranes. Shall the immune system weaken due to a predisposing factor, the first symptoms appear in the form of a disease affecting the respiratory system or even other organs. *Staphylococcus* – a Gram-positive bacterium – often outbursts in large-scale rabbit farms and can cause local suppuration and abscess formation on the rabbits' body or even death as a result of the breakdown of their respiratory system.

As part of this research we determined the minimal inhibitory concentration of 18 different antibiotics (amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, ceftiofur, cefquinome, neomycin, gentamicin, oxytetracycline, doxycycline, tylosin, tilmicosin, tylvalosin, tulathromycin, lincomycin, tiamulin, florfenicol, colistin, enrofloxacin and sulfamethoxazole-trimethoprim) as well as the respective MIC₅₀ and MIC₉₀ values in relation to 104 pcs of *P. multocida*, 85 pcs of *E. coli* and 13 pcs of *Staphylococcus* isolates of domestic rabbit origin.

P. multocida and *Staphylococcus* were sensitive to amoxicillin and amoxicillin-clavulanic acid, while the majority of *E. coli* isolates showed resistance towards them. Ceftiofur and cefquinome proved to be effective against all the three pathogens, exclusively *E. coli* strains showed resistance of all the examined samples. During the examination of neomycin and gentamicin we found resistance in a large number of isolates for all three bacterial species. We obtained diverse results using oxytetracycline and doxycycline, resistance can only be clearly established in relation to *E. coli* isolates. The MIC values of antibiotics tylosin, tilmicosin, tylvalosin, tulathromycin and lincomycin against *E. coli* and *Staphylococcus* were exceptionally high. Only some of the *P. multocida* showed sensitivity to these active substances, the distribution of their MIC values was more uniform. The examination of tiamulin showed clear resistance of the *E. coli* strains. However, we obtained diverse results as a result of the examination of *P. multocida* and *Staphylococcus*. Most *P. multocida* isolates were sensitive to florfenicol but the other two bacterial species showed resistance. During the colistin test, the MIC₉₀ value of all three pathogens exceeded 16 µg/ml. The tested *P. multocida* was sensitive to enrofloxacin but most of the *E. coli* and *Staphylococcus* were resistant.

E. coli and *Staphylococcus* isolates were not sensitive to sulfamethoxazole-trimethoprim, while the MIC₅₀ value of *P. multocida* isolates was very favorable, equalling to 4 µg/ml.

10. Irodalomjegyzék

1. Munita JM, Arias CA (2016) Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr* 4:. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
2. Larsson DGJ, Flach C-F (2022) Antibiotic resistance in the environment. *Nat Rev Microbiol* 20:257–269. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>
3. Li X-Z, Plésiat P, Nikaido H (2015) The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev* 28:337–418. <https://doi.org/10.1128/CMR.00117-14>
4. Kavanagh A, Ramu S, Gong Y, Cooper MA, Blaskovich MAT (2019) Effects of Microplate Type and Broth Additives on Microdilution MIC Susceptibility Assays. *Antimicrob Agents Chemother* 63:e01760-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01760-18>
5. Gidenne T (2015) Dietary fibres in the nutrition of the growing rabbit and recommendations to preserve digestive health: a review. *Animal* 9:227–242. <https://doi.org/10.1017/S1751731114002729>
6. 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:. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017>
7. Pakbin B, Brück WM, Rossen JWA (2021) Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli*: A Review. *Int J Mol Sci* 22:9922. <https://doi.org/10.3390/ijms22189922>
8. Melton-Celsa AR (2014) Shiga Toxin (Stx) Classification, Structure, and Function. *Microbiol Spectr* 2:EHEC-0024-2013. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.EHEC-0024-2013>
9. Kim J-S, Lee M-S, Kim JH (2020) Recent Updates on Outbreaks of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and Its Potential Reservoirs. *Front Cell Infect Microbiol* 10:273. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00273>
10. De Rycke J, González EA, Blanco J, Oswald E, Blanco M, Boivin R (1990) Evidence for two types of cytotoxic necrotizing factor in human and animal clinical isolates of *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 28:694–699. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.4.694-699.1990>
11. Garcia A, Fox JG, Besser TE. 2010. Zoonotic enterohemorrhagic *Escherichia coli*: a One Health perspective. *ILAR J*. 51:221–232.
12. Swennes AG, Buckley EM, Parry NMA, Madden CM, García A, Morgan PB, Astrofsky KM, Fox JG (2012) Enteropathogenic *Escherichia coli* infection in laboratory rabbits. *J Clin Microbiol* 50:2353–2358. <https://doi.org/10.1128/JCM.00832-12>
13. Velasco-Galilea M, Guivernau M, Piles M, Viñas M, Rafel O, Sánchez A, Ramayo-Caldas Y, González-Rodríguez O, Sánchez JP (2020) Breeding farm, level of feeding and presence of antibiotics in the feed influence rabbit cecal microbiota. *Anim Microbiome* 2:40. <https://doi.org/10.1186/s42523-020-00059-z>
14. Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C (2013) *Escherichia coli* in Europe: an overview. *Int J Environ Res Public Health* 10:6235–6254. <https://doi.org/10.3390/ijerph10126235>
15. Peng Z, Wang X, Zhou R, Chen H, Wilson BA, Wu B (2019) *Pasteurella multocida*: Genotypes and Genomics. *Microbiol Mol Biol Rev* 83:e00014-19. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00014-19>
16. Kehrenberg C, Schulze-Tanzil G, Martel JL, 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>
17. Rimler RB, Rhoades KR (1987) Serogroup F, a new capsule serogroup of *Pasteurella multocida*. *J Clin Microbiol* 25:615–618. <https://doi.org/10.1128/jcm.25.4.615-618.1987>
18. Yang W, Li M, Zhang C, Zhang X, Guo M, Wu Y (2022) Pathogenicity, colonization, and innate immune response to *Pasteurella multocida* in rabbits. *BMC Vet Res* 18:416. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03517-9>
19. Stahel ABJ, Hoop RK, Kuhnert P, Korczak BM (2009) Phenotypic and genetic characterization of *Pasteurella multocida* and related isolates from rabbits in Switzerland. *J Vet Diagn Invest* 21:793–802. <https://doi.org/10.1177/104063870902100605>
20. A.B.ElTayeb,T.Y.Morishita,andE.J.Angrick,“Evaluation of *Pasteurella multocida* isolated from rabbits by capsular typing, somatic serotyping, and restriction endonuclease analysis,” *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*,vol.16,no.2,pp. 121–125, 2004.

21. Ferreira TSP, Felizardo MR, Sena de Gobbi DD, Gomes CR, Nogueira Filsner PH de L, Moreno M, Paixão R, Pereira J de J, Micke Moreno A (2012) Virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *Pasteurella multocida* strains isolated from rabbits in Brazil. *ScientificWorldJournal* 2012:685028. <https://doi.org/10.1100/2012/685028>
22. Mostaan S, Ghasemzadeh A, Sardari S, Shokrgozar MA, Nikbakht Brujeni G, Abolhassani M, Ehsani P, Asadi Karam MR (2020) *Pasteurella multocida* Vaccine Candidates: A Systematic Review. *Avicenna J Med Biotechnol* 12:140–147
23. Tzianabos AO, Cisneros RL: Prophylaxis with the immunomodulator PGG glucan enhances antibiotic efficacy in rats infected with antibiotic-resistant bacteria. *Ann N Y Acad Sci* 1996, 797:285–287.
24. Palócz O, Gál J, Clayton P, Dinya Z, Somogyi Z, Juhász C, Csikó G (2014) Alternative treatment of serious and mild *Pasteurella multocida* infection in New Zealand White rabbits. *BMC Vet Res* 10:276. <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0276-6>
25. Carrillo MP, Martinez NM, Patiño MDP, Iregui CA (2015) Inhibition of *Pasteurella multocida* Adhesion to Rabbit Respiratory Epithelium Using Lectins. *Vet Med Int* 2015:365428. <https://doi.org/10.1155/2015/365428>
26. Corpa JM, Hermans K, Haesebrouck E (2009) Main pathologies associated with *Staphylococcus aureus* infections in rabbits: a review. *World Rabbit Science* 17:115–125. <https://doi.org/10.4995/wrs.2009.651>
27. Cheung GYC, Bae JS, Otto M (2021) Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence* 12:547–569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>
28. Huttner A, Bielicki J, Clements MN, Fridmott-Møller N, Muller AE, Paccaud J-P, Mouton JW (2020) Oral amoxicillin and amoxicillin-clavulanic acid: properties, indications and usage. *Clin Microbiol Infect* 26:871–879. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.11.028>
29. Yao Q, Gao L, Xu T, Chen Y, Yang X, Han M, He X, Li C, Zhou R, Yang Y (2019) Amoxicillin Administration Regimen and Resistance Mechanisms of *Staphylococcus aureus* Established in Tissue Cage Infection Model. *Front Microbiol* 10:1638. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01638>
30. KuKanich K, Lubbers B, Salgado B (2020) Amoxicillin and amoxicillin-clavulanate resistance in urinary *Escherichia coli* antibiograms of cats and dogs from the Midwestern United States. *J Vet Intern Med* 34:227–231. <https://doi.org/10.1111/jvim.15674>
31. Lin X, Kück U (2022) Cephalosporins as key lead generation beta-lactam antibiotics. *Appl Microbiol Biotechnol* 106:8007–8020. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12272-8>
32. Abraham R, Allison HS, Lee T, Pavic A, Chia R, Hewson K, Lee ZZ, Hampson DJ, Jordan D, Abraham S (2023) A national study confirms that *Escherichia coli* from Australian commercial layer hens remain susceptible to critically important antimicrobials. *PLoS One* 18:e0281848. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0281848>
33. Somogyi Z, Mag P, Simon R, Kerek Á, Makrai L, Biksi I, Jerzsele Á (2023) Susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Streptococcus suis* Isolated from Pigs in Hungary between 2018 and 2021. *Antibiotics (Basel)* 12:1298. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12081298>
34. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefquinome against *Streptococcus agalactiae* in a murine mastitis model - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36696421/>. Accessed 14 Sep 2023
35. The relationship between the structure and toxicity of aminoglycoside antibiotics - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32360102/>. Accessed 14 Sep 2023
36. Aminoglycosides - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31082149/>. Accessed 14 Sep 2023
37. Hu J, Li J, Huang X, Xia J, Cui M, Huang Y, Wen Y, Xie Y, Zhao Q, Cao S, Zou L, Han X (2023) Genomic traits of multidrug resistant enterotoxigenic *Escherichia coli* isolates from diarrheic pigs. *Front Microbiol* 14:1244026. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1244026>
38. Grossman TH (2016) Tetracycline Antibiotics and Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med* 6:a025387. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025387>
39. Ruiz SMA, Olvera LG, Chacón S del CC, Estrada DV (2015) Pharmacokinetics of an oral extended-release formulation of doxycycline hyclate containing acrylic acid and polymethacrylate in dogs. *Am J Vet Res* 76:367–372. <https://doi.org/10.2460/ajvr.76.4.367>
40. Pavelquesi SLS, de Oliveira Ferreira ACA, Rodrigues ARM, de Souza Silva CM, Orsi DC, da Silva ICR (2021) Presence of Tetracycline and Sulfonamide Resistance Genes in *Salmonella* spp.: Literature Review. *Antibiotics (Basel)* 10:1314. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111314>

41. Gaynor M, Mankin AS (2003) Macrolide antibiotics: binding site, mechanism of action, resistance. *Curr Top Med Chem* 3:949–961. <https://doi.org/10.2174/1568026033452159>
42. Cazer CL, Eldermire ERB, Lhermie G, Murray SA, Scott HM, Gröhn YT (2020) The effect of tylosin on antimicrobial resistance in beef cattle enteric bacteria: A systematic review and meta-analysis. *Prev Vet Med* 176:104934. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.104934>
43. Pyörälä S, Baptiste KE, Catry B, van Duinkerken E, Greko C, Moreno MA, Pomba MCMF, Rantala M, Ružauskas M, Sanders P, Threlfall EJ, Torren-Edo J, Törneke K (2014) Macrolides and lincosamides in cattle and pigs: use and development of antimicrobial resistance. *Vet J* 200:230–239. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.02.028>
44. Michael GB, Bossé JT, Schwarz S (2018) Antimicrobial Resistance in Pasteurellaceae of Veterinary Origin. *Microbiol Spectr* 6:. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0022-2017>
45. Li J, Liu L, Zhang H, Guo J, Wei X, Xue M, Ma X (2023) Severe problem of macrolides resistance to common pathogens in China. *Front Cell Infect Microbiol* 13:1181633. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1181633>
46. Schwarz S, Shen J, Kadlec K, Wang Y, Brenner Michael G, Feßler AT, Vester B (2016) Lincosamides, Streptogramins, Phenicol, and Pleuromutilins: Mode of Action and Mechanisms of Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med* 6:a027037. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a027037>
47. Tran TB, Velkov T, Nation RL, Forrest A, Tsuji BT, Bergen PJ, Li J (2016) Pharmacokinetics/pharmacodynamics of colistin and polymyxin B: are we there yet? *Int J Antimicrob Agents* 48:592–597. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.09.010>
48. 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? *Int J Mol Sci* 23:3648. <https://doi.org/10.3390/ijms23073648>
49. (2012) Sulfamethoxazole-Trimethoprim. In: *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury*. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda (MD)
50. MIC EUCAST. https://mic.eucast.org/search/show-registration/3980?back=https://mic.eucast.org/search/?search%255Bmethod%255D%3Dmic%26search%255Bantibiotic%255D%3D2%26search%255Bspecies%255D%3D-1%26search%255Bdisk_content%255D%3D-1%26search%255Blimit%255D%3D50. Accessed 23 Oct 2023
51. Gardhouse S, Guzman DS-M, Cox S, Kass PH, Drazenovich TL, Byrne BA, Hawkins MG (2017) Pharmacokinetics and safety of ceftiofur crystalline free acid in New Zealand White rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Am J Vet Res* 78:796–803. <https://doi.org/10.2460/ajvr.78.7.796>
52. Badillo E, Escudero E, Galecio JS, Hernandis V, Marin P (2022) Cephalosporin susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from commercial rabbit and goats farms in Spain. *Vet Ital* 58:. <https://doi.org/10.12834/VetIt.2241.16176.1>
53. MIC EUCAST. https://mic.eucast.org/search/show-registration/8432?back=https://mic.eucast.org/search/?search%255Bmethod%255D%3Dmic%26search%255Bantibiotic%255D%3D106%26search%255Bspecies%255D%3D-1%26search%255Bdisk_content%255D%3D-1%26search%255Blimit%255D%3D50. Accessed 23 Oct 2023
54. MIC EUCAST. https://mic.eucast.org/search/show-registration/8425?back=https://mic.eucast.org/search/?search%255Bmethod%255D%3Dmic%26search%255Bantibiotic%255D%3D95%26search%255Bspecies%255D%3D-1%26search%255Bdisk_content%255D%3D-1%26search%255Blimit%255D%3D50. Accessed 23 Oct 2023
55. MIC EUCAST. https://mic.eucast.org/search/show-registration/8423?back=https://mic.eucast.org/search/?search%255Bmethod%255D%3Dmic%26search%255Bantibiotic%255D%3D95%26search%255Bspecies%255D%3D-1%26search%255Bdisk_content%255D%3D-1%26search%255Blimit%255D%3D50. Accessed 23 Oct 2023

11. Köszönetnyilvánítás

Szeretném köszönetemet kifejezni Dr. Jerzsele Ákos egyetemi docens, tudományos és innovációs rektorhelyettes úrnak, az Állatorvostudományi Egyetem Gyógyszertani és Méregtani Tanszék vezetőjének, hogy lehetőséget biztosított számomra a kutatásom megvalósításához, amely nélkül nem jöhetett volna létre ez a dolgozat.

Köszönöm dr. Somogyi Zoltán témavezetőmnek, hogy iránymutatást adott és rám fordított idejével, valamint szakértelmével segítette munkám megvalósítását, továbbá, hogy számíthattam a támogatására a felmerülő nehézségek megoldásában.

Köszönöm Dr. Német Zoltán László egyetemi adjunktus úrnak, hogy rendelkezésemre bocsátotta a munkám során felhasznált izolátumokat.

Köszönettel tartozom továbbá dr. Mag Patriknak, valamint Simon Rékának, hogy segítették laboratóriumi munkámat, előremozdítva ezzel vizsgálataim sikerességét.

Dolgozatom nem jöhetett volna létre a családom és barátaim támogatása nélkül, akiknek szintén szeretném megköszönni mindezt.

A 2020-1.1.2-PIACI-KFI-2020-00174 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a 2020-1.1.2-PIACI KFI pályázati program finanszírozásában valósult meg.

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.