

# **Tudományos Diákköri Konferencia**

**Graf Barnabás**

**2022.**

**Állatorvostudományi Egyetem**  
**Gyógyszertani és Méregtani Tanszék**



**Házinyúl eredetű *Pasteurella multocida* izolátumok antibiotikum-  
érzékenységének vizsgálata**

**Készítette: Graf Barnabás**

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

**Budapest**

**2022.**

## Tartalomjegyzék

|        |                                                                           |    |
|--------|---------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.     | Rövidítések jegyzéke.....                                                 | 4  |
| 2.     | Irodalmi áttekintés.....                                                  | 5  |
| 2.1    | A házi nyúl gazdasági jelentősége.....                                    | 5  |
| 2.2    | <i>Pasteurella multocida</i> .....                                        | 6  |
| 2.2.1  | A <i>Pasteurella multocida</i> okozta betegségek az állatorvoslásban..... | 6  |
| 2.2.2  | A házinyulak pasteurellózisa.....                                         | 7  |
| 2.2.3  | Gyógykezelés .....                                                        | 8  |
| 2.3    | Antibakteriális hatóanyagok .....                                         | 9  |
| 2.3.1  | Amoxicillin.....                                                          | 9  |
| 2.3.2  | Amoxicillin-klavulánsav .....                                             | 9  |
| 2.3.3  | Ceftiofur .....                                                           | 9  |
| 2.3.4  | Cefkvinom.....                                                            | 10 |
| 2.3.5  | Imipenem.....                                                             | 10 |
| 2.3.6  | Gentamicin .....                                                          | 11 |
| 2.3.7  | Neomicin .....                                                            | 11 |
| 2.3.8  | Oxitetraciklin.....                                                       | 11 |
| 2.3.9  | Doxiciklin.....                                                           | 12 |
| 2.3.10 | Tilozin .....                                                             | 12 |
| 2.3.11 | Tilmikozin .....                                                          | 12 |
| 2.3.12 | Tilvalozin .....                                                          | 13 |
| 2.3.13 | Tulatromicin .....                                                        | 13 |
| 2.3.14 | Linkomicin .....                                                          | 13 |
| 2.3.15 | Tiamulin .....                                                            | 14 |
| 2.3.16 | Florfenikol.....                                                          | 14 |
| 2.3.17 | Kolisztin .....                                                           | 15 |
| 2.3.18 | Vankomicin .....                                                          | 15 |

|        |                                                                            |    |
|--------|----------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3.19 | Enrofloxacin .....                                                         | 15 |
| 2.3.20 | Potenciált szulfonamidok .....                                             | 16 |
| 3.     | Célkitűzések .....                                                         | 17 |
| 4.     | Anyag és Módszer .....                                                     | 18 |
| 4.1    | A felhasznált baktérium izolátumok .....                                   | 18 |
| 4.2    | A baktériumszuszpenziók elkészítése.....                                   | 18 |
| 4.3    | Törzsoldatok elkészítése .....                                             | 18 |
| 4.4    | Minimális gátló koncentrációk meghatározása mikrohígítási módszerrel ..... | 18 |
| 4.5    | A minimális gátló koncentrációk leolvasása .....                           | 19 |
| 5.     | Eredmények.....                                                            | 20 |
| 5.1    | $\beta$ -laktám antibiotikumok.....                                        | 20 |
| 5.2    | Aminoglikozidok .....                                                      | 22 |
| 5.3    | Tetraciklinek.....                                                         | 23 |
| 5.4    | Makrolid antibiotikumok.....                                               | 23 |
| 5.5    | Linkóزامidok .....                                                         | 25 |
| 5.6    | Pleuromutilinek .....                                                      | 25 |
| 5.7    | Fenikolok.....                                                             | 26 |
| 5.8    | Peptid antibiotikumok.....                                                 | 26 |
| 5.9    | Fluorokinolonok .....                                                      | 27 |
| 5.10   | Potenciált szulfonamidok.....                                              | 28 |
| 6.     | Megbeszélés és következtetés .....                                         | 29 |
| 7.     | Összefoglalás.....                                                         | 33 |
| 8.     | Summary .....                                                              | 34 |
| 9.     | Irodalomjegyzék.....                                                       | 35 |
| 10.    | Köszönetnyilvánítás .....                                                  | 38 |

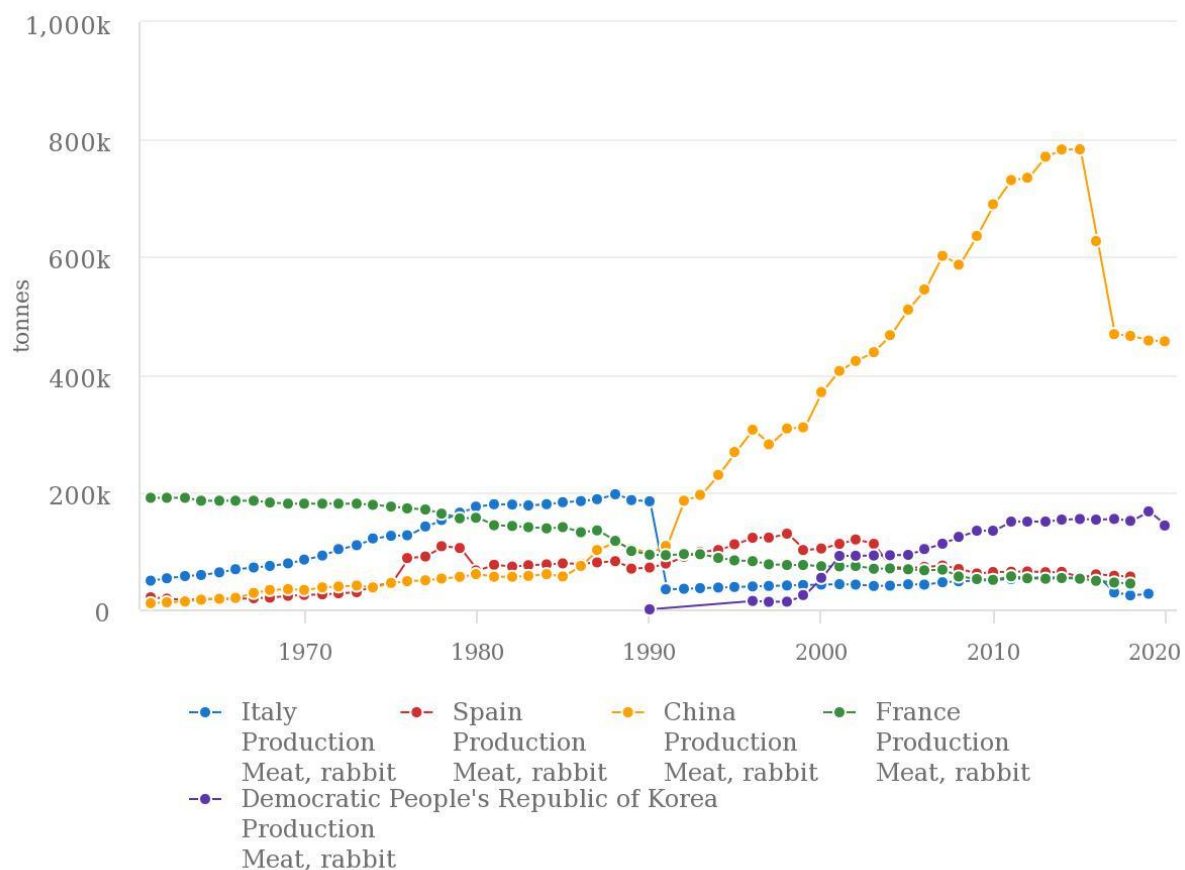
## 1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

|         |                                                                  |
|---------|------------------------------------------------------------------|
| FAOSTAT | Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database |
| MIC     | Minimal Inhibitory Concentration, minimális gátló koncentráció   |
| MPC     | Mutant Prevention Concentration                                  |
| EUCAST  | The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing   |
| FDA     | Food and Drug Administration                                     |
| MDR     | Multi-Drug Resistance, multidrog rezisztencia                    |
| CLSI    | Clinical and Laboratory Standards Institute                      |
| MH      | Mueller-Hinton leves                                             |
| TFE     | Telepformáló Egység                                              |
| ECOFF   | Epidemiological Cut-Off Value                                    |
| CEFT    | Ceftiofur                                                        |
| CEFQ    | Cefkvinom                                                        |
| ENR     | Enrofloxacin                                                     |
| OTC     | Oxitetraciklin                                                   |
| TILM    | Tilmikozin                                                       |
| TUL     | Tulatromicin                                                     |
| KOL     | Kolisztin                                                        |
| AM      | Amoxicillin                                                      |
| AMKL    | Amoxicillin-klavulánsav                                          |
| IMI     | Imipenem                                                         |
| GEN     | Gentamicin                                                       |
| NEO     | Neomicin                                                         |
| DOX     | Doxiciklin                                                       |
| TILV    | Tilvalozin                                                       |
| LIN     | Linkomicin                                                       |
| FLO     | Florfenikol                                                      |
| PSA     | Potenciált szulfonamid                                           |
| TILO    | Tilozin                                                          |
| TIA     | Tiamulin                                                         |
| VAN     | Vankomicin                                                       |

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1 A házi nyúl gazdasági jelentősége

Az utóbbi időben több területen is jelentősen megnőtt az előállított nyúlhús éves mennyisége. Ez többek között annak is köszönhető, hogy magas fehérje, esszenciális aminosav és relatív magas energiatartalma miatt kiváló alternatívát jelenthet a tradicionális húsipari termékek pótlására [1]. Az intenzív nyúltartás és feldolgozás mérsékelt anyagi igényének köszönhetően az iparág az utóbbi időben jelentős gazdasági fejlődést mutatott több fejlődő és fejlett országban egyaránt [2]. Az elmúlt 30 évben az előállított nyúlhús mennyisége két keleti országban: Kínában és a Koreai Népi Demokratikus Köztársaságban a sokszorosára nőtt. A Mezőgazdasági és Élelmezési Szervezet adatai alapján Kína 2015-ben 783,457 tonna nyúlhúst állított elő, ami az egész világ termelésének 70%-ának felelt meg (FAOSTAT). A keleti országokon kívül a fontosabb európai nyúlhús termelő országok Spanyolország, Franciaország és Olaszország [3].



Source: FAOSTAT (Sep 17, 2022)

1. ábra Fontosabb nyúlhús előállító országok éves nyúlhústermelésének változása 1960-2020 között (FAOSTAT, 2022).

Ugyan a házi nyúl manapság csak egy töredékét teszi ki az elfogyasztott hústermékeknek, az egyre növekvő előállítás miatt célszerű az intenzív nyúltartást veszélyeztető bakteriális kórokozók feltérképezése, az ellenük való védekezés és a humánegészségügyi kockázatuk felbecslésének érdekében. Munkám célja, hogy a házi nyulakban gyakran előforduló és megbetegedést okozó *Pasteurella multocida* törzsek antibiotikum-érzékenységét felmérjem. Ennek eredménye segítséget nyújt a termelésben és kutatásban dolgozó állatorvosoknak, illetve felmérhető a humánegészségügyi kockázat is.

## 2.2 *Pasteurella multocida*

A *Pasteurellaceae* családba tartozó *Pasteurella multocida* egy Gram-negatív, coccoid pálcá alakú, fakultatív patogén baktérium. Tenyésztésükre élesztőkivonatot és vérsavót is tartalmazó véresagar a legkedvezőbb, melyen nyúlós, nyálkás, szürkésfehér telepeket alkotnak. Aerobok és fakultatív anaerobok egyaránt, így szaporodásukat nem befolyásolja az oxigén jelenléte. A szénhidrátok fermentációja alapján a *P. multocida*-nak 3 alfaja ismert: a *ssp. multocida*, *ssp. gallicida* és *ssp. septica* [4]. Az évek során számos szerológiai csoportba sorolták a baktériumot, melyekből manapság főleg a Heddleston és a Carter-féle osztályozási rendszer használatos. A Carter szerinti tipizálás 5 csoportot (A, B, C, D és E) különböztet meg a baktérium burokantigénjei alapján, mely később egy F típussal is bővült [5]. A Heddleston-féle csoportosítás alapján pedig 16 szerotípusba oszthatjuk a *P. multocida*-t a lipopoliszacharid-antigénjei alapján [6]. A csoportok közötti különbségek a fertőzés kóroktanában is megnyilvánulnak.

A *P. multocida* okozta fertőzéseket két csoportba oszthatjuk. Az elsődleges pasteurellózis során a hajlamosító tényezőkön kívül elsősorban a *P. multocida* felelős a tünetek kialakításáért. Ide tartozik többek között a baromfikolera, egyes fajok vérzéses szeptikémiája és a nyulak pasteurellózisa. Másodlagos pasteurellózisról akkor beszélünk, ha a *P. multocida* más kórokozókkal okoz megbetegedést, mint például a B típusú burokantigénnel rendelkező baktériumok okozta szeptikémia, illetve alsó légúti fertőzések esetén [7].

### 2.2.1 A *Pasteurella multocida* okozta betegségek az állatorvoslásban

A *P. multocida* széles gazdaspektrummal rendelkezik, így a haszonállatok nagy része érzékeny a fertőzésre. Az egyes törzsek különböző virulenciája miatt a fertőzött állatok klinikai tüneteinek súlyossága igen változékony. Az alábbiakban néhány haszonállat gazdaságilag jelentős *P. multocida* által okozott megbetegedését ismertetem, különös tekintettel a házinyúlra.

#### 2.2.1.1 Baromfikolera

Az egész világon előforduló baromfikolera az összes baromfifajt érinti, de különösen veszélyes pulykákra és vízi szárnyasokra. A fertőzést legtöbb esetben az A burokantigénnel rendelkező típus okozza. Az akut fertőzés gyakran tünetmentes és nagy mortalitással jár, de elhúzódó esetekben hasmenés, orrfolyás, cianózis és depresszió is megfigyelhető. Idült esetekre ízületgyulladás, ferdefejtartás és a fejtájékon megjelenő tályogok jellemzőek [8].

#### 2.2.1.2 Szarvasmarha vérzések vérfertőzése

A betegség elsősorban az Afrikai és Ázsiai kontinens fejlődő országait érinti, de korábban Észak-Amerikában is jelentettek be fertőzéseket. A vérzések vérfertőzése szarvasmarhákat és bivalyokat érinti, ezzel komoly gazdasági kárt okozva. Az akut fertőzéskor magas testhőmérséklet, felületes légzés, cianózis és gyenge pulzus figyelhető meg, ami 24 órán belüli halálhoz vezet. Ha a betegség 2-3 napig elhúzódik, tüdőgyulladás és az állat toroktájékán ödémás duzzanat jelenik meg. Krónikus fertőzés estében fájdalmas, nehezített légzés és az orrüregből való nyálkás-véres váladék ürülése tapasztalható [9].

#### 2.2.1.3 Sertés torzító orrgyulladása

A torzító orrgyulladás világszerte megtalálható az intenzív tartásban lévő sertések között, így jelentős gazdasági veszteséggel járhat a fertőzés. A betegséget a *P. multocida* és a *Bordetella bronchiseptica* baktériumok által termelt toxinok okozzák. A fertőzés korai jelei az orrvérzés, tüszögés, köhögés és orrfolyás, amit később az orrtájék csontjainak és porcainak a sorvadása követ. Ugyan nem jár az állat elpusztulásával, a torzító orrgyulladása takarmányfelvételt és az életminőséget jelentősen rontja [10].

#### 2.2.2 A házinyulak pasteurellózisa

Az emésztőszervrendszeri betegségek után a légzőszervi megbetegedések -elsősorban a pasteurellózis- jelentik a legnagyobb veszélyt a házinyulak számára. A betegséget leggyakrabban a *P. multocida* A, ritkább esetekben a D, illetve az F típus okozza, melyhez gyakran *Bordetella bronchiseptica* és *Staphylococcus aureus* fertőzés is társulhat. A fertőzés elsősorban aerogén úton, de nagyüzemi állattartásban érintkezéssel, illetve az anyaállaton keresztül terjedhet. A betegség megjelenésének arányát és a tünetek súlyosságát számos tényező befolyásolja. A túlzott zsúfoltság, a nedves, hideg levegő, magasa ammónia koncentráció és a választás utáni almok keveredése mind hozzájárulhat a kórokozó terjedéséhez. [7, 11]

A betegség már 4-5 hetes korú nyulakban megjelenhet, de komolyabb tünetek csak a későbbi életszakaszban mutatkoznak. Az enyhe fertőzés jelei a rinitisz és szinusztisz, aminek következménye az orrból folyó szerózus váladék, ami gyakran tüsszögéssel és légzési zörejrel társul. A *ductus nasolacrimalis* keresztül a fertőzés a kötőhártyáig is eljuthat, ami konjunktivitiszhez vezet. Ha a betegség a tüdőre is kiterjed az állat először nehézlégzés tüneteit mutatja, majd súlyos *bronchopneumonia* miatt elpusztul. A baktérium a véráramba kerülve a *paranasalis sinusokba* és a középfülbe is eljuthat, ahol gyulladást vált ki, melyet az állat a fej ferde tartásával jelez [11].

### 2.2.3 Gyógykezelés

A betegség tovább terjedését kiküszöbölve célszerű a fertőzött állományt minél hamarabb antibakteriális terápiában részesíteni. A *P. multocida* ellen számos antimikrobiális szer vehető igénybe, melyeket részletesen a későbbiekben ismertetek. Sikeres kezelést követően is előfordulhat, hogy néhány állat hordozóként fenntartja az állományban a fertőzést. Az effektív gyógykezelés érdekében érdemes gyógyszerérzékenységi vizsgálatot végezni. A vizsgálat segítségével leszűkíthetjük hatékony antibiotikumok listáját és minimalizáljuk az antibakteriális rezisztencia terjedését az állományban. A tüneti kezelés mellett elengedhetetlen magát a fertőzést okozó hajlamosító tényezők megszüntetése is. A Magyarországon engedélyezett, nyulak pasteurellózisának kezelésére alkalmas állatgyógyászati készítmények hatóanyagait az 1. táblázat szemlélteti.

| Hatóanyag                          | Gyógyszerforma            | Készítmények száma |
|------------------------------------|---------------------------|--------------------|
| <b>Oxitetraciklin</b>              | por ivóvízbe keveréshez   | 1                  |
| <b>Doxiciklin</b>                  | por ivóvízbe keveréshez   | 1                  |
| <b>Tilmikozin</b>                  | gyógypremix               | 4                  |
| <b>Enrofloxacin</b>                | oldatos injekció          | 1                  |
|                                    | oldat ivóvízbe keveréshez | 5                  |
| <b>Szulfadimetoxin/Trimetoprim</b> | oldat ivóvízbe keveréshez | 1                  |

1. táblázat Magyarországon engedélyezett antibakteriális szerek házi nyúl pasteurellózisra.

## 2.3 Antibakteriális hatóanyagok

### 2.3.1 Amoxicillin

Az amoxicillin az 1950-es években kifejlesztett  $\beta$ -laktám gyűrű szerkezetű penicillinekből és a belőlük származtatott ampicillinből előállított vegyület, melyet a 70-es években hoztak forgalomba, az akkor már ellenük jelentős rezisztenciát mutató szűk spektrumú penicillinek helyettesítésére [12] [13]. Az amoxicillin egy bakteriosztatikus antibiotikum, antibakteriális spektruma közepesen széles, hatását számos Gram-pozitív és pár Gram-negatív baktérium ellen képes kifejteni [14].

A  $\beta$ -laktámok és ezzel együtt az amoxicillin hatása elleni rezisztencia a penicillin kötőhelyének megváltozása, illetve a  $\beta$ -laktamáz enzim bontó hatása miatt alakulhat ki. [12] Jelenlegi kutatások szerint egy 56, illetve 80 egyedszámú baromfiállományból izolált *Pasteurella multocida* törzsek kevesebb, mint 7%-a volt rezisztens az amoxicillinnel szemben [15].

### 2.3.2 Amoxicillin-klavulánsav

Önmagában a klavulánsav gyenge antibakteriális hatással rendelkezik, elsősorban amoxicillinnel kombinálva használatos. A klavulánsav „öngyilkos inhibitor” -ként inaktíválja a baktériumok által termelt  $\beta$ -laktamáz enzimet, így az amoxicillin akadálymentesen fejtheti ki hatását. A kombináció használata növelheti az antibiotikum érzékenységet Gram-negatív amoxicillin rezisztens és  $\beta$ -laktamáz termelő Gram-pozitív baktériumok ellen [16]. Manapság a kombináció 14:1, 16:1 arányban használatos, az amoxicillin toxikus hatásainak kikerülése érdekében [13].

Az amoxicillinhez hasonlóan a *P. multocida* igen érzékeny a klavulánsavval való kombinációra. Ezt A. Freshwater (2008) kutatása is igazolja, melyben a megvizsgált 368 *P. multocida* törzsből mind a 368 érzékeny volt az amoxicillin-klavulánsav kombinációval szemben [17].

### 2.3.3 Ceftiofur

A ceftiofur a penicillinekhez hasonlóan a  $\beta$ -laktámok -és azon belül a cefalosporinok-csoportjába tartozó antibiotikum, így hatásmechanizmusuk és antibakteriális spektrumuk igen hasonló. A cefalosporinok négy generációra oszthatók fel, melyből a ceftiofur a harmadikba tartozik. A harmadik generációs cefalosporinok kifejezetten hatékonyak számos Gram-negatív baktérium ellen, de a Gram-pozitív baktériumok is érzékenyek. Az első generációval ellentétben viszont csökkent hatékonyságot mutattak *Staphylococcus* fajok ellen [18].

A ceftiofur elleni rezisztenciát a  $\beta$ -laktamáz enzim termelés okozza. Az enzim termelésének expressziójáért néhány gén felelős, melyeknek jelenlétét már 2001-ben igazolták [19]. A ceftiofur elleni rezisztenciagénekkel rendelkező baktériumok a ceftiofur mellett kisebb mértékben rezisztensek a szélesebb spektrumú cefalosporinokkal szemben [20]. Egy 1991-es kutatás szerint a *P. multocida* kifejezetten érzékeny a ceftiofurra, de a rendszeres használatuk miatt hangsúlyozzák az érzékenységfolyamatos ellenőrzését [21]. Egy újabb kutatás, mely több antibiotikumot is vizsgált kimutatta, hogy a ceftiofurra még mindig jelentősen alacsony a MIC és az MPC értéke, amely biztató a klinikai alkalmazásuk szempontjából [22].

#### 2.3.4 Cefkvinom

A cefkvinom szintén a negyedik generációs cefalosporinokhoz tartozó félszintetikus, széles spektrumú antibakteriális szer. Az újabb generációba sorolható cefalosporinok antimikrobiális spektruma szélesebb a korábbiakhoz képest, ami a baktériumok által termelt  $\beta$ -laktamáz elleni kimagasló rezisztenciájuknak köszönhető. A cefkvinom kizárólag állatorvosi felhasználásra engedélyezett hatóanyag, így leggyakrabban haszonállatok baktériumok okozta légzőszervi megbetegedéseinek gyógykezelésére alkalmazzák [23].

#### 2.3.5 Imipenem

Az imipenem a  $\beta$ -laktámok alcsoportjába, a karbapenemekhez tartozó antibiotikum, mely a gyógyászati készítményekben egy -a hatóanyag lebomlását védő enzimgátlóval-, a cilasztatinnal való kombinációban található meg. Az imipenem rendelkezik a  $\beta$ -laktám antibiotikumok közül a legszélesebb antimikrobiális spektrummal, így rendkívül fontos antibiotikumnak bizonyul a humángyógyászat számára ismeretlen eredetű baktériumok okozta fertőzések esetében. A legtöbb Gram-pozitív, aerob Gram-negatív, de szinte az összes anaerob baktérium érzékeny a hatóanyagra, ami igen széleskörű gyógykezelést tesz lehetővé. A klinikumban bakterémia, septicémia, húgyúti-, légúti-, lágyyszöveti-, és bőrfertőzések, illetve osteomyelitis esetén, valamint a nőgyógyászatban használatos. Humángyógyászati jelentősége miatt állatorvosi használata rendkívül korlátozott. [24]

### 2.3.6 Gentamicin

A gentamicin az aminoglikozidok csoportjába tartozó antibiotikum, amelyek hatásmechanizmusa a 30S riboszomális alegység gátlásán keresztül fejeződik ki, így akadályozva a transzláció pontosságát [25]. A működésükhöz elengedhetetlen az aktív elektron transzport, így anaerob baktériumok nem érzékenyek az aminoglikozidokkal szemben. Antimikrobiális spektrumuk számos Gram-negatív és néhány Gram-pozitív baktériumra kiterjed, a klinikumban elsősorban az Enterobacteriaceae családhoz tartozó kórokozók okozta fertőzések ellen használják [26].

A *P. multocida* gentamicinnel szembeni érzékenysége változó adatok állnak rendelkezésre. Egy 2006-os kutatásban 106 házinyúlból származó törzset megvizsgálva 99.1% ellen hatékony volt a gentamicin és kifejezett rezisztenciát nem tapasztaltak [27]. Egy újabb kutatás szerint azonban, mely 76 sertésből és szarvasmarhából származó *P. multocida* törzset vizsgált, ez a szám már 84.5%-ra csökkent és 15.5%-a a törzseknek rezisztens volt a gentamicinnel szemben [28].

### 2.3.7 Neomicin

A gentamicinhez hasonlóan a neomicin is az aminoglikozidok csoportjába tartozik, így hatásmechanizmusuk és antimikrobiális spektrumuk jórészt megegyezik. Egy fontos különbséget jelent azonban a *Pseudomonas aeruginosa* elleni hatékonyságuk, ugyanis míg a gentamicin alkalmazható a baktérium okozta fertőzések kezelésére, a neomicinnel szemben nem mutat érzékenységet [29].

### 2.3.8 Oxitetraciklin

Az oxitetraciklin a természetes tetraciklinek közé tartozó igen széles antimikrobiális spektrummal rendelkező bakteriosztatikus antibiotikum. Hatékonyak számos Gram-negatív, Gram-pozitív és intracelluláris kórokozó, valamint néhány protozoon ellen is egyaránt. A tetraciklinek a 30S riboszomális alegységhez kötődve gátolják a transzláció rendszerű működését [30].

Az oxitetraciklin elleni rezisztencia leggyakrabban efflux pumpa fehérjék, illetve riboszomális védő fehérjék expressziója miatt alakul ki [31]. A kedvező antimikrobiális spektrumuknak köszönhetően a tetraciklinek egy igen gyakran alkalmazott antibiotikum az állatorvoslásban. A gyakori használat miatt az utóbbi időben jelentősen növekedett a tetraciklinekkel szembeni rezisztencia. Egy 2020-as kutatás szerint a 76 vizsgált *P. multocida* izolátumok 20,7% -a volt rezisztens az oxitetraciklinnel szemben [28].

### 2.3.9 Doxiciklin

A doxiciklin az oxitetraciklin fél-szintetikus származéka, így hatásmechanizmusuk és antimikrobiális spektrumuk igen hasonló [32]. A legnagyobb különbség a természetes és a fél-szintetikus tetraciklinek között az antimikrobiális aktivitásuk mértéke. A második generációs tetraciklineknek a nagyobb lipofilitásukból adódóan kedvezőbb farmakokinetikai tulajdonságokkal rendelkeznek [33].

Egy 2019-es Spanyolországban és Portugáliában végzett kutatás eredményei szerint a doxiciklin alkalmas klinikai használatra, mivel a vizsgált *P. multocida* törzsek kevesebb, mint 25%-a rezisztens a doxiciklinnel szemben. Emellett a doxiciklin vizsgált MIC<sub>50</sub> értéke az EUCAST által meghatározott érzékeny kategóriába esik (EUCAST, 2022) [34].

### 2.3.10 Tilozin

A makrolid antibiotikumok csoportjába tartozó tilozin az 50S riboszomális alegységhez kötődve gátolja a fehérjeszintézist [35]. Antimikrobiális spektruma igen széles, hatékonyan lehet alkalmazni számos Gram-pozitív, Gram-negatív baktérium, illetve kifejezetten hatékony *Mycoplasma*, *Chlamydia* és *Haemophilus* fajok okozta fertőzések kezelésére. [36]

A *P. multocida* tilozinra való érzékenységet számos kutatás vizsgálta, amelyek a teljes rezisztenciát igazolták a tilozinnal szemben [21, 37].

### 2.3.11 Tilmikozin

A tilmikozin a makrolidok csoportjába tartozó, tilozinból származtatott félszintetikus antibakteriális szer. A tilmikozint kizárólag állatorvosi használatra engedélyezték, elsősorban háziállatok légúti megbetegedéseinek kezelésére. Antibakteriális spektrumába tartozik számos Gram-pozitív, néhány Gram-negatív baktérium, mint a *Fusobacterium necrophorum*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* és *Mannheimia haemolytica* [38].

1996-ban egy pasteurellózisban szenvedő új-zélandi nyúl populáción vizsgálták a tilmikozin hatékonyságát, mely szerint a nyulak 93%-ban sikeres volt a gyógykezelés [39]. Egy újabb, 130 sertés eredetű *P. multocida* törzset vizsgáló kutatás kimutatta, hogy több, mint 90%-a a vizsgált izolátumoknak érzékenységet mutatott a tilmikozinnal szemben [40].

### 2.3.12 Tilvalozin

A tilvalozin szintén egy kizárólag állatgyógyászatban használt félszintetikus makrolid antibiotikum, melyet Európában elsősorban a sertésállományokat érintő *Lawsonia intracellularis* okozta proliferatív enteropátia és a *Brachyspira hyodysenteriae* okozta sertésdizentéria orális kezelésére engedélyeztek. A tilvalozint érintő érzékenységi vizsgálatok hiányában a hatóanyag elleni rezisztencia nehezen behatárolható, de több kutatás eredménye szerint a tilozin ellen mért magas MIC-érték utalhat a tilvalozinnal szembeni csökkent érzékenységre [41].

### 2.3.13 Tulatromicin

A makrolidok alcsoportjához, a triamilidekhez tartozó tulatromicin sok szempontból megegyezik az eddig említett makrolid antibiotikumokkal. 2005-ben engedélyezték használatát, elsősorban szarvasmarhák és sertések légúti megbetegedésének kezelésében, de az FDA *Fusobacterium necrophorum* által okozott interdigitális necrobacillózis és *Moraxella bovis* okozta fertőző keratokonjunktivitisz gyógykezelésére is előírja [42].

Az eddigi kutatások alapján a tulatromicinnel szembeni rezisztencia a *P. multocida* törzsek körében a mai napig igen minimális. 2013-ig bezárólag világszerte összesen 2 rezisztens törzset izoláltak, egyet 2004-ben Németországban, a másikat 2005-ben Nebraskában [42, 43]. Egy 2016-tól 2020-ig tartó antibiotikum-érzékenységi vizsgálat során a közel 900 vizsgált *P. multocida* izolátum több, mint 95%-a volt érzékeny a tulatromicinnel szemben [44].

### 2.3.14 Linkomicin

A linkóزامidok csoportjába tartozó linkomicin hatásmechanizmusa hasonlít a korábban említett makrolidokéhoz, vagyis az 50S riboszomális alegységben a peptidil-transzferáz enzim működésének gátlásával gátolják a fehérjeszintézist. Alapvetően bakteriosztatikus antibiotikumok, viszont nagy koncentrációban baktericid hatást is kifejthetnek. A legtöbb Gram-negatív baktérium rezisztens a linkomicinre, így az antimikrobiális spektruma főleg a Gram-pozitív és néhány Gram-negatív anaerob baktériumfajra terjed ki. kifejezetten hatékonynak bizonyult dermatológiai tüneteket okozó baktériumok ellen, így ezen a területen gyakran alkalmazzák a klinikumban [45].

Kutatások szerint a linkomicin már nem használható megfelelően a *P. multocida* okozta fertőzések kezelésére, hiszen több kutatásban is magas volt a rezisztens izolátumok aránya. Egy 2009-es kínai kutatásban vizsgált 233 sertés eredetű *P. multocida* törzsek 96,6%-a mutatott rezisztenciát alinkomicinnel szemben [46]. Egy későbbi kutatás eredménye szerint, amely két állatfajból származó *P. multocida* izolátumok linkomicinnel szembeni érzékenységét vizsgálta, a sertés eredetű izolátumok 94,4%-a, míg a szarvasmarha eredetű izolátumok mindegyike rezisztens volt a linkomicinnel szemben [28].

#### 2.3.15 Tiamulin

A tiamulin a pleuromutilinek csoportjába tartozó antibiotikum, melyek a természetben előforduló diterpenoid pleuromutilin fél-szintetikus származékai. Antibakteriális hatásukat a fehérjeszintézis gátlásával fejtik ki, melynek a hatásmechanizmusa hasonlít a fentebb tárgyalt makrolidokéra és linkóزامidokéra. A pleuromutilineket elsősorban a légúti, illetve gastrointesztinális fertőzések kezelésére fejlesztették ki. Antibakteriális spektrumukba tartozik a legtöbb Gram-pozitív és tápigényes Gram-negatív baktérium, illetve hatékonyak bizonyultak *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Chlamydia* és *Brachyspira* fajokkal szemben [47].

A pleuromutilinek hatásuk során egyedi receptorhoz kötődnek, így kevésbé valószínű a rezisztencia, illetve más fehérjeszintézis gátló antibiotikumokkal való keresztrezisztencia kialakulása.[47] Ennek ellenére több kutatás is igazolta a *P. multocida* törzsek tiamulin rezisztenciáját. Két 2020-as spanyolországi antimikrobiális érzékenységi vizsgálat eredményei szerint a tiamulin csak közepes mértékben volt hatékony a *P. multocida* izolátumokkal szemben. Az egyik szerint a minták mindössze 60%-a volt érzékeny a hatóanyagra, míg a másikban a vizsgált izolátumok 25%-a teljes rezisztenciát mutatott [40, 48].

#### 2.3.16 Florfenikol

A florfenikol a fenikolok közé tartozó, széles spektrumú, bakteriosztatikus hatóanyag, amely hatását szintén a fehérjeszintézis gátlásán keresztül fejt ki. A klinikumban Gram-negatív, Gram-pozitív, aerob és anaerob baktériumok ellen használják, különös tekintettel a *Chlamydia*, *Rickettsia* és *Mycoplasma* fajokra [49].

Egy több élelmiszertermelő állatfajra kiterjedő kutatás, mely a *P. multocida* egyes antibiotikumokkal szembeni érzékenységét vizsgálta 2012 és 2017 között, kimutatta, hogy a vizsgált több, mint 5000 *P. multocida* törzs szinte 0%-a mutatott rezisztenciát a florfenikollal szemben [50]. Ennek ellenére a 2007-es évig bezárólag sertésből és szarvasmarhából származó *P. multocida* mintákat vizsgálva több kutatás is igazolta a floR, plazmid által közvetített florfenikol rezisztencia gén létezését. Az ezzel a génnel rendelkező baktériumok florfenikolra nézett MIC-értékei 8, 16, valamint 32 µg/ml voltak, ami a CLSI által meghatározott határértékek szerint már rezisztensnek tekinthető [51].

#### 2.3.17 Kolisztin

A polipeptidekhez, azon belül is a polimixinek csoportjába tartozó kolisztin (más néven polimixin E) egy igen szűk antimikrobiális spektrummal rendelkező antibiotikum. Rendkívül gyors, baktericid hatásukat a Gram-negatív baktériumok sejtfalának károsításával érik el. Toxicitása miatt az utóbbi időben kiszorult a használatból, de az MDR baktériumok széles körű elterjedése miatt utolsó lehetőségként alkalmazzák kimagasló rezisztenciát mutató *Pseudomonas aeruginosa* és az *Enterobacteriaceae* családba tartozó baktériumok ellen [52].

#### 2.3.18 Vankomicin

A kolisztinhez hasonlóan peptid típusú vankomicin a glükopeptidek alcsoportjába tartozó baktericid antibiotikum. Antibakteriális spektruma igen szűk, kizárólag aerob Gram-pozitív coccus-ok ellen hatásos, ezen belül is elsősorban az MRSA és *Enterococcus* okozta fertőzések ellen, de *Clostridium difficile* okozta colitis ellen is alkalmazzák. 1986-ban azonban már íródtak publikációk vankomicin rezisztens *Staphylococcus aureus* törzsek létezéséről. Hatásukat a baktériumok sejtfalában történő peptidoglikán-szintézis akadályozásával fejtik ki [53].

#### 2.3.19 Enrofloxacin

A fluorokinolonokhoz tartozó enrofloxacin egy széles spektrumú koncentrációfüggő baktericid hatásmóddal rendelkező hatóanyag. Nagy mértékű lipofilitása miatt igen kedvező farmakokinetikai tulajdonságokkal rendelkezik, így gyorsan képes felszívódni és a megoszlása is kiváló. Hatásmechanizmusát a topoizomeráz-II enzim gátlásán keresztül fejtik ki, aminek köszönhetően a baktériumok DNS replikációja zavart szenved és elpusztulnak. Antibakteriális spektrumuk széles, alkalmazzák számos Gram-pozitív, Gram-negatív és intracelluláris kórokozó baktériumfaj okozta fertőzés kezelésére [54].

Az enrofloxacin alkalmas a *P. multocida* okozta fertőzések kezelésére, ezt számos kutatás igazolja, melyekben az enrofloxacinnal szemben rezisztens izolátumok aránya kicsi. Egy 2019-es több antibakteriális szerrel szembeni rezisztenciát vizsgáló kutatás szerint az enrofloxacin bizonyult a leghatékonyabbnak a *P. multocida* izolátumokkal szemben [37]. Hasonló eredmény született 2020-ban, ugyanis a 76 vizsgált izolátumnak csak 3,4%-a volt rezisztens az enrofloxacinnal szemben [55].

#### 2.3.20 Potenciált szulfonamidok

A szulfonamidok már az 1930-as évek óta használatban lévő antibakteriális szerek, amelyeket 1968 óta már leggyakrabban trimetoprimmel való kombinációban alkalmaznak a klinikumban. A kombináció hatékonysága azon alapszik, hogy mindkét hatóanyag, eltérő ponton gátolja a baktériumok folsav szintézisét [56]. Antimikrobiális spektrumuk széles, elsősorban a húgyúti fertőzést okozó *Escherichia coli*, de egyéb Enterobacteriaceae családba tartozó baktérium, mint például a *Shigella spp.* is beletartozik [57].

A *P. multocida* potenciált szulfonamidokra való érzékenysége az antibiotikumok használatának kezdetétől bizonyítottan növekedett. Spanyolországi vágóhidakról, ugyanazon területekről származó sertések mintáit vizsgálva, 16 év alatt (1988 és 2004 között) közel 40%-kal emelkedett a rezisztens törzsek aránya a trimetoprim/sulfametoxazollal szemben [58].

### 3. CÉLKITÚZÉSEK

Kutatásom célja, hogy a jelenleg egyik legnagyobb köz- és állategészségügyi problémát jelentő antimikrobiális rezisztencia helyzetét a mikrohígításos módszer segítségével meghatározott minimális gátló koncentrációk értékével felmérjem a minor élelmiszertermelő állatfajként számontartott hazai nagyüzemi rendszerben tartott házi nyúl állományban a 2019-2022-es évre vonatkoztatva. Ennek modelljeként az egyik legnagyobb gazdasági kártétellel rendelkező *Pasteurella multocida* baktériumfajt választottam, amelynek bár közegészségügyi jelentősége csekélyebb az *E. coli*, illetve *Staphylococcus aureus* baktériumfajokéhoz, de nem elhanyagolható és gyakori előfordulásával jól jellemezhető a házi nyulak mikrobiomjának feltételezhető antibiotikum-érzékenységi profilja fenotípusosan.

## 4. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 4.1 A felhasznált baktérium izolátumok

A szintenyészetben -80 °C-ra lefagyasztott és tárolt *P. multocida* izolátumokat magyarországi nyúlállományokból izoláltak az Állatorvostudományi Egyetem Patológiai Tanszékén, majd a faj szintű azonosítást követően átadásra kerültek az Állatorvostudományi Egyetem Gyógyszertani és Méregtani Tanszékére, ahol az antibiotikum-érzékenység fenotípusos vizsgálatát mikrohígítási módszerrel végeztem el a következő antibakteriális szerekre nézve: amoxicillin, amoxicillin-klavulánsav, ceftiofur, cefkvinom, imipenem, neomicin, gentamicin, oxitettraciklin, doxiciklin, tilozin, tilvalozin, tilmikozin, tulatromicin, linkomicin, tiamulin, florfenikol, enrofloxacin, kolisztin, trimetoprim-szulfametoxazol és vankomicin.

### 4.2 A baktériumszuszpenziók elkészítése

A baktériumokat a -80°C-on történő tárolást követően Müller-Hinton (MH) táplevesben, 24 órán keresztül inkubáltam, 37 °C-on. Az inkubációs időt követően 3000 G-n 10 percig centrifugáltam. Ezután lemostam a baktériumokat steril fiziológiai sóoldattal, majd ismét centrifugáltam (3000G, 10 perc), majd reszuszpendáltam fiziológiai sóoldatban. A baktériumszuszpenzióknál az optikai denzitást 0,1-re állítottam be, adott mennyiségű fiziológiai sóoldattal, 600nm-nél ( $OD_{600}=0,1$ ). Ez az érték  $10^8$  TFE/ml baktériumsűrűséget jelent. A  $10^8$  TFE/ml baktériumsűrűség a MacFarland skála 0,5-es értékének felel meg. Majd ezeket a *P. multocida* szuszpenziókat alkalmaztam a mikrohígítási módszer további lépéseinél.

### 4.3 Törzsoldatok elkészítése

A vizsgálathoz szükséges hatóanyagok törzsoldatait a felhasználás idejéig -80 °C-on tároltam, majd belőlük készítettem el a vizsgálatokhoz szükséges koncentrációjú antibiotikum oldatokat. A kiindulási törzsoldatok 1024 µg/ml-es koncentrációban tartalmazzák a hatóanyagot, melyeket a vizsgált antibiotikumtól függően 8, 16, 32, 64, vagy 256 µg/ml-es koncentrációra hígítottam, így később ezek voltak a kiindulási koncentrációk, amelyet hatóanyagoként a 2. táblázatban mutatok be.

### 4.4 Minimális gátló koncentrációk meghatározása mikrohígítási módszerrel

A MIC meghatározásához 96 lyukú microplate-t használtam, melynek az oszlopai a hatóanyagot és a pozitív, illetve negatív kontrollt, a sorai pedig a vizsgált izolátumokból egyet-egyet tartalmazzák.

Az elkészített hatóanyag törzsoldatokat a microplate-re vittem át úgy, hogy az első oszlopba 180 µl törzsoldatot pipettáztam, a többi oszlopot pedig 90 µl MH levessel töltöttem fel. Ezután nyolc csatornás pipetta segítségével az első oszloptól kezdve a 10. oszlopig 2-es alapú hígítási sort készítettem. Az utolsó két oszlop pozitív és negatív kontrollként szolgált: az előbbibe kizárólag Mueller-Hinton levest (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország), az utóbbiba a később elkészített baktérium szuszpenzió került.

| <b>Hatóanyag<br/>koncentráció</b>                                           | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>5</b> | <b>6</b> | <b>7</b> | <b>8</b> | <b>9</b> | <b>10</b> |
|-----------------------------------------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| <b>CEFT, CEFQ, ENR<br/>(8 µg/ml)</b>                                        | 8        | 4        | 2        | 1        | 0,5      | 0,25     | 0,125    | 0,06     | 0,03     | 0,015     |
| <b>OTC, TILM, TUL, KOL<br/>(16 µg/ml)</b>                                   | 16       | 8        | 4        | 2        | 1        | 0,5      | 0,25     | 0,125    | 0,06     | 0,03      |
| <b>AM, AMKL, IMI, GEN,<br/>NEO, DOX, TILV, LIN,<br/>FLO, PSA (32 µg/ml)</b> | 32       | 16       | 8        | 4        | 2        | 1        | 0,5      | 0,25     | 0,125    | 0,06      |
| <b>TILO, TIA (64 µg/ml)</b>                                                 | 64       | 32       | 16       | 8        | 4        | 2        | 1        | 0,5      | 0,25     | 0,125     |
| <b>VAN (256 µg/ml)</b>                                                      | 256      | 128      | 64       | 32       | 16       | 8        | 4        | 2        | 1        | 0,5       |

2. táblázat A hatóanyagok kiindulási koncentrációi és a belőlük készített 2-es alapú hígítási sor µg/ml-ben kifejezve.

Egy másik microplate-en a baktérium izolátumokból 25-szörös hígítást készítettem 240 µl leves és 10 µl tömény baktérium szuszpenzió összekeverésével. Az így kapott szuszpenziót az antibiotikumot tartalmazó microplate-ekre oltottam a pozitív kontroll oszloptól kezdve a növekvő hatóanyag koncentráció irányába. Az elkészült microplate-eket 18-24 órán keresztül 37 °C-on, termosztátban inkubáltam.

#### 4.5 A minimális gátló koncentrációk leolvasása

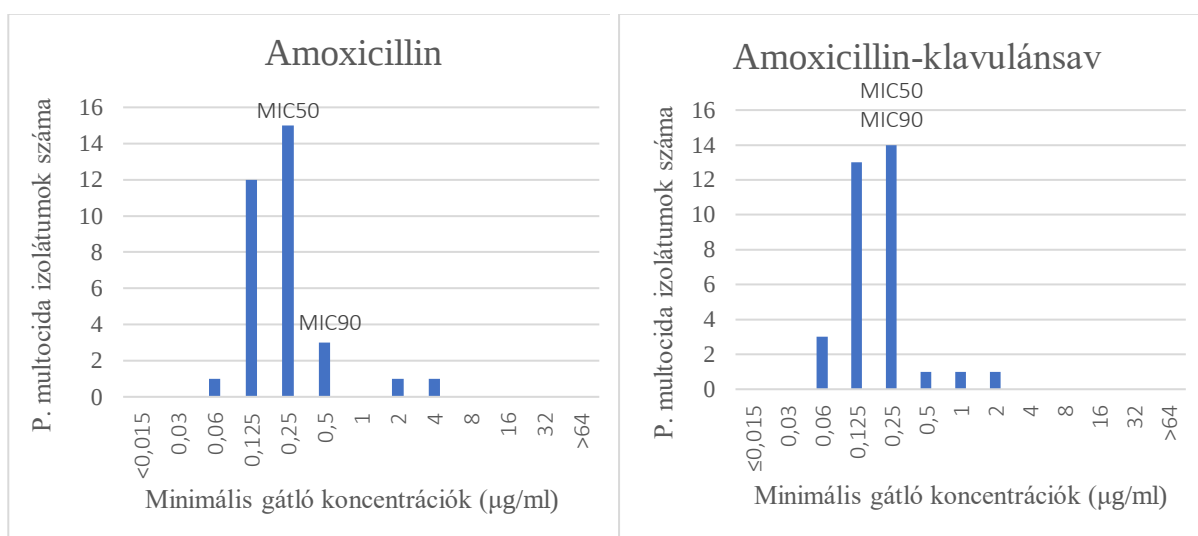
A MIC azt a legkisebb antibiotikum koncentrációt jelenti, ami már képes gátolni a baktériumok szaporodását. A baktériumok szaporodása szabad szemmel látható zavarosodást okoz, így a MIC-értéket úgy határoztam meg, hogy megkerestem azt a koncentrációt, ahol ez már nem volt észlelhető a tápoldatban. A kapott gátló koncentrációk segítségével továbbá meghatároztam a baktérium izolátumok MIC<sub>50</sub>- és MIC<sub>90</sub>-értékeit, azaz a bizonyos baktérium populációban megjelenő MIC-értékek megjelenésének 50- és 90%-os valószínűségét. Az eredmények segítségével a CLSI, illetve EUCAST által szolgáltatott határértékek tükrében az izolátumokat rezisztens, mérsékelten érzékeny és érzékeny kategóriába soroltam.

## 5. EREDMÉNYEK

A 33 db *P. multocida*-izolátum minimális gátló koncentrációinak megoszlását, valamint az ebből számolt MIC<sub>50</sub>, illetve MIC<sub>90</sub> értékeket antibiotikum csoportok szerint lebontva mutatom be.

### 5.1 $\beta$ -laktám antibiotikumok

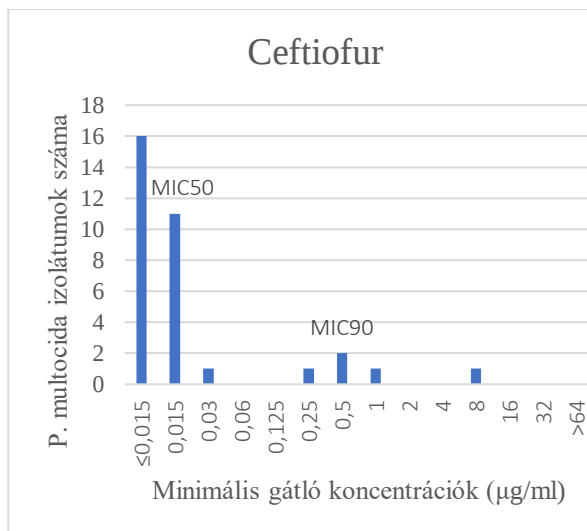
Az általunk vizsgált antibakteriális szerek közül az amoxicillin, amoxicillin-klavulánsav, ceftiofur, cefkvinom és az imipenem tartoznak ebbe a hatóanyagcsoportba. A vizsgált penicillin antibiotikumok közül az amoxicillinnél és a klavulánsavval való kombinációjánál is azonos 0,25  $\mu\text{g/ml}$ -es MIC<sub>50</sub> értéket határoztam meg. Elterést tapasztalható a MIC<sub>90</sub> értékeik között, ugyanis az amoxicillin esetében 0,5  $\mu\text{g/ml}$ , míg az amoxicillin-klavulánsavnál 0,25  $\mu\text{g/ml}$ -es értéket volt.



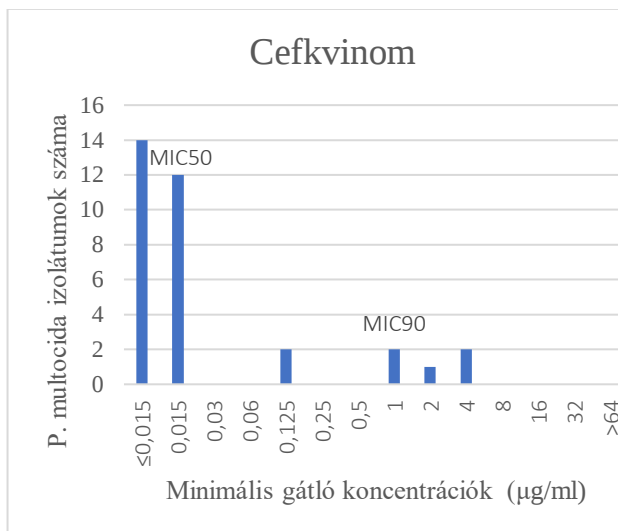
2. ábra Az amoxicillin MIC-értékeinek eloszlása.

3. ábra Az amoxicillin-klavulánsav MIC-értékeinek eloszlása.

A cefalosporinok csoportjába tartozó ceftiofur és cefkvinom esetében is megegyezettek a MIC<sub>50</sub> értékeik, mivel ez mindkét esetben 0,015 µg/ml volt. A harmadik generációs ceftiofurnál 0,5 µg/ml-es, a negyedik generációs cefkvinomnál pedig 1 µg/ml-es MIC<sub>90</sub> értéket számítottam.

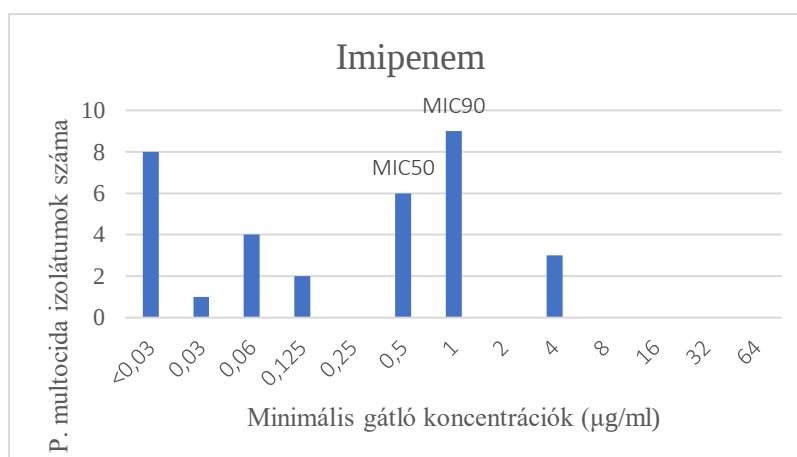


4. ábra A ceftiofur MIC-értékeinek eloszlása.



5. ábra A cefkvinom MIC-értékeinek eloszlása.

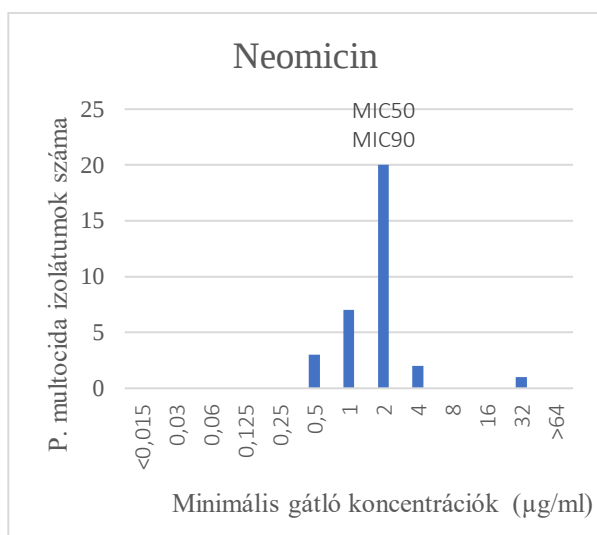
A β-laktámok alcsoportja, vagyis a karbapenemek közé tartozó imipenem esetében többnyire alacsony minimális gátló koncentrációkat határoztam meg. Három 4 µg/ml-es MIC-értékkel rendelkező izolátum kivételével, mindegyik esetben 1 µg/ml-es vagy annál kisebb koncentrációt határoztam meg. Ezek alapján a *P. multocida* izolátumok MIC<sub>50</sub> értéke 0,5 µg/ml, míg MIC<sub>90</sub> értéke 1 µg/ml volt imipenemre nézve. A β-laktámoknál mért MIC értékek eloszlását a 2-6. ábrák szemléltetik.



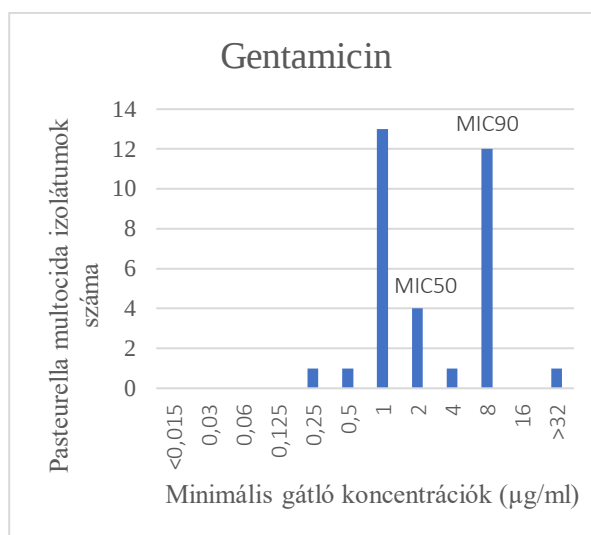
6. ábra Az imipenem MIC-értékeinek eloszlása.

## 5.2 Aminoglikozidok

A két vizsgált aminoglikozid csoportba tartozó antibakteriális, szer a neomicin és a gentamicin esetében is azonos, 2 µg/ml-es MIC<sub>50</sub> értéket határoztam meg. A két hatóanyag közötti különbség a MIC<sub>90</sub> értékekben volt, mivel a neomicinnél 2 µg/ml, míg a gentamicin esetében nagyobb, 8 µg/ml volt az eredmény. Mindkét antibiotikum esetében a vizsgált *P. multocida* izolátumok egyike kiemelkedően nagy volt a MIC-érték, a neomicin esetében ez 32 µg/ml, a gentamicin esetében pedig >32 µg/ml. Az aminoglikozidoknál márt MIC-értékek eloszlását a 7. és a 8. ábra mutatja be.



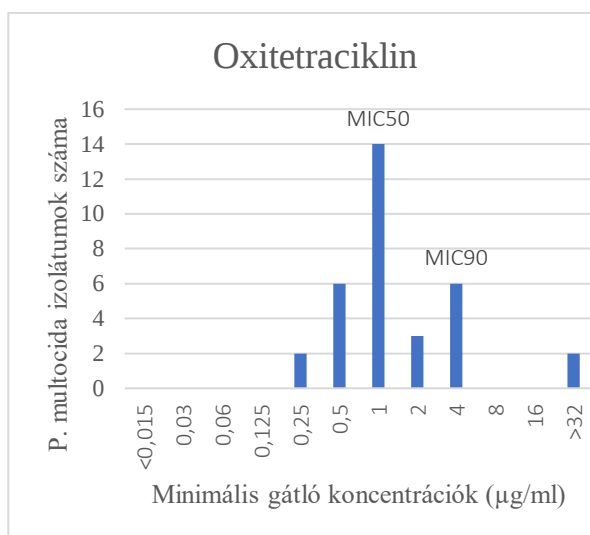
7. ábra A neomicin MIC-értékeinek eloszlása.



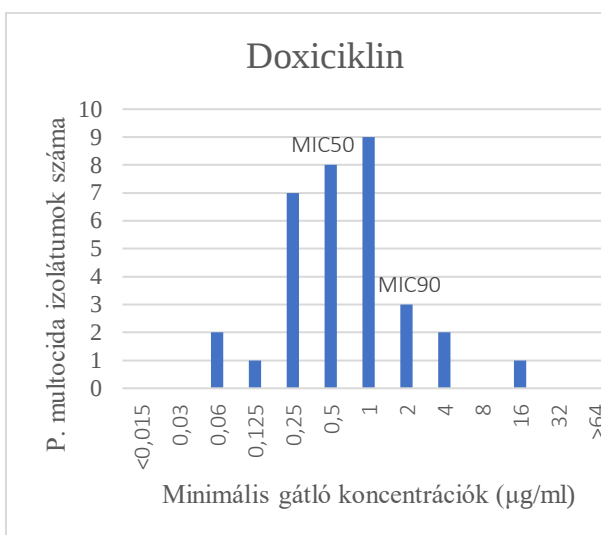
8. ábra A gentamicin MIC-értékeinek eloszlása.

### 5.3 Tetraciklinek

Az oxitetraciklin esetében a *P. multocida* izolátumok MIC<sub>50</sub> értéke 1 µg/ml volt, míg a MIC<sub>90</sub> értéke 4 µg/ml volt. Az újabb, félszintetikus tetraciklinnél, vagyis a doxiciklinnél az oxitetraciklinhez képest a MIC<sub>50</sub> és MIC<sub>90</sub> értéket számítottam, így a MIC<sub>50</sub> 0,5 µg/ml, a MIC<sub>90</sub> pedig 2 µg/ml volt. Volt egy *P. multocida* izolátum, amely mindkét tetraciklinnel szemben kimagasló értéket mutatott, így az oxitetraciklin esetében >32 µg/ml, a doxiciklin szemben pedig 16 µg/ml volt a MIC-értéke. A tetraciklineknél mért MIC-értékek eloszlásai a 9. és a 10. ábrán láthatóak.



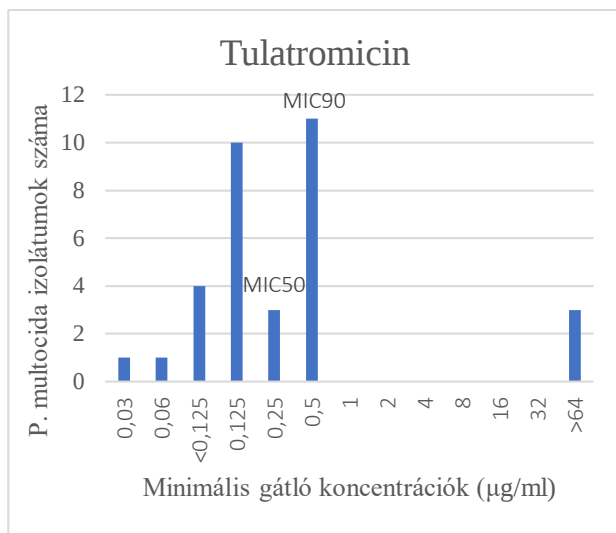
9. ábra Az oxitetraciklin MIC-értékeinek eloszlása.



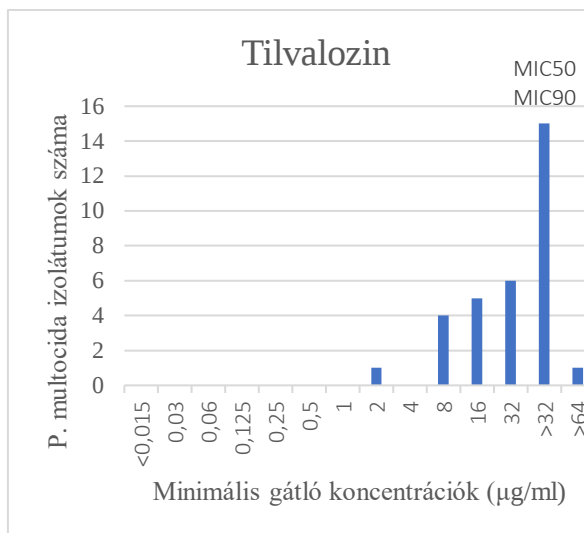
10. ábra A doxiciklin MIC-értékeinek eloszlása.

### 5.4 Makrolid antibiotikumok

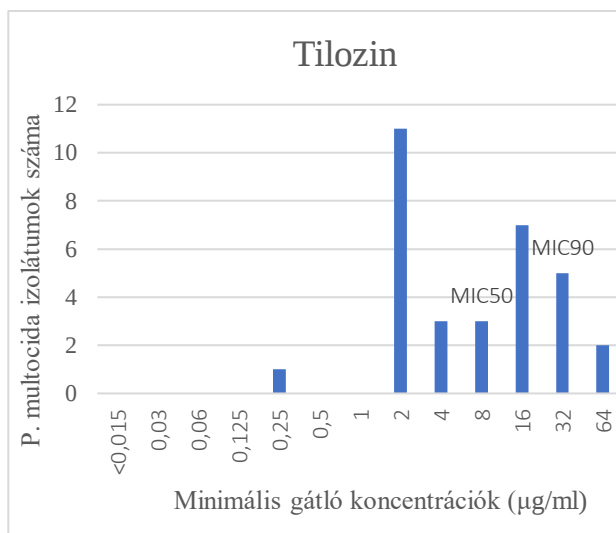
A négy vizsgált makrolid antibiotikum esetében változó eredmények kaptam. A tularomicinnel szembeni MIC-értékek négy izolátumot leszámítva -melyeknél > 64 µg/ml-nek mértem a minimális gátló koncentrációt- nagyrészt alacsony értékeket mértem. Így a tularomicin MIC<sub>50</sub> értéke 0,25 µg/ml, a MIC<sub>90</sub> értéke pedig 0,5 µg/ml volt. A legnagyobb értékeket a tilvalozinnal szemben mértem, mivel a vizsgált izolátumok közel 50%-a nagyobb, mint 32 µg/ml-es MIC-értékkal rendelkezett, ami így megegyezett a MIC<sub>50</sub> és MIC<sub>90</sub> eredményekkel. Hasonlóan nagy értékeket tapasztaltam a tilozin esetében is, amelynek a MIC<sub>50</sub> 8 µg/ml, a MIC<sub>90</sub> értékét 32 µg/ml-nek határoztam meg. Az utolsó vizsgált makrolid antibiotikum, a tilmikozin kisebb, 0,5 µg/ml-es MIC<sub>50</sub> és viszonylag nagy, 8 µg/ml-es MIC<sub>90</sub> értéket számítottam ki. A makrolid antibiotikumok esetében mért MIC-értékek eloszlásait a 11-14. ábrák mutatják be.



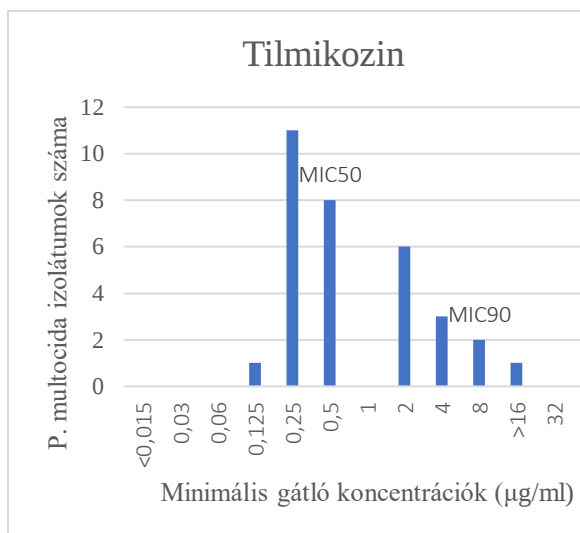
11. ábra A tulatromicin MIC-értékeinek eloszlása.



12. ábra A tilvalozin MIC-értékeinek eloszlása.



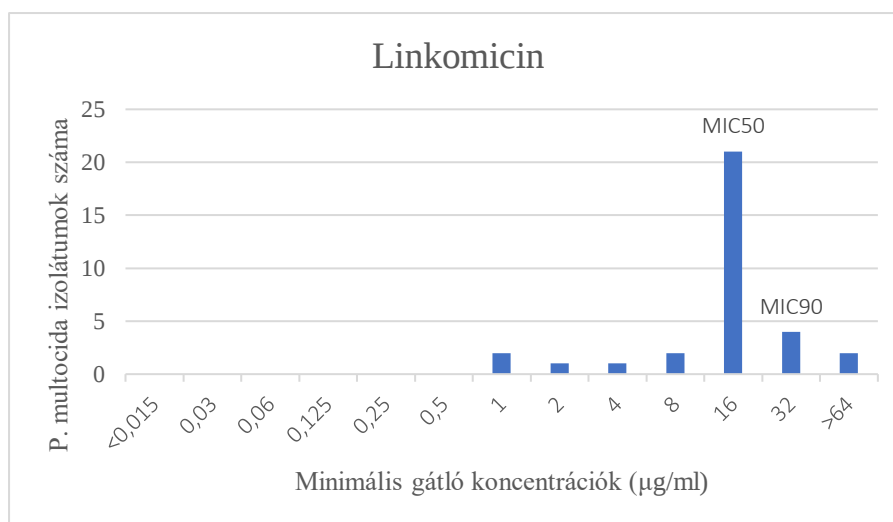
13. ábra A tilozin MIC-értékeinek eloszlása.



14. ábra A tilmikozin MIC-értékeinek eloszlása.

## 5.5 Linkóزامidok

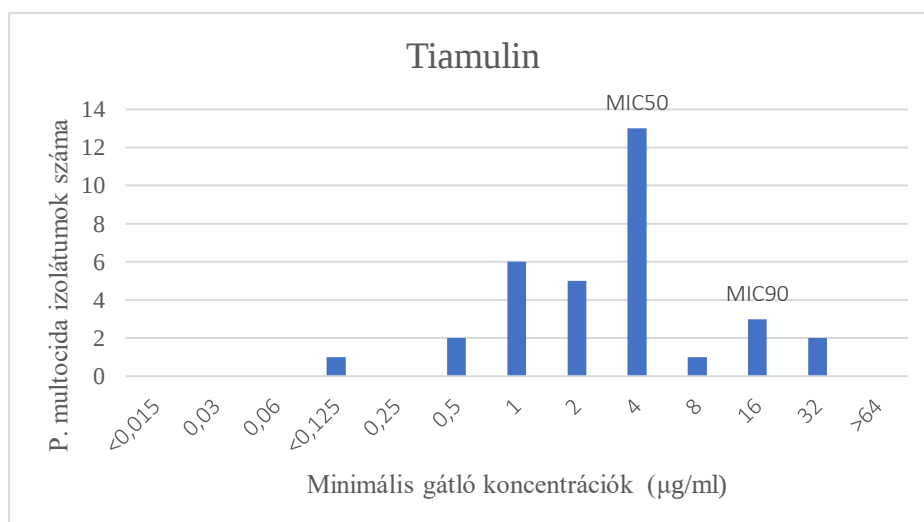
A vizsgált antibakteriális szerek közül a linkomicin tartozik ebbe a hatóanyagcsoportba. A 33 db *P. multocida* izolátum több, mint 63%-a elérte a 16 µg/ml-es gátló koncentrációt, de volt több izolátum, amely a 32 µg/ml és kettő, ami kimagasló, 64 µg/ml feletti MIC-értékkel rendelkezett. Az eloszlás alapján így a MIC<sub>50</sub> értéket 16 µg/ml, míg a MIC<sub>90</sub> értékét 32 µg/ml-nek határoztam meg. A linkomicinnél mért MIC-értékek eloszlását a 15. ábra szemlélteti.



15. ábra A linkomicin MIC-értékeinek eloszlása.

## 5.6 Pleuromutilinek

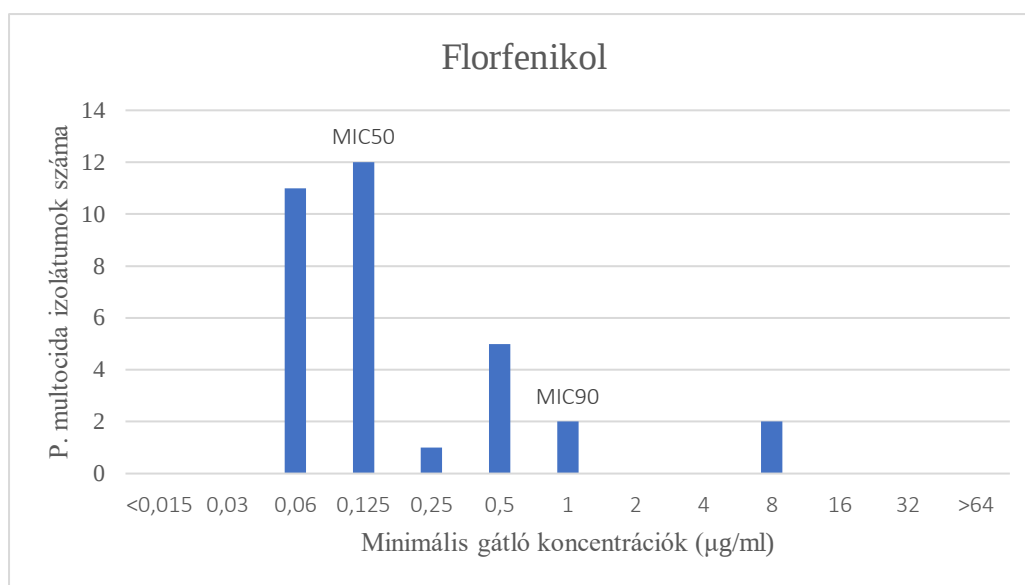
Az általam vizsgált pleuromutilin típusú antibiotikum a tiamulin volt. Az izolátumok nagy részét 4 µg/ml-es koncentrációban volt képes gátlani, ami megfelel a számított MIC<sub>50</sub> értéknek. Két izolátum kivételével, amelyeknél 32 µg/ml-es gátló koncentrációt mértem, az izolátumok többsége 16 µg/ml-es MIC-érték alá esett, így a tiamulinra számított MIC<sub>90</sub> érték 16 µg/ml volt a *P. multocida* izolátumok esetében. A tiamulinnál mért MIC-értékek a 16. ábrán láthatóak.



16. ábra A tiamulin MIC-értékeinek eloszlása.

## 5.7 Fenikolok

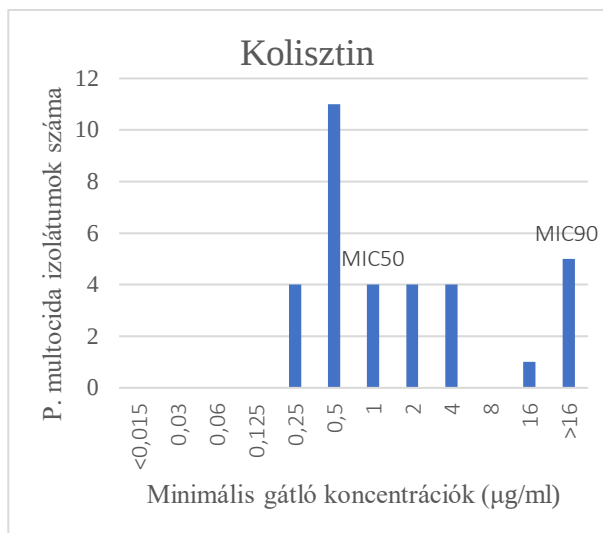
A florfenikol esetében a minimális gátló koncentrációk két izolátumot kivételével - amelyeknek 8 µg/ml-nek mértem a MIC-értékét- mind az 1 µg/ml-es koncentrációt, vagy annál kisebb értékeket mutattak. Ennek alapján a florfenikol MIC<sub>90</sub> értékét 1 µg/ml-nek számoltam. Az izolátumok jelentős része ellen viszont már 0,125 µg/ml florfenikol is hatékony volt, ami megegyezik az antibiotikum MIC<sub>50</sub> értékével a *P. multocida* izolátumok esetében. A florfenikol esetében mért MIC-értékek a 17. ábrán láthatóak.



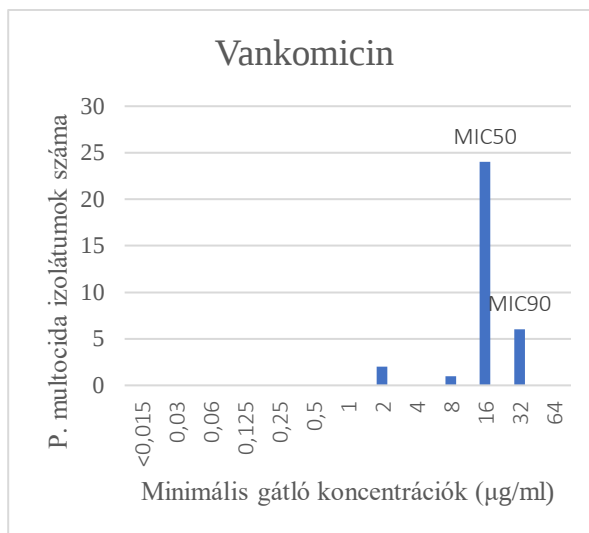
17. ábra A florfenikol MIC-értékeinek eloszlása.

## 5.8 Peptid antibiotikumok

A peptid antibiotikumok csoportján belül két alcsoport hatóanyagait vizsgáltam. A polipeptid antibiotikumok közé tartozó kolisztin esetében széles határok között változtak a mért minimális gátló koncentrációk. Az izolátumok szinte 20%-a elérte, vagy meghaladta a 16 µg/ml-es koncentrációt, ennek megfelelően a MIC<sub>90</sub> értéket >16 µg/ml-nek határoztam meg. A *P. multocida* izolátumok 50%-a viszont 1 µg/ml, vagy annál kisebb koncentráción gátlódott, így a kolisztin MIC<sub>50</sub> értéke ennek megfelelően 1 µg/ml. A glükopeptid típusú vankomicin esetében viszont rendkívül magas adatokat mértem. A 33 db *P. multocida* izolátum többségénél 16 µg/ml-es MIC értéket kaptam. Ezen felül a leggyakoribb minimális gátló koncentráció a 32 µg/ml volt, aminek megfelelően a MIC<sub>50</sub> értéként 16 µg/ml-t, a MIC<sub>90</sub> értéként pedig 32 µg/ml-t számoltam ki. A kolisztinnál és a vankomicinnél mért MIC-értékek eloszlásai a 18. és a 19. ábrán láthatóak.



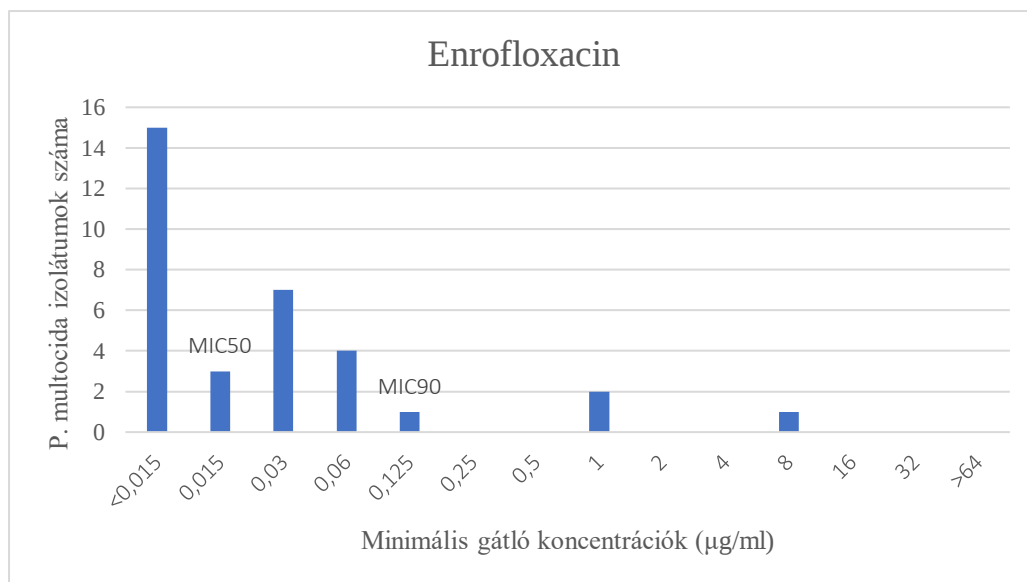
18. ábra A kolisztin MIC-értékeinek eloszlása



19. ábra A vankomicin MIC-értékeinek eloszlása

## 5.9 Fluorokinolonok

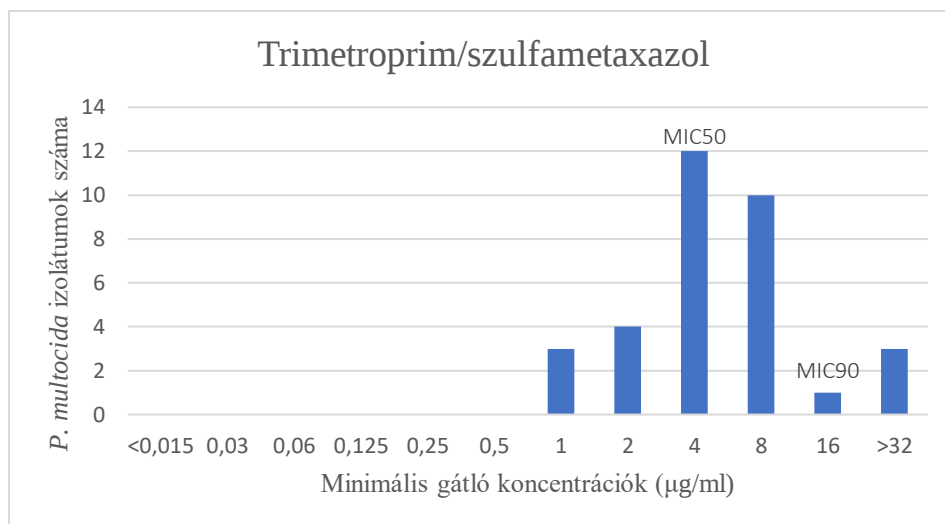
Kutatásom során ebből a hatóanyagcsoportból kizárólag az enrofloxacin-t vizsgáltam. A második generációs fluorokinolon esetében a *P. multocida* izolátumok jelentős részénél igen kicsi, >0,015 µg/ml minimális gátló koncentrációt mértem, így a MIC<sub>50</sub> értékét 0,015-nek határozam meg. Egyetlen 8 µg/ml-es koncentrációt elérő izolátumtól eltekintve a többség MIC-értéke 0,125 µg/ml-nél kisebb maradt, ami a MIC<sub>90</sub> értéknek felel meg. Az enrofloxacin MIC-értékeit a 20. ábra szemlélteti.



20. ábra Az enrofloxacin MIC-értékeinek eloszlása

### 5.10 Potenciált szulfonamidok

Az általam vizsgált egyedüli potenciált szulfonamid a trimetoprim/sulfametoxazol kombináció volt, amivel szemben az izolátumok többsége 4 µg/ml-es minimális gátló koncentrációt mutatott, illetve a MIC<sub>50</sub> értéknek is ezt határoztam meg. Néhány izolátum esetében azonban nagyobb, 16-32 µg/ml-es MIC adatokat mértem, aminek eredményeként a MIC<sub>90</sub> értéket 16 µg/ml-nek számoltam ki. A trimetoprim/sulfametoxazol MIC-értékeinek eloszlásait a 21. ábrán tüntettem fel.



21. ábra A trimetoprim/sulfametoxazol MIC-értékeinek eloszlása

## 6. MEGBESZÉLÉS ÉS KÖVETKEZTETÉS

A klinikai esetekből izolált, nyúl eredetű *P. multocida* izolátumok antibiotikum-érzékenységének fenotípusos meghatározása mikrohígítási módszerrel hiánypótló kutatásnak számít a nemzetközi és a hazai szakirodalomban is. Az irodalmi összefoglaló bevezetésében már említettem, hogy a házi nyúlból előállított élelmiszerek csak töredékét teszik ki a humán fogyasztásnak, az egyre növekvő igény miatt fontos a többi élelmiszertermelő haszonállathoz hasonlóan feltérképezni a nyúltartásban nagy gazdasági károkat okozó bakteriális kórokozókat.

A  $\beta$ -laktám antibiotikumokat igaz nem alkalmazzák a nyúlegészségügyben a bélmikrobiomot károsító mellékhatásaik miatt, de céлом nem csak a gyakorlat számára történő információ szolgáltatás volt, hanem a feltételezhető antibakteriális szerekkel szembeni rezisztencia felmérése.

Jelen kutatásban az amoxicillinnel szemben a nyúl eredetű *P. multocida* izolátumok MIC-értékei alapján az izolátumok 84,85%-a minősül érzékenynek ( $\text{MIC} \leq 0,25 \mu\text{g/ml}$ ), 9,09%-a mérsékelten érzékenynek ( $\text{MIC} = 0,5 \mu\text{g/ml}$ ), míg 6,06%-a rezisztensnek ( $\text{MIC} \geq 1 \mu\text{g/ml}$ ) a CLSI [59] házimacskára vonatkoztatott adataival összevetve. A  $\text{MIC}_{50}$  és  $\text{MIC}_{90}$  adatok megegyeznek egy 2009 és 2012 között végzett tanulmány adataival, ahol a sertésekből és szarvasmarhákból izolált *P. multocida* törzsek  $\text{MIC}_{50}$  értéke  $0,25 \mu\text{g/ml}$ , illetve a  $\text{MIC}_{90}$  értéke  $0,5 \mu\text{g/ml}$  volt [60]. Az amoxicillin-klavulánsav kombináció esetében, ugyanezen CLSI [59] határértékeket nézve a törzsek 90,91%-a tekinthető érzékenynek, míg 3,03%-a mérsékelten érzékenynek, illetve 6,06% rezisztensnek. A fenotípusos eredmények alapján nem volt  $\beta$ -laktamáz termelő *P. multocida* törzs egyik sem, ennek vizsgálata humánegészségügyi szempontból fontos, mivel már 1991-ben leírtak humán eredetű, tüdőgyulladásból izolált  $\beta$ -laktamáz termelő *P. multocida* törzset [61].

A ceftiofur esetében a CLSI [59] szarvasmarhára és sertésekre vonatkoztatott adatai alapján az izolátumok 96,97%-a érzékenynek ( $\text{MIC} \leq 2 \mu\text{g/ml}$ ) és 3,03%-a rezisztensnek ( $\text{MIC} \geq 8 \mu\text{g/ml}$ ) minősült. Egy vizsgálatban, ahol 37 db nyúl eredetű *P. multocida* izolátumnak vizsgálták a ceftiofurral szembeni érzékenységét, az izolátumok 100%-nak  $1 \mu\text{g/ml}$  vagy ennél kisebb volt a MIC-értéke [62]. A cefkvinommal szemben az izolátumok  $\text{MIC}_{50}$  értéke  $\leq 0,015 \mu\text{g/ml}$ , míg a  $\text{MIC}_{90}$  értéke  $1 \mu\text{g/ml}$  volt, ami eltér a korábbi felmérésektől, mivel egy 1995-ös publikációban a nyúl eredetű *P. multocida* izolátumok  $\text{MIC}_{90}$  értéke  $0,12 \mu\text{g/ml}$  volt [63].

Az imipenemmel szemben a *P. multocida* izolátumok MIC<sub>50</sub> értéke 0,5 µg/ml, illetve a MIC<sub>90</sub> értéke 1 µg/ml volt, aminek humánegészségügyi szempontból van jelentősége, mivel egyre több állat-ember kontaktusban jelentkezik *P. multocida* törzsek okozta tüdőgyulladások, septicémiák és tályogok, melyek kezelésére az immunszupresszált emberek esetében az egyik választási lehetőségek a karbapenemek [64, 65].

A neomicinnel szemben kapott eredményeimet az ECOFF [66] értékekkel (*P. multocida* – gentamicin 16 µg/ml) összevetve az izolátumok 96,97%-a minősül érzékenynek, míg 3,03% rezisztensnek, ezen eredményekhez hasonlóak egy sertésekből és baromfifajokból izolált *P. multocida* törzseket vizsgáló kutatás, amelyben a neomicinnel szemben a vizsgált törzsek 85%-a volt érzékeny és 15%-a rezisztens [67]. A gentamicinnel szemben kapott eredményeimet az ECOFF értékkel [66] (*P. multocida* – gentamicin 8 µg/ml) összevetve az izolátumok 96,97%-a minősül érzékenynek és 3,03%-a rezisztensnek, ami egy 2012 és 2017 között zajló vizsgálat eredményeivel megegyezik, amelyben csak a házi nyulakból izolált 789 db *P. multocida* izolátum 1,8%-a volt rezisztens a gentamicinnel szemben [50]. Ugyanebben a tanulmányban a tetraciklinekkel szemben a nyúl eredetű *P. multocida* izolátumok 3,5%-a volt rezisztens, míg a jelen kutatásban a CLSI [59] sertésekre vonatkoztatott határértékei alapján a vizsgált izolátumok 24,24%-a számít érzékenynek (MIC ≤ 0,5 µg/ml) [50].

A doxiciklinnel szemben is a CLSI sertésekre vonatkoztatott tetraciklin határértékeit vettük alapul, ennek megfelelően a 55,54%-a az izolátumoknak érzékenynek minősül, míg 27,27%-a mérsékelten érzékenynek (MIC = 1 µg/ml) és 18,18%-a rezisztensnek (MIC ≥ 2 µg/ml). A nyúl esetében Mileva és mtsai. (2021) kimutatták, hogy a hatékony gyógykezeléshez a következőknek kell megvalósulnia a doxiciklinnel kapcsolatban: a *P. multocida* törzsek MIC-értékének 0,18 µg/ml-nek vagy ennél kisebbnek kell lennie, illetve 12 óránként 5 mg/kg dózisban kellene adagolni a készítményeket [68].

A tilozinnal szemben nincsenek meghatározva sem CLSI [59], sem EUCAST (ECOFF) határértékek, egy sertésekből és szarvasmarhákból származó *P. multocida* izolátumokat vizsgáló 2016-os tanulmányban az izolátumok hasonlóan nagy MIC-értékekkel rendelkeztek az általunk vizsgált izolátumokhoz [60]. A tilmikozint gyakran alkalmazzák gyógypremixekben nyulak pasteurellózisának kezelésére, eredményeimben a CLSI sertésekre vonatkoztatott határértékei alapján az izolátumok 93,94%-a minősül érzékenynek (MIC ≤ 16 µg/ml) és 6,06%-a rezisztensnek (MIC ≥ 32 µg/ml). Az ECOFF [66] határértékek is 32 µg/ml-re van meghatározva, amelynek értelmében a vizsgált izolátumok 93,94%-a minősül érzékenynek.

A tilvalozinnal kapcsolatban más adatokat nem találtam a szakirodalomban, de a vizsgált *P. multocida* izolátumok MIC-értékei alapján ( $>32 \mu\text{g/ml}$ ) teljes rezisztencia van, ezt a MIC<sub>50</sub> és MIC<sub>90</sub> érték is alátámasztja, mivel mindkettő esetben  $>32 \mu\text{g/ml}$ . A tulatromicin esetében a CLSI [59] sertésekre vonatkoztatott határértékei alapján a *P. multocida* izolátumok 90,91%-a érzékeny (MIC  $\leq 16 \mu\text{g/ml}$ ), míg 9,09%-a rezisztens (MIC  $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ ). Ugyanezen értékeket kaptam meg, abban az esetben, ha az ECOFF [66] határértékkel ( $8 \mu\text{g/ml}$ ) vettem össze eredményeimet.

A linkomicint sem alkalmazzák a nyulak kezelésére, mivel a bélmikrobiom károsító hatása, akár fatális is lehet. Az eredményeink alátámasztják a szakirodalmi eredményeket, melyek szerint a különböző fajokból izolált *P. multocida* törzsek csak nagyon kis számban érzékenyek a linkomicinnel szemben [60]. A florfenikol esetében a CLSI és EUCAST határértékeit vettem alapul, az előbbi alapján a vizsgált izolátumok 93,94%-a érzékeny (MIC  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ ) és 6,06%-a rezisztens. Az EUCAST által meghatározott  $1 \mu\text{g/ml}$ -es ECOFF határérték alapján az előző eredményekhez hasonlóan az izolátumok 93,94%-a számít érzékenynek, ezen eredmények megegyeznek a szakirodalmi adatokkal [50, 60].

A tiamulin esetében CLSI határértéket nem találtam, az EUCAST pedig  $64 \mu\text{g/ml}$ -es határértéket állított fel, amelyhez viszonyítva eredményeinket az izolátumok 100%-a érzékenynek minősíthető.

A kolisztinnel és a vankomicinnel szemben is nagy volt a rezisztens izolátumok aránya, mivel a MIC<sub>90</sub> értéke a kolisztinnek  $>16 \mu\text{g/ml}$ , míg a vankomicinnek  $32 \mu\text{g/ml}$  volt. A kolisztin esetében humánegészségügyi jelentősége lehet a *P. multocida* törzsek között előforduló rezisztenciának, de egyelőre erről még nincsenek szakirodalmi adatok.

Az enrofloxacin esetében a CLSI szarvasmarhákra és sertésekre meghatározott határértékei alapján a vizsgált izolátumok 90,91%-a minősült érzékenynek (MIC  $\leq 0,25 \mu\text{g/ml}$ ), 6,06%-a mérsékelten érzékenynek (MIC  $0,5-1 \mu\text{g/ml}$ ) és 3,03%-a rezisztensnek (MIC  $\geq 2 \mu\text{g/ml}$ ). Az EUCAST által meghatározott ECOFF határérték (MIC  $\leq 0,06 \mu\text{g/ml}$ ) alapján ez az arány változik, így érzékenynek 87,88%, míg rezisztensnek 12,12% számít. Mindkét eredmény összhangban van a szakirodalmi adatokkal, mind a nyúl eredetű, mind a többi háziállatfaj eredetű vizsgálatok alapján [50, 60].

A szulfametoxazol-trimetoprim kombinációval szemben az EUCAST által meghatározott ECOFF határérték ( $\text{MIC} \leq 0,125 \mu\text{g/ml}$ ) alapján az általunk vizsgált *P. multocida* izolátumok mindegyike rezisztensnek számít, amely ellent mond a szakirodalmi adatoknak, mivel a nyúl eredetű törzsek esetében csak 3,2%-ban találtak rezisztens törzseket, míg szarvasmarhákból és sertésekből izolált *P. multocida* izolátumok 90-93%-os arányban érzékenynek minősültek [50, 60].

Összefoglalva az eredményeink iránymutatást adhatnak további nyúl eredetű *P. multocida* törzsek antibiotikum-érzékenységét feltérképező vizsgálatokhoz, mivel a folyamatosan csökkenő gyakorlatban és kísérletekben is használt antibiotikumok érzékenységnek nem csak állat-, de komoly humánegészségügyi vonatkozásai lehetnek.

## 7. ÖSSZEFOGLALÁS

A *Pasteurella multocida*, egy Gram-negatív baktérium faj, amely a vadon élő és háziállatok, mint a nyulak, baromfi fajok, sertések, szarvasmarhák, bivalyok, juhok, szarvasok, tevék és lovak számos fertőző betegségének, összefoglaló néven pasteurellózisnak kórokozója. A *P. multocida* emberekben is okozhat megbetegedést, a fertőződés az állatok harapása vagy karmolása révén alakul ki. A pasteurellózis klinikai tünetei a tünetmentes vagy enyhe krónikus felső légúti gyulladástól az akut tüdőgyulladásig, illetve szeptikémiáig terjednek. Az uralkodó tünetek a felső légúti megbetegedés esetén orrüreggyulladás formájában, míg az alsó légúti megbetegedés esetén tüdőgyulladás formájában jelentkeznek, emellett nyulakban gyakran előfordulnak bőr alatti tályogok. A megbetegedés súlyos állategészségügyi kártétellel jár a nyúlállományokban, illetve ezzel párhuzamosan nagy gazdasági veszteségeket is okoz, amelyek ellensúlyozásának egyik lehetősége az antibakteriális terápia. A megfelelő antibakteriális szerek kiválasztásához viszont szükségesek érzékenységi adatok, hogy se állategészségügyi oldalról, se gazdasági oldalról ne növekedjenek tovább a veszteségek.

Kutatásunk során magyarországi nyúlállományokban izolált *Pasteurella multocida* baktérium izolátumok antibiotikum-érzékenységét vizsgáltuk. Az antibiotikum-érzékenység pontos, fenotípusos megállapítására a mikrohígítási módszert alkalmaztuk, melynek eredményeképpen 20 db antibakteriális szer (amoxicillin, amoxicillin-klavulánsav, ceftiofur, cefkvinom, neomicin, gentamicin, oxitettraciklin, doxiciklin, tilozin, tilmikozin, tilvalozin, tulatromicin, linkomicin, tiamulin, florfenikol, kolisztin, enrofloxacin, trimetoprim/szulfametoxazol, vankomicin, imipenem) minimális gátló koncentrációit (MIC) határoztuk meg, 33 db házi nyúl eredetű *Pasteurella multocida* izolátum esetén. A MIC-értékekből meghatároztuk a MIC<sub>50</sub> és MIC<sub>90</sub> értékeket.

Az amoxicillin, amoxicillin-klavulánsav, ceftiofur és cefkvinom esetében kiugróan nagy MIC-értékeket nem tapasztaltunk, a neomicin és gentamicin esetében egy, míg az oxitettraciklin és doxiciklin esetében kettő izolátum esetében volt kiugróan nagy 16-32 µg/ml-es MIC-értékek. A makrolid antibiotikumok közül a tilozin és tilvalozin esetében nagyszámú izolátumnál tapasztaltunk rezisztenciát, míg a tilmikozin és tulatromicin esetében a legtöbb izolátum érzékenynek bizonyult. A linkomicinnal szemben az izolátumok többsége rezisztensnek, míg a tiamulinnal és florfenikollal szemben érzékenynek minősültek. A kolisztin, enrofloxacin és trimetoprim/szulfametoxazol hatóanyagokkal szemben az izolátumok nagy része érzékenynek minősült. Az imipenemmel szemben kicsi MIC-értékeket, míg a vankomicinnal szemben nagy MIC-értékeket tapasztaltunk.

## 8. SUMMARY

*Pasteurella multocida* is a Gram-negative bacterium responsible for the infection - commonly called pasteurellosis- of numerous wild and domestic animal species alike, such as rabbits, poultry, swine, cattle, buffalo, sheep, deer, camels and horses. *P. multocida* infection is also transmissible to humans via scratches and bites caused by animals. Clinical symptoms range from no clinical signs or mild chronic upper respiratory inflammation to acute pneumonia or septicemia. In the case of upper respiratory infection, the leading clinical sign is rhinitis, while lower respiratory pasteurellosis manifests predominantly as pneumonia with possible subcutaneous abscesses, especially in rabbits. The disease poses a great danger to rabbit stock around the world, while also leading to financial losses, to which a feasible solution is antibiotic therapy. In order to select the optimal antibiotic agent however, antibiotic susceptibility testing is required to maximise the well-being of animals and to minimize drug costs.

In our study we examined the antibiotic susceptibility of several *Pasteurella multocida* isolates from rabbits across Hungary. We used the microdilution method to determine the precise phenotypic susceptibility or Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of 20 different antibiotic agents (amoxicillin, amoxicillin/clavulanic acid, ceftiofur, cefquinom, neomycin, gentamicin, oxytetracycline, doxycycline, tylosin, tylmicosin, tylvalosin, tulathromycin, lincomycin, tiamulin, florfenicol, colistin, enrofloxacin, trimethoprim-sulfamethoxazole, vancomycin, imipenem) in 33 different rabbit *P. multocida* isolates. From the MIC value we further determined the MIC50 and the MIC90 values.

In the case of amoxicillin, amoxicillin/clavulanic acid, ceftiofur and cefquinom we did not find especially high MIC values, whereas with neomycin and gentamicin we found one, and with oxytetracycline and doxycycline two isolates with an exceptionally high MIC value of 16-32 µg/ml. With the macrolide antibiotics, most of the isolates showed increased resistance towards tylosine and tylvalosin, while the majority of the isolates were susceptible to tylmicosin and tulathromycin. Almost all isolates were resistant to lincomycin, but susceptible to tiamulin and florfenicol. Colistin, enrofloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole proved to be effective. We found low MIC values in the case of imipenem and higher ones against vancomycin.

## 9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Dalle Zotte A, Szendrő Z (2011) The role of rabbit meat as functional food. *Meat Sci* 88:319–331. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.02.017>
2. Wu L (2022) Rabbit meat trade of major countries: regional pattern and driving forces. *World Rabbit Sci* 30:69–82. <https://doi.org/10.4995/wrs.2022.13390>
3. Li S, Zeng W, Li R, Hoffman LC, He Z, Sun Q, Li H (2018) Rabbit meat production and processing in China. *Meat Sci* 145:320–328. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.037>
4. Peng Z, Liang W, Liu W, Chen H, Wu B (2017) Genome characterization of *Pasteurella multocida* subspecies septica and comparison with *Pasteurella multocida* subspecies multocida and gallicida. *Arch Microbiol* 199:635–640. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1341-x>
5. Serogroup F, a new capsule serogroup of *Pasteurella multocida*. <https://journals.asm.org/doi/epdf/10.1128/jcm.25.4.615-618.1987>. Accessed 21 Sep 2022
6. Heddleston KL, Gallagher JE, Rebers PA (1972) Fowl Cholera: Gel Diffusion Precipitin Test for Serotyping *Pasteurella multocida* from Avian Species. *Avian Dis* 16:925–936. <https://doi.org/10.2307/1588773>
7. Wilkie IW, Harper M, Boyce JD, Adler B (2012) *Pasteurella multocida*: Diseases and Pathogenesis. In: Aktories K, Orth JHC, Adler B (eds) *Pasteurella multocida: Molecular Biology, Toxins and Infection*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 1–22
8. Pattison M, McMullin P, Bradbury JM, Alexander D (2007) *Poultry Diseases*. Elsevier Health Sciences
9. Shivachandra SB, Viswas KN, Kumar AA (2011) A review of hemorrhagic septicemia in cattle and buffalo. *Anim Health Res Rev* 12:67–82. <https://doi.org/10.1017/S146625231100003X>
10. Horiguchi Y (2012) Swine Atrophic Rhinitis Caused by *Pasteurella multocida* Toxin and Bordetella Dermonecrotic Toxin. In: Aktories K, Orth JHC, Adler B (eds) *Pasteurella multocida: Molecular Biology, Toxins and Infection*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 113–129
11. Deeb BJ, DiGiacomo RE (2000) Respiratory Diseases of Rabbits. *Veterinary Clin North Am Exot Anim Pract* 3:465–480. [https://doi.org/10.1016/S1094-9194\(17\)30082-8](https://doi.org/10.1016/S1094-9194(17)30082-8)
12. Salvo F, De Sarro A, Caputi AP, Polimeni G (2009) Amoxicillin and amoxicillin plus clavulanate: a safety review. *Expert Opin Drug Saf* 8:111–118. <https://doi.org/10.1517/14740330802527984>
13. 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. *Clin Microbiol Infect* 26:871–879. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.11.028>
14. Akhavan BJ, Khanna NR, Vijhani P (2022) Amoxicillin. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)
15. Nhung NT, Chansiripornchai N, Carrique-Mas JJ (2017) Antimicrobial Resistance in Bacterial Poultry Pathogens: A Review. *Front Vet Sci* 4:126. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00126>
16. Todd PA, Benfield P (1990) Amoxicillin/Clavulanic Acid. *Drugs* 39:264–307. <https://doi.org/10.2165/00003495-199039020-00008>
17. Freshwater A (2008) Why Your Housecat’s Trite Little Bite Could Cause You Quite a Fright: A Study of Domestic Felines on the Occurrence and Antibiotic Susceptibility of *Pasteurella multocida*. *Zoonoses Public Health* 55:507–513. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01152.x>
18. Cephalosporins in Veterinary Medicine - Ceftiofur Use in Food Ani...: Ingenta Connect. <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/ctmc/2002/00000002/00000007/art00005>. Accessed 1 Jul 2022
19. Zhao S, White DG, McDermott PF, Friedman S, English L, Ayers S, Meng J, Maurer JJ, Holland R, Walker RD (2001) Identification and Expression of CephamycinaseblaCMY Genes in *Escherichia coli* and *Salmonella* Isolates from Food Animals and Ground Meat. *Antimicrob Agents Chemother* 45:3647–3650. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.12.3647-3650.2001>
20. Chander Y, Oliveira S, Goyal SM (2011) Characterisation of ceftiofur resistance in swine bacterial pathogens. *Vet J* 187:139–141. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.10.013>
21. Post KW, Cole NA, Raleigh RH (1991) In Vitro Antimicrobial Susceptibility of *Pasteurella Haemolytica* and *Pasteurella Multocida* Recovered from Cattle with Bovine Respiratory Disease Complex. *J Vet Diagn Invest* 3:124–126. <https://doi.org/10.1177/104063879100300203>
22. Blondeau JM, Fitch SD (2019) Mutant prevention and minimum inhibitory concentration drug values for enrofloxacin, ceftiofur, florfenicol, tilmicin and tulathromycin tested against swine pathogens *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Streptococcus suis*. *PLOS ONE* 14:e0210154. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210154>
23. (2019) Characteristics, Properties and Analytical Methods of Cefquinome - A Review. *Chem Sci Trans* 8:. <https://doi.org/10.7598/cst2019.1488>
24. Hellinger WC, Brewer NS (1991) Imipenem. *Mayo Clin Proc* 66:1074–1081. [https://doi.org/10.1016/S0025-6196\(12\)61732-7](https://doi.org/10.1016/S0025-6196(12)61732-7)
25. (1998) Structural origins of gentamicin antibiotic action. *EMBO J* 17:6437–6448. <https://doi.org/10.1093/emboj/17.22.6437>

26. Krause KM, Serio AW, Kane TR, Connolly LE (2016) Aminoglycosides: An Overview. Cold Spring Harb Perspect Med 6:a027029. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a027029>
27. Rougier S, Galland D, Boucher S, Boussarie D, Vallé M (2006) Epidemiology and susceptibility of pathogenic bacteria responsible for upper respiratory tract infections in pet rabbits. Vet Microbiol 115:192–198. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.02.003>
28. Cuevas I, Carbonero A, Cano D, García-Bocanegra I, Amaro MÁ, Borge C (2020) Antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* type B isolates associated with acute septicemia in pigs and cattle in Spain. BMC Vet Res 16:222. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02442-z>
29. Sasseville D (2010) Neomycin. Dermatitis® 21:3–7. <https://doi.org/10.2310/6620.2009.09073>
30. Grossman TH (2016) Tetracycline Antibiotics and Resistance. Cold Spring Harb Perspect Med 6:a025387. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025387>
31. Levy SB, McMurry LM, Barbosa TM, Burdett V, Courvalin P, Hillen W, Roberts MC, Rood JI, Taylor DE (1999) Nomenclature for New Tetracycline Resistance Determinants. Antimicrob Agents Chemother 43:1523–1524. <https://doi.org/10.1128/AAC.43.6.1523>
32. Holmes NE, Charles PGP (2009) Safety and Efficacy Review of Doxycycline. Clin Med Ther 1:CMT.S2035. <https://doi.org/10.4137/CMT.S2035>
33. Bousquet E, Morvan H, Aitken I, Morgan JH (1997) Comparative in vitro activity of doxycycline and oxytetracycline against porcine respiratory pathogens. Vet Rec 141:37–40. <https://doi.org/10.1136/vr.141.2.37>
34. Bello JM, Chacón G, Pueyo R, Lechuga R, Marco L, Marco M, Alvarez C, Fraile L (2019) Antimicrobial susceptibility of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from ovine respiratory clinical cases in Spain and Portugal. Small Rumin Res 178:85–93. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.08.008>
35. Gaynor M, Mankin AS (2005) Macrolide Antibiotics: Binding Site, Mechanism of Action, Resistance. Front Med Chem - Online 2:21–35. <https://doi.org/10.2174/1567204052931113>
36. Kanfer I, Skinner MF, Walker RB (1998) Analysis of macrolide antibiotics. J Chromatogr A 812:255–286. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00276-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00276-3)
37. Bessone FA, Pérez MLS, Zielinski G, Dibarbora M, Conde MB, Cappuccio J, Alustiza F (2019) Characterization and comparison of strains of *Pasteurella multocida* associated with cases of progressive atrophic rhinitis and porcine pneumonia in Argentina. Vet World 12:434–439. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.434-439>
38. Shryock TR, Staples JM, DeRosa DC (2002) Minimum Inhibitory Concentration Breakpoints and Disk Diffusion Inhibitory Zone Interpretive Criteria for Tilmicosin Susceptibility Testing against *Pasteurella Multocida* and *Actinobacillus Pleuropneumoniae* Associated with Porcine Respiratory Disease. J Vet Diagn Invest 14:389–395. <https://doi.org/10.1177/104063870201400505>
39. McKay SG, Morck DW, Merrill JK, Olson ME, Chan SC, Pap KM (1996) Use of tilmicosin for treatment of pasteurellosis in rabbits. Am J Vet Res 57:1180–1184
40. Vilaró A, Novell E, Enrique-Tarancón V, Balielles J, Vilalta C, Martínez S, Fraile Sauce LJ (2020) Antimicrobial Susceptibility Pattern of Porcine Respiratory Bacteria in Spain. Antibiotics 9:402. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9070402>
41. Pyörälä S, Baptiste KE, Catry B, van Duijkeren 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>
42. Villarino N, Brown SA, Martín-Jiménez T (2013) The role of the macrolide tulathromycin in veterinary medicine. Vet J 198:352–357. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.07.032>
43. Kadlec K, Brenner Michael G, Sweeney MT, Brzuszkiewicz E, Liesegang H, Daniel R, Watts JL, Schwarz S (2011) Molecular Basis of Macrolide, Triamylide, and Lincosamide Resistance in *Pasteurella multocida* from Bovine Respiratory Disease. Antimicrob Agents Chemother 55:2475–2477. <https://doi.org/10.1128/AAC.00092-11>
44. Sweeney MT (2022) Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, and *Streptococcus suis* isolated from diseased pigs in the United States and Canada, 2016 to 2020. J Swine Health Prod 30:130–144
45. Špižek J, Řezanka T (2004) Lincomycin, clindamycin and their applications. Appl Microbiol Biotechnol 64:455–464. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1545-7>
46. Tang X, Zhao Z, Hu J, Wu B, Cai X, He Q, Chen H (2009) Isolation, Antimicrobial Resistance, and Virulence Genes of *Pasteurella multocida* Strains from Swine in China. J Clin Microbiol 47:951–958. <https://doi.org/10.1128/JCM.02029-08>
47. Paukner S, Riedl R (2017) Pleuromutilins: Potent Drugs for Resistant Bugs-Mode of Action and Resistance. Cold Spring Harb Perspect Med 7:a027110. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a027110>

48. Petrocchi-Rilo M, Gutiérrez-Martín C-B, Pérez-Fernández E, Vilaró A, Fraile L, Martínez-Martínez S (2020) Antimicrobial Resistance Genes in Porcine *Pasteurella multocida* Are Not Associated with Its Antimicrobial Susceptibility Pattern. *Antibiotics* 9:614. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090614>
49. Schwarz S, Kehrenberg C, Doublet B, Cloeckert A (2004) Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiol Rev* 28:519–542. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.04.001>
50. Bourély C, Cazeau G, Jouy E, Haenni M, Madec J-Y, Jarrige N, Leblond A, Gay E (2019) Antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* isolated from diseased food-producing animals and pets. *Vet Microbiol* 235:280–284. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.07.017>
51. Kehrenberg C, Wallmann J, Schwarz S (2008) Molecular analysis of florfenicol-resistant *Pasteurella multocida* isolates in Germany. *J Antimicrob Chemother* 62:951–955. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn359>
52. Bialvaei AZ, Samadi Kafil H (2015) Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin* 31:707–721. <https://doi.org/10.1185/03007995.2015.1018989>
53. Cunha BA (1995) Vancomycin. *Med Clin North Am* 79:817–831. [https://doi.org/10.1016/s0025-7125\(16\)30041-4](https://doi.org/10.1016/s0025-7125(16)30041-4)
54. Mitchell MA (2006) Enrofloxacin. *J Exot Pet Med* 15:66–69. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2005.11.011>
55. Cuevas I, Carbonero A, Cano D, García-Bocanegra I, Amaro MÁ, Borge C (2020) Antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* type B isolates associated with acute septicemia in pigs and cattle in Spain. *BMC Vet Res* 16:222. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02442-z>
56. Masters PA, O'Bryan TA, Zurlo J, Miller DQ, Joshi N (2003) Trimethoprim-Sulfamethoxazole Revisited. *Arch Intern Med* 163:402–410. <https://doi.org/10.1001/archinte.163.4.402>
57. Eliopoulos GM, Huovinen P (2001) Resistance to Trimethoprim-Sulfamethoxazole. *Clin Infect Dis* 32:1608–1614. <https://doi.org/10.1086/320532>
58. Lizarazo YAV, Ferri EFR, Fuente AJM de la, Martín CBG (2006) Evaluation of changes in antimicrobial susceptibility patterns of *Pasteurella multocida* subsp *multocida* isolates from pigs in Spain in 1987–1988 and 2003–2004. *Am J Vet Res* 67:663–668. <https://doi.org/10.2460/ajvr.67.4.663>
59. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 5th ed. CLSI supplement VET01S. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020 Standards Institute; 2020
60. El Garch F, de Jong A, Simjee S, Moyaert H, Klein U, Ludwig C, Marion H, Haag-Diergarten S, Richard-Mazet A, Thomas V, Siegwart E (2016) Monitoring of antimicrobial susceptibility of respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs across Europe, 2009–2012: VetPath results. *Vet Microbiol* 194:11–22. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.04.009>
61. Rosenau A, Labigne A, Escande F, Courcoux P, Philippon A (1991) Plasmid-mediated ROB-1 beta-lactamase in *Pasteurella multocida* from a human specimen. *Antimicrob Agents Chemother* 35:2419–2422. <https://doi.org/10.1128/AAC.35.11.2419>
62. 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>
63. Böttner A, Schmid P, Humke R (1995) In vitro Efficacy of Cefquinome (INN) and other Anti-infective Drugs against Bovine Bacterial Isolates from Belgium, France, Germany, The Netherlands, and the United Kingdom. *J Vet Med Ser B* 42:377–383. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1995.tb00724.x>
64. Stürwald Y, Erdle B, Busch P, Kalbhenn J, Bansbach J (2021) Sepsis nach Katzenbiss – Wie Anamnese, körperliche Untersuchung und eine interdisziplinäre Zusammenarbeit den Krankheitsverlauf beeinflussen. *Anaesthesist* 70:639–643. <https://doi.org/10.1007/s00101-021-01003-9>
65. Fernández-Valencia JA, García S, Prat S (2008) *Pasteurella multocida* septic shock after a cat scratch in an elderly otherwise healthy woman: a case report. *Am J Emerg Med* 26:380.e1-380.e3. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2007.05.019>
66. MIC EUCAST.  
[https://mic.eucast.org/search/?search%5Bmethod%5D=mic&search%5Bantibiotic%5D=-1&search%5Bspecies%5D=375&search%5Bdisk\\_content%5D=-1&search%5Blimit%5D=50](https://mic.eucast.org/search/?search%5Bmethod%5D=mic&search%5Bantibiotic%5D=-1&search%5Bspecies%5D=375&search%5Bdisk_content%5D=-1&search%5Blimit%5D=50). Accessed 13 Oct 2022
67. Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from swine and poultry in: *Acta Veterinaria Hungarica* Volume 57 Issue 3 (2009). <https://akjournals.com/view/journals/004/57/3/article-p357.xml>. Accessed 13 Oct 2022
68. Mileva R, Rusenov A, Milanova A (2021) Population Pharmacokinetic Modelling of Orally Administered Doxycycline to Rabbits at Different Ages. *Antibiotics* 10:310. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030310>

## **10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

Köszönöm a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék vezetőjének Dr. Jerzsele Ákos, egyetemi docens, kutatási és innovációs rektorhelyettes úrnak a kísérlet feltételeinek megteremtésében nyújtott segítségét és támogatását.

Köszönöm, dr. Somogyi Zoltánnak, hogy a dolgozat megszületését lehetővé tette, illetve mentorként segített a felmerülő problémák megoldásában.

Köszönöm Dr. Biksi Imre egyetemi docens úrnak, hogy a kísérletben felhasznált baktérium izolátumokat rendelkezésünkre bocsátotta. Dr. Mag Patriknak pedig köszönöm a gyakorlati munkában nyújtott segítségét.

A dolgozatom nem készülhetett volna el a családom és a barátaim odaadó támogatása nélkül, amit ezúton szeretnék megköszönni mindannyiuknak.