

TDK DOLGOZAT

Hajduk Eszter

2024

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



Hazai nagylétszámú pulyka állományokból izolált kommenzalista *Enterococcus* baktériumtörzsek antimikrobiális érzékenységi profilja

Készítette:

Hajduk Eszter

V. évfolyamos állatorvostan-hallgató

Témavezető:

Dr. Nemes-Terényi Melinda

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, mesteroktató

Budapest

2024

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	3
1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés	5
2.1. Az antimikrobiális rezisztencia globális helyzete	5
2.2. Az <i>Enterococcus</i> nemzetség jellemzői	6
2.3. Az <i>Enterococcus</i> fajok okozta fertőzések madarakban	7
2.4. Az <i>Enterococcus</i> fajok okozta fertőzések szerepe a közegészségügyben	9
2.5. A rezisztencia helyzete <i>Enterococcus</i> fajokban	11
3. Célkitűzések	17
4. Anyag és módszer	18
4.1. A minták eredete	18
4.2. A törzsek izolálása	18
4.3. A hatóanyag törzsoldatok elkészítése	18
4.4. A minimális gátló koncentráció meghatározása	19
4.5. Indikatív ECOFF érték meghatározása	19
4.6. Statisztikai elemzések	20
5. Eredmények	22
6. Következtetések	30
7. Összefoglalás	33
8. Summary	34
9. Irodalomjegyzék	35
10. Köszönetnyilvánítás	40

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

DNS	Dezoxiribonukleinsav
rRNS	Riboszomális ribonukleinsav
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>E. faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
AMR	Antimikrobiális rezisztencia (<i>Antimicrobial resistance</i>)
MDR	Multidrog rezisztens (<i>Multidrug-resistant</i>)
VRE	Vankomicin-rezisztens <i>Enterococcus</i>
ARE	Ampicillin-rezisztens <i>Enterococcus</i>
LRE	Linezolid-rezisztens <i>Enterococcus</i>
MRSA	Meticillin-rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i>
HLAR	Magas szintű aminoglikozid rezisztencia (<i>High-level aminoglycoside resistance</i>)
PBP	Penicillinkötő fehérje (<i>Penicillin-binding protein</i>)
UDP-MurNAc	Uridin-difoszfát-N-acetilmuraminsav (<i>Uridine diphosphate N-acetylmuramic acid</i>)
ECOFF	Epidemiológiai töréspont (<i>Epidemiological cut-off value</i>)
MIC	Minimális gátló koncentráció (<i>Minimum inhibitory concentration</i>)
MRL	Maximális maradékanyag szint (<i>Maximum residue limit</i>)
ENSZ	Egyesült Nemzetek Szervezete (<i>United Nations</i>)
FAO	Az ENSZ Élelmezésügyi és Mezőgazdasági Szervezete (<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>)
OIE	Állategészségügyi Világszervezet (<i>World Organisation for Animal Health</i>)
WHO	Egészségügyi Világszervezet (<i>World Health Organization</i>)
UNEP	Az ENSZ Környezetvédelmi Programja (<i>United Nations Environment Programme</i>)
CLSI	<i>Clinical Laboratory Standard Institute</i>
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
CAMHB	<i>cation adjusted Müller-Hinton leves</i>

1. BEVEZETÉS

Ma már bizonyított, hogy számos baktériumfaj esetében az állategészségügyben felhasznált antibiotikumok is hozzájárulnak a humán területen jelentkező antimikrobiális rezisztenciához. Éppen ezért az Egy Egészség megközelítés keretén belül az állategészségügyben rendszeres, reprezentatív jellegű felmérésekre van szükség, különös tekintettel az élelmiszertermelő fajok kórokozóira. A baromfifélék, azon belül a pulykák, világszerte meghatározó állati eredetű fehérjeforrásként nemcsak gazdasági szempontból fontosak, hanem az antimikrobiális rezisztencia vizsgálata szempontjából is kiemelt figyelmet érdemelnek. Az *Enterococcus* baktérium fajok a normál bélmikrobiom részét képezik, azonban a patogén törzseik által okozott fertőzések mind az állat-, mind a közegészségügyben növekvő jelentőségűek. A rendszeres felmérések segítségével képet kaphatunk a rezisztencia jelen állapotáról, a jövőben pedig annak időszakos megismétlésével időbeli trendeket és mintázatokat figyelhetünk meg.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az antimikrobiális rezisztencia globális helyzete

Amikor a baktériumok, vírusok, gombák és paraziták különböző mechanizmusok által alkalmazkodnak a leküzdésük érdekében használt hatóanyagokhoz, akkor rezisztenciáról beszélünk. Mindez a gyógyszerek hatékonyságának csökkenéséhez vezet, a fertőzések perzisztálnak, és nő a súlyos megbetegedések kockázata [1].

Az elmúlt időszakban egyre nyilvánvalóbbá vált, hogy az antimikrobiális rezisztencia (AMR) sokkal gyorsabban terjed, mint azt korábban feltételezték, és emiatt már globális méretű problémaként van jelen. A rezisztencia rohamos terjedése az utóbbi évtizedekben az antibiotikumok széleskörű, túlzott és sok esetben helytelen használatával magyarázható [2]. A helytelen használatot tükrözi, hogy számos haszonállatfajnál a növekedés gyorsítására és a termelés fokozására használtak, illetve bizonyos országokban a mai napig is használnak antibiotikumokat. Az intenzív állattenyésztés, a zsúfolt tartás és egyéb, az állatokra negatívan ható környezeti paraméterek elősegítik a patogén kórokozók terjedését az állományokban. A járványok kirobbanásának elkerülése végett az intenzív állattartó telepeken rendszeresen adagolják az antimikrobiális szereket metafilaxis céljából, egyaránt a beteg és az egészséges állatok takarmányába, illetve itatóvizébe [3].

Becslések szerint évente kb. 700 000 emberi haláleset következik be világszerte az AMR miatt, amely akár évi 10 millióra is emelkedhet 2050-re [2], vagyis többen fognak meghalni multi- és pánrezisztens baktériumok okozta fertőzések miatt, mint daganatos megbetegedésekben [3]. Manapság a legtöbb ellátást igénylő fertőzéseket az ún. ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.) csoportba tartozó baktériumok okozzák, amelyek ellen kiemelt jelentősége van az új hatóanyagok fejlesztésének [4].

Egyelőre nem tudni, hogy az antibiotikumok használatának visszaszorítása vagy szabályozása mennyiben javíthat a kialakult helyzeten, de az bizonyos, hogy van lehetőség a rezisztens baktériumok terjedésének csökkentésére. Folyamatos kutatásokat és fejlesztéseket kell végezni annak érdekében, hogy kontroll alatt tartsuk a rezisztens törzsek terjedését, ezzel törekedve a hatóanyagok hatékonyságának megőrzésére mind a humán-, mind az állategészségügyben [5].

2.2. Az *Enterococcus* nemzetség jellemzői

Az *Enterococcus* nemzetségbe tartozó tejsavtermelő baktériumok fakultatív anaerob, Gram-pozitív festődésű és kataláz-negatív mikrobák. A legtöbb törzs kommenzalista, amelyek az emlősök (beleértve az embert is), a madarak, a hüllők és egyes gerinctelen állatok béltraktusát kolonizálják [6]. Több mint 50 faj tartozik közéjük, amelyek főleg opportunisták kórokozók, és a kórházi fertőzésekben van feltörekvő szerepük. Hosszú ideig a Lancefield D csoportba sorolták és *Streptococcus* nemzetség névvel illették őket, azonban kiderült, hogy az *Enterococcus* fajok nagyon ellenállóak a környezeti hatásokkal szemben, hőmérsékleti tűrőképességük 10-45 °C között mozog, pH tűrési tartományuk 4,8-9,6 között van, 6,5%-os sókoncentráció és 0,1% metilénkék koncentráció mellett is növekedést mutatnak, illetve jól tolerálják az epesavas sókat [7]. Véres agaron 1-2 mm-es átlátszó vagy szürke α - vagy β -hemolizáló telepeket hoznak létre. Mikroszkopikus megjelenésüket tekintve a nagyjából 1 μ m átmérőjű kicsit ovális coccusok párban helyeződnek, vagy változatos hosszúságú láncokat alkotnak. Gram-pozitív baktériumokra jellemző vastag peptidoglikán réteg alkotja a sejtfalukat, néhány faj rendelkezik poliszacharid burokkal és/vagy fimbriákkal, illetve citolizint, szuperoxidot, zselatinázt és hidroxamát típusú sziderofórt is termelhetnek [8]. Az *Enterococcus* fajok számos antibiotikummal szemben *ab ovo* rezisztensek, emellett képesek plazmidok és/vagy transzpozonok segítségével rezisztens géneket felvenni, illetve közvetíteni más baktériumok felé [9].

Először 1899-ben izolálták őket az emberi béltraktusból, majd 1984-ben DNS hibridizáció és 16S rRNS szekvenálás eredményei alapján választották le az *Enterococcus* fajokat a *Streptococcus* nemzetségtől [10]. Ez utóbbi vizsgálatok bizonyították, hogy az *Enterococcus* törzsek különböznek a *Lactococcus* törzsektől, amelyek viszont a *Streptococcaceae* családba tartoznak. Ezek alapján rendszertani besorolásuk a *Bacteria* domén, a *Firmicutes* törzs, a *Bacilli* osztály, a *Lactobacillus* rend és azon belül az *Enterococcaceae* családba sorolható *Enterococcus* nemzetség [11].

Az *Enterococcus* fajokra jellemző a biofilmképzés, amely számos fertőzés során előfordul. Megfigyelhető a húgyutakban, a sebekben, diszbiótisos gyomor-bélrendszerben és endokarditiszben. A biofilmmel társult *Enterococcus* fertőzések nagyon nehezen kezelhetők, mindemellett jó rezervoárjai az AMR géneknek és egyfajta gócként szolgálnak a kórokozó terjedésében. A biofilm képződése négy szakaszból áll, ezek a következők: a kórokozó kezdeti kötődése, a mikrokolónia kialakulása, a biofilm érése és végül a szóródás [12]. Bizonyos modell-baktériumokkal ellentétben, mint amilyen a *Pseudomonas*

aeruginosa [13] vagy a *Bacillus subtilis* [14], az *Enterococcus* törzsek biofilmképző mechanizmusa még nem teljesen tisztázott [12].

Az *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) okozta megbetegedések közé tartoznak a húgyúti fertőzések, a sebfertőzések [15], a bakterémia, az endokarditisz [16], továbbá a kórokozó jelen lehet endodontális fertőzéseknél is [17]. Opportunista patogénként legyengült immunrendszerű emberekben okozhat fertőzést, illetve gyakran társul nozokomiális fertőzésekhez [18]. Számos antibiotikummal szemben ellenálló, ezek közül a vankomicin-rezisztens *Enterococcus* (VRE) törzsek okoznak jelentős problémát a kórházakban. Az *E. faecalis* okozta fertőzéseket rezisztenciavizsgálatot követően antibiotikumokkal kezelik.[12].

Az *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) törzsek az utóbbi évtizedekben egyre több fertőzésért felelősek, és manapság az összes *Enterococcus* fertőzés kb. 40%-át ez a faj idézi elő [19]. Gyakran okoz húgyúti, illetve sebfertőzéseket, szeptikémiát és endokarditist, amely különösen azoknál az immunszuppresszált betegeknél jelent problémát, akik hosszantartó antibiotikum kezelésben részesülnek. Ezenkívül a multidrog rezisztens (MDR) *E. faecium* gyorsan felváltja a bélmikrobiom érzékeny populációit, és uralkodó fajként van jelen a hosszú ideig kórházban tartózkodó emberekben [20]. Az ampicillin-rezisztens *E. faecium* (ARE) törzsek a '80-as évek elején jelentek meg először az Egyesült Államokban, majd ezt a '90-es években a vankomicin-rezisztens *E. faecium* törzsek követték, amelyek azóta globálisan elterjedtek [21].

2.3. Az *Enterococcus* fajok okozta fertőzések madarakban

Az *Enterococcus* nemzetség tagjai a madarakban a normál bélmikrobiom részét képezik [22]. Egyes fajok a baromfifélék bélrendszerében életkortól függően vannak jelen: először az *E. faecalis* telepszik meg, majd az *E. faecium*, végül pedig az *Enterococcus cecorum*. Klinikai tüneteket mutató, *Enterococcus* törzsekkel fertőzött madaraktól az *Enterococcus avium*, az *Enterococcus cecorum*, az *Enterococcus durans*, az *E. faecalis*, az *E. faecium* és az *Enterococcus hirae* fajokat mutatták ki [23]. Egyes törzseket probiotikumként is használnak, mert pozitív hatással vannak az állatok növekedésére, illetve javítják a takarmányértékesítést [24].

Habár az *Enterococcus* fajok leggyakrabban csak másodlagos fertőzéseket okoznak, az *Enterococcus cecorum* fajt a brojlersírkék körében előforduló vázrendszeri betegségek fő okozójaként tartják számon. Patogén baktériummal való fertőződés során a legjellemzőbb

tünet a szabad háti csigolyák magasságában kialakuló gyulladásos szövetszaporulat miatti bénulás [25]. Az érintett madarakat klasszikus ülő testhelyzetben, mindkét lábukat előre kinyújtva találjuk. A paralízis miatt a csirkénél gyakori a folyadékhiányos állapot vagy az eléhezés, amely növeli a mortalitási rátát [26]. A fertőzés többek között artritiszhez, spondilitiszhez, oszteomiELITISZHEZ és combcsontfej elhaláshoz társulhat a brojlercsirke állományokban [27].

Az *E. faecalis* csirkénél endokarditist, tyúkoknál hasvízkórt, pulykáknál májgranulómákat [22], brojlercsirkénél pedig pulmonális hipertenziós szindrómát okozhat [28], illetve szisztémás amiloidózissal járó amiloid artropátiát is leírtak már a fertőzés kapcsán [29].

Fiatal csirkékben, amelyeknél bakterémiát és enkefalomaláciát figyeltek meg, ott a betegség hátterében az *Enterococcus durans* fajt azonosítottak [30], miközben *Enterococcus hirae* fajt fokális agyi elhalással járó esetekben és növekedésben való visszamaradásakor tenyésztettek ki. Brojlercsirkékben az *Enterococcus hirae* fajt oszteomiELITISZSEL és endokarditisszel is kapcsolatba hozták már [31].

Elhullott madarakban akut esetben lép-, máj- és vesemegnagyobbodás, illetve az utóbbi szerveken multifokális, fehéres-barnás elhalások figyelhetők meg. Szubakut vagy krónikus esetben perikarditisz, perihepatitisz, artritisz, spondilitisz, oszteomiELITISZ, miokarditisz és valvuláris endokarditisz jellemző az *Enterococcus* fajok okozta fertőzésre. Egyes szövetekben szeptikus embóliák következtében kialakult fokális granulómákat írtak le [23].

A diagnózist mindig a kórtörténet, a klinikai tünetek és a baktériumtenyésztés eredménye alapján kell felállítani a lehetséges differenciáldiagnózisokat figyelembe véve. Az enterococcusist rezisztenciavizsgálatot követően antibiotikumokkal kezeljük, és leggyakrabban penicillinszármazékokat használunk [32], mert a makrolidokkal és a tetraciklinekkel szembeni rezisztencia viszonylag gyakori [25]. Az antimikrobiális terápiára a fertőzés korai szakaszában jól reagálnak a madarak, később azonban csökken a kezelés hatékonysága. *Enterococcus cecorum* okozta spondilitisznél a bénulás megjelenése után már hatástalan az antibiotikum terápia. A kezelés nehézségei miatt nagy hangsúlyt kell fektetni a megelőzésre. Brojlercsirke tenyészetekben alkalmazhatunk inaktivált telep-specifikus vakcinákat, de jelenleg nincs hatékony vakcina a patogén *Enterococcus cecorum* törzsek ellen, illetve nem bizonyított, hogy a szülőktől származó antitestek védelmet nyújtanak az

utódoknak az fertőződéssel szemben [25]. Megfelelő higiénias körülmények biztosításával és a létesítmények fertőtlenítésének helyes módon történő kivitelezésével is csökkenthető a környezet élőcsíra terhelése.

2.4. Az *Enterococcus* fajok okozta fertőzések szerepe a közegészségügyben

A *One Health* koncepció eredete évszázados múltra tekint vissza. Egyrészt az emberek és állatok kölcsönös egymástól való függésén, másrészt azon a felismerésen alapul, hogy nem csak ugyanazon a környezeten, hanem számos fertőző betegségen is „osztoznak” [33]. Kutatások szerint az összes humán kórokozó 58%-a, illetve az utóbbi évtizedekben újonnan vagy újra megjelenő patogének 73%-a zoonotikus [34]. Calvin Schwabe, amerikai állatorvos és epidemiológus alkotta meg a *One Medicine* kifejezést a '60-as években, amely az ember- és állatgyógyászat hasonlóságaira utal, ezenkívül elismeri, hogy a legtöbb állatorvosi tevékenység közvetve vagy közvetlenül, de az emberi egészséget is szolgálja [33]. A 2018-as eredeti alapító szervezetek, az Egyesült Nemzetek Szervezetének (ENSZ) Élelmezési és Mezőgazdasági Szervezete (FAO), az Állategészségügyi Világszervezet (OIE) és az Egészségügyi Világszervezet (WHO), 2022-ben az ENSZ Környezetvédelmi Programjával (UNEP) egészült ki, és a négy nemzetközi ügynökség aláírta az új megállapodást [35, 36]. A *One Health* megközelítés legújabb mondanivalója a következő: az Egy egészség integrált, egységesítő megközelítés, amelynek célja az emberek, állatok, növények és a környezet egészségének fenntartható egyensúlyát és optimalizálását segítő együttműködés megerősítése. Ezenkívül elismeri az emberek, az állatok, a növények és a tágabb környezet (beleértve az ökoszisztémákat is) egészsége közötti szoros kapcsolatot, valamint azt, hogy ezek kölcsönösen függenek egymástól. A megközelítés több ágazatot, tudományágat és közösséget mozgósít a társadalom különböző szintjein, hogy közösen dolgozzanak a jólét előmozdításán, valamint az egészséget és az ökoszisztémákat fenyegető veszélyek leküzdésén, miközben a tiszta víz, energia és levegő, biztonságos és tápláló élelmiszerek iránti kollektív igényt, az éghajlatváltozás elleni fellépést és a fenntartható fejlődéshez való hozzájárulást kezelik [37].

Az *Enterococcus* fajok az emberi és állati ürülékben mindenhol megtalálhatók, és a környezetben is tartósan jelen vannak, ezért jó indikátorai a víz bélsárral való szennyezettségének, illetve számos rezisztenciafelügyeleti rendszerben indikátor baktériumként szolgálnak. Fontos megemlíteni, hogy vágóhídi feldolgozáskor az ürülékből származó *Enterococcus* törzsek szennyezhetik az állati eredetű élelmiszereket. Egyes

tanulmányok szerint a vágóhídi állati eredetű élelmiszerminták több mint 90%-a *Enterococcus* fajokkal kontaminált, leggyakrabban *E. faecalis* és *E. faecium* törzsek fordulnak elő [38]. Habár az emberi szervezetben kommenzalistának számítanak, az *Enterococcus* fajok fontos opportunisták kórokozók. Amellett, hogy katétereken és beültetett orvosi eszközökön biofilmeket képeznek, bakterémiát, endokarditist, égési és sebészeti sebek felülfertőződését, húgyúti, hasi, illetve epeúti fertőzéseket is okozhatnak [39].

A biofilmek képzésének a képessége kulcsfontosságú tényező az előbb felsorolt betegségek kialakításában [40]. Az *Enterococcus* fajok akklimatizálódtak a biofilmben való élethez, ahol a kolonizáció és a fertőzés első szakaszaként a bélrendszer extracelluláris mátrixfehérjéihez tapadnak. Az amerikai *National Institutes of Health* szerint a biofilmek a szervezetekben előforduló mikrobiális fertőzések több mint 80%-ában játszanak szerepet [41]. Az érett biofilm a mikroorganizmusok eradikációjához szükséges antibiotikum koncentráció akár 10-1000-szeresét is képes elviselni [42], ezért komoly kihívást jelent a biofilm képző baktériumok okozta fertőzések kezelése.

A humán *Enterococcus* fertőzések többségéért két faj a felelős: az *E. faecalis* és az *E. faecium*. Mindkét faj rendelkezik belső rezisztenciával a leggyakrabban használt antibiotikumokkal szemben, mint amilyenek a cefalosporinok, az aminoglikozidok, a klindamicin vagy a trimetoprim-szulfametoxazol. Ezenkívül a plazmtikus genom lehetővé teszi az *Enterococcus* fajok számára, hogy mutáció által, illetve rezisztenciát kódoló genetikai elemek horizontális átvitele révén könnyen szerezhessenek magas szintű ampicillin és vankomicin rezisztenciát [39]. Az *E. faecalis* mintegy kétszer annyi egészségügyi ellátással összefüggő fertőzést okoz, mint az *E. faecium*. Amíg az *E. faecium* fertőzéseknél a vankomicin rezisztencia gyakori megléte miatt magasabb a halálozási arány, addig az *E. faecalis* fertőzések nagyobb esetszámban fordulnak elő, különösen az utóbbi évtizedben. Ez a jelenség azzal magyarázható, hogy az *E. faecalis* jobban perzisztál az egészségügyi létesítményekben, és nagyobb arányban van jelen az emberi bélmikrobiomban [18].

Alapvetően az *Enterococcus* fajok okozta fertőző endokarditist aminoglikozidokkal kezelték, azonban a rezisztencia növekedése, illetve a kevésbé nefrotoxikus szerek megjelenése új terápiás lehetőségek előtt nyitotta meg a kapukat [43]. A súlyos *Enterococcus* fertőzések kezelésében új stratégia a kettős β -laktám terápia alkalmazása, amely kedvezőbb mellékhatásprofilal rendelkezik, és hosszabb távon is tolerálható a szervezet számára. Jelenleg az ampicillin-ceftriaxon az egyetlen kombinált β -laktám terápia, amelynek a hatékonyságát klinikai adatok is alátámasztják, azonban ez a kombináció is rejthet

veszélyeket, mint pl. a rezisztencia gyorsabb terjedése vagy VRE törzsek kolonizációjának elősegítése. Mindezek miatt új gyógyszerkombinációkat és adagolási stratégiákat is szükséges fejleszteni, amelyek optimalizálják a dózist a hatékonyság javítása, illetve a rezisztencia visszaszorítása érdekében [16].

2.5. A rezisztencia helyzete *Enterococcus* fajokban

Az *E. faecalis* és az *E. faecium* fajokról alapvetően elmondható, hogy kevésbé érzékenyek olyan hatóanyagokkal szemben, amelyek a *Staphylococcus* és *Streptococcus* fajok ellen hatékonyak. A β -laktám hatóanyagok közül eredendően rezisztensek a szűk spektrumú penicillinekkal, az aztreonámmal, valamint a cefalosporinok nagy részével szemben [44]. Habár az *E. faecalis* törzseknél előfordulhat *in vitro* érzékenység a karbapenemekre, a humán fertőzések során történő klinikai alkalmazásukról kevés adat áll rendelkezésre. Ezenkívül az *Enterococcus* fajok érzékenyek lehetnek a vankomicinre, a tetraciklinekre és az eritromicinre, de gyakori a szerzett rezisztencia. *Ab ovo* rezisztencia figyelhető meg a klindamicinnel, a trimetoprim-szulfametoxazollal szemben. A kezelések során az aminoglikozidok klinikailag elérhető koncentrációi sem hatékonyak [45]. Az újabb hatóanyagok, mint a linezolid, a tedizolid, a daptomicin, a televancin és az oritavancin hatékonyak az összes *Enterococcus* törzs okozta fertőzéssel szemben, míg a quinupristin-dalfopristin kombináció csak az *E. faecium* ellen hatásos [46]. A flurokinolonok szintén hatékonyak lehetnek az *Enterococcus* törzsek okozta megbetegedéseknél, habár a klinikai fertőzésekéből izolált *E. faecium* törzsek gyakran rezisztensek velük szemben [47]. Mindent tekintetbe véve kijelenthetjük, hogy klinikai körülmények között az állategészségügyben az amoxicillin, a közegészségügyben az ampicillin az elsődlegesen választandó terápiás szer [39].

Az *Enterococcus* törzsek β -laktámokkal szembeni eredendő rezisztenciája egy alacsony affinitású penicillinkötő fehérje (PBP) kifejeződésének köszönhető, amelyet az *E. faecalis* fajban PBP4-nek és az *E. faecium* fajban PBP5-nek neveznek [48]. A PBP gének hiányában az egyes törzsek csökkent rezisztenciát mutatnak a β -laktám antibiotikumok ellen [49]. Emellett az *Enterococcus* törzsek többsége ellenálló a β -laktámokkal szemben [50], ami klinikai problémákat okozhat az endokarditisz kezelésében, azonban a sztrepomicin vagy gentamicin hozzáadása egy β -laktám hatóanyaghoz szinergista hatást eredményezhet, és javíthatja a gyógyulási arányt [51]. Az *E. faecalis* endokarditisz kezelésének eredményei hasonlóak lehetnek az ampicillin és a ceftriaxon kombinációjával, bár a szinergizmus

mechanizmusa még nem teljesen világos [52]. Azt feltételezik, hogy a két antibiotikum kombinációja hatékonyabban gátolhatja az *E. faecalis* összes PBP-jét, mint az egyes antibiotikumok önmagukban [53].

A szerzett rezisztencia egyik mechanizmusa a β -laktamáz termelése [54]. Az *E. faecalis* baktériumokból kimutatták a *Staphylococcus aureus* fajhoz hasonló β -laktamáz enzim termelését [55], kifejeződése azonban különbözik a *Staphylococcus aureus* fajétól, mert nem indukálható β -laktám expozícióval, illetve az enzim membránhoz kötött marad. Ennek eredményeként az expresszió alacsony szintű, és nem okoz jelentős mértékű rezisztenciát a hagyományos kezelésekkel szemben [56]. Az állatkísérletek azt mutatják, hogy magas inokulum szám esetén az *Enterococcus* fajok β -laktamáz termelése veszélyeztetheti a β -laktám terápiát, de ez ellensúlyozható a β -laktamáz-inhibitor hozzáadásával. Az *E. faecium* törzsek β -laktamáz-termelése ritka és kevésbé tanulmányozott [39].

Habár az amoxicillin önmagában sokszor hatástalan az *Enterococcus* fertőzések kezelésében, beszámoltak róla, hogy egyes cefalosporinokkal kombinálva szinergista hatás jöhet létre. A kutatásban megfigyelték, hogy az amoxicillin-cefazolin *in vitro* baktericid hatása azonos az amoxicillin-tigeciklinével. Az amoxicillin mellett alkalmazott cefazolin egyrészt kiváltja az aminoglikozidokat, és ezáltal csökken a nefrotoxicitás, másrészt így kisebb kockázattal alakul ki enkefalopátia, mintha két nagy dózisú penicillin kombinációját adnánk [57].

Egy 2007-es megfigyeléseken alapuló, randomizált klinikai vizsgálat alapján az ampicillin-ceftriaxon kombináció is alkalmas lehet a magas szintű aminoglikozid rezisztenciát (HLAR) mutató *E. faecalis* izolátumok okozta infektív endokarditisz kezelésében, azonban a mindennapokban a nem-magas szintű aminoglikozid rezisztenciával járó fertőzések kezelésére is alkalmazzák ezt a kombinációt. Az előbbi kutatást alapul véve 2013-ban egy nem randomizált összehasonlító tanulmányban vizsgálták az ampicillin-ceftriaxon és az ampicillin-gentamicin kombinációk hatékonyságát, és az eredmények alapján mindkét lehetőség ugyanolyan eredményesnek bizonyult. Mindemellett az ampicillin-ceftriaxon kombináció előnye, hogy nem okoz veseelégtelenséget és az *E. faecalis* magas szintű aminoglikozid-rezisztencia státusza sem befolyásolja az alkalmazást [52].

A karbapenemek közé tartozó imipenemről általánosan elmondható, hogy inkább a Gram-pozitív mikroorganizmusok ellen hatásos, míg a meropenem inkább a Gram-negatívok ellen. Mindkét szert súlyosabb kórházi fertőzéseknél alkalmazzák, és klinikai vizsgálatok alapján hasonló gyógyulási arányokról írnak. *E. faecalis* baktériummal szemben az imipenem négyszer aktívabb, mint a meropenem, az *E. faecium* ellen azonban egyik szer sem hatásos [58]. Egy 2001-es kutatásban imipenem-rezisztens *E. faecium* törzseket találtak svéd kórházak intenzív osztályáról származó izolátumokban, illetve 2000-ben Svájcban is beszámoltak már hasonló törzsek megjelenéséről kórházi betegekből vett mintákból, miközben a mikroorganizmusok mindkét esetben érzékenyek voltak ampicillinre [59].

Az *Enterococcus* törzsek gyakran rezisztensek az aminoglikozidokkal szemben. A rezisztenciát az okozza, hogy a szerek nem tudnak áthatolni az *Enterococcus* baktériumok sejtburkán. A gyenge penetrációért feltételezhetően az *Enterococcus* fajok anaerob anyagcseréje felelős, mert az aminoglikozidok citoplazmamembránon keresztüli transzportja olyan energiaigényes folyamat, amihez oxigénre van szükség. Az endokarditisz kezelésénél gyakran kombinálják sejtfal-aktív szerekkel, azonban magas szintű rezisztenciát mutató törzsek fejlődtek ki az aminoglikozidok ellen az aminoglikozid-modifikáló enzimnek köszönhetően [39]. Először 1979-ben, majd 1983-ban több alkalommal számoltak be az USA-ban magas szintű gentamicin-rezisztenciáról *E. faecalis* fertőzéseknél, és azóta is töretlen a rezisztens törzsek terjedése az egész világon [60]. A magas szintű aminoglikozid rezisztencia (HLAR) esetén nincs megfelelő aminoglikozid-terápia *Enterococcus* fertőzések ellen, mert a többi klinikailag elérhető aminoglikoziddal szemben is rezisztensek [61]. A csoport egy újabb tagja, az arbekacin, amelyet eredetileg meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) fertőzések kezelésére alkalmaztak az utóbbi két évtizedben a Távol-Keleten, ígéretesnek tűnik *Enterococcus* fertőzéseknél is, mert az aminoglikozid inaktíváló enzimek nem hatnak rá. Ampicillinnel kombinálva *in vivo* és *in vitro* is szinergista hatást mutatott magas szintű aminoglikozid-rezisztens *Enterococcus* törzsek ellen [62]. Egy tanulmányban az ampicillin-érzékeny és magas szintű aminoglikozid-rezisztens *E. faecalis* okozta endokarditisz kísérleti nyúlmodelljében vizsgálták az ampicillin-arbekacin kombináció hatékonyságát, összehasonlítva az ampicillin, illetve az ampicillin-gentamicin kombináció hatékonyságával. Azt találták, hogy az ampicillin és az arbekacin szignifikánsabban csökkentette az átlagos baktériumszámot, mint a másik két vizsgált terápiás lehetőség [63].

Két kutatásban is vizsgálták a florfenikollal és linezollal szembeni rezisztenciát állatokból származó *Enterococcus* izolátumoknál. Mindkét esetben hasonló eredmények születtek, miszerint a minták kb. 77%-a volt rezisztens a florfenikolra, illetve kb. 10%-a linezolidra [64]. Azon izolátumok nagy része, amelyek ellen a florfenikol hatástalan volt, többek között klóramfenikolra, eritromicinre, klaritromicinre és tetraciklinre sem voltak érzékenyek [65].

Egy 2015-ös lengyel tanulmányban baromfiból származó *Enterococcus* törzsek előfordulását és rezisztenciaprofilját vizsgálták. A brojlerekből, tojótúrákból, pulykákból és ludakból származó minták 30%-ából mutattak ki *Enterococcus* fajokat. Az összes izolált *Enterococcus* törzs minimum két antibiotikummal szemben mutatott rezisztenciát. Magas szintű (>50% rezisztens) rezisztenciát figyeltek meg trimetoprim-szulfametoxazol (88%), tilozin (71,4%), enrofloxacin (69,4%), doxiciklin (67,3%) és linkomicin/spektinomycin (56,1%) ellen az összes mintában, amíg a minták pár százaléka közepes mértékű érzékenységet mutatott enrofloxacinra (6,7%), florfenikolra (3,3%), doxiciklinre (3%) és tilozinra (2,3%). Alacsony szintű (<25%) rezisztenciát találtak vankomicinnel (0,11%), amoxicillinnel (4%) és amoxicillin-klavulánsavval (4,5%) szemben. Az utóbbi két szerrel szembeni rezisztencia csak *E. faecalis* és *E. faecium* esetében volt jelen [22].

2011-ben jelent meg egy vizsgálat, amelyben malacokból származó *Enterococcus* izolátumok rezisztenciáját vizsgálták antimikrobiális szerekkel és nehézfémekkel szemben. A kutatásban a következőket használták: ampicillin, avilamicin, avoparcin, bacitracin, flavofoszfopul, gentamicin, narazin, tetraciklin, tiamulin, tilozin, vancomycin, virginiamicin, réz és cink. A rezisztencia mértéke fajonként változott, de minden minta rezisztens volt tetraciklinre és tilozinra, illetve érzékenységet mutatott ampicillinre, avilamicinre, avoparcinra, gentamicinre és narazinra. Habár a cink rezisztencia csak az *E. faecalis* baktériumnál fordult elő, a bacitracin rezisztencia kevésbé volt gyakori ebben a fajban. Tiamulinnal szembeni rezisztencia az *E. casseliflavus* kivételével minden fajban megjelent [66].

2020-ban egy Georgia államban (Egyesült Államok) végzett kutatásban felszíni vizekből vett mintákból *Enterococcus* izolátumok antimikrobiális rezisztenciáját vizsgálva az az eredmény született, hogy az izolált *Enterococcus* törzsek fajtól függetlenül majdnem 90%-os rezisztenciát mutattak a linkomicinnel szemben [67].

Egy 2022-ben publikált tanulmányban előzetesen gyógyszeres kezelésben részesített tojótyúk állományokban a tojások héjáról származó *Enterococcus* fajok rezisztenciaprofilját mérték fel. Az *E. faecalis* izolátumok majdnem mindegyike rezisztens volt neomicin hatóanyaggal szemben, de kb. 80%-os rezisztenciát figyeltek meg enrofloxacin, linkomicin, doxiciklin és tetraciklinekkel szemben is. Valamennyi *E. faecium* minta ellenálló volt neomicinnel szemben, illetve 95,8% az enrofloxacin, 83,3% a doxiciklin és a tetraciklinek, 58,3% pedig a linkomicin ellen mutatott rezisztenciát. Az *E. gallinarum* minták közül csupán egy darab volt érzékeny a linkomicinre, miközben az *E. avium* izolátumok esetén majdnem 92% volt az érzékenység. Az enrofloxacin elleni magas arányú rezisztenciát magyarázhatja, hogy baromfi fertőzéseinek a kezelésére elég gyakran választott hatóanyag. A vizsgált szerek közül a linkomicinnél volt a legalacsonyabb a rezisztenciaindex. Ennek oka, hogy számos országban még nem tiltották be a porfilaktikus és takarmány-értékesítést javító kisdózisú alkalmazását. Ezenkívül a multidrug-rezisztencia is jelentős volt a mintákban, mert az *E. faecalis* és az *E. faecium* esetében is az izolátumok kb. 60%-ából mutattak ki legalább négy antibiotikum csoport elleni rezisztenciát. Az eredményeket összegezve kijelenthető, hogy a takarmányhoz adott antimikrobiális szerek rezisztenciát indukálhatnak a tojáshéjon megtalálható *Enterococcus* fajokban, amely egyrészt termeléssel kapcsolatos problémát okozhat, másrészt pedig kapcsolatban állhat az ellenálló törzsek környezeti terjedésével [68].

A kolisztin egy „last resort” antibiotikum, amelynek túlzott alkalmazása kolisztin-rezisztens baktériumok kialakulásához vezet. Egy indiai tanulmányban, ahol az élelmiszertermelő haszonállatokból izolált tejsavtermelő baktériumok potenciális kolisztin rezisztenciáját kutatták, azt találták, hogy az *Enterococcus* fajok 18%-a ellenálló a kolisztinnel szemben [69].

A vad *Enterococcus* törzsek *in vitro* vizsgálatok alapján érzékenyek lehetnek a trimetoprim-szulfametoxazol kombinációra, de állatmodelleken végzett fertőzéseknél nem hatásos ez a kezelés, vagyis *in vivo* rezisztencia figyelhető meg a potenciált szulfonamidokkal szemben. Ennek magyarázata lehet, hogy az *Enterococcus* törzsek képesek kikerülni a gyógyszer által blokkolt folsavsintézis lépéseit azáltal, hogy a környezetből folsavat vesznek fel [70].

A vankomicin az első klinikai alkalmazását követően mintegy 30 évig általános hatékonyságot mutatott az *E. faecalis* és az *E. faecium* ellen, majd a nyolcvanas években indukálható, magas szintű rezisztenciával rendelkező törzsek jelentek meg Európában és az

Egyesült Államokban is [39]. A plazmid által közvetített rezisztencia olyan operonok megszerzésének az eredménye, amelyek megváltoztatják a peptidoglikán prekurzorok szerkezetét. Ennek során az UDP-MurNAc pentapeptidben a terminális D-alanin helyére D-laktát kerül, amely csökkenti a vankomicin kötődésének affinitását [71]. Egy ausztrál brojlercsirkékből származó *Enterococcus* fajokat vizsgáló kutatásban rezisztenciát figyeltek meg néhány humán szempontból fontos antibiotikummal szemben, azonban a gentamicin és a vankomicin ellen nem mutattak ki klinikai rezisztenciát [72]. 2022-ben egy maláj tanulmányban a VRE prevalenciáját vizsgálták metaanalízissel az országban 2001-2020 között megjelent cikkek alapján, és azt találták, hogy a vizsgált minták közel egy negyedében (24%) jelen volt a VRE [73].

2015-ben egy német kutatásban rutin bakteriológiai vizsgálat során klinikai tüneteket mutató baromfiállományokból gyűjtött *Enterococcus* minták érzékenységi profilját vizsgálták, és nem találtak VRE törzseket. Emellett minden *E. faecalis* izolátum érzékeny volt ampicillinre, amoxicillin-klavulánsavra és penicillinre. Magas szintű rezisztenciát figyeltek meg linkomicin és tetraciklin ellen az *E. faecalis* és az *E. faecium* mintákban egyaránt. A legmagasabb AMR prevalenciát hízópulykákból származó *Enterococcus* törzseknél mutatták ki, és ebben a fajban volt a legmagasabb a multirezisztens törzsek aránya (42%) is [74].

A gyakori antibiotikum használat – mind az emberek, mind az állatok körében – a rezisztencia széles körű elterjedéséhez vezetett. Jelenleg már HLAR, VRE és linezolid-rezisztens *Enterococcus* (LRE) törzseket is izoláltak kórházakból, aminek fényében egyre sürgetőbb, hogy új és hatékony szereket találjunk a rezisztens baktériumok ellen. Ilyen alternatív megoldás lehet például a fahéjsav (és szintetikus származékai), amelynek széleskörű biológiai aktivitását több kutatásban is bizonyították [75–77]. Míg a fahéjsav antimikrobiális aktivitása alacsony, a szintetikus származékoké erősebb a baktériumokkal szemben, ezáltal a 4-klór-2-merkaptobenzol-szulfonamid résszel rendelkező mesterségesen előállított fahéjsav-származékok potenciális terápiás lehetőséget nyújtanak klinikai HLAR és VRE *Enterococcus* fertőzésekkel szemben [78].

3. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásunk célja, hogy felmérjük Magyarország nagylétszámú pulyka állományaiából izolált kommenzalista *Enterococcus* törzsek állat- és közegészségügyi szempontból fontos antibiotikum hatóanyagokkal szembeni érzékenységi profilját. A reprezentatív módon gyűjtött minták hatóanyagonkénti minimális gátló koncentráció (MIC) értékeinek meghatározását követően elkészítettük a kapott értékek gyakorisági táblázatát, kiszámoltuk a MIC₅₀ és MIC₉₀ értékeket, valamint indikatív *epidemiological cut-off value* (ECOFF) értékeket határoztunk meg. Végezetül célul tűztük ki, hogy a magyarországi kórházi rezisztencia adatokkal összehasonlítsuk az eredményeinket.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A minták eredete

Magyarországi nagylétszámú baromfitelepekről reprezentatív módon gyűjtöttünk kommenzalista törzseket 2022. februárja és 2023. júniusa között. A mintákat egészséges állatokból gyűjtötték, egyedi azonosítószámot kaptak, és feljegyeztük, hogy mely szervből (légcső vagy kloáka), mely településről, vármegyéből és régióból származtak, illetve az állomány hasznosítását (hús, tojás, tenyész), életkorát (növendék, felnőtt) és nagyságát (1-1000, 1001-5000, 5001-50000, 50001-100000, >100001) is rögzítettük. Emellett kérdőív segítségével nyomon követtük a telepek antibiotikum felhasználását (milyen szereket, milyen módon, mennyi ideig, milyen kórokozónál), a felbukkanó betegségeket, illetve az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok gyakoriságát.

4.2. A törzsek izolálása

Minden egyes esetben 15 db légcső és 15 db kloáka mintát vettünk, Amies-típusú (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország), szénmentes, normál alumínium pálcás mintavevő pálcával. A minták begyűjtését követően M-Enterococcus Agar, Modified (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) segítségével izoláltuk a törzseket. Végül az izolátumokat Tripton-szója agarra (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország) átoltottuk, majd 18-24 órás 41 °C-os inkubálás után a színtenyészeteket Microbank™ rendszerben (Pro-Lab Diagnostics, Richmond Hill, Kanada) -80 °C-on lefagyasztottuk további felhasználásig.

4.3. A hatóanyag törzsoldatok elkészítése

A vizsgált hatóanyagokból (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) a törzsoldatot a CLSI iránymutatása alapján állítottuk elő [79]. Az amoxicillin és amoxicillin-klavulánsavat 2:1 arányban (pH 7,2, 0,01 mol/L), az imipenemet (pH 6, 0,1 mol/L) foszfát pufferoldatban készítettük el. A ceftriaxont, doxiciklint, spektinomicint, neomicint, kolisztint, tiamulint, tilozint, linkomicint és vankomicint desztillált vízben oldottuk fel. A potenciált szulfonamid esetén trimetoprim és szulfametoxazol 1:20 arányú oldatát készítettük el, utóbbit forró vízben pár csepp 2,5 mol/l NaOH hozzáadásával oldottuk fel. Előbbit 0,05 mol/l HCl-dal desztillált vízben elegyítettük. Az enrofloxacinhoz néhány csepp 1 mol/l NaOH-oldatot adva, azt desztillált vízben oszlattuk el. A florfenikol feloldásához pár csepp 95%-os etanolt és desztillált vizet használtunk. A vizsgálatokhoz 1024 µg/ml koncentrációjú törzsoldatokat hoztunk létre, figyelembe véve az egyes hatóanyagok gyártója által megadott tisztaságot.

4.4. A minimális gátló koncentráció meghatározása

A rezisztencia fenotípusos kifejeződését MIC értékek meghatározásával végeztük, a *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI) módszertana szerint [79]. A breakpointokat itt is a CLSI iránymutatása alapján [79] határoztuk meg, valamint az *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) által meghatározott ECOFF értékekkel is összehasonlításra kerültek. Neomicin esetén *Enterococcus* fajokra kizárólag húskészítményeket vizsgáló tanulmány során találtunk töréspontot 1024 µg/ml értékkel [80]. Tilozin kapcsán szintén szakirodalom alapján találtunk csak töréspontot, 8 µg/ml értékkel [81].

A -80 °C-on lefagyasztott baktériumtörzseket a vizsgálatot megelőző napon 3 ml *cation adjusted* Müller-Hinton levesbe (CAMHB) szuszpendáltuk, ezt követően pedig 18-24 órán át 37 °C-on inkubáltuk. A vizsgálatokhoz 96 lyukú mikrotiter lemezeket (VWR International, LLC., Debrecen, Magyarország) használtunk. A mikrotiter lemezek első oszlopának kivételével minden lyukat 90 µl CAMHB-vel töltöttünk fel. A vizsgált hatóanyagok (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) 1024 µg/ml törzsoldatát a CLSI útmutatása alapján készítettük el [79]. A törzsoldatot táplevessel felesben hígítva 512 µg/ml oldatot állítottunk elő, amelyből 180 µl-t mértünk ki a munkalemezekre az első oszlopba, ezután 2-es alapú hígítási sort készítettünk belőle. A mikrotiter lemez 10. oszlopa után a felesleges 90 µl oldatot kidobtuk, ezáltal az összes oszlop 90 µl oldatot tartalmazott. Nefelometer használatával (Thermo Fisher Scientific, Budapest, Magyarország) 0,5 McFarland értékre beállított baktérium szuszpenzióból a mikrotiter lemezekre a 11. oszloptól visszafelé haladva minden lyukba 10 µl-t oltottunk [79]. Az értékelést Sensititre™ SWIN™ automatic MIC reader (Thermo Fisher Scientific, Budapest, Magyarország) és VIZION system software vs. 3.4 (Thermo Fisher Scientific, Budapest, Magyarország, 2024) felhasználásával végeztük. A referencia izolátum *Escherichia coli* (ATCC 25922) volt.

4.5. Indikatív ECOFF érték meghatározása

Az indikatív ECOFF értékeket az ECOFFinder [82] program alkalmazásával állapítottuk meg. A 99%-os küszöbérték azt jelenti, hogy a MIC érték a modellezett vad típusú populáció 99%-át lefedi, ezáltal növelve a vad típusú populációra vonatkozó specificitást.

A MIC értékek alapján egy gyakorisági táblázatot készítettünk a vizsgált hatóanyag koncentráció tartományában (1024–0,001 µg/ml). Az adatbevitelnél meg kellett adni a

baktériumfaj és a vizsgált antibiotikum hatóanyag nevét, és jelölni kellett, amennyiben a vizsgált adatokat több MIC eloszlásból kaptuk. Emellett a megfigyelések teljes számát is rögzíteni kellett.

Az elemzés során először egy úgynevezett "Nest" kiindulási értéket kellett megadni. Ez az érték közel kell, hogy legyen az izolátumok számához, de nem lehet vele azonos. Ezt követően az ECOFFinder Excel program sablonjában található Solver makróját futtattuk. Ez a makró a megfigyelt MIC értékek alapján kiválasztja a legjobb illeszkedést biztosító részhalmazt, majd a program kiszámítja a reziduumokat, amelyek a megfigyelt számok és az illesztett görbe alapján becsült számok közötti különbségeket mutatják.

A reziduumok eloszlásának vizsgálata fontos annak meghatározásához, hogy a kiválasztott részhalmaz mennyire megbízható. Ha a reziduumok szimmetrikusan szóródnak a nulla értéket jelző vonal mindkét oldalán, akkor a részhalmaz megfelelően illeszkedik az adatokhoz. Végül a program grafikusán ábrázolja az illesztett görbét és a megfigyelt adatokat, így vizuálisan is ellenőrizhető az illeszkedés.

4.6. Statisztikai elemzések

A statisztikai vizsgálatokat az R program 4.1.0 verziójának segítségével végeztük [83]. A normális eloszláshoz Shapiro-Wilk tesztet alkalmaztunk, a normális eloszlást nem mutató adatokat nem parametrikus tesztekkel egészítettük ki. A hatóanyagokénti rezisztencia mértékében való különbségeket Kruskal-Wallis tesztetével vizsgáltuk [84]. Ez a teszt nem feltételezi az adatok normális eloszlását, de képes összehasonlítani több mintaegyüttes mediánját. Ez ideális a szempontok közötti különbségek elemzéséhez. Ezután további poszt hoc tesztet alkalmaztunk a csoportok közötti összefüggések vizsgálatához. Ehhez Mann-Whitney U tesztet [85], valamint t-tesztet alkalmaztunk, páronként minden egyes szempontot összehasonlítottunk, végül Bonferroni-korrekciónal korrigáltuk a többszörös összehasonlításból adódó inflálódott p-értékeket [86]. A Bonferroni-korrekción alkalmazásakor szem előtt kell tartani, hogy növelheti a másodfajú hiba esélyét. További korrelációs vizsgálatokat végeztünk, összefüggéseket keresve az egyes hatóanyagok között, valamint főkomponens-analízist (PCA) végeztünk [87], ami segít azonosítani a minták közötti hasonlóságokat vagy különbségeket, majd a hierarchikus klaszterelemzést végeztünk dendrogram segítségével. Ez az ábra vizuálisan reprezentálja a minták közötti távolságokat és a klaszterezés hierarchiáját [88]. A korrelációs vizsgálatok során az együttható (-1 és 1 közötti érték) azt mutatja meg, hogy két változó (esetünkben két antibiotikum rezisztenciája)

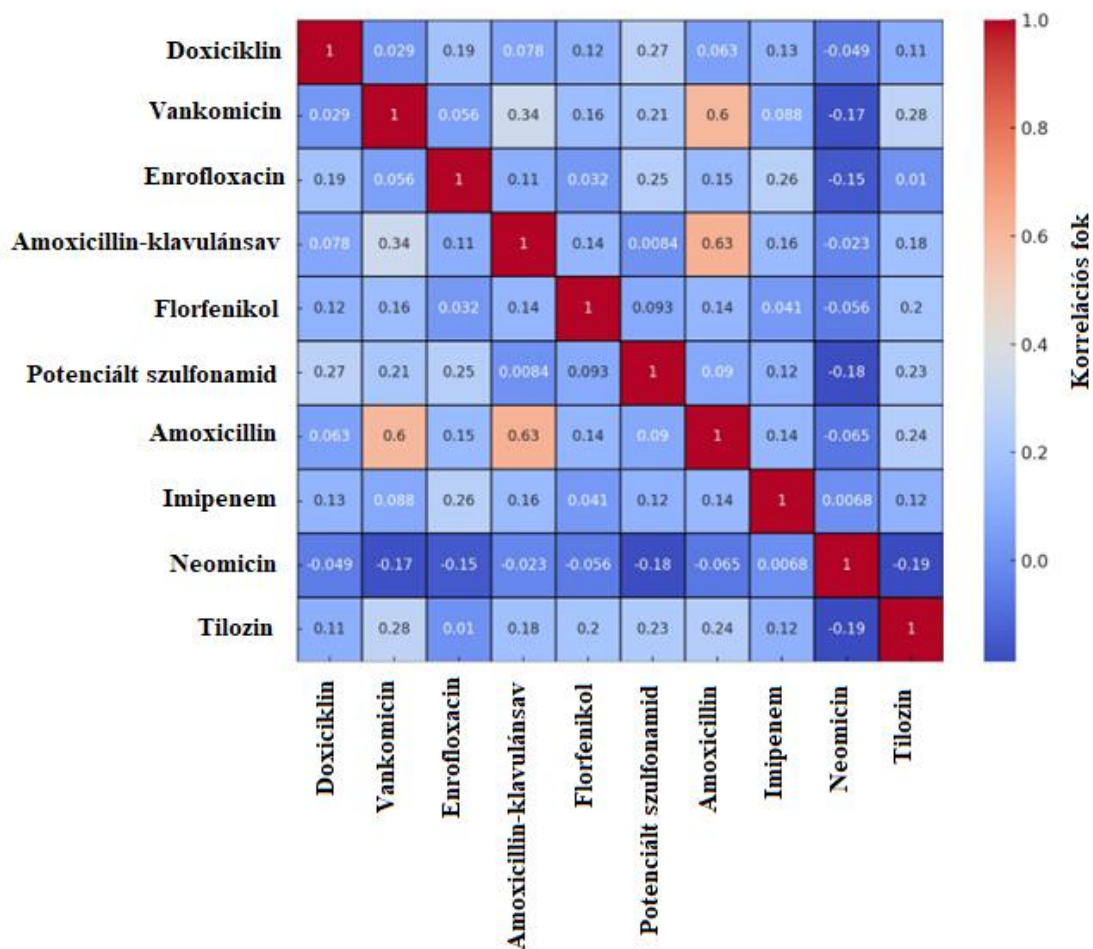
milyen mértékben változik együtt. Amennyiben ez az érték 1, akkor tökéletes pozitív a korreláció. Ha az egyik antibiotikumra rezisztens egy minta, akkor a másokra is biztosan rezisztens. Amennyiben ez az érték 0, akkor nincs korreláció. Amennyiben ez az érték -1, akkor tökéletes negatív a korreláció.

5. EREDMÉNYEK

Összesen 470, pulykából izolált kommenzalista *Enterococcus* törzs érzékenységi vizsgálatát végeztük el, 15-féle állat- és közegészségügyi szempontból jelentős antibiotikum hatóanyagra. A minták megoszlását tekintve azok 12,9%-a az észak-alföldi, 15,7%-a a dél-alföldi, 17,7%-a a közép-magyarországi, 15,7%-a a nyugat-dunántúli, 14,9%-a a dél-dunántúli, 11,5%-a az észak-magyarországi és 11,5%-a a közép-dunántúli régióból származott. A minták 47,4%-a légúti, 52,6%-a pedig kloáka minta volt. A minták 70,6%-a húshasznú állományból és 29,4%-a tenyész telepekről került ki. A minták 86,4%-a származott kisebb méretű telepről (5001-50 000), 13,6%-a pedig nagyobb méretű telepről (50 001-100 000). Összesen 10 olyan hatóanyag volt, amelyek esetén rendelkezésre állt CLSI töréspont vagy szakirodalmi adat. Ezek esetén a hatóanyagoként meghatározott rezisztencia mértékét hatóanyagoként korrelációs vizsgálatnak vetettük alá, majd azt hőtérképen ábrázoltuk (**1. ábra**).

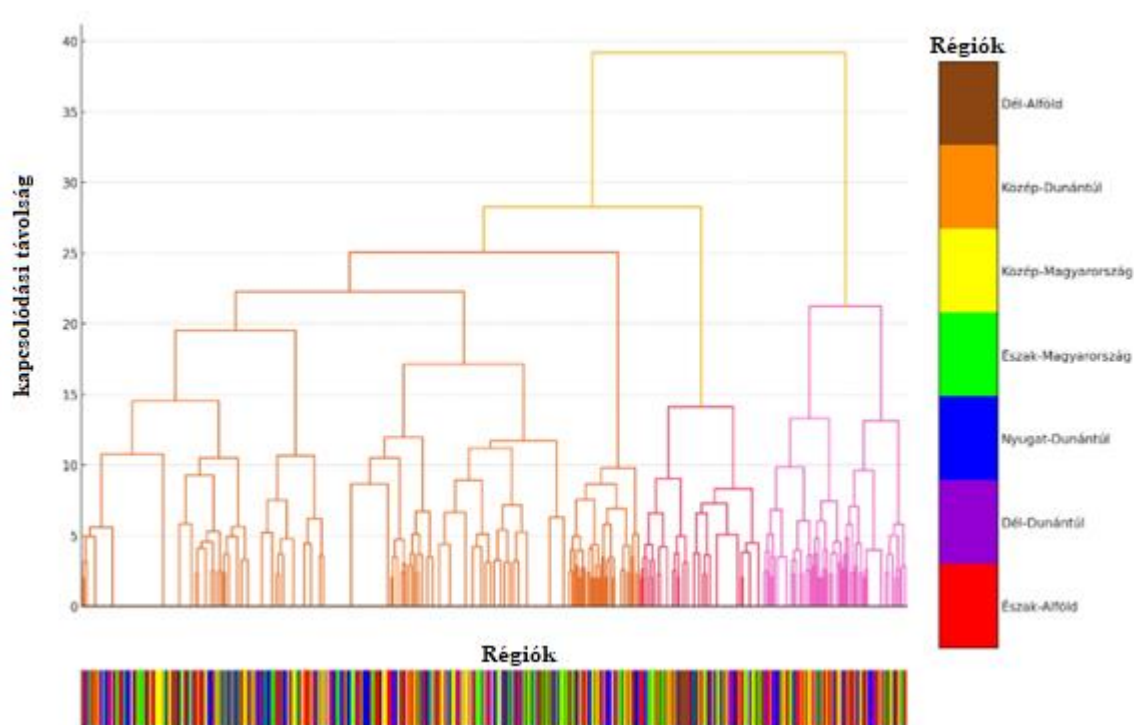
Az amoxicillin és az amoxicillin-klavulánsav között viszonylag magas pozitív korrelációt figyeltünk meg (0,63), ami arra utal, hogy ha egy minta rezisztens az egyikre, akkor valószínű, hogy a másikra is rezisztens lesz. Hasonlóképpen, az amoxicillin és a vankomicin között is pozitív korreláció (0,60) volt. A leginkább negatív korreláció a neomicin és a tilozin között (-0,19) volt megfigyelhető, továbbá meg kell még említeni a neomicin és a potenciált szulfonamid közötti (-0,18), valamint a neomicin és a vankomicin közötti (-0,17) negatív korrelációt is.

Azoknak az antibiotikumok együttes alkalmazása, amelyek között erős pozitív korreláció van, kevésbé lehet hatékony, mivel egy rezisztens baktérium mindkettőre ellenálló lehet. Az antibiotikumok közötti korrelációs mátrix segíthet az optimális antibiotikum-kombinációk kiválasztásában, minimalizálva a rezisztencia kockázatát. Az eredmények segítenek megérteni a rezisztencia terjedésének mintázatait, és célzottabb megelőző intézkedések bevezetését teszik lehetővé.



1. ábra A pulykából izolált *Enterococcus* törzsek (n=470) egyes hatóanyagokkal szembeni rezisztencia mértékének korrelációs hő térképe. A hő térkép a korrelációs együtthatókat színes blokkokkal ábrázolja, ahol a piros árnyalatok pozitív korrelációt, a kék árnyalatok pedig negatív korrelációt jelentenek. Minél erősebb a szín, annál erősebb a korreláció.

Az egyes minták különböző klaszterekbe csoportosulnak a rezisztencia mintázatok alapján. A klaszterek közelsége azt jelzi, hogy a minták hasonló rezisztencia profillal rendelkeznek. Az Y tengelyen a távolság (*distance*) látható, amely a minták közötti különbség mértékét jelzi. Minél kisebb a távolság, annál hasonlóbbak a minták rezisztencia mintázatai. Az alacsonyabb távolságoknál (az alsó részen) található minták nagyon hasonlóak, míg a magasabb távolságoknál (a felső részen) található klaszterek jobban különböznek (**2. ábra**).

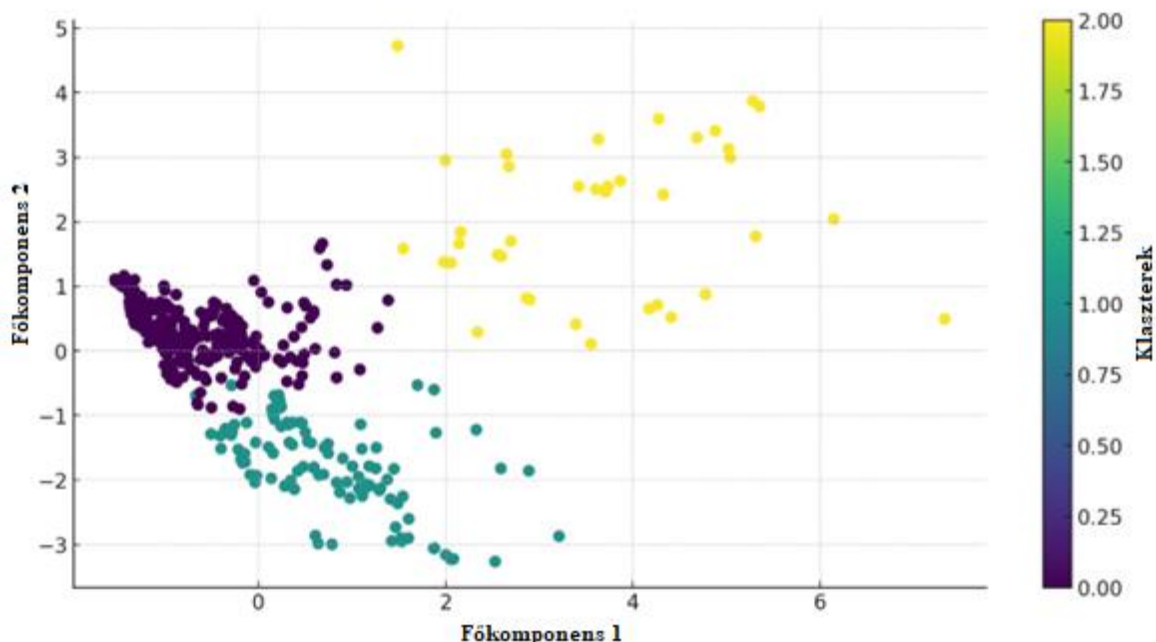


2. ábra Klaszterelemzést követő dendrogram törzsenként ábrázolva, az antimikrobiális rezisztencia profil és az egyes klaszterek távolsága szerint. A különböző színek a klaszterek vizuális elkülönítését segítik.

Három klasztert azonosítottunk, amelyek méretei a következők: klaszter 0 esetén 272 minta, klaszter 1 esetén 153 minta, klaszter 2 esetén pedig 45 minta. A klaszter 0 régiók szerint egyenletes mintaelemszám eloszlást mutat egy régió kivételével, ahol nagyon alacsony volt a mintaelemszám (Dél-Dunántúl), a klaszter 1 esetén kiugró volt a mintaelemszám a közép-magyarországi régióban, viszont nem származott minta az észak-magyarországi régióból, a klaszter 2 esetén pedig a dél-alföldi és a dél-dunántúli régiók tartalmaztak kiugró mintaelemszámot. A klaszterek jellemzői jelentős eltéréseket mutatnak az antibiotikum-rezisztencia mintázatokban. A klaszterek jól elkülönülnek a főkomponens-analízis során (PCA), a dendrogram (**3. ábra**) pedig segít megérteni a hierarchikus struktúrát. A klaszterek régiók szerinti eloszlása változó, ami földrajzi különbségekre utalhat az antibiotikum-rezisztencia elterjedésében.

Amennyiben hatóanyagokként vizsgáljuk a rezisztencia mintázatot, akkor a doxiciklin, potenciált szulfonamid, enrofloxacin, imipenem antibiotikumok közel helyezkednek el egymáshoz, ami arra utal, hogy a rezisztencia mintázatok között hasonlóság van. A florfenikol és a tilozin hatóanyagok szintén egy csoportba kerültek, tehát ezek között is hasonló volt a rezisztencia mintázat. A harmadik klaszterbe az amoxicillin, amoxicillin-klavulánsav és a vankomicin hatóanyagok kerültek. Azok az antibiotikumok, amelyek közel

helyezkednek el egymáshoz a ploton, hasonló rezisztencia mintázatokat mutatnak. Ez az ábrázolás segít a rezisztencia mintázatok jobb megértésében és a kezelési stratégiák optimalizálásában.



3. ábra Főkomponens elemzést követően az adatok három klaszterbe sorolása. Az egyes színek a különböző klaszterekbe (lila - 0, zöld - 1, sárga - 2) sorolt mintákat ábrázolják.

Elvégeztük a statisztikai elemzést hatóanyagokként a rezisztencia mértékére a mintavétel (légúti, kloáka), a hasznosítás (hús, tenyész), a korcsoport (növevény, felnőtt) és az állomány (5001-50 000; 50 001-100 000) tekintetében (**1. táblázat**). A legkevésbé a mintavétel forrása volt meghatározó, ebben az esetben csak a doxiciklin és az imipenem hatóanyagokkal szembeni rezisztencia mértéke között volt szignifikáns különbség. Ugyanolyan mértékben meghatározó volt azonban a hasznosítás típusa és az életkor, ezek esetében csak a doxiciklin, az enrofloxacin és a potenciált szulfonamid esetén nem volt szignifikáns a különbség. Az állomány mérete kevésbé volt meghatározó. Ezen szempontok összehasonlítása során kétmintás t-próbát (independent t-test) alkalmaztunk. A t-próba feltételezi, hogy a minták normál eloszlást követnek. Ahol nem követték a normál eloszlást, ott Mann-Whitney U-tesztet alkalmaztunk. Bár az antibiotikum-rezisztencia adatok esetében ez nem mindig teljesülhet, a t-próba robusztus módszer kisebb eltérésekkel szemben is. A nullhipotézisünk (H_0) minden esetben az volt, hogy nincs különbség a két csoport átlagos rezisztencia aránya között. Az alternatív hipotézisünk (H_1) pedig az volt, hogy van különbség a két csoport átlagos rezisztencia aránya között.

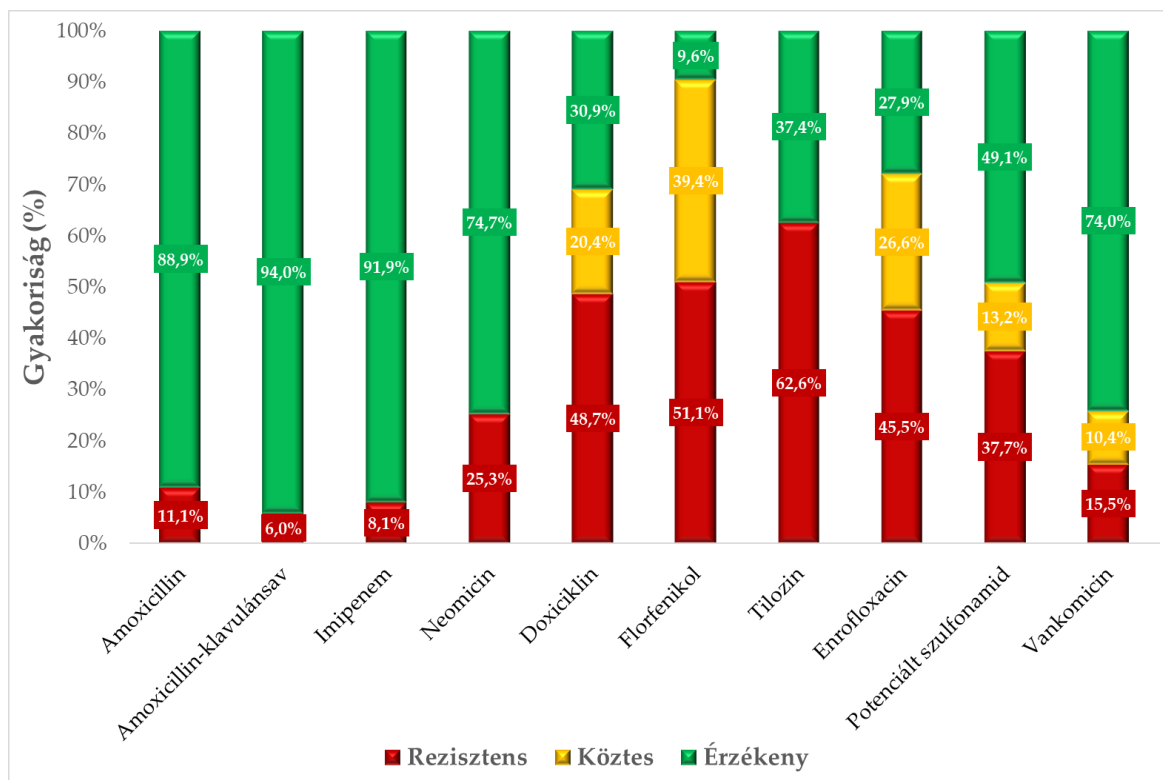
1. táblázat A mintavétel (légúti, kloáka), a hasznosítás (hús, tenyész), a korcsoport (növendék, felnőtt) és az állomány (5001-50 000; 50 001-100 000) szerint hatóanyagokénti rezisztencia statisztikai vizsgálata.

Hatóanyag	Légúti-kloáka	Hús-tenyész	Növendék-felnőtt	¹ Kicsi-közepes
Doxiciklin	0,0020*	0,2439	0,2439	0,7508
Vankomicin	0,2667	<0,0001*	<0,0001*	0,0031*
Enrofloxacin	0,4012	0,2107	0,2107	<0,0001*
Amoxicillin- klavulánsav	0,6169	0,0019*	0,0019*	0,1105
Florfenikol	0,6949	0,0063*	0,0063*	0,5336
Potenciált szulfonamid	0,1269	0,1423	0,1423	<0,0001*
Amoxicillin	0,6966	<0,0001*	<0,0001*	0,0294*
Imipenem	0,0887*	0,0109*	0,0109*	0,0106*
Neomicin	0,4533	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*
Tilozin	0,1241	0,0001*	0,0001*	0,2714

¹kicsi: 5001-50 000; közepes: 50 001-100 000; *szignifikáns különbség

A rendelkezésre álló töréspontok alapján 10-féle hatóanyagra határoztuk meg a törzsek rezisztencia profilját (**4. ábra**). A törzsek többsége az általuk okozott fertőzések kezelésében elsődlegesen választható amoxicillin hatóanyagra megőrizte érzékenységét, a hatóanyaggal szembeni rezisztencia 11,1%-os volt. Jelentős mértékű volt a rezisztencia a tilozin (62,6%), a florfenikol (51,1%), a doxiciklin (48,7%) és az enrofloxacin (45,5%) hatóanyagokkal szemben. A vankomicin hatóanyaggal szembeni 15,5%-os rezisztencia viszont aggasztó mértékű.

Elkészítettük az egyes hatóanyagok esetén kapott MIC értékek gyakorisági táblázatát (**2. táblázat**), továbbá kiszámoltuk a hatóanyagok MIC₅₀ és MIC₉₀ értékét, illetve amennyiben rendelkezésre állt az EUCAST által meghatározott ECOFF érték, úgy azt is feltüntettük. A MIC₅₀ az az antibiotikum koncentráció, amely a vizsgált bakteriális populáció 50%-ának növekedését gátolja. A MIC₉₀ az az antibiotikum koncentráció, amely a vizsgált bakteriális populáció 90%-ának növekedését gátolja. Mind a MIC₅₀ és MIC₉₀ érték a klinikai töréspont alatt maradt imipenem és amoxicillin-klavulánsav esetén. A MIC₅₀ érték nem haladta meg a klinikai töréspontot neomicin, doxiciklin, vankomicin, amoxicillin, enrofloxacin és potenciált szulfonamid esetén. A vizsgált hatóanyagok közül az ECOFF érték alatt volt az imipenem és vankomicin hatóanyagok MIC₅₀ értéke.



4. ábra A pulykából izolált *Enterococcus* törzsek (n=470) antimikrobiális érzékenységi profilja.

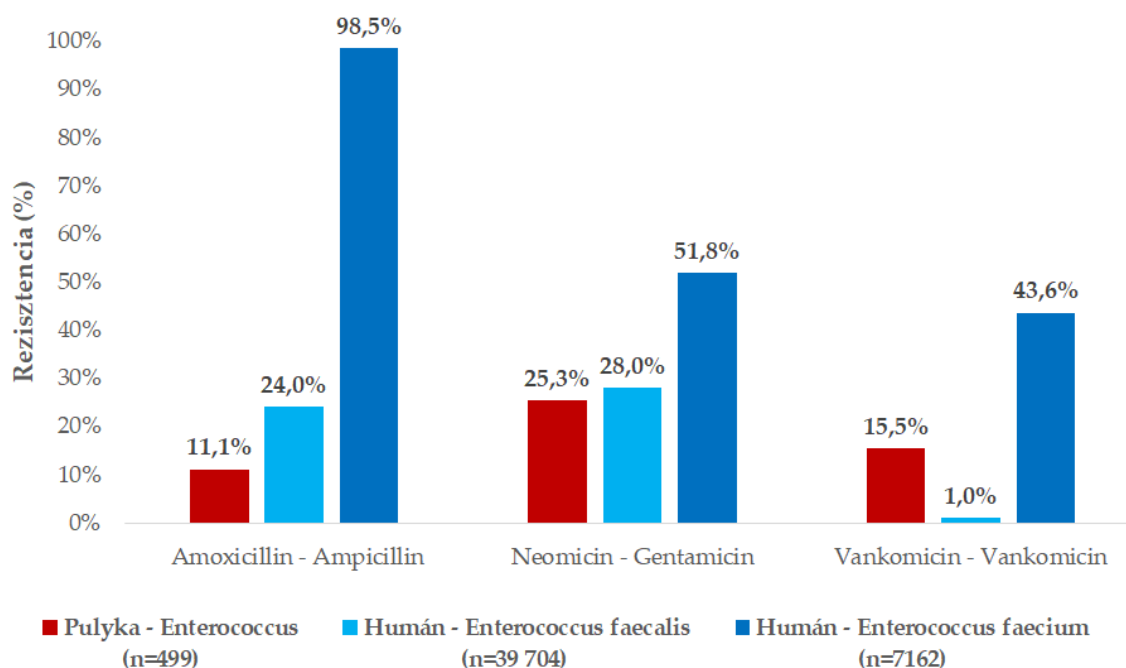
Az ECOFF egy olyan érték, amely megkülönbözteti a vad típusú (rezisztenciamechanizmus nélküli) mikroorganizmusokat azoktól, amelyek bizonyos fokú rezisztenciát mutatnak. Az ECOFF érték segít azonosítani azokat a mikroorganizmusokat, amelyek rezisztencia mechanizmusokat szereztek meg. Ez különösen fontos az antibiotikum-rezisztencia terjedésének nyomon követésében. Meghatározza azt a határt, amely alatt az antibiotikumra érzékeny vad típusú populációk találhatóak. Az ezen érték fölötti mikroorganizmusok valószínűleg rezisztencia mechanizmusokkal rendelkeznek. Ez egy nem klinikai töréspont, segíthet a laboratóriumi eredmények értelmezésében, és kiegészítheti a klinikai töréspontokat. Ez alapján megállapíthatjuk, hogy a vizsgált törzsek 76,8%-a imipenem esetén valószínűleg vad-típusú, ez az arány neomicin esetén 44,7%-os, doxicklin esetén 6,6%-os, florfenikol esetén 9,6%-os és vankomicin esetén 73,8%-os volt.

2. táblázat A pulyka eredetű *Enterococcus* minták (n=470) törésponttal rendelkező hatóanyagok vizsgálata során kapott minimális gátló koncentráció (MIC) értékeinek gyakorisági táblázata. Minden hatóanyag felső sorában a darabszám, alsó sorában annak százalékos aránya látható. A piros függőleges vonalak a klinikai töréspontokat jelölik.

Antibio- tikum	¹ BP*	0,001	0,002	0,004	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	MIC ₅₀	MIC ₉₀	² ECOFF	³ T
	µg/ml																									
	µg/ml																									
Imipenem	¹ 16	15 3,2%	0 0,0%	1 0,2%	9 1,9%	7 1,5%	6 1,3%	8 1,7%	6 1,3%	20 4,3%	78 16,6%	126 26,8%	85 18,1%	40 8,5%	31 6,6%	24 5,1%	3 0,6%	1 0,2%	6 1,3%	1 0,2%	2 0,4%	1 0,2%	1	8	4	32
Neomicin	1024									2 0,4%	1 0,2%	6 1,3%	10 2,1%	8 1,7%	17 3,6%	10 2,1%	26 5,5%	62 13,2%	68 14,5%	67 14,3%	74 15,7%	119 25,3%	256	1024	256	-
Doxiciklin	¹ 16					1 0,2%	2 0,4%	0 0,0%	17 3,6%	9 1,9%	2 0,4%	37 7,9%	25 5,3%	52 11,1%	96 20,4%	126 26,8%	64 13,6%	39 8,3%					8	32	1	512
Florfenikol	¹ 8									2 0,4%	6 1,3%	37 7,9%	185 39,4%	141 30,0%	46 9,8%	12 2,6%	24 5,1%	16 3,4%	0 0,0%	1 0,2%			8	32	8	16
Vankomicin	¹ 32					1 0,2%	0 0,0%	5 1,1%	8 1,7%	20 4,3%	130 27,7%	183 38,9%	1 0,2%	43 9,1%	6 1,3%	5 1,1%	2 0,4%	7 1,5%	29 6,2%	12 2,6%	18 3,8%	2	256	4	16	
Amoxicillin	¹ 16	1 0,2%	0 0,0%	0 0,0%	1 0,2%	3 0,6%	4 0,9%	4 0,9%	20 4,3%	49 10,4%	96 20,4%	132 28,1%	59 12,6%	38 8,1%	11 2,3%	4 0,9%	6 1,3%	3 0,6%	6 1,3%	12 2,6%	10 2,1%	11 2,3%	1	32	-	8
⁴ Amoxi- cillin- klavulánsav	¹ 16	2 0,4%	0 0,0%	0 0,0%	1 0,2%	3 0,6%	5 1,1%	3 0,6%	14 3,0%	43 9,1%	102 21,7%	110 23,4%	92 19,6%	53 11,3%	14 3,0%	10 2,1%	12 2,6%	5 1,1%	1 0,2%				1	4	-	8
Tilozin	8					1 0,2%	0 0,0%	2 0,4%	2 0,4%	4 0,9%	71 15,1%	72 15,3%	24 5,1%	13 2,8%	7 1,5%	1 0,2%	3 0,6%	9 1,9%	26 5,5%	74 15,7%	161 34,3%	256	1024	-	-	
Enro- floxacin	¹ 4				1 0,2%	7 1,5%	15 3,2%	3 0,6%	2 0,4%	21 4,5%	82 17,4%	91 19,4%	34 7,2%	61 13,0%	47 10,0%	31 6,6%	24 5,1%	27 5,7%	11 2,3%	8 1,7%	3 0,6%	2 0,4%	2	64	-	64
⁵ Potenciált szulfonamid	¹ 4								1 0,2%	3 0,6%	20 4,3%	44 9,4%	38 8,1%	53 11,3%	72 15,3%	42 8,9%	20 4,3%	8 1,7%	19 4,0%	13 2,8%	59 12,6%	78 16,6%	1	16	-	128

*BP – breakpoint; ¹ Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI); ² Epidemiological cut-off value (EUCAST); ³ tentatív ECOFF; ⁴ 2:1 arány; ⁵ trimetoprim-szulfametoxazol 1:19 arány

Az eredményeinket a humán rezisztencia adatokkal is volt lehetőségünk összehasonlítani (**5. ábra**). A pulyka eredetű törzsek esetén amoxicillinre jóval alacsonyabb volt a rezisztencia mértéke, mint ampicillinre a humán törzseknél. Neomicin esetén a pulyka eredetű törzseknél nagyon hasonló rezisztenciát tapasztaltunk, mint amilyen a rezisztencia mértéke volt gentamicinre a humán *Enterococcus faecalis* törzseknél. Vankomicin hatóanyagra pulyka eredetű törzseknél 15,5%-os rezisztenciát tapasztaltunk, ami jóval nagyobb, mint a humán *E. faecalis* törzseknél megfigyelt 1%-os rezisztencia, azonban jócskán alacsonyabb, mint a humán *E. faecium* törzsek 43,6%-os rezisztenciája.



5. ábra A humán és a pulykákból izolált *Enterococcus* törzsek érzékenységi profilja, a rendelkezésre álló hatóanyagok összehasonlítása alapján.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

Kutatásunk alatt 470 pulykából származó kommenzalista *Enterococcus* törzs 10-féle állat- és közegészségügyi szempontból jelentős hatóanyagokra történő érzékenységi profilját határoztuk meg. Amoxicillin esetén országos szinten 11,1%-os rezisztenciát tapasztaltunk. Woźniak-Biel és mtsai. *E. faecalis* törzseknél 17%-os, *E. faecium* törzseknél 66,7%-os rezisztenciát figyeltek meg [89], ezzel ellentétben Kempf és mtsai. nem mutattak ki rezisztenciát [90]. Makarov és mtsai. ampicillin esetén 5,9%-os rezisztenciát észleltek [91]. Amoxicillin-klavulánsav kapcsán 6%-os rezisztenciát figyeltünk meg. Az amoxicillin rezisztenciához hasonló érték egybevág azzal, hogy az *Enterococcus* fajokban általában nem termelődik β -laktamáz enzim, összehasonlító szakirodalommal azonban nem rendelkezünk, ugyanis a klavulánsavnak baromfifélék esetén nincs meghatározott maximális maradékanyag szintje (MRL). Vankomicin esetén 15,5%-os rezisztenciát tapasztaltunk, amelyhez hasonlóan Woźniak-Biel és mtsai. *E. faecalis* törzseknél 14,6%-os, *E. faecium* törzsek esetén 22,2%-os rezisztenciát figyeltek meg [89], viszont Makarov és mtsai. [91], illetve Boulianne és mtsai. nem mutattak ki rezisztenciát [92]. A fluorokinolonok közül enrofloxacinra 45,5%-os rezisztenciát tapasztaltunk, azonban ciprofloxacin esetén Woźniak-Biel és mtsai. az *E. faecalis* törzseknél 12,2%-os, míg az *E. faecium* törzseknél 77,8%-os rezisztenciát figyeltek meg [89]. Makarov és mtsai. 100%-os [91], azonban Boulianne és mtsai. szintén 12,2%-os rezisztenciát írtak le [92]. Az aminoglikozidok közül neomicinre 25,3%-os rezisztenciát mutattunk ki. Makarov és mtsai. 94,1%-os [91], ezzel szemben Boulianne és mtsai. 33,8%-os rezisztenciát észleltek [92]. A tetraciklinek közül doxiciklinre 48,7%-os rezisztenciát írtunk le, Woźniak-Biel és mtsai. tetraciklin esetén *E. faecalis* törzseknél 92,2%-os, *E. faecium* törzseknél 100%-os rezisztenciát tapasztaltak [89]. Makarov és mtsai. [91], illetve Boulianne és mtsai. szintű 100%-os rezisztenciát figyeltek meg tetraciklin kapcsán [92].

Tilozin esetén 62,6%-os rezisztenciát tapasztaltunk, ezzel ellentétben Boulianne és mtsai. 94,2%-os rezisztenciát figyeltek meg [92]. Imipenem esetén 8,1%-os rezisztenciát írtunk le, azonban pulykák tekintetében összehasonlító irodalom nem áll rendelkezésre. Roy és mtsai. brojlersírkék esetén 55,6%-os rezisztenciát állapítottak meg [93], Schwaiger és mtsai. tojóállományokban hozzánk hasonló értékeket írtak le, természetes tartástechnológia esetén 4,3%-os, konvencionális tartástechnológia esetén 5,5%-os rezisztenciáról számoltak be [94]. Florfenikol esetén 51,5%-os rezisztenciát írtunk le, azonban pulykák vonatkozásában összehasonlító irodalom itt sem áll rendelkezésre. Schwaiger és mtsai.

tojóállományokban nem észleltek rezisztens törzset [94], Osman és mtsai. azonban 83,3%-os rezisztenciát figyeltek meg [95]. Potenciált szulfonamid kapcsán 37,7%-os rezisztenciát írtunk le, Kempf és mtsai. 16,7-33,3% közötti rezisztenciát tapasztaltak [90].

A vizsgálatokból kiderült, hogy a rezisztencia mértékénél az számít a legkevésbé, hogy légszóból vagy kloákából vesszük a mintákat. Ez valószínűleg összefügghet a baromfifélék azon szokásával, hogy előszeretettel csipegetnek fel a földről dolgokat, így a földre került, bélsárral kontaminált környezetből nagy valószínűséggel ugyanazok a törzsek kolonizálják a száj-garat nyálkahártyát, mint a kloaka nyálkahártyáját. A hasznosítási típusok jelentőségét korábbi vizsgálatink során házityúk esetén mi is hasonló mértékben igazoltuk [96]. A korcsoportok közötti szignifikáns különbségek pulyka esetén a hosszú felnevelési idővel és az eltérő antibiotikum használatával függhetnek össze, a telep méret pedig kevésbé befolyásolja a különbségeket.

A humán rezisztencia adatokkal történő összehasonlítás során a pulykák esetén amoxicillinre jóval alacsonyabb volt a rezisztens törzsek aránya, mint a humán mintáknál. Egy átfogó humán tanulmány *E. faecium* törzsek esetén ampicillinre 81,8%-os medián rezisztencia értéket állapított meg [97], Zacharopoulos és mtsai. ugyanakkor 2010-2014 között 21,8%-os rezisztenciáról számoltak be, ami 2017-2021 között 0,7%-ra esett vissza [98]. Neomicin esetén 25,3%-os rezisztenciát tapasztaltunk pulykák esetén, ami nagyon hasonlóan alakult gentamicin esetén a humán *E. faecalis* törzsek esetén tapasztalt 28,0%-os rezisztenciához. Billström és mtsai. *E. faecium* törzseknél 2%-os rezisztenciát [99], Taji és mtsai. *E. faecalis* törzseknél 50,9%-os rezisztenciát figyeltek meg [100]. Vankomicin esetén 15,5%-os rezisztenciát mutattunk ki pulyka esetén, a humán *E. faecalis* esetén 1%-os, a humán *E. faecium* törzsek esetén viszont 43,6%-os volt a rezisztencia. Egy átfogó humán tanulmány *E. faecium* törzsek esetén vankomicinre 11,0%-os medián rezisztencia értéket állapított meg [97]. Egy másik átfogó humán tanulmány az Európai Unióban 2017-ben 14,9%-os, 2018-ban 17,3%-os, 2019-ben 18,3%-os rezisztenciáról számolt be [101], vagyis egy folyamatosan növekvő tendencia figyelhető meg. A pulykákból izolált törzsek és a humán törzsek összehasonlításának korlátja az eltérő mintaelemszám és a fajok elkülönítésének hiánya lehet.

Összességében elmondhatjuk, hogy az *Enterococcus* törzsek okozta fertőzés kezelésére használt penicillinek közé tartozó amoxicillin megőrizte a hatékonyságát, a rezisztencia vele szemben alacsony mértékű volt a vizsgált populáció szintjén. A humán rezisztencia adatok szerint a két domináns faj, az *E. faecium* és az *E. faecalis* érzékenységi

profilja jelentős különbségeket mutat, ezért a jövőben mindenképpen érdemes fajazonosítást végezni, továbbá a multirezisztens törzsek esetén új generációs szekvenálás segítségével vizsgálni a rezisztencia genetikai hátterét. Közegészségügyi szempontból a 15,5%-os vankomicin rezisztencia nagyon hasonló a nemzetközi irodalomban leírt tendenciákhoz. A vankomicin-rezisztens törzsek által okozott fertőzések kezelésében a közegészségügyben az egyik utolsó választási lehetőség a linezolid hatóanyag, amelynek az érzékenységet szintén érdemes lehet vizsgálni a jövőben.

Eredményeink rávilágítanak a magyarországi pulykaállományok kommenzalista törzseinek AMR helyzetére, és arra sarkallnak, hogy a vizsgálatokat időszakosan megismételjük, ezzel egy időbeli trendet felállítva. A közegészségügyi adatokkal való összehasonlítás eredményei pedig megteremtik az Egy Egészség elvet, és közös gondolkodásra adnak lehetőséget. Vizsgálatainkat a jövőben az egyes telepek antibiotikum felhasználási adataival kívánjuk még kiegészíteni, hiszen ezek figyelembevételével további összefüggések és mintázatok mutathatók ki a rezisztenciát illetően.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az elmúlt évtizedekben az antimikrobiális rezisztencia egyre szélesebb körben való terjedése figyelhető meg, ami összefüggésbe hozható az antibiotikumok túlzott, sokszor helytelen használatával. Az intenzív állattartás hozzájárul a patogén kórokozók terjedéséhez, és mind az állat-, mind a közegészségügy területén egyre fontosabbá válik a mikroorganizmusok rezisztenciaviszonyainak vizsgálata.

Célul tűztük ki, hogy felmérjük Magyarország nagylétszámú pulykaállományából izolált kommenzalista *Enterococcus* törzsek állat- és közegészségügyi szempontból jelentős antibiotikum hatóanyagokkal szembeni érzékenységét, minimális gátló koncentráció érték (MIC) meghatározás segítségével. Ezt követően eredményeinkből gyakorisági táblázatot készítettünk, hatóanyagonként meghatároztuk a vizsgált populáció MIC₅₀ és MIC₉₀ értékeit, majd eredményeinket összehasonlítottuk nemzetközi *epidemiological cut-off value* (ECOFF) értékekkel, valamint indikatív ECOFF érték meghatározást végeztünk. Végül eredményeinket humán rezisztencia adatokkal vetettük össze.

Magyarország hét regionális közigazgatási egységéből származó, összesen 470 törzs érzékenységi vizsgálatát végeztük el. Korrelációs vizsgálatot végeztünk az egyes hatóanyagokkal szemben meghatározott rezisztencia mértékei között, és több esetben magas pozitív korrelációt figyeltünk meg (amoxicillin és amoxicillin-klavulánsav, amoxicillin és vankomicin). Ez arra utal, hogy kapcsolat van *Enterococcus* törzsek között ezen hatóanyagokkal szemben kialakuló rezisztencia esetén. A rezisztencia mértékében meghatározó tényező a hasznosítási irány, amely a legtöbb vizsgált hatóanyag esetén szignifikáns különbséget mutatott. A törzsek többsége megőrizte érzékenységét amoxicillin hatóanyaggal szemben, a rezisztencia mértéke mindössze 11,1%-os volt. A legnagyobb mértékű rezisztenciát tilozinnal (62,6%) és florfenikollal (51,1%) szemben találtuk. Eredményeinket a humán rezisztencia adatokkal összevetve, a legnagyobb hasonlóságot az aminoglikozid hatóanyagokkal szembeni rezisztencia mértékében figyeltük meg.

Eredményeink rámutatnak a szisztematikus felmérő vizsgálatok jelentőségére, és az adatok humán rezisztencia adatokkal való összehasonlításának fontosságára. A vizsgálatok rendszeres megismétlése időbeli trendek nyomon követését teszi lehetővé, a multirezisztens törzsek esetén pedig érdemes tovább vizsgálni a rezisztencia genetikai hátterét új generációs szekvenálás segítségével.

8. SUMMARY

In recent decades, the widespread emergence of antimicrobial resistance has been observed, closely linked to the overuse and often improper application of antibiotics. Intensive animal farming contributes to the spread of pathogenic microorganisms, and the study of microbial resistance is becoming increasingly important for both animal and public health.

Our aim was to assess the sensitivity of commensal *Enterococcus* strains isolated from large turkey flocks in Hungary to antibiotic agents that are significant for animal and public health by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) values. Following this, we created frequency tables from our results, and we determined MIC₅₀ and MIC₉₀ values for the study population per agents. We compared our findings with international epidemiological cut-off values (ECOFF) and performed an indicative ECOFF determination. Finally, we compared these results with human resistance data.

We conducted susceptibility testing on 470 strains from seven regional administrative units in Hungary. A correlation study between the resistance levels to the different antibiotics revealed a high positive correlation in several cases (e.g., between amoxicillin and amoxicillin-clavulanic acid, and between amoxicillin and vancomycin), suggesting a connection in the resistance patterns of *Enterococcus* species to these antibiotics. The purpose of use was a significant factor in determining resistance levels for most of the tested antibiotics, showing notable differences. The majority of strains remained sensitive to amoxicillin, showing a resistance rate of only 11.1%. The highest resistance rates were found against tylosin (62.6%) and florfenicol (51.1%). When comparing our results with human resistance data, we found the greatest similarity in resistance levels to aminoglycoside antibiotics.

Our findings underscore the significance of systematic survey studies and the importance of comparing data with human resistance information. Regular repetition of these studies allows monitoring of trends over time. In cases of multi-resistant strains, further investigation of the genetic background of resistance using next-generation sequencing is warranted.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Hay SI, Rao PC, Dolecek C, Day NPJ, Stergachis A, Lopez AD, Murray CJL (2018) Measuring and mapping the global burden of antimicrobial resistance. BMC Med 16:78. <https://doi.org/10.1186/s12916-018-1073-z>
2. Christaki E, Marcou M, Tofarides A (2020) Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. J Mol Evol 88:26–40. <https://doi.org/10.1007/s00239-019-09914-3>
3. Petersen E, Shan Lee S, Blumberg L, Levison ME (2023) Antimicrobial resistance - A global problem in need of global solutions. IJID Reg 9:102–103. <https://doi.org/10.1016/j.ijregi.2023.10.005>
4. Minarini LADR, de Andrade LN, De Gregorio E, Grosso F, Naas T, Zarrilli R, Camargo ILBC (2020) Editorial: Antimicrobial Resistance as a Global Public Health Problem: How Can We Address It? Front Public Health 8:612844. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.612844>
5. J A, G M (2012) Antimicrobial resistance: a complex issue. 31:23. <https://doi.org/10.20506/rst.31.1.2098>
6. Stępień-Pyśniak D, Bertelloni F, Dec M, Cagnoli G, Pietras-Ożga D, Urban-Chmiel R, Ebani VV (2021) Characterization and Comparison of Enterococcus spp. Isolates from Feces of Healthy Dogs and Urine of Dogs with UTIs. Animals (Basel) 11:2845. <https://doi.org/10.3390/ani11102845>
7. Antimicrobial Resistance in Enterococcus spp. of animal origin | Microbiology Spectrum. https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.arba-0032-2018?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed. Accessed 27 Mar 2024
8. McVey DS, Kennedy M, Chengappa MM (2013) Veterinary Microbiology, 3th edition. Wiley-Blackwell
9. Selleck EM, Van Tyne D, Gilmore MS (2019) Pathogenicity of Enterococci. Microbiol Spectr 7:10.1128/microbiolspec.GPP3-0053–2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0053-2018>
10. Said MS, Tirthani E, Lesho E (2024) Enterococcus Infections. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)
11. Růžicková M, Vítězová M, Kushkevych I (2020) The Characterization of Enterococcus Genus: Resistance Mechanisms and Inflammatory Bowel Disease. Open Med (Wars) 15:211–224. <https://doi.org/10.1515/med-2020-0032>
12. Ch'ng J-H, Chong KKL, Lam LN, Wong JJ, Kline KA (2019) Biofilm-associated infection by enterococci. Nat Rev Microbiol 17:82–94. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0107-z>
13. Klausen M, Gjermansen M, Kreft J-U, Tolker-Nielsen T (2006) Dynamics of development and dispersal in sessile microbial communities: examples from Pseudomonas aeruginosa and Pseudomonas putida model biofilms. FEMS Microbiology Letters 261:1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00280.x>
14. Mielich-Süss B, Lopez D (2015) Molecular mechanisms involved in acillus subtilis biofilm formation. Environmental Microbiology 17:555–565. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12527>
15. Tien BYQ, Goh HMS, Chong KKL, Bhaduri-Tagore S, Holec S, Dress R, Ginhoux F, Ingersoll MA, Williams RBH, Kline KA (2017) Enterococcus faecalis Promotes Innate Immune Suppression and Polymicrobial Catheter-Associated Urinary Tract Infection. Infect Immun 85:e00378-17. <https://doi.org/10.1128/IAI.00378-17>
16. Beganovic M, Luther MK, Rice LB, Arias CA, Rybak MJ, LaPlante KL (2018) A Review of Combination Antimicrobial Therapy for Enterococcus faecalis Bloodstream Infections and Infective Endocarditis. Clin Infect Dis 67:303–309. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy064>
17. Kurian AH, Sethi S, Aneja K, Gupta A, Virmani S, Abraham D (2023) Elimination of Enterococcus faecalis from root canal system using laser-activated nanoparticles: a systematic review. Lasers Med Sci 38:81. <https://doi.org/10.1007/s10103-023-03742-0>
18. Kao PHN, Kline KA (2019) Dr. Jekyll and Mr. Hide: How Enterococcus faecalis Subverts the Host Immune Response to Cause Infection. Journal of Molecular Biology 431:2932–2945. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.05.030>
19. W G, Bp H, Tp S (2018) Evolution of virulence in Enterococcus faecium, a hospital-adapted opportunistic pathogen. Current opinion in microbiology 41:. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.11.030>
20. Freitas AR, Pereira AP, Novais C, Peixe L (2021) Multidrug-resistant high-risk Enterococcus faecium clones: can we really define them? Int J Antimicrob Agents 57:106227. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106227>
21. Top J, Willems R, Bonten M (2008) Emergence of CC17 Enterococcus faecium: from commensal to hospital-adapted pathogen. FEMS Immunology & Medical Microbiology 52:297–308. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2008.00383.x>

22. Stępień-Pyśniak D, Marek A, Banach T, Adaszek Ł, Pyzik E, Wilczyński J, Winiarczyk S (2016) Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus* strains isolated from poultry. <https://doi.org/10.1556/004.2016.016>
23. Enterococcosis in Poultry - Poultry. In: MSD Veterinary Manual. <https://www.msdsvetmanual.com/poultry/enterococcosis/enterococcosis-in-poultry>. Accessed 22 Jul 2024
24. Carvajal E, Contreras S, Díaz W, Martínez-Bello D, McCown M, Ardila Y, Vásquez MC (2023) *Enterococcus* isolated from poultry intestine for potential probiotic use. *Vet World* 16:1605–1614. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.1605-1614>
25. Jung A, Chen LR, Suyemoto MM, Barnes HJ, Borst LB (2018) A Review of *Enterococcus cecorum* Infection in Poultry. *Avian Dis* 62:261–271. <https://doi.org/10.1637/11825-030618-Review.1>
26. Borst LB, Suyemoto MM, Sarsour AH, Harris MC, Martin MP, Strickland JD, Oviedo EO, Barnes HJ (2017) Pathogenesis of Enterococcal Spondylitis Caused by *Enterococcus cecorum* in Broiler Chickens. *Vet Pathol* 54:61–73. <https://doi.org/10.1177/0300985816658098>
27. Stalker MJ, Brash ML, Weisz A, Ouckama RM, Slavic D (2010) Arthritis and osteomyelitis associated with *Enterococcus cecorum* infection in broiler and broiler breeder chickens in Ontario, Canada. *J Vet Diagn Invest* 22:643–645. <https://doi.org/10.1177/104063871002200426>
28. Tankson JD, Thaxton JP, Vizzier-Thaxton Y (2001) Pulmonary Hypertension Syndrome in Broilers Caused by *Enterococcus faecalis*. *Infect Immun* 69:6318–6322. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.10.6318-6322.2001>
29. Steentjes A, Veldman KT, Mevius DJ, Landman WJM (2002) Molecular epidemiology of unilateral amyloid arthropathy in broiler breeders associated with *Enterococcus faecalis*. *Avian Pathology* 31:31–39. <https://doi.org/10.1080/03079450120106606>
30. Abe Y, Nakamura K, Yamada M, Yamamoto Y (2006) Encephalomalacia with *Enterococcus durans* infection in the brain stem and cerebral hemisphere in chicks in Japan. *Avian Dis* 50:139–141. <https://doi.org/10.1637/7419-080805R.1>
31. Kolbjørnsen Ø, David B, Gilhuus M (2011) Bacterial osteomyelitis in a 3-week-old broiler chicken associated with *Enterococcus hirae*. *Vet Pathol* 48:1134–1137. <https://doi.org/10.1177/0300985810396513>
32. Wódz K, Chodkowska KA, Iwiński H, Róžański H, Wojciechowski J (2024) In Vitro Evaluation of Phytobiotic Mixture Antibacterial Potential against *Enterococcus* spp. Strains Isolated from Broiler Chicken. *Int J Mol Sci* 25:4797. <https://doi.org/10.3390/ijms25094797>
33. Zinsstag J, Meisser A, Schelling E, Bonfoh B, Tanner M (2012) From ‘two medicines’ to ‘One Health’ and beyond. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 79:5
34. Woolhouse MEJ, Gowtage-Sequeria S Host Range and Emerging and Reemerging Pathogens - Volume 11, Number 12—December 2005 - Emerging Infectious Diseases journal - CDC. <https://doi.org/10.3201/eid1112.050997>
35. Sinclair JR (2019) Importance of a One Health approach in advancing global health security and the Sustainable Development Goals. *Rev Sci Tech* 38:145–154. <https://doi.org/10.20506/rst.38.1.2949>
36. Quadripartite Memorandum of Understanding (MoU) signed for a new era of One Health collaboration. [https://www.who.int/news/item/29-04-2022-quadripartite-memorandum-of-understanding-\(mou\)-signed-for-a-new-era-of-one-health-collaboration](https://www.who.int/news/item/29-04-2022-quadripartite-memorandum-of-understanding-(mou)-signed-for-a-new-era-of-one-health-collaboration). Accessed 25 Jul 2024
37. Panel (OHHLEP) OHH-LE, Adisasmito WB, Almuhairi S, Behraves CB, Bilivogui P, Bukachi SA, Casas N, Becerra NC, Charron DF, Chaudhary A, Zanella JRC, Cunningham AA, Dar O, Debnath N, Dungu B, Farag E, Gao GF, Hayman DTS, Khaitsa M, Koopmans MPG, Machalaba C, Mackenzie JS, Markotter W, Mettenleiter TC, Morand S, Smolenskiy V, Zhou L (2022) One Health: A new definition for a sustainable and healthy future. *PLOS Pathogens* 18:e1010537. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010537>
38. Boehm AB, Sassoubre LM (2014) Enterococci as Indicators of Environmental Fecal Contamination. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N (eds) *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection*. Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston
39. García-Solache M, Rice LB (2019) The *Enterococcus*: a Model of Adaptability to Its Environment. *Clin Microbiol Rev* 32:e00058-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-18>
40. Mohamed JA, Huang DB (2007) Biofilm formation by enterococci. *Journal of Medical Microbiology* 56:1581–1588. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47331-0>
41. Römling U, Balsalobre C (2012) Biofilm infections, their resilience to therapy and innovative treatment strategies. *Journal of Internal Medicine* 272:541–561. <https://doi.org/10.1111/joim.12004>
42. Lewis K (2001) Riddle of Biofilm Resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 45:999–1007. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.4.999-1007.2001>

43. Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, Fowler VG, Tleyjeh IM, Rybak MJ, Barsic B, Lockhart PB, Gewitz MH, Levison ME, Bolger AF, Steckelberg JM, Baltimore RS, Fink AM, O'Gara P, Taubert KA, American Heart Association Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and Stroke Council (2015) Infective Endocarditis in Adults: Diagnosis, Antimicrobial Therapy, and Management of Complications: A Scientific Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Circulation* 132:1435–1486. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000296>
44. Murray BE (1990) The life and times of the Enterococcus. *Clin Microbiol Rev* 3:46–65
45. Florescu I, Beuran M, Dimov R, Razbadauskas A, Bochan M, Fichev G, Dukart G, Babinchak T, Cooper CA, Ellis-Grosse EJ, Dartois N, Gandjini H, 307 Study Group (2008) Efficacy and safety of tigecycline compared with vancomycin or linezolid for treatment of serious infections with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* or vancomycin-resistant enterococci: a Phase 3, multicentre, double-blind, randomized study. *J Antimicrob Chemother* 62 Suppl 1:i17–28. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn250>
46. Soltani M, Beighton D, Philpott-Howard J, Woodford N (2000) Mechanisms of Resistance to Quinupristin-Dalfopristin among Isolates of *Enterococcus faecium* from Animals, Raw Meat, and Hospital Patients in Western Europe. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44:433–436. <https://doi.org/10.1128/aac.44.2.433-436.2000>
47. de Lastours V, Maugy E, Mathy V, Chau F, Rossi B, Guérin F, Cattoir V, Fantin B, CIPHARES Study Group (2017) Ecological impact of ciprofloxacin on commensal enterococci in healthy volunteers. *J Antimicrob Chemother* 72:1574–1580. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx043>
48. Duez C, Zorzi W, Sapunaric F, Amoroso A, Thamm I, Coyette J (2001) The penicillin resistance of *Enterococcus faecalis* JH2-2r results from an overproduction of the low-affinity penicillin-binding protein PBP4 and does not involve a *psr*-like gene. *Microbiology (Reading)* 147:2561–2569. <https://doi.org/10.1099/00221287-147-9-2561>
49. Arbeloa A, Segal H, Hugonnet J-E, Josseume N, Dubost L, Brouard J-P, Gutmann L, Mengin-Lecreux D, Arthur M (2004) Role of Class A Penicillin-Binding Proteins in PBP5-Mediated β -Lactam Resistance in *Enterococcus faecalis*. *J Bacteriol* 186:1221–1228. <https://doi.org/10.1128/JB.186.5.1221-1228.2004>
50. Hodges TL, Zigelboim-Daum S, Eliopoulos GM, Wennersten C, Moellering RC (1992) Antimicrobial susceptibility changes in *Enterococcus faecalis* following various penicillin exposure regimens. *Antimicrob Agents Chemother* 36:121–125
51. Megran DW (1992) Enterococcal endocarditis. *Clin Infect Dis* 15:63–71. <https://doi.org/10.1093/clinids/15.1.63>
52. Fernández-Hidalgo N, Almirante B, Gavalda J, Gurgui M, Peña C, de Alarcón A, Ruiz J, Vilacosta I, Montejo M, Vallejo N, López-Medrano F, Plata A, López J, Hidalgo-Tenorio C, Gálvez J, Sáez C, Lomas JM, Falcone M, de la Torre J, Martínez-Lacasa X, Pahissa A (2013) Ampicillin plus ceftriaxone is as effective as ampicillin plus gentamicin for treating enterococcus faecalis infective endocarditis. *Clin Infect Dis* 56:1261–1268. <https://doi.org/10.1093/cid/cit052>
53. Mainardi JL, Gutmann L, Acar JF, Goldstein FW (1995) Synergistic effect of amoxicillin and cefotaxime against *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 39:1984–1987
54. Okamoto R, Okubo T, Inoue M (1996) Detection of genes regulating beta-lactamase production in *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 40:2550–2554
55. Rice LB, Marshall SH (1992) Evidence of incorporation of the chromosomal beta-lactamase gene of *Enterococcus faecalis* CH19 into a transposon derived from staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 36:1843–1846
56. Zscheck KK, Murray BE (1993) Genes involved in the regulation of beta-lactamase production in enterococci and staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 37:1966–1970
57. Peiffer-Smadja N, Guillotel E, Luque-Paz D, Maataoui N, Lescure F-X, Cattoir V (2019) In vitro bactericidal activity of amoxicillin combined with different cephalosporins against endocarditis-associated *Enterococcus faecalis* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 74:3511–3514. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz388>
58. Zhanel GG, Simor AE, Vercaigne L, Mandell L (1998) Imipenem and meropenem: Comparison of in vitro activity, pharmacokinetics, clinical trials and adverse effects. *Can J Infect Dis* 9:215–228
59. El Amin N, Wretling B, Wenger A, Brandt V, Bille J (2002) Ampicillin-Sensitive, Imipenem-Resistant Strains of *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol* 40:738. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.2.738.2002>
60. Sharifzadeh Peyvasti V, Mohabati Mobarez A, Shahcheraghi F, Khoramabadi N, Razaz Rahmati N, Hosseini Doust R (2020) High-level aminoglycoside resistance and distribution of aminoglycoside resistance genes among *Enterococcus* spp. clinical isolates in Tehran, Iran. *J Glob Antimicrob Resist* 20:318–323. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.08.008>

61. Chow JW (2000) Aminoglycoside resistance in enterococci. Clin Infect Dis 31:586–589. <https://doi.org/10.1086/313949>
62. Lee JH, Lee C-S (2016) Clinical Usefulness of Arbekacin. Infect Chemother 48:1–11. <https://doi.org/10.3947/ic.2016.48.1.1>
63. Kak V, Donabedian SM, Zervos MJ, Kariyama R, Kumon H, Chow JW (2000) Efficacy of Ampicillin plus Arbekacin in Experimental Rabbit Endocarditis Caused by an Enterococcus faecalis Strain with High-Level Gentamicin Resistance. Antimicrob Agents Chemother 44:2545–2546
64. Osman KM, Badr J, Orabi A, Elbehiry A, Saad A, Ibrahim MDS, Hanafy MH (2019) Poultry as a vector for emerging multidrug resistant Enterococcus spp.: First report of vancomycin (van) and the chloramphenicol-florfenicol (cat-fex-cfr) resistance genes from pigeon and duck faeces. Microb Pathog 128:195–205. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.006>
65. Li P, Gao M, Feng C, Yan T, Sheng Z, Shi W, Liu S, Zhang L, Li A, Lu J, Lin X, Li K, Xu T, Bao Q, Sun C (2022) Molecular characterization of florfenicol and oxazolidinone resistance in Enterococcus isolates from animals in China. Front Microbiol 13:811692. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.811692>
66. Fard RMN, Heuzenroeder MW, Barton MD (2011) Antimicrobial and heavy metal resistance in commensal enterococci isolated from pigs. Vet Microbiol 148:276–282. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.09.002>
67. Cho S, Hiott LM, McDonald JM, Barrett JB, McMillan EA, House SL, Adams ES, Frye JG, Jackson CR (2020) Diversity and antimicrobial resistance of Enterococcus from the Upper Oconee Watershed, Georgia. J Appl Microbiol 128:1221–1233. <https://doi.org/10.1111/jam.14550>
68. Lanza IP, Silva GR, Menezes LDM, Assis DCS, Figueiredo HCP, Lana AMQ, Lara LJC, Figueiredo TC, Souza MR, Cançado SV (2021) Research Note: Antimicrobial resistance profile of Enterococcus spp. isolated from the eggshell of laying hens submitted to pharmacological treatment. Poult Sci 101:101606. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101606>
69. Ray M, Ashwini M, Halami PM (2024) The Occurrence of Colistin Resistance in Potential Lactic Acid Bacteria of Food-Producing Animals in India. Curr Microbiol 81:297. <https://doi.org/10.1007/s00284-024-03826-2>
70. Zervos MJ, Schaberg DR (1985) Reversal of the in vitro susceptibility of enterococci to trimethoprim-sulfamethoxazole by folinic acid. Antimicrob Agents Chemother 28:446–448
71. Arthur M, Courvalin P (1993) Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. Antimicrob Agents Chemother 37:1563–1571
72. O'Dea M, Sahibzada S, Jordan D, Laird T, Lee T, Hewson K, Pang S, Abraham R, Coombs GW, Harris T, Pavic A, Abraham S (2019) Genomic, Antimicrobial Resistance, and Public Health Insights into Enterococcus spp. from Australian Chickens. J Clin Microbiol 57:e00319-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.00319-19>
73. Wada Y, Irekeola AA, Shueb RH, Wada M, Afolabi HA, Yean CY, Harun A, Zaidah AR (2022) Prevalence of Vancomycin-Resistant Enterococcus (VRE) in Poultry in Malaysia: The First Meta-Analysis and Systematic Review. Antibiotics (Basel) 11:171. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020171>
74. Maasjost J, Mühldorfer K, Cortez de Jäckel S, null, Hafez HM (2015) Antimicrobial Susceptibility Patterns of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium Isolated from Poultry Flocks in Germany. Avian Dis 59:143–148. <https://doi.org/10.1637/10928-090314-regr>
75. Guzman JD (2014) Natural Cinnamic Acids, Synthetic Derivatives and Hybrids with Antimicrobial Activity. Molecules 19:19292–19349. <https://doi.org/10.3390/molecules191219292>
76. Malheiro JF, Maillard J-Y, Borges F, Simões M (2019) Evaluation of cinnamaldehyde and cinnamic acid derivatives in microbial growth control. International Biodeterioration & Biodegradation 141:71–78. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.06.003>
77. Ruwizhi N, Aderibigbe BA (2020) Cinnamic Acid Derivatives and Their Biological Efficacy. Int J Mol Sci 21:5712. <https://doi.org/10.3390/ijms21165712>
78. Hałasa R, Bułakowska A, Sławiński J, Smoktunowicz M, Rapacka-Zdończyk A, Mizerska U (2023) Activity of Cinnamic Acid Derivatives with 4-Chloro-2-mercaptobenzenesulfonamide Moiety against Clinical HLAR and VRE Enterococcus spp. Antibiotics (Basel) 12:1691. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12121691>
80. Jahan M, Krause DO, Holley RA (2013) Antimicrobial resistance of Enterococcus species from meat and fermented meat products isolated by a PCR-based rapid screening method. International Journal of Food Microbiology 163:89–95. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.02.017>
81. Bywater R, McConville M, Phillips I, Shryock T (2005) The susceptibility to growth-promoting antibiotics of Enterococcus faecium isolates from pigs and chickens in Europe. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 56:538–543. <https://doi.org/10.1093/jac/dki273>

83. R Core Team (2020) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
84. Kruskal WH, Wallis WA (1952) Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. *Journal of the American Statistical Association* 47:583–621. <https://doi.org/10.1080/01621459.1952.10483441>
85. Fay MP, Proschan MA (2010) Wilcoxon-Mann-Whitney or t-test? On assumptions for hypothesis tests and multiple interpretations of decision rules. *Statistics Surveys* 4:1–39. <https://doi.org/10.1214/09-SS051>
86. Dunn OJ (1961) Multiple Comparisons among Means. *Journal of the American Statistical Association* 56:52–64. <https://doi.org/10.1080/01621459.1961.10482090>
87. Jolliffe IT, Cadima J (2016) Principal component analysis: a review and recent developments. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci* 374:20150202. <https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0202>
88. Sibson R (1973) SLINK: An optimally efficient algorithm for the single-link cluster method. *The Computer Journal* 16:30–34. <https://doi.org/10.1093/comjnl/16.1.30>
89. Woźniak-Biel A, Bugla-Płoskońska G, Burdzy J, Korzekwa K, Ploch S, Wieliczko A (2019) Antimicrobial Resistance and Biofilm Formation in *Enterococcus* spp. Isolated from Humans and Turkeys in Poland. *Microb Drug Resist* 25:277–286. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0221>
90. Kempf I, Le Roux A, Perrin-Guyomard A, Mourand G, Le Devendec L, Bougeard S, Richez P, Le Pottier G, Eterradossi N (2013) Effect of in-feed paromomycin supplementation on antimicrobial resistance of enteric bacteria in turkeys. *Vet J* 198:398–403. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.05.030>
91. Makarov DA, Ivanova OE, Pomazkova AV, Egoreva MA, Prasolova OV, Lenev SV, Gergel MA, Bukova NK, Karabanov SY (2022) Antimicrobial resistance of commensal *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from food-producing animals in Russia. *Vet World* 15:611–621. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.611-621>
92. Boulianne M, Arsenault J, Daignault D, Archambault M, Letellier A, Dutil L (2016) Drug use and antimicrobial resistance among *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. isolates from chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada. *Can J Vet Res* 80:49–59
93. Roy K, Islam MS, Paul A, Ievy S, Talukder M, Sobur MA, Ballah FM, Khan MSR, Rahman MT (2022) Molecular detection and antibiotyping of multi-drug resistant *Enterococcus faecium* from healthy broiler chickens in Bangladesh. *Vet Med Sci* 8:200–210. <https://doi.org/10.1002/vms3.669>
94. Schwaiger K, Schmied E-MV, Bauer J (2010) Comparative analysis on antibiotic resistance characteristics of *Listeria* spp. and *Enterococcus* spp. isolated from laying hens and eggs in conventional and organic keeping systems in Bavaria, Germany. *Zoonoses Public Health* 57:171–180. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01229.x>
95. Osman KM, Badr J, Orabi A, Elbehiry A, Saad A, Ibrahim MDS, Hanafy MH (2019) Poultry as a vector for emerging multidrug resistant *Enterococcus* spp.: First report of vancomycin (van) and the chloramphenicol-florfenicol (cat-fex-cfr) resistance genes from pigeon and duck faeces. *Microb Pathog* 128:195–205. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.006>
96. Barnász F, Kerek Á, Csirmaz B, Román IL, Gál C, Horváth Á, Hajduk E, Szabó Á, Jerzsele Á, Kovács L (2024) The status of antimicrobial resistance in domestic poultry with different breeding purposes in Hungary between 2022–2023. *Hungarian Veterinary Journal* 146:339–356. <https://doi.org/10.56385/magyallorv.2024.06.339-356>
97. Sulayyim HJA, Ismail R, Hamid AA, Ghafar NA (2022) Antibiotic Resistance during COVID-19: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health* 19:11931. <https://doi.org/10.3390/ijerph191911931>
98. Zacharopoulos GV, Manios GA, Papadakis M, Koumaki D, Maraki S, Kassotakis D, De Bree E, Manios A (2023) Comparative activities of ampicillin and teicoplanin against *Enterococcus faecalis* isolates. *BMC Microbiol* 23:5. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02753-1>
99. Billström H, Lund B, Sullivan Å, Nord CE (2008) Virulence and antimicrobial resistance in clinical *Enterococcus faecium*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 32:374–377. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.04.026>
100. Taji A, Heidari H, Ebrahim-Saraie HS, Sarvari J, Motamedifar M (2019) High prevalence of vancomycin and high-level gentamicin resistance in *Enterococcus faecalis* isolates. *Acta Microbiol Immunol Hung* 66:203–217. <https://doi.org/10.1556/030.65.2018.046>
101. O’Riordan F, Shiely F, Byrne S, O’Brien D, Ronayne A, Fleming A (2022) Antimicrobial use and antimicrobial resistance in Enterobacterales and *Enterococcus faecium*: a time series analysis. *J Hosp Infect* 120:57–64. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.11.003>

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Nemes-Terényi Melinda mesteroktatónak a sok segítségért, a tanácsokért és a kitartó támogatásáért, amelyek hozzájárultak ennek a TDK dolgozatnak a létrejöttéhez.

Köszönöm Dr. Jerzsele Ákos tanszékvezető úrnak, hogy a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék lehetőséget biztosított a kutatásom elvégzésére.

Külön szeretném megköszönni dr. Kerek Ádám egyetemi tanársegédnek a kutatás során nyújtott jelentős segítségét.

Végezetül pedig szeretnék köszönetet mondani Balogh Katalin, Paliczné Kustán Bianka és Pénzes Imréné Tünde laboratóriumi asszisztenseknek, akik hozzájárultak laboratóriumi munka gördülékeny megvalósításához.

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.

Hallgatói nyilatkozat

Alulírott, **Hajduk Eszter** nyilatkozom arról, hogy a tudományos munkám során az alábbi feladatokat végeztem el, mint saját munka:

Az én feladatom volt az izolált baktériumtörzsek átoltása és táplevesbe szuszpendálása. Ezen kívül feliratoztam a mikrotiter lemezeket, feltöltöttem azokat táplevessel, majd az előre elkészített hatóanyagokból hígítási sort készítettem a mikrotiter lemezeken. Ezután elvégeztem a baktériumszuspenzió ráoltását a mikrotiter lemezekre. Inkubálást követően leolvastam a MIC értékeket, amit egy Excel táblázatban rögzítettem, gyakorisági táblázatokat készítettem, majd ezeket az adatokat felhasználva az ECOFFinder program segítségével meghatároztam az ECOFF értékeket.

Budapest, 2024. október 14.

Hajduk Eszter
hallgató

Témavezetői nyilatkozat

Alulírott **Dr. Nemes-Terényi Melinda**, mint témavezető nyilatkozom, hogy **Hajduk Eszter**, ötödik évfolyamos hallgató „**Hazai nagylétszámú pulyka állományokból izolált kommenzalista *Enterococcus* baktériumtörzsek antimikrobiális érzékenységi profilja**” című dolgozatát átolvastam és jóváhagytam, részvételét támogatom az Állatorvostudományi Egyetem 2024. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján. Továbbá nyilatkozom, hogy a feltöltött TDK dolgozat plágiumellenőrzésen sikeresen átesett és az esetlegesen feltárt egyezőség az Egyetemi iránymutatásoknak/szabályoknak megfelel.

Budapest, 2024. október hó 14. nap

.....

Dr. Nemes-Terényi Melinda
témavezető