

Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar
Gyógyszertani és Méregtani Tanszék

**Kutya és macska dermatitis, illetve otitis externa eseteiből izolált
Staphylococcus spp., *Streptococcus* spp., továbbá *Pseudomonas*
aeruginosa törzsek érzékenysége gentamicinre, marbofloxacinra,
valamint ezek kombinációjára**



Készítette: Bognár Tímea

Témavezető: dr. Jerzsele Ákos
Gyógyszertani és Méregtani Tanszék
Tanszékvezető: Dr. Gálfi Péter

Budapest

2011.

Tartalomjegyzék

1.BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS.....	2
2.IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	4
1. A bőr természetes mikroflórája, a dermatitis és otitis externa kialakításában szereplő kórokozók.....	4
2. A gentamicin és a marbofloxacin.....	5
3. A bakteriális rezisztencia jelentősége és előfordulása az állatorvosi gyakorlatban – különös tekintettel a gentamicinre és a marbofloxacinra	7
3.ANYAG ÉS MÓDSZER	12
1. Felhasznált baktériumtörzsek és anyagok.....	12
2. A mikrodilúciós módszer kivitelezése	12
3. MIC-értékek leolvasása.....	18
4. FIC-értékek kiszámítása a szinergizmus meghatározásához	18
5. Isobologramok készítése	19
6. A fajonkénti minták összevetése.....	19
4.EREDMÉNYEK.....	20
1. A minimális gátló koncentrációk (MIC) meghatározása gentamicin, marbofloxacin és gentamicin:marbofloxacin 1:1 kombináció esetében.....	20
2. Az optimális gentamicin-marbofloxacin arány meghatározása szinergizmus esetén..	28
5. MEGBESZÉLÉS	29
Konklúzió.....	31
6. ÖSSZEFOGLALÁS.....	32
7.SUMMARY	33
IRODALOMJEGYZÉK	35
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	37
FÜGGELÉK.....	38

1.BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS

Az antibiotikumok széleskörű alkalmazása következtében világszerte terjed a bakteriális rezisztencia, mely komoly problémákat vet fel a humán és állatorvosi gyakorlatban egyaránt. Az indokolatlanul, illetve a nem megfelelően kiválasztott antibiotikum alkalmazásával, valamint a rezisztenciavizsgálatok elhanyagolásával az állatorvosok is nagyban hozzájárulnak a jelenség kialakulásához (Lilenbaum, *et al.*, 2000; Saito, *et al.*, 2007; Vanni, *et al.*, 2009). A globalizáció eredményeként emberek, állatok és élelmiszerek jutnak el rendkívül gyorsan a világ legtávolabbi pontjaira, lehetővé téve a rezisztens baktériumtörzsek terjedését. A rezisztencia visszaszorításának egyik lehetséges eszköze a különböző antibakteriális szerek kombinációban való alkalmazása (Hawkey, 2008).

Kutyáknál és macskáknál gyakran diagnosztizált betegségek az *otitis externa* és a *pyoderma*, melyek nemegyszer hosszú távú, akár 4-6 hetes antibakteriális kezelést igényelnek. Ennek során nagy eséllyel alakul ki rezisztencia a kórokozó baktériumokban. Egy tanulmány szerint az otitis externában szenvedő kutyák külső hallójáratából kitenyészített mikroorganizmusok 90,9%-a mutatott rezisztenciát valamilyen szerre, és gyakori a *multirezisztens* ágensek jelenléte is. A fenti kórképek általában összetett kóroktanúak, a kitenyészített baktériumok legtöbbször a *Staphylococcus*, *Streptococcus*, valamint *Pseudomonas* genusból kerülnek ki. (Barrasa, *et al.*, 2000; Lilenbaum, *et al.*, 2000; Hauschild-Wójcik, 2007; Vanni, *et al.*, 2009).

Az általunk vizsgált két antibakteriális szert világszerte alkalmazzák az állatorvoslásban. A gentamicint széles spektruma, posztantibiotikus hatása, koncentráció-függő baktericid hatásmódja és az applikációs lehetőségek széles köre tette kedvelt szerré. Fő spektruma az aerob Gram-negatívok, kiemelve a *Pseudomonas aeruginosa*-t, valamint a Gram-pozitívok közül a staphylococcusok, amelyek kifejezetten érzékenyek. Ennek megfelelően légúti, húgyúti, gastrointestinalis és bőrfertőzéseknel alkalmazzák, valamint szemcseppek, fülcseppek, egyéb külsőleg alkalmazott készítmények alkotóeleme. A nagy terápiás indexű marbofloxacin hatásmechanizmusának köszönhetően széles antibakteriális spektrum jellemzi, hatásos többek közt staphylococcusok, valamint *P. aeruginosa*, illetve mérsékelten hatékony streptococcusok ellen. A Gram-negatívokban a DNS-girázt, Gram-pozitívokban pedig a topoizomerázt gátolja, koncentráció-függő baktericid. Per os és parenteralis applikáció esetén is jó felszívódás és kiváló megoszlás jellemzi. (Giguère, *et al.*, 2006)

Kutatásunk egyik célja az volt, hogy megállapítsuk Magyarországon gyűjtött, kutyákból és macskákból származó, fül- és bőrfertőzésekben izolált kórokozók elleni minimális gátló koncentráció (MIC, MIC₅₀, MIC₉₀) értékeket marbofloxacin és gentamicin esetében, valamint

felmérjük a rezisztencia mértékét az önállóan alkalmazott hatóanyagokra. További célunk volt, hogy megállapítsuk, a marbofloxacin:gentamicin 1:1 arányú kombinációja additív, szinergista vagy antagonista hatással bír staphylococcusok, *S. canis*, illetve *P. aeruginosa* vizsgálatakor. Utóbbi baktérium esetében a szinergista hatást a frakcionált gátló koncentráció (FIC) elemzésével, illetve isobologramok felvételével is igazoltuk.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1. A bőr természetes mikroflórája, a dermatitis és otitis externa kialakításában szereplő kórokozók

Az emberi és állati bőr egyaránt rendelkezik természetes mikroflórával, amelyben a staphylococcusok dominálnak (Hauschild-Wójcik, 2007). A staphylococcusok széles körben elterjedt Gram-pozitív, aerob-fakultatív anaerob, fakultatív patogén baktériumok, a *Staphylococcus* genus és Staphylococcaceae család tagjai (Tuboly, *et al.*, 1997; Vanni, *et al.*, 2009). Többnyire ártalmatlan kommenzalisták, a bőr és nyálkahártya mikroflórájának alkotói (Vanni, *et al.*, 2009). Kutyák bőrén általában a koaguláz-pozitív (CoPS) törzsek vannak jelen (*S. pseudointermedius* – korábban *S. intermedius* – és *S. aureus*), de mellette koaguláz negatív (CoNS) törzseket is találunk (Lilenbaum, *et al.*, 2000). Egyéb, ritkábban izolált fajok a *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus haemolyticus*, és *Staphylococcus saprophyticus* (Lilenbaum, *et al.*, 2000; Hauschild-Wójcik, 2007). Bár a természetes flóra részei, hajlamosító tényezők megjelenésekor opportunistaként megbetegedéseket okozhatnak, többek között bőrgyulladást, bacteraemiát, pneumóniát, conjunctivitist, otitis externát, tályogképződést (Lilenbaum, *et al.*, 2000; Hauschild-Wójcik, 2007; Vanni, *et al.*, 2009). Állatorvosi vonalon a legpatogénebb ágens a *S. pseudointermedius*, mely legfőbb kórokozója a pyodermának és az otitis externának (Hauschild-Wójcik, 2007). A többi *Staphylococcus* faj is gyakran vesz részt ezen betegségek kialakításában, kiemelve a *S. aureus* és a *Staphylococcus hyicus* (Lilenbaum, *et al.*, 2000; Hauschild-Wójcik, 2007; Saito, *et al.*, 2007). Függetlenül attól, hogy fülből vagy a bőrről lett izolálva, a *S. pseudointermedius* törzsek gyakran mutathatnak multirezisztenciát (Saito, *et al.*, 2007). A Gram-pozitív *Streptococcus* nemzetség tagjai is megtalálhatók az emberi és állati nyálkahártyákon, valamint a bőrön. Fakultatív patogének, általában helyi gennyesedéssel járó kórformákat idéznek elő. Kutyákban és macskákban a béta-hemolizáló *Streptococcus canis* a bőrgyulladásokon kívül méhgyulladást, lymphadenitist, puerperalis metritist okozhat. (Tuboly, *et al.*, 1998)

Kutyák és macskák *bőrgyulladásai* esetén a fent említett elsődleges kórokozókon kívül gyakran egyéb patogének is okoznak felülfertőzést. Ezek általában Gram-negatív pálcák, elsősorban *E. coli*, súlyos esetben *P. aeruginosa*.

Az *otitis externa* a leggyakoribb fülmegbetegedés kutyákban, amely összetett kóroktannal rendelkezik. Hajlamosító tényezők lehetnek a külső paraziták, allergiás kórképek, az endokrin rendszer megbetegedései, továbbá idegcentest jelenléte (Lilenbaum, *et al.*, 2000; Barrasa, *et al.*,

2000). Különösen a lógó fülű kutyák prediszponáltak, de minden fajtában előfordulhat (Barrasa, *et al.*, 2000). A kutya és macska külső hallójáratának gyulladásából a leggyakrabban izolált kórokozók a *S. pseudointermedius* és a *S. schleiferi subsp. coagulans* (Vanni, *et al.*, 2009).

1. táblázat. *S. pseudointermedius* és *S. schleiferi* fajok gyakorisága és megoszlása kutya eredetű minták esetén (Vanni, *et al.*, 2009).

		Bőr (%)	Külső hallójárat (%)
Beteg kutyák	<i>S. pseudointermedius</i>	73 (75,5)	9 (69,2)
	<i>S. schleiferi</i>	7 (7,2)	3 (23,1)
	Összes minta	97	13
Egészséges kutyák	<i>S. pseudointermedius</i>	117 (24,2)	29 (36,7)
	<i>S. schleiferi</i>	4 (0,9)	2 (2,5)
	Összes minta	431	79
Összesen	<i>S. pseudointermedius</i>	190 (35,9)	38 (41,3)
	<i>S. schleiferi</i>	11 (3,3)	5 (5,4)
	Összes minta	528	92

Az otitis externa gyakran idültté válik, ezekben az esetekben a hosszútávú kezelés során nagy eséllyel alakul ki rezisztencia. Krónikusnak tekintjük a hat hónapon át fennálló vagy visszatérő fertőzéseket. Az idült gyulladások során a fent említett fajok mellett a *Pseudomonas aeruginosa*-t is gyakran izolálják. (Barrasa, *et al.*, 2000) A *P. aeruginosa* igénytelen, emiatt széles körben elterjedt Gram-negatív obligát aerob baktérium, megtalálható a természetes vizekben, szennyvizekben, talajban, növényeken, gerinces fajok nyálkahártyáin, valamint a bőrön (Tuboly, *et al.*, 1998; Simonová, *et al.*, 2010). Fontos opportunist kórokozó, súlyos fertőzéseket okozhat emberben és állatokban egyaránt. Biofilm képzésére képes, melyben hosszú távon túlél, így folyamatos nosocomialis fertőzési forrást jelent például kórházakban (Simonová, *et al.*, 2010). Állatorvosi vonalon gyakori kórokozója a pyodermának, otitis externának/mediának (Tuboly, *et al.*, 1998; Simonová, *et al.*, 2010). A *Pseudomonas* genus és azon belül is a *P. aeruginosa ab ovo* rezisztens számos antibiotikummal szemben. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy gyakran szerez rezisztenciát *gentamicin* ellen hosszútávú kezelések során (Tuboly, *et al.*, 1998; Giguère, *et al.*, 2006; Simonová, *et al.*, 2010). A *P. aeruginosa* az egyik legellenállóbb mikroba, jelenleg nem ismerünk olyan antibiotikumot, mely 100%-ban hatékony lenne ellene (Dwight *et al.*, 1979, Konkoly-Ludwig, 2002).

2. A gentamicin és a marbofloxacin

A *gentamicin* gyakran alkalmazott antibiotikum az állatorvosi gyakorlatban, az egyik leghatékonyabb aminoglikozid. Igen széles antibakteriális spektrummal rendelkező, baktericid antibiotikum. Vizes oldataiban bomlékonysága nem kifejezett, ezért szemcseppek, fülcseppek,

külsőleges oldatok gyakori alkotója. Elsődleges hatásmechanizmusa, hogy gátolja a fehérjeszintézist a 30S riboszóma-alegységhez kötődve, így a baktériumokban ún. *non-sense*, értelmetlen fehérjék keletkeznek, ennek megfelelően hatásmódja koncentrációfüggő baktericid. Az anaerob mikroorganizmusokra nem hat, mivel a sejtbe való bejutásához oxigén szükséges. Jól jellemzi a poszt-antibiotikus hatás, akár még az applikációt követő nyolcadik órában is. A gentamicin intravénásan, *intramuscularisan* és *per os* is alkalmazható, utóbbi esetben felszívódása egészséges állatban gyakorlatilag elhanyagolható, biológiai hasznosulása 5% alatt van. Elsősorban aerob Gram-negatív kórokozók ellen hatékony, kiemelve a *P. aeruginosát*. A Gram-pozitív baktériumok közül a staphylococcusok kifejezetten érzékenyek, ennek megfelelően a gentamicin gyakran alkalmazott antibakteriális szer a kutya és macska dermatitis és otitis externa felületi kezelésében. A streptococcusok érzékenysége változó a gentamicinnel szemben, azonban a fontosabb kórokozó törzsek ellen általában nem hatékony. Szisztémásan légúti, húgyúti (a vizelettel ürül aktív formában), gastrointestinalis és bőrfertőzéseknel alkalmazzák, valamint szemcseppek, fülcseppek és más lokális készítmények hatóanyaga (Giguère, *et al.*, 2006). A gentamicin előnyös tulajdonságokkal bír, azonban toxicitása behatárolja használatát. Nephrotoxicus és ototoxikus lehet szisztémás alkalmazás esetén, bőrrel azonban korlátozott a felszívódása, így biztonsággal alkalmazható a bőr felületén lokális kezelésben. Fülcseppek alkalmazásakor, amennyiben a dobhártya intakt, nem károsítja a hallást (Giguère, *et al.*, 2006). Az aminoglikozidokkal szembeni rezisztencia bakteriális enzimek működésére vezethető vissza, például a foszotranszferáz, acetil-transzferáz, adenil-transzferáz aktivitására. Összesen legalább 11 enzim képes hatástalanítani a gentamicin hidroxil-, vagy amino csoportját, megakadályozva a riboszómához való kötődését. Ritkábban a riboszóma 30S alegysége mutálódik, de mivel az alegység több kötőhellyel is rendelkezik, ez a mechanizmus elhanyagolható jelentőségű (Giguère, *et al.*, 2006).

A *marbofloxacin* harmadik generációs fluorokinolon, kifejezetten az állatgyógyászat számára kifejlesztett szintetikus szer, melyet a 80-as években kezdtek el használni a klinikumban (Meunier, *et al.*, 2004; Martinez, *et al.*, 2006; Giguère, *et al.*, 2006). Fluorokinolonként - az aminoglikozidokhoz hasonlóan - vizes oldataiban lassan bomlik, így fülcseppek, külsőleges oldatok gyakori alkotója. Hatásmechanizmusának köszönhetően széles antibakteriális spektrum jellemzi, a Gram-negatív baktériumokban a DNS-girázt gátolja, Gram-pozitívokban pedig a topoizomeráz enzimet (Meunier, *et al.*, 2004; Giguère, *et al.*, 2006). Anaerobok ellen hatékonysága nem kifejezett. Ennek megfelelően háziállatainkban főleg légzőszervi megbetegedések, pyoderma, húgyúti és emésztőszervi fertőzések, otitis media és externa kezelésére használják (Giguère, *et al.*, 2006; Spreng, *et al.*, 1995). Gram-pozitív kórokozók esetén időfüggő, Gram-negatívak esetén koncentrációfüggő baktericid. (Meunier, *et al.*, 2004) A staphylococcusok jelentős hányada érzékeny, *P. aeruginosa* általában érzékeny, a streptococcusok pedig mérsékelten érzékenyek a

marbofloxacinra. Minden típusú applikáció esetén a jó felszívódás és kiváló megoszlás jellemzi. Felületesen alkalmazva igen hatékony az állatok bőrgyulladását és fülgyulladását okozó baktériumok ellen. Nagy a terápiás indexe, terápiás dózisban mellékhatásai ritkák és csekélyek, esetenként enyhe gastrointestinalis mellékhatások jelentkezhettek szájon át történő applikációt követően. Dermális alkalmazás során nem írtak le sem lokális, sem szisztémás mellékhatást. A marbofloxacinnal szembeni rezisztencia a sejtmembrán permeabilitásának csökkenésére, efflux pumpák működésére vezethető vissza. Enzim alapú gátlásról nincs tudomásunk, azonban a DNS-giráz és a topoizomeráz mutációja jelentős lehet (Giguère, *et al.*, 2006).

3. A bakteriális rezisztencia jelentősége és előfordulása az állatorvosi gyakorlatban – különös tekintettel a gentamicinre és a marbofloxacinra

Mióta az emberiség alkalmazni kezdte az antibiotikumokat, az azokkal szembeni *rezisztencia* is rohamosan terjed a baktériumok között. Az antibakteriális kezelés csak az elmúlt 60 évben vált elérhetővé, de csakhamar a modern medicina egyik alappillére lett. A *S. aureus* már az '50-es évekre komoly rezisztenciát szerzett a penicillinekkal szemben. A meticillint a '60-as években vetették be először, és hamarosan megjelentek a MRSA (meticillin-rezisztens *S. aureus*) törzsek. A felmérések szerint egyes országokban már az izolált *S. aureusok* 50%-a MRSA-nak bizonyult, és a macskák normál bőr és nyál flórájából is kimutatták (Hawkey, 2008).

A rezisztenciagének az antibiotikumok kora előtt alig expresszázódtak, az elterjedt használat következtében azonban gyors ütemben jelentek meg mind az emberek, mind a haszon- és kedvtelésből tartott állatok kórokozóiban (Lilenbaum, *et al.*, 2000; Hawkey, 2008). Ebben fontos szerepet játszott élelmiszer-termelő állatok kezelésében a túlzott és felelőtlen gyógyszerhasználat, amely a tápláléklánc teljes vertikumában a rezisztens kórokozók megjelenését vonta maga után. Ez a jelenség vezetett az Európai Unióban az antibiotikumok hozamfokozásra való felhasználásának betiltásához. Egyes országokban (pl. Dánia) a fluorokinolonok használatában való alkalmazását jelentősen korlátozzák. Gyakran a kisállatpraxis is vét, amikor az antibiotikumos kezeléseket anélkül folytatják, hogy rezisztenciavizsgálatra vagy mikrobiológiai tenyésztésre kerülne sor (Lilenbaum, *et al.*, 2000). A rezisztens kórokozók terjedését folyamatos rezisztencia-monitorozással és ellenőrzéssel, az antibiotikumok használatának csökkentésével, etiológiai alapú kezelésekkel valamint új antibakteriális szerek keresésével állíthatjuk meg. Mindezen területeken történt már előrelépés, de az ütem nem kielégítő. Ha ez a tendencia folytatódik, néhány évtizeden belül nem marad hatásos szer a baktériumok elleni védekezésben. A visszafogott antibiotikum használat sok esetben eredményhez vezetett, például penicillineknél, makrolidoknál az eredmény azonban nem volt ilyen szignifikáns (Hawkey, 2008).

Az Európai Bizottság és a WHO 1998-ban megalapította az EARSS-ot (European Antimicrobial Resistance Surveillance System), amely az invazív kórozők antibiotikumok elleni rezisztenciáját vizsgálja Európában. A *S. aureus* az egyik indikátor kórokozója az EARSS rendszerének (Oteol, *et al.*, 2004). Számos kutatás irányul külföldön a bakteriális rezisztencia megismerésére és felmérésére. Lilenbaum és munkatársai 2000-ben kutyák otitis externájából származó 44 törzset vizsgáltak penicillin-G, gentamicin, oxacillin, tetraciklin, trimetoprim-szulfametoxazol, sztreptomycin, ampicillin és rifampin ellenében.

2. táblázat. Az otitis externából izolált 44 *Staphylococcus* törzs érzékenységi rátája a vizsgált 8 antibiotikummal szemben (Lilenbaum, *et al.*, 2000).

Antibiotikum	Érzékenységi ráta (%)	Érzékeny izolátumok száma
Rifampin	97,7	43
Oxacillin	95,4	42
Tetraciklin	93,2	41
Gentamicin	84,1	37
Ampicillin	70,4	31
Sztreptomycin	65,9	29
Penicillin G	61,3	27
Trimetoprim-s.*	27,3	12

*Trimetoprim-szulfametoxazol

Tizenhat olyan törzset írtak le mind a CoPS és CoNS csoportból, amely legalább 3 különböző szerre, egy *S. haemolyticus* törzs pedig minden vizsgált antibiotikum ellen rezisztenciát mutatott. A tanulmány szerint a rifampin és az oxacillin volt a leghatékonyabb az otitis externából származó staphylococcusok ellen. A gentamicinnel szembeni érzékenységi ráta *Staphylococcus* törzsek esetében 84,1%-nak bizonyult; ez alacsonyabb az előző tanulmányokban közölt adatokhoz képest (Blue-Wooley, 1977: 94,4% , Cole *et al.*, 1998: 96,3%), ami valószínűleg a túlzott használatra vezethető vissza.

Dwight és munkatársai 1979-ben 118, különböző állatfajokból származó *P. aeruginosa* törzs érzékenységét vizsgálták különböző antibiotikumok ellenében. Az 57 kutya eredetű izolátum döntő többsége rezisztensnek bizonyult a gentamicinnel szemben, a többi állatfajjal ellentétben. A kutyák füléből izolált 27 mintából 14, az összes minta közül pedig 25% volt rezisztens gentamicinre.

2007-ben az ampicillint, cefalexint, eritromicint, gentamicint, kanamicint, linkomicint, norfloxacin, oxacillint, tetraciklint és vankomicint tesztelte Saito munkatársaival 44 kutya és 64 galamb eredetű *S. pseudointermedius* mintán. A kutyából származó izolátumok 54,5%-a legalább két szerre mutatott rezisztenciát (ebből 58,3% beteg állatokból és 37,5% egészséges egyedekből származott), a galamb eredetű mintákból pedig 12,9% bizonyult ellenállónak egynél több antibiotikumra, és ez a hányad mind tenyésztett galambokból került izolálásra. Összességében a kutya eredetű baktériumok gyakrabban mutattak rezisztenciát, valamint a galambok közül a tenyésztett egyedek mintái.

Multirezisztens baktérium a vadon élő galambokból nem volt kimutatható. *Gentamicin*re csak a kutya eredetű *S. pseudointermedius*ok mutattak ellenállóképességet.

3. táblázat. 44 kutya és 62 galamb eredetű *S. pseudointermedius* minta érzékenységi rátája a vizsgált antibiotikumokkal szemben (Saito, *et al.*, 2007).

Antibiotikum	Törzsek érzékenysége (%) kutya			Törzsek érzékenysége (%) galamb		
	R.	M.É.	É.	R.	M.É.	É.
Ampicillin	95,5	0	4,5	0	0	100
Cefalexin	0	0	100	0	0	100
Eritromicin	22,7	0	77,3	16,1	0	83,9
Gentamicin	9,1	6,8	84,1	0	0	100
Kanamicin	31,8	0	68,2	0	0	100
Linkomicin	25,0	59,1	15,9	19,4	75,8	4,8
Norfloxacin	2,3	0	97,7	0	0	100
Oxacillin	0	0	100	0	0	100
Tetraciklin	45,5	18,2	36,4	9,7	0	90,3
Vankomicin	0	0	100	0	0	100

R=rezisztens, M.É.=mérsékelten érzékeny, É.=érzékeny

Lengyelországban szintén *S. pseudointermedius* és CoNS staphylococcusokat vizsgáltak. Az eredmények alapján a törzsek 87,5%-a legalább egy szernek ellenállt. A *S. pseudointermedius* ellen a leghatásosabbnak az amoxicillin-klavulánsav, a cefalexin és a *gentamicin* bizonyult (Hauschild-Wójcik, 2007).

Meunier és munkatársai 1994 és 2001 között 8 európai országban (Belgium, Franciaország, Írország, Olaszország, Németország, Hollandia, Spanyolország) és az Egyesült Államokban gyűjtött mintákat vizsgált. A MIC-értékek a 390 szarvasmarha mastitisből izolált *S.aureus* törzs esetén zömében 0,12 és 1 µg/ml között mozogtak. Az összes törzs érzékeny volt a *marbofloxacin*ra. Az 579 *Streptococcus* minta MIC-értékei 0,5 és 2 µg/ml közötti intervallumban változtak. A MIC₅₀- és MIC₉₀- értékek magasabbak voltak streptococcusok esetében, és a törzsek 75,6-91,6%-a mutatott érzékenységet.

Spreng 1995-ben munkatársaival 816, kutya és macska bőrmegbetegedéséből izolált kórokozón vizsgálta a *marbofloxacin* hatását. Az eredmények alapján abszolút érzékenynek bizonyultak az alábbi Gram-negatív, illetve Gram-pozitív baktériumok: *E.coli*, *P. aeruginosa*, egyéb Enterobacteriaceae családba tartozó baktériumok, pasteurellák, *S. aureus* és mind a 194 *S. pseudointermedius* törzs. Streptococcusok ellen a fluorokinolon hatása kevésbé volt kifejezett.

Vanni és munkatársai 2009-ben 114 *S.pseudointermedius* és 8 *S. schleiferi* mintát vizsgáltak. *Gentamicin* alkalmazásakor mindössze 2 törzs volt rezisztens, ami 99,1%-os érzékenységi rátát jelent. *Marbofloxacin* esetén a *S.pseudointermedius* és *S.schleiferi* törzsek 98,2%-a illetve 37,5%-a bizonyult érzékenynek.

4. táblázat. 114 *S. pseudointermedius* és 8 *S. schleiferi* minta érzékenységi rátája a vizsgált antibiotikumokkal szemben (Vanni, *et al.*, 2009).

Antibiotikum	Érzékeny törzsek (%)		Antibiotikum	Érzékeny törzsek (%)	
	<i>S.pseudoint.</i>	<i>S.schleiferi</i>		<i>S.pseudoint.</i>	<i>S.schleiferi</i>
Amikacin	100	100	Gatifloxacin	100	100
Amoxicillin-klavulánsav	100	100	Gentamicin	98,2	100
Cefalexin	100	100	Levofloxacin	98,2	37,5
Cefoperazon	100	100	Lincomycin	86,8	100
Cefoxitin	99,1	100	Marbofloxacin	98,2	37,5
Klóramfenikol	85,1	100	Moxalactam	99,1	100
Klindamicin	90,4	100	Moxifloxacin	100	100
Klotrimoxazol	96,5	100	Oxacillin	96,5	100
Enrofloxacin	98,2	37,5	Pristinamicin	100	100
Eritromicin	78,9	100	Rifampicin	100	100
Foszfomicin	99,1	100	Trovafoxacin	100	100
Fuzidinsav	100	100			

S.pseudoint.=*Staphylococcus pseudointermedius*

Egy spanyol felmérés során vizsgált törzseknél a *gentamicin*re érzékeny, idült kutya otitis externából izolált *P. aeruginosa* minták aránya mindössze 65,2% volt. Fluorokinolonok közül a *marbofloxacin* adta a legjobb eredményt, nem találtak rezisztens törzset, 2 közepesen, 17 törzs pedig abszolút érzékeny volt, amelynek alapján az érzékenységi ráta 91,3 %. (Barassa, *et al.*, 2000)

5. táblázat. A 19 *P.aeruginosa* törzs antibiotikum-érzékenysége (Barassa *et al.*, 2000).

Antibiotikum	Rezisztens	Mérsékelten érzékeny	Érzékeny
Piperacillin	4	0	15 (78,9%)
Ticarcillin	3	0	16 (84,2%)
Cefotaxim	7	12	0 (0%)
Cefoxitin	19	0	0 (0%)
Ceftazidim	2	0	17 (89,9%)
Imipenem	3	0	16 (84,2)
Amikacin	1	7	11 (57,9%)
Gentamicin	3	4	12 (68,4%)
Netilmicin	1	2	16 (84,2%)
Tobramicin	0	0	19 (100%)
Ciprofloxacin	2	2	15 (78,9%)
Enrofloxacin	5	6	8 (42,1%)
Marbofloxacin	0	2	17 (89,9%)
Trimetoprim	19	0	0 (0%)
Baquiloprim	19	0	0 (0%)

Az antibakteriális szerek megfelelő kombinációinak alkalmazásakor a szerek hatékonysága meghaladja az önmagában alkalmazott szerek hatékonyságát, szélesedik a spektrum, továbbá csökken a rezisztencia kialakulásának valószínűsége. *Fluorokinolonok* esetén számos interakció ismert, szinergizmust mutatnak a béta-laktámokkal, aminoglikozidokkal, vancomycinnel,

metronidazollal. A levofloxacin és oxacillin kombináció szinergista hatású staphylococcusokkal szemben; a ciprofloxacin és imipenem pedig *Pseudomonas* spp.ellen. A *gentamicin* béta-laktámokkal szinergista hatást fejt ki némely *Pseudomonas* fajok, továbbá *Rhodococcus equi* és listeriák ellen, trimetoprim-szulfonamidokkal kombinálva pedig *E.coli* ellen. (Giguère, *et al.*, 2006). A *gentamicin*-moxolactam párosítást Pauline és munkatársai vizsgálták 1983-ban, azonban csak 50%-os szinergizmust kaptak eredményül (Anca, *et al.*, 2007).

Metronidazol-norfloxacin kombinációját R. Bharadwaj vizsgálta munkatársaival 2003-ban. Harminchat humán eredetű izolátumot vontak be a kísérletekbe, aerob és anaerob mikroorganizmusokat egyaránt, melyek között szerepelt *E.coli*, *Pseudomonas*, *Shigella*, *Salmonella*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobaktérium*- és *Clostridium*-fajok. A vizsgált 36 mintából 30 esetében mutattak ki szinergizmust a két szer kombinációban való alkalmazásakor.

Kocazeyek 2000-ben ciprofloxacin és *gentamicin* között mindössze 10%-os szinergizmust állapított meg *Pseudomonas aeruginosa* törzsek esetében (Anca, *et al.*, 2007).

Anca kutatásai során a *gentamicint* in vitro kombinálva enrofloxaccinnal hét *Pseudomonas aeruginosa* törzsből 5 minta esetében talált szinergizmust 2007-ben.

A hazai és nemzetközi szakirodalomban nincs adat a *gentamicin-marbofloxacin* kombináció in vitro aktivitásáról.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

1. Felhasznált baktériumtörzsek és anyagok

A baktériumtörzsek a Szent István Egyetem Állatorvos Tudományi Karának *Járványtani és Mikrobiológiai Tanszékéről*, a *Gyógyszertani és Méregtani Tanszékről*, valamint a *Duo-Bakt Kft.* mikrobiológiai laboratóriumából származnak. A vizsgált törzsek Magyarországon kerültek izolálásra pyoderma és bakteriális otitis externa klinikai tüneteit mutató állatokból. A pyoderma kórokozói között a *Staphylococcus aureus* és *Staphylococcus pseudointermedius* fajok dominálnak, kísérletünkben 129 *S. pseudointermedius* – ebből 110 kutyából és 19 macskából származott –, valamint kettő kutya és 4 macska eredetű *S. aureus* törzset vizsgáltunk. Harmincnyolc kutya és 5 macska eredetű *Streptococcus canis* mintát, *Pseudomonas aeruginosa*-ból 56 törzset vetettünk alá a kísérleteknek, melyből 52 kutyából és 4 macskából származott. A staphylococcusok és streptococcusok zömében bőrről, a pseudomonasok pedig fülből kerültek izolálásra, 2009-es, illetve 2010-es esetekből. A felhasznált törzsekről pontos adatok a függelékben tekinthetők meg a 12., 13., és 14. táblázatban.

A staphylococcusok és *P. aeruginosa* törzsek rövidtávú tárolása a kísérletek megkezdése előtt 4°C-on, Müller-Hinton ferde agaron történt. Ezt követően a vizsgálat első lépéseként felszaporítottuk őket folyékony Müller-Hinton levesben, 24 órán át tartó 37°C-os inkubálás során. A streptococcusokat szintén 4°C-on tároltuk 5% birkavért tartalmazó agaron. Szaporításuk agy-szív infúziós levesben (BHI, Brain Heart Infusion) történt, 24 órán keresztül 37°C-os inkubálással. A beoltáshoz 10⁵ CFU/ml-es (colony forming unit) szuszpenziót használtunk. A szuszpenzió baktériumszámát agarra való szélesztéssel és a telepek megszámlálásával ellenőriztük. A felhasznált táptalajok beszerzése a Biolab Zrt. (Budapest, Magyarország) cégtől történt.

2. A mikrodilúciós módszer kivitelezése

A MIC-értékek *in vitro* meghatározásához mikrodilúciós módszert (microbroth dilution) alkalmaztunk, amely megfelel a CLSI (Committee of Laboratory Standards Institute) M31-A3/2009 és M07-A8 irányelveinek.

A. Törzsoldatok elkészítése

A gentamicin 1600 µg/ml-es koncentrációjú törzsoldatát 17,9 mg gentamicin-szulfát 10 ml steril desztillált vízben való feloldásával készítettük el. A marbofloxacin törzsoldat szintén 1600 µg/ml-es

koncentrációjú volt, ebben az esetben 16,1 mg marbofloxacint 10 ml steril desztillált vízben oldottunk fel. A törzsoldatok sterilizálása 0,22 µm membránszűrőn való átszűréssel történt.

B. MIC meghatározás gentamicin esetében

A MIC meghatározáshoz a hígítási sorokat 96 lyukú tenyésztőedényekben készítettük el. Ehhez először a törzsoldatokból *munkaoldatokat* állítottunk elő a kettes hígítás szabályai szerint, így különböző koncentrációjú antibiotikum-oldatokat kaptunk. A kész, beállított koncentrációjú oldatokból ezután már csak azonos mennyiséget kellett bemérnünk a *kísérleti oldatokba*, amelyekben már a baktériumok növekedését tanulmányozhattuk. A baktériumszuspenziókból minden törzs és antibiotikum koncentráció vizsgálatakor azonos mennyiséget pipettáztunk a kísérleti oldatokba. Minden vizsgált baktériumfaj és antibiotikum esetében ez alapján jártunk el.

B.1. *S. pseudointermedius* és *S. aureus* törzsek

Ahhoz, hogy megkapjuk a *munkaoldatokat*, hígítási sort készítettünk a törzsoldatból egy 96 lyukú tenyésztőedényben. Az első oszlopba 40 µl törzsoldatot (1600 µg/ml) pipettáztunk, ehhez 160 µl Müller Hinton levest adtunk, így 320 µg/ml-es koncentrációt kaptunk. Ebből az oszlopból azután 100 µl-t pipettáztunk a következő oszlopba 100 µl MH-leveshez, a kettes hígítás szabályainak megfelelően. A hígítást hasonlóan folytattuk a többi oszlopban, így 160, 80, 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625-ös koncentrációkat kaptunk az első 10 oszlopban. A hígítási sort az 1. ábra szemlélteti.

320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25	0,625	+	-	1
320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25	0,625	+	-	2
320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25	0,625	+	-	3
320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25	0,625	+	-	4
320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25	0,625	+	-	5
320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25	0,625	+	-	6
320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25	0,625	+	-	7
320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25	0,625	+	-	8
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	

1. ábra. A gentamicin koncentrációi a munkaoldatokban µg/ml –ben a 96 lyukú tenyésztőedényben staphylococcusok vizsgálatakor. (Marbofloxacin és a kombináció alkalmazásakor is ezekkel a koncentrációkkal dolgoztunk staphylococcusok esetén, így azokat nem tüntetjük fel újra.)

Ezt a munkaoldatot felhasználva készítettük el a *kísérleti oldatokat*, a következőképpen: 15 µl-et mértünk át a munkaoldatokból a következő a tenyésztőedénybe, oszlopról oszlopra haladva, és

hozzáadva 120 µl Müller Hinton levest. Így a kísérleti oldatok a következő koncentrációban álltak rendelkezésre: 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625 µg/ml az első tíz oszlopban. Ezután egységesen 15 µl-t adtunk hozzá az elegyhez a baktérium szuszpenziókból, egy sorban egy törzset szerepeltetve. A 11. oszlop a pozitív kontroll oszlopa volt, benne MH-levessel és az adott baktériumtörzsszel, a 12. oszlop pedig a negatív kontroll volt az üres MH-levessel. A kísérleti oldatok koncentrációit a 2. ábrán tüntettük fel.

32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	+	-	1
32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	+	-	2
32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	+	-	3
32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	+	-	4
32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	+	-	5
32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	+	-	6
32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	+	-	7
32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	+	-	8
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	

2. ábra. A gentamicin koncentrációi a kísérleti oldatokban µg/ml –ben a 96 lyukú tenyésztőedényben, staphylococcusok vizsgálatakor. A 11. illetve 12. oszlopban a pozitív és negatív kontroll látható. (Marbofloxacin és a kombináció alkalmazásakor is ezekkel a koncentrációkkal dolgoztunk staphylococcusok esetén, így azokat nem tüntetjük fel újra.)

Az elkészült 96 lyukú tenyésztőedényeket 16 órára 37°C -os termosztátba helyeztük.

B.2. *Streptococcus canis* és *Pseudomonas aeruginosa*

Ezen baktériumoknál más hígítást alkalmaztunk, mivel ezek a fajok az irodalmi adatok alapján kevésbé érzékenyek az általunk vizsgált antibiotikumokra, mint a staphylococcusok.

A *munkaoldat* elkészítéséhez a törzsoldatból 80 µl-et pipettáztunk a tenyésztőedény első oszlopába, melyet *Pseudomonas* esetében 120 µl Müller-Hinton levestel, *Streptococcus* esetében pedig ugyanannyi BHI-vel 640 µg/ml-re hígítottunk. A fentiekhez hasonlóan jártunk el a további oszlopok elkészítésénél is, így 320, 160, 80, 40, 20, 10,5, 2,5, 1,25 µg/ml-es koncentrációkat kaptunk. Ezekből a munkaoldatokból 15 µl-t pipetázunk át oszloponként a *kísérleti oldatok* elkészítéséhez egy új 96 lyukú tenyésztőedénybe, majd a munkaoldathoz 120 µl BHI-t, illetve MH-levest adtunk,

végezetül pedig a megfelelő baktériumtörzsek szuszpenzióját. Az utolsó két oszlopot a pozitív, illetve a negatív kontrollnak jelöltük ki.

A hígításokat szemléltető 11. és 12. ábra a függelékben található. (Marbofloxacin és a kombináció alkalmazásakor is ezekkel a koncentrációkkal dolgoztunk streptococcusok illetve *P. aeruginosa* esetén, így azokat nem tüntetjük fel újra.) A kísérleti oldatokat 37°C-on inkubáltuk 16 órán keresztül.

C. MIC meghatározás marbofloxacin esetében

C.1. Staphylococcus aureus és Staphylococcus pseudointermedius

A törzsoldatból hígítással elkészítettük a *munkaoldatokat*. 40 µl törzsoldatot mértünk az első oszlopba, és ahhoz, hogy elérjük a kívánt 320 µg/ml-es marbofloxacin koncentrációt, 160 µl Müller Hinton levest adtunk hozzá. A maradék 9 oszlopba a gentamicinhez hasonlóan kettes hígítási sort készítettünk. A munkaoldatokból 10-es hígítási sort állítottunk elő egy új tenyésztőedényre, 15 µl munkaoldat átpipettázásával, valamint 120 µl MH-leves hozzáadásával. Végül 15 µl baktériumszuszenzió került a tenyésztőedény lyukaiba, soronként egy baktériumtörzsre. Két oszlopot fenntartottunk a pozitív és negatív kontroll számára. A hígításokat szemléltető 13. és 14. ábra a függelékben található. A tenyésztőedényeket 16 órán keresztül 37°C-on inkubáltuk.

C.2. Pseudomonas aeruginosa és Streptococcus canis

A *munkaoldatok* első oszlopában 640 µg/ml-es koncentrációt állítottunk be, ennek érdekében a törzsoldatból 80 µl-t mértünk át, és ezt 120 µl MH-, illetve BHI-levessel hígítottuk. Ezután kettes hígítási sort készítettünk. A munkaoldatokból ismét 15 µl-t használtunk fel a *kísérleti oldatokhoz*, amelyeknél a tízes hígítási sor elkészítéséhez 120 µl MH-, illetve BHI-levest pipettáztunk a törzsoldatokhoz, majd 15 µl került bemérésre a baktérium szuszpenziókból. A pozitív és negatív kontroll oszlop itt is kialakításra került a 11. és 12. oszlopban. Az elkészült tenyésztőedényeket 16 órára 37°C -os termosztátba helyeztük.

D. MIC meghatározás a gentamicin-marbofloxacin kombináció esetében

A kombináció esetében is 96 lyukú tenyésztőedényeket használtunk. A *munkaoldatokat* tartalmazó tenyésztőedényben mind gentamicinből, mind marbofloxacinból 320, 160, 80, 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25 és 0,0625 µg/ml voltak a beállított koncentrációk. A munkaoldatok elkészítésénél a törzsoldatokból (mindkettő 1600 µg/ml) 40-40 µl-t mértünk be, és ezt 120 µl MH-, illetve BHI-levessel hígítottuk a vizsgált baktérium igényeinek függvényében. Egy lyukban tehát mind a két hatóanyag szerepelt, ugyanabban a koncentrációban. A munkaoldatok felhasználásával a

korábbiakhoz hasonlóan 10-es hígítással készítettük el a kísérleti oldatokat 15µl munkaoldat, 15 µl baktérium-szuszpenzió és 120 µl MH-, illetve BHI-leves összemérésével. A kísérleti oldatokat tartalmazó tenyésztőedényben található gentamicin és marbofloxacin koncentrációkat a 3. ábra szemlélteti.

32+32	16+16	8+8	4+4	2+2	1+1	0,5+0,5	0,25+0,25	0,125+0,125	0,0625+0,0625	+	-	1
32+32	16+16	8+8	4+4	2+2	1+1	0,5+0,5	0,25+0,25	0,125+0,125	0,0625+0,0625	+	-	2
32+32	16+16	8+8	4+4	2+2	1+1	0,5+0,5	0,25+0,25	0,125+0,125	0,0625+0,0625	+	-	3
32+32	16+16	8+8	4+4	2+2	1+1	0,5+0,5	0,25+0,25	0,125+0,125	0,0625+0,0625	+	-	4
32+32	16+16	8+8	4+4	2+2	1+1	0,5+0,5	0,25+0,25	0,125+0,125	0,0625+0,0625	+	-	5
32+32	16+16	8+8	4+4	2+2	1+1	0,5+0,5	0,25+0,25	0,125+0,125	0,0625+0,0625	+	-	6
32+32	16+16	8+8	4+4	2+2	1+1	0,5+0,5	0,25+0,25	0,125+0,125	0,0625+0,0625	+	-	7
32+32	16+16	8+8	4+4	2+2	1+1	0,5+0,5	0,25+0,25	0,125+0,125	0,0625+0,0625	+	-	8
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	

3. ábra. A gentamicin és marbofloxacin 1:1 arányú kombinációját tartalmazó tenyésztőedényben a két hatóanyag koncentrációi µg/ml-ben. Egy sor egy baktériumtörzs vizsgálatára alkalmas.

A 11. és 12. oszlop a korábbiakhoz hasonlóan a pozitív és a negatív kontroll szerepét töltötte be.

E. A marbofloxacin és a gentamicin optimális arányának meghatározása P. aeruginosa esetében

Tizennyolc *Pseudomonas aeruginosa* törzset kiválasztottunk arra a célra, hogy a marbofloxacin és a gentamicin optimális arányát a hazai törzsek ellen megállapítsuk. A szelekció során rezisztens (legalább az egyik szerre), mérsékelten érzékeny és érzékeny törzsek is bekerültek a vizsgálati csoportba (l. 6.táblázat).

A szinergizmust az alapján állapítottuk meg, hogy a kapott kombinációs minimális gátló koncentrációk kisebbek-e a két szer önálló MIC-értékeinek összegéhez képest. Törzsenként készítettünk egy 96 lyukú tenyésztőedényt, amelyekben az összes lehetséges kombinációt összeállítottuk, így a megfelelő arányt is ki tudtuk kísérletezni. A kettes hígítási sor szabályai szerint oszloponként csökkenő mennyiségben a gentamicin került bemérésre, vízszintesen pedig a marbofloxacin. Tenyésztőedényenként készítettünk pozitív és negatív kontrollt a 11. és 12. oszlopban. Ezen hígítási mátrix alkalmazásával minden lehetséges hatóanyag arányt tesztelni

tudtunk. Azt a legkisebb minimális gátló koncentráció arányt kerestük, ahol már nem tapasztaltunk baktérium-növekedést.

6. táblázat. A kiválasztott tizennyolc *Pseudomonas aeruginosa* törzs érzékenysége gentamicinre, marbofloxacinra és a gentamicin:marbofloxacin 1:1 arányú kombinációjára

No.	GENTAMICIN	MARBOFLOXACIN	KOMBINÁCIÓ
4	érzékeny	mérsékelten érzékeny	érzékeny
6	érzékeny	mérsékelten érzékeny	érzékeny
7	mérsékelten érzékeny	rezisztens	mérsékelten érzékeny
10	mérsékelten érzékeny	rezisztens	mérsékelten érzékeny
19	érzékeny	rezisztens	érzékeny
21	érzékeny	mérsékelten érzékeny	érzékeny
24	érzékeny	mérsékelten érzékeny	érzékeny
26	érzékeny	érzékeny	érzékeny
27	rezisztens	rezisztens	mérsékelten érzékeny
28	rezisztens	érzékeny	érzékeny
29	érzékeny	rezisztens	érzékeny
30	érzékeny	rezisztens	érzékeny
32	érzékeny	rezisztens	érzékeny
35	érzékeny	rezisztens	érzékeny
40	érzékeny	rezisztens	érzékeny
42	érzékeny	mérsékelten érzékeny	érzékeny
45	mérsékelten érzékeny	érzékeny	érzékeny
47	mérsékelten érzékeny	mérsékelten érzékeny	érzékeny

A 4. ábrán a 4-es számú *Pseudomonas aeruginosa* törzs példáján szemlélítetve látható, hogy a jobb oldalsó oszlopban csak marbofloxacint, az legelső sorban pedig csak gentamicint mértünk be.

4	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Szinergista
	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0		
8	-	-	-	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-	-	-	-		
2	-	-	-	-	-	-	-	-		
1	-	-	-	-	-	-	-	++		
0,5	-	-	-	-	-	++	++	++		
0,25	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
0,125	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		

4. ábra. A kettes parallel hígítás a marbofloxacin:gentamicin kombináció optimális arányának meghatározására. A szürke szín azt a tartományt mutatja, ahol mikroba-növekedést tapasztaltunk. Sárga színnel látható az optimális arány.

3. MIC-értékek leolvasása

A tenyésztőedényeket a 16 órás inkubációt követően kivettük a termosztátból, és szabad szemmel megvizsgáltuk a baktériumok szaporodását. Amennyiben az adott antibiotikum-koncentráción nem szaporodott a baktérium, abban a lyukban a kísérleti oldat víztiszta maradt, míg növekedés esetén zavarossá vált. A zavarosodás mértéke arányos volt a mikroorganizmus szaporodásának mértékével. A minimális gátló koncentráció (MIC) az a legkisebb antibiotikum-koncentráció, melyen a vizsgált kórokozó már nem képes elszaporodni. A MIC₅₀ az az antibiotikum koncentráció, mely az adott kórokozó törzsek 50%-át gátolja a növekedésben, a MIC₉₀ pedig a törzsek 90%-át.

4. FIC-értékek kiszámítása a szinergizmus meghatározásához

A két szer kombinációjának hatását a FIC-értékek kiszámításával is elemeztük. A FIC- (frakcionált gátló koncentráció) értékkel meghatározható egy adott antibiotikum-kombináció interakciója a vizsgált baktériumtörzs esetén. Ehhez a következő formulát alkalmaztuk:

$$FIC_A = \frac{MIC_{kombináció}}{MIC_A}, \text{ ahol A az egyik antibakteriális szer, esetünkben a gentamicin,}$$

$$FIC_B = \frac{MIC_{kombináció}}{MIC_B}, \text{ ahol B a másik antibiotikum, esetünkben a marbofloxacin.}$$

A FIC-értékeket az összes vizsgált törzs esetén kiszámítottuk. A kapott FIC-értékekből meghatároztuk törzsenként az ún. FICI- értéket (fractional inhibitory concentration index).

$$FICI = FIC_A + FIC_B$$

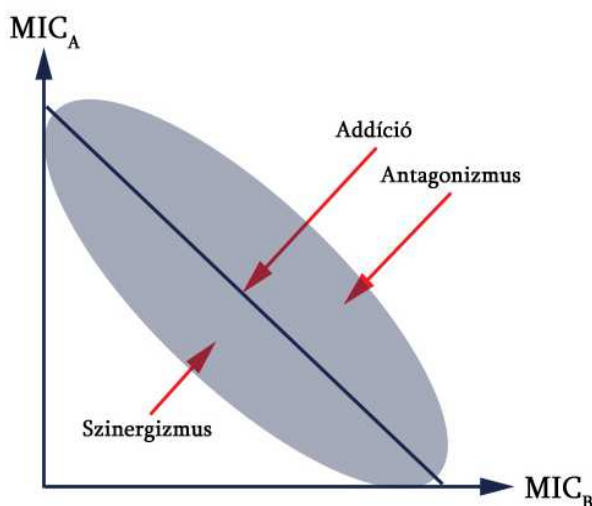
Végezetül a FICI-értékek átlagát vettük, így megkaptuk az ún. átlagos (Mean) FICI-értéket, mellyel a két szer interakcióját jellemezhetjük az adott baktériumfaj esetében, a vizsgált minták fényében.

$$Mean\ FICI = \frac{A\ kapott\ FICI\ értékek\ összege}{FICI\ értékek\ száma}$$

Mind a FIC-, mind a FICI-értékek esetén dimenzió nélküli számot kapunk. Amennyiben a Mean FICI-érték kisebb vagy egyenlő 0,5-tel, a kombináció szinergista hatású az adott fajra nézve, ha nagyobb mint 0,5 és nem haladja meg az 1-et, akkor parciális szinergizmusról beszélünk. Ha az érték 1 és 2 között található, additív, 2 felett pedig antagonista a két szer.

5. Isobologramok készítése

Isobologramok alkalmazásával grafikusán ábrázolhatjuk két szer kombinációjának hatását. Az ilyen típusú grafikonon a minimális gátló koncentráció értékek alakulását szemléltetjük az önálló használatot és a kombinációs alkalmazást összevetve. Az isobologramok x-tengelyére a gentamicin, y-tengelyére a marbofloxacin minimális gátló koncentrációit vettük fel.



5. ábra. Az isobologram elvének szemléltetése

Ha a gentamicin és marbofloxacin 1:1 arányú kombinációjának MIC-értéke az önálló hatóanyagok MIC-értékeit összekötő egyenesre esik, addícióról beszélünk. Ebben az esetben a két hatóanyag MIC-értékének összege megegyezik a kombinációs MIC-értékkel, tehát sem szinergista, sem antagonistá hatást nem tapasztalunk.

Ehhez viszonyítva vizsgáljuk, hogy a pontokként ábrázolt, kombinált alkalmazás esetén mért MIC-értékek az egyeneshez képest hol helyezkednek el. A pontok akkor helyezkednek el az *egyenes alatt*, ha a két szer alkalmazásakor kapott MIC kevesebb, mint az önálló használatkor mért értékek, tehát ekkor szinergizmust mutat a két szer. Ha a pontok az *egyenes fölött* láthatók, akkor antagonizmusról beszélünk. Az isobologram elvét az 5. ábrán szemléltetjük.

6. A fajonkénti minták összevetése

A kutya és macska eredetű, fülből és bőrről származó minták közötti eltéréseket Student-féle t-próbával elemeztük.

4. EREDMÉNYEK

1. A minimális gátló koncentrációk (MIC) meghatározása gentamicin, marbofloxacin és gentamicin:marbofloxacin 1:1 kombináció esetében

A kapott MIC-értékek alapján állapítottuk meg az érzékeny, mérsékelten érzékeny és ellenálló törzsek arányát, melynek során a CLSI által meghatározott határértékeket, az ún. „break point” értékeket vettük alapul. A kísérletben vizsgált törzsek érzékenységeinek értékelésekor *gentamicin* esetében $2 \mu\text{g/ml}$ MIC-értéken vagy az alatt érzékenynek, $4 \mu\text{g/ml}$ MIC-érték esetén mérsékelten érzékenynek, $8 \mu\text{g/ml}$ -os minimális gátló koncentrációnál, illetve efelett rezisztensnek számít az adott baktérium. *Marbofloxacin* esetében ezek a MIC-határértékek a következőképpen alakulnak: ha a MIC-érték *legfeljebb* $1 \mu\text{g/ml}$, az adott baktérium érzékenynek minősül, $2 \mu\text{g/ml}$ esetén mérsékelten érzékeny, $4 \mu\text{g/ml}$ vagy afelett pedig rezisztens besorolást kap (CLSI M31-S1). A kombináció értékelésénél a szigorúbb, marbofloxacinnál ismertetett értékeket vettük alapul. A fenti határértékek összefoglalását a 7. táblázat szemlélteti.

A két antibakteriális szer kombinálásakor az 1:1 arány bizonyult a leghatásosabbnak (l. később).

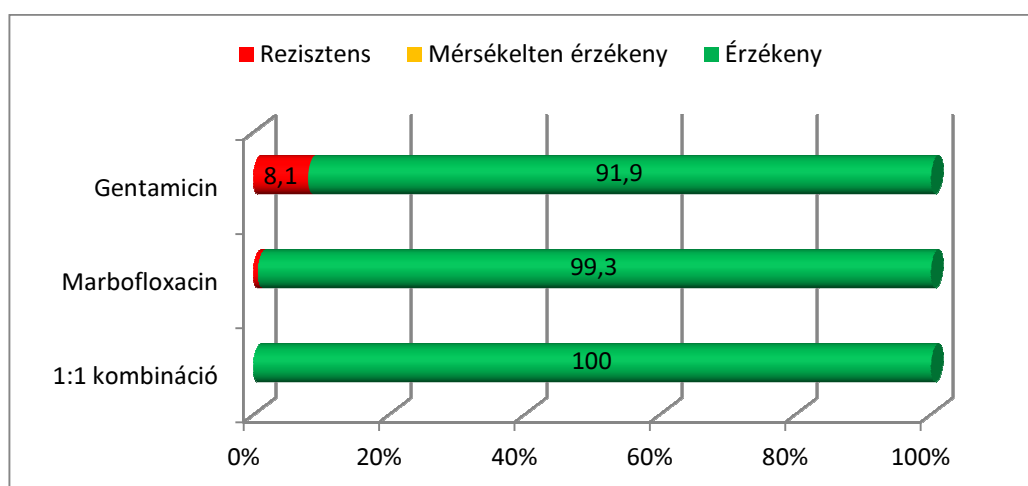
7. táblázat. A CLSI "break points" határértékek gentamicin, marbofloxacin és a gentamicin:marbofloxacin 1:1 arányú kombinációjának esetén

Antibakteriális szer	MIC- értékek (CLSI)		
	Érzékeny	Mérsékelten érzékeny	Rezisztens
Gentamicin	$\leq 2 \mu\text{g/ml}$	$4 \mu\text{g/ml}$	$\geq 8 \mu\text{g/ml}$
Marbofloxacin	$\leq 1 \mu\text{g/ml}$	$2 \mu\text{g/ml}$	$\geq 4 \mu\text{g/ml}$
Kombináció	$\leq 1 \mu\text{g/ml}$	$2 \mu\text{g/ml}$	$\geq 4 \mu\text{g/ml}$

A kapott MIC-értékek alapján a két szer együttes hatása is meghatározható. Amennyiben a MIC-érték nagyobb, mint a két szer MIC-értéke egyenként összeadva, akkor **szinergizmus**ról beszélünk; ha pontosan annyi, mint a két szer MIC-értéke összeadva, **addíció**ról van szó; **antagonizmus**nak pedig azt tekintjük, amikor a kombináció MIC-értéke alacsonyabb, mint a szerek önálló alkalmazást követően mért MIC-értékek. A szinergista kombinációk használata fontos eszköz a rezisztens kórokozók elleni küzdelemben, továbbá a rezisztencia kialakulásának késleltetésében. Eredményeinket az átlagos FICI-értékek kiszámításával is megerősítettük (l. Anyag és módszer).

A. Staphylococcus pseudointermedius és Staphylococcus aureus

A *Staphylococcus* törzseknél a 0,0625 és 32 µg/ml közötti MIC-értékek voltak jellemzőek *gentamicin* esetében, amelyet a 8. táblázatban láthatunk. A CLSI határértékek alapján tizenegy törzs (8,1%) mutatott rezisztenciát a szerrel szemben a 135 közül, a többi 124 törzs érzékenynek bizonyult (91,9%). Az érzékeny és rezisztens törzsek százalékos megoszlását a 6. ábra szemlélteti. A MIC₅₀- és MIC₉₀- értékek meghatározásánál 0,125 µg/ml illetve 1 µg/ml-t kaptunk eredményül. *Marbofloxacin*nál a kapott MIC-értékek 0,0625 és 0,25 µg/ml között mozogtak, a pontos eredményeket a 8. táblázat foglalja össze törzsenként. Ennek alapján a fluorokinolon iránt jó érzékenységet mutatott a két *Staphylococcus* faj, így a marbofloxacin eredményesen alkalmazható hazai fertőzések esetén. A CLSI határértékek figyelembe vételével a 135 törzs közül mindössze egy bizonyult rezisztensnek (0,7%), az összes többi pedig abszolút érzékenynek (99,3%). A törzsek százalékos megoszlását a 6. ábrán mutatjuk be. A MIC₅₀-érték 0,125 µg/ml, a MIC₉₀ pedig 0,25 µg/ml lett marbofloxacin esetében.



6. ábra. A vizsgált *Staphylococcus* törzsek érzékenységeinek százalékos megoszlása gentamicin, marbofloxacin és a gentamicin:marbofloxacin 1:1 arányú kombinációja esetén

A *Staphylococcus* törzsek mindegyike érzékeny volt a két szer *kombinációjára*, rezisztenciát nem találtunk a vizsgált 135 törzs között. A 100%-os érzékenységet jól szemlélteti a 6. ábra. A MIC-értékek 0,0625 µg/ml-től 0,25 µg/ml-ig terjedtek, a pontos adatokat a 8. táblázat szemlélteti.

A *Staphylococcus* törzsek 83,7%-ánál *additív* hatás volt megfigyelhető, 11,1 % -nál *szinergizmus* lett az eredmény, a fennmaradó 5,2%-nál a két szer külön-külön hatásosabbnak bizonyult, mint a kombináció. Utóbbi jelenség csak igen alacsony koncentrációknál volt megfigyelhető, és az adott törzsek érzékenyek maradtak a CLSI határértékek szerint.

8. táblázat. *Staphylococcus* spp. törzsek vizsgálatakor kapott MIC-értékek µg/ml-ben gentamicin, marbofloxacin és a gentamicin:marbofloxacin 1:1 arányú kombinációja esetén. Zöld színnel az érzékeny, narancssárgával a mérsékelten érzékeny, pirossal a rezisztens törzseket jelöltük. Sötétszürkével a szinergista, középszürkével az additív, világos szürkével az antagonistá hatás látható.

No.	Faj	G	M	K	Hatás	No.	Faj	G	M	K	Hatás
1	<i>S. int.</i>	0,125	0,0625	0,0625	Add.	34	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
2	<i>S. int.</i>	0,125	0,0625	0,0625	Add.	35	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.
3	<i>S. int.</i>	0,0625	0,0625	0,0625	Add.	36	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
4	<i>S. a.</i>	0,5	0,25	0,25	Add.	37	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
5	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.	38	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
6	<i>S. int.</i>	0,0625	0,5	0,0625	Add.	39	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
7	<i>S. int.</i>	0,5	0,25	0,25	Add.	40	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.
8	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.	41	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.
9	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	42	<i>S. int.</i>	0,125	0,5	0,125	Add.
10	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	43	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
11	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,25	Ant.	44	<i>S. int.</i>	16	0,25	0,25	Add.
12	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.	45	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
13	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	46	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
14	<i>S. int.</i>	32	0,125	0,125	Add.	47	<i>S. int.</i>	0,5	0,25	0,25	Add.
15	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.	48	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
16	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.	49	<i>S. int.</i>	0,5	1	0,5	Add.
17	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	50	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,25	Add.
18	<i>S. int.</i>	0,125	0,0625	0,0625	Add.	51	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,25	Add.
19	<i>S. a.</i>	2	0,25	0,25	Add.	52	<i>S. int.</i>	0,125	0,0625	0,0625	Add.
20	<i>S. int.</i>	16	0,25	0,25	Add.	53	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
21	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,032	Szin.	54	<i>S. int.</i>	8	0,125	0,125	Add.
22	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	55	<i>S. int.</i>	0,25	4	0,25	Add.
23	<i>S. int.</i>	32	0,125	0,125	Add.	56	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.
24	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,0625	Szin.	57	<i>S. a.</i>	1	0,5	0,25	Szin.
25	<i>S. int.</i>	0,5	0,25	0,25	Add.	58	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,25	Add.
26	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	59	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
27	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	60	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
28	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	61	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.
29	<i>S. int.</i>	1	0,125	0,125	Add.	62	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.
30	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	63	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
31	<i>S. int.</i>	32	0,25	0,25	Add.	64	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
32	<i>S. int.</i>	0,25	0,0625	0,0625	Add.	65	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
33	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	66	<i>S. int.</i>	16	0,125	0,125	Add.

No.	Faj	G	M	K	Hatás	No.	Faj	G	M	K	Hatás
67	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	102	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
68	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	103	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
69	<i>S. int.</i>	0,25	0,5	0,25	Add.	104	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,125	Add.
70	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	105	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
71	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,25	Add.	106	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
72	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,25	Ant.	107	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
73	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	108	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
74	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	109	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
75	<i>S. a.</i>	0,5	0,25	0,25	Add.	110	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
76	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,125	Szin.	111	<i>S. int.</i>	16	0,25	0,125	Szin.
77	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	112	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
78	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.	113	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.
79	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	114	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
80	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,0625	Szin.	115	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
81	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	116	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
82	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,0625	Szin.	117	<i>S. int.</i>	0,125	0,0625	0,0625	Add.
83	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,0625	Szin.	118	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
84	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	119	<i>S. int.</i>	32	0,125	0,125	Add.
85	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	120	<i>S. a.</i>	0,25	0,125	0,125	Add.
86	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,125	Szin.	121	<i>S. int.</i>	16	0,125	0,0625	Szin.
87	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,125	Szin.	122	<i>S. int.</i>	0,0625	0,0625	0,0625	Add.
88	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	123	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
89	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	124	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,25	Add.
90	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.	125	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
91	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	126	<i>S. int.</i>	0,25	0,125	0,25	Ant.
92	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	127	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
93	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	128	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
94	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.	129	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,125	Add.
95	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,0625	Szin.	130	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,125	Szin.
96	<i>S. a.</i>	1	0,125	0,25	Ant.	131	<i>S. int.</i>	0,5	0,25	0,5	Ant.
97	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,0625	Szin.	132	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.
98	<i>S. int.</i>	8	0,25	0,25	Add.	133	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,25	Add.
99	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,25	Ant.	134	<i>S. int.</i>	0,125	0,25	0,0625	Szin.
100	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,25	Ant.	135	<i>S. int.</i>	0,25	0,25	0,25	Add.
101	<i>S. int.</i>	0,125	0,125	0,125	Add.						

S.int.=*Staphylococcus pseudointermedius*, *S.a.*=*Staphylococcus aureus*, G=gentamicin, M=marbofloxacin, K=kombináció, Add.=Additív, Szin.=Szinergista, Ant.=Antagonista

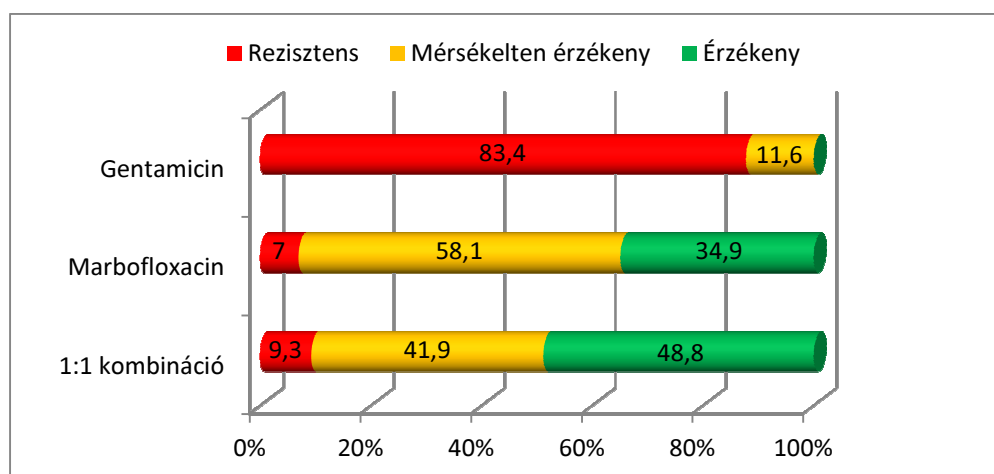
Ennek alapján kijelenthetjük, hogy a kisszámú és enyhe antagonizmus klinikai jelentősége elhanyagolható. A MIC₅₀ a kombináció esetében 0,125 µg/ml, a MIC₉₀ pedig 0,25 µg/ml értéket mutatott.

Szignifikáns különbséget nem találtunk a MIC-értékekben Student-féle t-próba alapján aszerint, hogy fülből vagy bőrről, illetve kutyából vagy macskából került izolálásra a *Staphylococcus* spp.-be tartozó törzs ($p>0,05$).

Az átlagos frakcionált gátló koncentrációs index (Mean FICI) értéke staphylococcusok esetén 1,635, amely a két hatóanyag *additív/indifferens* hatását jelzi (Bharadwaj, *et al.*, 2003).

B. *Streptococcus canis*

Gentamicin esetében a MIC-értékek 4 $\mu\text{g/ml}$ -től 64 $\mu\text{g/ml}$ -ig alakultak. A pontos adatok a 9.táblázatban láthatók. Ennek alapján a streptococcusok mérsékelt érzékenységet és nagyrészt rezisztenciát mutattak, ahogyan arra irodalmi adatok alapján számítottunk. A MIC₅₀- és MIC₉₀-értékre egyaránt 16 $\mu\text{g/ml}$ -t kaptunk eredményül. Mindössze 5 törzs (11,6%) mutatott mérsékelt érzékenységet, a fennmaradó 38 törzs (88,4%) rezisztensnek bizonyult a CLSI határértékek alapján (l. 7.ábra).



7. ábra. A vizsgált *Streptococcus canis* törzsek érzékenységének százalékos megoszlása gentamicin, marbofloxacin és a gentamicin:marbofloxacin 1:1 arányú kombinációjára

*Marbofloxacin*nál 0,5-4 $\mu\text{g/ml}$ tartományba eső MIC-értékeket állapítottunk meg (l. 9.táblázat). A MIC₅₀ és a MIC₉₀ mindkét esetben 2 $\mu\text{g/ml}$ lett *Streptococcus canis* esetében. Három törzs (7%) bizonyult rezisztensnek, 25 törzs (58,1%) mérsékelt érzékenynek, 15 törzs pedig (34,9%) abszolút érzékenynek, ahogyan az a 7. ábrán látható (CLSI M31-S1).

A *kombinációnál* szintén 0,5-4 $\mu\text{g/ml}$ között mozogtak a MIC-értékek, melyek a 9. táblázatban láthatók. A határértékek alapján a *Streptococcus* törzsek zömében mérsékelt érzékenységet mutatnak a kombinációval szemben. Négy törzs (9,3%) esetében rezisztenciát, 18 (41,9%) esetében mérsékelt érzékenységet, 21 (48,8%) törzsnél abszolút érzékenységet állapítottunk meg a kombináció vizsgálatakor.

9. táblázat. A kapott MIC-értékek $\mu\text{g/ml}$ -ben a vizsgált *Streptococcus canis* törzsek esetén gentamicinre, marbofloxacinra, és a gentamicin:marbofloxacin 1:1 arányú kombinációjára. Zöld színnel az érzékeny, narancssárgával a mérsékelten érzékeny, pirossal a rezisztens törzseket jelöltük. Sötétszürkével a szinergista, középszürkével az additív, világos szürkével az antagonista hatás látható.

No.	Faj	G	M	K	Hatás	No.	Faj	G	M	K	Hatás
1	<i>Str. canis</i>	64	1	1	Addíció	23	<i>Str. canis</i>	16	1	1	Addíció
2	<i>Str. canis</i>	4	1	1	Addíció	24	<i>Str. canis</i>	16	4	4	Addíció
3	<i>Str. canis</i>	8	2	2	Addíció	25	<i>Str. canis</i>	8	1	1	Addíció
4	<i>Str. canis</i>	8	2	2	Addíció	26	<i>Str. canis</i>	16	2	2	Addíció
5	<i>Str. canis</i>	8	2	4	Antagonizmus	27	<i>Str. canis</i>	16	1	1	Addíció
6	<i>Str. canis</i>	32	4	4	Addíció	28	<i>Str. canis</i>	8	2	1	Szinergizmus
7	<i>Str. canis</i>	16	1	1	Addíció	29	<i>Str. canis</i>	16	2	2	Addíció
8	<i>Str. canis</i>	4	1	1	Addíció	30	<i>Str. canis</i>	8	2	2	Addíció
9	<i>Str. canis</i>	8	1	1	Addíció	31	<i>Str. canis</i>	16	1	1	Addíció
10	<i>Str. canis</i>	8	2	2	Addíció	32	<i>Str. canis</i>	4	2	1	Szinergizmus
11	<i>Str. canis</i>	16	2	1	Szinergizmus	33	<i>Str. canis</i>	16	1	1	Addíció
12	<i>Str. canis</i>	8	2	1	Szinergizmus	34	<i>Str. canis</i>	8	0,5	0,5	Addíció
13	<i>Str. canis</i>	4	2	2	Addíció	35	<i>Str. canis</i>	16	2	2	Addíció
14	<i>Str. canis</i>	8	2	2	Addíció	36	<i>Str. canis</i>	16	2	1	Szinergizmus
15	<i>Str. canis</i>	16	4	4	Addíció	37	<i>Str. canis</i>	8	2	2	Addíció
16	<i>Str. canis</i>	8	1	2	Antagonizmus	38	<i>Str. canis</i>	8	2	1	Szinergizmus
17	<i>Str. canis</i>	16	1	1	Addíció	39	<i>Str. canis</i>	16	0,5	0,5	Addíció
18	<i>Str. canis</i>	16	2	2	Addíció	40	<i>Str. canis</i>	16	1	1	Addíció
19	<i>Str. canis</i>	16	2	2	Addíció	41	<i>Str. canis</i>	16	2	2	Addíció
20	<i>Str. canis</i>	16	2	2	Addíció	42	<i>Str. canis</i>	8	2	2	Addíció
21	<i>Str. canis</i>	16	2	2	Addíció	43	<i>Str. canis</i>	4	2	2	Addíció
22	<i>Str. canis</i>	16	2	1	Szinergizmus						

G=gentamicin, M=marbofloxacin, K=kombináció

Eredményeinket a 7. ábrán mutatjuk be (CLSI M31-S1). A vizsgált törzsek esetén 79,1%-ban additív, 16,3%-ban szinergista és 4,6%-ban antagonista hatású volt a kombináció. A MIC₅₀-re és MIC₉₀-re egyaránt 2 $\mu\text{g/ml}$ értéket kaptunk.

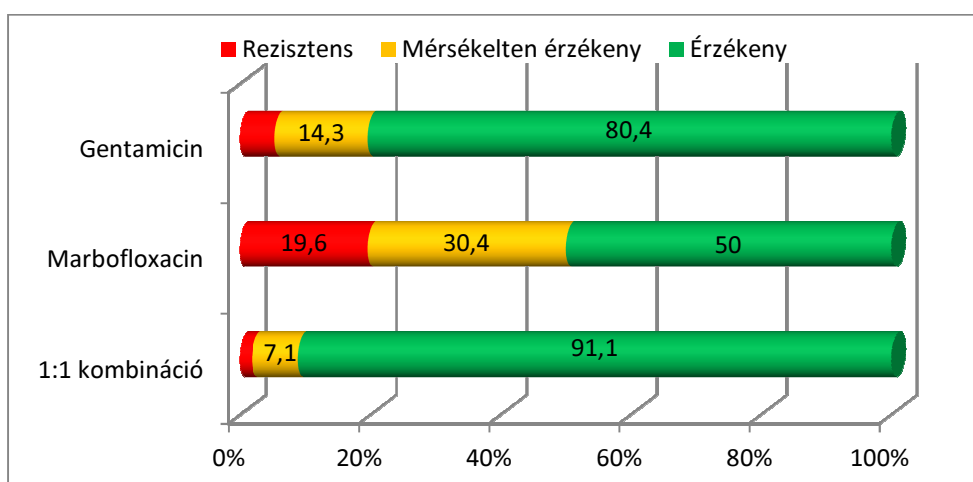
Az átlagos frakcionált gátló koncentrációs index (Mean FICI) értéke streptococcusok esetén 1,1371, amely a két hatóanyag *additív/indifferens* hatására utal (Bharadwaj, *et al.*, 2003). *Streptococcus* törzsek esetén sem találtunk szignifikáns különbséget a kutya és macska eredetű, illetve fül és bőr izolátumok között ($p>0,05$; Student-féle t-próba alkalmazásával)

C. Pseudomonas aeruginosa

Gentamicin esetében széles intervallumban, 0,25 és 32 $\mu\text{g/ml}$ között mozogtak a MIC-értékek (l. 10.táblázat). A gentamicin igen hatásosnak bizonyult a kórokozó ellen. Három törzs (5,3%) volt

csak rezisztens, 8 törzs (14,3%) mérsékelten érzékeny, a többi 45 törzs (80,4%) pedig abszolút érzékeny (l. 8.ábra). Gentamicin esetében a MIC₅₀- és MIC₉₀-érték rendre 2 µg/ml, illetve 4 µg/ml volt.

Marbofloxacin esetében szintén széles intervallumban, 0,25 és 64 µg/ml között változtak a MIC-értékek. A pontos adatokat a 10. táblázatban tüntettük fel. Tizenegy törzs (19,6%) rezisztens volt marbofloxacinra, 17 törzs (30,4%) mérsékelten érzékenynek, 28 izolátum (50,0%) pedig abszolút érzékenynek bizonyult (l. 8. ábra). MIC₅₀-értékre 2 µg/ml-t, MIC₉₀-értékre 8 µg/ml-t kaptunk eredményül.



8. ábra. A vizsgált *Pseudomonas aeruginosa* törzsek érzékenységeinek százalékos megoszlása gentamicin, marbofloxacin illetve az 1:1 arányú gentamicin:marbofloxacin kombinációra

Az 1:1 arányú *kombináció* ellen csak egy *Pseudomonas aeruginosa* törzs mutatott rezisztenciát (1,8%), 4 izolátum (7,1%) esetében mérsékelt érzékenységet, és 51 törzs (91,1%) esetén abszolút érzékenységet találtunk (l. 8. ábra).

A MIC-értékek 0,031 és 8 µg/ml közé estek (l. 10. táblázat). Az eredmények alapján 23,2%-ban additív hatást, 73,2%-ban szinergizmust tapasztaltunk, 3,6%-ban pedig antagonizmust. A két törzs, amelynél a MIC-értékek összehasonlítása alapján antagonizmust írtunk le, érzékeny volt a kombinációra, így az eredmény klinikai szempontból gyakorlatilag nem releváns. A MIC₅₀ a kombináció esetében 0,5 µg/ml, a MIC₉₀ pedig 1 µg/ml. Mind a MIC₅₀, mind a MIC₉₀ vizsgálatoknál kisebb értéket kaptunk, mint az önálló alkalmazásnál. Az *átlagos frakcionált gátló koncentrációs index (Mean FICI) értéke pseudomonasok esetén volt a legalacsonyabb, 0,9214*, amely a két hatóanyag részleges szinergizmusát jelzi (Bharadwaj, et al., 2003).

10. táblázat. A kapott MIC-értékek µg/ml-ben a vizsgált *Pseudomonas aeruginosa* törzsek esetén gentamicinre, marbofloxacinra, és a gentamicin:marbofloxacin 1:1 arányú kombinációjára. Zöld színnel az érzékeny, narancssárgával a mérsékelten érzékeny, pirossal a rezisztens törzseket jelöltük. Sötétszürkével a szinergista, középszürkével az additív, világos szürkével az antagonista hatás látható.

No.	Faj	G	M	K	Hatás	No.	Faj	G	M	K	Hatás
1	P.a.	1	0,5	0,5	Additív	29	P.a.	0,25	8	0,25	Additív
2	P.a.	1	2	0,5	Szinergista	30	P.a.	0,5	8	0,5	Additív
3	P.a.	4	16	2	Szinergista	31	P.a.	1	1	0,5	Szinergista
4	P.a.	2	2	0,5	Szinergista	32	P.a.	1	16	1	Additív
5	P.a.	1	2	0,5	Szinergista	33	P.a.	2	2	0,5	Szinergista
6	P.a.	2	2	0,5	Szinergista	34	P.a.	2	2	1	Szinergista
7	P.a.	4	8	2	Szinergista	35	P.a.	2	8	1	Szinergista
8	P.a.	0,5	0,25	0,125	Szinergista	36	P.a.	1	1	1	Additív
9	P.a.	1	1	0,5	Szinergista	37	P.a.	2	0,5	0,5	Additív
10	P.a.	4	8	2	Szinergista	38	P.a.	2	2	1	Szinergista
11	P.a.	1	1	0,5	Szinergista	39	P.a.	1	1	1	Additív
12	P.a.	1	1	0,5	Szinergista	40	P.a.	0,5	64	0,5	Additív
13	P.a.	1	1	0,5	Szinergista	41	P.a.	0,25	0,5	0,5	Antagonista
14	P.a.	2	1	1	Additív	42	P.a.	2	2	0,25	Szinergista
15	P.a.	1	2	0,5	Szinergista	43	P.a.	4	2	0,5	Szinergista
16	P.a.	32	16	8	Szinergista	44	P.a.	2	2	0,5	Szinergista
17	P.a.	2	1	0,25	Szinergista	45	P.a.	4	0,5	0,25	Szinergista
18	P.a.	1	1	0,5	Szinergista	46	P.a.	4	0,5	0,25	Szinergista
19	P.a.	1	8	1	Additív	47	P.a.	4	2	0,25	Szinergista
20	P.a.	2	0,5	1	Antagonista	48	P.a.	1	2	0,5	Szinergista
21	P.a.	4	1	0,5	Szinergizmus	49	P.a.	2	1	0,5	Szinergista
22	P.a.	0,5	2	0,5	Additív	50	P.a.	2	2	0,5	Szinergista
23	P.a.	1	0,5	0,25	Szinergista	51	P.a.	1	1	0,25	Szinergista
24	P.a.	2	2	0,5	Szinergista	52	P.a.	2	1	0,031	Szinergista
25	P.a.	1	1	1	Additív	53	P.a.	1	1	0,5	Szinergista
26	P.a.	2	1	1	Additív	54	P.a.	2	2	1	Szinergista
27	P.a.	32	4	2	Szinergista	55	P.a.	1	0,5	0,25	Szinergista
28	P.a.	32	1	0,5	Szinergista	56	P.a.	1	0,5	0,25	Szinergista

P.a.=*P.aeruginosa*, G=gentamicin, M=marbofloxacin, K=kombináció

Megjegyezzük azonban, hogy az index értéke a néhány törzs esetében talált kiugró FIC-értékek miatt lett viszonylag nagyobb, nagyobb mintaszám esetén ezen egyedi esetek módosító ereje csökkenne. További törzsek bevonásával tehát nem kizárt a teljes szinergizmus igazolása sem.

P. aeruginosa esetében sem találtunk szignifikáns különbséget a kutya és macska, továbbá fül és bőr eredetű izolátumok között ($p>0,05$, a Student-féle t-próba alkalmazásával).

2. Az optimális gentamicin-marbofloxacin arány meghatározása szinergizmus esetén

Tizennyolc *Pseudomonas aeruginosa* törzset kiválasztottunk arra a célra, hogy a marbofloxacin és a gentamicin optimális arányát a hazai törzsek ellen megállapítsuk. A szelekció során rezisztens (legalább az egyik szerre), mérsékelten érzékeny és érzékeny törzsek is bekerültek a vizsgált csoportba.

A szinergizmust az alapján állapítottuk meg, hogy a kapott kombinációs minimális gátló koncentrációk kisebbek-e legalább az egyik szer önálló MIC-értékéhez képest. *A kombináció ellen egyik vizsgált Pseudomonas aeruginosa törzs sem mutatott rezisztenciát a kiválasztott 18-ból.*

Azt a legkisebb minimális gátló koncentráció arányt kerestük, ahol már nem tapasztaltunk baktérium-növekedést. Az eredmények alapján *az 1:1 arány bizonyult a leghatásosabbnak.* Elvértve más kombinációs arány esetében is találtunk szinergizmust, ez azonban az 1:1 arányú hígításnál jelentkezett a leggyakrabban.

A 18 kiválasztott törzs parallel hígításának eredményeit ábrázoló táblázatainak részletes bemutatása a függelék 16. táblázatában látható.

5. MEGBESZÉLÉS

Az eredményekből jól kitűnik, hogy a *Staphylococcus aureus* és a *Staphylococcus pseudointermedius* általunk vizsgált törzsei érzékenyek a gentamicinre és a marbofloxacinra egyaránt (l. 12. táblázat) Az irodalmi adatok alapján a staphylococcusok részéről hasonló eredményt, azaz nagyfokú érzékenységet vártunk mind gentamicin, mind marbofloxacin esetén (Spreng, *et al.*, 1995; Hauschild-Wójcik, 2007). Az eredmények alapján Magyarországon még nem alakult ki számottevő rezisztencia a *S.pseudointermedius*ban gentamicinnel szemben (Saito, *et al.*, 2007). A két antibiotikum külön-külön is jó eredményeket mutatott a *Staphylococcus* törzsek ellen – 91,9% és 99,3%-os érzékenységi ráta gentamicin és marbofloxacin esetén – viszont a kombinációra 100%-ban érzékenynek bizonyultak. *A gyógyszer-engedélyezés során alapelv a lehető legkevesebb összetevő készítménybe való foglalása. Ezzel csökkenthetjük a környezet gyógyszer-terhelését, a mellékhatások valószínűségét, az élelmiszerláncban való megjelenést, illetve az antibakteriális szerek ellen a rezisztencia potenciális kialakulását.*

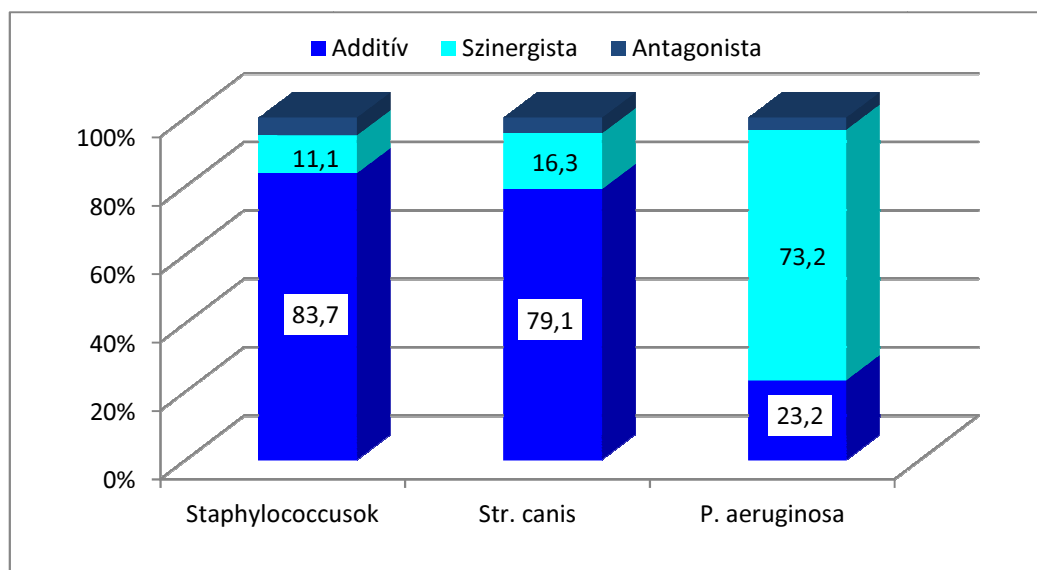
Ezen elvek figyelembevételével bőrgyulladások kezelésére, melyekben elsősorban staphylococcusok játszanak szerepet, a marbofloxacin:gentamicin kombináció helyileg alkalmazható készítményekben való alkalmazása nem javasolható a szinergizmus alacsony aránya miatt. *Staphylococcus pseudointermedius* és *S.auerus* fertőzések lokális kezelésére kiváló választás a marbofloxacin, amelynél a hazai törzsek 99,3%-os érzékenységet mutattak.

11. táblázat. A kapott MIC-értékek összegzése a vizsgált baktériumok esetén gentamicinre, marbofloxacinra és a két szer 1:1 arányú kombinációjára

	MIC-értékek (µg/ml)		
	Gentamicin	Marbofloxacin	1:1 kombináció
staphylococcusok	0,0625 - 32	0,0625 - 0,25	0,0625 - 0,25
<i>Streptococcus canis</i>	4 - 64	0,5-4	0,5-4
<i>P. aeruginosa</i>	0,25 - 32	0,25 - 64	0,031-8

A *Staphylococcus* fajoknál tapasztalt MIC-értékekhez viszonyított magasabb *Streptococcus* MIC-értékek a mi vizsgálatunkban is megmutatkoztak gentamicin és marbofloxacin alkalmazása során egyaránt (Spreng, *et al.*, 1995; Meunier, *et al.*, 2004), sőt a hazai törzsek abszolút rezisztenciát mutatnak gentamicinnel szemben. Az 1:1 arányú kombináció csökkentette a rezisztens és növelte az érzékeny *Streptococcus canis* törzsek arányát. Az eredmények alapján a marbofloxacin (34,9%) és a kombináció (48,8%) hatásos a hazai fertőzések ellen, míg a gentamicinről (0%) ez nem mondható el. A marbofloxacin hatékonysága a többi 2. generációs fluorokinolonéhoz képest jobb

streptococcusok ellen, ez kísérletünkben is igazolódott (Vanni, *et al.*, 2009). Marbofloxacinra mérsékelten érzékeny *S. canis* törzs esetében azonban megfontolandó valamely β -laktám antibiotikum együttes alkalmazása a lokális marbofloxacin-tartalmú készítmény mellé.



10.ábra. Az 1:1 arányú gentamicin:marbofloxacin kombináció additív, szinergista illetve antagonistá hatásának százalékos megoszlása a vizsgált baktérium fajok esetén

Az irodalmi adatoknak megfelelően a hazai *Pseudomonas aeruginosa* törzsek sem mutatnak egyik szerrel szemben sem 100%-os érzékenységet (Konkoly-Ludwig, 2002). Esetünkben azonban a gentamicin jobban szerepelt a marbofloxacinhoz viszonyítva, ami eltér a külföldi tanulmányok eredményeitől (Dwight *et al.*, 1979; Spreng, *et al.*, 1995; Barrasa, *et al.*, 2000). *Pseudomonas* szemben a 73,2%-os szinergizmus *kiemelkedő eredmény*, ilyen aktív kombinációt eddig még nem írtak le (Giguère, *et al.*, 2006; Anca, *et al.*, 2007).

A kombináció alkalmazása során csökkent a rezisztens és nőtt az érzékeny *Pseudomonas aeruginosa* törzsek aránya a szerek önálló alkalmazásához viszonyítva. A marbofloxacinnál 50%-os, gentamicinnél 80%-os érzékenységet találtunk, míg ez az érték az együttes használatkor 98,2% volt. A magas arányú addíció és **szinergizmus** (10. ábra) megalapozza a kombináció klinikumban való alkalmazását a *Pseudomonas* fertőzések esetében. Az elvétve előforduló antagonizmus is alapvetően érzékeny törzsek esetében volt megfigyelhető, így gyakorlati jelentősége elhanyagolható. Az is figyelemreméltó eredmény, hogy a kiválasztott 18 törzsből álló csoport legalább az egyik antibakteriális szerre rezisztens vagy mérsékelten érzékeny törzsei közül *mindegyik abszolút érzékenynek* bizonyult az együttes alkalmazás során. Eredményeinket a kapott átlagos FICI-értékek, valamint az isobologramok is egyértelműen alátámasztották.

Konklúzió

Vizsgálatunkban hazai kutya- és macska eredetű, bőr- és fülfertőzéseket okozó baktériumfajok érzékenységét határoztuk meg gentamicinre és marbofloxacinra, valamint a két szer kombinációjára, továbbá megállapítottuk a kombináció optimális arányát. Staphylococcusok és streptococcusok esetében additív, *P. aeruginosa* esetében parciális szinergista hatást mutattunk ki.

Eredményeink alapján **bőrfertőzések** kezelésére – a patogén baktérium figyelembevételével – mindkét állatfajban kiváló választás önmagában a fluorokinolonok csoportjába tartozó marbofloxacin vagy az 1:1 arányú gentamicin:marbofloxacin kombináció. Utóbbi alkalmazása elsősorban streptococcusokkal vagy *P. aeruginosa*-val szövődött esetekben javasolható. **Otitis externában**, ahol a staphylococcusok, streptococcusok és igen gyakran a *Pseudomonas aeruginosa* elpusztítása jelent kihívást, a kombináció használata a legkedvezőbb. Természetesen minden esetben a legcélszerűbb, ha a hosszútávú kezelést mikrobiológiai mintavétel és rezisztencia-vizsgálat előzi meg.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az antibiotikumok széleskörű alkalmazása következtében világszerte terjed a bakteriális rezisztencia, mely komoly problémákat vet fel a humán és állatorvosi gyakorlatban egyaránt. Kutyaánál és macskáánál gyakran diagnosztizált betegségek az otitis externa és a pyoderma, amelyek nemegyszer hosszú távú antibakteriális kezelést igényelnek. Ennek során nagy eséllyel alakul ki rezisztencia a kórokozókban, melyet többek között a különböző antibiotikumok kombinációban való alkalmazásával csökkenthetünk. A fenti kórképek általában összetett kóroktanúak, a kitenyésztett baktériumok legtöbbször a *Staphylococcus*, a *Streptococcus*, valamint a *Pseudomonas* genusból kerülnek ki.

Tanulmányunkban két gyakran alkalmazott antibakteriális szer, a gentamicin és a marbofloxacin, valamint ezek kombinációinak *in vitro* aktivitását vizsgáltuk *Staphylococcus intermedius* és *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus canis* valamint *Pseudomonas aeruginosa* törzseken. Munkánk során Magyarországon gyűjtött, kutya és macska fülből, illetve bőrről izolált törzseket használtunk fel, 129 *S. intermedius* törzset – ebből 110 kutyából és 19 macskából származott –, kettő kutya és 4 macska eredetű *S. aureus*, 38 kutya eredetű és 5 macska eredetű *S. canis* mintát, továbbá 56 *P. aeruginosa* törzset, melyből 52 kutyából és 4 macskából származott. A MIC-értékek meghatározásához mikrodilúciós módszert alkalmaztunk a CLSI ajánlásának megfelelően. Gentamicin esetében a MIC₅₀ értékek 0,125 µg/ml és 16 µg/ml, míg a MIC₉₀ értékek 1-16 µg/ml között mozogtak. Ezen értékek marbofloxacin vizsgálatakor 0,125-2 µg/ml, valamint 0,25-8 µg/ml voltak. Mindkét antibakteriális szerrel szemben a legérzékenyebbnek a *Staphylococcus* törzsek mutatkoztak. A marbofloxacin-gentamicin kombinációk 1:1 arányú elegye bizonyult a leghatásosabbnak. MIC₅₀ értékei 0,125 µg/ml és 2 µg/ml, a MIC₉₀ értékek pedig 0,25 µg/ml és 2 µg/ml között változtak. *Staphylococcus*ok esetében a kombináció 83,7%-ban additív interakciót mutatott, 11,1%-ban szinergizmust, 5,2%-ban pedig antagonizmust. Minden vizsgált *Staphylococcus* törzs érzékenynek bizonyult a kombinációra, rezisztens törzset nem találtunk. *Streptococcus canis* esetében a kombináció 79,1 %-ban additív, 16,3 %-ban szinergistának, 4,6%-ban antagonistának bizonyult, mindössze 9,3 %-ban tapasztaltunk rezisztenciát. *Pseudomonas aeruginosa* esetében 73,2%-ban szinergizmust, 23,2%-ban additív, 3,6%-ban antagonista hatást mutattunk ki. A törzseknek csak 1,8%-a bizonyult rezisztensnek a kombinációra.

Eredményeink alapján a marbofloxacin-gentamicin 1:1 arányú kombinációja hatásosnak ígérkezik otitis externa, illetve bőrfertőzések kezelésében, kiemelten a *P.aeruginosa* ellen irányuló terápiában. A kombináció növelte az érzékeny, és csökkentette a mérsékelten érzékeny és rezisztens *P. aeruginosa* törzsek arányát a két szer önálló alkalmazásához képest.

7.SUMMARY

Activity of gentamicin, marbofloxacin and the combination of these antibacterial agents against *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from canine and feline otitis externa and pyoderma

Antibiotic resistance is a growing global problem in human and veterinary medicine alike. Long term treatment in recurrent dermatological cases increases the incidence of resistance development in bacteria. Combination of different classes of antimicrobials helps fighting against the emergence of resistant strains. Pyoderma and otitis externa are common diseases in kutyas and macskas. These diseases have a multifactorial aetiology, while the most frequently isolated bacteria are staphylococci, streptococci and *Pseudomonas aeruginosa*.

The aim of this study was to evaluate the *in vitro* activity of gentamicin, marbofloxacin and the combination of these antibacterial agents against bacteria from canine and feline external fül and bőr infections isolated in Magyarország. In this study 129 strains of *Staphylococcus intermedius* (110 canine and 19 feline isolates) , 6 strains of *S.aureus* (2 canine and 4 feline strains), 43 strains of *Streptococcus canis* (38 canine and 5 feline isolates) and 56 strains of *Pseudomonas aeruginosa* (52 canine and 4 feline isolates) were investigated.

To determinate the MIC (minimum inhibitory concentration) values broth microdilution method was used according to CLSI (Committee of Laboratory Standards Institute) recommendations. The MIC₅₀ of gentamicin ranged from 0,125 to 16 µg/ml. MIC₉₀ ranged from 1 to 16 µg/ml. In case of marbofloxacin MIC₅₀ was between 0,125 and 2 µg/ml, MIC₉₀ was found between 0,25-8 µg/ml. Staphylococci were the most susceptible bacteria both for gentamicin and marbofloxacin. The most effective ratio of marbofloxacin and gentamicin was 1:1, MIC₅₀ for the combination was 0,125-2 µg/ml, while MIC₉₀ ranged from 0,25 to 2 µg/ml. In case of staphylococci the combination showed 83.7% additive effect, 11,1% synergism and 5.2% antagonistic effect. According to CLSI breakpoints the 1:1 combination of marbofloxacin and gentamicin showed 100% effectiveness on all the *Staphylococcus* strains tested, no resistant strain was found. The combination represented 79.1% additive influence, 16.3% synergism and 4.6% antagonistic effect against *Streptococcus canis* strains. Four strains (9.3%) proved to be resistant to the combination. Against *Pseudomonas aeruginosa* isolates gentamicin and marbofloxacin presented 73.2% synergism, 23.2% additive and 3.6% antagonistic effect. Only 1,8% of the strains proved to be resistant.

Based on our results it can be stated that the 1:1 ratio of marbofloxacin and gentamicin have excellent activity against the most common bacteria from dermal and fül infections of kutyas and macskas, especially *Pseudomonas aeruginosa*. The combination increased the ratio of susceptible bacteria and reduced the ratio of moderately susceptible and resistant strains to the individual substances.

IRODALOMJEGYZÉK

CLSI-guideline M07-A8 - Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 2009

CLSI-guideline M31-A3 - Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard. 2009

D. MEUNIER, J.-F. ACAR, J.-L. MARTEL, S. KROEMER, M. VALLÉ (2004): Seven years survey of susceptibility to marbofloxacin of bovine pathogenic strains from eight European countries
International Journal of Antimicrobial Agents, 24 70–80

DWIGHT C. HIRSH, NINS WIGER, SUSAN J.KNOX (1979): Susceptibility of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobial agents
Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2, 275-278

JESÚS OTEOL, FERNANDO BAQUERO, ANA VINDEL, JOSÉ CAMPOS (2004) : Antibiotic resistance in 3113 blood isolates of *Staphylococcus aureus* in 40 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2000–2002)
Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53, 1033–1038

J.L.MARTIN BARRASA, P.LUPIOLA GOMEZ, Z.GONZÁLEZ LAMA, M.T.TEJEDOR JUNCO(2000): Antibacterial susceptibility patterns of *Pseudomonas* strains isolated from chronic canine otitis externa.
Journal of Veterinary Medicine, 47. 191-196.

KEIKO FUTAGAWA-SAITO, WILLIAM BA-THEIN, TSUGUAKI FUKUYASU (2007): High occurrence of multi-antimicrobial resistance in *Staphylococcus intermedius* isolates from healthy and diseased dogs and domesticated pigeons.
Research in Veterinary Science, 83. 336-339.

KONKOLY TM., LUDWIG E.(2002): A nosocomialis Gram–negatív patogének, a *Streptococcus pneumoniae* és a *Bacteroides fragilis* meropenem és komparátorai iránt in vitro érzékenysége Magyarországon – prospektív, multicentrikus tanulmány
Lege Artis Medicinae, 12(S1):S2–S8

MARILYN MARTINEZ, PATRICK MCDERMOTT, ROBERT WALKER(2006): Pharmacology of the fluoroquinolones:A perspective for the use in domestic animals
The Veterinary Journal, 172 10–28

MĂRCULESCU ANCA, GH. RĂPUNTEAN, N.A. OROS, M. CERNEA, R. CHEREJI (2007): Studies about the synergic effects of aminoglycosides and fluoroquinolones combinations on *Pseudomonas aeruginosa* strains
Bulletin USAMV-CN, 64/2007 (1-2)

M.SPRENG, J.DELEFORGE, V.THOMAS, B.BOISRAMÉ, H.DRUGEON (1995):Antibacterial activity of marbofloxacin. A new fluoroquinolone for veterinary use against canine and feline isolates
Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 18, 284-289

M. VANNI, R.TOGNETTI, C.ORETTI, F.CREMA, G.SOLDANI, V.MEUCCI, L.INTORRE (2009): Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus schleiferi* isolated from dogs.
Research in Veterinary Science, 87. 192-195.

P. M. DOWLING (2006): Fluoroquinolones.

In: S. Giguere, J. F. Prescott, J. D. Baggot, R. D. Walker, P. M. Dowling: Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, Fourth Edition.

Ames:Blacwell Publishing, 263-284

P.M HAWKEY (2008):The growing burden of antimicrobial resistance

Journal of Antimicrobail Chemotherapy, 62, suppl. 1, i1-i9

R. BHARADWAJ, A. VIDYA, B. DEWAN, A. PAL (2003): An *in vitro* study to evaluate the synergistic activity of norfloxacin and metronidazole

Indian Journal of Pharmacology, 35: 220-226

R. D. WALKER, P. M. DOWLING (2006): Aminoglycosides.

In: S. Giguere, J. F. Prescott, J. D. Baggot, R. D. Walker, P. M. Dowling: Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, Fourth Edition.

Ames:Blacwell Publishing, 207-229

TOMASZ HAUSCHILD, AGNIESZKA WÓJCIK (2007): Species distribution and properties of staphylococci from canine dermatitis

Research in Veterinary Science, 82 1–6

TUBOLY SÁNDOR (1998): Részletes bakteriológia

In: Tuboly Sándor: Állatorvosi járványtan I.(Állatorvosi mikrobiológia)

Budapest: Mezőgazda Kiadó, 104-209

W.LILLENBAUM, M.VERAS, E.BLUM , G.N. SOUZA (2000): Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from otitis externa in dogs

Letters in Applied Microbiology, 31, 42-45

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, dr. Jerzsele Ákosnak a segítségért és hasznos tanácsaiért, dr. Gálfi Péternek, hogy lehetővé tette a dolgozat elkészítését, valamint a tanszék dolgozóinak a türelmükért és segítségükért, legfőképp Hegedűsné Balogh Katának.

FÜGGELÉK

12. táblázat. A felhasznált *Staphylococcus pseudointermedius* és *S.aureus* törzsek adatai

No.	Baktérium	Gazda állatfaj	Forrás	Ország	Gyűjtés éve	Azonosító szám
1	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11666
2	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2742/1
3	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11659
4	<i>S. aureus</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11652
5	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2758
6	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2771
7	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2770
8	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11674
9	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11677
10	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11675
11	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11673
12	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2750
13	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2757
14	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2747
15	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11650
16	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2723
17	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2722
18	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2708
19	<i>S. aureus</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11651
20	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2746
21	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2707
22	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2761/2
23	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	52/03M
24	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	91/08M
25	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	147/08M
26	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	148/08M
27	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11818
28	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2900
29	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11791
30	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11792
31	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2890/1
32	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11785
33	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2888
34	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2891
35	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11787
36	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2874
37	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2926
38	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11801
39	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11803
40	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2911
41	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2938
42	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2940
43	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2935
44	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2866

No.	Baktérium	Gazda állatfaj	Forrás	Ország	Gyűjtés éve	Azonosító szám
45	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2824
46	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2843
47	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2842
48	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2836/1
49	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11757
50	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2844
51	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11748/1
52	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11758/1
53	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2795
54	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11740
55	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2825
56	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2849
57	<i>S. aureus</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	11730
58	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2858
59	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2793
60	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2860
61	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2859
62	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2794
63	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11732
64	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2816/2
65	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2811
66	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2812
67	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11725
68	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2801
69	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11727
70	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11697
71	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11729
72	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2828
73	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	11726
74	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	11741
75	<i>S. aureus</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	11731
76	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2780
77	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11841
78	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11864
79	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2996
80	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2994/1
81	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3093/1
82	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3001/1
83	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11844
84	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11843
85	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11930
86	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3098
87	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11931
88	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2997
89	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11861
90	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3000
91	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2991
92	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3095/1
93	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11889

No.	Baktérium	Gazda állatfaj	Forrás	Ország	Gyűjtés éve	Azonosító szám
94	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11904/2
95	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	fül	Magyarország	2009	3050
96	<i>S. aureus</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	11899
97	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	3094
98	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11850
99	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11851
100	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11853
101	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3097
102	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3086/1
103	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3067
104	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3059
105	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2992
106	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3060
107	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2989
108	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2990
109	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3034
110	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	11895
111	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11891
112	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	11890
113	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2976
114	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2974
115	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	11842
116	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	11910
117	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11911
118	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3029
119	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3016/1
120	<i>S. aureus</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	11868
121	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3008
122	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2975
123	<i>S. pseudointermedius</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11865/2
124	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	bőr	Magyarország	2010	1/2010
125	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	bőr	Magyarország	2010	2/2010
126	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	bőr	Magyarország	2010	3/2010
127	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	fül	Magyarország	2010	4/2010
128	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	bőr	Magyarország	2010	5/2010
129	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	fül	Magyarország	2010	6/2010
130	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	fül	Magyarország	2010	7/2010
131	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	bőr	Magyarország	2010	8/2010
132	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	fül	Magyarország	2010	9/2010
133	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	bőr	Magyarország	2010	10/2010
134	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	fül	Magyarország	2010	11/2010
135	<i>S. pseudointermedius</i>	macska	fül	Magyarország	2010	12/2010

13. táblázat: A kísérletben vizsgált *Streptococcus canis* törzsek adatai

No.	Baktérium	Gazda állatfaj	Forrás	Ország	Gyűjtés éve	Azonosító szám
1	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11689/2
2	<i>Str. canis</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2742/2
3	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2730/2
4	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2761/1
5	<i>Str. canis</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	149/08M
6	<i>Str. canis</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	164/08M
7	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	93/06M
8	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	4/06M
9	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2831/2
10	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2816/1
11	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11811/2
12	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	12054/2
13	<i>Str. canis</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	3251
14	<i>Str. canis</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	3301
15	<i>Str. canis</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3367/2
16	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11961/2
17	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3001/2
18	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	11865/1
19	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	2994/2
20	<i>Str. canis</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3533/2
21	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3016/2
22	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3093/2
23	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3086/2
24	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	12038
25	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3307/1
26	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3488/2
27	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3246/2
28	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3489/2
29	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3506/1
30	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3599/2
31	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3673/2
32	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3696
33	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3745
34	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3766/1
35	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3822
36	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	3879/2
37	<i>Str. canis</i>	kutya	bőr	Magyarország	2009	10078/2
38	<i>Str. canis</i>	macska	bőr	Magyarország	2009	823
39	<i>Str. canis</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	121/09
40	<i>Str. canis</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	178/09
41	<i>Str. canis</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	93/07
42	<i>Str. canis</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	18/08
43	<i>Str. canis</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	110/07

14. táblázat: A kísérletben vizsgált *Pseudomonas aeruginosa* törzsek adatai

No.	Baktérium	Gazda állatfaj	Forrás	Ország	Gyűjtés éve	Azonosító szám
1	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	11689/1
2	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2732
3	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	11714
4	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2848
5	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2800/1
6	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2851/2
7	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2787
8	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2881/1
9	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2916
10	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2917
11	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3335
12	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3319
13	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12065
14	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12068/2
15	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12067
16	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3101
17	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12020
18	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12056
19	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2999/2
20	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3333
21	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3387/1
22	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3421
23	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3115
24	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12192
25	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3533/1
26	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3506/2
27	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12038/1
28	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3455
29	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3175/1
30	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3384/1
31	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	2993
32	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3367/3
33	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12159
34	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3659
35	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3660
36	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12288/2
37	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3727
38	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3745/2
39	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	3825
40	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12353
41	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12368
42	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12396
43	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12427/1
44	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12433
45	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12439/1
46	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	12478/1

No.	Baktérium	Gazda állatfaj	Forrás	Ország	Gyűjtés éve	Azonosító szám
47	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	23/2
48	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	93
49	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	10010
50	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	10015
51	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	10032/1
52	<i>P. aeruginosa</i>	kutya	fül	Magyarország	2009	10078/1
53	<i>P. aeruginosa</i>	macska	fül	Magyarország	2009	A/2009
54	<i>P. aeruginosa</i>	macska	fül	Magyarország	2009	B/2009
55	<i>P. aeruginosa</i>	macska	fül	Magyarország	2010	A/2010
56	<i>P. aeruginosa</i>	macska	fül	Magyarország	2010	B/2010

640	320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25			1
640	320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25			2
640	320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25			3
640	320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25			4
640	320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25			5
640	320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25			6
640	320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25			7
640	320	160	80	40	20	10	5	2,50	1,25			8
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	

11.ábra. Gentamicin munkaoldatok (a koncentrációk µg/ml-ben vannak feltüntetve, minden lyukban 200 µl munkaoldat található) *S. canis* és *P. aeruginosa* vizsgálatokor. Marbofloxacin és a kombináció alkalmazásakor is ezekkel a koncentrációkkal dolgoztunk *S. canis* és *P. aeruginosa* esetén, így ezeket nem tüntetjük fel újra.

64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	+	-	1
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	+	-	2
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	+	-	3
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	+	-	4
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	+	-	5
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	+	-	6
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	+	-	7
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	+	-	8
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	

12.ábra. Végső gentamicin koncentrációk a kísérleti oldatokban (a koncentrációk µg/ml-ben vannak feltüntetve, minden lyukban 150 µl kísérleti oldat található) *S. canis*, *P. aeruginosa* vizsgálatokor. A 11. és 12. oszlopban a negatív és pozitív kontroll látható. Marbofloxacin és a kombináció alkalmazásakor is ezekkel a koncentrációkkal dolgoztunk *S. canis* és *P. aeruginosa* esetén, így ezeket nem tüntetjük fel újra.

15.táblázat. A kettes parallel hígítás a marbofloxacin:gentamicin kombináció optimális arányának meghatározására. A szürke mezők azokat a lyukakat mutatják, ahol nem tapasztaltunk mikroba-növekedést. Sárga színnel látható az optimális arány.

6	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Színergység
	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0		
8	-	-	-	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-	-	-	-		
2	-	-	-	-	-	-	-	-		
1	-	-	-	-	-	-	-	++		
0,5	-	-	-	-	-	++	++	++		
0,25	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
0,125	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		

7	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Színergység
	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0		
32	-	-	-	-	-	-	-	-		
16	-	-	-	-	-	-	-	-		
8	-	-	-	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-	-	++	+++		
2	-	-	-	-	++	++	+++	+++		
1	-	-	-	-	++	+++	+++	+++		
0,5	-	-	-	++	++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		

10	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Színergység
	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0		
32	-	-	-	-	-	-	-	-		
16	-	-	-	-	-	-	-	-		
8	-	-	-	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-	-	+	++		
2	-	-	-	-	-	+++	+++	+++		
1	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++		
0,5	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		

19	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Additív
	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,063	0		
32	-	-	-	-	-	-	-	-		
16	-	-	-	-	-	-	-	-		
8	-	-	-	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-	+	++	+++		
2	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
1	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		
0,5	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		

21	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Színergység
	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0		
4	-	-	-	-	-	-	-	-		
2	-	-	-	-	-	-	-	-		
1	-	-	-	-	-	-	-	-		
0,5	-	-	-	-	-	-	-	+++		
0,25	-	-	-	-	-	-	++	+++		
0,125	-	-	-	-	-	+++	+++	+++		
0,063	-	-	-	-	++	++	++	+++		
0	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		

24	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Színergység
	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0		
8	-	-	-	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-	-	-	-		
2	-	-	-	-	-	-	-	-		
1	-	-	-	-	-	-	+	+++		
0,5	-	-	-	-	-	+++	+++	+++		
0,25	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++		
0,125	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		

26	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Additív
	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0		
4	-	-	-	-	-	-	-	-		
2	-	-	-	-	-	-	-	-		
1	-	-	-	-	-	-	-	-		
0,5	-	-	-	-	++	+++	+++	+++		
0,25	-	-	-	++	++	+++	+++	+++		
0,125	-	-	-	++	++	+++	+++	+++		
0,063	-	-	-	++	++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		

27	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Színergység
	64	32	16	8	4	2	1	0		
16	-	-	-	-	-	-	-	-		
8	-	-	-	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-	-	-	-		
2	-	-	-	-	-	-	++	+++		
1	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++		
0,5	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		
0,25	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	+	+++	+++	+++	+++	+++		

28	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Színergység
	32	16	8	4	2	1	0,5	0		
4	-	-	-	-	-	-	-	-		
2	-	-	-	-	-	-	-	-		
1	-	-	-	-	-	-	-	-		
0,5	-	-	-	-	-	-	-	+++		
0,25	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
0,125	-	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
0,063	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
0	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		

29	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Additív
	1	0,5	0,25	0,125	0,063	0,031	0,016	0		
32	-	-	-	-	-	-	-	-		
16	-	-	-	-	-	-	-	-		
8	-	-	-	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-	-	-	+++		
2	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++		
1	-	-	-	+	+++	+++	+++	+++		
0,5	-	-	-	+	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		

30	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Additív
	2	1	0,5	0,25	0,125	0,063	0,031	0		
16	-	-	-	-	-	-	-	-		
8	-	-	-	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-	+++	+++	+++		
2	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++		
1	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
0,5	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
0,25	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		

32	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Additív
	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,063	0		
64	-	-	-	-	-	-	-	-		
32	-	-	-	-	-	-	-	-		
16	-	-	-	-	-	-	-	-		
8	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
4	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
2	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		
1	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		

35	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Szinergista
	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0		
32	-	-	-	-	-	-	-	-		
16	-	-	-	-	-	-	-	-		
8	-	-	-	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-	-	++	+++		
2	-	-	-	-	-	+++	+++	+++		
1	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++		
0,5	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		

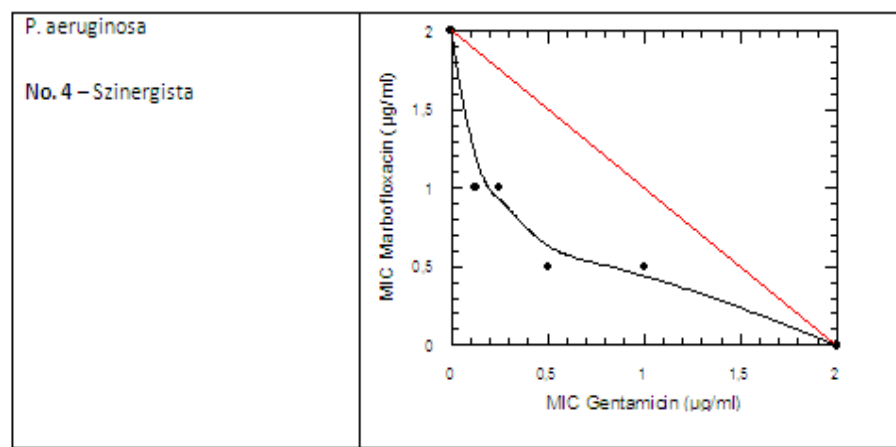
40	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Additív
	2	1	0,5	0,25	0,125	0,063	0,031	0		
64	-	-	-	-	-	-	-	-		
32	-	-	-	-	-	++	+++	+++		
16	-	-	-	-	++	+++	+++	+++		
8	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
4	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
2	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
1	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		

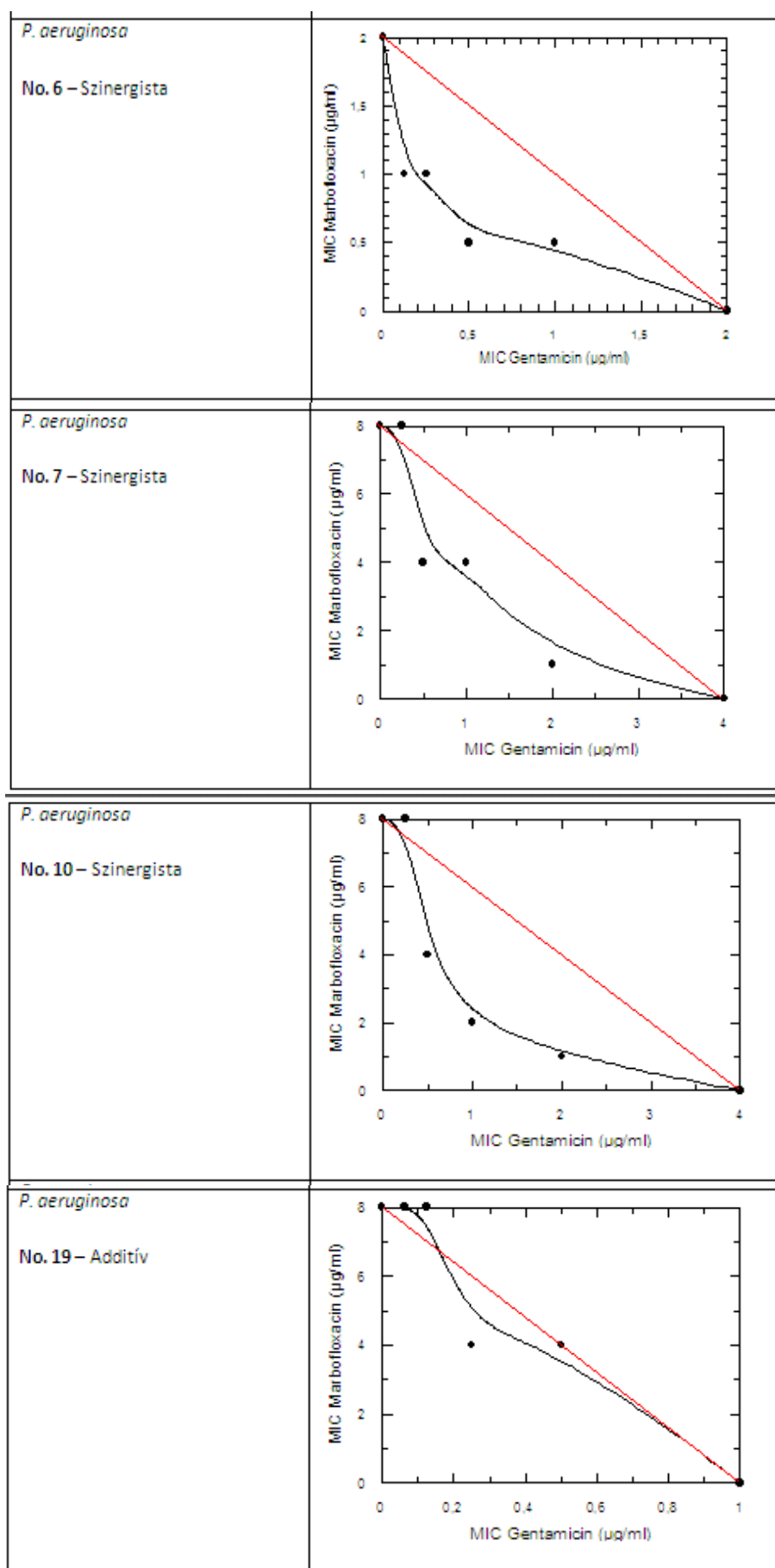
42	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Szinergista
	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0		
8	-	-	-	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-	-	-	-		
2	-	-	-	-	-	-	-	-		
1	-	-	-	-	-	-	-	++		
0,5	-	-	-	-	-	-	++	+++		
0,25	-	-	-	-	-	+	+++	+++		
0,125	-	-	-	+	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	+	+++	+++	+++	+++		

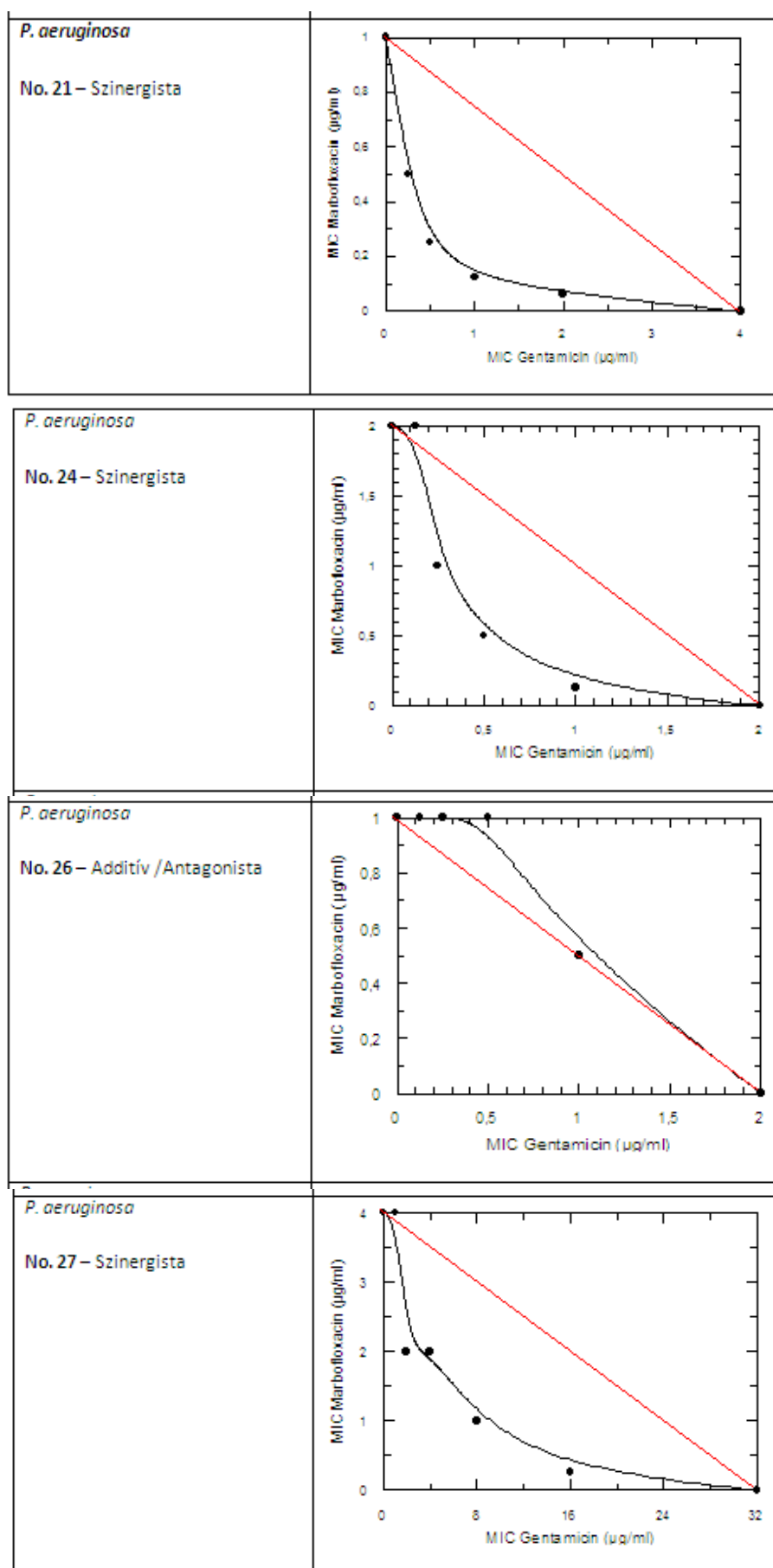
45	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Szinergista
	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0		
2	-	-	-	-	-	-	-	-		
1	-	-	-	-	-	-	-	-		
0,5	-	-	-	-	-	-	-	-		
0,25	-	-	-	-	-	-	+	+++		
0,125	-	-	-	-	++	+++	+++	+++		
0,063	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		
0,031	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++		

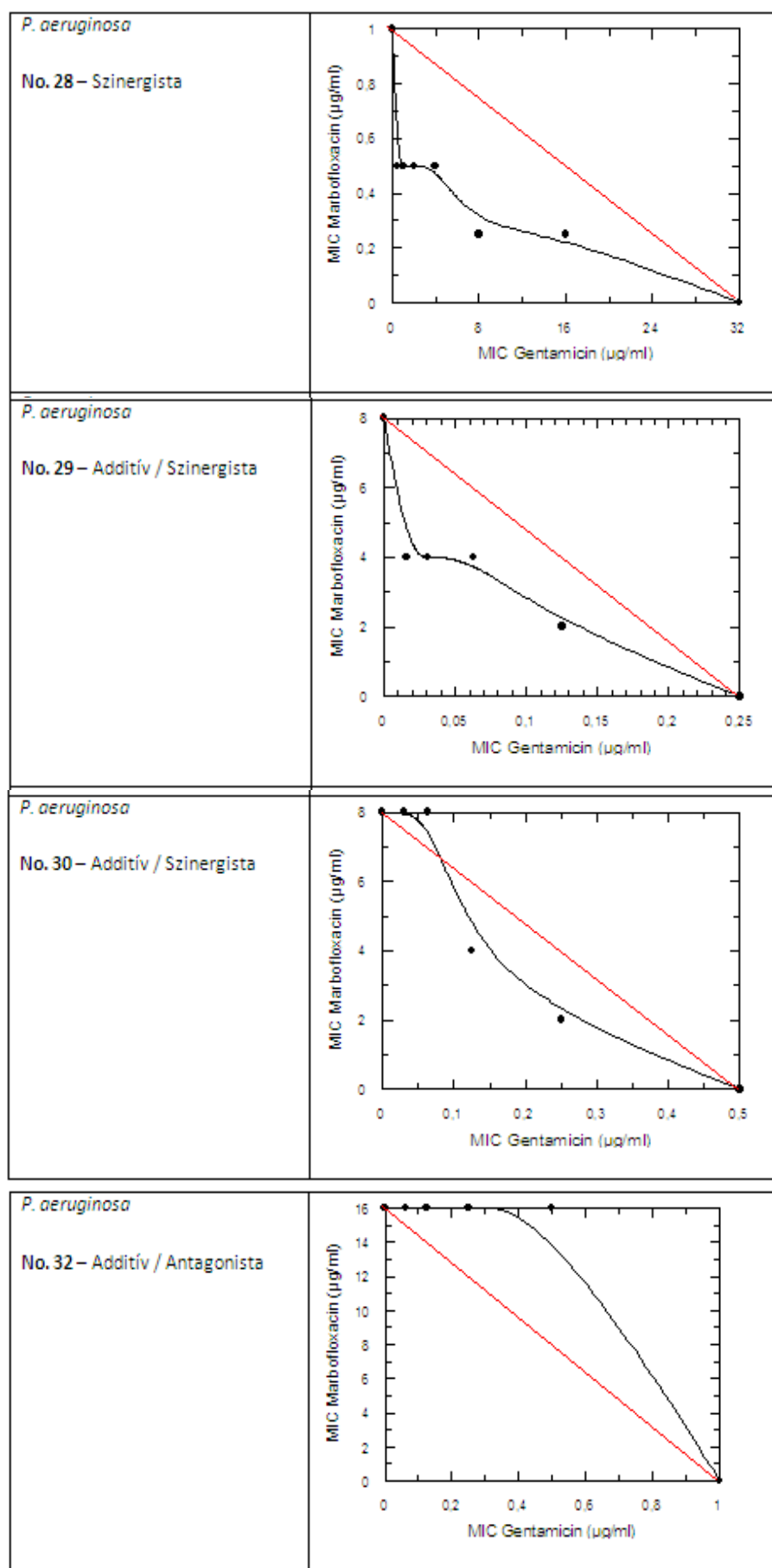
47	GENTAMICIN								MARBOFLOXACIN	Szinergista
	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0		
8	-	-	-	-	-	-	-	-		
4	-	-	-	-	-	-	-	-		
2	-	-	-	-	-	-	-	-		
1	-	-	-	-	-	-	-	++		
0,5	-	-	-	-	-	-	-	+++		
0,25	-	-	-	-	-	-	+	+++		
0,125	-	-	-	++	++	+++	+++	+++		
0	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++		

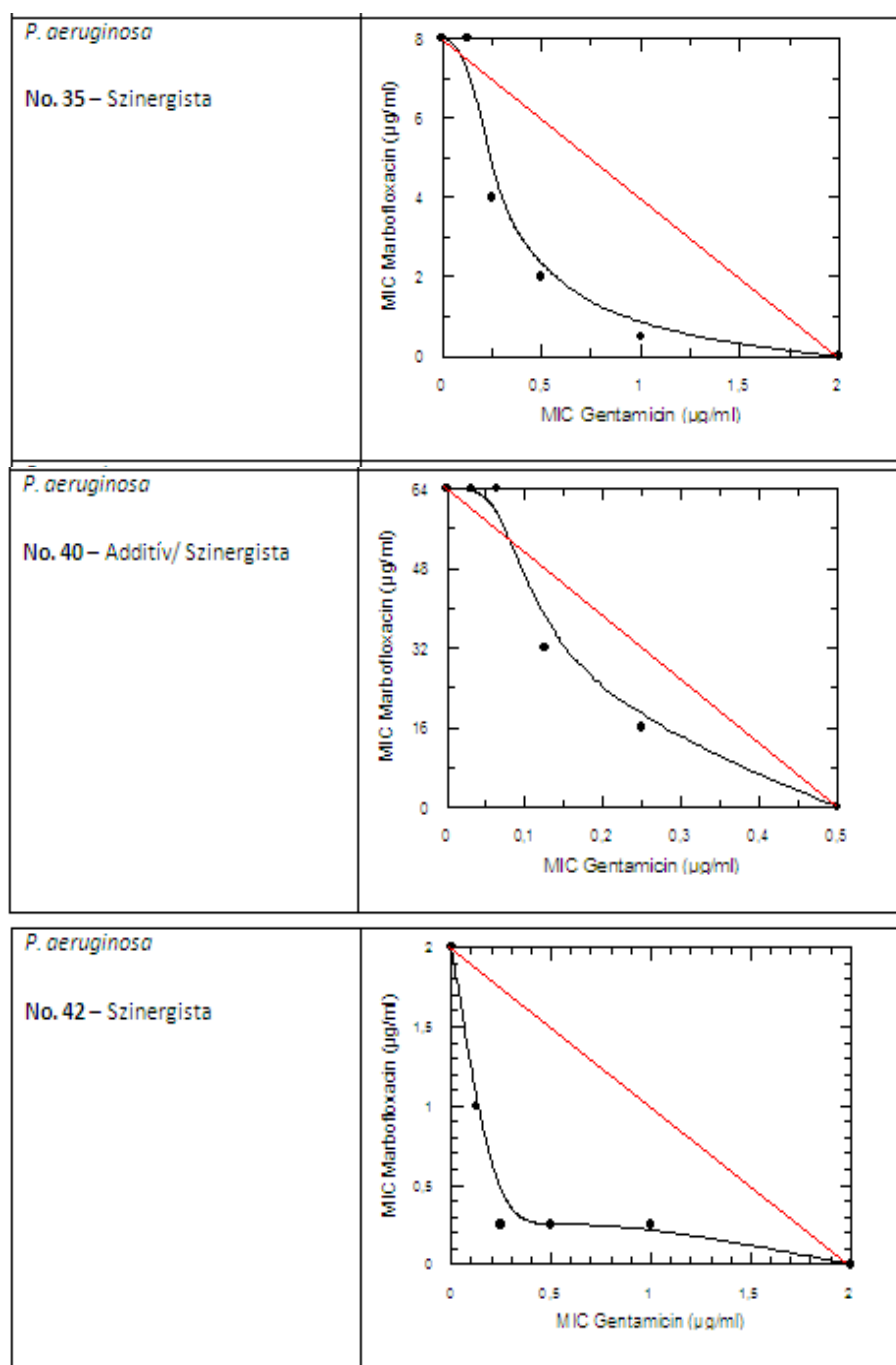
16.táblázat. Az 1:1 arányú gentamicin-marbofloxacin kombináció hatását szemléltető isobologramok a 18 *P.aeruginosa* törzs esetén





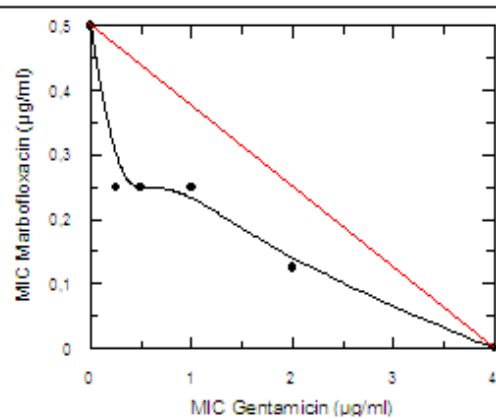






P. aeruginosa

No. 45 – Szinergista



P. aeruginosa

No. 47 – Szinergista

