

TDK DOLGOZAT

Gál Csaba

2023

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



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

Készítette:

Gál Csaba

V. évf. ao. hallgató

Témavezető:

Dr. Kerek Ádám

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, egyetemi tanársegéd

Budapest

2023

Tartalomjegyzék

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	3
1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés	5
2.1. Az antimikrobiális rezisztencia világhelyzete	5
2.2. A pulyka gazdasági jelentősége.....	7
2.3. A baromfihús szerepe az antimikrobiális rezisztencia terjesztésében	7
2.4. Az <i>Escherichia coli</i> okozta fertőzés szerepe a baromfiágazatban.....	9
2.5. Az <i>Epidemiological cut-off value</i> (ECOFF).....	10
2.6. A vizsgált hatóanyagok jellemzése.....	10
3. Célkitűzések	14
4. Anyag és módszer.....	15
4.1. A minták eredete.....	15
4.2. A törzsek izolálása.....	15
4.3. A hatóanyag törzsoldatok elkészítése.....	15
4.4. A minimális gátló koncentráció meghatározása.....	16
4.5. Az ECOFF érték meghatározása	18
5. Eredmények.....	19
6. Következtetések.....	27
7. Összefoglalás	30
8. Summary.....	31
9. Irodalomjegyzék	32
10. Köszönetnyilvánítás	38

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AMR	Antimikrobiális rezisztencia (<i>Antimicrobial resistance</i>)
APEC	madárpatógén <i>Escherichia coli</i> (<i>Avian pathogenetic Escherichia coli</i>)
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EUCAST	Antimikrobiális érzékenységi vizsgálattal foglalkozó európai bizottság (<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>)
MHB	Müller-Hinton leves (<i>Müller-Hinton broth</i>)
MIC	Minimális gátló koncentráció (<i>Minimum inhibitory concentration</i>)
WHO	Egészségügyi Világszervezet (<i>World Health Organization</i>)

1. BEVEZETÉS

Századunk legnagyobb kihívása az antimikrobiális rezisztencia (AMR) világszinten mérhető növekedése. Az Egy Egészség szemlélet tükrében ezért rendszeres felmérésekre van szükség állatorvosi vonalon és a humán egészségügyben is. A két terület egymástól elválaszthatatlan, számos olyan pont van, ahol kapcsolódnak. Gazdasági haszonállataink különösen fontos indikátorai a rezisztencia mértékének, azon belül is a baromfi ágazat az egyik legnagyobb antibiotikum felhasználással rendelkező szektor. Különösen fontos olyan közös kutatások végzése, ahol az állatorvosi és humán orvosi összefüggések metszéspontja találkozhat és a rezisztencia helyzetének folyamatos nyomon követése a döntéshozó szervek döntéshozatalában időbeni tájékoztatást nyújthat, hogy megtegyék a szükséges lépéseket a globális katasztrófa megfékezése érdekében.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az antimikrobiális rezisztencia világhelyzete

A kórokozók hatóanyagokkal szembeni érzékenység csökkenése világszerte jelentős egészségügyi kockázatot jelent, és a legóvatosabb előrejelzések alapján a század közepére világszerte tíz millió ember halálát okozhatja, amennyiben az antibiotikumok túlzott mértékű felhasználása a jelenlegi tendenciákat követi [1]. Bár az antibiotikumok az 1940-es évek óta számtalan életet mentettek meg, hatékonyságuk rohamos mértékben csökken mind a klinikai, a mezőgazdasági, az állattenyésztési ágazatban, hiszen számos esetben helytelenül és túlzott mértékben használják ezeket a gyógyszereket [2]. Az egyre jobban terjedő AMR a ma még egyszerűen kezelhető fertőzések jövőbeli sikertelen kezelését eredményezi, és befolyásolja a ma már rutin-szerűen végzett sebészeti beavatkozások sikerességét, a következményes kezelésre nem reagáló sebfertőzések következtében, vagy akár az életet mentő szervátültetések sikertelenségét is eredményezheti [3]. Jelenleg évente 700 000 ember hal meg gyógyszerrezisztens baktériumok által okozott fertőzésekben világszerte [4].

Szinte bármilyen típusú mikroorganizmusban – vírusokban, gombákban, baktériumokban vagy protozoákban – kialakulhat gyógyszerrezisztencia, és az ilyen fertőzések kezelésének lehetőségei nagy mértékben korlátozottak. Az Élelmezési és Mezőgazdasági Szervezet (FAO), az Állategészségügyi Világszervezet (OIE) és az Egészségügyi Világszervezet (WHO) antimikrobiális szerekkel szembeni rezisztenciával kapcsolatos ajánlásai szerint az ún. szuperbaktérium problémakört megfontolt antibiotikum-használattal, az életszínvonal javításával és az emberek széleskörű tájékoztatásával lehet és kell megoldani [5]. Az élelmiszeriparhoz köthető állattenyésztésben az antimikrobiális szerek globális felhasználását 2010-ben 63 151 ($\pm$ 1560) tonnára becsülték, és az előrejelzések szerint ez 2030-ra 67%-kal, 105 596 ($\pm$ 3605) tonnára fog nőni [6]. A baromfifélék esetén régóta jellemző probléma az *Escherichia coli* (*E. coli*) baktériumban a nagymértékű AMR előfordulása, ami elsősorban az antimikrobiális szerek széles körű és tömeges használatával magyarázható [7].

Az AMR-nek három fő nagy profilját különböztethetjük meg. Multirezisztens (*multidrug-resistant*, MDR) törzsekről akkor beszélhetünk, ha minimum három, hatóanyagra, minimum egy szer tekintetében figyelhetünk meg rezisztenciát; kiterjedt gyógyszerrezisztens (*extensively drug-resistant*, XDR) törzsekről akkor beszélünk, ha legfeljebb két csoport esetén érzékenységet figyelhetünk meg és azon túl legalább egy

hatóanyagra rezisztencia állapítható meg; pánrezisztens (*pandrug-resistant*, PDR) törzsekről pedig akkor beszélünk, ha az összes vizsgált antibiotikum csoporttal szemben rezisztensek a törzsek [8].

Különösen fontos az átfogó szemlélet és az állati szervezeten túl a környezetünkben előforduló baktériumok AMR hordozását is figyelemmel kell kísérnünk. Ellentétben a legtöbb szennyezőanyag kockázatkezelésével, az antibiotikum-rezisztencia kialakulásával kapcsolatos megelőzés célpontjai a baktériumok, nem pedig az állatok vagy az emberek. A csatornák és a szennyvíztisztító telepek környezetében változatos összetételű, nagy populációs sűrűséggel rendelkező baktériumközösségek találhatók, amelyek gyakran tartalmaznak patogén törzseket is. Továbbá, mivel az antibiotikumok szintje gyakran magasabb koncentrációt ér el a szennyvízben, mint az azt befogadó vizeké, sokkal valószínűbb, hogy a szennyvizek sokkal nagyobb szerepet játszanak a rezisztencia mértékének feldúsulásában, mint az egyéb természetes vizek [9]. A WHO listáján a legtöbb kórokozó baktérium a Gram-negatív baktériumok csoportjába tartozik. Különleges sejtfal szerkezetüknek köszönhetően a Gram-negatív baktériumok ellenállóbbak, mint a Gram-pozitív baktériumok, és világszerte, számos betegség hátterében jelentős morbiditást és mortalitást okoznak [10].

A Gram-negatív baktériumok csoportjába tartozó *E. coli* eredendően érzékeny (volt) szinte minden klinikailag releváns antimikrobiális szerre, azonban jelentős potenciállal rendelkezik a rezisztencia kialakításáért felelős gének széles skálájának felhalmozására, többnyire horizontális géntranszfer révén [11]. A kommenzalista és a klinikai megbetegedést okozó *E. coli* törzseket vizsgálva kimutatták, hogy mindkét esetben hasonló sikerrel képesek a rezisztenciagéneket felhalmozni. Ez azt is bizonyítja, hogy a kommenzalista *E. coli* törzsek vizsgálata szükséges és célszerű egy adott populációban, mely időben követve előre vetítheti az AMR alakulását [12].

Oroszország európai részén végzett, az antimikrobiális érzékenységi vizsgálattal foglalkozó európai bizottság (EUCAST) epidemiológiai töréspont (ECOFF) megállapítása szerint történő felmérés alapján a pulykákból izolált *E. coli* törzsek 42,1%-ban rezisztenciát mutatott kolisztin, 10,5%-ban cefotaxim, 57,9%-ban ampicillin, 47,4%-ban gentamicin, 68,4%-ban potenciált szulfonamid és 87,9%-ban ciprofloxacinnal szemben [13]. Globális szinten a tetraciklinek, aminoglikozidok, szulfonamidok és penicillinek esetén *E. coli* baktériumban a baromfifélékben előforduló átlagos rezisztencia mértéke minden országban

meghaladja a 40%-ot [14]. Több antibiotikum-rezisztencia vizsgálattal foglalkozó kutatás jutott arra a következtetésre, hogy az antibiotikumok használatát mind helyi, mind globális szinten szigorúbban kellene szabályozni, ebbe beleértve a fejlett országokat is. A vény nélkül kapható antibiotikumok használatának megszüntetése, a csak indokolt esetben történő antibiotikum felírásra való szemléletváltás mind alapfeltétele annak, hogy az AMR globális terjedése lassítható legyen [15–17].

2.2. A pulyka gazdasági jelentősége

A pulykahús fogyasztása a 2. helyen áll a brojlercsirke után a világ baromfiágazatán belül. Bár a pulykahús tápértéke magas, fogyasztása többek között az aroma, az íz, a szín és az állag miatt korlátozott, mivel valamivel eltér a csirkehús ezen tulajdonságaitól, ami nem biztos, hogy vonzó egyes fogyasztók számára [18]. A pulyka tojásfehérjéje tartalmazza a legtöbb aminosavat és esszenciális aminosavat a baromfifajták közül [19].

2016-ban a pulykahús iránti világpiaci kereslet 9%-os növekedést mutatott, ami összesen 6,2 millió tonnányi éves termelést mutatott, ennek értéke meghaladta a 13,6 milliárdot dollárban kifejezve; amely kibocsátás becslések szerint 2025-re el fogja érni a 6,7 millió tonnát. Világelső a pulykahús-termelése 2,7 millió tonnával az USA-nak (43%), a pulykahús-fogyasztása 2 519 000 tonna (41%) és az exportja is vezető helyen áll 216 000 tonnával, Mexikónak 157 000 tonnával és Németországnak 117 000 tonnával vezető pozíciója van az importban [20].

Hazánk 2022-es pulykaállomány nagysága 2 519 000 volt [21], a pulykahúsok fogyasztási csúcsidezőszaka 2004-ben 7-7,5 kg/fő/év volt, ami 2022-ben 3-3,5 kg/fő/éves értékre csökkent. Évente 7,5-8,5 millió pulykát állítunk elő, amiből 90 000 tonna élősúlyú állat kerül vágásra, ebből évente 65 000 - 70 000 tonna termék készül. Ennek a hazai felhasználása 30 000 - 35 000 tonna, a különbözet exportálásra kerül [22].

2.3. A baromfi hús szerepe az antimikrobiális rezisztencia terjesztésében

Az állatokból származó rezisztens baktériumok közvetlen érintkezés útján, valamint állati eredetű élelmiszerekkel bizonyítottan megfertőzhetik az embert [23–25], különösen igaz ez a baromfiiparra és ezen belül is a *E. coli* baktériumnak ebben betöltött szerepe kiemelkedő [26].

A baromfi az egyik legelterjedtebb élelmiszertermelő állat világszerte, ezenfelül a csirke a leggyakrabban tenyésztett faj, évente több, mint 90 milliárd tonna csirkehúst állítanak elő globális szinten. Ennek fő oka az alacsony előállítási költség, valamint a fogyasztásra

vonatkozó kulturális és vallási korlátozások hiánya [27]. Baromfi esetében a madárpatógén *E. coli* okozta fertőzés jelentős egészségügyi kihívást jelent, amely veszélyezteti az állatjólétet, a termelékenységet és az antibiotikumok alkalmazásának hatékonyságát [28].

A baromfifélék, azok termékei a bennük előforduló *E. coli* törzsek által jelentős kockázatot jelentenek például a plazmidok által közvetített kolisztin-rezisztencia terjedésében európai szinten [29]. Egy Nigériában végzett kutatás szerint a multirezisztens *E. coli* izolátumok széles körben elterjedtek a baromfitenyésztők, valamint az ezeket értékesítő piacok környezetében. A multirezisztens *E. coli* megjelenése új szekvenciatípussal két izolátumban plazmid-közvetített lehet [30]. Thaiföldön 2020-ban kimutatták a kiterjedt spektrumú β -laktamáz termelő *E. coli* (ESBL) izolátumok jelenlétét háztáji baromfitelegeken, hangsúlyozva a kiskgazdaságok szerepét a multirezisztens *E. coli* törzsek potenciális forrásaként [31].

A humán extraintesztinális fertőzést okozó *E. coli* törzsek (ExPEC) és a madárpatógén *E. coli* törzsek hasonlóságát a patogenitásban betöltött szerepükben bizonyítja az a kutatás mely szerint ezek a törzsek ugyanabból a baktérium ősből származnak, vagyis közös evolúciós forrással rendelkeznek [32]. Egy vizsgálat kimutatta, hogy az antibiotikum rezisztens *E. coli* tartalmazó minták aránya szignifikánsan magasabb volt a pulykákban és brojlersírkékben, mint a tojótyúk populációban. Szintén megfigyelték, hogy a pulyka- és brojlertenyésztők, valamint a pulyka- és brojlervághóhidak szennyvizében található *E. coli* izolátumok esetén szinte minden antibiotikum csoporttal szemben nagyobb a kimutatható rezisztencia mértéke, mint a tojótyúktartóknál [33]. Egy kínai kutatás szerint, baromfiból származó *E. coli* izolátumok 94%-a mutatott rezisztenciát legalább egy gyógyszerrel szemben, 83%-a pedig legalább három különböző típusú antimikrobiális szerrel szemben. A különböző fajokból származó izolátumok leggyakrabban tetraciklinre, nalidixsavra, szulfametoxazolra voltak rezisztensek [34]. Egy másik kutatás szerint Amerikában zöldségtermesztéshez használt friss baromfitrágyából izolált *E. coli* izolátumai teljes mértékben rezisztensek voltak tetraciklinre, eritromicinre, cefoxitinre és sztreptomycinre [35]. Németországban egy 2014-2017 között végzett kutatás szerint az ampicillinnel, gentamicinnel és tetraciklinnel szembeni rezisztencia ritkábban fordult elő pulykák klinikai izolátumaiban mint brojlersírkékében. [36].

2.4. Az *Escherichia coli* okozta fertőzés szerepe a baromfiágazatban

Az *E. coli* a Gram-negatív baktériumok közé tartozó, embert és állatot gyomor-bél traktusában kommenzalista módon kolonizáló baktérium, hozzájárulva a bélmikrobiom antimikrobiális rezisztómájának kialakulásához, amely hatással van az antimikrobiális szerek terápiás célú kiválasztására, valamint a fertőzés terjedésére [31]. A baromfihús előállításban az *E. coli* előfordulásának mértéke klasszikusan a mikrobiológiai minőség jelzője, a bélsárral való szennyezettség indikátora, valamint a helytelen takarítás és az általános higiénia hiányának jelző értékkel bíró mikroorganizmusa [37].

Az *E. coli* O157:H7 túlnyomórészt élelmiszer eredetű hasmenést okozó kórokozó, amely Shiga toxin termelése esetén bizonyítottan életveszélyes következményeket alakíthat ki [38]. Az *E. coli* madár patogén (APEC) O78 törzsét először a pulykák tüdőödémájából izolálták, és évente ez a törzs világszerte több millió dolláros gazdasági veszteséget okozhat magas mortalitása és ennek következtében a csökkent termelési eredmények által [39].

Bár a legtöbb *E. coli* törzs nem kórokozó, néhányuk lehet patogén is, és különböző típusú klinikai betegségek kialakulásáért lehet felelős. Csirkékben, pulykákban és más madárfajokban APEC törzsek a lokális vagy szisztémás extraintesztinális fertőzések széles skálájáért lehetnek felelősek, amelyeket általában madár colibacillosisnak neveznek. A leggyakrabban kialakuló klinikai kórformák között a colisepticaemia, a hemorrhagiás vérmérgezés, a coligranuloma, az airsacculitis, a duzzadt fej szindróma, a húgyúti colibacillosis, a coliform cellulitisz, a hashártyagyulladás, a petevezetőgyulladás, a synovitis, a panophthalmitis és az enteritis fordulhat elő [40]. A zoonózist okozó patogénekben előforduló AMR mellett a kommenzalista baktériumok AMR-je is hasonló kockázatot rejt, mivel képesek horizontálisan átadni az ezeket kódoló géneket más kórokozóknak. A kommenzalista mikrobiom, méreténél fogva fontos szerepet játszik az AMR kialakulásában [41].

Hollandiában az *E. coli* okozta hashártyagyulladás szindróma csak 2013-ban több millió eurós kárt okozott a baromfihús-termelő ágazatban, a tojástermelő ágazatban és az egész baromfitenyésztésben [42]. Egy 2012-ben végzett kutatás szerint a hagyományosan nevelt pulykák húsból származó *E. coli* izolátumok közötti rezisztencia magas prevalenciája arra utalhat, hogy a hagyományos pulykatermelésben még mindig nagyobb mértékű az antimikrobiális szerek alkalmazása, mint a modern termelési rendszerekben [43].

2.5. Az *Epidemiological cut-off value* (ECOFF)

Az Európai Uniónak az antibiotikumok érzékenységének vizsgálatával tevékenykedő bizottsága bevezetett egy módszertant, ami elkülöníti egy adott populációt vizsgálva az ún. vad típusú törzseket, a rezisztens törzsektől. Ezek eloszlása olyan populációt takar, melyek fenotípusosan nem mutatnak rezisztenciát egy vizsgált hatóanyaggal szemben. Ennek kifejezésére használják az epidemiológiai töréspontot (ECV), ami az a legmagasabb minimális gátló koncentrációja a vad-típusú törzseknek, ahol a vad-típusúak minimum 95%-ban érzékenyek egy hatóanyaggal szemben [44]. Ha egy baktériumtörzs vad típusúnak minősül, az genetikailag sem hordozhat a vizsgált hatóanyaghoz kapcsolódó rezisztenciagént [45]. A másik gyakran használt fogalom az ECOFF, ami a minimális gátló koncentráció (MIC) értékek hisztogramos ábrázolása, amelynek bimodális eloszlásúnak szükséges lennie. Ez két normál eloszlás keveréke. Ami eltérő súllyal történő értékelésből származó jelenség, az azonos szórás eltérő magasságú csúcsokat eredményez [46]. Az ECV és ECOFF elnevezés tehát gyakorlatilag azonos fogalmak, ECV esetén a *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) szervezet, ECOFF esetén az EUCAST szervezet alkalmazza.

Az EUCAST az Európai Klinikai Mikrobiológiai és Infektológiai Társaság (ESCMID) által létrehozott antimikrobiális hatóanyagok érzékenység-vizsgálatával foglalkozó bizottsága. Ez az Európai Gyógyszerügynökség (EMA) töréspontokat megállapító bizottság részeként működik. Az Európa szerte alkalmazott töréspontok egységesítését tűzték ki célul [47], amely alapján egy-egy baktérium törzset érzékenynek, köztesnek és rezisztensnek minősíthetnek. A járványügyi határértéket a minimális gátló koncentráció értékeknek a segítségével állapítják meg. Nemzetközi szinten megállapodás született arról, hogy a klinikai töréspontokat egységesítik a rezisztencia szempontjából, így a rezisztens törzsekhez $R \geq Y$ mg/l töréspontot határoztak meg, melyeknek a terápiás kezeléseknél szerepük kiemelt [48]. Az EUCAST révén irányzott rendszer napjainkra Európai országokon kívül is számos ország esetén alkalmazott [49,50]. Az ECOFF értéknek a kiszámításának megkönnyítése érdekében megalkották egy ECOFFinder szabadon hozzáférhető statisztikailag értékelő módszerrel dolgozó templatet [51].

2.6. A vizsgált hatóanyagok jellemzése

Az amoxicillin olyan félszintetikus előállított penicillin, amely az aminopenicillinek csoportjába sorolható, széles körű időfüggő baktericid hatásmóddal rendelkezik a Gram-negatív és Gram-pozitív baktériumokkal szemben. A β -laktamáz enzimeket termelő

amoxicillin-rezisztens baktériumok jellemzően a *Mycoplasma*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas* és *Bacterioides* nemzetségekből kerülnek ki [52]. A baromfifélékben problémát okozó *E. coli* okozta légzsákgyulladás és baromfikolera kezelésében szokták igénybe venni [53]. Az amoxicillin széles körben elterjedt antibiotikum a baromfitelepeken. Az Egyesült Királyságban 2006-ban 17 tonna penicillintől eltérő béta-laktám antibiotikumot használtak fel, beleértve az amoxicillint is [54]. Egy állati mintákat vizsgáló kutatás szerint az amoxicillinnel és tetraciklinnel szembeni együttes rezisztencia hatékony indikátora lehet a multirezisztens *E. coli* izolátumok jelenlétének [55].

A béta-laktamáz inhibitorok közé tartozó klavulánsav fokozza az amoxicillin antibakteriális spektrumát azáltal, hogy a legtöbb β -laktamáz-termelő izolátumot érzékennyé teszi az antibiotikumra nézve. A klinikai vizsgálatok során az amoxicillin-klavulánsav klinikailag is hatékonyabb, mint önmagában az amoxicillin, és legalább olyan hatékony, mint számos más szájon át alkalmazott szer, mint egyes cefalosporinok, potenciált szulfonamidok vagy a doxiciklin [56]. A klavulánsavnak nincs meghatározva maximális maradékanyag határértéke (MRL). Tehát használata baromfiban nem engedélyezett [57].

A ceftriaxon a cefalosporin hatóanyagok harmadik generációjába tartozik, kiemelten hatékony Gram-negatív baktérium okozta fertőzésnek a kezelésére, azonban csak parenterális módon alkalmazható. A cefalosporinok közül kizárólag a ceftiofur használták baromfifélék esetén engedéllyel bizonyos országokban, tojásba oltva, egyes esetekben pedig napos állatokat kezeltek vele bőr alá adott injekcióval. Ezirányú indikációját 2012-ben betiltották USA-szerte [58], amit számos ország követett, ez magától eredményezte a rezisztens törzsek arányának fokozatos mérséklődését [59–61].

Az imipenem egy széles hatásspektrumú karbapenem, elsősorban a multirezisztens Gram-negatív kórokozók okozta fertőzések kezelésében használják [62], szinte kizárólag a humángyógyászatban [63]. A klinikailag jelentős *E. coli* és *Pseudomonas aeruginosa* a legérzékenyebbek erre a hatóanyagra [64], használata azonban MRL érték hiányában tilos a gazdasági haszonállatok körében [65].

A neomicin egy poláris, bázikus jellegű aminoglikozid antibiotikum, amelyet elsősorban hepatikus encephalopathia kezelésében és sebészeti profilaxisra használnak a humán orvoslásban. Mellékhatásai következtében azonban jelentős mértékű és tartós halláskárosodást és vesekárosodást okozhat [66]. Az állatgyógyászatban kifejezetten a *E. coli* okozta fertőzés kezelésére használt antibiotikum [67]. A spektinomycinnek széles a spektruma, fehérjesszintézisgátlását a 30S riboszómális alegységen fejt ki [68].

Szerkezetéből fakadóan bakteriosztatikus hatásmóddal rendelkező aminociklitol. Ivóvízben alkalmazzák, a biológiai hasznosulása kicsi, *E. coli* okozta fertőzés kezelésére helyileg alkalmas [69,70], valamint hatékony még *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* okozta fertőzések kezelésében is [71].

A doxiciklin a tetraciklinek csoportjába tartozó félszintetikus hatóanyag, bakteriosztatikus hatásmóddal és jó intracelluláris penetrációt mutat [72]. Hatékonyságot mutat protozoa, sejten belüli kórokozók kezelésében, mint a *Mycoplasma* és *Chlamydia* fajok [73,74]. Kiterjedt klinikai vizsgálatok bizonyítják, hogy a doxiciklin rendkívül hatékony a légúti fertőzések, köztük az atipikus tüdőgyulladások kezelésében [75]. A tetraciklinek több évtizedes széles körben történő felhasználása hozamfokozás és terápiás kezelés céljából maga után vonta a rezisztencia nagymértékű elterjedését. Különösen jelentős a füves területeken és mezőgazdaságba bevont területeknél a trágyával történő terhelés mértéke, rossz biológiai hasznosulásuk révén, mely a vízi környezetbe is bekerülve szelekciós nyomást gyakorol a rezisztens baktérium terjedésére [76–78].

A florfenikol egy széles spektrummal rendelkező, bakteriosztatikus hatásmódú antibiotikum, amely a baktériumok 50S riboszomális alegységéhez kötődve gátolja a fehérjeszintézist [79]. A florfenikolt kizárólag az állatgyógyászatban használják, használatát az 1990-es évek közepén vezették be [80]. Baromfiféléknél légúti fertőzésekben ivóvízben alkalmazzuk, főként *E. coli* és *Pasteurella* törzsekkel szemben mutat kimagasló hatékonyságot [58]. A kolisztin (polimixin E), egy utolsó vonalbeli antibiotikum, amely nagy jelentőséggel bír az állatgyógyászatban és kritikus jelentőségű a humán gyógyászatban, a nem invazív *E. coli* által okozott bélrendszeri fertőzések kezelésére használják baromfifélékben [81]. Európában alacsony a kolisztinrezisztencia baromfiban, különösen az északi országokban, ahol a kolisztint vagy nem alkalmazzák az állatorvosi gyakorlatban, vagy csak indokolt esetben, minimális mennyiségben. A magasabb rezisztencia kimutatási aránya szórványos, gyakorisága összefügghet az egyes EU-tagállamok kolisztin-használatának mértékével [82].

Az enrofloxacin egy fluorokinolon antibiotikum, melyet gyakran használnak az állatgyógyászatban, különösen a baromfiszektorban. A DNS-topoizomeráz hasítási helyéhez kötődik, és konformációs változást okoz, ami gátolja a DNS replikációját azáltal, hogy a DNS hasítás eredménytelen lesz [83]. Tekintettel a hatóanyagcsoport emberi közegészségügyben betöltött jelentőségére, a WHO a fluorokinolon hatóanyagokat a kritikusán fontos antimikrobiális szerek közé sorolja [84]. Hatékonyságban kiemelkedőek *E. coli*, *Mycoplasma* és *Pasteurella* fajok kezelése során [85–87]. A hatóanyagcsoporttal

kapcsolatban a rezisztencia kialakulásában és terjedésében megfigyelt tendencia aggasztó, ezért felhasználásukban nagy mértékű redukálás szükséges [88].

A potenciált szulfonamidok elnevezés egy szulfonamidnak és egy diaminopirimidinnek kombinációját takarja, mely során kialakuló szinergista hatást használjuk ki. Leggyakrabban a trimetoprim-szulfametoxazol kombinációját használják a gyakorlatban, amely spektruma széles, a *Pseudomonas aeruginosa* viszont *ab ovo* rezisztens a diaminopirimidinekkel szemben [89]. Egymástól függetlenül bakteriosztatikusak, együtt azonban időfüggő baktericidek. Baromfifajokban hosszútávon adva csontvelőszuppressziót, thrombocytopéniát, valamint a limfoid- és immunrendszer depresszióját is okozhatják [90,91]. A tilosin egy makrolid antibiotikum hatóanyag, amely bakteriosztatikus hatásmóddal rendelkezik [92]. Az egyik leggyakrabban használt antibiotikum baromfifélékben, csak részben metabolizálódik az állati szervezetben, és nem bomlik le teljes mértékben a trágyatárolási szakaszban, mielőtt az a termőföldre kerülne [93]. Hatékonyága kifejezett a mycoplasmosis kezelésében [94], valamint hatékony a csirkék elhalásos bélgyulladásának kezelésében [95].

A tiamulin a pleuromutilinek közé tartozó diterpén antibiotikum, amelyet a baromfigyógyászatban elsősorban *Mycoplasma* és *Brachyspira* okozta fertőzések kezelésére használnak. Az elmúlt 30 évben történt túlhasználata nem növelte jelentős mértékben a rezisztencia mértékét ezekkel a kórokozókkal szemben, csak ritkán fordul elő rezisztencia ezekben a kórokozókban. A terápiás mennyiségben adott tiamulin viszonylag gyorsan felszívódik, a májban metabolizálódik, majd 72 órás élelmezés-egészségügyi várakozási idő után kiürül a madár szervezetéből, így a húskészítmények biztonságosan fogyaszthatók. Az Európai Unió több államában nulla élelmezés-egészségügyi várakozási időt engedélyeztek használata mellett tojásra nézve [96]. *E. coli* esetén az *ab ovo* rezisztencia jellemző, amely fenotípusos rezisztenciát egy 1982-es vizsgálat az S19-től eltérő fehérje mutációjával magyarázott [97]. A linkomicin egy széles spektrumú linkózamid hatóanyag, különösen hatékony a Gram-pozitív kórokozók kezelésében. Bakteriosztatikus hatásmóddal rendelkezik és eredendően a *Streptomyces lincolnensis* termeli [98]. Fontos hatóanyag a protozoás betegségek, pl. malária kezelésében, leghatékonyabb, ha primakinnal kombinálva használják [99]. *Clostridium perfringens* elhalásos bélgyulladás kezelésére használják [95].

A vankomicint első vonalbeli szerként meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) kezelésében alkalmazzák [100]. Évtizedekig sikeresen alkalmazták a Gram-pozitív baktériumok kezelésében, mint utolsó lehetőséget, azonban a rezisztencia vele szemben is egyre nagyobb mértékben kezd megjelenni [101].

3. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásunk tervezése során Magyarországon pulykatartó telepekről izolált kommenzalista *E. coli* törzsek esetén tűztük ki célul felmérni az AMR mértékét, a kapott MIC-értékek segítségével pedig megállapítsa mind országos szinten, mind pedig regionális szinten az egyes vizsgált hatóanyagok ECOFF-értékét. Ezekkel az epidemiológiai töréspontokkal az ún. vad-típusú törzsek érzékenységét tudjuk meghatározni egy-egy hatóanyagra nézve, amik esetén sem fenotípusos sem genotípusos rezisztencia nem áll fent. Az így kapott értékeket összehasonlítjuk az EUCAST és a CLSI által meghatározott töréspontokkal, valamint a rezisztencia mértékét összehasonlítjuk a kommenzalista törzsek, klinikai törzsek és humán eredmények rezisztencia profiljával.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A minták eredete

A minták Magyarország nagy létszámú baromfitermelő telepeiről származtak, és gyűjtésük 2022. februárja és 2023. júniusa között történt. A mintákat egészséges állatokból vettük, mindegyik egyedi azonosítószámmal lett ellátva. A nyilvántartásban rögzítettük a minta származási helyét, beleértve a települést, megyét és régiót, valamint a mintavétel helyét (légcső vagy kloáka). Feljegyeztük továbbá az állomány hasznosítási típusát (hús, tojás, tenyészállomány), életkorát (fiatal, felnőtt), és méretét (1-1000, 1001-5000, 5001-50000, 50001-100000, >100001). Emellett kérdőíves felméréssel gyűjtöttünk adatokat a telepek antibiotikum-használati szokásairól (milyen típusú antibiotikumot, milyen módon és milyen kórokozó ellen alkalmaznak), az előforduló betegségekről, valamint az antibiotikum-rezisztencia vizsgálatokról.

4.2. A törzsek izolálása

Telepenként 15 légcső- és 15 kloáka-mintát gyűjtöttünk Amies-típusú (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország) mintavevő pálcával. Ezután az *E. coli* mintákat ChromoBio® Coliform (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország) differenciáló és szelektív agaron tenyésztettük. Az izolált telepeket Trypton-szója agarra (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország) oltottuk át, és további 18-24 órás inkubálást végeztünk 41 °C-on. A szintenyészeteket Microbank™ rendszerben (Pro-Lab Diagnostics, Richmond Hill, Kanada) -80 °C-on fagyasztottuk le.

4.3. A hatóanyag törzsoldatok elkészítése

A vizsgálatokhoz szükséges anyagokból alapoldatokat készítettünk a Merck KGaA (Darmstadt, Németország) termékeiből, a CLSI iránymutatásai szerint [102]. Az amoxicillint és amoxicillin-klavulánsavat 2:1 arányban (pH 7,2, 0,01 mol/L) foszfát pufferben oldottuk fel, míg az imipenemet (pH 6, 0,1 mol/L) szintén foszfát pufferben oldottuk fel. A ceftriaxont, doxiciklint, spektinomicint, neomicint, kolisztint, tiamulint, tilozint, linkomicint és vankomicint desztillált vízben oldottuk fel. A szulfonamid oldat előállítása során szulfametoxazol és trimetoprim 20:1 arányát alkalmaztuk, a szulfametoxazolt forró vízben oldottuk fel néhány csepp 2,5 mol/L NaOH hozzáadásával, míg a trimetoprimot 0,05 mol/L HCl-desztillált vízben oldottuk fel. Az enrofloxacin néhány csepp 1 mol/L NaOH-oldattal desztillált vízben oldottuk fel. A florfenikolt néhány csepp 95%-os etanol és desztillált víz segítségével oldottuk fel. Minden hatóanyagból 1024 µg/ml

koncentrációjú alapoldatot készítettünk, igazítva az egyes hatóanyagok gyártó által meghatározott tisztaságához.

4.4. A minimális gátló koncentráció meghatározása

Az antibiotikum-rezisztencia (AMR) fenotípusos megnyilvánulását az egyes baktériumtörzsek minimális gátló koncentrációjának (MIC) meghatározásával vizsgáltuk, a CLSI módszertana szerint, figyelembe véve az ECOFF vizsgálat szakaszában leírt ajánlásokat [102]. A határértékeket (breakpointokat) a CLSI és az EUCAST iránymutatásai alapján határoztuk meg. Az ECOFF vizsgálatához úgynevezett teljes tartományú tesztet végeztünk, 512-0,001 µg/ml közötti kettes alapú hígítási sorozattal.

A -80 °C-on tárolt baktériumtörzseket a tesztet megelőző napon 3 ml Müller-Hinton levesbe (MHB) oltottuk, majd 18-24 órán keresztül inkubáltuk 37 °C-on. A vizsgálatokat 96 lyukú mikrotiter lemez (VWR International, LLC., Debrecen, Magyarország) segítségével végeztük. A munkalemezek első oszlopát kivéve a lyukakat 90 µl MHB-vel töltöttük fel. Ezt követően elkészítettük a hatóanyag törzsoldatok kettes alapú hígítását MHB-vel, minden esetben 512 µg/ml koncentrációval kezdve a hígítási sort, amit egy második lemezen folytatva tudtuk lefedni a teljes tartományt. A hígított oldatból 180 µl-t adagoltunk a munkalemez első oszlopába, majd kettes alapú hígítási sort készítettünk belőle. A második munkalemez 10. oszlopa után a felesleget pipettaheggyel eltávolítottuk, minden oszlopban 90 µl térfogatot hagyva. Minden baktériumtörzs teszteléséhez egy sor került felhasználásra a munkalemezen (2. ábra).

1. lépés: feltöltés

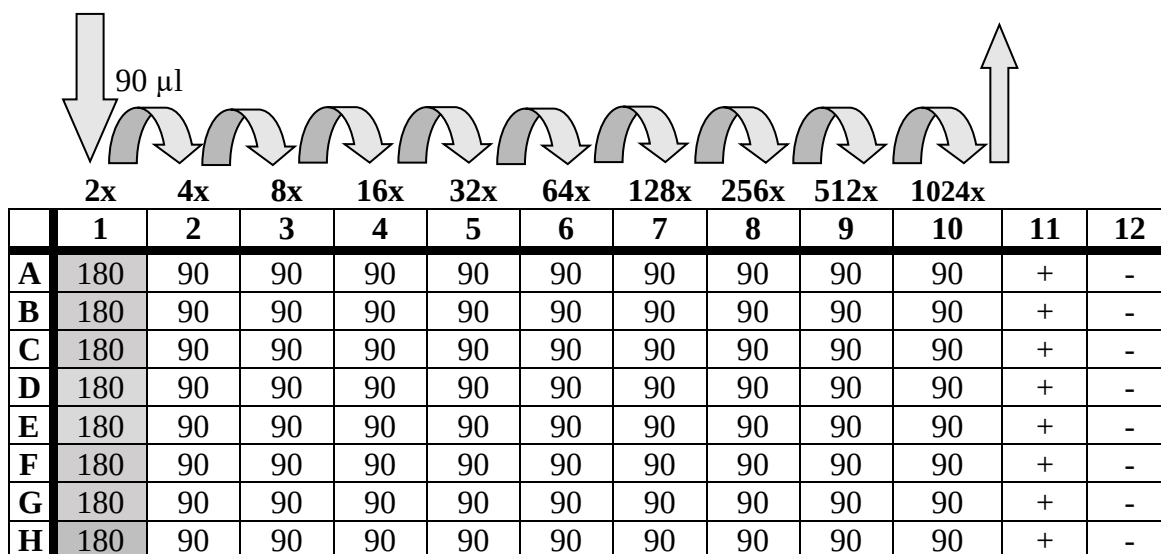
 90 µl

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

1. ábra A lemezek feltöltése 90 µl MHB-vel

2. lépés: bemérés **3. lépés:** hígítási sor készítése

90 µl feleslegben kidob

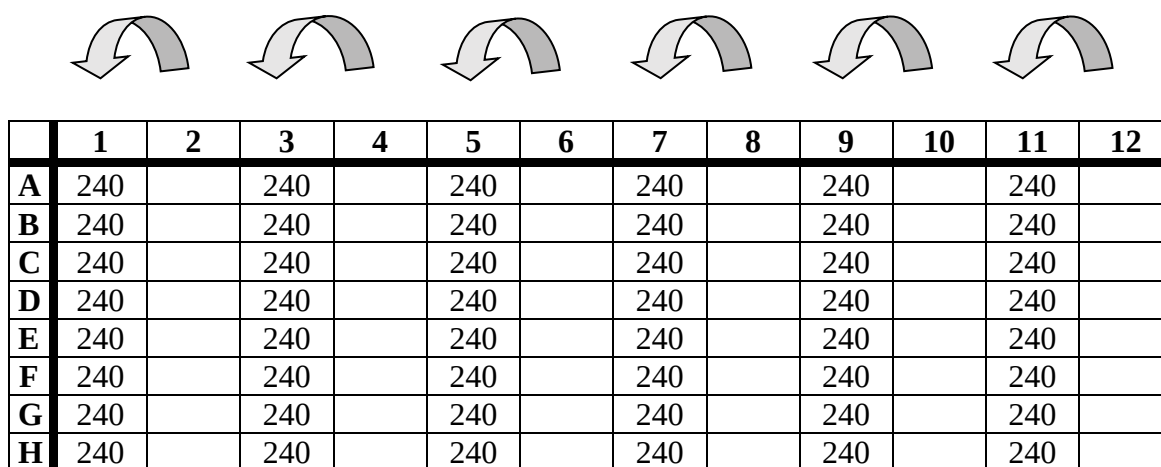


2. ábra Kettes alapú hígítási sor készítése, az első oszlop feltöltése 180 µl kiindulási koncentrációval, majd 90 µl tovább mérése és szuszpendálása a 10. oszlopig

Egy előkészítő lemezen 0,5 McFarland értékre beállítottuk a baktériumok oltásához szükséges baktériumszuspenziót. Ehhez minden előkészítő lemezt 240 µl MHB-vel töltöttünk fel (**3. ábra**), majd minden lyukba 10 µl alaposan vortexelt baktériumszuspenziót adagoltunk. Ezt követően a baktériumtörzseket az elkészített munkalemezekre oltottuk, a kettes alapú hígítási sort tartalmazó lemezek 11. oszlopától kezdve visszafelé haladva 10 µl baktériumszuspenziót pipettáztunk az előkészítő lemezről. A 11. oszlop pozitív kontrollként szolgált (baktériumszuspenzió és leves), míg a 12. oszlop negatív kontrollként (csak leves) funkcionált (**4. ábra**).

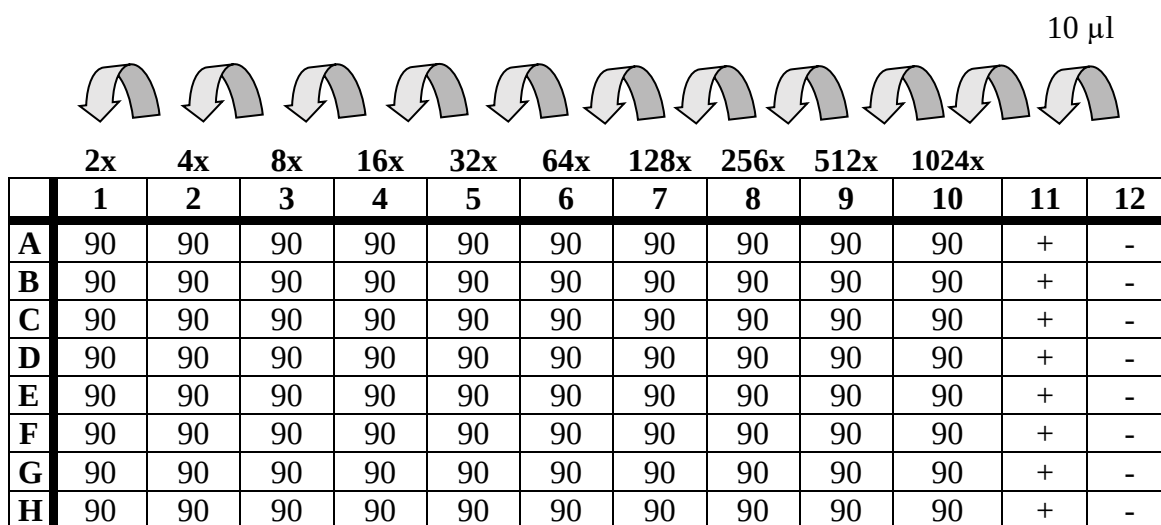
4. lépés: a baktériumszuspenzió 0,5 McFarland értékkel

10 µl



3. ábra A baktériumszuspenzió 25x hígításának elkészítése segédlemezen

5. lépés: a baktériumszuszpenzió bemérése



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

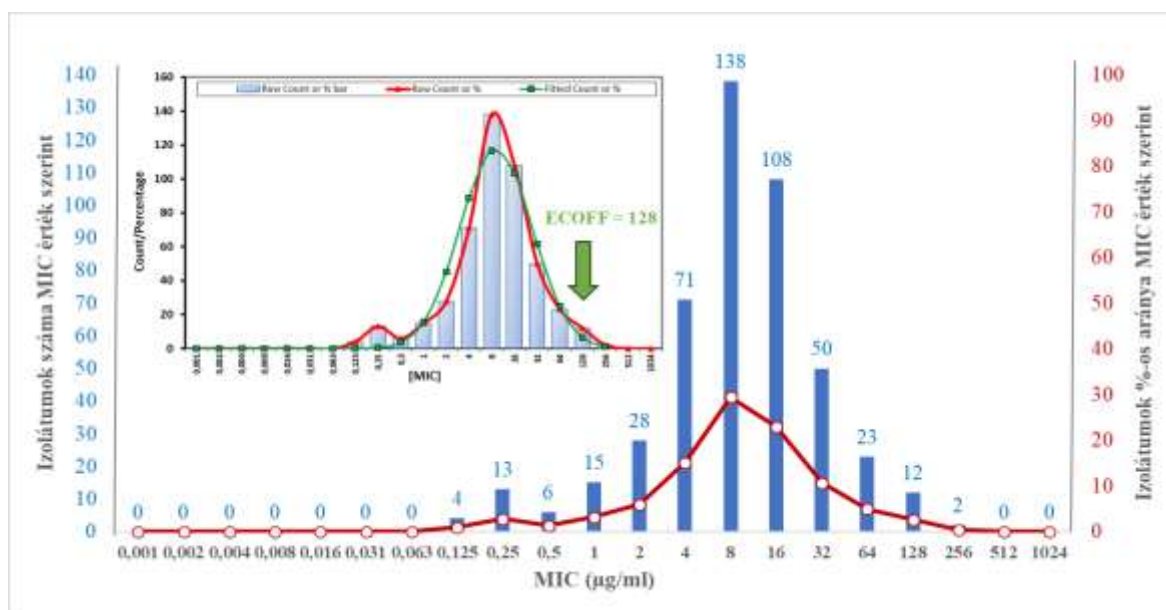
A munkalemezeket ezt követve 18-24 órán keresztül 37 °C inkubációs időnek tettük ki, végül leolvastuk a MIC értékeket a pozitív (11. oszlop) kontrollokhoz képest. Az értékelés során a – (nem zavarosodott) és ± (nehezen megítélhető) jelöléssel ellátott lyukakra negatív eredményként tekintettük, pozitív eredménynek a + (enyhén zavarosodott), ++ (mérsékelt zavarosodott), +++ (jelentősen zavarosodott) ítéltük meg.

4.5. Az ECOFF érték meghatározása

Az ECOFF értékeket az ECOFFinder [44] eszköz segítségével határoztuk meg. A 99%-os küszöbértékként azt a MIC-értéket választottuk, amely a modellezett vad típusú populáció 99%-át lefedte, így növelte a vad típusú populációra vonatkozó specificitását a módszernek. A kapott MIC értékek alapján, a vizsgált hatóanyag koncentráció tartományban (1024-0,001 µg/ml) egy gyakorisági táblázatot készítettünk. Az adatbevitel során meg kellett adni a baktérium faj nevét, a vizsgált antibiotikum hatóanyag nevét, valamint jelölni kellett, ha a vizsgált adatok több MIC eloszlásból származtak. Emellett a megfigyelések teljes számát is meg kellett adni. Az elemzés során szükség volt egy ún. Nest kiindulási érték megadására, melynek közel kell lennie az izolátumok számához, de nem egyezhet meg azzal. Ezt követően a template Solver makrójának futtatásával megkaptuk a legjobban illeszkedő részhalmazt a megfigyelt értékekhez, majd a program megadta a reziduumokat, a megfigyelt számok és az illesztett görbe alapján becsült számok különbségeként. A kiválasztott részhalmaz akkor tekinthető megbízhatónak, ha a reziduumok a középen található nullát jelölő vonal mindkét oldalán szóródnak. Végül a program grafikusán ábrázolta a becsült értékek illeszkedését az adatokhoz.

5. EREDMÉNYEK

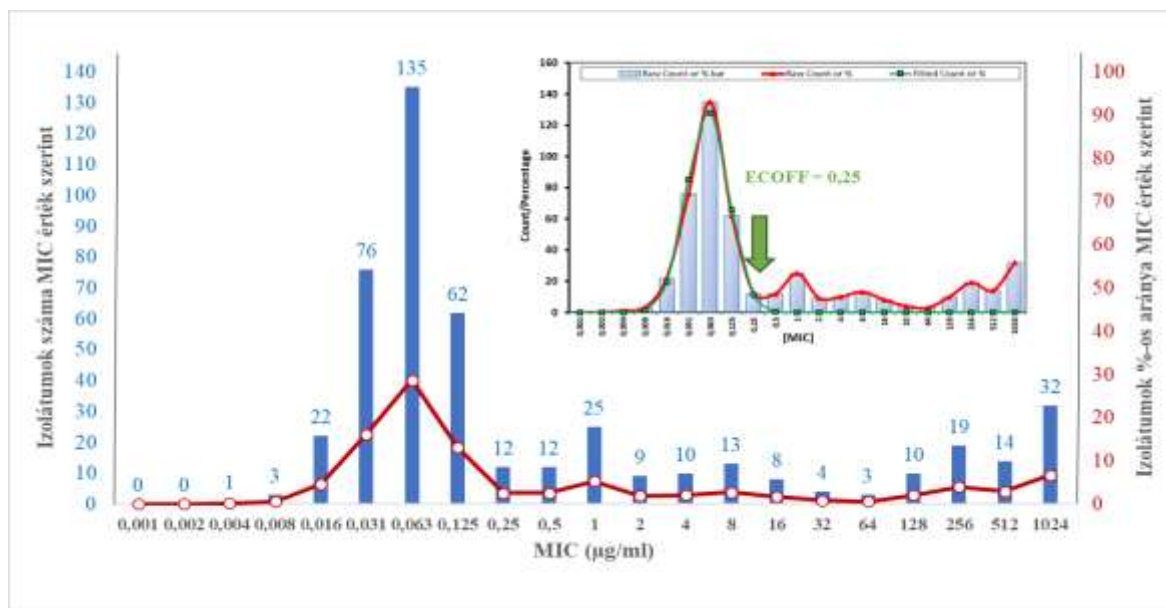
Összesen 470 pulyka eredetű *E. coli* törzs MIC-értékét határoztuk meg 15-féle hatóanyagra, amely során 7050 MIC-értéket kaptunk. Ezekből a MIC-értékekből hatóanyagonként gyakorisági táblázatot készítettünk, ami alapján országos szinten amoxicillin-klavulánsav, ceftriaxon, imipenem, spektinomycin, doxiciklin, florfenikol, tiamulin, kolisztin és vankomicin hatóanyagokra tudtuk meghatározni az ECOFF-értékeket.



5. ábra Amoxicillin-klavulánsav ECOFF-értéke pulykából izolált *E. coli* esetén

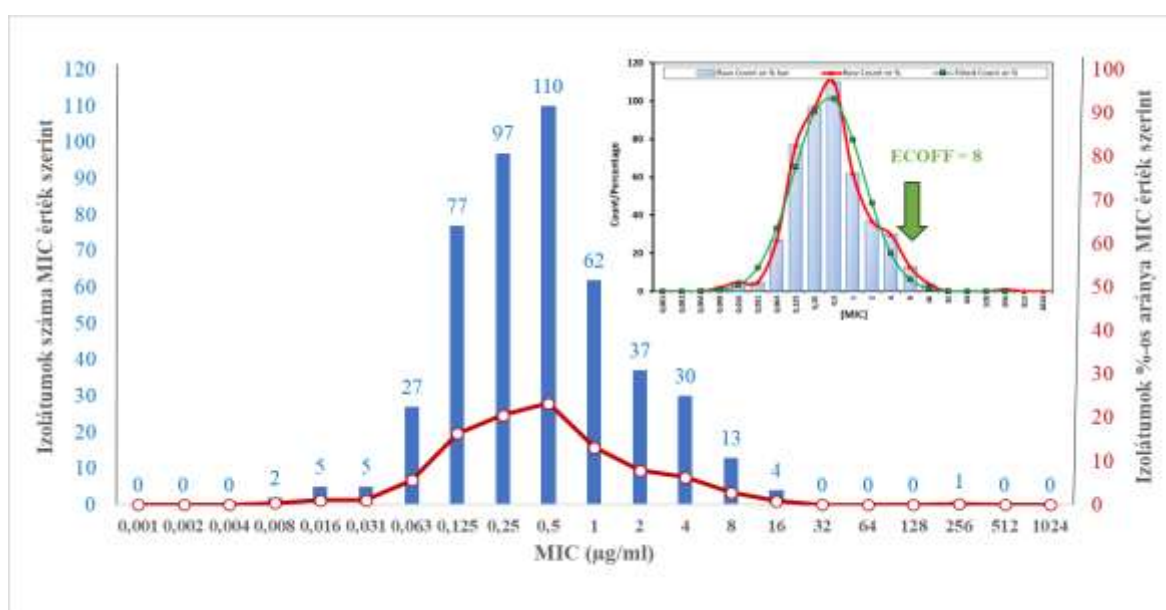
Amoxicillin esetén az adatok eloszlása és a rezisztencia mértéke következtében nem volt alkalmas az adatbázis ECOFF-érték számolására. Az amoxicillin rezisztens törzsek aránya 73% volt. Amoxicillin-klavulánsav esetén az 5. ábra szerint látható, hogy a kalkulált ECOFF-érték 128 µg/ml lett, szemben az EUCAST *E. coli* tekintetében meghatározott 8 µg/ml töréspontjához képest, rezisztencia mértéke 71% volt.

Ceftriaxon esetén (6. ábra), már jóval alacsonyabb MIC-értékeket tapasztaltunk, az ezek alapján kalkulált ECOFF-érték 0,25 µg/ml lett, ami nagyobb, mint az EUCAST révén ajánlott 0,125 µg/ml töréspont. Ez azt jelenti, hogy a vad-típusú törzsek 99%-a vizsgált populációban 0,25 µg/ml hatóanyag koncentráció mellett hatékonyan kezelhető. Ez azt jelenti, hogy a vad-típusú törzsek 99%-a vizsgált populációban 0,25 µg/ml hatóanyag koncentráció mellett hatékonyan kezelhető. Természetesen ezek az eredmények elsősorban *in vitro* vizsgálati körülmények között igazak és humán egészségügyi jelentőségük miatt fontosak, a gyakorlatban klinikai töréspontok meghatározására lenne szükség több hatóanyag esetén, állatorvosi vonalon, mely rendkívül költséges folyamat.

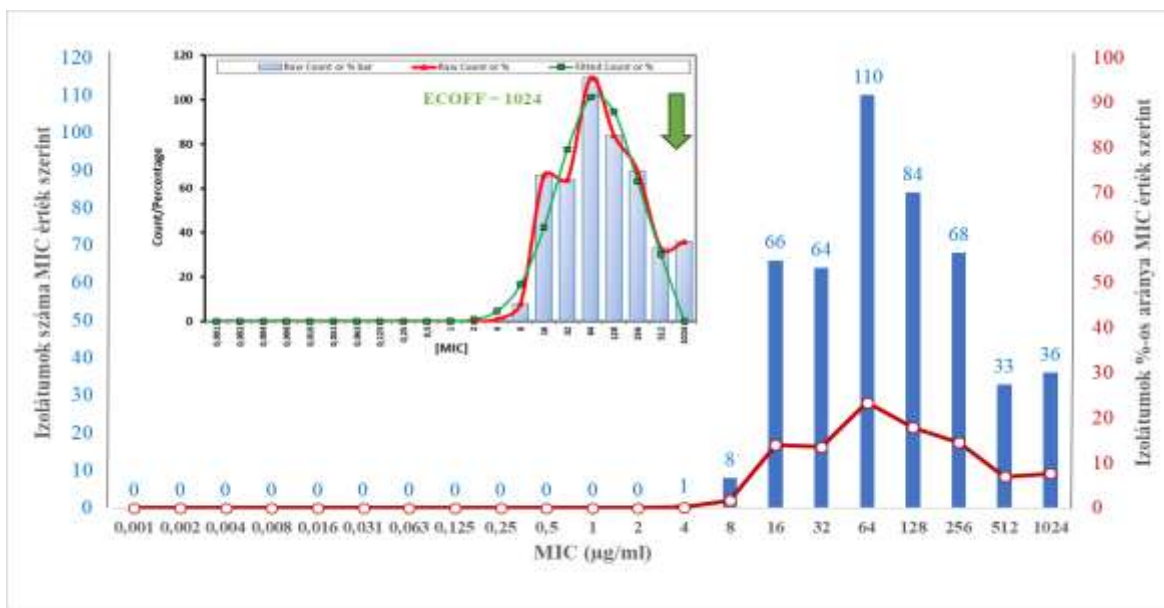


6. ábra Ceftriaxon ECOFF-értéke pulykából meghatározott *E. coli*-ra

Imipenemnél (7. ábra) kalkulált ECOFF 8 µg/ml. Ez jelentősen több, az EUCAST révén megállapított 0,5 µg/ml-nél. Azonban imipenem esetén mindenképpen fenntartásokkal kell kezelnünk a kapott eredményeket, mert egyrészt a szakirodalom is leírja, másrészt mi is tapasztaltuk a hatóanyag stabilitási problémáit. A későbbiekben ertapenem hatóanyaggal kívánjuk megismételni a vizsgálatokat – mely bizonyítottan nagyobb stabilitással rendelkezik, hogy pontosabb képet kaphassunk a közegészségügy szempontjából óriási jelentőséggel bíró karbapenem csoporttal szembeni rezisztencia helyzetéről. Az EUCAST töréspontját figyelembe véve a törzsek 32%-a volt rezisztens, amennyiben a saját ECOFF-értékünket vesszük alapul, akkor ez csak 4%.

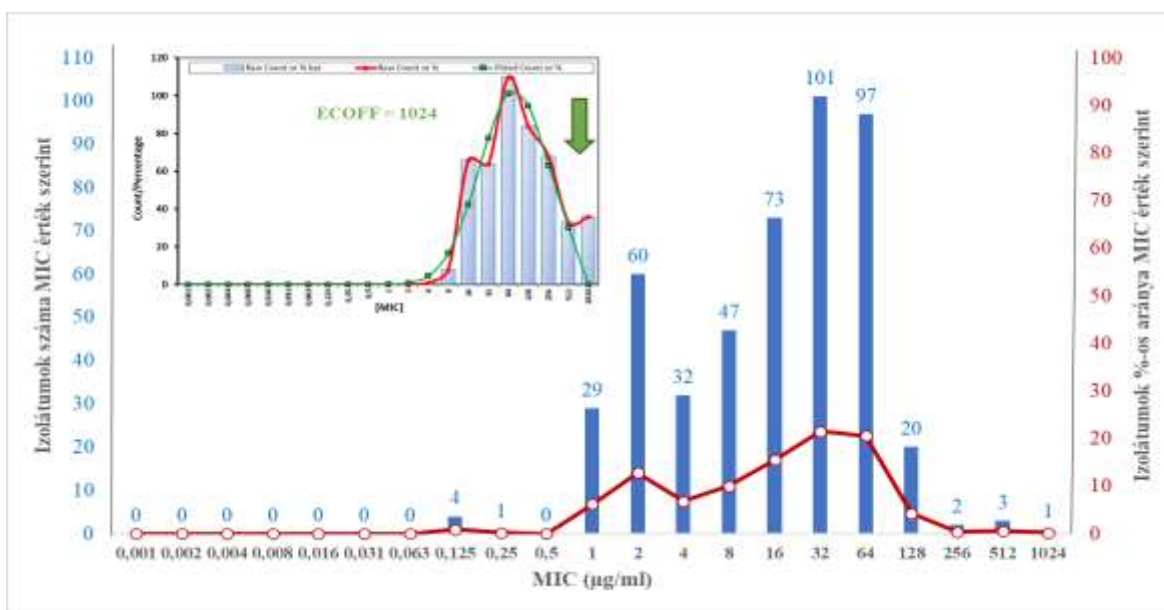


7. ábra Imipenem ECOFF pulykából szárazó *E. coli*-ra



8. ábra Spektinomycin ECOFF-értéke pulykából izolált *E. coli* esetén

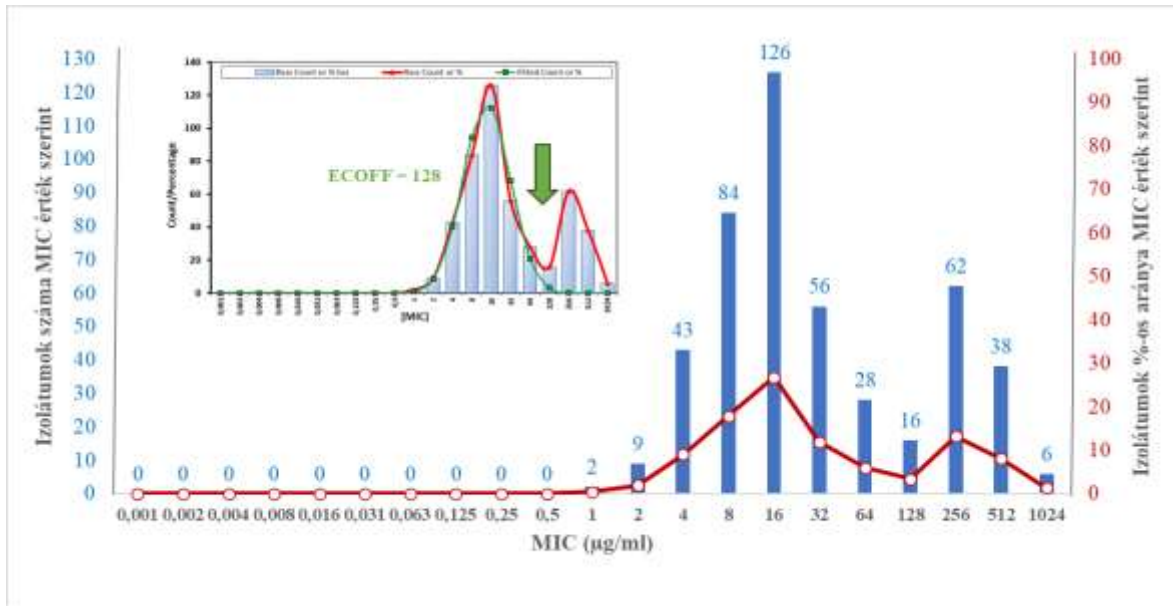
Spektinomycin esetén (**8. ábra**) 1024 µg/ml ECOFF-ot figyeltünk meg, ami szintén magasabb az EUCAST 64 µg/ml-hez nézve. A nagymértékű rezisztencia hátterében, ezáltal a magas értékek oka a baromfiágazatban több évtizeden keresztül túlhasznált aminoglikozidok ténye állhat. A rezisztencia mértéke 70% volt.



9. ábra Doxyciklin ECOFF-ja pulykából származó *E. coli*-nál

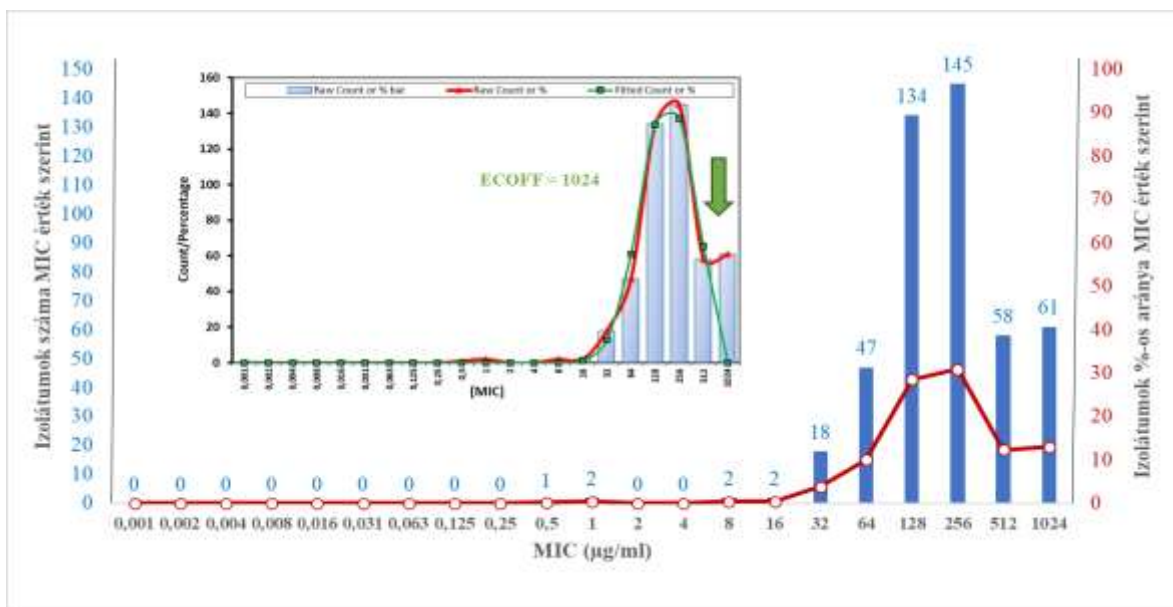
Doxyciklin esetén (**9. ábra**) szintén hasonló tendenciát tapasztaltunk, 1024 µg/ml ECOFF-t tapasztaltunk, azonban az EUCAST 8 µg/ml-t talált. A tetraciklin hatóanyagok szintén több évtizede túlhasznált hatóanyagok a baromfiágazaton belül, különösen rossz biológia hatásosságuk miatt pedig többszörösen túldozírozott volt használatuk, ami

jelentős mértékben hozzájárult a környezeti terheléshez is. Rezisztencia gyakoriságukat 73%-ban állapítottuk meg.



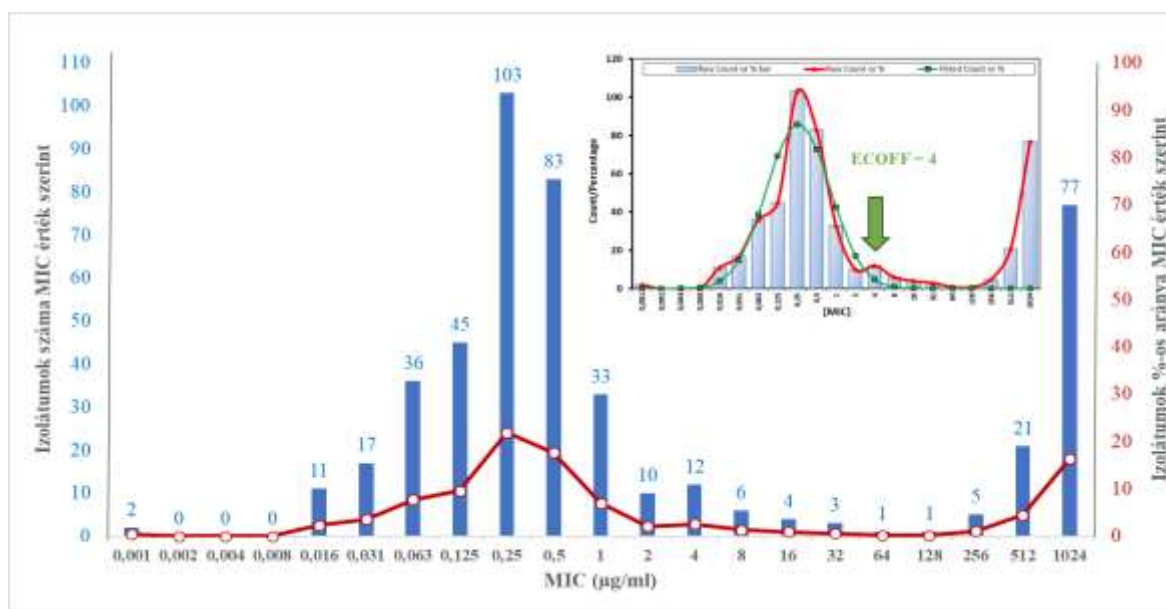
10. ábra Florfenikol ECOFF-ja pulykából származó *E. coli*-ra

Florfenikol esetén (10. ábra) 128 µg/ml ECOFF értékhez képest az EUCAST 16 µg/ml értéket határozott meg. A florfenikol hatóanyag baromfiágazatban történő felhasználása szintén jelentős mértékű, különösen a '90-es évektől kezdve. Rezisztenciájának a mértékét 71%-os értékben határoztuk meg.

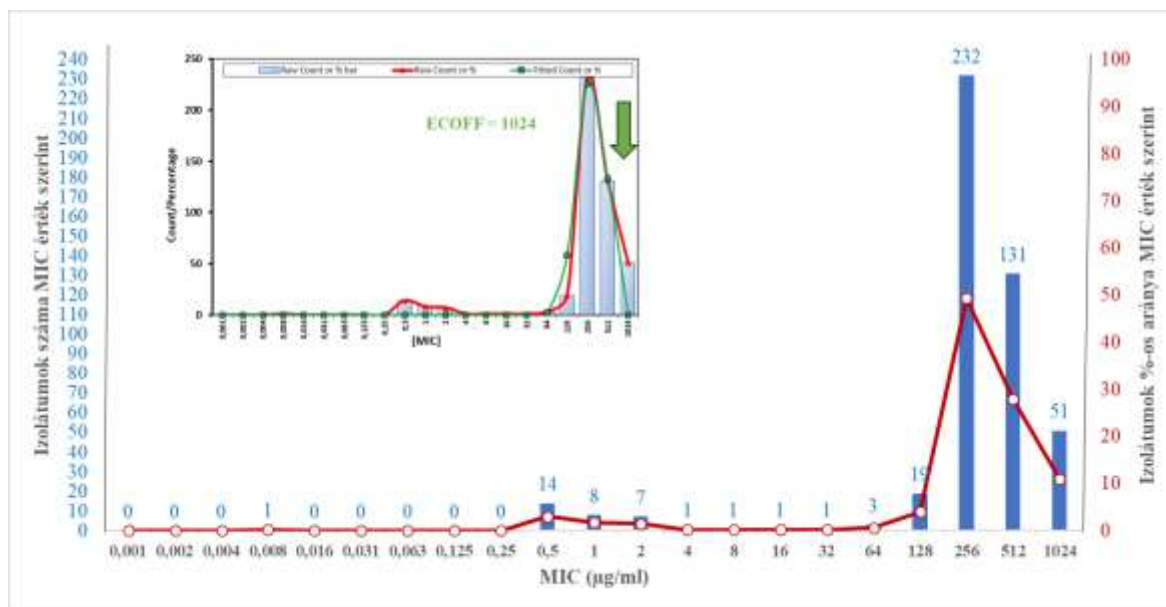


11. ábra Tiamulin ECOFF-ja pulykából származó *E. coli*-ra

A tiamulint nem használjuk *E. coli* fertőzésekben, eredményeink megoszlása (11. ábra) azonban lehetővé tette, hogy ECOFF-értéket számoljunk, mely 1024 µg/ml lett. Mivel nem használják ennek a fertőzésnek a kezelésében, így nemzetközileg elfogadott töréspont sem áll rendelkezésre.



12. ábra Kolisztin ECOFF-ja pulykából származó *E. coli*-ra

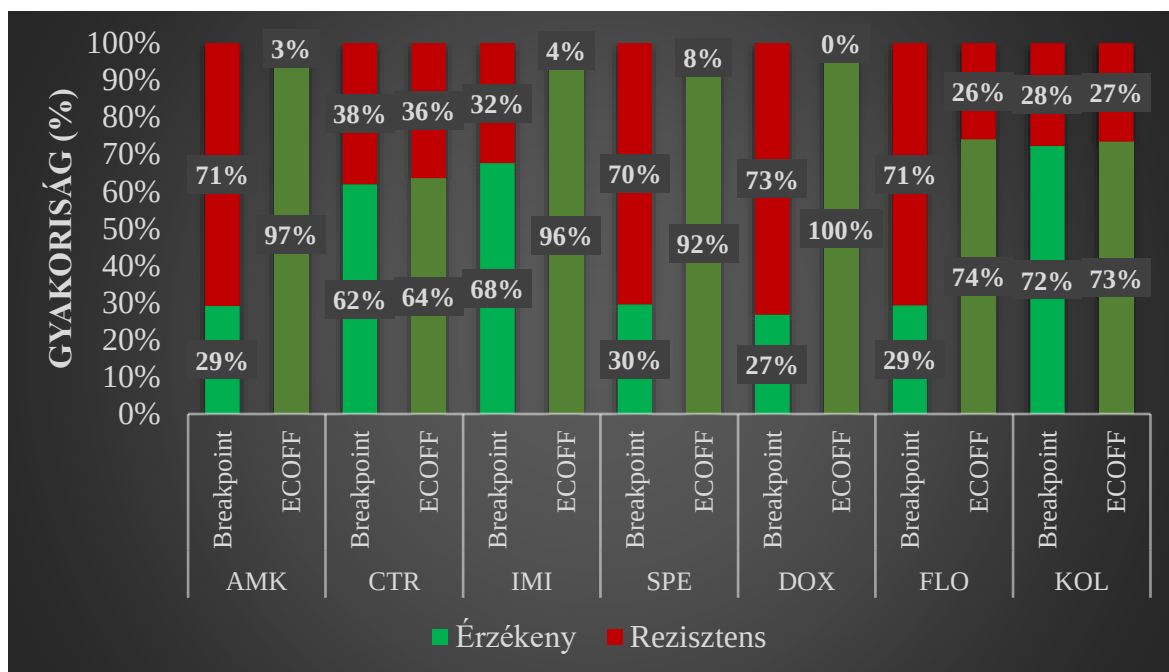


13. ábra Vankomicin ECOFF-ja pulykából származó *E. coli*-ra

A kolisztin egy kritikusan fontos hatóanyag, melyet bár elsősorban az állategészségügyben használtak, azonban az utóbbi évtizedben a humán gyógyászatban is egyre gyakoribb multirezisztens Gram-negatív baktériumok okozta fertőzések kezelésének egyik utolsó lehetőségeként tartalékolta hatóanyag. Felhasználását így az

állategészségügyben az EU 65%-kal kívánja csökkenteni, megőrizve ezáltal hatékonyságát. Eredményeink alapján (**12. ábra**) 4 µg/ml ECOFF értéket kaptunk, ami egyel magasabb érték az EUCAST által meghatározott töréspont (2 µg/ml). A vele szemben kialakított rezisztencia mértéke 28%-os volt.

A vankomicin egy olyan gliopeptid hatóanyag, melyet életet veszélyeztető Gram-pozitív baktériumok okozta fertőzések kezelésében vesznek igénybe, 2023. év eleje óta pedig állategészségügyi felhasználása teljes mértékben tilos. A szakirodalom néhány esetben leírja, hogy egy-egy Gram-negatív baktérium törzs érzékeny lehet rá, így vizsgáltuk mi is az érzékenységet, az adatok megoszlása (**13. ábra**) pedig lehetővé tették, hogy meghatározzuk az ECOFF-értékét, ami 1024 µg/ml lett.

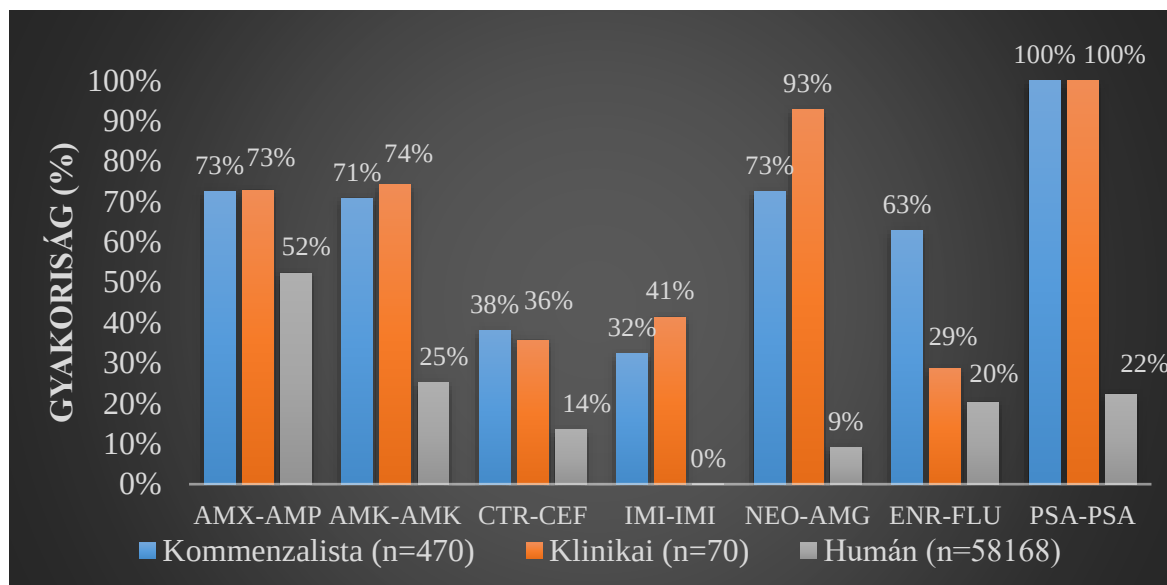


AMK-amoxicillin-klavulánsav; CTR-ceftriaxon; IMI-imipenem; SPE-spektinomycin; DOX-doxiciklin; FLO-florfenikol; KOL-kolisztin

14. ábra Töréspontok és az adataink, pulyka *E. coli* törzsek (n=470) ECOFF értéke alapján kapott érzékeny és rezisztens törzsek arányában

A **14. ábra** szemlélteti az EUCAST által meghatározott töréspontok és az általunk meghatározott ECOFF-értékek összehasonlítását. Ceftriaxon esetén nagyon hasonló eredményt kaptunk (0,125 µg/ml; 0,25 µg/ml), kolisztin esetén pedig eredményeink teljes mértékben megegyeztek az EUCAST eredményeivel (4 µg/ml). Ezek az eredmények alátámasztják azt, hogy létjogosultsága van egy adott baktérium populáció esetén ECOFF-értéket meghatározni, amennyiben a mintaelemszám eléri a megállapított minimális 100 db törzsszámot és az MIC-értékek megoszlása is bimodális; hiszen földrajzilag és az adott

ország antibiotikum felhasználási szokásainak megfelelően másképpen alakul az érzékeny és rezisztens törzsek aránya.



Állatorvosi adatok esetén: AMX-amoxicillin; CTR-ceftriaxon; NEO-neomicin; ENR-enrofloxacin. Humán adatok tekintetében: AMP-ampicillin; CEF-3. generációs cefalosporinok; AMG-aminoglikozidok; FLU-fluorokionolonok. Mindkettő esetén: AMK-amoxicillin-klavulánsav; IMI-imipenem; PSA-potenciált szulfonamid (szulfometoxazol és trimetoprim).

15. ábra A különböző izolátumok érzékenységi profiljában történt összehasonlítás

Lehetőségünk volt összehasonlítani (15. ábra) az általunk vizsgált kommenzalista törzsek, klinikai esetekből származó pulyka eredetű *E. coli* törzsek és humán esetek során meghatározott rezisztencia értékek helyzetét bizonyos hatóanyagokra nézve. Jól látható, hogy amoxicillin esetén mind a kommenzalista és a klinikai törzsek rezisztenciája ugyanolyan mértékű volt (73%), az ennek megfeleltetett ampicillin hatóanyagra nézve a humán törzsek is nagyon hasonló mértékű rezisztenciát mutattak (52%). A többi hatóanyag esetén már állatorvosi vonalon sokkal rosszabb a rezisztencia helyzete, különösen igaz ez a több évtizede túlhasznált aminoglikozid és potenciált szulfonamid hatóanyagokra nézve. Fluorokinolok esetén a klinikai esetek során tapasztalt eredmény nagyon hasonlóan alakul (29%), mint a humán esetekben (20%), ez esetben a kommenzalista törzsek mutatnak jelentősebb mértékű (63%) rezisztenciát. Imipenem esetén eredményeinket a szakirodalomban is leírt stabilitási problémák miatt fenntartásokkal kezeljük, hiszen az ezzel szembeni rezisztenciának a humán egészségügyben is tapasztalható nulla százalékos érték körül kellene, hogy alakuljon.

Az 1. táblázatban láthatók összefoglalva regionális bontásban, az egyes hatóanyagokra meghatározott ECOFF-értékek, amely esetekben ennek meghatározását a MIC-értékek megoszlása lehetővé tette. Az így meghatározott ECOFF-értékek előzetes értékeknek

tekinthetők, hiszen a mintaelemszám regionális szinten nem érte el a megbízhatósági feltételként szabott minimális mennyiséget ($n > 100$).

1. táblázat Az egyes hatóanyagokra meghatározott ECOFF-értékek regionális megoszlása

Hatóanyag	Breakpoint	ECOFF 99% R'd-up						
		Dél-Alföld n=65	Dél-Dunántúl n=85	Észak-Alföld n=84	Észak-Magyarország n=43	Közép-Dunántúl n=34	Közép-Magyarország n=88	Nyugat-Dunántúl n=71
		µg/ml						
amoxicillin	8	-	-	-	-	-	32	16
amoxicillin-klavulánsav	8	128	256	128	64	64	32	128
ceftriaxon	0,125	0,25	-	0,25	0,125	-	0,125	0,125
imipenem	0,5	-	4	8	2	2	1	2
neomicin	8	1024	8	1024	128	128	8	-
spektinomycin	64	256	1024	512	512	512	32	2048
doxiciklin	8	256	256	512	-	4096	4096	16
florfenikol	16	512	32	64	64	32	4096	64
enrofloxacin	2	0,5	-	-	-	-	1024	2048
kolisztin	2	-	-	-	1	1	1	4
potenciált szulfonamid	0,5	16	-	-	-	-	-	-
vankomicin	-	512	-	512	512	512	-	1024
tiamulin	-	-	2048	512	256	512	512	1024
tilozin	-	-	-	-	-	-	512	-

Amoxicillin esetén országos szinten nem tudtunk ECOFF-értéket meghatározni, a közép-magyarországi és nyugat-dunántúli régiók esetén azonban igen, amely eredmények (32 µg/ml; 16 µg/ml) magasabbak, mint az EUCAST révén meghúzott határérték (8 µg/ml). Amoxicillin-klavulánsavnál regionálisan hasonló eredményeket kaptunk, mint országosan. Ceftriaxon vizsgálata során az EUCAST határértéke (0,125 µg/ml) volt megfigyelhető több esetben, neomicin esetén pedig nagyon változatosak lettek az eredmények. Sokkal nagyobb értékeket tapasztaltunk spektinomycin, doxiciklin és florfenikol esetén is. Enrofloxacin esetén nagyon változatos eredményeket kaptunk, egyedül a dél-alföldi régióban (0,5 µg/ml) volt elfogadható a meghatározott ECOFF-érték. Kolistin esetén a kapott eredmény a legtöbb esetben 1 µg/ml érték, egyedül a nyugat-dunántúli régióban tapasztaltunk nagyobb értéket (4 µg/ml).

6. KÖVETKEZTETÉSEK

Vizsgálatainkban hazai pulyka állományokból izolált *E. coli* törzsek antibiotikum érzékenységi vizsgálatát követően a bimodális eloszlást mutató hatóanyagok esetén ECOFF-értékeket állapítottunk meg. A szakirodalom meglehetősen szegényes ECOFF-értékek publikálása tekintetében, különösen igaz ez a baromfiágazatban.

Összesen 470 izolátum MIC-értékét határoztuk meg 15-féle hatóanyagra, amely során 7050 érték felhasználásával végül amoxicillin-klavulánsav, ceftriaxon, imipenem, spektinomicin, florfenikol, tiamulin, kolisztin és vankomicin hatóanyagok esetén mutattak az eredmények bimodális eloszlást, aminek segítségével ezen hatóanyagokra ECOFF-értékeket határoztunk meg. Amoxicillin-klavulánsav esetén 128 µg/ml ECOFF-értéket kaptunk, szemben az EUCAST 8 µg/ml töréspontjával [103], pulyka esetén nincs összehasonlításra alkalmas szakirodalom, sertés esetén Burch és mtsai. 16 µg/ml ECOFF-értéket mutattak ki a hatóanyagra [104]. A rezisztencia mértéke 71%-os volt, ami egybevág az Eid és mtsai. által leírt nagymértékű rezisztencia (88,9%) előfordulásával [105], Moawad és mtsai. 69,2%-ban mutattak ki rezisztens törzset [106], Zhao és mtsai. pulykahús vizsgálatain során kb. 5%-os rezisztenciáról [107], Boulianne és mtsai. pedig 34,5%-os rezisztenciáról számoltak be [108].

Ceftriaxon esetén a bimodális megoszlás alapján 0,25 µg/ml koncentrációban állapítottuk meg az ECOFF-értéket, ami közel azonos volt az EUCAST révén meghatározott 0,125 µg/ml értékkel [103], a rezisztenciának a nagysága 38% volt, Boulianne és mtsai. hasonlóan 33,1%-ban mutatták ezt ki [108], azonban Cook és mtsai. nem mutattak ki rezisztens törzset vizsgálatukban [109], Zhao és mtsai. pedig csak kb. 3%-os rezisztenciáról számoltak be [107]. Imipenem esetén a megoszlás szerint 8 µg/ml volt az ECOFF, azonban ez jóval magasabb az EUCAST 0,5 µg/ml értékénél [103]. Figyelembe kell azonban azt is vennünk, hogy imipenem esetén köztudottan stabilitási problémák vannak a hatóanyaggal. A rezisztencia mértéke 32% volt, azonban Tawyabur és mtsai. nem találtak rezisztens törzset vizsgálatuk során sem beteg, sem egészséges pulykáknál; ezzel ellenben meropenem hatóanyagra nézve az egészséges állatoknál 100%-os, a beteg állatoknál 40%-os rezisztenciát figyeltek meg [110], Moawad és mtsai. egészséges pulykáknál szintén nem találtak rezisztenciát imipenemre [106].

Spektinomicin esetén az ECOFF 1024 µg/ml volt, ez szintén meghaladja az EUCAST 64 µg/ml értékét [103], mi 70%-os rezisztenciát tapasztaltunk, ellenben Piccirillo és mtsai.,

akik madárpatógén törzseknél 4,2%-os, bélsárból izolált törzseknél pedig 13,3%-os rezisztenciát figyeltek meg [111]. Doxiciklin esetén szintén nagy, 1024 µg/ml ECOFF-értékben figyeltük meg, ez jóval meghaladja az EUCAST 8 µg/ml értékét [103]. A rezisztencia mértéke 53% volt, ami hasonlóan alakult Grobbel és mtsai. vizsgálata során leírt 49%-os [112], vagy Shrestha és mtsai. által leírt 61,7%-os rezisztenciához [113], Eid és mtsai. szintén nagy, 77,8%-os [105], ellenben Piccirillo és mtsai. madárpatógén törzseknél 95,8%-os, bélsárból izolált törzseknél pedig 96,7%-os rezisztenciát figyeltek meg [111]. A szakirodalomban is leírt nagy rezisztencia értékek alátámasztják a hatóanyagcsoport több évtizedes túlhasználása következtében kialakuló széleskörű rezisztencia helyzetét.

Florfenikol esetén 128 µg/ml ECOFF-érték volt, amit kaptunk, ez meghaladja az EUCAST által leírt 16 µg/ml értéket [103]. A florfenikollal szembeni rezisztencia mértéke 71%-os volt, ezzel ellentétben Piccirillo és mtsai. madárpatógén törzseknél 4,2%-os, bélsárból izolált törzseknél viszont nem figyeltek meg rezisztenciát [111]. Az adataink megoszlása lehetővé tette, hogy tiamulinra is megállapítsunk ECOFF-értéket, ami 1024 µg/ml volt, azonban nem használjuk ezt a hatóanyagot *E. coli* okozta fertőzés kezelésében, így töréspont sem áll a rendelkezésünkre és így összehasonlítható szakirodalmi adat sem.

A kolisztin kritikusan fontos hatóanyag, a gastrointestinalis fertőzésekben másodlagos vonalbeli szer. Az adatok megoszlása szerint az ECOFF-érték 4 µg/ml volt, ez nagyon hasonló az EUCAST révén tapasztalt 2 µg/ml értékhez [103]. A rezisztencia mértéke azonban 28%-os volt, ami aggodalomra ad okot, tekintve, hogy egy kritikusan fontos hatóanyagról van szó. Piccirillo és mtsai. madárpatógén és bélsárból izolált izolátumoknál sem mutattak ki rezisztens törzseket [111]. Bár a vankomicin hatóanyagot Gram-negatív fertőzések kezelésére nem használjuk, azonban a szakirodalom leírja, hogy az esetek néhány százalékában hatékony lehet, mivel az adataink megoszlása lehetővé tette, meghatároztuk az ECOFF-értékét, ami 1024 µg/ml lett.

Azoknál a hatóanyagoknál, amelyek megoszlásából fakadóan nem volt lehetőség ECOFF-értékek meghatározására, mint enrofloxacin, ott 63%-os országos rezisztenciát mutattunk ki. Azonban regionális bontásban a dél-alföldi régióban az adatok megoszlása bimodális volt (n=65), így előzetes ECOFF-értéket tudtunk meghatározni, ami 0,5 µg/ml volt, mivel az enrofloxacin a baromfifélékben igen gyakran használt fluorokinolon hatóanyag, ezért a CLSI meghatározott rá töréspontot, ami 2 µg/ml [102]. A rezisztencia

súlyos helyzetére hívja fel a figyelmet, hogy Eid és mtsai. 88,9%-os [105], ellenben Piccirillo és mtsai., akik madárpatógén törzseknél 6,3%-os, bélsárból izolált törzseknél pedig 6,7%-os rezisztenciát figyeltek meg [111]. A humán jelentőséggel bíró ciprofloxacín esetén Moawad és mtsai. 69,2%-os [106], Zhao és mtsai. viszont csak kb. 3%-os rezisztenciát mutattak ki [107]. Tawyabur és mtsai. az egészséges állatoknál 56,7%-os, a beteg állatoknál 80%-os rezisztenciát figyeltek meg [110].

Neomicin esetén a dél-dunántúli (n=85) és a közép-magyarországi (n=88) minták megoszlása lehetővé tette az ECOFF-érték meghatározását, ami egységesen 8 µg/ml volt, ez megegyezik az EUCAST révén meghatározott számmal [103]. A rezisztencia mértéke 73% volt, Eid és mtsai. gentamicinre 50%-os [105], Zhao és mtsai 30%-os [107], Tawyabur és mtsai. egészséges pulykákban nem találtak, beteg állatoknál 36%-os [110], Moawad és mtsai. 65,4%-os [106], Piccirillo és mtsai. pedig madárpatógén törzseknél 2,1%-os, bélsárból izolált törzseknél pedig 16,7%-os rezisztenciát figyeltek meg [111]. Potenciált szulfonamidra egyedül a dél-alföldi régióban (n=65) tette lehetővé az adatok megoszlása, hogy ECOFF-értéket állapítsunk meg, a 16 µg/ml érték jóval meghaladja az EUCAST 0,5 µg/ml értékét [103]. A rezisztencia gyakorlatilag 100%-os volt, Piccirillo és mtsai. ezzel szemben madárpatógén törzseknél 47,9%-os, bélsárból izolált törzseknél pedig 80,0%-os rezisztenciában állapodtak meg [111], Moawad és mtsai. hasonlóan 92,3%-os [106], Zhao és mtsai. pedig 50%-os rezisztenciát írtak le [107].

Összességében elmondhatjuk, hogy eredményeink alátámasztják az ECOFF-értékek meghatározásának szükségességét, amelynek segítségével az adott terület vad-típusú törzseinek gyakoriságáról kaphatunk pontosabb képet. Az adatok hozzájárulnak ahhoz, hogy a baromfiágazat jelen helyzetéről egy jelen helyzetképet kapjunk; a humán rezisztenciaadatokkal való összehasonlítás segítségével pedig megvalósul a *One Health* koncepció.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A 21. század nagyon jelentős problémaköre az antimikrobiális rezisztencia globális helyzete. Ahhoz, hogy időben tudjunk reagálni a jelen helyzetre, rendszeres felmérésekre van szükség. A kommenzalista, a klinikai minták és a humán rezisztencia helyzetének összehasonlítása megteremti az Egy Egészség koncepciót az állat- és közegészségügy között.

A baromfiágazat egyike a legjelentősebb antibiotikumot felhasználóknak, ami maga után vonja a rezisztencia széleskörű elterjedését is. A célunk az országos és regionális felmérés a pulyka ágazat helyzetét *Escherichia coli* baktérium esetében, állat- és közegészségügyi jelentőségű antibiotikumokra nézve. Ennek során minimális gátló koncentráció (MIC) értékmeghatározás végeztünk és vizsgáltuk az izolált kommenzalista, valamint klinikai esetekből származó törzsek érzékenységet, majd összehasonlítottuk eredményeinket humán rezisztencia adatokkal. Végezetül *epidemiological cut-off value* (ECOFF) értékeket határoztunk meg a bimodális megoszlást mutató adatokra.

Összesen 470 pulyka eredetű *Escherichia coli* törzsnek a MIC-értékét meghatároztuk 15-féle hatóanyagra, amely során 7050 MIC-értéket kaptunk. Az adatok megoszlása alapján országos szinten amoxicillin-klavulánsav hatóanyagra 128 µg/ml, ceftriaxonra 0,25 µg/ml, imipenemre 8 µg/ml, spektinomycinre, doxiciklin hatóanyagokra 1024 µg/ml, florfenikolra 128 µg/ml, kolisztinre pedig 4 µg/ml ECOFF-értéket határoztunk meg. Regionális bontásban a közép-magyarországi és nyugat-dunántúli régiók esetén amoxicillin hatóanyagra sikeresen megállapítottuk az ECOFF-értéket, amely előbbi esetében 32 µg/ml, utóbbi esetében 16 µg/ml volt. Regionálisan enrofloxacin esetében egyedül a dél-alföldi régióban volt elfogadható a 0,5 µg/ml koncentráció. Kolistin hatóanyagra a legtöbb régióban 1 µg/ml értéket kaptunk, egyedül a nyugat-dunántúli régióban tapasztaltunk nagyobb értéket (4 µg/ml). Amoxicillin esetén mind a kommenzalista és a klinikai törzsek rezisztenciája ugyanolyan mértékű volt (73%), az ennek megfelelő amplicillin hatóanyagra nézve a humán törzsek is nagyon hasonló mértékű rezisztenciát mutattak (52%). A többi hatóanyagra állatorvosi vonalon sokkal kedvezőtlenebb a rezisztencia helyzete.

Eredményeink alátámasztják az ECOFF-értékek meghatározásának létjogosultságát, amelyek hozzájárulhatnak a területi antibiotikum használati szokások alapján kialakuló antimikrobiális rezisztencia megfelelő időben és módon történő menedzsmentjéhez. A rendszeres felmérések és a humán adatokkal való összehasonlítás pedig az Egy Egészség koncepcióját teremti meg.

8. SUMMARY

One of the biggest challenges of the 21st century is the global spread of antimicrobial resistance. Regular assessments are needed to respond to the current situation in a timely manner. The comparison of the situation of resistance in humans with that of the commensals, clinical case samples and human resistance creates the One Health concept between animal and public health.

The poultry sector is one of the largest users of antibiotics, which also leads to widespread resistance. Our aim was to assess the situation of the turkey sector at national and regional level for *Escherichia coli* bacteria, antibiotics of animal and public health importance. To this end, we assessed the susceptibility of isolated commensal and clinical case strains by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) value and compared our results with human resistance data. Finally, we determined epidemiological cut-off values (ECOFF) for the bimodal distribution data.

A total of 470 turkey-derived *Escherichia coli* strains were MIC determined for 15 different active substances, yielding MIC values of 7050. Based on the distribution of the data, ECOFF values were determined at national level for amoxicillin-clavulanic acid 128 µg/ml, ceftriaxone 0.25 µg/ml, imipenem 8 µg/ml, spectinomycin, doxycycline 1024 µg/ml, florfenicol 128 µg/ml and colistin 4 µg/ml. In a regional breakdown, ECOFF values for amoxicillin were successfully established for the regions of Közép-Magyarország and Nyugat-Dunántúl, with 32 µg/ml for the former and 16 µg/ml for the latter. Regionally, for enrofloxacin, the only region where a concentration of 0.5 µg/ml was acceptable was the Dél-Alföld region. For the active substance colistin, a value of 1 µg/ml was obtained in most regions, with the only higher value (4 µg/ml) being in the Nyugat-Dunántúl region. For amoxicillin, both the commensal and clinical strains showed the same level of resistance (73%), and for the corresponding ampicillin drug, the human strains showed very similar levels of resistance (52%). For the other drugs, the resistance situation is much less favourable in the veterinary line.

Our results support the rationale for defining ECOFF values that can contribute to the timely and appropriate management of antimicrobial resistance based on regional antibiotic use patterns. Regular surveys and comparisons with human data create the concept of One Health.

9. IRODALOMJEGYZÉK

- [1] Serna C, Gonzalez-Zorn B. Antimicrobial resistance and One Health. *Rev Esp Quimioter* 2022;35:37–40. <https://doi.org/10.37201/req/s03.09.2022>.
- [2] Pulingam T, Parumasivam T, Gazzali AM, Sulaiman AM, Chee JY, Lakshmanan M, et al. Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2022;170:106103. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.106103>.
- [3] Abushaheen MA, Muzahed, Fatani AJ, Alosaimi M, Mansy W, George M, et al. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month* 2020;66:100971. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2020.100971>.
- [4] Deng S, Xu Q, Fu Y, Liang L, Wu Y, Peng F, et al. Genomic Analysis of a Novel Phage Infecting the Turkey Pathogen *Escherichia coli* APEC O78 and Its Endolysin Activity. *Viruses* 2021;13:1034. <https://doi.org/10.3390/v13061034>.
- [5] Rizvi SG, Ahammad SZ. COVID-19 and antimicrobial resistance: A cross-study. *Sci Total Environ* 2022;807:150873. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150873>.
- [6] Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, et al. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112:5649–54. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>.
- [7] Mughini-Gras L, Pasqualin D, Tarakdjian J, Santini A, Cunial G, Tonellato F, et al. Short-term and long-term effects of antimicrobial use on antimicrobial resistance in broiler and turkey farms. *Avian Pathology* 2022;51:120–8. <https://doi.org/10.1080/03079457.2021.2007850>.
- [8] Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection* 2012;18:268–81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>.
- [9] Larsson DGJ, Flach C-F. Antibiotic resistance in the environment. *Nat Rev Microbiol* 2022;20:257–69. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>.
- [10] Breijyeh Z, Jubeh B, Karaman R. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *Molecules* 2020;25:1340. <https://doi.org/10.3390/molecules25061340>.
- [11] Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* | *Microbiology Spectrum* n.d. https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%20pubmed (accessed August 8, 2023).
- [12] Hesp A, van Schaik G, Wiegel J, Heuvelink A, Mevius D, Veldman K. Antimicrobial resistance monitoring in commensal and clinical *Escherichia coli* from broiler chickens: Differences and similarities. *Preventive Veterinary Medicine* 2022;204:105663. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105663>.
- [13] Makarov DA, Ivanova OE, Karabanov SY, Gergel MA, Pomazkova AV. Antimicrobial resistance of commensal *Escherichia coli* from food-producing animals in Russia. *Vet World* 2020;13:2053–61. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.2053-2061>.
- [14] Roth N, Käsbohrer A, Mayrhofer S, Zitz U, Hofacre C, Domig KJ. The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: A global overview. *Poultry Science* 2019;98:1791–804. <https://doi.org/10.3382/ps/pey539>.
- [15] Uddin TM, Chakraborty AJ, Khusro A, Zidan BRM, Mitra S, Emran TB, et al. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health* 2021;14:1750–66. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>.
- [16] Hutchings MI, Truman AW, Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology* 2019;51:72–80. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>.
- [17] Darby EM, Trampari E, Siasat P, Gaya MS, Alav I, Webber MA, et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nat Rev Microbiol* 2023;21:280–95. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00820-y>.
- [18] Wang D, Shahidi F. Protein hydrolysate from turkey meat and optimization of its antioxidant potential by response surface methodology. *Poultry Science* 2018;97:1824–31. <https://doi.org/10.3382/ps/pex457>.
- [19] Sun C, Liu J, Yang N, Xu G. Egg quality and egg albumen property of domestic chicken, duck, goose, turkey, quail, and pigeon. *Poultry Science* 2019;98:4516–21. <https://doi.org/10.3382/ps/pez259>.
- [20] Ryan J. Global turkey meat market: Key findings and insights n.d. <https://www.thepoultrysite.com/news/2018/05/global-turkey-meat-market-key-findings-and-insights> (accessed June 25, 2023).

- [21] 19.1.1.29. Baromfiállomány n.d. https://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0029.html (accessed June 26, 2023).
- [22] Lopez P, Steenberg B, Lava P-H, Chiarella F, Khaldoune N. The poultry meat sector contributes to the EU economy, especially in rural areas n.d.
- [23] Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C. *Escherichia coli* in Europe: An Overview. *Int J Environ Res Public Health* 2013;10:6235–54. <https://doi.org/10.3390/ijerph10126235>.
- [24] Threlfall EJ. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections. *FEMS Microbiology Reviews* 2002;26:141–8. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00606.x>.
- [25] Peng Z, Hu Z, Li Z, Zhang X, Jia C, Li T, et al. Antimicrobial resistance and population genomics of multidrug-resistant *Escherichia coli* in pig farms in mainland China. *Nat Commun* 2022;13:1116. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28750-6>.
- [26] Johnson JR, Sannes MR, Croy C, Johnston B, Clabots C, Kuskowski MA, et al. Antimicrobial Drug-Resistant *Escherichia coli* from Humans and Poultry Products, Minnesota and Wisconsin, 2002–2004. *Emerg Infect Dis* 2007;13:838–46. <https://doi.org/10.3201/eid1306.061576>.
- [27] Nhung NT, Chansiripornchai N, Carrique-Mas JJ. Antimicrobial Resistance in Bacterial Poultry Pathogens: A Review. *Frontiers in Veterinary Science* 2017;4.
- [28] Guabiraba R, Schouler C. Avian colibacillosis: still many black holes. *FEMS Microbiology Letters* 2015;362:fnv118. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv118>.
- [29] Gelbicova T, Kolackova I, Krutova M, Karpiskova R. The emergence of mcr-1-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in domestic and imported turkey meat in the Czech Republic 2017–2018. *Folia Microbiol* 2020;65:211–6. <https://doi.org/10.1007/s12223-019-00709-z>.
- [30] Aworh MK, Kwaga JKP, Hendriksen RS, Okolocha EC, Thakur S. Genetic relatedness of multidrug resistant *Escherichia coli* isolated from humans, chickens and poultry environments. *Antimicrob Resist Infect Control* 2021;10:58. <https://doi.org/10.1186/s13756-021-00930-x>.
- [31] AbdelRahman MAA, Roshdy H, Samir AH, Hamed EA. Antibiotic resistance and extended-spectrum β -lactamase in *Escherichia coli* isolates from imported 1-day-old chicks, ducklings, and turkey poults. *Vet World* 2020;13:1037–44. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1037-1044>.
- [32] Manges AR. *Escherichia coli* and urinary tract infections: the role of poultry-meat. *Clinical Microbiology and Infection* 2016;22:122–9. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.11.010>.
- [33] van den Bogaard AE, London N, Driessen C, Stobberingh EE. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2001;47:763–71. <https://doi.org/10.1093/jac/47.6.763>.
- [34] Yassin AK, Gong J, Kelly P, Lu G, Guardabassi L, Wei L, et al. Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolates from poultry and livestock, China. *PLoS One* 2017;12:e0185326. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185326>.
- [35] Mansaray AHD, Yankson DPY, Johnson RAB, Moses FL, Kanu JS, Kamara IF, et al. Bacterial Isolates and Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Fresh Poultry Excreta Used for Vegetable Farming in Freetown, Sierra Leone. *Int J Environ Res Public Health* 2022;19:5405. <https://doi.org/10.3390/ijerph19095405>.
- [36] Phenotypical antimicrobial resistance data of clinical and non-clinical *Escherichia coli* from poultry in Germany between 2014 and 2017 | PLOS ONE n.d. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0243772> (accessed August 8, 2023).
- [37] Jørgensen F, McLauchlin J, Verlander NQ, Aird H, Balasegaram S, Chattaway MA, et al. Levels and genotypes of *Salmonella* and levels of *Escherichia coli* in frozen ready-to-cook chicken and turkey products in England tested in 2020 in relation to an outbreak of *S. Enteritidis*. *International Journal of Food Microbiology* 2022;369:109609. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109609>.
- [38] Sagi S, Konduru B, Parida M. Heterologous expression of Intimin and IpaB fusion protein in *Lactococcus lactis* and its mucosal delivery elicit protection against pathogenicity of *Escherichia coli* O157 and *Shigella flexneri* in a murine model. *International Immunopharmacology* 2020;85:106617. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106617>.
- [39] Whole genome sequencing of an ExPEC that caused fatal pneumonia at a pig farm in Changchun, China - PMC n.d. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5466758/> (accessed August 14, 2023).
- [40] Feng A, Akter S, Leigh SA, Wang H, Pharr GT, Evans J, et al. Genomic diversity, pathogenicity and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry in the southern United States. *BMC Microbiol* 2023;23:15. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02721-9>.

- [41] Leekitcharoenphon P, Johansson MHK, Munk P, Malorny B, Skarżyńska M, Wadepohl K, et al. Genomic evolution of antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Sci Rep* 2021;11:15108. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93970-7>.
- [42] Landman WJM, van Eck JHH. The incidence and economic impact of the *Escherichia coli* peritonitis syndrome in Dutch poultry farming. *Avian Pathol* 2015;44:370–8. <https://doi.org/10.1080/03079457.2015.1060584>.
- [43] Davis GS, Waits K, Nordstrom L, Grande H, Weaver B, Papp K, et al. Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from retail poultry meat with different antibiotic use claims. *BMC Microbiol* 2018;18:174. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1322-5>.
- [44] Turnidge J, Kahlmeter G, Kronvall G. Statistical characterisation of bacterial wild-type MIC value distributions and the determination of epidemiological cut-off values. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:418–25. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01377.x>.
- [45] Zhang H-L, Wu S-L, Fu J-L, Jiang H-X, Ding H-Z. Research Note: Epidemiological cutoff values and acquired resistance mechanisms of three veterinary antibiotics against *Escherichia coli* from chicken respiratory tract infections. *Poult Sci* 2021;100:1093–7. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.11.049>.
- [46] Bimodal Distribution - an overview | ScienceDirect Topics n.d. <https://www.sciencedirect.com/topics/mathematics/bimodal-distribution> (accessed June 11, 2023).
- [47] Giske CG, Turnidge J, Cantón R, Kahlmeter G. Update from the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). *J Clin Microbiol* n.d.;60:e00276-21. <https://doi.org/10.1128/jcm.00276-21>.
- [48] Kahlmeter G, Brown DFJ, Goldstein FW, MacGowan AP, Mouton JW, Österlund A, et al. European harmonization of MIC breakpoints for antimicrobial susceptibility testing of bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003;52:145–8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg312>.
- [49] Makarov DA, Ivanova OE, Karabanov SY, Gergel MA, Pomazkova AV. Antimicrobial resistance of commensal *Escherichia coli* from food-producing animals in Russia. *Vet World* 2020;13:2053–61. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.2053-2061>.
- [50] Pantozzi FL, Ibar MP, Nievas VF, Vigo GB, Moredo FA, Giacoboni GI. Wild-type minimal inhibitory concentration distributions in bacteria of animal origin in Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2014;46:34–40. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70045-8](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70045-8).
- [51] Turnidge J, Kahlmeter G, Kronvall G. Statistical characterisation of bacterial wild-type MIC value distributions and the determination of epidemiological cut-off values. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:418–25. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01377.x>.
- [52] Krasucka D, Kowalski CJ. Pharmacokinetic parameters of amoxicillin in pigs and poultry. *Acta Pol Pharm* 2010;67:729–32.
- [53] Huang T-M, Lin TL, Wu CC. Antimicrobial susceptibility and resistance of chicken *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., and *Pasteurella multocida* isolates. *Avian Dis* 2009;53:89–93. <https://doi.org/10.1637/8268-021608-Reg.1>.
- [54] Elviss NC, Williams LK, Jørgensen F, Chisholm SA, Lawson AJ, Swift C, et al. Amoxicillin therapy of poultry flocks: effect upon the selection of amoxicillin-resistant commensal *Campylobacter* spp. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2009;64:702–11. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp277>.
- [55] Bourély C, Cazeau G, Jarrige N, Jouy E, Haenni M, Lupo A, et al. Co-resistance to Amoxicillin and Tetracycline as an Indicator of Multidrug Resistance in *Escherichia coli* Isolates From Animals. *Front Microbiol* 2019;10:2288. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02288>.
- [56] Todd PA, Benfield P. Amoxicillin/Clavulanic Acid. *Drugs* 1990;39:264–307. <https://doi.org/10.2165/00003495-199039020-00008>.
- [57] EMA. Categorisation of antibiotics used in animals promotes responsible use to protect public and animal health. European Medicines Agency 2020. <https://www.ema.europa.eu/en/news/categorisation-antibiotics-used-animals-promotes-responsible-use-protect-public-animal-health> (accessed May 23, 2023).
- [58] Landoni MF, Albarellos G. The use of antimicrobial agents in broiler chickens. *Vet J* 2015;205:21–7. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.04.016>.
- [59] Agunos A, Léger DF, Carson CA, Gow SP, Bosman A, Irwin RJ, et al. Antimicrobial use surveillance in broiler chicken flocks in Canada, 2013–2015. *PLoS One* 2017;12:e0179384. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179384>.
- [60] Hiki M, Kawanishi M, Abo H, Kojima A, Koike R, Hamamoto S, et al. Decreased Resistance to Broad-Spectrum Cephalosporin in *Escherichia coli* from Healthy Broilers at Farms in Japan After Voluntary Withdrawal of Ceftiofur. *Foodborne Pathog Dis* 2015;12:639–43. <https://doi.org/10.1089/fpd.2015.1960>.
- [61] Shigemura H, Matsui M, Sekizuka T, Onozuka D, Noda T, Yamashita A, et al. Decrease in the prevalence of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Salmonella* following cessation of ceftiofur

- use by the Japanese poultry industry. *Int J Food Microbiol* 2018;274:45–51. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.03.011>.
- [62] O'Donnell JN, Lodise TP. New Perspectives on Antimicrobial Agents: Imipenem-Relebactam. *Antimicrob Agents Chemother* n.d.;66:e00256-22. <https://doi.org/10.1128/aac.00256-22>.
- [63] Adebawale O, Makanjuola M, Bankole N, Olasoju M, Alamu A, Kperegbe E, et al. Multi-Drug Resistant *Escherichia coli*, Biosecurity and Anti-Microbial Use in Live Bird Markets, Abeokuta, Nigeria. *Antibiotics (Basel)* 2022;11:253. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020253>.
- [64] Smith JR, Rybak JM, Claeys KC. Imipenem-Cilastatin-Relebactam: A Novel β -Lactam- β -Lactamase Inhibitor Combination for the Treatment of Multidrug-Resistant Gram-Negative Infections. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* 2020;40:343–56. <https://doi.org/10.1002/phar.2378>.
- [65] Poirel L, Stephan R, Perreten V, Nordmann P. The carbapenemase threat in the animal world: The wrong culprit. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2014;69:2007–8. <https://doi.org/10.1093/jac/dku054>.
- [66] Gong L, Chen B, Chen J, Li Y. Protective Effects of Vitamin C against Neomycin-Induced Apoptosis in HEI-OC1 Auditory Cell. *Neural Plast* 2022;2022:1298692. <https://doi.org/10.1155/2022/1298692>.
- [67] Marrett LE, Robb EJ, Frank RK. Efficacy of neomycin sulfate water medication on the control of mortality associated with colibacillosis in growing turkeys. *Poultry Science* 2000;79:12–7. <https://doi.org/10.1093/ps/79.1.12>.
- [68] Kanchugal P S, Selmer M. Structural Recognition of Spectinomycin by Resistance Enzyme ANT(9) from *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2020;64:e00371-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.00371-20>.
- [69] Abu-Basha EA, Gehring R, Albwa'neh SJ. Pharmacokinetics and bioavailability of spectinomycin after i.v., i.m., s.c. and oral administration in broiler chickens. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2007;30:139–44. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2007.00825.x>.
- [70] Goren E, de Jong WA, Doornenbal P. Some pharmacokinetic aspects of four sulphonamides and trimethoprim, and their therapeutic efficacy in experimental *Escherichia coli* infection in poultry. *Veterinary Quarterly* 1984;6:134–40. <https://doi.org/10.1080/01652176.1984.9693927>.
- [71] Khan EA, Ma J, Xiaobin M, Jie Y, Mengyue L, Hong L, et al. Safety evaluation study of lincomycin and spectinomycin hydrochloride intramuscular injection in chickens. *Toxicol Rep* 2022;9:204–9. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.01.012>.
- [72] Bonnetblanc JM. [Doxycycline]. *Ann Dermatol Venereol* 2002;129:874–82.
- [73] Finberg RW, Guharoy R. Basic Principles of Drug Delivery and Dosing. In: Finberg RW, Guharoy R, editors. *Clinical Use of Anti-infective Agents: A Guide on How to Prescribe Drugs Used to Treat Infections*, New York, NY: Springer; 2012, p. 5–14. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1068-3_2.
- [74] del Castillo JRE. Tetracyclines. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, John Wiley & Sons, Ltd; 2013, p. 257–68. <https://doi.org/10.1002/9781118675014.ch15>.
- [75] Cunha BA, Sibley CM, Ristuccia AM. Doxycycline. *Ther Drug Monit* 1982;4:115–35. <https://doi.org/10.1097/00007691-198206000-00001>.
- [76] Hamscher G, Pawelzick HT, Höper H, Nau H. Different behavior of tetracyclines and sulfonamides in sandy soils after repeated fertilization with liquid manure. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2005;24:861–8. <https://doi.org/10.1897/04-182R.1>.
- [77] Lundström SV, Östman M, Bengtsson-Palme J, Rutgersson C, Thoudal M, Sircar T, et al. Minimal selective concentrations of tetracycline in complex aquatic bacterial biofilms. *Science of The Total Environment* 2016;553:587–95. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.103>.
- [78] Jechalke S, Heuer H, Siemens J, Amelung W, Smalla K. Fate and effects of veterinary antibiotics in soil. *Trends in Microbiology* 2014;22:536–45. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.05.005>.
- [79] Yang W, Liu Z, Zhang Y, Yu Y, Shen Y, Xu Y, et al. Florfenicol sustained-release granules: an in vitro-in vivo correlation study in pigs. *BMC Vet Res* 2023;19:81. <https://doi.org/10.1186/s12917-023-03631-2>.
- [80] Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol | *FEMS Microbiology Reviews* | Oxford Academic n.d. <https://academic.oup.com/femsre/article/28/5/519/776258?login=true> (accessed August 12, 2023).
- [81] Mead A, Richez P, Azzariti S, Pelligand L. Pharmacokinetics of Colistin in the Gastrointestinal Tract of Poultry Following Dosing via Drinking Water and Its Bactericidal Impact on Enteric *Escherichia coli*. *Front Vet Sci* 2021;8:698135. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.698135>.
- [82] Apostolakos I, Piccirillo A. A review on the current situation and challenges of colistin resistance in poultry production. *Avian Pathology* 2018;47:546–58. <https://doi.org/10.1080/03079457.2018.1524573>.

- [83] Senapati BC, Vyasam S, Prasad S, Sekhar JC, Angurana SK. Enrofloxacin Poisoning: A Rare Occurrence in Children. *Indian J Pediatr* 2023;90:306–306. <https://doi.org/10.1007/s12098-022-04450-3>.
- [84] Sun W, Qian X, Wang X, Gu J. Residual enrofloxacin in cattle manure increased persistence and dissemination risk of antibiotic resistance genes during anaerobic digestion. *Journal of Environmental Management* 2023;326:116864. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116864>.
- [85] Lees P, Concordet D, Aliabadi FS, Toutain P-L. Drug Selection and Optimization of Dosage Schedules To Minimize Antimicrobial Resistance. *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*, John Wiley & Sons, Ltd; 2005, p. 49–71. <https://doi.org/10.1128/9781555817534.ch5>.
- [86] Toutain PL, Del Castillo JRE, Bousquet-Mélou A. The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Research in Veterinary Science* 2002;73:105–14. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(02\)00039-5](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(02)00039-5).
- [87] McKellar QA, Sanchez Bruni SF, Jones DG. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2004;27:503–14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2004.00603.x>.
- [88] Sárközy G. Quinolones: a class of antimicrobial agents. *Veterinární Medicina* 2001;46:257–74. <https://doi.org/10.17221/7883-VETMED>.
- [89] Strazzulla A, Postorino MC, Purcarea A, Chakvetadze C, de Farcy de Pontfarcy A, Tebano G, et al. Trimetoprim-sulfametoxazole in ventilator-associated pneumonia: a cohort study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2019;38:2163–9. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03656-2>.
- [90] FRANK JF. The toxic effects of coccidiostatic sulphonamides in chickens; miscellaneous observations on nutritional factors, intestinal flora and egg production. *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science* 1947;11:315–23.
- [91] Daft BM, Bickford AA, Hammarlund MA. Experimental and field sulfaquinoxaline toxicosis in Leghorn chickens. *Avian Dis* 1989;33:30–4.
- [92] Aerobic degradation and photolysis of tylosin in water and soil - Hu - 2007 - *Environmental Toxicology and Chemistry* - Wiley Online Library n.d. <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1897/06-197R.1?sid=nlm%3Apubmed> (accessed August 12, 2023).
- [93] Hu D, Coats JR. Laboratory evaluation of mobility and sorption for the veterinary antibiotic, tylosin, in agricultural soils. *J Environ Monit* 2009;11:1634–8. <https://doi.org/10.1039/B900973F>.
- [94] Kleven SH. Control of avian mycoplasma infections in commercial poultry. *Avian Diseases* 2008;52:367–74. <https://doi.org/10.1637/8323-041808-Review.1>.
- [95] Lanckriet A, Timbermont L, De Gussem M, Marien M, Vancraeynest D, Haesebrouck F, et al. The effect of commonly used anticoccidials and antibiotics in a subclinical necrotic enteritis model. *Avian Pathology* 2010;39:63–8. <https://doi.org/10.1080/03079450903505771>.
- [96] Islam KMS, Klein U, Burch DGS. The activity and compatibility of the antibiotic tiamulin with other drugs in poultry medicine—A review. *Poultry Science* 2009;88:2353–9. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00257>.
- [97] Böck A, Turnowsky F, Högenauer G. Tiamulin resistance mutations in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1982;151:1253–60.
- [98] AflQ1-Q2 represses lincomycin biosynthesis via multiple cascades in *Streptomyces lincolnensis* | SpringerLink n.d. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-023-12429-z> (accessed August 12, 2023).
- [99] Spížek J, Řezanka T. Lincomycin, clindamycin and their applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 2004;64:455–64. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1545-7>.
- [100] Moellering RC Jr. Vancomycin: A 50-Year Reassessment. *Clinical Infectious Diseases* 2006;42:S3–4. <https://doi.org/10.1086/491708>.
- [101] Mühlberg E, Umstätter F, Kleist C, Domhan C, Mier W, Uhl P. Renaissance of vancomycin: approaches for breaking antibiotic resistance in multidrug-resistant bacteria. *Can J Microbiol* 2020;66:11–6. <https://doi.org/10.1139/cjm-2019-0309>.
- [102] Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. vol. CLSI standards M07. 11. th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- [103] MIC EUCAST n.d. https://mic.eucast.org/search/?search%5Bmethod%5D=mic&search%5Bantibiotic%5D=-1&search%5Bspecies%5D=261&search%5Bdisk_content%5D=-1&search%5Blimit%5D=50 (accessed August 29, 2023).
- [104] Burch DGS, Sperling D. Amoxicillin—current use in swine medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2018;41:356–68. <https://doi.org/10.1111/jvp.12482>.

- [105] Eid S, Samir AH. Extended-spectrum beta-lactamase and Class 1 integrons in multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from turkeys. *Vet World* 2019;12:1167–74. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1167-1174>.
- [106] Moawad AA, Hotzel H, Hafez HM, Ramadan H, Tomaso H, Braun SD, et al. Occurrence, Phenotypic and Molecular Characteristics of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Healthy Turkeys in Northern Egypt. *Antibiotics (Basel)* 2022;11:1075. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081075>.
- [107] Zhao S, Blickenstaff K, Bodeis-Jones S, Gaines SA, Tong E, McDermott PF. Comparison of the prevalences and antimicrobial resistances of *Escherichia coli* isolates from different retail meats in the United States, 2002 to 2008. *Appl Environ Microbiol* 2012;78:1701–7. <https://doi.org/10.1128/AEM.07522-11>.
- [108] Boulianne M, Arsenault J, Daignault D, Archambault M, Letellier A, Dutil L. Drug use and antimicrobial resistance among *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. isolates from chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada. *Can J Vet Res* 2016;80:49–59.
- [109] Cook A, Reid-Smith R, Irwin R, McEwen SA, Valdivieso-Garcia A, Ribble C. Antimicrobial resistance in *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* isolated from retail turkey meat from southern Ontario, Canada. *J Food Prot* 2009;72:473–81. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.3.473>.
- [110] Tawyabur M, Islam MS, Sobur MA, Hossain MJ, Mahmud MM, Paul S, et al. Isolation and Characterization of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. from Healthy and Diseased Turkeys. *Antibiotics (Basel)* 2020;9:770. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110770>.
- [111] Piccirillo A, Giovanardi D, Dotto G, Grilli G, Montesissa C, Boldrin C, et al. Antimicrobial resistance and class 1 and 2 integrons in *Escherichia coli* from meat turkeys in Northern Italy. *Avian Pathol* 2014;43:396–405. <https://doi.org/10.1080/03079457.2014.943690>.
- [112] Grobbel M, Hammerl JA, Alt K, Irrgang A, Kaesbohrer A, Tenhagen B-A. Comparison of Antimicrobial Resistances in *Escherichia coli* from Conventionally and Organic Farmed Poultry from Germany. *Antibiotics (Basel)* 2022;11:1282. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101282>.
- [113] Shrestha RD, Agunos A, Gow SP, Deckert AE, Varga C. Associations between antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* isolates and antimicrobial use in Canadian turkey flocks. *Front Microbiol* 2022;13:954123. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.954123>.

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani dr. Kerek Ádámnak a segítségéért, figyelmességéért, kitartásáért, a sok tanácsért és hogy lehetővé tette, hogy ez a dolgozat elkészüljön. Köszönöm továbbá a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék vezetőjének, dr. Jerzsele Ákosnak, hogy témámat befogadta és biztosította a megvalósuláshoz szükséges feltételeket.

Külön köszönet illeti dr. Kovács Lászlót, aki a minták gyűjtésében nyújtott nélkülözhetetlen segítséget. Köszönettel tartozom Balogh Katának, Paliczné Kustán Biankának és Pénzes Imre Tamásnének, akik a laboratóriumi munkák előkészületében nyújtottak nélkülözhetetlen segítséget.

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

Témavezetői nyilatkozat

Alulírott **Dr. Kerek Ádám**, mint témavezető nyilatkozom, hogy **Gál Csaba**, ötödik évfolyamos hallgató „*Hazai nagylétszámú pulyka állományokból izolált Escherichia coli baktériumtörzsek ECOFF (Epidemiological cut-off value) értékének meghatározása*” című dolgozatát átolvastam és jóváhagytam, részvételét támogatom az Állatorvostudományi Egyetem 2023. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján. Továbbá nyilatkozom, hogy a feltöltött TDK dolgozat plágiumellenőrzésen sikeresen átesett és az esetlegesen feltárt egyezőség az Egyetemi iránymutatásoknak/szabályoknak megfelel.

Budapest, 2023. október hó 12. nap.



Dr. Kerek Ádám
témavezető