

# **TDK DOLGOZAT**

**Román István László**

**2023**

# ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



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

Készítette:

**Román István László**

5. 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. A fertőző betegségek állat- és közegészségügyi jelentősége.....            | 5  |
| 2.2. Az <i>Escherichia coli</i> okozta fertőzések jelentősége háztartásban..... | 6  |
| 2.3. Az <i>Epidemiological cut-off value</i> (ECOFF).....                       | 8  |
| 2.4. Az <i>Escherichia coli</i> okozta fertőzések kezelése.....                 | 9  |
| 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.....                          | 15 |
| 4.5. Az ECOFF érték meghatározása .....                                         | 18 |
| 5. Eredmények.....                                                              | 19 |
| 6. Következtetések.....                                                         | 27 |
| 7. Összefoglalás .....                                                          | 31 |
| 8. Summary.....                                                                 | 32 |
| 9. Irodalomjegyzék .....                                                        | 33 |
| 10. Köszönetnyilvánítás .....                                                   | 40 |

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

|                |                                                                                    |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| AMR            | Antimikrobiális rezisztencia ( <i>Antimicrobial resistance</i> )                   |
| CLSI           | <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>                                 |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i>                                                            |
| ECVE           | Epidemiológiai töréspont                                                           |
| ECOFF          | <i>Epidemiological cut-off value</i>                                               |
| EUCAST         | <i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>                  |
| ESBL           | Kiterjedt spektrumú $\beta$ -laktamáz ( <i>Extended-spectrum beta-lactamases</i> ) |
| MDR            | Multirezisztens ( <i>Multidrug resistant</i> )                                     |
| MHB            | Müller-Hinton leves ( <i>Müller-Hinton broth</i> )                                 |
| MIC            | Minimális gátló koncentráció ( <i>Minimum inhibitory concentration</i> )           |
| STEC           | Shiga toxint termelő <i>E. coli</i>                                                |
| WHO            | Egészségügyi Világszervezet ( <i>World Health Organization</i> )                   |

## **1. BEVEZETÉS**

A napjainkra globális szinten egyre jelentősebb mértéket felölölő antibiotikum hatóanyagokkal szembeni rezisztenciának a mértéke és annak terjedése mind a humán- és állatgyógyászatban, nélkülözhetetlenné teszi a helyes antibiotikum dózisok meghatározását a terápia során. Ehhez szükséges meghatározni azokat az értékeket, amelyek alapján egy mikroorganizmus érzékenynek vagy rezisztensnek minősül egy adott antibakteriális szerrel szemben. Ezt a célt szolgálja az ún. epidemiológiai küszöbértékek meghatározása, mely az érzékenységi adatok megoszlását klinikai határokhoz kapcsolódó adatokkal összehasonlítva elemzi. Ez lehetővé teszi a rezisztencia folyamatos monitorozását, segít a terápiás döntéshozatalban és hozzájárul a megfelelő szabályozások, valamint irányelvek megalkotásához.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. A fertőző betegségek állat- és közegészségügyi jelentősége

Az antimikrobiális szerek felfedezésük óta emberi életek millióit mentették meg, azonban döntő többségüket (73%) élelmiszertermelő állatokban használják fel [1]. A világ állati eredetű fehérje iránti globális igény a magas jövedelmű országokban a 2000-es évek elején megtorpant, azonban az olyan elmaradottabb területeken, mint Afrika 68%-kal, Ázsia 64%-kal és Dél-Amerika 40%-kal nőtt [2]. Világviszonylatban az állattenyésztés a mezőgazdaság bruttó hazai termékének átlagosan a 37%-át teszi ki [3], a fertőző betegségek közvetlen veszteségeket okoznak, hiszen a megnövekedett mortalitás az állattenyésztés csökkenő termelékenységét vonja maga után; közvetlen veszteségeket okoznak az ellenőrzések költségei, a kereskedelmi kiesések, a csökkent piaci érték és a bizonytalan élelmiszerellátás [4]. A fertőző betegségek között közel háromszáz olyat tartanak számon, melyek zoonotikusak, ezek 60%-át 1940-2004 között minősítették zoonózássá [5]. Az elmúlt évtizedben a zoonózisos betegségek globális gazdasági kárát több mint 220 milliárd dollárra becsülték, melyből 20 milliárd dollár a közvetlen és 200 milliárd dollár közvetett veszteség [6]. A legtöbb fejlődő országban a zoonózis jelentőségét nem ismerik el az állat- és közegészségügy és az *Egy Egészség* kontextusában [7]. Mindemellett a fertőző betegségek zoonotikus eseteinek globális növekedése 1990-2000 között 22%-os, 2000-2010 között 21%-os volt [8].

Az antimikrobiális rezisztencia (AMR) globálisan veszélyt hordoz az állat- és közegészségügyben [9]. Az egyes hatóanyagokra rezisztens fertőzések megnövekedett halálozási kockázatot jelentenek a rezisztenciával nem rendelkező fertőzésekhez képest, és hozzájárulhatnak például a hosszabb kórházi tartózkodáshoz [10]. Az élelmiszertermelő állatok esetén az antimikrobiális szerek használata összefüggésbe hozható az AMR-rel és a rezisztens fertőzések emberekre történő átterülésével, a farmtól az asztalig (*farm-to-fork*): farm, vágóhíd, kiskereskedelem útvonalon keresztül [11]. Ilyen a ceftiofur hatóanyag brojlersirke keltetőkben történő felhasználása, mely összefüggésbe hozható a vele szemben kialakuló rezisztenciával a baromfiágazatban [12]. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) 2017-ben felszólította a tagállamait, hogy csökkentsék az antimikrobiális szerek felhasználását [13]. Ahhoz, hogy az AMR-re globális szinten tudjon a világ reagálni, epidemiológiai adatokra van szükség, ennek következtében a WHO Globális Antimikrobiális Rezisztencia Felügyeleti Rendszere (GLASS) egy harmonizált keretrendszer elfogadását sürgette, ami azonban még nincs teljes összhangban az állatokban

előforduló AMR-rel [14]. Az alacsony és közepes jövedelmű országokban 2000-2018 között az antimikrobiális rezisztenciával érintett vegyületek aránya csirkében 15%-ról 41%-ra nőtt. Az AMR gócpontja egyértelműen Ázsia, ahol a világ brojlercsirkéinek 54%-a található [15]. Az antibiotikum mentes csirkenevelés megoldást jelenthet a rezisztencia terjedésének megfékezésében, azonban az *Escherichia coli*-val (*E. coli*) szennyezett élelmiszerek komoly élelmiszerbiztonsági aggályt jelentenek és gazdasági veszteségeket okoznak a baromfiipar számára [16]. Különösen aggasztó, hogy a csirkék alól kikerülő alomanyag szerves trágyaként hasznosított formájában a multirezisztens *E. coli* törzsek prevalenciája 63-100% közötti [17]. A 2017-ben a WHO által közzétett 12 kiemelt jelentőséggel bíró antibiotikumrezisztens kórokozó között az *E. coli* is szerepel [18].

## **2.2. Az *Escherichia coli* okozta fertőzések jelentősége háziállatokban**

Az *E. coli*-nak az emberi és állati bélmikrobiom összetételében van jelentősége. Általában kommenzalista, azonban néhány törzsük patogén kórokozóként klinikai megbetegedéseket okozhat, általában hasmenéses kórformák, ritkábban szisztémás fertőzés formájában, mint a külön csoportot képező madárpatógén (APEC) törzsek [19]. Különösen aggasztó az állati eredetű élelmiszerekkel történő emberi fertőződés, mely hasmenéses kórképek kialakulásához vezet. Összesen öt patotípusba soroljuk a megbetegedést okozó törzseket, melyek közül a legfontosabbak a shiga toxint termelő *E. coli* (STEC) törzsek, ezeknek az enterohaemorrhagiás törzsek (EHEC) az alsóportját képezik [20]. Az STEC törzsek okozta humán fertőzések szórványosak és egy-egy járványkitöréssel állnak kapcsolatban. Az Európai Unió (EU) tagállamaiban 2015-ben 5901 STEC törzs okozta humán fertőzést erősítettek meg, habár a baromfifélék ezeknek a törzseknek tünetmentes hordozói voltak [21]. Az *E. coli* egy kommenzalista indikátor baktérium, amit az AMR monitorozására használnak fel a közegészségügyben, mint potenciális fenyegetés az élelmiszertermelő állatokból [22,23]. Bár a kommenzalista *E. coli* törzseknek nincs közvetlen klinikai jelentősége, azonban az általuk hordozott rezisztenciagének átadás szempontjából potenciális forrásnak tekinthetők a patogén törzsek számára. Egy 2022-es holland tanulmány szerint brojlercsirkékből származó kommenzalista és klinikai esetekből izolált patogén *E. coli* törzsek rezisztencia profilja nagyon hasonló volt [24]. Az *E. coli* baktérium esetén a leggyakoribb plazmid közvetített rezisztencia gének átadása során béta-laktamázokat, efflux pumpákat, aminoglikozid-foszforilázokat és -hidrolázokat, valamint klóramfenikol-transzacetilázokat kódoló géneket figyeltek meg [25,26]. A tojásból kikelő naposcsibék esetén megfigyelhető igen magas antimikrobiális rezisztencia génhordozás [27]

feltételezhetően a környezetből és a madarak vertikális úton átadott bélmikrobiótájából származik [28]. A horizontális génátvitel elsősorban a gazdaságban és környezetében történő széles körű antimikrobiális rezisztencia terjedéséhez vezet [25], azonban az *E. coli* képes mutációk és horizontális géntranszfer révén is kialakítani rezisztenciát [29].

A madárpatógén *E. coli* szívbelhártyagyulladást, perihepatitist, septicémiát, bélgyulladást, ízületi gyulladást, cellulitist okozhat [30,31], tojótúkok esetén pedig salpingitis révén hozzájárulhat a tojástermelés minőségi és mennyiségi romlásához [32]. Különösen aggasztó, hogy jelentős antimikrobiális rezisztencia gének és virulencia faktorokat kódoló gének rezervoárja, ami különösen komoly veszélyt jelent az extraintestinalis patogén *E. coli* (ExPEC), azon belül is az uropatógén *E. coli* (UPEC) és az újszülöttkori agyhártyagyulladást okozó *E. coli* (NMEC) törzsek esetén [33,34]. Ezen fertőzések magas morbiditása és mortalitása miatt általában *per os* adják az antibiotikumokat a csirkéknek [35], a fejlődő országokban viszont a mai napig profilaktikus kezelés és hozamfokozás céljából is használják őket [36], ami aggodalomra ad okot, hiszen egyre szélesebb körben kezd terjedni a harmadik generációs cefalosporinokkal [37] és a kolisztinnel [38] szembeni rezisztencia is.

Az antimikrobiális szerek használatának aránya a baromfifélék esetén más haszonállatokhoz képest magas, ami növeli a környezet multirezisztens (MDR) baktériumtörzsekkel való terhelését [39]. A világon 2017-ben Kína volt az állatorvosi antibiotikum felhasználás legnagyobb fogyasztója, a világ teljes felhasználásának 45%-val, a regressziós előrejelzés mutatók 2030-ra azt mutatják, hogy ez továbbra is így marad; azonban a magas jövedelmű országok esetén 2015-2017 között jelentős mértékű fogyasztás csökkenés volt megfigyelhető, Magyarországon ez 16,91%-os volt [40]. Különösen fontos az antibiotikumok megfelelő dózisban és ideig, valamint csak indokolt esetben történő alkalmazása, hiszen használatuk bizonyítottan a rezisztens baktériumtörzsek elszaporodásához vezet szelekciós nyomása révén [41]. Továbbá bizonyított, hogy ezek az MDR törzsek az állati termékek fogyasztásával átkerülhetnek az emberre [42], melyek kolonizálhatják az emberek szervezetét és MDR fertőzéseket okozhatnak [43]. Különösen aggasztó a háziállataink körében terjedő kiterjedt spektrumú  $\beta$ -laktamáz (ESBL) termelő *E. coli* törzsek jelenléte. Egy Tanzániában készült felmérés során ezek aránya a háziállatok körében 21,7% volt [44]. Egy másik vizsgálat során a kutatásba bevont brojlercsirkék között *E. coli* esetén 86,3%-ban mutattak ki MDR törzseket és a törzsek 5,3%-a volt ESBL, ugyanez tojótúkok esetén 87,5% és 30,9% volt. Brojlercsirkénél

ciprofloxacinra 94,3%-os, ampicillinre 70,5%-os, meropenemre 3,2%-os, tetraciklinre 87,4%-os, ceftazidimre 18,9%-os, potenciált szulfonamidra 68,9%-os, gentamicinre 23,2%-os rezisztenciát mutattak ki. Tojótúkok esetén ugyanezen hatóanyagokra 89,7%-os, 62,5%-os, 6%-os, 89,7%-os, 43,5%-os, 87,5%-os és 22,3%-os rezisztenciát határoztak meg [45]. Egy spanyol kutatás során 2019-2021 közötti időszakban monitorozták a baromfifélékből izolált *E. coli* törzsek rezisztencia profilját. A brojlercsirkékből származó minták rezisztenciája 99%-os volt penicillinre, 4%-os ceftiofurra, 7%-os neomicinre és kolisztinre. A brojlerpulykák esetén penicillin esetén 94%-os, ceftiofur esetén 5%-os, neomicin esetén 6%-os, enrofloxacin és cefotaxim esetén 8%-os volt a rezisztencia. A tojóhibrideknél tiamulinra 95%-os, penicillinre 96%-os, tilozinra 100%-os, neomicinre 2%-os, cefotaximra 9%-os volt. Tenyészállatoknál tilozinra és penicillinre 98%-os, tiamulinra 94%-os, neomicinre 2%-os, enrofloxacinre 4%-os és cefotaximra 7%-os rezisztenciát találtak [46]. A délkelet-ázsiai régióban történt vizsgálatok csirkefarmokról izolált *E. coli* törzsek esetén ampicillinre 97%-os, ciprofloxacinra 73,3%-os, gentamicinre 42,2%-os, kolisztinre 24,4%-os rezisztenciát mutattak [47,48].

### **2.3. Az *Epidemiological cut-off value* (ECOFF)**

A baktériumok antibiotikumokkal szembeni rezisztenciájának terjedése sürgős intézkedéseket követel maga után. Az Európai Unió antimikrobiális érzékenységi vizsgáló szervezete ezért bevezette azokat a vizsgálatokat, ahol elkülönítik az ún. vad típusú törzseket, melyek eloszlása abban a mikroba populációban van, amik fenotípusos tekintetben érzékeny bizonyos hatóanyagokkal szemben. Az ún. epidemiológiai töréspont (ECV) az a legnagyobb minimális gátló koncentráció a vad típusú törzseknél, ami a vad típusú törzsek minimum 95%-ába beletartozik [49]. Hogyha egy törzset a vad típusba sorolnak, egyben rezisztenciagént sem tartalmazhat az adott hatóanyagokkal szemben. A nem vad típusú izolátumoknak szerzetten vagy mutációval kialakult rezisztenciája van és antimikrobiális rezisztencia gének hordozói lehetnek [50]. Az *epidemiological cut-off value* (ECOFF) meghatározásakor a minimális gátló koncentráció (MIC) értékek hisztogram segítségével történő ábrázolása, ami bimodális megoszlást mutat, két normál eloszlásból fakadó, eltérően súlyozott jelenségből fakadó eloszlás, megegyező szórással, amely eltérő magasságban eredményező csúcsokban látszik [51]. Az ECV és ECOFF fogalom hasonló, annyi különbséggel, hogy az első a *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), a második az *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) alkalmazza [52,53].

Az EUCAST egy globálisan elismert bizottság, amely az antimikrobiális anyagok hatékonyságának vizsgálatával foglalkozik. Ezt a bizottságot az Európai Klinikai Mikrobiológiai és Infektológiai Társaság (ESCMID) alapította, és az Európai Gyógyszerügynökség (EMA) határértékeket meghatározó tanácsadó testületként működik. Elsődleges célja az Európában alkalmazott klinikai határértékek egységesítése volt [54]. Az antimikrobiális érzékenységi vizsgálatnak (AST) alávetett baktériumok három kategóriába sorolhatók a hatóanyagokra való érzékenységük alapján. E három kategóriát hagyományos klinikai szempontok alapján állították fel. Egy baktériumtörzs érzékenysége egy adott hatóanyagra alapozva három kategóriába sorolható: érzékeny, köztes és rezisztens. Azonban ezeknek a kategóriáknak a meghatározása nemzetközileg korábban különbözött. A határértékek egységes meghatározásának hiánya által okozott problémák megoldására az EUCAST új osztályozást hozott létre, amelyhez nyilvánosan elérhető adatbázist és egységes módszertant dolgozott ki a rezisztencia értékek meghatározásához. Bevezették a járványtani határérték fogalmát a minimális gátló koncentráció (MIC) értékek felhasználásával. Ezen határértékek szerint az érzékeny vad típusú törzsek (WT) esetében  $\leq X$  mg/l, míg a rezisztens nem vad típusú törzseknél (non-WT)  $> X$  mg/l értékeket állapítottak meg. A nemzetközi töréspont-meghatározó bizottságok és az EUCAST megállapodtak abban, hogy a klinikai határértékeket egységesen a rezisztencia oldaláról  $R > Y$  mg/l helyett  $R \geq Y$  mg/l formában fejezik ki, amely a terápiás kezelések szempontjából jelentős. Az érzékeny és rezisztens érték közé eső köztes kategória klinikai és terápiás szempontból bizonytalan kimenetellel jár az adott hatóanyag használata esetén [55]. Az EUCAST révén létrehozott módszert Európai országokon túl is használják [56,57]. Az ECOFF kiszámítására rendszeresített ECOFFinder felhasználása ingyenes [58].

A rezisztencia értékek adott faj esetében adott hatóanyagra az országok között és országokon belül is nagy mértékben eltérhetnek. Ezért kiemelten fontos, hogy ismerjük a rezisztencia mértékének regionális megoszlását is [59]. A rezisztencia mértéke regionális, földrajzi különbségei egyértelmű összefüggést mutatnak az antibiotikum használat gyakorlatával. Ezért lokálisan mindenképpen javasolt elemezni a helyzetet és állat- valamint közegészségügyi szempontból releváns információk gyűjtése is indokolt [60].

#### **2.4. Az *Escherichia coli* okozta fertőzések kezelése**

A baromfifélék colibacillosisának kezelésében elsődlegesen választandó szerek a potenciált szulfonamidok, másodlagosan pedig ezt követik a tetraciklinek és aminopenicillinek [61].

Aminoglikozid hatóanyagok és *E. coli* kapcsolatában kevés tanulmány foglalkozik ECOFF-érték meghatározással. Az EUCAST ECOFF ajánlása gentamicin hatóanyag esetén a vad típusú és nem vad típusú izolátumok megkülönböztetésére tejsavtermelő baktériumnál 4-8 µg/ml és 8-128 µg/ml [62], Garcia-Migura és mtsai. *E. coli* esetén 8 µg/ml ECOFF értéket javasoltak [63]. Az ECOFFinder algoritmusával meghatározott ECOFF értékek esetén az EUCAST a 99%-os értéket megbízhatóbbnak ismeri el a 97,5%-os értékhez képest, mivel jobban figyelembe veszi a vad típusú eloszlás felső végén lévő, általában kis mennyiségű izolátumszámot, azonban ha csak a MIC-eloszlást mutató hisztogramot néznénk, akkor ezek az értékek később jelennének meg [64]. Tian és mtsai. baromfiból származó *E. coli* baktériumok ECOFF értékét határozták meg apramicinre, a 97,5%-os ECOFF érték 32 µg/ml, a 99%-os ECOFF érték 64 µg/ml volt [65]. Az apramicinre rezisztens *E. coli* törzsek rezisztencia profilját vizsgálva amoxicillinre 100%-os, neomicinre 87,5%-os, enrofloxacinra 75%-os, doxiciklinre 100%-os, florfenikolra 100%-os rezisztenciát találtak [65]. Lengyelországban 2009 óta rendszeresen vizsgálják az *E. coli* antimikrobiális rezisztencia profilját országos szinten. Az ECOFF érték felett a törzseket nem vad típusúnak és egyben rezisztensnek minősítik. Figyelembe véve a co-rezisztenciát és a keresztrezisztenciát MDR törzsekről akkor beszélünk, amennyiben minimum egy hatóanyaggal szemben legalább három, vagy több hatóanyagcsoportban rezisztenciát mutat a törzs; kiterjedt gyógyszerrezisztenciáról pedig akkor beszélünk, amennyiben legalább hét hatóanyagcsoporttal szemben rezisztens a törzs; és pánrezisztenciáról beszélünk, amennyiben minden hatóanyaggal szemben rezisztens egy törzs [66]. Egy vizsgálat során ampicillin esetén brojlercsirkéknél 2009-2012 között 69,6%-ról 86%-ra nőtt az ampicillin rezisztencia, tojtyúkknál viszont 37%-ról 33,8%-ra csökkent. Cefotaxim esetén brojlerknél 5,3%-ról 13,5%-ra nőtt, tojtyúkknál 1,3%-ról 7,6%-ra nőtt a rezisztencia. Ciprofloxacin esetén szintén növekedés figyelhető meg brojlercsirkéknél 77,2%-ról 81,9%-ra, tojtyúkknál 40,1%-ról 42,7%-ra. Gentamicin esetén brojlercsirkéknél stagnálás (8,2%), tojóknál viszont kismértékű csökkenés figyelhető meg 5,1%-ról 2,5%-ra [67]. Egy Kínában, csirkék légzőszervi fertőzéseiből izolált *E. coli* esetén végzett ECV értékmeghatározás florfenikolra nézve 16 µg/ml értéket állapított meg [50].

A fluorokinolonok közé tartozó második generációs enrofloxacint ívóvízen keresztül alkalmazzák baromfifélék esetén [68–70], széleskörű felhasználásának eredménye az *E. coli* törzsek esetén előforduló magas szintű fluorokinolon rezisztencia [68]. A vele szemben kialakuló rezisztencia lépcsőzetes, elsősorban a DNS-giráz kódoló gének (*gyrA* és *gyrB*)

pontmutációi, másodsorban pedig a DNS tropoizomeráz IV-et kódoló gének (*parC* és *parE*) pontmutációi révén [50,68]. Egy Franciaországban végzett felmérés alapján 2011-2018 között a fluorokinolon kitettség az ország baromfiágazatában 71,5%-kal csökkent, vágóhídi és bélsármintából izolált *E. coli* törzsek esetén, melyek ECOFF értékét határozták meg [71]. Egy 2019-2020-as EFSA jelentés alapján *E. coli* esetén ciprofloxacinnal szemben brojlércsirkékben 60,7%-os, pulykákban 33,5%-os rezisztenciát mutattak ki. Az enrofloxacinnal és marbofloxacinnal szembeni rezisztencia tekintetében pulykák esetén tudtak kimutatni szignifikánsan pozitív korrelációt a felhasználás és a rezisztencia mértéke között [72]. Egy Belgiumban, klinikai esetekből származó APEC törzsek esetén végzett ECOFF vizsgálat eredményei alapján a törzsek 60%-a volt vad típusú, az izolátumok 10%-a pedig rezisztens enrofloxacinra [73]. Egy olasz felmérés szerint csirkékből és pulykákból izolált törzsek esetén enrofloxacinra 38,7%-os rezisztenciát állapítottak meg [74], az EU 27 tagállamában 2018-ban az *E. coli* rezisztencia brojlércsirkékben 64%-os volt. Az EU fluorokinolon felhasználása 2011-2018 között baromfiban átlagosan 54,8%-kal csökkent, Franciaországban ez 71,5%-os csökkenés volt. Az ECOFF értékek alapján ciprofloxacinnal szemben brojlércsirkénél 2009-2018 között szignifikáns növekedést figyeltek meg a kommenzalista *E. coli* törzsek rezisztencia mértékében (30,7%-ról 38,1%-ra nőtt), pulyka esetén pedig a nem vad típusú izolátumok aránya 21,3%-ról (2014) 15,9%-ra (2018) csökkent. Ugyanakkor a klinikai megbetegedést okozó törzsek esetén a rezisztencia mértékének csökkenéséről számoltak be [71]. Oroszország európai részén, az EUCAST ECOFF megállapítása során végzett felmérése alapján a brojlércsirkéből izolált *E. coli* törzsek 33,6%-a rezisztensnek bizonyult kolisztinre, 8,1%-ban cefotaxim, 49,7%-ban ampicillin, 17,2%-ban gentamicin, 85,2%-ban potenciált szulfonamid és 87,9%-ban ciprofloxacinnal szemben állapítottak meg rezisztenciát [75].

A kolisztint az 1950-es évek óta használják az *E. coli* okozta colibacillosis kezelésére baromfifélékben [76]. Bár az emberi Enterobacteriaceae fertőzések esetén hatékonynak bizonyult, szisztémás toxicitása miatt igen hamar lecserélték, azonban napjainkra az igen komoly egészségügyi kockázatot jelentő MDR kórokozók megjelenése ismételten a humán klinikai alkalmazását tette szükségessé, mint utolsó vonalbeli védekezési lehetőség a superbaktériumok ellen [77]. Állategészségügyi felhasználása is azon klinikai esetekre korlátozódik, melyek esetén nincs más alternatív választási lehetőség [78]. Baktericid hatásmóddal rendelkező peptid antibiotikum, mely a Gram-negatív baktériumok külső membránjának lipopoliszacharidjával kölcsönhatásba lépve kiszorítja onnan a kétértékű

$\text{Ca}^{2+}$  és  $\text{Mg}^{2+}$  kationokat, ezáltal rendkívül gyors, detergens-szerű hatást ér el [79,80]. Bár a visszafogott használatának köszönhetően relatív alacsony a vele szembeni rezisztencia, azonban az *E. coliban* megjelent rezisztencia leggyakrabban a lipopoliszacharid réteg módosítása révén következik be [81,82]. A közelmúltig úgy tekintettek rá, hogy a rezisztencia csak kromoszómálisan alakulhat ki ellene, majd 2015-ben világszerte aggodalmat keltett egy transzferábilis plazmid által közvetített rezisztencia gén megjelenése [83]. Majd arra a megállapításra jutottak, hogy ez a gén átadható állat-ember között [84]. Ez a plazmidon kódolttá váló gén a világon a leggyakrabban előforduló, vele szemben rezisztenciát kialakító *mcr-1* gén volt [85], mely már az 1980-as évektől jelen van a csirkepopulációkban [86]. Az első 2015-ös leírást követően a plazmidon hordozott *mcr* génsorozatot (*mcr-1* – *mcr-10*) azóta a világ több, mint 50 országában írták le [87–90]. A rezisztencia állati eredetű szennyvizeken keresztüli környezetbe kerülése és terjedése kiemelt jelentőségű ezen hatóanyagcsoport esetén [91]. Egy 2020-as Németországban vágóhidakon végzett szennyvízminta vizsgálat során a kolisztin rezisztens Enterobacteriaceae baktériumok aránya 40,2% volt, amiből az *E. coli* 52,8%-os rezisztenciát mutatott [76]. Az élelmiszertermelő baromfifélék körében számos tanulmány kimutatta a kolisztin rezisztencia prevalenciájának jelentőségét [92–94]. Eredendően rezisztensek vele szemben a Gram-pozitív baktériumok, a Gram-negatív coccusok, a *Mycoplasma* spp., a *Proteus* spp., a *Serratia* spp. és a *Burkholderia* spp. Szűk spektruma az *E. coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *Acinetobacter baumani* és a *Pseudomonas aeruginosa* baktériumokra terjed ki [95].

A harmadik generációs cefalosporinok esetén egy 2019-2020-as Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) jelentés szerint *E. coli* esetén brojlersírkéknél cefotaximra 0,5%, ceftazidimre 0,4%; míg pulyka esetén 1,4% és 1% volt a rezisztencia [72]. Különösen nagy aggodalomra ad okot, hogy a harmadik generációs cefalosporinokkal és a fluorokinolonokkal szembeni rezisztencia egyre elterjedtebb és az állat-ember közötti zoonotikus átvitel esélye is ezáltal egyre gyakoribb, elsődlegesen konjugált plazmidok által [96]. Az utóbbi évtizedben egyre inkább összefüggésbe hozzák az *E. colit* a kiterjedt spektrumú  $\beta$ -laktamáz (ESBL) és *ampC*-típusú  $\beta$ -laktamáz termelés okozta rezisztenciával [97]. Ezt a rezisztenciát minden állatfajban megfigyelték, azonban brojlersírkéből származó izolátumok esetén szignifikánsan magasabb az előfordulása a többi állatfajhoz képest [98–101]. Számos tanulmány kimutatta, hogy az egészséges brojlersírkék gyomor-bél traktusa ESBL gének, valamint *ampC* típusú gének rezervoárja

lehet, ami potenciálisan részt vesz a terjedésében bélsaruk, az ivóvíz és az alomanyag által [102–104]. A 3. generációs cefalosporinok nem engedélyezettek brojlercsirkék kezelésére, ennek ellenére Belgiumban az *E. coli* törzsek átlagosan 35%-a rezisztens velük szemben [105]. Ezen cefalosporin rezisztens törzsek különösen kórházi húgyúti fertőzések esetekben okoznak gondot [106,107], mely a hatékony antibiotikum választás terápiáját késlelteti és gyakran megnövekedett morbiditást és mortalitást eredményez [106]. Közegészségügyi kockázatot jelent, hogy bizonyítottan átvihető állatról emberre, közvetett módon csirkehús fogyasztásával, közvetlenül pedig felszíni vizekkel vagy csirketrágyával szennyezett zöldségek által [108,109]. Az ESBL gének gyakran mobilis genetikai elemek (MGE), bizonyítottan [110] átkerülhetnek az élelmiszer-eredetű törzsekből az emberi bélrendszer kommenzalista és patogén baktériumaiba [97,111]. Egy Belgiumban, expozíciós kvantitatív valószínűségi modell segítségével végzett tanulmány azt mutatja, hogy az expozíció elsősorban a konyhában történő keresztszennyeződésre vezethető vissza, a modell becslése szerint kb. 1,5% annak a valószínűsége, hogy egy személy brojlercsirke húson keresztül a konyhában 1000 telepformáló (CFU) cefalosporin rezisztens *E. coli* törzsszel találkozzon [112].

Felismerve a rezisztencia folyamatosan súlyosbodó, globális problémáját, 2019-ben az Egészségügyi Minisztérium és a Mezőgazdasági és Erdészeti Minisztérium kidolgozott egy Antimikrobiális Rezisztencia Nemzeti Stratégiai Tervet (NSP-AMR) komoly technikai és pénzügyi támogatás segítségével [113], a WHO, az Egyesült Nemzetek Élelmezési és Mezőgazdasági Szervezete (FAO) és az Állategészségügyi Világszervezet (OIE) közreműködésével, mely összhangban van egy Globális Akciótervvel [114], a FAO jelenlegi AMR 2021-2025-ös cselekvési tervével [115], annak korábbi tervével [116] és az OIE AMR stratégiájával [117]. Bár az EU-ban 2006 óta tilos az antibiotikumok hozamfokozás céljából történő felhasználása, egy az OIE által 2021-ben közzétett állatokban történő antimikrobiális szerek felhasználásáról szóló jelentés 2019-es adatai szerint a vizsgált 160 ország 27%-a még mindig használt antibiotikumot hozamfokozás céljából [118].

### 3. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásom során célul tűztük ki, hogy Magyarországon nagylétszámú háziállatok állományok kommenzalista *E. coli* törzseinek ECOFF értékét meghatározzuk az állat- és közegészségügy szempontjából fontos antibiotikum hatóanyagokra nézve. Ennek folyamata segít a rezisztencia trendek és változások nyomon követésében, ami elengedhetetlen az egészségügyben dolgozók és a kutatók gyors reagálásához a rezisztencia terjedésében. Az ECOFF értékek segítséget nyújtanak a klinikumban dolgozóknak hatékonyabban kiválasztani az egyes bakteriális fertőzések kezelésében a megfelelő hatóanyag használatát. Ezen túlmenően az eredmények fontos alapját képezhetik az antibiotikumokat érintő szabályozási irányelvek kidolgozásában vagy aktualizálásában. Kutatásunk hozzájárul az Egy Egészség tükreben az antibiotikumok hatékonyságának megőrzéséhez a jövő generációi számára.

## **4. ANYAG ÉS MÓDSZER**

### **4.1. A minták eredete**

A minták nagy létszámú magyarországi baromfitelepekről származtak, amelyek gyűjtése 2022-2023 között történt. Az egészséges állatokból vett minták egyedi azonosítóval lettek ellátva, és a nyilvántartásban rögzítettük, hogy melyik szervből (légcső vagy kloáka), melyik településről, megyéből és régióból származtak, valamint az állomány hasznosítási típusát (hús, tojás, tenyészállat), életkorát (növekedő, felnőtt), és az állomány méretét (1-1000, 1001-5000, 5001-50000, 50001-100000, >100001). Emellett kérdőív kitöltésével figyelemmel kísértük a telepek antibiotikum használati gyakorlatát (milyen gyógyszert, hogyan, milyen kórokozó ellen alkalmaztak), az előforduló betegségeket, valamint az antibiotikum érzékenységi vizsgálatokat.

### **4.2. A törzsek izolálása**

Állattartó egységenként 15 légcsőből és 15 kloákából Amies-típusú (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország), pálcával gyűjtöttünk mintákat. Ezt követően *E. coli*-nál ChromoBio® Coliform (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország) szelektíven működő agarra szélesztettünk. A telepeket tripton-szójára oltottuk (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország) és 18-24 óráig tartó 41 °C-os inkubációval a szintenyészeteket Microbank™ rendszerbe (Pro-Lab Diagnostics, Richmond Hill, Kanada) raktuk el.

### **4.3. A hatóanyag törzsoldatok elkészítése**

A felhasznált antibiotikumokból (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) törzsoldatok készültek a CLSI előírását követve [52]. Amoxicillinnél és amoxicillin-klavulánsavnál (2:1 arány, pH 7,2, 0,01 mol/L), imipenemnél (pH 6, 0,1 mol/L) foszfát pufferoldatot alkalmaztunk. A ceftriaxon, doxiciklin, spektinomycin, neomicin, kolisztin, tiamulin, tilozin, linkomicin és vankomicinre oldására ioncserélt vizet alkalmaztunk. A potenciált szulfonamid szulfametoxazol és trimetoprim 20:1 arányát előbbinél meleg vízben kevés 2,5 mol/L NaOH alkalmazásával, utóbbinál 0,05 mol/L HCl alkalmazásával oldottuk ioncserélt vízben. Az enrofloxacin néhány csepp 1 mol/L NaOH segítségével ioncserélt vízben oldottuk. A florfenikolt pár csepp 95% etanol és ioncserélt vízben oldottuk.

### **4.4. A minimális gátló koncentráció meghatározása**

Az AMR fenotípusos megnyilvánulását az egyes baktériumtörzsek MIC meghatározásával elemeztük, a CLSI módszertani útmutatásai alapján, figyelembe véve az ECOFF vizsgálati fejezetében szereplő ajánlásokat [52]. A határértékeket a CLSI és az

EUCAST iránymutatásai szerint állapítottuk meg. Az ECOFF vizsgálatához egy úgynevezett teljes tartományú tesztet hajtottunk végre, 512-0,001 µg/ml közötti kettes alapú hígítási sorozatot készítve.

A törzseket előző nap 3 ml Müller-Hinton levesben (MHB), 18-24 órán át inkubálva 37 °C-os hőmérsékleten készítettük elő. A vizsgálatához 96 lyukú lemezt (VWR International, LLC., Debrecen, Magyarország) alkalmaztunk. A munkalemezek 90 µl MHB-vel (kivéve első oszlop) töltöttük fel (**1. ábra**). Elkészítettük az antibiotikum törzsoldatok kettes alapú hígítását, minden esetben 512 µg/ml koncentrációt kialakítva a hígítási sorhoz. Ebből 180 µl-t mértünk az első oszlopba, elkészítettük a hígítási sort. A 10. oszlop után a pipettaheggyel a felesleggel eldobtuk (**2. ábra**).

**1. lépés: feltöltés**

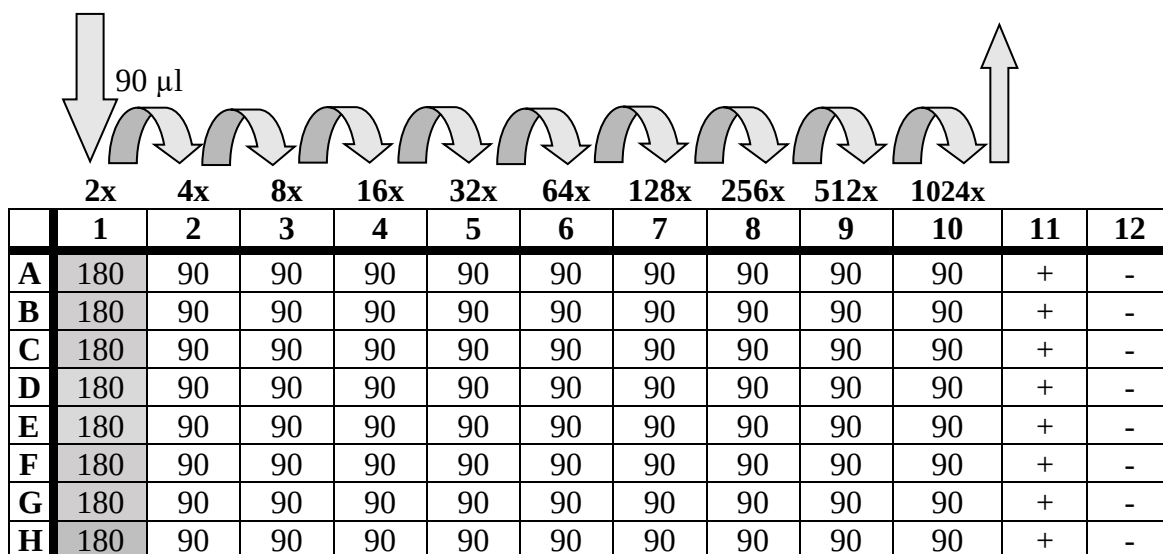
 90 µl

|   | 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

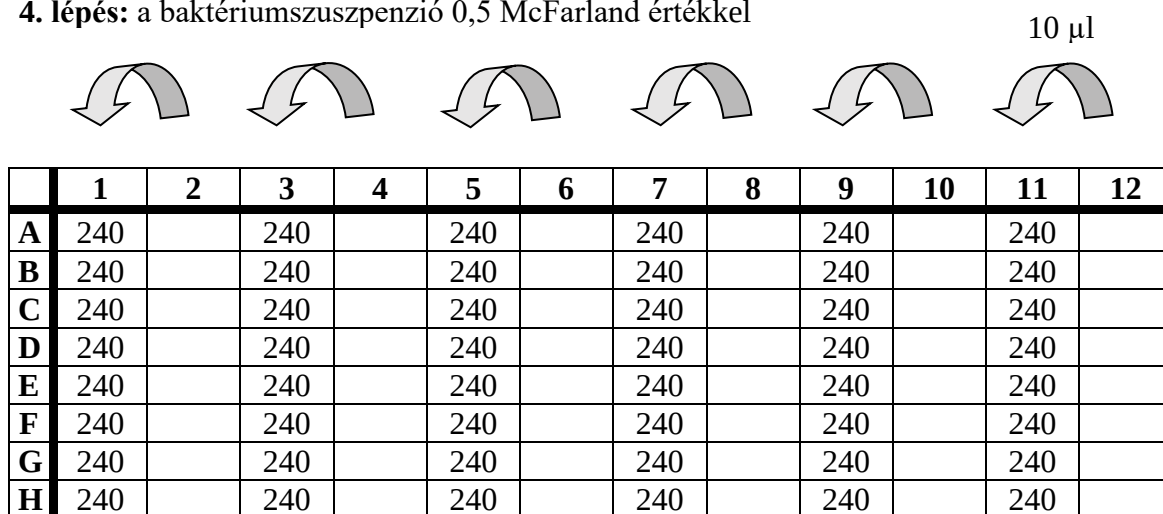
90 µl feleslegben kidob



**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 segédlemezen 0,5 McFarland értékre beállítva előkészítettük a baktériumok ráoltásához szükséges baktériumszuspenziót. Ehhez minden segédlemezt 240 µl MHB-vel töltöttünk fel (**3. ábra**), majd minden lyukba 10 µl alaposan vortexelt baktériumszuspenziót mértünk (4. lépés). Ezt követően a baktériumtörzseket az elkészített munkalemezekre oltottuk, a kettes alapú hígítási sort tartalmazó lemezek 11. oszlopától kezdve haladva visszafelé 10 µl baktériumszuspenziót pipettázva a segédlemezről (5. lépés). A 11. oszlop pozitív kontrollként szolgált (baktériumszuspenziót és levest), a 12. oszlop negatív kontrollként (levest) funkcionált (**4. ábra**).

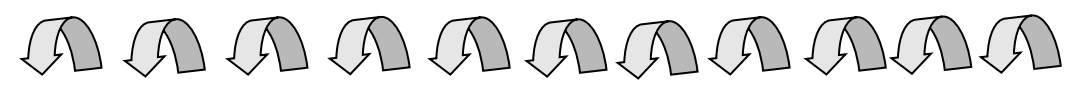
**4. lépés:** a baktériumszuspenzió 0,5 McFarland értékkel



**3. ábra** A baktériumszuspenzió 25x hígításának elkészítése segédlemezen

## 5. lépés: a baktériumszuszpenzió bemérése

10 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   | 90    | +  | -  |
| B | 90 | 90 | 90 | 90  | 90  | 90  | 90   | 90   | 90   | 90    | +  | -  |
| C | 90 | 90 | 90 | 90  | 90  | 90  | 90   | 90   | 90   | 90    | +  | -  |
| D | 90 | 90 | 90 | 90  | 90  | 90  | 90   | 90   | 90   | 90    | +  | -  |
| E | 90 | 90 | 90 | 90  | 90  | 90  | 90   | 90   | 90   | 90    | +  | -  |
| F | 90 | 90 | 90 | 90  | 90  | 90  | 90   | 90   | 90   | 90    | +  | -  |
| G | 90 | 90 | 90 | 90  | 90  | 90  | 90   | 90   | 90   | 90    | +  | -  |
| H | 90 | 90 | 90 | 90  | 90  | 90  | 90   | 90   | 90   | 90    | +  | -  |

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

A 18-24 órás 37 °C-os inkubálást követően szemmel bíráltuk el a MIC értékeket a 11. oszlop pozitív kontrollként alkalmazott részéhez viszonyítva. A – (nem zavarosodik) és ± (nem megítélhető) lyukakat negatívként értékeltük, pozitív eredménynek a + (enyhén zavarosodik), ++ (mértékelt zavarosodik), +++ (jelentősen zavarosodik) jelöléssel láttuk el.

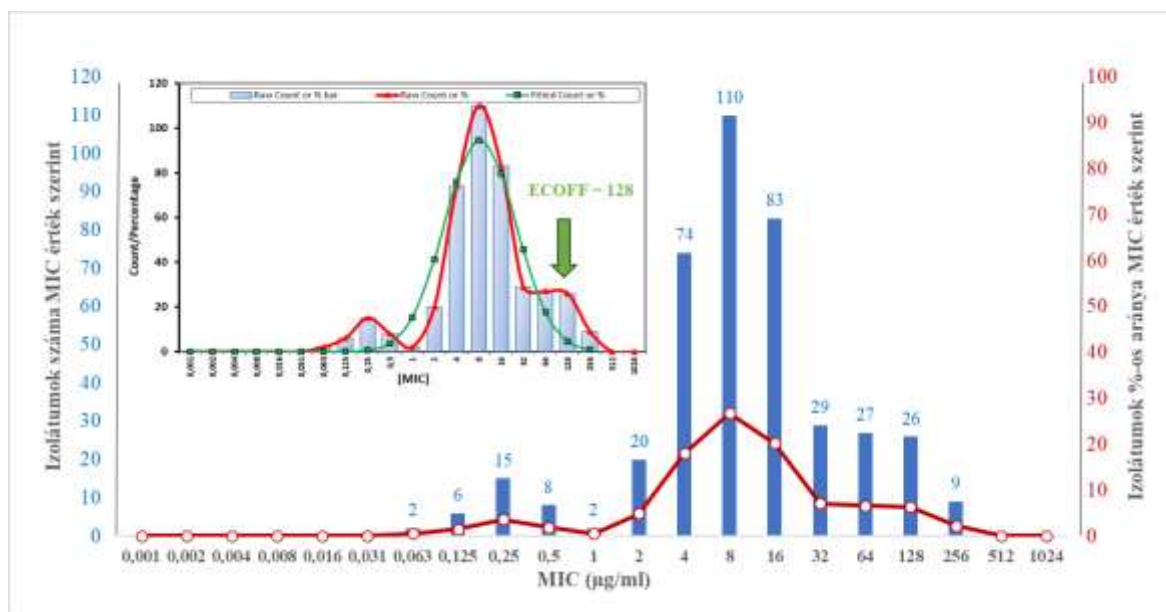
### 4.5. Az ECOFF érték meghatározása

Az ECOFF-ot az ECOFFinder [49] programmal számoltuk ki. A 99%-os küszöbérték volt az alapérték, ami azt a MIC-értéket jelölte, mely a vad típusú populációnak 99%-át fedte le, ezzel növelve a vad típusú populáció specificitását.

Ezáltal a MIC értékekből a hatóanyag koncentrációs tartomány (1024-0,001 µg/ml) gyakorisági táblázatát kaptuk. Megadtuk a baktérium fajnak a nevét, a vizsgált antibiotikum hatóanyagnak a nevét, a vizsgált adatoknak az egynél több eloszlásból származás tényét. A megfigyelések száma is fontos volt. A templateben fel kell tüntetni az ún. Nest értéket, melynek meg kell közelítenie az izolátumok számát, de nem azzal egyenértékű szám lehet. A template Solver funkcióját lefuttatva megkaptuk az értékekhez tartozó legoptimálisabb illeszkedést adó részhalmazokat, a program kiszámolta a reziduumokat, a számok és az illesztett görbék szerint becsült értékek különbségeként. Ott lehet hinni a leválogatott részhalmaznak, ahol a reziduumok a középső nullát jelölő vonal mindkét oldalán szóródtak.

## 5. EREDMÉNYEK

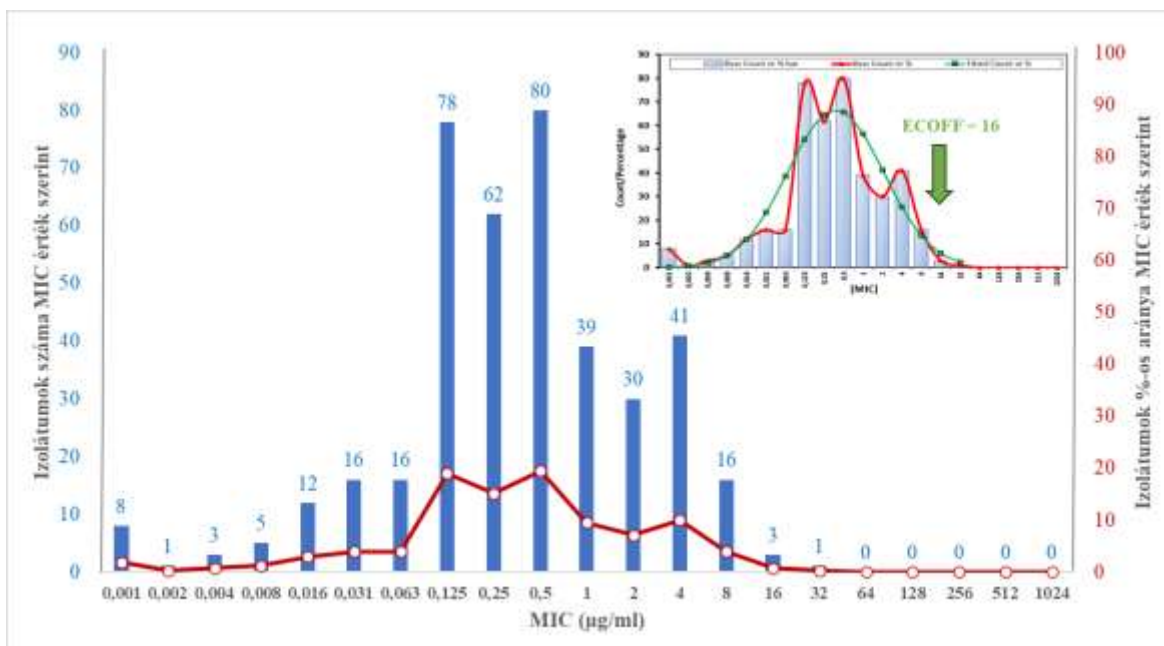
Összesen 411 db házityúk eredetű *E. coli* törzs MIC-értékét határoztuk meg 15-féle hatóanyagra, összességében 6150 MIC-értéket állapítottunk meg. A MIC-értékekből hatóanyagokként gyakorisági táblázatot készítettünk, ami alapján országos szinten amoxicillin-klavulánsav, imipenem, neomicin, spektinomycin, doxiciklin, florfenikol, tiamulin, enrofloxacin és kolisztin hatóanyagokra tudtuk meghatározni az ECOFF-értékeket.



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

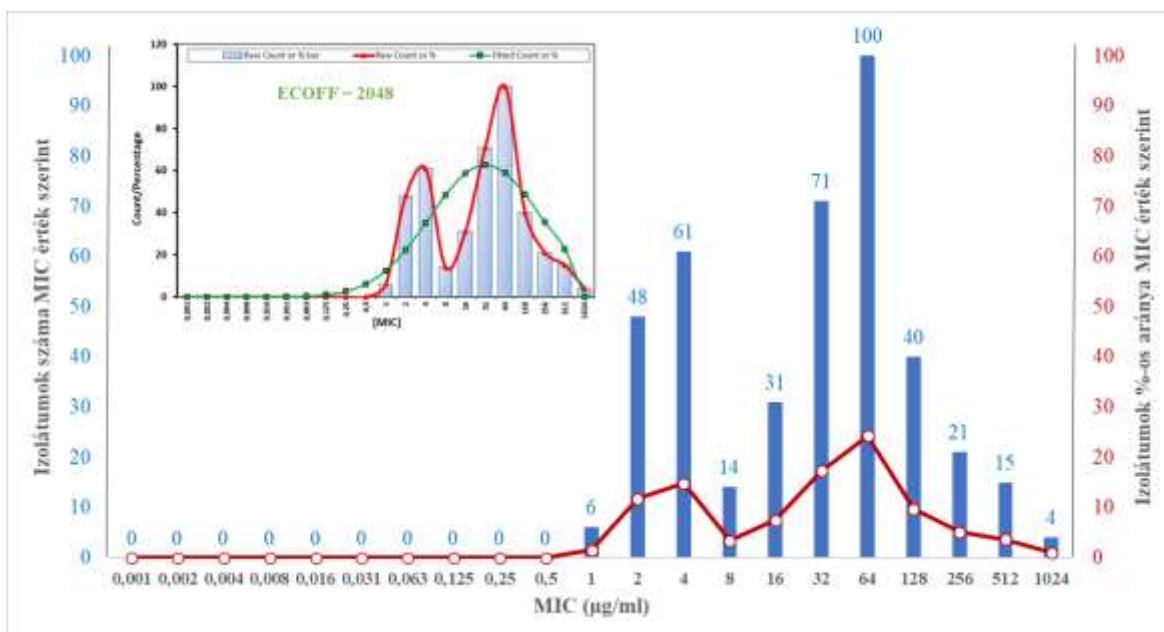
Amoxicillin esetén az adatok eloszlása alapján az ECOFF nem volt meghatározható. Az **5. ábra** foglalja össze az ECOFF-érték meghatározásához felhasznált adatok gyakoriságát amoxicillin-klavulánsav esetén, mely alapján az ECOFF-ja 128 µg/ml, ez magasabb, az EUCAST *E. coli* esetén meghatározott (8 µg/ml).

Ceftriaxon esetén a MIC-értékek megoszlása szintén nem volt alkalmas ECOFF-érték meghatározására országos szinten. A **6. ábrán** látható az imipenem hatóanyag esetén meghatározott ECOFF-ja (16 µg/ml), ez szintén jóval meghaladja az EUCAST töréspontját (0,5 µg/ml). Az *E. coli* baktérium fajra kifejezetten jellemző a rezisztencia fenotípusos kifejeződése, különösen efflux pumpák segítségével. Eredményeink a magas ECOFF-értékek, valamint az eloszlások jellege alapján alátámasztják ezt a tendenciát. Számos esetben tapasztaltunk multirezisztenciát az egyes törzsek MIC-értékei alapján.



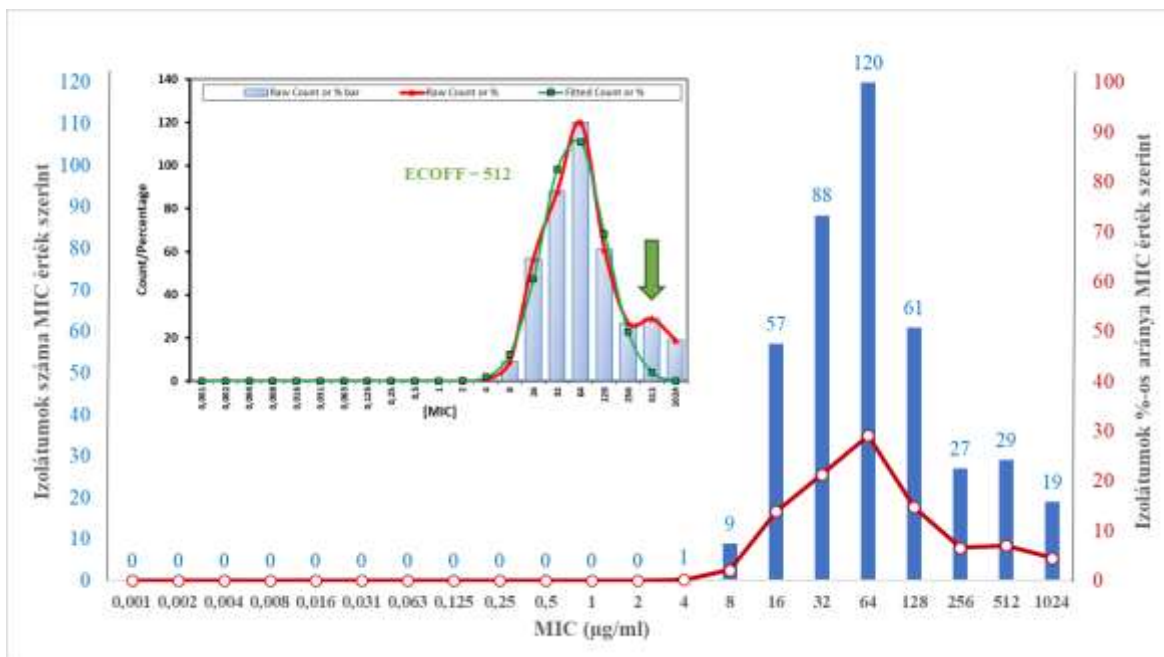
6. ábra Imipenem ECOFF háztípusú eredetű *E. coli*-ra

A 7. ábra esetén láthatjuk, hogy neomicin esetén 2048 µg/ml ECOFF-értéket kaptunk, mely koncentráció használata abszolút nem gyakorlatias, az EUCAST breakpoint értéke 8 µg/ml. A neomicint toxicitása miatt kizárólag gastrointestinális fertőzések kezelésében használjuk baromfiféléknél, *E. coli* esetén viszont gyakran találkozhatunk szisztémás fertőzéssel, aminek a kezelésére nem alkalmas.



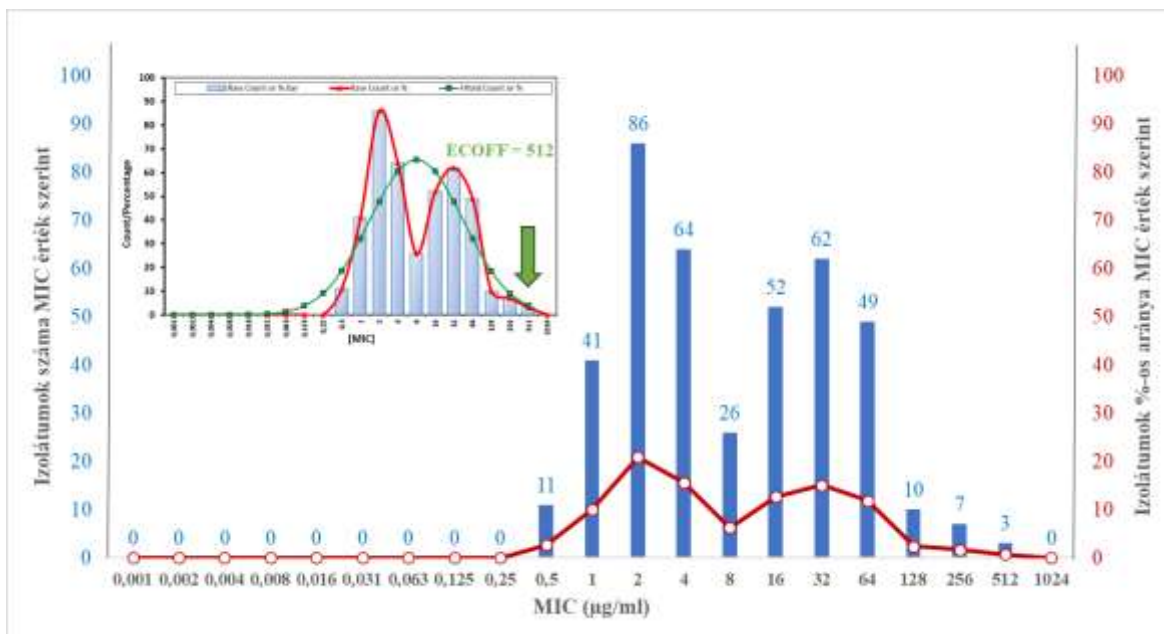
7. ábra Neomicin ECOFF háztípusú eredetű *E. coli*-ra

Spektinomycinra a meghatározott ECOFF-érték 512 µg/ml, amit a **8. ábra** szemléltet, az EUCAST 64 µg/ml koncentrációban határozta meg ebben az esetben a töréspontot.

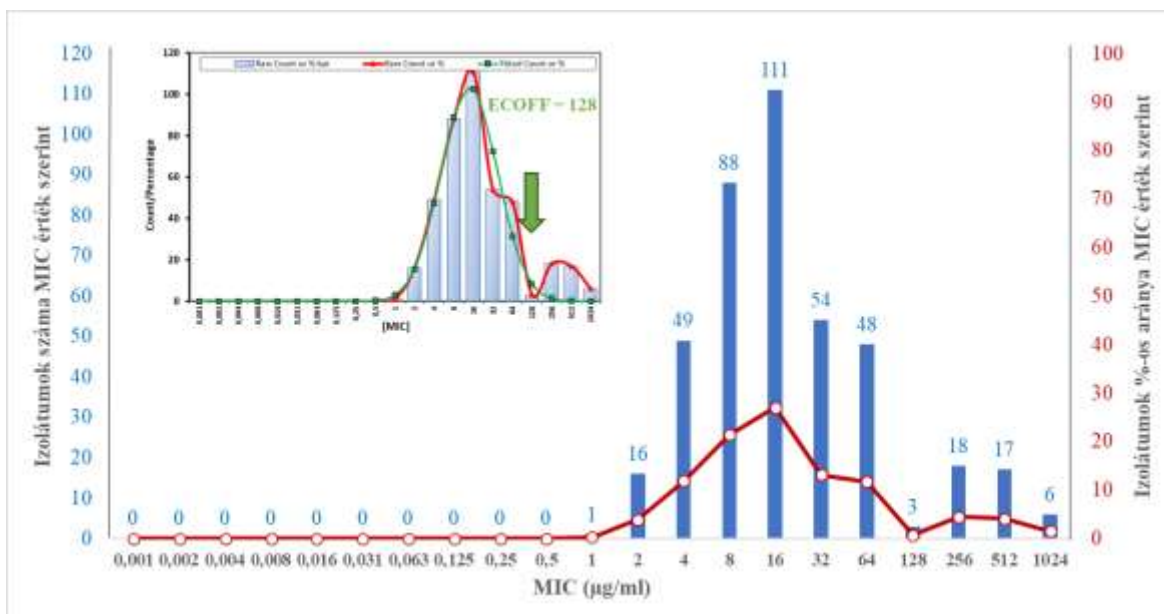


**8. ábra** Spektinomycin ECOFF házityúk eredetű *E. coli*-ra

A **9. ábra** doxiciklin hatóanyag esetén szemlélteti az ECOFF-érték meghatározásához felhasznált MIC-értékek gyakoriságát, az ezek alapján kapott koncentráció 512 µg/ml, ami szintén jóval magasabb az EUCAST révén megállapított töréspontnál (8 µg/ml).

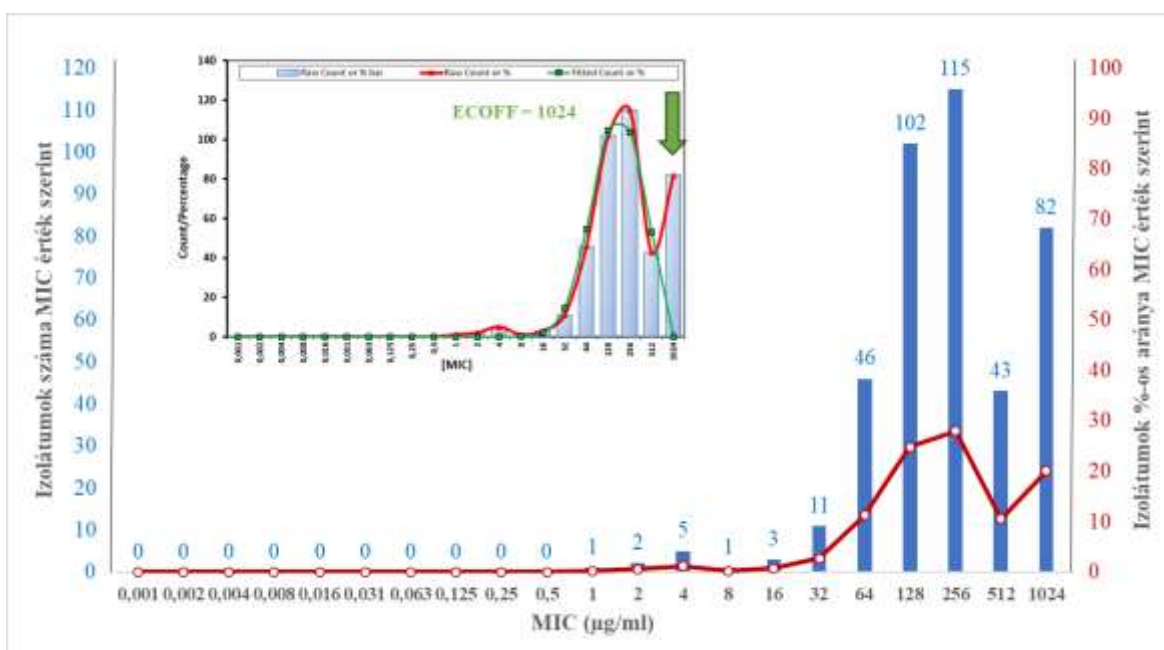


**9. ábra** Doxiciklin ECOFF házityúk eredetű *E. coli*-ra



**10. ábra** Florfenikol ECOFF házityúk eredetű *E. coli*-ra

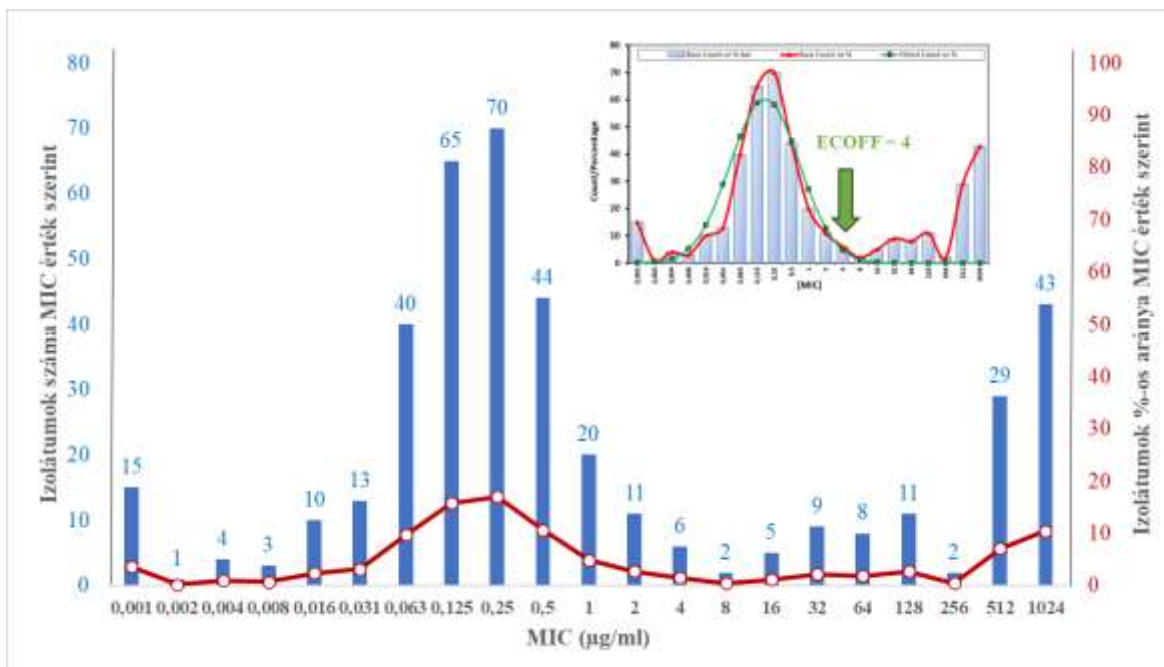
A **10. ábrán** a florfenikol esetén meghatározott 128 µg/ml ECOFF-ját láthatjuk, ez nagyobb érték az EUCAST töréspontjához képest (16 µg/ml).



**11. ábra** Tiamulin ECOFF házityúk eredetű *E. coli*-ra

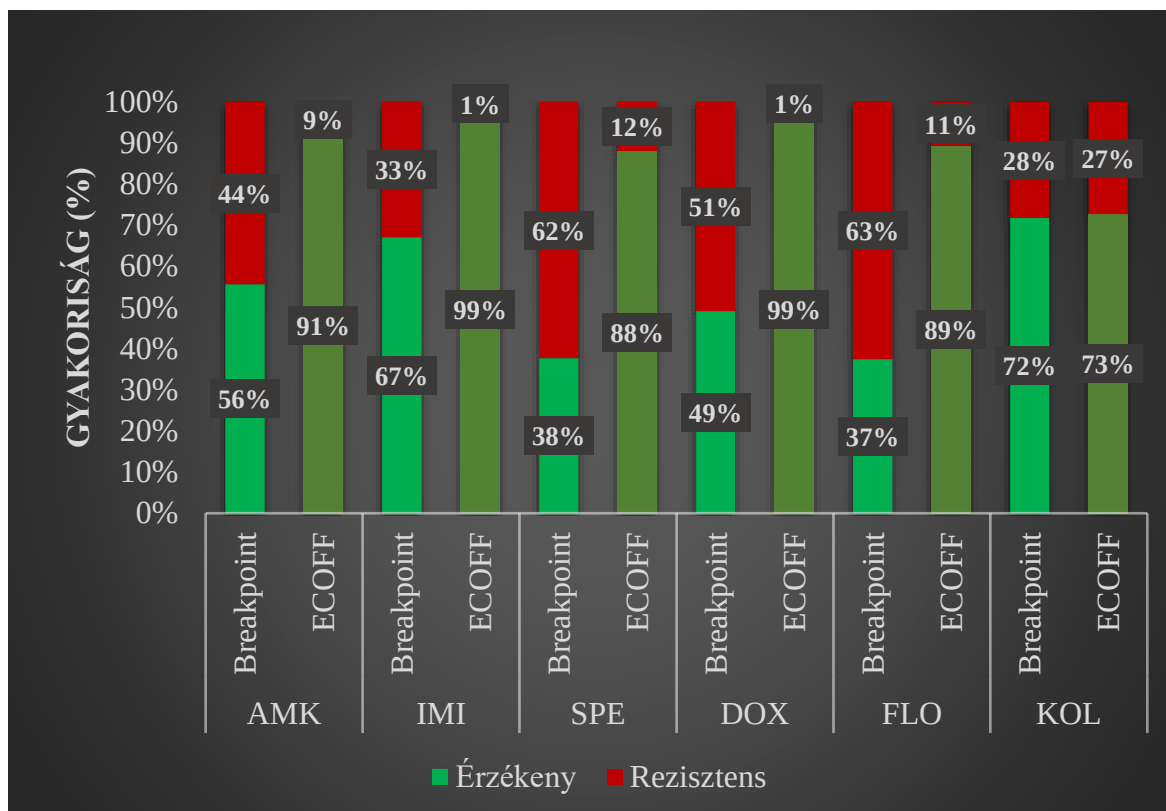
Bár a tiamulint baromfifélék esetén *E. coli* fertőzés kezelésére nem használjuk, így nincs is rá nézve nemzetközileg meghatározott töréspont, adataink alapján 1024 µg/ml ECOFF-értéket határoztunk meg. Azonban azt ki kell emelni, hogy az ilyen koncentrációban történő hatóanyag alkalmazás nem lenne gyakorlatias toxicitási problémák miatt.

Enrofloxacin esetén a MIC-értékek szórása nagy, így az ECOFF-érték meghatározása nem volt lehetséges országos szinten. A fluorokinolonok túlhasználása a baromfiágaztatban mindenképpen felveti a töréspont jövőben történő felülvizsgálatát, azonban addig is az így kapott magas értéket fenntartásokkal kezeljük és további vizsgálatokat végzünk.



**12. ábra** Kolisztin ECOFF házityúk eredetű *E. coli*-ra

Kolisztin hatóanyagra nézve (**12. ábra**) a törzsek jelentős része érzékenységet mutatott (72%), a MIC-érték eloszlási gyakorisága alapján a meghatározott ECOFF-ja (4 µg/ml) is egyel több az EUCAST töréspontnál (2 µg/ml). A rezisztensnek bizonyult törzseknek azonban a további vizsgálata javasolt, elsősorban új genrációs szekvenálás segítségével, hogy feltérképezzük a rezisztencia genetikai hátterét.

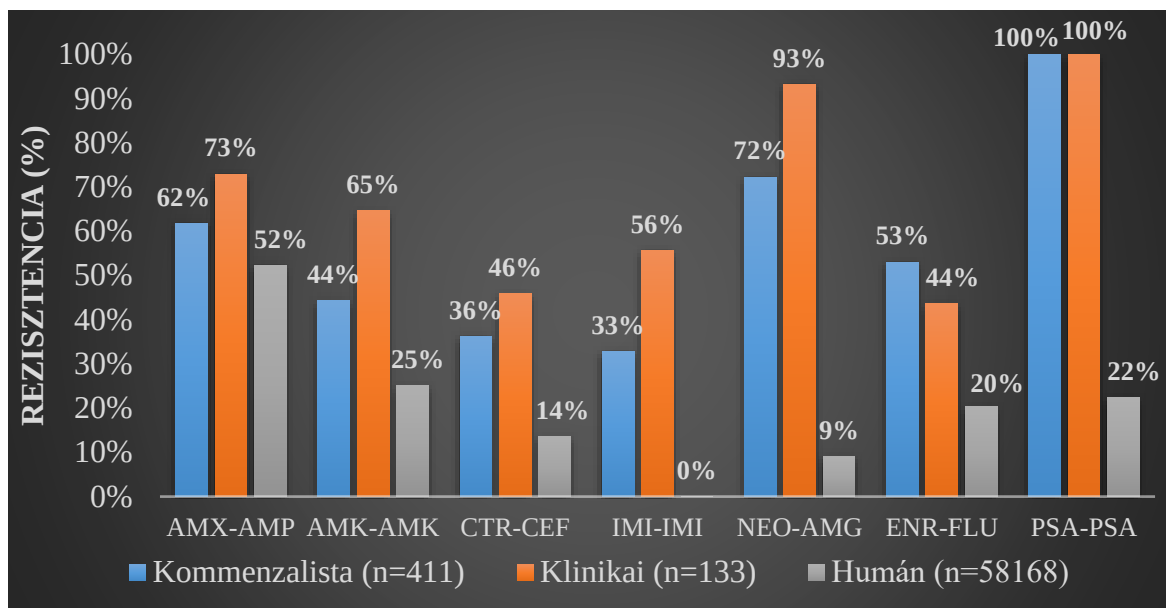


AMK-amoxicillin-klavulánsav; IMI-imipenem; SPE-spektinomycin; DOX-doxiciklin; FLO-florfenikol; KOL-kolisztin

**13. ábra** Meghatározott töréspontok házátyúk *E. coli* izolátumokra (n=411) ECOFF értékekkel összevetve

A **13. ábrán** látható, hogy összehasonlítottuk a nemzetközileg meghatározott EUCAST és CLSI breakpointok alapján kiszámolt érzékenységi és rezisztencia eredményeket hatóanyagokként, a saját adatainkra kapott ECOFF szerint kiszámolt érzékeny és rezisztens törzsek aránya. Kizárólag a kolisztin esetén kaptunk nagyon hasonló értékeket (72%; 73%), a többi esetében a saját töréspontok alkalmazása jóval nagyobb érzékenységi gyakoriságot eredményezett. Ki kell emelni az amoxicillin-klavulánsav esetén kapott 91%-os, az imipenem esetén kapott 99%-os, a spektinomycin esetén kapott 88%-os, a doxiciklin esetén kapott 99%-os és a florfenikol esetén kapott 89%-os érzékenységet.

Eredményeink egyértelműen alátámasztják, hogy megfelelő mennyiségű baktérium törzs esetén érdemes ECOFF-értéket meghatározni és a saját töréspontok alkalmazásával jóval pontosabb képet kapunk az adott baktérium populáció egyes hatóanyagokra való érzékenységről, illetve a rezisztencia mértékéről.



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).

#### 14. ábra Kommenzalista, klinikai és humán baktérium-törzsek antibiotikum érzékenységi profilja

A háziyúk eredetű kommenzalista *E. coli* törzseink, valamint klinikai esetekből izolált háziyúk eredetű törzseink és humán fertőzések esetén bizonyos hatóanyagok esetén lehetőségünk volt összehasonlítani (14. ábra) a rezisztencia országos helyzetét. Az eredmények jól tükrözik, hogy az állatorvoslásban baromfifélék körében régóta használt hatóanyagok esetén, mint a potenciált szulfonamid (100%; 100%) és neomicin (72%; 93%), igen jelentős mértékű a rezisztencia aránya, míg a humán gyógyászatban ezek a hatóanyagok általában megőrizték hatékonyságukat (22%; 9%). A szélesített spektrumú penicillinek csoportjába tartozó amoxicillin (62%; 73%) és ampicillin (52%) esetén mind az állategészségügyben a humánegészségüghöz hasonló a rezisztenciának a mértéke; amoxicillin-klavulánsavnál viszont állatorvosi vonalon kevésbé érzékenyek a törzsek. Ceftriaxon esetén szintén igen magas a rezisztencia állatorvosi vonalon. Imipenem esetén a hatóanyag stabilitási problémái miatt az eredmények nem megbízhatóak, vizsgálatainkat másik, stabilabb karbapenem hatóanyaggal fogjuk megismételni, hiszen a humán mintákhoz hasonlóan a rezisztencia elvárt mértéke nulla százalék körül kellene, hogy mozogjon. A fluorokinolonok túlhasználását az állatgyógyászatban alátámasztják az általunk kapott rezisztencia értékek (53%; 44%).

**1. táblázat** Az egyes hatóanyagokra meghatározott ECOFF-értékek regionális szinten

| Hatóanyag               | Breakpoint (µg/ml) | ECOFF 99% R'd-up   |                      |                      |                            |                        |                            |                         |
|-------------------------|--------------------|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------------|------------------------|----------------------------|-------------------------|
|                         |                    | Dél-Alföld<br>n=45 | Dél-Dunántúl<br>n=74 | Észak-Alföld<br>n=71 | Észak-Magyarország<br>n=69 | Közép-Dunántúl<br>n=68 | Közép-Magyarország<br>n=46 | Nyugat-Dunántúl<br>n=38 |
|                         |                    | µg/ml              |                      |                      |                            |                        |                            |                         |
| amoxicillin             | 8*                 | 16                 | -                    | -                    | -                          | 32                     | 1                          | 16                      |
| amoxicillin-klavulánsav | 8*                 | 16                 | 64                   | 1024                 | 32                         | 32                     | 1                          | 16                      |
| ceftriaxon              | 0,125*             | 0,5                | 0,25                 | 2                    | 0,06                       | 0,125                  | -                          | 0,0005                  |
| imipenem                | 0,5*               | -                  | 4                    | 1                    | 2                          | -                      | 8                          | 256                     |
| neomicin                | 8*                 | 256                | 4096                 | 512                  | 1024                       | 4096                   | -                          | 8                       |
| spektinomycin           | 64*                | 128                | 512                  | 1024                 | 256                        | 128                    | 256                        | 32                      |
| doxiciklin              | 8*                 | 1024               | 1024                 | 1024                 | 2                          | 4                      | 256                        | 4                       |
| florfenikol             | 16*                | 64                 | 64                   | 512                  | 64                         | 256                    | 8                          | 32                      |
| enrofloxacin            | 2**                | 2048               | -                    | 512                  | 0,125                      | -                      | 4096                       | 0,0005                  |
| kolisztin               | 2*                 | 4                  | 1                    | -                    | 1                          | 256                    | -                          | 8                       |
| potenciált szulfonamid  | 0,5*               | -                  | -                    | 32                   | 8                          | 16                     | -                          | -                       |
| vankomicin              | -                  | 512                | -                    | -                    | 512                        | -                      | -                          | 512                     |
| tiamulin                | -                  | 512                | 512                  | -                    | 8192                       | -                      | -                          | 256                     |
| tilozin                 | -                  | -                  | -                    | -                    | -                          | 512                    | -                          | -                       |

\*EUCAST; \*\*CLSI

Az **1. táblázatban** láthatóak összefoglalva a regionális szinten meghatározott ECOFF-értékek, ahol az adatok bimodális eloszlása lehetővé tette ennek meghatározását. A legtöbb esetén az EUCSAT és CLSI töréspontokhoz képest regionálisan is jóval magasabb értékeket kaptunk, azonban volt néhány kivétel. Így a közép-magyarországi régió esetén amoxicillin (1 µg/ml), amoxicillin-klavulánsav (1 µg/ml) és florfenikol (8 µg/ml) esetén is alacsonyabb ECOFF-értékeket határoztunk meg. De kolisztin hatóanyagra nézve a dél-dunántúli (1 µg/ml) és észak-magyarországi (1 µg/ml) régiókban alacsonyabb volt a töréspont, vagy a nyugat-dunántúli régióban ceftriaxonra (0,0005 µg/ml) és enrofloxacinra (0,0005 µg/ml).

Összességében elmondhatjuk, hogy eredményeink alátámasztják, hogy megfelelő mintaelemszám esetén érdemes saját adatinkból ECOFF-érték vizsgálat segítségével saját töréspontokat meghatározni és azok alapján értékelni a rezisztencia helyzetét adott baktérium populációra, megfelelő populációs méret felett ( $n > 100$ ). A regionális szinten meghatározott ECOFF-értékek tájékoztató jellegűek.

## 6. KÖVETKEZTETÉSEK

Kutatásunk során összesen 411 házityúk eredetű *E. coli* törzs izolálását végeztük el, melynek 15-féle állatorvosi, illetve humán egészségügyi jelentőséggel bíró hatóanyaggal szemben határoztuk meg a MIC-értékét, majd az így kapott eredmények alapján kiszámoltuk az ECOFF-értékeket országos és regionális szinten.

Amoxicillin esetén eredményeink országos megoszlása szerint az ECOFF-érték meghatározása nem volt lehetséges, azonban regionális szinten a dél-alföldi és nyugat-dunántúli régióban 16 µg/ml, a közép-dunántúli régióban 32 µg/ml, a közép-magyarországi régióban pedig 1 µg/ml értéket figyeltünk meg, ellenben az EUCAST 8 µg/ml-rel [119]. Baromfi tekintetében nem állt rendelkezésre összehasonlító adat. Burch és mtsai. sertéságazatban végzett felmérése alapján 16 µg/ml ECOFF-ot találtak [120], ami egybevág a nyugat-dunántúli régióban kapott eredményünkkel. Az amoxicillin-klavulánsav bár élelmiszertermelő állatok esetén nincs engedélyezve, humán egészségügyi szempontból az *E. coli* gyakori β-laktamáz termelése miatt fontos vizsgálni azt. ECOFF-ra országosan 128 µg/ml-t kaptunk, ami jóval meghaladja az EUCAST 8 µg/ml értékét [119], Burch és mtsai. vizsgálatában sertés esetén 16 µg/ml ECOFF-értéket mutattak ki [120]. Vizsgálatink során regionális bontásban a dél-alföldi és nyugat-dunántúli régióban találtunk ugyanilyen értéket, a közép-magyarországi régióban ebben az esetben is kedvezőbb volt a helyzet (1 µg/ml). A szintén humán relevanciával rendelkező ceftriaxon esetén a MIC-értékek megoszlása nem tette lehetővé országos szinten az ECOFF-érték meghatározását. Regionálisan azonban a közép-dunántúli régióban eredményünk megegyezik az EUCAST 0,125 µg/ml-os értékével [119], míg a nyugat-dunántúli (0,0005 µg/ml) és az észak-magyarországi (0,06 µg/ml) régiókban sokkal kedvezőbb eredményeket kaptunk. Összehasonlító irodalmi adat nem áll rendelkezésre. A humán egészségügy számára tartalékolt imipenem hatóanyag esetén országosan 16 µg/ml ECOFF-értékünk volt, ellenben az EUCAST 0,5 µg/ml koncentrációjával [119], a legjobb helyzet az észak-alföldi régióban (1 µg/ml) volt. Baromfi esetén összehasonlító adat nem áll rendelkezésre. Neomicin esetén országos szinten 2048 µg/ml ECOFF-értékünk volt, ami jóval magasabb az EUCAST révén meghatározott 8 µg/ml értéknél [119], kizárólag a nyugat-dunántúli régióban tapasztaltunk ez EUCAST értékével megegyező eredményt; összehasonlító szakirodalmi adat nem áll rendelkezésre. Spektinomycin esetén országosan 512 µg/ml ECOFF-értékünk volt, az EUCAST esetén 64 µg/ml volt [119], a nyugat-dunántúli régióban 32 µg/ml értéket kaptunk, összehasonlító szakirodalmi adat nincs. Doxiciklinnél 512 µg/ml ECOFF értéket kaptunk, az EUCAST

ellenben 8 µg/ml értéket mutatott ki [119], észak-magyarországi (2 µg/ml), közép-dunántúli és nyugat-dunántúli régióinkban (4 µg/ml) a helyzet sokkal jobb volt. Mateus-Vargas és mtsai. vadhúsokból izolált *E. coli* esetén 4 µg/ml értéket állapított meg [121]; baromfira vonatkoztatható irodalmi adat nem áll rendelkezésre. Florfenikol esetén országosan 128 µg/ml értékünk volt, az EUCAST 16 µg/ml értéket írt le [119]; amihez képest a közép-magyarországi régióban (8 µg/ml) volt jobb a helyzet. Zhang és mtsai. csirkékkel végzett kutatásuk során 16 µg/ml ECOFF-értéket határoztak meg [50].

A fluorokinonolok közé tartozó enrofloxacin igen gyakran használt hatóanyag a baromfiágazatban, országos felmérésben a MIC-értékek nagy szórása miatt ECOFF-értéket nem tudtunk megállapítani; mivel kizárólag az állatorvoslásban használt hatóanyagról van szó, ebben az esetben a CLSI töréspont áll rendelkezésre, ami 2 µg/ml [52]. Temmemerman és mtsai vizsgálataik során 125 *E. coli* törzset vizsgált és 0,125 µg/ml ECOFF-ben állapította meg azt [73], eredményeink közül az észak-magyarországi ECOFF-érték egybevágott ezzel, a nyugat-dunántúli érték (0,0005 µg/ml) pedig ennél is kedvezőbb volt. A másik kritikusan fontos hatóanyag a kolisztin, mely országos ECOFF-értéke 4 µg/ml, ami nagyon közel áll az EUCAST 2 µg/ml értékéhez [119]. Dél-alföldi eredményünk megegyezett az országos eredménnyel, a dél-dunántúli és észak-magyarországi régiók (1 µg/ml) pedig ennél kedvezőbb értéket mutattak. Mead és mtsai. brojlercsirkékben 2 µg/ml ECOFF-értéket állapítottak meg [122]. Potenciált szulfonamid (szulfametoxazol-trimetoprim) esetén a megoszlások nem biztosították az országos meghatározást, viszont az észak-magyarországi (8 µg/ml), a közép-dunántúli (16 µg/ml) és észak-alföldi (32 µg/ml) régiókban sikerült ECOFF-értékeket meghatároznunk, melyek az EUCAST 0,5 µg/ml értékénél jóval magasabbak voltak [119].

Amennyiben a rezisztencia gyakoriságát összehasonlítjuk a kommenzalista, az állatorvosi klinikai és a humán klinikai esetekkel, akkor megállapíthatjuk, hogy a klinikai izolátumaink a legtöbb esetben nagyobb rezisztencia gyakoriságot mutattak, mint a kommenzalista törzseink, a humán eredmények pedig mindkettőhöz képest kedvezőbben alakultak. Amoxicillin esetén a kommenzalista törzseknél 62%-os, a klinikai törzseknél 73%-ban állapítottunk meg a rezisztencia mértékét, ampicillinre nézve Sarowska és mtsai. 52%-os [123], Suwono és mtsai. kommenzalista törzsekre tojótúkoknál 17,3%-os, brojlercsirkéknél 78,6%-os; klinikai izolátumokra pedig 18,9%-os és 41,9%-os [124], Oguttu és mtsai. brojlercsirkékre 65%-os [125], Miles és mtsai. brojlercsirkékben 20,6%-os [126], Ramadan és mtsai. vágóhídi csirkemintákban 98,4%-os [127], Marazzato és mtsai.

pedig 10%-os [128] rezisztenciát mutattak ki. A humán izolátumaink esetén nagyon hasonló, 52%-os rezisztenciát kaptunk a kommenzalista és klinikai törzsekhez hasonlóan. Amennyiben a mintákat regionálisan összehasonlították a regionális humán adatokkal, akkor ampicillinre Sarowska és mtsai. 43,3%-os [123], Suwono és mtsai. 42,9%-os [124], Oguttu és mtsai. vágóhídi munkásoknál 42%-os [125], Miles és mtsai. 35,4%-os [126], Ramadan és mtsai. 53,1%-os [127], Marazzato és mtsai. pedig 78%-os [128] rezisztenciát állapítottak meg.

Amoxicillin-klavulánsav esetén kommenzalista törzseknél 44%-os, klinikai törzseknél 65%-os értékeket kaptunk, Miles és mtsai. brojlercsirkénél 2,9%-os rezisztenciát állapítottak meg [126], Ramadan és mtsai. vágóhídi csirkénél pedig 3,3%-ot találtak [127]. A humán adatainkkal (25%) összehasonlítva Miles és mtsai. 2,1%-ban [126], Ramadan és mtsai. pedig 6,3%-ban írták le a rezisztenciát [127].

Ceftriaxon esetén a kommenzalista törzseink 36%-os, a klinikai törzseink 46%-os rezisztenciát mutattak. Ezzel szemben Suwono és mtsai. kommenzalista törzseknél cefotaximra tojtyúknál 7,7%-os, brojlercsirkénél 5,5%-os; klinikai törzseknél tojtyúokban 2,1%-os, brojlerekben 7,2%-os [124], Oguttu és mtsai. ceftriaxonra brojleréknél 40%-os [125], Johnson és mtsai. cefalosporinokra 2,6%-os [129], Ramadan és mtsai. ceftriaxonra vágóhídi csirkénél 3,3%-os [127] rezisztenciát állapítottak meg. A humán 14%-os rezisztenciához képest Suwono és mtsai. cefotaximra 7,4%-os [124], Oguttu és mtsai. vágóhídi munkásoknál ceftriaxonra 11%-os [125], Ramadan és mtsai. pedig 0%-os [127] rezisztenciaértéket figyeltek meg.

Imipenem esetén a stabilitási gondok miatt fenntartásokkal kezelendők eredményeink, melyek kommenzalista törzseknél 33%-os, klinikai törzseknél 56%-os rezisztenciát mutattak, ezzel szemben Ramadan és mtsai. vágóhídi csirkék esetén meropenemre 0%-os rezisztenciát mutattak ki [127]. Az összehasonlításra használt humán törzsek mind érzékenyek voltak, hasonló eredményt kaptak Ramadan és mtsai. meropenemre [127].

Neomicin esetén igen magas, kommenzalista törzseknél 72%-os, klinikai izolátumoknál 93%-os rezisztenciát mutattunk ki, a szakirodalomban gentamicinre állnak rendelkezésre adatok, mely alapján Suwono és mtsai. kommenzalista törzsekre tojtyúkoknál 2,5%-os, brojlercsirkénél 3,9%-os; klinikai izolátumoknál tojtyúkokra 3,3%-os, brojlercsirkénél 7,1%-os [124], Ramadan és mtsai. vágóhídi csirkénél 73,8%-os [127], Marazzato és mtsai. pedig 15%-os rezisztenciát mutattak ki [128]. A humán aminoglikozid rezisztencia 9%-os

volt, Suwono és mtsai. 4,9%-os [124], Miles és mtsai. 33,3%-os [126], Ramadan és mtsai. 3,1%-os [127], Marazzato és mtsai. pedig 15%-os rezisztenciaértéket mutattak ki [128].

Fluorokinolonok esetén a klinikai izolátumok rezisztenciája alacsonyabb (44%) volt, mint a kommenzalista törzseké (53%), Sarowska és mtsai. baromfiban ciprofloxacina 13,6%-os [123], Suwono és mtsai. kommenzalista törzsekre tojótúkokban 4,1%-os, brojlércsirkékben 29,6%-os; klinikai izolátumokra tojótúkokban 4%-os, brojlércsirkékre 8,6%-os [124], Sabaté és mtsai. szennyvízből 56%-os [130], Oguttu és mtsai. enrofloxacinra brojlércsirkékben 76%-os [125], Johnson és mtsai. fluorokinolonokra 4,9%-os [129], Miles és mtsai. brojlércsirkékben enrofloxacinra 29,4%-os, ciprofloxacina 8,8%-os [126], Ramadan és mtsai. vágóhídi csirkékben 77%-os [127], ellenben Marazzato és mtsai. 8%-os [128] rezisztenciát mutattak ki. Az általunk leírt humán rezisztencia fluorokinolonokra 20%-os volt, Sarowska és mtsai. 34,1%-os [123], Johnson és mtsai. 22,2%-os [129]; Suwono és mtsai. ciprofloxacina 15,3%-os [124], Sabaté és mtsai. fluorokinolonokra 20%-os [130], Oguttu és mtsai. enrofloxacinra 18%-os [125], Miles és mtsai. enrofloxacinra és ciprofloxacina is 10,4%-os [126], Ramadan és mtsai. ciprofloxacina 6,3%-os [127], Marazzato és mtsai. viszont 40%-os [128] rezisztenciát mutattak ki.

A potenciált szulfonamiddal (szulfametoxazol-trimetoprim) szemben állatorvosi vonalon 100%-os rezisztenciát tapasztaltunk, ellenben Sarowska és mtsai. baromfiban 22,7%-os [123], viszont Johnson és mtsai. 8,9%-os [129], de Ramadan és mtsai. 63,9%-os [128] rezisztenciát írtak le. A humán törzseknél kimutatott rezisztencia mértéke 22%-os volt, amin nagyon hasonlóan alakult Sarowska és mtsai. 30%-os [123], Johnson és mtsai. 26,7%-os [129], Ramadan és mtsai. 25%-os [127] kimutatott rezisztencia értékeihez.

Sebastian és mtsai. baromfitelek és az adott régióból származó húgyúti fertőzést okozó humán minták rezisztenciamintázatát összehasonlítva statisztikai módszerekkel, szignifikáns hasonlóságot mutattak ki amikacin ( $p=0,089$ ), amoxicillin ( $p=0,098$ ), ampicillin ( $p=0,250$ ), és ofloxacin ( $p=0,089$ ) hatóanyagok esetén. Meropenem esetén 21%, gentamicin esetén 48%, amikacin esetén 62%, ofloxacin esetén 62%, ceftriaxon esetén 75%, amoxicillin esetén 70% és ampicillin esetén 85% volt a rezisztencia [131].

Összességében elmondhatjuk, hogy az állati eredetű minták jóval nagyobb mértékű rezisztenciát mutatnak a humán adatokhoz képest. A vizsgált baktérium populációkra érdemes saját ECOFF-értékeket meghatározni és a rezisztencia mértékét ezek alapján értékelni, amennyiben megfelelő mennyiségű és megoszlású adat áll a rendelkezésre.

## 7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az antimikrobiális rezisztencia a 21. század vezető globális problémájává nőtte ki magát. Az állategészségügyben kiemelt jelentőséggel bír a vezető antibiotikum felhasználással rendelkező baromfiágazat. A nozokomiális fertőzések során megfigyelt állat- és közegészségügy közötti kapcsolat szerint minden ötödik eset visszavezethető a nem kellő körültekintéssel történő állategészségügyi antibiotikum felhasználásra. Kutatásunk során célul tűztük ki, hogy Magyarország hét régiójában reprezentatív módon gyűjtött nagylétszámú háziállatok telepekről száj-garat üregi és kloaka tamponmintákból izolált kommenzalista *Escherichia coli* törzsek minimális gátló koncentráció (MIC) értékét határozzuk meg, az ezek kezelésében és közegészségügyi szempontból fontos hatóanyagokra nézve. Ezt követően eredményeink felhasználásával ún. *Epidemiological cut-off value* (ECOFF) értékeket állapítottunk meg országos és regionális szinten.

Összesen 411 háziállatok eredetű törzset vizsgáltunk 15-féle hatóanyagra nézve, amelynek során 6150 MIC-érték felhasználásával országosan amoxicillin-klavulánsav, imipenem, neomicin, spektinomycin, doxiciklin, florfenikol, tiamulin, enrofloxacin és kolisztin hatóanyagok ECOFF értékét határoztuk meg sikeresen. A kommenzalista törzsek rezisztencia értékeit összehasonlítottuk a klinikai esetekből gyűjtött (n=133) törzsek eredményeivel és a humán egészségügyből származó adatokkal (n=58 168). Eredményeink alapján amoxicillin-klavulánsav (128 µg/ml), imipenem (16 µg/ml), neomicin (2024 µg/ml), spektinomycin (512 µg/ml), doxiciklin (512 µg/ml), florfenikol (128 µg/ml), tiamulin (1024 µg/ml) és enrofloxacin (128 µg/ml) esetén országos szinten igen nagy ECOFF értékeket állapítottunk meg. Egyedül a kolisztin esetén kaptunk (4 µg/ml) nagyon hasonló eredményt az *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) eredményeihez (2 µg/ml). A kommenzalista törzsek nagyon hasonló mértékű rezisztencia profilt mutattak az állati eredetű klinikai mintákkal összehasonlítva; a humán adatok esetén viszont csak az amoxicillin esetében kaptunk hasonló eredményeket, a többi hatóanyagnál a humán minták érzékenyebbek bizonyultak. Vizsgálatunk során a meghatározott ECOFF értékek töréspontként történő felhasználása esetén a vizsgált baktérium populáció jóval nagyobb érzékenységet mutatott az egyes hatóanyagokra nézve.

Eredményeink alátámasztják az ECOFF vizsgálatok létjogosultságát, hiszen jelenleg háziállatok esetén a *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) által kizárólag enrofloxacinra van megállapított breakpoint érték *Escherichia coli* fajra nézve.

## 8. SUMMARY

Antimicrobial resistance has emerged as the leading global problem of the 21st century. The poultry sector, a leading user of antibiotics, is of particular importance in animal health. The link between animal and public health observed in nosocomial infections suggests that one in five cases can be traced back to the use of antibiotics in veterinary medicine with insufficient care. In our study, we aimed to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) values of commensal *Escherichia coli* strains isolated from oral cavity and cloacal swab samples from large domestic chicken colonies representative of seven regions of Hungary for the active substances of therapeutic and public health importance. We then used our results to establish so-called Epidemiological cut-off values (ECOFF) at national and regional level.

A total of 411 strains of domestic fowl origin were tested for 15 different active substances, using 6150 MIC values to successfully determine the ECOFF of amoxicillin-clavulanic acid, imipenem, neomycin, spectinomycin, doxycycline, florfenicol, tiamulin, enrofloxacin and colistin at national level. The resistance values of the commensal strains were compared with the results of strains collected from clinical cases (n=133) and with data from human health (n=58 168). Our results showed very high ECOFF values for amoxicillin-clavulanic acid (128 µg/ml), imipenem (16 µg/ml), neomycin (2024 µg/ml), spectinomycin (512 µg/ml), doxycycline (512 µg/ml), florfenicol (128 µg/ml), tiamulin (1024 µg/ml) and enrofloxacin (128 µg/ml) at the national level. Only for colistin (4 µg/ml) were the results very similar to those of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (2 µg/ml). The commensal strains showed very similar resistance profiles compared to the animal clinical samples; however, for the human data, only amoxicillin showed similar results, with the human samples being more sensitive to the other drugs. In our study, when using the defined ECOFF values as breakpoints, the bacterial population tested showed a much higher sensitivity to each of the active substances.

Our results support the justification for ECOFF testing, as currently there is a breakpoint value for *Escherichia coli* species for domestic fowl established by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) for enrofloxacin only.

## 9. IRODALOMJEGYZÉK

- [1] Van Boeckel TP, Glennon EE, Chen D, Gilbert M, Robinson TP, Grenfell BT, et al. Reducing antimicrobial use in food animals. *Science* 2017;357:1350–2. <https://doi.org/10.1126/science.aao1495>.
- [2] FAOSTAT n.d. <https://www.fao.org/faostat/en/#home> (accessed June 14, 2023).
- [3] Alexandratos N, Bruinsma J, editors. *World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision*. 2012. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.288998>.
- [4] Dehove A, Commault J, Petitclerc M, Teissier M, Macé J. Economic analysis and costing of animal health: a literature review of methods and importance. *Rev Sci Tech* 2012;31:605–17, 591–604. <https://doi.org/10.20506/rst.31.2.2146>.
- [5] İnci A, Doğanay M, Özdarendeli A, Düzlü Ö, Yıldırım A. Overview of Zoonotic Diseases in Turkey: The One Health Concept and Future Threats. *Türkiye Parazitol Derg* 2018;42:39–80. <https://doi.org/10.5152/tpd.2018.5701>.
- [6] Bank W. *People, Pathogens and Our Planet : The Economics of One Health* 2012.
- [7] Narrod C, Zinsstag J, Tiongco M. A One Health Framework for Estimating the Economic Costs of Zoonotic Diseases on Society. *EcoHealth* 2012;9:150–62. <https://doi.org/10.1007/s10393-012-0747-9>.
- [8] Smith KF, Goldberg M, Rosenthal S, Carlson L, Chen J, Chen C, et al. Global rise in human infectious disease outbreaks. *Journal of The Royal Society Interface* 2014;11:20140950. <https://doi.org/10.1098/rsif.2014.0950>.
- [9] Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet* 2022;399:629–55. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0).
- [10] MacKinnon MC, Sargeant JM, Pearl DL, Reid-Smith RJ, Carson CA, Parmley EJ, et al. Evaluation of the health and healthcare system burden due to antimicrobial-resistant *Escherichia coli* infections in humans: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrob Resist Infect Control* 2020;9:200. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00863-x>.
- [11] McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiol Spectr* 2018;6. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>.
- [12] Dutil L, Irwin R, Finley R, Ng LK, Avery B, Boerlin P, et al. Ceftiofur resistance in *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from chicken meat and humans, Canada. *Emerg Infect Dis* 2010;16:48–54. <https://doi.org/10.3201/eid1601.090729>.
- [13] Tang KL, Caffrey NP, Nóbrega DB, Cork SC, Ronksley PE, Barkema HW, et al. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Planetary Health* 2017;1:e316–27. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(17\)30141-9](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(17)30141-9).
- [14] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. *EFSA J* 2018;16:e05182. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5182>.
- [15] Van Boeckel TP, Pires J, Silvester R, Zhao C, Song J, Criscuolo NG, et al. Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries. *Science* 2019;365:eaaw1944. <https://doi.org/10.1126/science.aaw1944>.
- [16] Fancher CA, Zhang L, Kiess AS, Adhikari PA, Dinh TTN, Sukumaran AT. Avian Pathogenic *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens*: Challenges in No Antibiotics Ever Broiler Production and Potential Solutions. *Microorganisms* 2020;8:1533. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101533>.
- [17] Kyakuwair M, Olupot G, Amoding A, Nkedi-Kizza P, Basamba TA. How Safe is Chicken Litter for Land Application as an Organic Fertilizer? A Review. *Int J Environ Res Public Health* 2019;16:3521. <https://doi.org/10.3390/ijerph16193521>.
- [18] Asokan GV, Ramadhan T, Ahmed E, Sanad H. WHO Global Priority Pathogens List: A Bibliometric Analysis of Medline-PubMed for Knowledge Mobilization to Infection Prevention and Control Practices in Bahrain. *Oman Med J* 2019;34:184–93. <https://doi.org/10.5001/omj.2019.37>.
- [19] Newell DG, La Ragione RM. Enterohaemorrhagic and other Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): Where are we now regarding diagnostics and control strategies? *Transbound Emerg Dis* 2018;65 Suppl 1:49–71. <https://doi.org/10.1111/tbed.12789>.
- [20] Karmali MA. Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1989;2:15–38. <https://doi.org/10.1128/CMR.2.1.15>.
- [21] Authority EFS, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal* 2016;14:e04634. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4634>.

- [22] Hesp A, Veldman K, van der Goot J, Mevius D, van Schaik G. Monitoring antimicrobial resistance trends in commensal *Escherichia coli* from livestock, the Netherlands, 1998 to 2016. *Euro Surveill* 2019;24:1800438. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.25.1800438>.
- [23] Dorado-García A, Mevius DJ, Jacobs JJH, Van Geijlswijk IM, Mouton JW, Wagenaar JA, et al. Quantitative assessment of antimicrobial resistance in livestock during the course of a nationwide antimicrobial use reduction in the Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2016;71:3607–19. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw308>.
- [24] 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. *Prev Vet Med* 2022;204:105663. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105663>.
- [25] Dame-Korevaar A, Fischer EAJ, van der Goot J, Stegeman A, Mevius D. Transmission routes of ESBL/pAmpC producing bacteria in the broiler production pyramid, a literature review. *Prev Vet Med* 2019;162:136–50. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.12.002>.
- [26] Pandey N, Cascella M. Beta-Lactam Antibiotics. StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
- [27] Braykov NP, Eisenberg JNS, Grossman M, Zhang L, Vasco K, Cevallos W, et al. Antibiotic Resistance in Animal and Environmental Samples Associated with Small-Scale Poultry Farming in Northwestern Ecuador. *MSphere* 2016;1:e00021-15. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00021-15>.
- [28] Osman KM, Kappell AD, Elhadidy M, ElMougy F, El-Ghany WAA, Orabi A, et al. Poultry hatcheries as potential reservoirs for antimicrobial-resistant *Escherichia coli*: A risk to public health and food safety. *Sci Rep* 2018;8:5859. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23962-7>.
- [29] Levy S, Islam MS, Sobur MA, Talukder M, Rahman MB, Khan MFR, et al. Molecular Detection of Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) for the First Time in Layer Farms in Bangladesh and Their Antibiotic Resistance Patterns. *Microorganisms* 2020;8:1021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071021>.
- [30] Gao J, Duan X, Li X, Cao H, Wang Y, Zheng SJ. Emerging of a highly pathogenic and multi-drug resistant strain of *Escherichia coli* causing an outbreak of colibacillosis in chickens. *Infect Genet Evol* 2018;65:392–8. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.08.026>.
- [31] Schouler C, Schaeffer B, Brée A, Mora A, Dahbi G, Biet F, et al. Diagnostic strategy for identifying avian pathogenic *Escherichia coli* based on four patterns of virulence genes. *Journal of Clinical Microbiology* 2012;50:1673–8. <https://doi.org/10.1128/JCM.05057-11>.
- [32] Jordan FTW, Williams NJ, Wattret A, Jones T. Observations on salpingitis, peritonitis and salpingoperitonitis in a layer breeder flock. *Veterinary Record* 2005;157:573–7. <https://doi.org/10.1136/vr.157.19.573>.
- [33] Ewers C, Li G, Wilking H, Kießling S, Alt K, Antão E-M, et al. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: How closely related are they? *International Journal of Medical Microbiology* 2007;297:163–76. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.01.003>.
- [34] Pitout JDD. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: An update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 2012;10:1165–76. <https://doi.org/10.1586/eri.12.110>.
- [35] Dheilly A, Le Devendec L, Mourand G, Jouy E, Kempf I. Antimicrobial resistance selection in avian pathogenic *E. coli* during treatment. *Vet Microbiol* 2013;166:655–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.06.013>.
- [36] Chattopadhyay MK. Use of antibiotics as feed additives: a burning question. *Frontiers in Microbiology* 2014;5.
- [37] Yang H, Chen S, White DG, Zhao S, McDermott P, Walker R, et al. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolates from diseased chickens and swine in China. *J Clin Microbiol* 2004;42:3483–9. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.8.3483-3489.2004>.
- [38] Bialvaei AZ, Samadi Kafil H. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin* 2015;31:707–21. <https://doi.org/10.1185/03007995.2015.1018989>.
- [39] 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>.
- [40] Tiseo K, Huber L, Gilbert M, Robinson TP, Van Boeckel TP. Global Trends in Antimicrobial Use in Food Animals from 2017 to 2030. *Antibiotics (Basel)* 2020;9:918. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9120918>.
- [41] Kolár M, Urbánek K, Látal T. Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance. *Int J Antimicrob Agents* 2001;17:357–63. [https://doi.org/10.1016/s0924-8579\(01\)00317-x](https://doi.org/10.1016/s0924-8579(01)00317-x).
- [42] Marshall BM, Levy SB. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clin Microbiol Rev* 2011;24:718–33. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-11>.

- [43] Doidge C, West H, Kaler J. Antimicrobial Resistance Patterns of *Escherichia coli* Isolated from Sheep and Beef Farms in England and Wales: A Comparison of Disk Diffusion Interpretation Methods. *Antibiotics* (Basel) 2021;10:453. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040453>.
- [44] Seni J, Falgenhauer L, Simeo N, Mirambo MM, Imirzalioglu C, Matee M, et al. Multiple ESBL-Producing *Escherichia coli* Sequence Types Carrying Quinolone and Aminoglycoside Resistance Genes Circulating in Companion and Domestic Farm Animals in Mwanza, Tanzania, Harbor Commonly Occurring Plasmids. *Front Microbiol* 2016;7:142. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00142>.
- [45] Mtemisika CI, Nyawale H, Benju RJ, Genchwere JM, Silago V, Mushi MF, et al. Epidemiological Cut-Off Values and Multidrug Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Domesticated Poultry and Pigs Reared in Mwanza, Tanzania: A Cross-Section Study. *Animals* (Basel) 2022;12:835. <https://doi.org/10.3390/ani12070835>.
- [46] Sevilla-Navarro S, Catalá-Gregori P, Torres-Boncompagni J, Orenga MT, Garcia-Llorens J, Cortés V. Antimicrobial Resistance Trends of *Escherichia coli* Isolates: A Three-Year Prospective Study of Poultry Production in Spain. *Antibiotics* (Basel) 2022;11:1064. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081064>.
- [47] Nguyen NT, Nguyen HM, Nguyen CV, Nguyen TV, Nguyen MT, Thai HQ, et al. Use of Colistin and Other Critical Antimicrobials on Pig and Chicken Farms in Southern Vietnam and Its Association with Resistance in Commensal *Escherichia coli* Bacteria. *Appl Environ Microbiol* 2016;82:3727–35. <https://doi.org/10.1128/AEM.00337-16>.
- [48] Trongjit S, Angkititrakul S, Tuttle RE, Pongseeree J, Padungtod P, Chuanchuen R. Prevalence and antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* isolated from broiler chickens, pigs and meat products in Thailand-Cambodia border provinces. *Microbiol Immunol* 2017;61:23–33. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12462>.
- [49] 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>.
- [50] 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>.
- [51] Bimodal Distribution - an overview | ScienceDirect Topics n.d. <https://www.sciencedirect.com/topics/mathematics/bimodal-distribution> (accessed June 11, 2023).
- [52] 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.
- [53] EUCAST: MIC and zone distributions and ECOFFs n.d. [https://www.eucast.org/mic\\_distributions\\_and\\_ecoffs/](https://www.eucast.org/mic_distributions_and_ecoffs/) (accessed May 1, 2022).
- [54] 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>.
- [55] 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>.
- [56] 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>.
- [57] 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).
- [58] 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>.
- [59] Högberg LD, Magiorakos A-P, Heuer OE, Monnet DL. Antimicrobial resistance surveillance in Europe: regional pooling of national data from a small number of sites can be misleading. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014;80:90. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.03.015>.
- [60] Niero G, Bortolaia V, Vanni M, Intorre L, Guardabassi L, Piccirillo A. High diversity of genes and plasmids encoding resistance to third-generation cephalosporins and quinolones in clinical *Escherichia coli* from commercial poultry flocks in Italy. *Vet Microbiol* 2018;216:93–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.02.012>.

- [61] Ulrich L, Antonia R, Timothy S. C, Luca G, Lars B. J, Hilde K. Guidelines for Antimicrobial Use in Poultry - Guide to Antimicrobial Use in Animals - Wiley Online Library. Oxford, UK: Blackwell Publishing; 2008.
- [62] Klare I, Konstabel C, Werner G, Huys G, Vankerckhoven V, Kahlmeter G, et al. Antimicrobial susceptibilities of *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Lactococcus* human isolates and cultures intended for probiotic or nutritional use. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2007;59:900–12. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm035>.
- [63] Garcia-Migura L, Sunde M, Karlsmose S, Veldman K, Schroeter A, Guerra B, et al. Establishing streptomycin epidemiological cut-off values for *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Microb Drug Resist* 2012;18:88–93. <https://doi.org/10.1089/mdr.2011.0064>.
- [64] Maurer FP, Pohle P, Kernbach M, Sievert D, Hillemann D, Rupp J, et al. Differential drug susceptibility patterns of *Mycobacterium chimaera* and other members of the *Mycobacterium avium*-intracellulare complex. *Clinical Microbiology and Infection* 2019;25:379.e1-379.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.06.010>.
- [65] Tian E, Muhammad I, Hu W, Wu Z, Li R, Lu X, et al. Tentative epidemiologic cut-off value and resistant characteristic detection of apramycin against *Escherichia coli* from chickens. *FEMS Microbiol Lett* 2019;366:fnz196. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz196>.
- [66] 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>.
- [67] Wasyl D, Hoszowski A, Zając M, Szulowski K. Antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* isolated from animals at slaughter. *Front Microbiol* 2013;4:221. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00221>.
- [68] Li Q, Bi X, Diao Y, Deng X. Mutant-prevention concentrations of enrofloxacin for *Escherichia coli* isolates from chickens. *Am J Vet Res* 2007;68:812–5. <https://doi.org/10.2460/ajvr.68.8.812>.
- [69] Persoons D, Dewulf J, Smet A, Herman L, Heyndrickx M, Martel A, et al. Antimicrobial use in Belgian broiler production. *Preventive Veterinary Medicine* 2012;105:320–5. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.02.020>.
- [70] Joosten P, Sarrazin S, Van Gompel L, Luiken REC, Mevius DJ, Wagenaar JA, et al. Quantitative and qualitative analysis of antimicrobial usage at farm and flock level on 181 broiler farms in nine European countries. *J Antimicrob Chemother* 2019;74:798–806. <https://doi.org/10.1093/jac/dky498>.
- [71] Perrin-Guyomard A, Jouy E, Urban D, Chauvin C, Granier SA, Mourand G, et al. Decrease in fluoroquinolone use in French poultry and pig production and changes in resistance among *E. coli* and *Campylobacter*. *Vet Microbiol* 2020;243:108637. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108637>.
- [72] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2019-2020. *EFSA J* 2022;20:e07209. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7209>.
- [73] Temmerman R, Garmyn A, Antonissen G, Vanantwerpen G, Vanrobaeys M, Haesebrouck F, et al. Evaluation of Fluoroquinolone Resistance in Clinical Avian Pathogenic *Escherichia coli* Isolates from Flanders (Belgium). *Antibiotics (Basel)* 2020;9:800. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110800>.
- [74] Vanni M, Meucci V, Tognetti R, Cagnardi P, Montesissa C, Piccirillo A, et al. Fluoroquinolone resistance and molecular characterization of *gyrA* and *parC* quinolone resistance-determining regions in *Escherichia coli* isolated from poultry. *Poult Sci* 2014;93:856–63. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03627>.
- [75] 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>.
- [76] Savin M, Bierbaum G, Blau K, Parcina M, Sib E, Smalla K, et al. Colistin-Resistant Enterobacteriaceae Isolated From Process Waters and Wastewater From German Poultry and Pig Slaughterhouses. *Front Microbiol* 2020;11:575391. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.575391>.
- [77] Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes | *Clinical Microbiology Reviews* n.d. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00064-16> (accessed June 11, 2023).
- [78] Nation RL, Li J. Colistin in the 21st century. *Curr Opin Infect Dis* 2009;22:535–43. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e328332e672>.
- [79] Hancock RE. Peptide antibiotics. *Lancet* 1997;349:418–22. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)80051-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)80051-7).

- [80] Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis* 2005;40:1333–41. <https://doi.org/10.1086/429323>.
- [81] Breazeale SD, Ribeiro AA, McClerren AL, Raetz CRH. A formyltransferase required for polymyxin resistance in *Escherichia coli* and the modification of lipid A with 4-Amino-4-deoxy-L-arabinose. Identification and function of UDP-4-deoxy-4-formamido-L-arabinose. *J Biol Chem* 2005;280:14154–67. <https://doi.org/10.1074/jbc.M414265200>.
- [82] Lacour S, Bechet E, Cozzone AJ, Mijakovic I, Grangeasse C. Tyrosine phosphorylation of the UDP-glucose dehydrogenase of *Escherichia coli* is at the crossroads of colanic acid synthesis and polymyxin resistance. *PLoS One* 2008;3:e3053. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003053>.
- [83] Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases* 2016;16:161–8. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7).
- [84] Emerging plasmid-encoded colistin resistance: the animal world as the culprit? | *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* | Oxford Academic n.d. <https://academic.oup.com/jac/article/71/8/2326/2237821?login=true> (accessed June 11, 2023).
- [85] Elbediwi M, Li Y, Paudyal N, Pan H, Li X, Xie S, et al. Global Burden of Colistin-Resistant Bacteria: Mobilized Colistin Resistance Genes Study (1980-2018). *Microorganisms* 2019;7:461. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7100461>.
- [86] Shen Z, Wang Y, Shen Y, Shen J, Wu C. Early emergence of mcr-1 in *Escherichia coli* from food-producing animals. *The Lancet Infectious Diseases* 2016;16:293. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00061-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00061-X).
- [87] Ling Z, Yin W, Shen Z, Wang Y, Shen J, Walsh TR. Epidemiology of mobile colistin resistance genes mcr-1 to mcr-9. *J Antimicrob Chemother* 2020;75:3087–95. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa205>.
- [88] Yang X, Peng K, Zhang Y, Liu L, Li R. Characterization of a Novel mcr-8.2-Bearing Plasmid in ST395 *Klebsiella pneumoniae* of Chicken Origin. *Infect Drug Resist* 2020;13:1781–4. <https://doi.org/10.2147/IDR.S256544>.
- [89] Pan Y, Fang Y, Song X, Lyu N, Chen L, Feng Y, et al. Co-occurrence of mcr-9, extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) and AmpC genes in a conjugative IncHI2A plasmid from a multidrug-resistant clinical isolate of *Salmonella diarizonae*. *J Infect* 2021;82:84–123. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.11.008>.
- [90] Xu T, Zhang C, Ji Y, Song J, Liu Y, Guo Y, et al. Identification of mcr-10 carried by self-transmissible plasmids and chromosome in *Enterobacter roggenkampii* strains isolated from hospital sewage water. *Environmental Pollution* 2021;268:115706. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115706>.
- [91] Hembach N, Schmid F, Alexander J, Hiller C, Rogall ET, Schwartz T. Occurrence of the mcr-1 Colistin Resistance Gene and other Clinically Relevant Antibiotic Resistance Genes in Microbial Populations at Different Municipal Wastewater Treatment Plants in Germany. *Front Microbiol* 2017;8:1282. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01282>.
- [92] Kempf I, Jouy E, Chauvin C. Colistin use and colistin resistance in bacteria from animals. *Int J Antimicrob Agents* 2016;48:598–606. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.09.016>.
- [93] Jeannot K, Bolard A, Plésiat P. Resistance to polymyxins in Gram-negative organisms. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2017;49:526–35. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.11.029>.
- [94] Webb HE, Angulo FJ, Granier SA, Scott HM, Loneragan GH. Illustrative examples of probable transfer of resistance determinants from food animals to humans: Streptothricins, glycopeptides, and colistin 2017. <https://doi.org/10.12688/f1000research.12777.1>.
- [95] Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clinical Microbiology Reviews* 2017;30:557–96. <https://doi.org/10.1128/cmr.00064-16>.
- [96] Carattoli A. Plasmids and the spread of resistance. *International Journal of Medical Microbiology* 2013;303:298–304. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.001>.
- [97] Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Herman L, et al. Broad-spectrum  $\beta$ -lactamases among Enterobacteriaceae of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. *FEMS Microbiology Reviews* 2010;34:295–316. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00198.x>.
- [98] Bortolaia V, Guardabassi L, Trevisani M, Bisgaard M, Venturi L, Bojesen AM. High diversity of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Escherichia coli* isolates from Italian broiler flocks. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010;54:1623–6. <https://doi.org/10.1128/AAC.01361-09>.
- [99] Diarrassouba F, Diarra MS, Bach S, Delaquis P, Pritchard J, Topp E, et al. Antibiotic Resistance and Virulence Genes in Commensal *Escherichia coli* and *Salmonella* Isolates from Commercial Broiler

- Chicken Farms†. *Journal of Food Protection* 2007;70:1316–27. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.6.1316>.
- [100] Kojima A, Asai T, Ishihara K, Morioka A, Akimoto K, Sugimoto Y, et al. National Monitoring for Antimicrobial Resistance among Indicator Bacteria Isolated from Food-Producing Animals in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* 2009;71:1301–8. <https://doi.org/10.1292/jvms.001301>.
  - [101] Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Catry B, et al. Diversity of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and class C  $\beta$ -lactamases among cloacal *Escherichia coli* isolates in Belgian broiler farms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008;52:1238–43. <https://doi.org/10.1128/AAC.01285-07>.
  - [102] Gazal LE de S, Medeiros LP, Dibo M, Nishio EK, Koga VL, Gonçalves BC, et al. Detection of ESBL/AmpC-Producing and Fosfomycin-Resistant *Escherichia coli* From Different Sources in Poultry Production in Southern Brazil. *Front Microbiol* 2020;11:604544. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.604544>.
  - [103] Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Catry B, et al. Diversity of extended-spectrum beta-lactamases and class C beta-lactamases among cloacal *Escherichia coli* Isolates in Belgian broiler farms. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:1238–43. <https://doi.org/10.1128/AAC.01285-07>.
  - [104] Laube H, Friese A, von Salviati C, Guerra B, Rösler U. Transmission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from broiler chicken farms to surrounding areas. *Vet Microbiol* 2014;172:519–27. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.06.008>.
  - [105] Persoons D, Dewulf J, Smet A, Herman L, Heyndrickx M, Martel A, et al. Prevalence and Persistence of Antimicrobial Resistance in Broiler Indicator Bacteria. *Microbial Drug Resistance* 2010;16:67–74. <https://doi.org/10.1089/mdr.2009.0062>.
  - [106] Pitout JDD. Infections with Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *Drugs* 2010;70:313–33. <https://doi.org/10.2165/11533040-000000000-00000>.
  - [107] Rodriguez-Villalobos H, Bogaerts P, Berhin C, Bauraing C, Deplano A, Montesinos I, et al. Trends in production of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases among Enterobacteriaceae of clinical interest: results of a nationwide survey in Belgian hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2011;66:37–47. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq388>.
  - [108] van den Bogaard AE, Stobberingh EE. Antibiotic Usage in Animals. *Drugs* 1999;58:589–607. <https://doi.org/10.2165/00003495-199958040-00002>.
  - [109] Blake DP, Hillman K, Fenlon DR, Low JC. Transfer of antibiotic resistance between commensal and pathogenic members of the Enterobacteriaceae under ileal conditions. *Journal of Applied Microbiology* 2003;95:428–36. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01988.x>.
  - [110] Leverstein-van Hall MA, Dierikx CM, Stuart JC, Voets GM, van den Munckhof MP, van Essen-Zandbergen A, et al. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clin Microbiol Infect* 2011;17:873–80. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03497.x>.
  - [111] Thomson KS, Smith Moland E. Version 2000: the new  $\beta$ -lactamases of Gram-negative bacteria at the dawn of the new millennium. *Microbes and Infection* 2000;2:1225–35. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)01276-4](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)01276-4).
  - [112] Depoorter P, Persoons D, Uyttendaele M, Butaye P, De Zutter L, Dierick K, et al. Assessment of human exposure to 3rd generation cephalosporin resistant *E. coli* (CREC) through consumption of broiler meat in Belgium. *Int J Food Microbiol* 2012;159:30–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.07.026>.
  - [113] Munkholm L, Rubin O, Bækkeskov E, Humboldt-Dachroeden S. Attention to the Tripartite's one health measures in national action plans on antimicrobial resistance. *J Public Health Policy* 2021;42:236–48. <https://doi.org/10.1057/s41271-021-00277-y>.
  - [114] Munkholm L, Rubin O. The global governance of antimicrobial resistance: a cross-country study of alignment between the global action plan and national action plans. *Global Health* 2020;16:109. <https://doi.org/10.1186/s12992-020-00639-3>.
  - [115] FAO. The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance 2021–2025: Supporting innovation and resilience in food and agriculture sectors. Rome, Italy: FAO; 2021. <https://doi.org/10.4060/cb5545en>.
  - [116] The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance 2016–2020 n.d.
  - [117] The OIE Strategy on Antimicrobial Resistance and the Prudent Use of Antimicrobials (November 2016) - World | ReliefWeb 2022. <https://reliefweb.int/report/world/oie-strategy-antimicrobial-resistance-and-prudent-use-antimicrobials-november-2016> (accessed June 14, 2023).
  - [118] Fifth OIE Annual Report on Antimicrobial Agents Intended for Use in Animals. WOAH - World Organisation for Animal Health n.d. <https://www.woah.org/en/document/fifth-oie-annual-report-on-antimicrobial-agents-intended-for-use-in-animals/> (accessed June 14, 2023).
  - [119] 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).

- [120] 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>.
- [121] Mateus-Vargas RH, Atanassova V, Reich F, Klein G. Antimicrobial susceptibility and genetic characterization of *Escherichia coli* recovered from frozen game meat. *Food Microbiology* 2017;63:164–9. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.11.013>.
- [122] Mead A, Toutain P-L, Richez P, Pelligand L. Targeted dosing for susceptible heteroresistant subpopulations may improve rational dosage regimen prediction for colistin in broiler chickens. *Sci Rep* 2023;13:12822. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39727-w>.
- [123] Sarowska J, Olszak T, Jama-Kmiecik A, Frej-Madrzak M, Futoma-Koloch B, Gawel A, et al. Comparative Characteristics and Pathogenic Potential of *Escherichia coli* Isolates Originating from Poultry Farms, Retail Meat, and Human Urinary Tract Infection. *Life (Basel)* 2022;12:845. <https://doi.org/10.3390/life12060845>.
- [124] Suwono B, Eckmanns T, Kaspar H, Merle R, Zacher B, Kollas C, et al. Cluster analysis of resistance combinations in *Escherichia coli* from different human and animal populations in Germany 2014–2017. *PLoS One* 2021;16:e0244413. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244413>.
- [125] Oguttu JW, Veary CM, Picard JA. Antimicrobial drug resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry abattoir workers at risk and broilers on antimicrobials. *J S Afr Vet Assoc* 2008;79:161–6. <https://doi.org/10.4102/jsava.v79i4.266>.
- [126] Miles TD, McLaughlin W, Brown PD. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from broiler chickens and humans. *BMC Vet Res* 2006;2:7. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-2-7>.
- [127] Ramadan H, Jackson CR, Frye JG, Hiott LM, Samir M, Awad A, et al. Antimicrobial Resistance, Genetic Diversity and Multilocus Sequence Typing of *Escherichia coli* from Humans, Retail Chicken and Ground Beef in Egypt. *Pathogens* 2020;9:357. <https://doi.org/10.3390/pathogens9050357>.
- [128] Marazzato M, Aleandri M, Massaro MR, Vitanza L, Conte AL, Conte MP, et al. *Escherichia coli* strains of chicken and human origin: Characterization of antibiotic and heavy-metal resistance profiles, phylogenetic grouping, and presence of virulence genetic markers. *Res Vet Sci* 2020;132:150–5. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.06.012>.
- [129] 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>.
- [130] Sabaté M, Prats G, Moreno E, Ballesté E, Blanch AR, Andreu A. Virulence and antimicrobial resistance profiles among *Escherichia coli* strains isolated from human and animal wastewater. *Res Microbiol* 2008;159:288–93. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.02.001>.
- [131] Sebastian S, Tom AA, Babu JA, Joshy M. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates from poultry environment and UTI patients in Kerala, India: A comparison study. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2021;75:101614. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101614>.

## 10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom dr. Jerzsele Ákosnak, aki befogadta és lehetővé tette a kutatómunkám megvalósulását, továbbá Pénzes Imre Tamásnénak, Balogh Katalinnak, Paliczné Kustán Biankának a laboratóriumi munkák előkészítésében nyújtott nélkülözhetetlen segítségéért. Külön köszönet illeti dr. Kovács Lászlót, aki a minták gyűjtésében nyújtott nélkülözhetetlen segítséget. Legfőképpen témavezetőmnek dr. Kerek Ádámnak szeretnék köszönetet nyilvánítani, aki mentorként és témavezetőként is támogatta kutatómunkámat.

*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 **Román István László**, ötödik évfolyamos hallgató „*Hazai nagylétszámú házityúk 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. szeptember hó 29. nap.



Dr. Kerek Ádám  
témavezető