

TDK DOLGOZAT

Szabó Kinga

2023

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



Nagylétszámú baromfiállományokból izolált
Escherichia coli törzsek kiterjedt spektrumú béta-laktamáz
(ESBL) termelésének felmérése Magyarországon

Készítette:

Szabó Kinga

4. évf. ao. hallgató

Témavezetők:

Dr. Kerek Ádám

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, egyetemi tanársegéd

Dr. Mag Patrik

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, egyetemi tanársegéd

Budapest

2023

Tartalomjegyzék

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	3
1. Bevezetés.....	4
2. Irodalmi áttekintés.....	5
2.1. Az antimikrobiális rezisztencia globális jelentősége.....	5
2.2. A β -laktám antibiotikumok.....	6
2.3. A β -laktám antibiotikumokkal szembeni enzimátikus rezisztencia.....	6
2.4. A baromfiágazat antimikrobiális rezisztencia helyzete.....	10
2.5. Az <i>Escherichia coli</i> állat- és közegészségügyi jelentősége.....	10
2.6. A vizsgált hatóanyagok jellemzése.....	11
3. Célkitűzések.....	14
4. Anyag és módszer.....	15
4.1. A minták eredete.....	15
4.2. A hatóanyag törzsoldatok elkészítése.....	15
4.3. A minimális gátló koncentráció meghatározása.....	15
4.4. Az ESBL termelés vizsgálatának módszerei.....	18
5. Eredmények.....	19
6. Következtetések.....	27
7. Összefoglalás.....	30
8. Summary.....	31
9. Irodalomjegyzék.....	32
10. Köszönetnyilvánítás.....	41

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>
ESBL	Kiterjedt spektrumú béta-laktamáz (<i>Extended-spectrum beta-lactamases</i>)
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
MDR	Multirezisztens (<i>Multidrug-resistant</i>)
MGE	Mobilis genetikai elem (<i>Mobile genetic elements</i>)
MIC	Minimális gátló koncentráció (<i>Minimum inhibitory concentration</i>)
MHB	Müller-Hinton leves (<i>Müller-Hinton Broth</i>)
PBP	Penicillin-kötő fehérje (<i>Penicillin-binding protein</i>)
PDR	Pánrezisztens (<i>Pandrug-resistant</i>)
XDR	Kiterjedt gyógyszerrezisztens (<i>Extensively drug-resistant</i>)

1. BEVEZETÉS

Az antimikrobiális rezisztencia terjedése a 21. század egyik olyan globális problémája, amely az emberiség jövőjét nagyban meghatározza. Az elmúlt évtizedekben különösen felértékelődött azon kutatási irányvonalak jelentősége, amelyek az állat- és közegészségügy kapcsolatát az Egy Egészség (*One Health*) tükrében próbálják meg értékelni. Gazdasági használlataink utat nyithatnak az antimikrobiális rezisztencia terjedésében a belőlük származó termékek révén, ami különösen igaz a baromfiágazatra, hiszen nemcsak az egyik legolcsóbb, legrövidebb egységnyi idő alatt terméket előállító ágazat, hanem egyben a legnagyobb antibiotikum felhasználó is. Emellett a baromfi-termékek fogyasztását egyetlen vallási kultúra sem korlátozza. Különösen aggasztó a β -laktamáz enzimeket fokozottan termelő törzsek egyre szélesebb körben való elterjedése az állategészségügyben, amelyek az állatokkal vagy azok termékeivel való érintkezés útján, illetve nozokomiális fertőzések révén súlyos, életet veszélyeztető fertőzések kialakulásához is vezethetnek embereknel.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az antimikrobiális rezisztencia globális jelentősége

Az antibiotikumok széleskörű és sokszor szakszerűtlen használata a humán-, illetve állategészségügyben az antimikrobiális rezisztencia (AMR) egyre szélesebb körben történő elterjedéséhez vezetett, ami nemcsak az emberi és állati szervezetben, hanem a környezetben, például a felszíni vizekben és a talajban is megjelenik [1]. A legóvatosabb becslések szerint is 2050-re évente akár 10 millió ember halhat meg az AMR következtében [2]. A környezeti hatásokból fakadó szelekciós nyomás következtében olyan genetikai mutációkkal rendelkező baktériumok terjednek el, amelyek egyre több antibiotikummal szemben ellenállnak [3]. Az AMR kialakulásának közegészségügyi szempontból egyik legfontosabb formája a hatóanyag enzimatis úton történő lebontása, aminek egy speciális formája a kiterjedt spektrumú β -laktamáz (ESBL) termelés. Ennek során a baktériumok ellenállóvá válnak majdnem az összes β -laktám vázas antibiotikummal szemben, illetve egyéb, más osztályba tartozó antibiotikumokkal szemben is [4]. Különösen aggasztó *Escherichia coli* (*E. coli*) esetén az ún. Új-Delhi típusú metallo- β -laktamáz termelő törzsek világszintű terjedése, amelyek képesek hidrolizálni a penicillinet, a cefalosporinokat és a karbapenemeket is, és a β -laktamáz inhibitorok sem képesek ezen törzsek enzimtermelését kompenzálni [5]. Globális szinten az Enterobacteriaceae törzsek karbapenemáz termelése 19,4%-os pozitivitást mutat [6], Kínában ez az arány 31%-os [7], Európában *E. coli* esetén pedig 10,3%-os [8].

Evolúciós szempontból a baktériumok két jelentős stratégiát alkalmaznak a rezisztencia kialakítására. Vagy a génállományban történő mutáció révén alakulhat ki új tulajdonság, vagy külső forrásból, idegen dezoxiribonukleinsav (DNS) szakaszok beépítésével, azaz a horizontális génátvitel segítségével szereznek újabb rezisztencia géneket, ami a bakteriális rezisztencia evolúciós folyamatának az egyik legjelentősebb forrása. A génállományban történő mutáció következménye lehet az antibiotikum célpontjának módosítása, és a következményes affinitás csökkenés; a hatóanyag felvételének csökkentése; efflux, azaz kipumpáló mechanizmusok; illetve fontos alternatív metabolikus utak használata a hatóanyag gátló hatásának elkerülése érdekében. A horizontális génátvitel módjai a transzformáció, a transzdukció és a konjugáció. Leggyakrabban ún. mobilis genetikai elemeket (MGE) használnak a hasznos tulajdonságot kódoló információk átadására, aminek a két legfontosabb, klinikai szempontból releváns forrása a plazmidon és a transzpozonokon való génhordozás [3].

2.2. A β -laktám antibiotikumok

Az első β -laktám antibiotikum felfedezése Sir Alexander Fleming nevéhez fűződik, aki 1928-ban egy véletlennek köszönhetően, irodájában nyitott, *Staphylococcus* spp. tenyészetet tartalmazó Petri-csészéjén egy *Penicillium notatum* gomba okozta kontamináció körül gátlási zónát fedezett fel [9]. A penicillint követő félszintetikus penicillinek fejlesztése az 1960-as évek elején indult el [10], a félszintetikus cefalosporinokat és egyéb β -laktám antibiotikumokat pedig az 1970-80-as években fejlesztették ki [11]. A csoport négy nagy csoportra osztható, ezek a penicillinek, a cefalosporinok, a monobaktámok és a karbapenemek. Ezek közül a penicillinek a mai napig megőrizték a hatékonyságukat olyan, a baromfiágazatban jelentős megbetegedést okozó kórokozókkal szemben, mint a *Clostridium perfringens* vagy a baromfikolerát okozó *Pasteurella multocida* [12, 13]. Különösen aggasztó, hogy Európa-szerte egészen 2010-ig profilaktikus módon rendszeresen használták a ceftiofurt naposcsibékben és keltetőkben, ami jelentős mértékben hozzájárult a 3-4. generációs cefalosporinokkal szembeni rezisztencia növekedéséhez a baromfiágazatban [14]. Ennek következtében használatát 2012-ben az USA-ban [15], majd számos más országban is betiltották, ez pedig maga után vonta, hogy a cefalosporin rezisztens *E. coli* törzsek aránya csökkenésnek indult [16–18]. A monobaktámok és karbapenemek használata pedig nem engedélyezett az állatgyógyászatban [19].

2.3. A β -laktám antibiotikumokkal szembeni enzimatisz rezisztencia

A β -laktám antibiotikumokkal szembeni rezisztenciát már a penicillinek klinikai használatának megkezdésekor leírták [20]. Az egyik legfontosabb rezisztencia-mechanizmusért felelős enzimeket három fő csoportba sorolhatjuk: beszélhetünk észterázokról, amelyek a cefalosporin hatóanyagok dihidrotiazin gyűrűjének acetyl-csoportját képesek hidrolizálni; acilázokról, amelyek a penicillin és cefalosporin hatóanyagok amid kötését módosítják; valamint β -laktamázokról, amelyek irreverzibilisen képesek módosítani a β -laktám gyűrű amid kötéseinek hidrolizálása révén a β -laktám hatóanyagokat [21, 22]. A hatóanyagok enzimatisz úton történő lebontása vagy módosítása során a kulcsfontosságú reaktív központ inaktivációja valósul meg, vagy egy szerkezetben történő változás következik be. Másrészt a kovalens kötések módosulhatnak O-foszforiláció, O-riboziláció, O-glikoziláció, O-nukleotidiláció, O- és N-acetiláció révén, ezzel akadályozva az antibiotikum és a célpont kapcsolódását [23]. A β -laktám antibiotikumok tekintetében Abraham már 1940-ben egy olyan enzimről ír, amely képes lebontani a penicillineket, ezt az enzimet penicillináznak nevezte [24]. Az első MGE formájában

megtalálható β -laktamáz enzimet 1965-ben írták le, mely gént *TEM*-nek nevezték el arról a betegről (Temoniera), akiből izolálták az azt hordozó mikróbát [22].

A β -laktám antibiotikumok vonatkozásában a penicillin-kötő fehérje (PBP) enzimátikus úton, kovalens módosítás révén képes inaktiválódni. Az antibiotikumok PBP-hez kötődése a sejtfal peptidoglikán szintézisének zavarát okozza, ami a sejtfal stabilitásáért felelős [23, 25]. A β -laktamázok első átfogó csoportosítását Bush készítette el 1989-ben, ahol még a szubsztrát és inhibitor alapú csoportosítást molekuláris szerkezeti alapon próbálták meg kialakítani [26–28]. A ma használt csoportosítás a Bush-Jacoby-Medeiros-féle funkcionális osztályozás és az Ambler-féle szerkezeti csoportosítás egyesítésével jött létre [29]. Az Ambler-féle osztályozás alapján négy szerkezeti osztályba (A, B, C, D) sorolják a β -laktamázokat [29] az alapján, hogy az aktív centrumban milyen, hidrolízist katalizáló molekula található [22]. A penicillinek és cefalosporinok esetén a hidrolitikus β -laktamáz inaktiváció egyre szélesebb körben megjelenik világszerte. Ez egyrészt egy kovalens köztiterméken keresztül acil-enzim intermediert képezve indukálja a PBP inaktiválás első lépését (A, C, D osztály), másrészt cink-ion segítségével egy vízmolekulát felhasználva a β -laktám kötés bontásához vezet (B osztály). Az új átfogó funkcionális és molekuláris tulajdonságokat figyelembe vevő rendszer esetén (Bush-Jacoby-Medeiros-féle osztályozás) négy csoportot különíthetünk el [22], a továbbiakban ezt a négy csoportot, az egyes β -laktám hatóanyag csoportokat és Ambler-féle osztályokat figyelembe véve tekintjük át.

Az 1. csoportba az Ambler-féle „C” osztályba tartozó β -laktamázok sorolhatóak, amelyek kromoszómálisan kódolt cefalosporinázok és nem gátolhatóak klavulánsavval [29]. Leggyakrabban a csoportot képviselő kromoszómálisan és plazmidon található *ampC* gén [30] után *ampC*-típusú β -laktamázoknak nevezték el a csoportot [23]. *E. coli*-ban ezeknek klinikai szempontból kromoszómálisan van jelentőségük [31], elsőként 2004-ben Japánban írták le [32] a plazmidon található változatot [33–35]. *E. coli*-ban az *ampC1* és az *ampH* gének találhatóak meg [36]. Az *ampC* gén bár nem számít ESBL génnek, azonban a β -laktamáz fokozott termelése miatt igen jelentős gén és aggodalomra ad okot, hogy leírtak plazmidon történő hordozást is [37–40]. Ide tartoznak még a *MOX* gének, a *DHA* gének, a *FOX* gének, amelyek viszont ESBL termelésért felelős gének [41–44].

A 2. csoportba az Ambler-féle „A” és „D” osztályba tartozó β -laktamázok sorolhatóak. Az „A” osztályba tartozó β -laktamázok világszerte széles körben elterjedtek, ezeket genetikailag a *TEM* vagy az *SHV* gének hordozzák. A *TEM* gének a penicillinek és az első generációs cefalosporinok hidrolíziséért felelnek. A *TEM-1* gén *Escherichia coli* baktériumban az esetek 90%-ban felel az ampicillin rezisztenciáért [22, 45–47]. Az *SHV*

gének közül több esetén is bizonyított, hogy az *E. coli* hordozza azokat [48, 49]. A plazmidon található *CTX-M* gének nevüket onnan kapták, hogy elsősorban a cefotaxim hatóanyagot hidrolizálják, a legelső azonosított típusa a *CTX-M-1*, amit *E. coli*-ból izoláltak [50–52]. A cefalosporinokat inaktiváló enzimek az „A” osztályba tartozó *TEM*, *SHV* [45, 53, 54], *CTX-M* [50–54], *GES-5*, *KPC-2* [55–57], *VEB-1* [58], *TLA-1* [59] és *PER-1* [60] gének, amelyek hidrolizáció által inaktiválják a cefalosporinokat. Az első „A” osztályú karbapenemáz enzimet hordozó gént (*GES-5*) *E. coli*-ban 2004-ben, Görögországban írták le [55], majd rá egy évre Izraelben a *KPC-2* gént, ami plazmidon volt megtalálható [56, 61]. A monobaktámokat inaktiváló gének közül az „A” osztályba tartoznak a *TEM-1*-en kívüli egyéb *TEM* gének [62], a *GES-5*, *KPC-2* gének [55, 56, 60], a *VEB-1* gén [58], a *TLA-1* gén [59], a *PER-1* gén [60]. Az ESBL termelés tekintetében az „A” osztályba tartozó *TEM* gének többsége a *TEM-3* típustól kezdve kódolnak ESBL termelést [45, 61–66]. Az *SHV* típusok közül számos esetben megfigyelhetünk ESBL termelést [45, 61], a *CTX-M* gének [61, 65–73], a *GES* és *KPC* gének szintén ESBL termelésért felelősek [60]. A „D” osztályba az oxacillináz (*OXA*) gének tartoznak [23]. A *TEM* és *SHV* gének együttes jelenléte esetén beszélhetünk ESBL termelésről, amelyek például már a cefotaximot és a ceftazidimet is egyaránt inaktiválhatják [74]. A cefalosporinokat inaktiváló „D” osztályba tartozó gének közül az *OXA* [53, 75, 76], az *LCR-1* [77] és az *LRA-13* [78] gének jelentősek. ESBL termelés szempontjából a „D” osztályból az *OXA-11*, *OXA-15*, *OXA-18* és *OXA-45* gének emelhetők ki [75, 79–81]. Ezen kívül ESBL termelésért felelős génként írták le a *VEB-1* gént, amelyet először egy vietnámi betegből izoláltak [58], a *TLA-1* gént *E. coli*-ban pedig egy mexikói beteg esetében izolálták elsőként [59].

A 3. csoport az Ambler-féle „B” osztályba tartozó metallo- β -laktamázokat tartalmazza, amelyek a penicillineket, cefalosporinokat és a karbapenemeket is hidrolizálják. Nevüket onnan kapták, hogy az aktív centrumukban kétértékű kationt, jellemzően Zn^{2+} tartalmazznak és működésük kelátképző vegyületekkel, mint az etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA) vagy a dipikolinsav, gátolható [82, 83]. A cefalosporinokat inaktiváló gének közül a *BcII*, *CcrA* [84–87], a *IMP-1*, *VIM-1* [57, 58], a *VIM-2* [60, 87], az *L1*, *FEZ-1*, *gob-1* [88] és az *NDM* gének jelentősége emelhető ki [53, 89–96]. A karbapenemázok közül *E. coli*-ban az *IMP-1*-et először Japánban írták le [57], Ausztráliában az *IMP-4*-et [97], a *VIM-1*-et pedig Görögországban írták le, amelyek mind plazmidon található gének [61, 98]. Meg kell még említeni a *FEZ-1*, *gob-1*, *CAU-1*, *cphA* és *sfh-1* géneket, amelyek szintén karbapenem rezisztenciáért felelnek [88]. A monobaktámokat inaktiváló *BcII*, *CcrA* [84–87] és a *VIM-2* gén [60, 87] tartozik még ide.

A 4. csoportba olyan penicillinázok tartoznak, amelyek nem gátolhatóak klavulánsavval, ilyenek a *Chr*, *ND*, *Ind*, *SAR-2*-típusú gének által termelt enzimek [29].

A β -laktamáz inhibitorokkal szemben a *TEM*-típusú gének között megjelentek az inhibitorokkal szembeni rezisztenciáért felelős gének is. Az alábbi *TEM*-típus változatok tartoznak ide, amelyeket IRT-vel jelölnek: *TEM-30-41*, *TEM-44-45*, *TEM-50-51*, *TEM-59*, *TEM-68*, *TEM-73-74*, *TEM-76-79*, *TEM-81-84* [45]. *E. coli* esetén ezeknek a *TEM*-variánsoknak az előfordulása igen gyakori [99]. Az *SHV* gének közül a *SHV-10* esetén bizonyították be, hogy inhibitor rezisztenciáért felelős gén [100]. A *CTX-M* újabb variánsai szintén inhibitor rezisztenciát is okozhatnak [101, 102]. A *GES* és *KPC*, a *PER-1* és a *VIM-2* gének esetén ezt szintén megfigyelték [60]. A molekuláris és szubsztrát alapú legújabb klasszifikációt az **1. táblázat** foglalja össze, a legfontosabb rezisztencia génekkel.

1. táblázat A β -laktamáz enzimek termeléséért felelős leggyakoribb gének korábbi molekuláris és szubsztrát alapú klasszifikációjának Bush-Jacoby szerinti felosztása [103]

Bush-Jacoby csoport	MO	Elsődleges szubsztrát	IG	ARG
1	C	cefalosporinok	-	<i>ampC</i> , <i>P99</i> , <i>ACT-1</i> , <i>CMY-2</i> , <i>FOX-1</i> , <i>MIR-1</i>
1e				<i>GC1</i> , <i>CMY-37</i>
2a	A	penicillinek	+	<i>PC1</i>
2b	A	penicillinek, cefalsporinok	+	<i>TEM-1</i> , <i>TEM-2</i> , <i>SHV-1</i>
2be	A	penicillinek, cefalosporinok, monobaktámok	+	<i>TEM-3-181</i> , <i>SHV-2-134</i> , <i>CTX-M-15</i> , <i>PER-1</i> , <i>VEB-1</i>
2br	A	penicillinek	-	<i>TEM-30-36</i> , <i>SHV-10</i> , <i>SHV-26</i> , <i>SGV-49</i>
2ber	A	cefalosporinok, monobaktámok	-	<i>TEM-50</i>
2c	A	penicillinek, karbenicillin	+	<i>PSE-1</i> , <i>CARB-3</i>
2ce	A	karbenicillin, cefapime	+	<i>RTG-4</i>
2d	D	penicillinek, kloxacillin	$\pm$	<i>OXA-1</i> , <i>OXA-10</i>
2de	D	cefalosporinok	$\pm$	<i>OXA-11</i> , <i>OXA-15</i>
2df	D	karbapenemek	$\pm$	<i>OXA-23</i> , <i>OXA-48</i>
2e	A	cefalosporinok	+	<i>CepA</i>
2f	A	karbapenemek	$\pm$	<i>KPC-2</i> , <i>IMI-1</i> , <i>SME-1</i>
3a	B	karbapenemek	-	<i>IMP-1</i> , <i>VIM-1</i> , <i>CcrA</i> , <i>IND-1</i>
3b	B		-	<i>CphA</i> , <i>Sfh-1</i>
4	NM*	penicillinek	-	

MO – molekuláris osztály, IG – inhibitoros gátlás (+ gátol, $\pm$ változó, - nem gátol), * nincs meghatározva

2.4. A baromfiágazat antimikrobiális rezisztencia helyzete

A baromfiipar az állattenyésztési ágazat leggyorsabban növekvő szektora, csak Európában éves szinten 400 millió tojótyúkot állítanak elő [104], egyben ez az ágazat bír a legnagyobb antibiotikum felhasználással is [15, 105]. Az Élelmezésügyi és Mezőgazdasági Világszervezet (FAO) jelentése szerint 2020-ban a világ hústermelése 337 millió tonna volt, aminek a csirkehús kicsivel több, mint a felét tette ki [106]. Az EU 2013/652/EU bizottsági végrehajtási rendelete alapján [107] 2020-ban monitorozták a brojlercsirke és brojlerpulyka esetén előforduló ESBL termelésért felelős géneket, valamint *ampC* gén hordozást és a karbapenemáz termelésért felelős gének gyakoriságát is vizsgálták. A ceftazidim és cefotaxim hatóanyagokra nézve csirkékben 0,5%-os és 0,4%-os rezisztenciát, pulykákban 1,4%-os és 1,0%-os rezisztenciát állapítottak meg. Brojlercsirkéknél az ESBL termelés 1%-os, az *ampC* gén hordozása 0,3%-os; pulykáknál ugyanez 1%-os és 0,4%-os gyakoriságot mutatott. A multirezisztens (MDR) törzsek arányát vizsgálva brojlercsirkéknél 38,7%-os, pulykáknál 41%-os arányt figyeltek meg [108].

2.5. Az *Escherichia coli* állat- és közegészségügyi jelentősége

Az Enterobacteriaceae családba tartozó *E. coli* Gram-negatív, minimális tápanyagot tartalmazó közegben is osztódni képes (prototróf), fakultatív anaerob baktérium, amely képes oxigén felhasználásával aerob módon energiát termelni, illetve anaerob környezetben alternatív anaerob elektron felvevőket használni, vagy fermentációból energiát nyerni [109]. A legtöbb idetartozó törzs kommenzalista életmódot folytatva, kölcsönösen előnyös, mutualista kapcsolatot fenntartva él az ember és a melegvérű emlősállatok gasztrointesztinális traktusában. Az első organizmusok közé tartoznak, amelyek kolonizálják az emberi emésztőtraktust és az élet teljes hosszában fenn is marad a kolóniájuk [110]. Az egészséges gazdaszervezetre nézve tehát ártalmatlan, kimondottan előnyös ezen általában fakultatív patogén törzsek jelenléte, ugyanakkor immunkomprimált egyedekben túlszaporodásuk okozhat hasmenéses kórképeket, illetve egyéb, extraintesztinális megbetegedéseket. [109, 111] Azonban obligát patogén törzseik kimagasló humán- és állategészségügyi jelentőséggel bírnak. Az egyik legelterjedtebb kórokozóként tartják számon a világon, a leggyakrabban izolált baktériumfaj a klinikai mikrobiológiában [112]. Változatos betegségekért felelős, mint például húgyúti fertőzések (UTI), vérfertőzés, bélfertőzés vagy neonatális meningitisz. A patogén *E. coli* törzseket virulencia tulajdonságaik alapján csoportosítják, amelyeket általában MGE-k kódolnak, emiatt a baktériumok átadhatják egymásnak ezeket, aminek következtében különböző kombinációban megjelenő virulencia faktorokkal rendelkező organizmusok jönnek létre.

Továbbá az MGE génszakaszok (plazmidok, transzpozonok) akár a genomba is integrálódhatnak, ezáltal jelenlétük állandósul [113]. A legsikeresebb virulenciafaktor-kombinációval rendelkező baktériumok patotípusokba sorolhatóak, amelyek három fő tünetcsoport alapján rendszerezhetők. Az első nagy csoportba a hasmenéssel járó kórképek tartoznak, hat kategóriát elkülönítve enteropatogén törzsekről (EPEC), enterohemorragiás törzsekről (EHEC), enterotoxikus törzsekről (ETEC), enteroaggregatív törzsekről (EAEC), enteroinvazív törzsekről (EIEC), és diffúzan tapadó törzsekről (DAEC) beszélhetünk. A második csoportba a húgyúti fertőzéseket okozó extraintesztinális *E. coli* törzseket soroljuk, amiért leggyakrabban uropatogén *E. coli* törzsek (UPEC) felelősek. A harmadik csoportba szepszist és meningitist okozó extraintesztinális *E. coli* törzseket sorolunk, amelyek ritkábban előforduló meningitiszhez-társuló (MNEC) fertőzéseket okoznak. Külön csoportba soroljuk a madárpatógén *E. coli* törzseket (APEC), amelyek változatos tüneteket okoznak madarakban úgy, mint légzőszervi megbetegedések, perikarditisz és szepszis [113].

2.6. A vizsgált hatóanyagok jellemzése

A harmadik generációs cefalosporinok közé tartozó cefotaxim egy β -laktám vázas hatóanyag. Hatásmechanizmusát tekintve gátolja a peptidoglikán sejtfal szintézist, a PBP-hez való kötődése révén. Megfelelő minőségű sejtfal hiányában a baktérium autolizál. Hatásmódja szerint a cefotaxim időfüggő baktericid hatóanyag [114]. Széles spektrumú antibakteriális hatással rendelkező szer, igénybevehető aerob Gram-pozitív (*Staphylococcus aureus* és a legtöbb *Streptococcus* faj), Gram-negatív (Enterobacteriaceae családba tartozó baktériumok) és bizonyos anaerob baktériumok ellen is [115]. Kiváltképp alsólégúti, húgy- és nemiszerveket érintő, bőr- és lágyrész fertőzések, illetve csontokat és ízületeket érintő bakteriális fertőzések, valamint meningitisz és szepszis esetén használják [114]. A nem elég következetes és nem megfelelő kisállatgyógyászati, haszonállatgyógyászati és humán felhasználása az antibiotikummal szemben rezisztens baktériumok megjelenését eredményezte. A rezisztencia kialakulásában elsősorban a célpont szerkezetének megváltozása, az antibiotikum iránti affinitás teljes vagy részleges elvesztése, csökkent membrán permeabilitás, amely a hatóanyag bejutását akadályozza, aktív efflux pumpák szintézise, illetve lebontó enzimek termelése játszanak fő szerepet [116].

A klavulánsav egy igen hatékony β -laktamáz inhibitor, amely irreverzibilis reakcióban kötődik az Ambler-féle A csoportba tartozó β -laktám vázat bontó enzimekhez, ezzel gátolva azok működését. Így megóvjaa az instabil, β -laktám vázú antibiotikumokat (penicillinek, cefalosporinok) a hidrolízistől [117]. Penicillinekkal és cefalosporinokkal együtt alkalmazva szinergista kölcsönhatásba lépnek a hatóanyagokkal és hatékony kombinációt alkotnak

Staphylococcus aureus, illetve az Enterobacteriaceae családba tartozó intenzív β -laktamáz termelő törzsekkel szemben [118]. Klinikai gyakorlatban túlnyomóan amoxicillinnel vagy tikarcillinnel kombinálják, már az 1980-as évek óta. A napjainkra több, mint harminc éve tartó felhasználása következtében megjelentek, majd kisselektálódtak olyan specifikus β -laktamáz-enzimet termelő baktériumok, amelyek rezisztensek az enzim inhibitorokkal szemben. Általánosságban elmondható, hogy ez a szelekció klavulánsavval szemben erőteljesebb, mint szulbaktám vagy tazobaktám esetében [119].

Az imipenem, a β -laktám vázas antibiotikumok csoportjába tartozó karbapenemek első képviselője. Antibakteriális spektrumát tekintve ez a csoport rendelkezik a legszélesebb körű aktivitással a humángyógyászatban elérhető hatóanyagok közül. Igénybevehető Gram-pozitív *Streptococcus* fajok, meticillin-érzékeny *Staphylococcus* fajok, *Neisseria* és *Haemophilus* fajok ellen, anaerob baktériumok, illetve Gram-negatív aerob baktériumok esetén is, amelyek nosokomiális fertőzéseket okoznak, mint például a *Pseudomonas* nemzetség tagjai. A penicillinekhez hasonlóan a hatóanyagcsoport is rendelkezik *Enterococcus*-elleni hatékonysággal. Használata elsődlegesen a kevert bakteriális fertőzések, illetve az egyéb β -laktám típusú antibiotikumokkal szemben rezisztens Gram-negatív baktériumok által okozott fertőzések kezelésében javasolt [120]. A többi β -laktám szerkezetű hatóanyaghoz hasonlóan, az imipenem is a bakteriális sejtfal szintézis gátlásával fejt ki időfüggő baktericid hatását. A transzpeptidáz enzim gátlása a hatóanyag különböző típusú PBP-hez való kötődése által valósul meg. A vele szemben kialakított leggyakoribb rezisztencia mechanizmusok közé tartozik az efflux pumpák szintézise, a porin csatorna mutáció révén megváltozott membrán permeabilitás és csökkent hatóanyag bejutás, illetve lebontó enzim termelése, amely esetén a kiterjedt spektrumú β -laktamáz termelés jelenti a legnagyobb kockázatot [121].

A gentamicin és a tobramicin az aminoglikozidok közé tartozó, széles spektrumú hatóanyagok [122]. Szerkezeti felépítésüket tekintve egy inozitol gyűrűből és legalább egy, hozzákötött amino-cukorszerű molekulából állnak, kiegészülve több hidroxil-csoporttal, illetve legalább egy amino-csoporttal [123]. A fehérjeszintézis akadályozásán keresztül fejtik ki koncentrációfüggő baktericid hatásmódjukat. A hatóanyagok a riboszóma 30S alegységéhez eltérő affinitással kapcsolódnak, a fehérjeszintézis folyamatában hibás translációt idéznek elő, ezáltal rossz minőségű sejtmembrán szintézist indukálnak. Egyes hatóanyagok a polipeptid lánc elongációját is képesek gátolni. A hatóanyagcsoport elleni rezisztencia legfontosabb mechanizmusai a lebontó enzimek termelése, az antibiotikum kötődési helyének módosítása, illetve az efflux pumpák szintézise [122, 123].

Az aztreonám, a monobaktámok osztályába tartozó egyetlen, klinikumban is elérhető hatóanyag. A csoport tagjai szerkezetük alapján kapták nevüket, ugyanis monociklikus β -laktám vázzal rendelkeznek [124]. Hatásmechanizmusukat tekintve a baktériumok PBP-3 enzimeihez kapcsolódva, ugyancsak a sejtfalszintézis gátlásán keresztül fejtik ki időfüggő baktericid hatásukat; a többi, megegyező alapvázú hatóanyaghoz hasonlóan. Spektrumuk szűk, csupán az aerob Gram-negatív baktériumok (beleértve a β -laktamáz enzimet termelő törzseket) ellen alkalmazhatók hatékonyan. Azonban nem rendelkeznek jelentős Gram-pozitív és anaerob baktérium elleni hatással a PBP-hez való gyenge affinitásuk miatt [125, 126]. Az aztreonám klinikai alkalmazása elsősorban szepszisémiában, húgyúti fertőzésekben, hasüregi fertőzésekben, központi idegrendszeri fertőzésekben és légzőszervi megbetegedésekben történik, szűk spektrumából kifolyólag más hatóanyagokkal kombinációban, kizárólag humán vonalon. Az aminoglikozidok alternatívájaként is szokták alkalmazni, mivel kevesebb mellékhatással rendelkezik, illetve penicillinek és cefalosporinok helyett is alkalmazható allergia előfordulása esetén [125]. A csoporttal szembeni legfontosabb rezisztencia mechanizmus a β -laktám vázat lebontó enzim termelése. Azonban ki kell emelni, hogy csupán bizonyos típusú laktamázokra érzékeny a hatóanyag, például a legtöbb *E. coli* által termelt, plazmidon található β -laktamáz nem tudja hidrolizálni a hatóanyagot [127].

3. CÉLKITŰZÉSEK

Jelen kutatás célja, hogy házityúk és házipulyka állományokból korábban gyűjtött kommenzalista *E. coli* törzsgyűjteményünkből, meglévő minimális gátló koncentráció (MIC) értékek alapján leválogatott, fenotípusosan β -laktám antibiotikumokkal szemben rezisztenciát mutató törzseket vizsgáljunk. A további vizsgálatok az ESBL termelés fenotípusos kifejeződésére, valamint további, közegészségügyi szempontból fontos hatóanyagok MIC-értékeinek meghatározására irányulnak. Ezen eredmények alapját fogják képezni a későbbiekben a kapott eredmények tükrében tovább szűrt törzsek genotípusos rezisztencia génhordozás szekvenálós vizsgálatának.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A minták eredete

A minták nagylétszámú házityúk és pulyka állományokból korábban gyűjtött kommenzalista *E. coli* törzsek voltak. Ezek egészséges állatokból származtak, felhasználásig Microbank™ rendszerben (Pro-Lab Diagnostics, Richmond Hill, Kanada) -80 °C-on voltak lefagyasztva. A mintákat egyedi azonosítószámuk alapján azonosítottuk és a korábban elvégzett MIC vizsgálatok során kapott értékek alapján szűrtük le az amoxicillin, amoxicillin-klavulánsav, ceftriaxon és imipenem hatóanyagokra részben vagy egészben rezisztens törzseket.

4.2. A hatóanyag törzsoldatok elkészítése

A vizsgált hatóanyagokból (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) a törzsoldatok elkészítéséhez a *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) ajánlását követtük [128]. Cefotaxim és cefotaxim-klavulánsav törzsoldatok elkészítéséhez desztillált vizet használtunk. Az imipenem hatóanyagot foszfát pufferoldatban (pH 6, 0,1 mol/L) oldottuk fel. Gentamicin, tobramicin és aztreonam hatóanyagok esetén desztillált vizet használtunk.

A vizsgálatokhoz 1024 µg/ml koncentrációjú törzsoldatot készítettünk, korrigálva az egyes hatóanyag tételek gyártó által meghatározott tisztaságára.

4.3. A minimális gátló koncentráció meghatározása

Az állat- és közegészségügy szempontjából jelentős hatóanyagokra az egyes baktériumtörzsek MIC-érték meghatározását a CLSI módszertanával végeztük [128], a breakpointokat pedig a CLSI és a *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) irányelvei alapján határoztuk meg.

A baktériumtörzseket a vizsgálatot megelőző napon kioltottuk 3 ml Müller-Hinton levesbe (MHB), majd 18-24 órán keresztül inkubáltuk 37 °C-on. A vizsgálatához 96 lyukú mikrotiter lemezt (VWR International, LLC., Debrecen, Magyarország) használtunk. A mikrotiter lemezek első oszlopának kivételével a lyukakat 90 µl MHB-vel (1. lépés) töltöttük fel (**1. ábra**). Majd elkészítettük a hatóanyag törzsoldatok feles hígítását MHB-vel, így minden esetben 512 µg/ml koncentrációval kezdtük a kettes alapú hígítási sort a munkalemezek első oszlopában, amit egy második lemezen tovább folytatva vizsgáltuk az 512-0,001 µg/ml közötti hígítási sort. A feles hígításból 180 µl-t mértünk a munkalemezek első oszlopába (2. lépés) és 2-es alapú hígítási sort készítettünk ebből (3. lépés). A második munkalemez 10. oszlopa után a felesleges oldatot eldobtuk, így oszloponként 90 µl oldat maradt. Baktériumtörzsenként egy sort használtunk a vizsgálatokhoz a lemezeken (**2. ábra**).

1. lépés: feltöltés

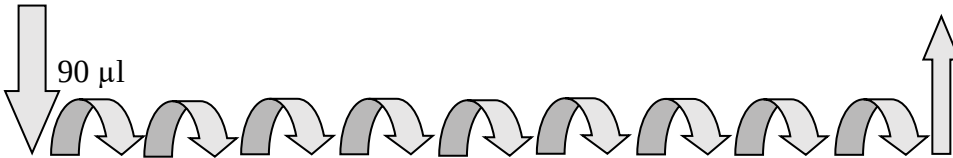
↓ 90 µl

	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



	2x	4x	8x	16x	32x	64x	128x	256x	512x	1024x		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
B	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
C	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
D	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
E	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
F	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
G	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-
H	180	90	90	90	90	90	90	90	90	90	+	-

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 baktériumtörzsek 25-szörös hígítását, amihez minden segédlemezt 240 µl MHB-vel töltöttünk fel, minden lyukba 10 µl vortexelt baktériumszuspenziót mértünk (4. lépés) (**3. ábra**). A baktériumszuspenziót az elkészített munkalemezekre mértük, a kettes alapú hígítási sort tartalmazó lemezek 11. oszlopától kezdve visszafelé haladva minden lyukba 10 µl baktériumszuspenziót pipetázva a segédlemezről (5. lépés). A 11. oszlop pozitív kontrollként szolgált (baktériumszuspenziót és levest tartalmazott), a 12. oszlop volt a negatív kontroll, amit csak levest tartalmazott (**4. ábra**).

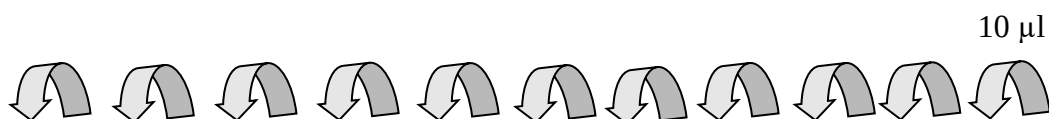
4. lépés: a baktériumszuszpenzió beállítása 0,5 McFarland értékre



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	240		240		240		240		240		240	
B	240		240		240		240		240		240	
C	240		240		240		240		240		240	
D	240		240		240		240		240		240	
E	240		240		240		240		240		240	
F	240		240		240		240		240		240	
G	240		240		240		240		240		240	
H	240		240		240		240		240		240	

3. ábra A baktériumszuszpenzió 25x hígításának elkészítése segédlemezen.

5. lépés: a baktériumszuszpenzió bemérése



	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 ráérése a munkalemezre a pozitív kontrolltól kezdve.

A munkalemezeket végül 18-24 órán keresztül 37 °C-on inkubáltuk, majd vizuális módszerrel elbíráltuk a MIC-értékeket a pozitív (11. oszlop) kontrollhoz képest, a zavarosodás mértéke alapján. Az értékelés a **3. táblázat** szempontjai alapján történt.

3. táblázat A MIC értékek elbírálásának szempontjai egy adott mikrobatorzs adott hatóanyag koncentrációval történő kezelése esetén.

Jelölés	Tapasztalat	Értékelés
+++	jelentős mértékű zavarosodás látható	pozitív
++	mérsékelt zavarosodás látható	pozitív
+	enyhe zavarosodás látható	pozitív
+/-	enyhe zavarosodás, a baktérium növekedése nem megítélhető	negatív
-	nincs zavarosodás	negatív

4.4. Az ESBL termelés vizsgálatának módszerei

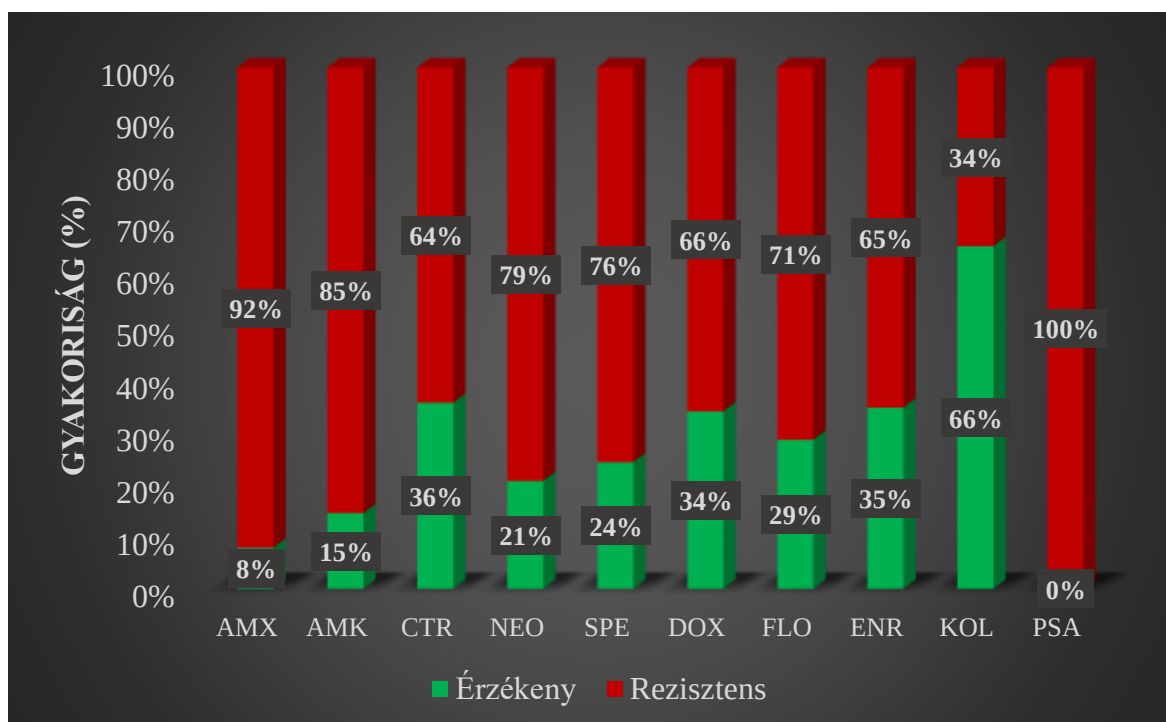
Az ESBL termelés vizsgálatához a CLSI ajánlását követtük [128]. A vizsgált baktérium törzsek MIC-értékét úgy kellett meghatározni cefotaxim és cefotaxim-klavulánsav hatóanyagokra nézve, hogy a klavulánsavas kombinációk esetén minden egyes hígítást tartalmazó lyukban fixen 4 µg/ml klavulánsav koncentráció legyen. Ezt úgy készítettük el, hogy a klavulánsavból törzsoldatot készítettünk, 10 mg klavulánsavat 10 ml desztillált vízben feloldva, majd cellulóz szűrőn átszűrtük azt, ezt követően pedig 230 ml steril kation kiegyenlített Müller-Hinton leveshez (CA-MHB) kevertük, ezáltal 10 mg/240 ml koncentrációjú oldatot kaptunk. A klavulánsavat tartalmazó munkalemezek ráoltásához a baktériumokat tartalmazó segédlemez oszlopait ezzel a fix koncentrációt tartalmazó oldattal töltöttük fel 240 µl mennyiségben. Miután ehhez hozzáadtuk a 10 µl baktérium szuszpenziót és ennek a 10 µl-ét a munkalemez 90 µl-éhez mértük, a 100 µl-es végtérfigattal pontosan 4 µg/ml klavulánsav koncentrációt kaptunk.

Végül a lemezeket 37 °C-os termosztátban 18-24 órán keresztül inkubáltuk, majd vizuálisan elbíráltuk azokat. A CLSI leírása szerint ESBL termelőnek tekinthető egy törzs, ha a klavulánsavas kombinációban vizsgált antimikrobiális hatóanyag MIC-értékének legalább háromszoros csökkenése figyelhető meg a hatóanyag önmagában történő vizsgálata során kapott MIC-értékhez képest. Például, ha cefotaxim esetén a MIC-érték 8 µg/ml, a cefotaxim-klavulánsav kombinációban viszont csak 1 µg/ml (nyolcszoros csökkenés), akkor az adott törzs ESBL termelőnek tekinthető.

5. EREDMÉNYEK

Egy korábbi kutatási projekt keretén belül Magyarország 7 régiójából, összesen 44 db nagylétszámú házityúk és pulyka állományból izolált 881 kommenzalista *E. coli* törzs előzetes MIC-értékei alapján szűrtük le azt a 420 db törzset, amelyek MDR törzsnek bizonyultak. Ezeket a törzseket további vizsgálatoknak vetettük alá és humán-egészségügyi szempontból jelentős antibiotikum hatóanyagokra határoztuk meg a MIC-értéküket. Összességében ezzel dupla előszűrést használtunk, hogy az ESBL termelésre gyanús törzseket eredményeink alapján, új generációs vizsgálattal tudjuk majd tovább vizsgálni.

Az **5. ábra** foglalja össze az első előszűrés során leválogatott multirezisztens törzsek antibiotikum rezisztencia profilját. Összességében láthatjuk, hogy a multirezisztens törzsek között a leghatékonyabb hatóanyag a kolisztin volt, azonban itt is csak az izolátumok 66%-a volt érzékeny. Potenciált szulfonamid esetén 100%-os rezisztenciát mutattunk ki, amoxicillin (8%), amoxicillin-klavulánsav (15%) esetén az érzékenység minimális szintű, de a ceftriaxon (35%) hatóanyag esetén tapasztalt csökkent érzékenység is aggodalomra ad okot. Mindenképpen további, metagenomikai vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy kiderítsük, milyen rezisztencia mechanizmusok vannak a széleskörű rezisztencia mögött.

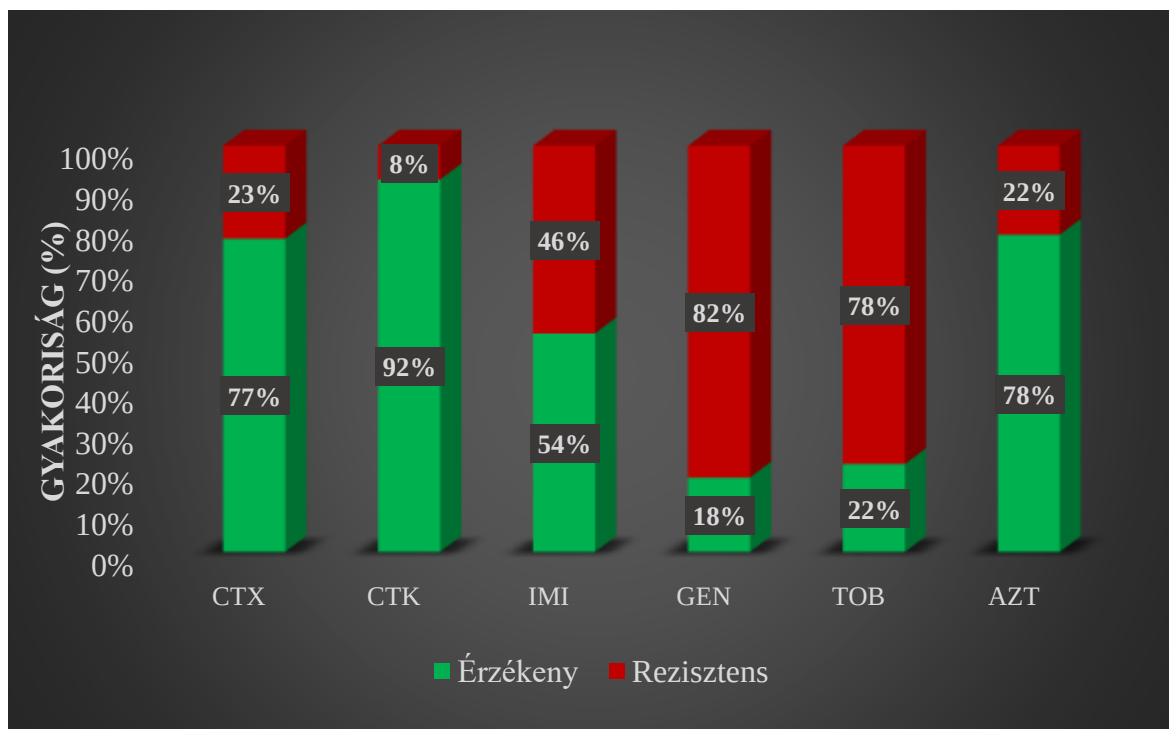


AMX-amoxicillin; AMK-amoxicillin-klavulánsav; CTR-ceftriaxon; NEO-neomicin; SPE-spektinomycin; DOX-doxiciklin; FLO-florfenikol; ENR-enrofloxacin; KOL-kolisztin; PSA-potenciált szulfonamid (szulfametoxazol és trimetoprim 20:1 arányban)

5. ábra Az előszűrés alapján leválogatott (n=420) multirezisztens *E. coli* törzsek rezisztencia profilja.

A további hatóanyagokra elvégzett MIC-érték meghatározás (második előszűrés) eredményeit a **6. ábra** foglalja össze. Aminoglikozidok esetén már az előszűrés során látszott neomicin esetén, hogy magas a rezisztencia mértéke (79%), amit a gentamicin (82%) és tobramicin (78%) hatóanyaggal végzett vizsgálatok tovább erősítettek. Az előszűrés során összehasonlított amoxicillin (92%) és amoxicillin-klavulánsav (85%) rezisztens törzsek között a legalább 3xMIC-értékkel alacsonyabb amoxicillin-klavulánsav értékkel rendelkező törzsek aránya 72% volt, ezek a törzsek potenciálisan nevezhetők β -laktamáz termelőknek, amely megerősítését a későbbiekben új generációs szekvenálással kívánjuk elvégezni.

Közegészségügyi szempontból óriási a jelentősége az ESBL termelő törzsek jelenlétének, ehhez a CLSI ajánlása szerint elvégzett cefotaxim és cefotaxim-klavulánsav hatóanyag MIC-értékeinek összehasonlítása során az utóbbi esetén megfigyelhető, legalább 3xMIC-értékkel alacsonyabb törzsek aránya 14% volt. Ezek potenciálisan ESBL termelő törzsek lehetnek, amelyek esetén szintén további megerősítő vizsgálatok végzését tervezzük új generációs szekvenálás segítségével. Imipenem esetén a magas rezisztencia arányt fenntartásokkal kezeljük, a hatóanyag szakirodalomban leírt stabilitási problémái miatt, a későbbiekben ezeket a vizsgálatokat ertapenem hatóanyaggal kívánjuk megismételni. Aztreonam esetén a 78%-os érzékenység elfogadható mértékű.



CTX-cefotaxim; CTK-cefotaxim-klavulánsav; IMI-imipenem; GEN-gentamicin; TOB-tobramicin; AZT-aztreonam

6. ábra Az előszűrés során leválogatott törzsek (n=420) rezisztencia profilja további, közegészségügyi szempontból fontos hatóanyagokra nézve.

Az **1. táblázat** foglalja össze a baromfifélékre engedélyezett hatóanyagok vizsgálata során kapott MIC-értékek gyakoriságát és azok százalékos megoszlását, valamint az ezek alapján kiszámolt MIC₅₀- és MIC₉₀-értékeket. A hatóanyagok közül baromfifélék esetén kizárólag az enrofloxacin esetén van az állati szervezetet figyelembe vevő farmakokinetikai és farmakodinámiai paraméterek alapján meghatározott klinikai határérték ($\geq 2 \mu\text{g/ml}$). Az összes többi hatóanyag esetén az EUCAST epidemiológiai határértékeit (ECOFF) tudtuk alapul venni, amely értékek a vad-típusú és nem vad-típusú törzsek MIC-értékeinek bimodális megoszlása alapján határozza meg a töréspontot, azonban nem veszi figyelembe az állati szervezet sajátosságait. Így ezek a határértékek sokkal alacsonyabbak, mintha klinikai vizsgálatok figyelembevételével határoznák meg azokat. A populációra vetített MIC₅₀-értékek közül kizárólag a kolisztin esetén ($0,5 \mu\text{g/ml}$) találtuk azt, hogy ha egy ilyen teoretikus baktérium populációt kellene kezelni, akkor legalább a populáció 50%-a reagálna a kezelésre. A MIC₉₀-értékek minden esetben jóval a töréspont felett voltak.

A **2. táblázatban** láthatjuk összefoglalva, a baromfifélékre nem engedélyezett, így elsősorban a társállatgyógyászatban, de különösen a humán-egészségügy szempontjából fontos hatóanyagok MIC-értékeinek megoszlását, valamint a kiszámolt MIC₅₀- és MIC₉₀-értékeket. Ezeknél a hatóanyagoknál kizárólag EUCAST által meghatározott töréspontok álltak rendelkezésünkre. A MIC₅₀-értékek között jóval nagyobb arányban kaptunk érzékenységre utaló értékeket, a teoretikus populáció 50%-a érzékeny cefotaxim ($0,06 \mu\text{g/ml}$), cefotaxim-klavulánsav ($0,06 \mu\text{g/ml}$), imipenem ($0,25 \mu\text{g/ml}$) és aztreonam ($0,03 \mu\text{g/ml}$) hatóanyagokra nézve. A MIC₉₀-értékek esetén, tehát ahol a teoretikus populáció 90%-a érzékeny egy adott hatóanyaggal történő kezelésre, csak a cefotaxim-klavulánsav ($0,125 \mu\text{g/ml}$) esetén kaptunk töréspont alatti értéket.

Összességében tehát elmondhatjuk, hogy eredményeink alapján mindenképpen érdemes további, metagenomikai vizsgálatokat végezni annak érdekében, hogy feltárjuk a nagymértékű rezisztencia genetikai hátterét. Állategészségügyi szempontból a humán-egészségüggyel összekapcsolva különösen nagy a jelentősége a β -laktamáz termelés mögött álló géneknek, és különösen nagy a szerepe az elsősorban nozokomiális fertőzések során életet veszélyeztető fertőzéseket kialakító ESBL-termelő törzsek jelenlétének. De nem hagyható figyelmen kívül az AMEG B kategóriába sorolt további kritikusan fontos antibiotikumok, mint a kolisztin és a fluorokinolon rezisztencia mögötti genetikai háttér feltérképezése sem.

1. táblázat A vizsgált *E. coli* törzsek MIC-értékeinek megoszlása baromfifélékre engedélyezett hatóanyagokra, valamint MIC₅₀- és MIC₉₀-értékei. Hatóanyagonként a felső sorok a darabszámot, az alsó sorok a százalékos megoszlást mutatják. A piros függőleges vonalak a rezisztencia határt jelölik.

Hatóanyag	Breakpoint (µg/ml)	A baktériumtörzsek (db és %) hígítási sorának (µg/ml) megoszlása																	MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)						
		>512	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,063	0,031	0,016			0,008	0,004	0,002	0,001		
Amoxicillin	≥8**	156	72	33	39	22	15	16	34	24	6	1	1	1											512	1024
		37,1	17,1	7,9	9,3	5,2	3,6	3,8	8,1	5,7	1,4	0,0	0,2	0,2	0,2											
Neomicin	≥8**	9	24	20	58	122	61	29	10	50	33	4											64	256		
		2,1	5,7	4,8	13,8	29,0	14,5	6,9	2,4	11,9	7,9	1,0														
Doxiciklin	≥8**	1	2	2	19	81	74	67	31	40	69	28	6											16	64	
		0,2	0,5	0,5	4,5	19,3	17,6	16,0	7,4	9,5	16,4	6,7	1,4													
Florfenikol	≥16**	4	30	42	20	37	57	110	86	30	4											16	256			
		1,0	7,1	10,0	4,8	8,8	13,6	26,2	20,5	7,1	1,0															
Enrofloxacin	≥2*	1	8	8	13	28	58	49	44	27	38	33	20	12	10	17	24	15	4	2			9	64		
		0,2	1,9	1,9	3,1	6,7	13,8	11,7	10,5	6,4	9,0	7,9	4,8	2,9	2,4	4,0	5,7	3,6	1,0	0,5			2,1			
Kolisztin	≥2**	56	22	2	8	6	14	4	7	13	12	37	57	90	39	28	13	4					8	1024		
		13,3	5,2	0,5	1,9	1,4	3,3	1,0	1,7	3,1	2,9	8,8	13,6	21,4	9,3	6,7	3,1	1,0					1,9			
Potenciált szulfonamid +	≥0,5**	132	33	18	11	17	22	29	38	62	49	9											64	1024		
		31,4	7,9	4,3	2,6	4,0	5,2	6,9	9,0	14,8	11,7	2,1														

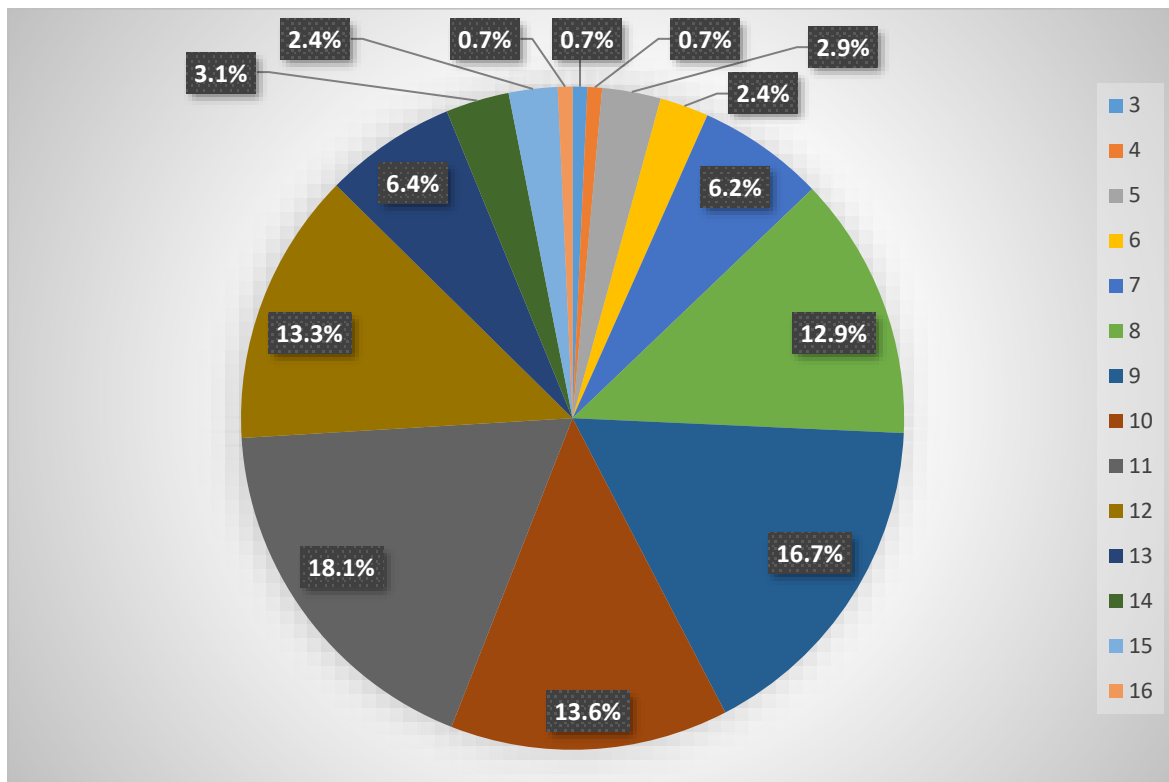
*CLSI; **EUCAST; +szulfametoxazol és trimetoprim 20:1 arányban

2. táblázat A vizsgált *E. coli* törzsek MIC-értékeinek megoszlása humán szempontból fontos hatóanyagokra, valamint MIC₅₀- és MIC₉₀-értékeik. Hatóanyagokként a felső sorok a darabszámot, az alsó sorok a százalékos megoszlást mutatják. A piros függőleges vonalak a rezisztencia határt jelölik.

Hatóanyag	Breakpoint (µg/ml)	A baktériumtörzsek (db és %) hígítási sorának (µg/ml) megoszlása																				MIC ₅₀ (g/ml)	MIC ₉₀ (g/ml)	
		>512	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,063	0,031	0,016	0,008	0,004	0,002			0,001
Amoxicillin- klavulánsav+	≥8*	9 31 37 49 115 118 46 9 1 1 2 2																				16	64	
		2,1 7,4 8,8 11,7 27,4 28,1 11,0 2,1 0,2 0,2 0,5 0,5																						
Ceftriaxon	≥0,125*	39	15	20	9	4	15	11	14	6	2	26	22	28	59	57	71	10	3	1	2	2	0,25	512
		9,3	3,6	4,8	2,1	1,0	3,6	2,6	3,3	1,4	0,5	6,2	5,2	6,7	14,0	13,6	16,9	2,4	0,7	0,2	0,5			
Spektinomycin	≥64*	25	34	64	77	118	61	33	6	2													64	512
		6,0	8,1	15,2	18,3	28,1	14,5	7,9	1,4	0,5														
Cefotaxim	≥0,25*	27	3	1 4 3 5 2 4 15 12 20										86	147	74	16	1	0,063	8				
		6,4	0,7	0,2 1,0 0,7 1,2 0,5 1,0 3,6 2,9 4,8										20,5	35,0	17,6	3,8	0,2						
Cefotaxim- klavulánsav++	≥0,25*	1 1 4 6 4 1 5 6 6										43	140	136	58	5	1	0,063	0,125					
		0,2 0,2 1,0 1,4 1,0 0,2 1,2 1,4 1,4										10,2	33,3	32,4	13,8	1,2	0,2			0,7				
Imipenem	≥0,5*	3 3 5 11 15 33 122 92 109 27																				0,25	1	
		0,7 0,7 1,2 2,6 3,6 7,9 29,0 21,9 26,0 6,4																						
Gentamicin	≥2*	10	9	45	168	62	20	7	22	59	17	1											32	64
		2,4	2,1	10,7 40,0 14,8 4,8 1,7 5,2 14,0 4,0 0,2																				
Tobramicin	≥4*	6 22 139 122 26 5 10 52 38																				16	32	
		1,4 5,2 33,1 29,0 6,2 1,2 2,4 12,4 9,0																						
Aztreonam	≥0,25*	2	10	24	5	7	4	7	7	6	10	10	28	63	213	22	2	0,031	16					
		0,5	2,4	5,7	1,2	1,7	1,0	1,7	1,7	1,4	2,4	2,4	6,7	15,0	50,7	5,2	0,5							

*EUCAST; + 4:1 arányban; ++klavulánsav fix 4 µg/ml koncentrációban

A vizsgált törzsek 0,7%-ban voltak legalább 16-féle hatóanyaggal, 2,4%-ban 15-féle hatóanyaggal, 3,1%-ban 14-féle hatóanyaggal, 6,4%-ban 13-féle hatóanyaggal, 13,3%-ban 12-féle hatóanyaggal, 18,1%-ban 11-féle hatóanyaggal és 13,6%-ban 10-féle hatóanyaggal szemben rezisztensek (7. ábra). A törzsek 57,6%-a volt legalább 10-féle hatóanyagra rezisztens.

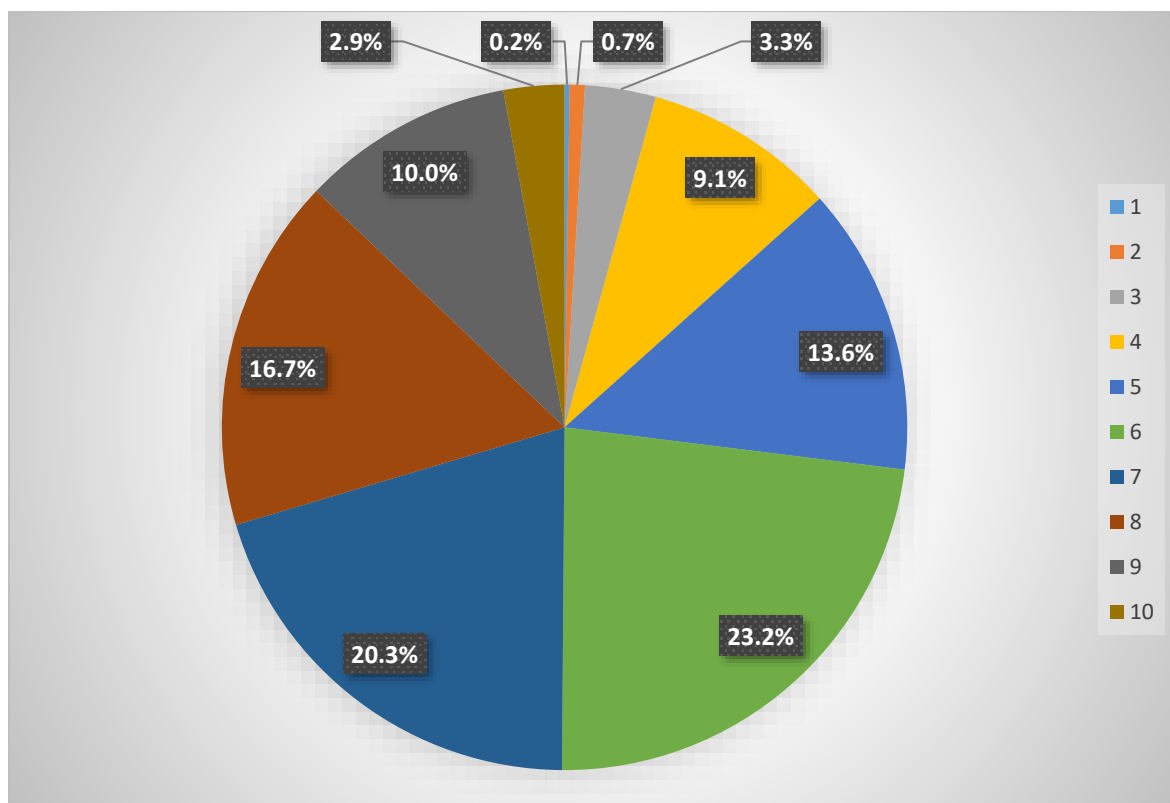


7. ábra A vizsgált törzsek (n=420) antibiotikum hatóanyagokkal szembeni rezisztencia gyakoriság száma aszerint, hogy hány hatóanyaggal (n=16) szemben mutatnak rezisztenciát.

Az általunk vizsgált 20-féle hatóanyag 10-féle antibiotikum hatóanyag csoportba sorolható. Az egyes hatóanyag csoportokkal szemben rezisztens törzsek arányát a 8. ábra szemlélteti. Ezek alapján be tudjuk sorolni a törzseket, hogy milyen típusú rezisztencia csoportba tartoznak. MDR törzsnek számítanak azok a törzsek, amelyek három vagy több antibiotikum csoportba tartozó, azokon belül legalább egy hatóanyaggal szemben mutatnak rezisztenciát. Négy törzs kivételével az összes általunk vizsgált törzs ennek megfelelően (99%) multirezisztensnek számított.

Kiterjedt gyógyszerrezisztens (XDR) törzseknek számítanak azok a törzsek, amelyek maximum egy vagy két antibiotikum csoportra érzékenyek és azokon a csoportokon belül egy vagy több hatóanyagra nézve rezisztenciát mutatnak. Vizsgálataink során a törzsek 26,7%-a sorolható ebbe a kategóriába.

Pánrezisztens (PDR) törzseknek számítanak azok a törzsek, amelyek az összes antibiotikum csoporttal szemben rezisztenciát mutatnak. Vizsgálataink során a törzsek 2,9%-a bizonyult pánrezisztensnek.



8. ábra A vizsgált törzsek (n=420) antibiotikum hatóanyag csoportokkal szembeni rezisztencia gyakorisága (n=10)

A **3. táblázat** összefoglalja a pánrezisztens törzsek antimikrobiális rezisztencia profilját, valamint azok regionális származását. A 12 törzs közül három esetében mind a 16-féle hatóanyaggal szemben rezisztensnek bizonyultak a törzsek. A rezisztencia profil esetén öt esetben tapasztaltuk azt, hogy mind az amoxicillin és amoxicillin-klavulánsav, valamint a cefotaxim és cefotaxim-klavulánsav MIC-értékei esetén a klavulánsavas kombináció legalább három hígítással kisebb MIC-értéket mutatott, ezek potenciálisan β -laktamáz és ESBL termelő törzseknek minősülnek. További három törzs esetén csak β -laktamáz termelésre és egy törzs esetében csak ESBL termelésre utaló eredményeket kaptunk. Eredményeinket a továbbiakban metagenomikai vizsgálattal fogjuk kiegészíteni és azonosítjuk a rezisztenciaprofil mögött álló géneket. Ezen pánrezisztens törzsek fele a közép-dunántúli régióból származott és két esetben figyeltük meg, hogy ugyanarról a telepről származott 3-3 db pánrezisztens törzs.

3. táblázat A pánrezisztens törzsek (n=12) antibiotikum rezisztencia profilja és regionális szintű lokalizációja.

Törzsszám	Antibiotikum rezisztencia profil	1	2	Régió
219/T/2022	AMX, AMK, CTR, NEO, SPE, DOX, FLO, ENR, KOL, PSA, CTX, IMI, GEN, TOB, AZT			Közép-Dunántúl
241/P/2022	AMX, AMK, CTR, NEO, SPE, DOX, FLO, ENR, KOL, PSA, IMI, GEN, TOB, AZT			Dél-Alföld
252/P/2022	AMX, AMK, CTR, NEO, SPE, DOX, FLO, ENR, KOL, PSA, CTX, IMI, GEN, TOB, AZT			Dél-Alföld
254/P/2022	AMX, AMK, CTR, NEO, SPE, DOX, FLO, ENR, KOL, PSA, CTX, CTK, IMI, GEN, TOB, AZT			Dél-Alföld
287/T/2022	AMX, AMK, CTR, NEO, SPE, FLO, ENR, PSA, IMI, GEN, TOB, AZT			Közép-Dunántúl
309/T/2022	AMX, AMK, CTR, SPE, DOX, FLO, ENR, KOL, PSA, IMI, GEN, TOB, AZT			Közép-Dunántúl
316/T/2022	AMX, AMK, CTR, NEO, SPE, DOX, FLO, ENR, KOL, PSA, IMI, GEN, TOB, AZT			Közép-Dunántúl
323/T/2022	AMX, AMK, CTR, NEO, SPE, DOX, FLO, ENR, KOL, PSA, CTX, IMI, GEN, TOB, AZT			Közép-Dunántúl
441/T/2022	AMX, AMK, CTR, NEO, SPE, DOX, FLO, ENR, KOL, PSA, CTX, IMI, GEN, TOB, AZT			Észak-Alföld
737/P/2022	AMX, AMK, CTR, NEO, SPE, DOX, FLO, ENR, KOL, PSA, CTX, CTK, IMI, GEN, TOB, AZT			Közép-Dunántúl
795/P/2022	AMX, AMK, CTR, NEO, SPE, DOX, FLO, ENR, KOL, PSA, CTX, CTK, IMI, GEN, TOB, AZT			Észak-Magyarország
1103/P/2023	AMX, AMK, CTR, NEO, SPE, DOX, FLO, ENR, KOL, PSA, CTX, IMI, GEN, AZT			Dél-Dunántúl

AMX-amoxicillin; AMK-amoxicillin-klavulánsav; CTR-ceftriaxon; NEO-neomicin; SPE-spektinomycin; DOX-doxiciklin; FLO-florfenikol; ENR-enrofloxacin; KOL-kolisztin; PSA-potenciált szulfonamid (szulfametoxazol és trimetoprim 20:1 arányban); CTX-cefotaxim; CTK-cefotaxim-klavulánsav; IMI-imipenem; GEN-gentamicin; TOB-tobramicin; AZT-aztreonam

 1 – β -laktamáz termelő; 2 – ESBL termelő

6. KÖVETKEZTETÉSEK

Kutatásunk során nagylétszámú házi- és pulykaállományokból gyűjtött kommenzalista *E. coli* izolátumok állat- és közegészségügyi szempontból fontos antibiotikumokra való érzékenységét vizsgáltuk, MIC-érték meghatározás segítségével; majd a CLSI iránymutatása szerint vizsgáltuk az ESBL termelés fenotípusos kifejeződését.

Összesen 881 kommenzalista izolátum előszűrését követően 420 olyan törzset (47,7%) válogattunk le, amelyek több hatóanyagra rezisztensnek bizonyultak, ezen törzsek 99%-a bizonyult MDR-nek. Adorján és mtsai. vizsgálatukban vágóhídi izolátumok esetén a törzsek 94%-nál állapítottak meg MDR-t [129], ellenben Nahla és mtsai. a vizsgált törzsek 2,2%-át [130], Musa és mtsai. pedig 35,1%-ban minősítették MDR törzsnek [131], Davis és mtsai. pulykák esetén 48%-os, csirkék esetén pedig 20%-os MDR gyakoriságot határoztak meg [132]. Yassin és mtsai. viszont 88,2%-os gyakorisággal [133], Gharaibeh és mtsai. 98,24%-ban mutattak ki MDR törzseket [134], Moawad és mtsai. pedig az összes vizsgált törzs esetén MDR-t állapított meg [135].

Az előszűrés során kolisztin hatóanyag esetében 34%-os rezisztenciát figyeltünk meg, Apostolakos és mtsai. kimutatása alapján kommenzalista törzsekre nézve csirkehús esetén 32,9%-os, pulykahús esetén 10,1%-os rezisztenciát figyeltek meg [136]. Az EUCAST csirkénél 0,9%-os, pulykánál 7,4%-os rezisztenciát írt le [108], ugyanakkor számos európai vizsgálat nem mutatott ki kolisztin rezisztenciát [108, 137–140] és a legtöbb esetben 5,9% alatti értékeket figyeltek meg [141–143].

Amoxicillin hatóanyagnál 92%-os rezisztenciát kaptunk, Adorján és mtsai. ellenben első vizsgálatuk során nem mutattak ki rezisztens törzset, viszont egy évre rá már 59%-os rezisztenciát tapasztaltak [129], Shrestha és mtsai. pulykánál 31,2%-os rezisztenciát figyeltek meg [144]. A humán rezisztencia szempontjából fontos hatóanyagot, az ampicillint vizsgálva csirkénél Hassan és mtsai. 32%-os [145], Kaushik és mtsai. 80,4%-os [146], Much és mtsai. ökológiai tartásban 19%-os, hagyományos tartásban 33,8%-os [147], De Jong és mtsai. pedig 32,7-65,3% közötti [148] rezisztencia értékeket figyeltek meg. Az amoxicillin-klavulánsav esetén 85%-os rezisztenciát állapítottunk meg, Moawad és mtsai. hozzánk hasonló módon igen nagy, 69,2%-os [135], Musu és mtsai. 35,1%-os [131], Gharaibeh és mtsai. pedig 42,98%-os rezisztenciát [134], ellenben Martínez-Álvarez és mtsai. 14,77%-os [149], Yassin és mtsai. csak 3,3%-os rezisztenciát találtak [133]. Boulianne és mtsai. pulykánál 34,5%-os [150], Majewski és mtsai. pedig csirkékben hozzánk hasonló módon 84,6%-os rezisztenciát állapítottak meg [151].

Ceftriaxon hatóanyagra nézve 35%-os rezisztenciát figyeltünk meg, ezzel szemben Cook és mtsai. nem találtak rezisztens törzset [152], Boulianne és mtsai. csirkékben hozzánk hasonló módon 33,1%-os rezisztenciát figyeltek meg [150], Agunos és mtsai. 1-10% közötti rezisztenciát írtak le [153], Kaushik és mtsai. pulykáknál szintén hozzánk hasonló 28,2%-os rezisztenciát figyeltek meg [146].

Potenciált szulfonamidra 100%-os rezisztenciát tapasztaltunk, ellenben Shrestha és mtsai. csirkékben csak 30,4%-os rezisztenciát [144], Hassan és mtsai. pulykáknál csak 38%-os [145], de Boulianne és mtsai. csirkékben hozzánk hasonló, 82,7%-os rezisztenciát mutattak ki [150], Majewski és mtsai. pedig pulykáknál 53,5%-os rezisztenciát írtak le [151].

Neomicin esetén 79%-os rezisztenciát tapasztaltunk, Boulianne és mtsai. pulykáknál 27,9%-os [150], Majewski és mtsai. pedig csirkéknél 84,6%-os rezisztenciát írtak le [151].

A második szűrésre használt hatóanyagok esetében gentamicin esetében 82%-os rezisztenciát tapasztaltunk, Adorján és mtsai. azonban első vizsgálatuk során csupán 8%-os, egy évvel későbbi vizsgálatuk során már 91%-os rezisztenciát tapasztaltak [129], Wasyl és mtsai. brojlercsirkéknél 7,18%-os, tojótyúkoknál 3,13%-os, pulykáknál 12,41%-os [154], Moawad és mtsai. pulykáknál már 65,4%-os [135], Gharaibeh és mtsai. pedig 45,61%-os [134], Yassin és mtsai. 26,4%-os [133], Martínez-Álvarez és mtsai. 12,5%-os [149], Kaesbohrer és mtsai. 5,3%-os [155], Grobbel és mtsai. 1,5%-os [156], Musu és mtsai. pedig 11,8%-os rezisztenciát figyeltek meg [131].

Tobramicin esetén 78%-os rezisztenciát figyeltünk meg, Schwaiger és mtsai. ezzel ellenben szabadtartásban 0,8%-os, konvencionális körülmények között 0,4%-os rezisztenciát tapasztaltak [157].

Aztreonam hatóanyagra nézve 22%-os rezisztenciát tapasztaltunk, Asai és mtsai. viszont nem mutattak ki rezisztens törzset [158], Yassin és mtsai. viszont hozzánk hasonló mértékben, 14,6%-os [133], Gharaibeh és mtsai. pedig 20,61%-os rezisztenciát állapítottak meg [134].

Amennyiben a β -laktamáz termelő törzsek arányát vizsgáltuk, akkor fenotípusosan a törzsek 72%-a bizonyult enzimtermelő törzsnek – a klavulánsavas kombinációban használt hatóanyag legalább 3x MIC-érték csökkenés kritériumát figyelembe véve. Az ESBL termelés fenotípusos szűrése során cefotaxim hatóanyagra önmagában 23%-os rezisztenciát határoztunk meg, Adorján és mtsai. 38%-os, egy évre rá már 100%-os [129], Wasyl és mtsai. viszont brojlercsirkéknél csak 8,65%-os, tojótyúkoknál 3,92%-os és pulykáknál csak 3,75%-os [154], Yassin és mtsai. pedig hozzánk hasonló módon 21,3%-os [133], Martínez-

Álvarez és mtsai. 1,14%-os [149], Kaesbohrer és mtsai. 3,2%-os [155], Grobbel és mtsai. 1,5%-os [156], Musu és mtsai. viszont 30,5%-os rezisztenciát írtak le [131]. A cefotaxim-klavulánsav kombináció esetén a rezisztencia csupán 8%-os volt, összehasonlító irodalom azonban nem áll rendelkezésre baromfiban. Ez utóbbi két eredményünk alapján az ESBL termelő törzsek arányát fenotípusosan 14%-ra becsültük, Nahla és mtsai. a törzsek 2,2%-ban [130], Asai és mtsai. hozzánk hasonló módon, 10,1%-ban [158], Shrivastav és mtsai. viszont 33,5%-ban [159], Martínez-Álvarez és mtsai. pedig 20,7%-ban határozták meg az ESBL termelő törzsek arányát [149]. Overdeest és mtsai. a vizsgált törzseknek már 76,8%-át azonosították ESBL termelőként [160], Doi és mtsai. felmérésükben pedig ezt Sevilában 67%-ban, Pittsburghben 85%-ban állapították meg [161]. Musu és mtsai. ugyanakkor csak 27,9%-os arányról számoltak be [131].

A vizsgált törzseink 0,7%-ban legalább 16-féle hatóanyaggal szemben, 2,4%-ban 15-féle hatóanyaggal, 3,1%-ban 14-féle hatóanyaggal, 6,4%-ban 13-féle hatóanyaggal, 13,3%-ban 12-féle hatóanyaggal, 18,1%-ban 11-féle hatóanyaggal és 13,6%-ban 10-féle hatóanyaggal szemben voltak rezisztensek. Összességében a fenotípusos vizsgálati eredmények alapján a törzsek 26,7%-a esetén feltételezzük, hogy az XDR törzs; Lu és mtsai. vizsgálataik során a törzsek 10,34%-a esetén azonosította a törzseket XDR-ként [162], Al-Mustapha és mtsai. pedig a törzsek 35,6%-a esetén állapította meg ezt [163], Hess és mtsai. vizsgálatában a törzsek 36,8%-a volt XDR [164]. A törzsek 2,9%-a esetén tapasztaltuk azt, hogy azok PDR törzsek voltak, ezzel ellentétben Hess és mtsai. nem találtak PDR törzset tojótűkokban [164].

Összességében elmondhatjuk, hogy a baromfiágazatban, különösen az *E. coli* esetén az antimikrobiális rezisztencia mértéke igen jelentős, ami összefüggésbe hozható azzal, hogy a baromfiágazat rendelkezik egyben az egyik legnagyobb antibiotikum felhasználással is. Eredményeink alátámasztják a rendszeres felmérések és monitorozások szükségszerűségét, a többlépcsős szűrés segítségével hatékonyan szűkíthető a törzsek száma, amely fenotípusos eredmények alapján meg tudjuk határozni azon törzsek listáját, amelyek esetében indokolt lehet a metagenomikai vizsgálatok elvégzése, hogy a multirezisztencia pontos genetikai hátterét feltárjuk. Az ESBL törzsek jelenléte a baromfiágazatban aggasztó, hiszen komoly közegészségügyi kockázatot hordoznak. A továbbiakban a leválogatott törzsek metagenomikai vizsgálatával kívánjuk folytatni a kutatásunkat, valamint tervezzük eredményeink összehasonlítását humán adatokkal, ezzel is megteremtve az Egy Egészség (*One Health*) koncepciót.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az antimikrobiális rezisztencia terjedése napjaink egyik legfontosabb egészségügyi kérdéskörévé vált. A rezisztens baktérium törzsek terjedéséhez mind a humán-, és állategészségügyi antibiotikum felhasználás hozzájárul, mivel szelekciós nyomást helyez a környezetünkben jelen lévő mikroorganizmusokra. Mivel a haszonállattartó telepek antibiotikum felhasználása jelentős, a táplálékláncba bekerülő, illetve a környezetbe kikerülő hatóanyagok a folyamat alapvető mozgató rugói. A folyamatos monitorozás elengedhetetlen, hiszen, ha a tendencia nem változik, az elkövetkező 30 évben, a világ vezető halálozási okává válik a rezisztens baktériumok által okozott megbetegedések száma.

Kutatásunk célja magyarországi nagylétszámú házityúk és pulyka állományok kommenzalista *Escherichia coli* törzseinek antibakteriális érzékenységét felmérni, különös tekintettel a kiterjedt spektrumú β -laktamáz (ESBL) termelés szempontjából. Laboratóriumi vizsgálataink során összesen, előzetesen minimális gátló koncentráció (MIC) érték meghatározások eredménye alapján leválogatott 420 törzs hat további, közegészségügyi szempontból jelentős hatóanyagra (amoxicillin, amoxicillin-klavulánsav, cefotaxim, gentamicin, tobramicin, imipenem és aztreonam) történő vizsgálatát végeztük el.

Eredményeink alapján ezek a törzsek gentamicinre 82%-ban, tobramicinre 78%-ban, cefotaximra 23%-ban, cefotaxim-klavulánsavra 8%-ban, imipenemre 46%-ban és aztreonámra 22%-ban mutattak rezisztenciát. ESBL termelés a törzsek 14%-a esetén feltételezhető a fenotípusos eredmények alapján, amelyet a *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI) irányelvei szerint, cefotaxim és cefotaxim-klavulánsav hatóanyagok segítségével vizsgáltunk. A 420 törzs 99%-a bizonyult multirezisztens törzsnek (MDR), 112 esetben (27%) kiterjedt gyógyszerrezisztenciát (XDR), míg 15 törzs esetében (4%) pánrezisztenciát (PDR) feltételezünk eredményeink alapján.

Eredményeink fenotípusos vizsgálatokon alapulnak, ezért a jövőben mindenképpen szükséges metagenomikai vizsgálatokkal kiegészíteni azokat, hogy a rezisztenciáért felelős genetikai hátteret is meg tudjuk erősíteni, összefüggéseket keresve a multirezisztencia fenotípusos és genotípusos kapcsolata között. Összességében elmondhatjuk, hogy a multirezisztens törzsek aránya aggodalomra ad okot a baromfiágazat kommenzalista törzsei között, hiszen azok a közegészségügy számára tartalékként kritikusán fontos hatóanyagokkal szemben is nagymértékű érzékenység csökkenést mutattak, továbbá az ESBL termelő törzsek jelenléte szintén komoly állat- és közegészségügyi aggályokat vet fel.

8. SUMMARY

The spread of antimicrobial resistance has become one of the most important health issues of our time. Both human and veterinary antibiotic use contributes to the spread of resistant bacterial strains by putting selection pressure on microorganisms in our environment. Since antibiotic use in livestock farms is significant, the active substances that enter the food chain and are released into the environment are the key drivers of this process. Continued monitoring is essential because, if the trend is not reversed, within the next 30 years, the world's leading cause of death will be the number of cases of disease caused by resistant bacteria.

The aim of our study was to assess the antibacterial susceptibility of commensal *Escherichia coli* strains in large Hungarian flocks of domestic fowls and turkeys, with particular emphasis on the production of extended-spectrum β -lactamase (ESBL). In our laboratory studies, a total of 420 strains selected on the basis of preliminary minimum inhibitory concentration (MIC) value determinations were tested for six additional active substances of public health importance (amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, cefotaxime, gentamicin, tobramycin, imipenem and aztreonam).

Our results showed that these strains showed resistance to gentamicin in 82%, tobramycin in 78%, cefotaxime in 23%, cefotaxime clavulanic acid in 8%, imipenem in 46% and aztreonam in 22%. ESBL production was suspected in 14% of the strains based on phenotypic results, which were tested according to Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) guidelines using cefotaxime and cefotaxime-clavulanic acid as active agents. Of the 420 strains, 99% were found to be multi-drug resistant (MDR), 112 (27%) were found to be extensively drug resistant (XDR) and 15 (4%) were found to be pan-drug resistant (PDR).

Our results are based on phenotypic studies and it is therefore essential to complement them with metagenomic studies in the future to confirm the genetic background responsible for resistance, looking for correlations between phenotypic and genotypic associations of multi-drug resistance. In conclusion, the proportion of multi-resistant strains is a cause for concern among the commensal strains in the poultry sector, which have also shown a high loss of susceptibility to critically important agents reserved for public health, and the presence of ESBL-producing strains also raises serious animal and public health concerns.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Blaak H, Hoek AHAM van, Hamidjaja RA, Plaats RQJ van der, Heer LK, Husman AM de R, Schets FM (2015) Distribution, Numbers, and Diversity of ESBL-Producing *E. coli* in the Poultry Farm Environment. *PLOS ONE* 10:e0135402. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135402>
2. Giono-Cerezo S, Santos-Preciado JJ, Morfín-Otero MDR, Torres-López FJ, Alcántar-Curiel MD (2020) Antimicrobial resistance. Its importance and efforts to control it. *Gac Med Mex* 156:171–178. <https://doi.org/10.24875/GMM.M20000358>
3. Munita JM, Arias CA (2016) Mechanisms of Antibiotic Resistance. In: *Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens*. John Wiley & Sons, Ltd, pp 481–511
4. Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM (2008) Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clinical Microbiology and Infection* 14:144–153. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01850.x>
5. Wu W, Feng Y, Tang G, Qiao F, McNally A, Zong Z (2019) NDM Metallo- β -Lactamases and Their Bacterial Producers in Health Care Settings. *Clin Microbiol Rev* 32:e00115-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00115-18>
6. Karłowsky JA, Lob SH, Kazmierczak KM, Badal RE, Young K, Motyl MR, Sahm DF (2017) In Vitro Activity of Imipenem against Carbapenemase-Positive Enterobacteriaceae Isolates Collected by the SMART Global Surveillance Program from 2008 to 2014. *Journal of Clinical Microbiology* 55:1638–1649. <https://doi.org/10.1128/jcm.02316-16>
7. Zhang R, Liu H, Zhou H, Chan EW, Li J, Fang Y, Li Y, Liao K, Chen S (2017) Nationwide Surveillance of Clinical Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) Strains in China. *EBioMedicine* 19:98–106. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.04.032>
8. Grundmann H, Glasner C, Albiger B, Aanensen DM, Tomlinson CT, Andrasević AT, Cantón R, Carmeli Y, Friedrich AW, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Nordmann P, Poirel L, Rossolini GM, Seifert H, Vatopoulos A, Walsh T, Woodford N, Monnet DL, Koraqi A, Lacey D, Apfalter P, Hartl R, Glupczynski Y, Huang T-D, Strateva T, Marteva-Proevska Y, Andrasevic AT, Butic I, Pieridou-Bagatzouni D, Maikanti-Charalampous P, Hrabak J, Zemlickova H, Hammerum A, Jakobsen L, Ivanova M, Pavelkovich A, Jalava J, Österblad M, Dortet L, Vaux S, Kaase M, Gatermann SG, Vatopoulos A, Tryfinopoulou K, Tóth Á, Jánvári L, Boo TW, McGrath E, Carmeli Y, Adler A, Pantosti A, Monaco M, Raka L, Kurti A, Balode A, Saule M, Miciuleviciene J, Mierauskaite A, Perrin-Weniger M, Reichert P, Nestorova N, Debbatista S, Mijovic G, Lopicic M, Samuelsen Ø, Haldorsen B, Zabicka D, Literacka E, Caniça M, Manageiro V, Kaftandzieva A, Trajkovska-Dokic E, Damian M, Lixandru B, Jelesic Z, Trudic A, Niks M, Schreterova E, Pirs M, Cerar T, Oteo J, Aracil B, Giske C, Sjöström K, Gür D, Cakar A, Woodford N, Hopkins K, Wiuff C, Brown DJ (2017) Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *The Lancet Infectious Diseases* 17:153–163. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30257-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30257-2)
9. Fleming SA (1946) *Chemotherapy: Yesterday, To-day, and To-morrow*. CUP Archive
10. Rolinson GN (1998) Forty years of beta-lactam research. *J Antimicrob Chemother* 41:589–603. <https://doi.org/10.1093/jac/41.6.589>
11. Jacoby GA, Archer GL (1991) New Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *New England Journal of Medicine* 324:601–612. <https://doi.org/10.1056/NEJM199102283240906>
12. Huang T-M, Lin TL, Wu CC (2009) Antimicrobial susceptibility and resistance of chicken *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., and *Pasteurella multocida* isolates. *Avian Dis* 53:89–93. <https://doi.org/10.1637/8268-021608-Reg.1>
13. Sellyei B, Varga Z, Szentesi-Samu K, Kaszanyitzky É, Magyar T (2009) Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from swine and poultry. *Acta Veterinaria Hungarica* 57:357–367. <https://doi.org/10.1556/AVet.57.2009.3.2>
14. Hesp A, Veldman K, van der Goot J, Mevius D, van Schaik G (2019) Monitoring antimicrobial resistance trends in commensal *Escherichia coli* from livestock, the Netherlands, 1998 to 2016. *Euro Surveill* 24:1800438. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.25.1800438>
15. Landoni MF, Albarellos G (2015) The use of antimicrobial agents in broiler chickens. *Vet J* 205:21–27. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.04.016>
16. Agunos A, Léger DF, Carson CA, Gow SP, Bosman A, Irwin RJ, Reid-Smith RJ (2017) Antimicrobial use surveillance in broiler chicken flocks in Canada, 2013–2015. *PLoS One* 12:e0179384. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179384>
17. Hiki M, Kawanishi M, Abo H, Kojima A, Koike R, Hamamoto S, Asai T (2015) Decreased Resistance to Broad-Spectrum Cephalosporin in *Escherichia coli* from Healthy Broilers at Farms in Japan After

- Voluntary Withdrawal of Ceftiofur. *Foodborne Pathog Dis* 12:639–643. <https://doi.org/10.1089/fpd.2015.1960>
18. Shigemura H, Matsui M, Sekizuka T, Onozuka D, Noda T, Yamashita A, Kuroda M, Suzuki S, Kimura H, Fujimoto S, Oishi K, Sera N, Inoshima Y, Murakami K (2018) Decrease in the prevalence of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Salmonella* following cessation of ceftiofur use by the Japanese poultry industry. *Int J Food Microbiol* 274:45–51. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.03.011>
 19. Poirel L, Stephan R, Perreten V, Nordmann P (2014) The carbapenemase threat in the animal world: The wrong culprit. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69:2007–2008. <https://doi.org/10.1093/jac/dku054>
 20. Abraham EP, Chain E (1988) An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. 1940. *Rev Infect Dis* 10:677–678
 21. Sykes RB, Matthew M (1976) The beta-lactamases of gram-negative bacteria and their role in resistance to beta-lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 2:115–157. <https://doi.org/10.1093/jac/2.2.115>
 22. Livermore DM (1995) beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 8:557–584. <https://doi.org/10.1128/CMR.8.4.557>
 23. De Pascale G, Wright GD (2010) Antibiotic resistance by enzyme inactivation: from mechanisms to solutions. *Chembiochem* 11:1325–1334. <https://doi.org/10.1002/cbic.201000067>
 24. Abraham EP, Chain E (1940) An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin. *Nature* 146:837–837. <https://doi.org/10.1038/146837a0>
 25. Massova I, Mobashery S (1998) Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 42:1–17. <https://doi.org/10.1128/AAC.42.1.1>
 26. Bush K (1989) Characterization of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 33:259–263
 27. Bush K (1989) Classification of beta-lactamases: groups 1, 2a, 2b, and 2b'. *Antimicrob Agents Chemother* 33:264–270. <https://doi.org/10.1128/AAC.33.3.264>
 28. Bush K (1989) Classification of beta-lactamases: groups 2c, 2d, 2e, 3, and 4. *Antimicrob Agents Chemother* 33:271–276. <https://doi.org/10.1128/AAC.33.3.271>
 29. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA (1995) A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 39:1211–1233. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.6.1211>
 30. Esterly JS, Richardson CL, Eltoukhy NS, Qi C, Scheetz MH (2011) Genetic Mechanisms of Antimicrobial Resistance of *Acinetobacter baumannii*. *Ann Pharmacother* 45:218–228. <https://doi.org/10.1345/aph.1P084>
 31. Bergström S, Normark S (1979) Beta-lactam resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* caused by elevated production of the ampC-mediated chromosomal beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 16:427–433. <https://doi.org/10.1128/AAC.16.4.427>
 32. Nakano R, Okamoto R, Nakano Y, Kaneko K, Okitsu N, Hosaka Y, Inoue M (2004) CFE-1, a novel plasmid-encoded AmpC beta-lactamase with an ampR gene originating from *Citrobacter freundii*. *Antimicrob Agents Chemother* 48:1151–1158. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.4.1151-1158.2004>
 33. Gazouli M, Tzouveleki LS, Vatopoulos AC, Tzelepi E (1998) Transferable class C beta-lactamases in *Escherichia coli* strains isolated in Greek hospitals and characterization of two enzyme variants (LAT-3 and LAT-4) closely related to *Citrobacter freundii* AmpC beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother* 42:419–425. <https://doi.org/10.1093/jac/42.4.419>
 34. Mulvey MR, Bryce E, Boyd DA, Ofner-Agostini M, Land AM, Simor AE, Paton S (2005) Molecular characterization of cefoxitin-resistant *Escherichia coli* from Canadian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 49:358–365. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.1.358-365.2005>
 35. Hopkins KL, Batchelor MJ, Liebana E, Deheer-Graham AP, Threlfall EJ (2006) Characterisation of CTX-M and AmpC genes in human isolates of *Escherichia coli* identified between 1995 and 2003 in England and Wales. *Int J Antimicrob Agents* 28:180–192. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2006.03.027>
 36. Crossman LC, Chaudhuri RR, Beatson SA, Wells TJ, Desvaux M, Cunningham AF, Petty NK, Mahon V, Brinkley C, Hobman JL, Savarino SJ, Turner SM, Pallen MJ, Penn CW, Parkhill J, Turner AK, Johnson TJ, Thomson NR, Smith SGJ, Henderson IR (2010) A commensal gone bad: complete genome sequence of the prototypical enterotoxigenic *Escherichia coli* strain H10407. *J Bacteriol* 192:5822–5831. <https://doi.org/10.1128/JB.00710-10>
 37. da Silva Dias RC, Borges-Neto AA, D'Almeida Ferraiuoli GI, de-Oliveira MP, Riley LW, Moreira BM (2008) Prevalence of AmpC and other beta-lactamases in enterobacteria at a large urban university hospital in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis* 60:79–87. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2007.07.018>

38. Potz NAC, Hope R, Warner M, Johnson AP, Livermore DM, London & South East ESBL Project Group (2006) Prevalence and mechanisms of cephalosporin resistance in Enterobacteriaceae in London and South-East England. *J Antimicrob Chemother* 58:320–326. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl217>
39. Darphorn TS, Hu Y, Koenders-van Sintanneland BB, Brul S, Ter Kuile BH (2021) Multiplication of ampC upon Exposure to a Beta-Lactam Antibiotic Results in a Transferable Transposon in *Escherichia coli*. *Int J Mol Sci* 22:9230. <https://doi.org/10.3390/ijms22179230>
40. Jamborova I, Dolejska M, Zurek L, Townsend AK, Clark AB, Ellis JC, Papousek I, Cizek A, Literak I (2017) Plasmid-mediated resistance to cephalosporins and quinolones in *Escherichia coli* from American crows in the USA. *Environ Microbiol* 19:2025–2036. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13722>
41. Horii T, Arakawa Y, Ohta M, Sugiyama T, Wacharotayankun R, Ito H, Kato N (1994) Characterization of a plasmid-borne and constitutively expressed blaMOX-1 gene encoding AmpC-type beta-lactamase. *Gene* 139:93–98. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(94\)90529-0](https://doi.org/10.1016/0378-1119(94)90529-0)
42. Barnaud G, Arlet G, Verdet C, Gaillot O, Lagrange PH, Philippon A (1998) *Salmonella enteritidis*: AmpC plasmid-mediated inducible beta-lactamase (DHA-1) with an ampR gene from *Morganella morganii*. *Antimicrob Agents Chemother* 42:2352–2358. <https://doi.org/10.1128/AAC.42.9.2352>
43. Gonzalez Leiza M, Perez-Diaz JC, Ayala J, Casellas JM, Martinez-Beltran J, Bush K, Baquero F (1994) Gene sequence and biochemical characterization of FOX-1 from *Klebsiella pneumoniae*, a new AmpC-type plasmid-mediated beta-lactamase with two molecular variants. *Antimicrob Agents Chemother* 38:2150–2157. <https://doi.org/10.1128/AAC.38.9.2150>
44. Chirindze LM, Zimba TF, Sekyere JO, Govinden U, Chenia HY, Sundsfjord A, Essack SY, Simonsen GS (2018) Faecal colonization of *E. coli* and *Klebsiella* spp. producing extended-spectrum beta-lactamases and plasmid-mediated AmpC in Mozambican university students. *BMC Infect Dis* 18:244. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3154-1>
45. Bradford PA (2001) Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 14:933–951, table of contents. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>
46. Thomson CJ, Amyes SG (1993) Molecular epidemiology of the plasmid-encoded TEM-1 beta-lactamase in Scotland. *Epidemiol Infect* 110:117–125. <https://doi.org/10.1017/s0950268800050743>
47. Sutcliffe JG (1978) Nucleotide sequence of the ampicillin resistance gene of *Escherichia coli* plasmid pBR322. *Proc Natl Acad Sci U S A* 75:3737–3741. <https://doi.org/10.1073/pnas.75.8.3737>
48. Bradford PA, Urban C, Jaiswal A, Mariano N, Rasmussen BA, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K (1995) SHV-7, a novel cefotaxime-hydrolyzing beta-lactamase, identified in *Escherichia coli* isolates from hospitalized nursing home patients. *Antimicrob Agents Chemother* 39:899–905. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.4.899>
49. Rasheed JK, Jay C, Metchock B, Berkowitz F, Weigel L, Crellin J, Steward C, Hill B, Medeiros AA, Tenover FC (1997) Evolution of extended-spectrum beta-lactam resistance (SHV-8) in a strain of *Escherichia coli* during multiple episodes of bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother* 41:647–653. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.3.647>
50. Bauernfeind A, Grimm H, Schweighart S (1990) A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infection* 18:294–298. <https://doi.org/10.1007/BF01647010>
51. Sabaté M, Tarragó R, Navarro F, Miró E, Vergés C, Barbé J, Prats G (2000) Cloning and sequence of the gene encoding a novel cefotaxime-hydrolyzing beta-lactamase (CTX-M-9) from *Escherichia coli* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 44:1970–1973. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.7.1970-1973.2000>
52. Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, Ernst S, Casellas JM (1996) Sequences of beta-lactamase genes encoding CTX-M-1 (MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with those of other beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 40:509–513. <https://doi.org/10.1128/AAC.40.2.509>
53. Aleem M, Azeem AR, Rahmatullah S, Vohra S, Nasir S, Andleeb S (2021) Prevalence of Bacteria and Antimicrobial Resistance Genes in Hospital Water and Surfaces. *Cureus* 13:e18738. <https://doi.org/10.7759/cureus.18738>
54. de Been M, Lanza VF, de Toro M, Scharringa J, Dohmen W, Du Y, Hu J, Lei Y, Li N, Tooming-Klunderud A, Heederik DJJ, Fluit AC, Bonten MJM, Willems RJL, de la Cruz F, van Schaik W (2014) Dissemination of cephalosporin resistance genes between *Escherichia coli* strains from farm animals and humans by specific plasmid lineages. *PLoS Genet* 10:e1004776. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004776>
55. Vourli S, Giakkoupi P, Miriagou V, Tzelepi E, Vatopoulos AC, Tzouvelekis LS (2004) Novel GES/IBC extended-spectrum beta-lactamase variants with carbapenemase activity in clinical enterobacteria. *FEMS Microbiol Lett* 234:209–213. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.03.028>

56. Navon-Venezia S, Chmelnitsky I, Leavitt A, Schwaber MJ, Schwartz D, Carmeli Y (2006) Plasmid-mediated imipenem-hydrolyzing enzyme KPC-2 among multiple carbapenem-resistant *Escherichia coli* clones in Israel. *Antimicrob Agents Chemother* 50:3098–3101. <https://doi.org/10.1128/AAC.00438-06>
57. Shibata N, Doi Y, Yamane K, Yagi T, Kurokawa H, Shibayama K, Kato H, Kai K, Arakawa Y (2003) PCR typing of genetic determinants for metallo-beta-lactamases and integrase carried by gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *J Clin Microbiol* 41:5407–5413. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.12.5407-5413.2003>
58. Poirel L, Naas T, Guibert M, Chaibi EB, Labia R, Nordmann P (1999) Molecular and biochemical characterization of VEB-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamase encoded by an *Escherichia coli* integron gene. *Antimicrob Agents Chemother* 43:573–581. <https://doi.org/10.1128/AAC.43.3.573>
59. Silva J, Aguilar C, Ayala G, Estrada MA, Garza-Ramos U, Lara-Lemus R, Ledezma L (2000) TLA-1: a new plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase from *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 44:997–1003. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.4.997-1003.2000>
60. Ortiz de la Rosa J-M, Nordmann P, Poirel L (2019) ESBLs and resistance to ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam combinations in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 74:1934–1939. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz149>
61. Adegoke AA, Madu CE, Aiyegoro OA, Stenström TA, Okoh AI (2020) Antibigram and beta-lactamase genes among cefotaxime resistant *E. coli* from wastewater treatment plant. *Antimicrob Resist Infect Control* 9:46. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-0702-4>
62. Salverda MLM, De Visser JAGM, Barlow M (2010) Natural evolution of TEM-1 β -lactamase: experimental reconstruction and clinical relevance. *FEMS Microbiol Rev* 34:1015–1036. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00222.x>
63. Nordmann P, Mammeri H (2007) Extended-spectrum cephalosporinases: structure, detection and epidemiology. *Future Microbiol* 2:297–307. <https://doi.org/10.2217/17460913.2.3.297>
64. Sougakoff W, Goussard S, Courvalin P (1988) The TEM-3 β -lactamase, which hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins, is derived from the TEM-2 penicillinase by two amino acid substitutions. *FEMS Microbiology Letters* 56:343–348. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1988.tb03204.x>
65. Athanasakopoulou Z, Reinicke M, Diezel C, Sofia M, Chatzopoulos DC, Braun SD, Reissig A, Spyrou V, Monecke S, Ehrlich R, Tsilipounidaki K, Giannakopoulos A, Petinaki E, Billinis C (2021) Antimicrobial Resistance Genes in ESBL-Producing *Escherichia coli* Isolates from Animals in Greece. *Antibiotics (Basel)* 10:389. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040389>
66. Gniadkowski M (2008) Evolution of extended-spectrum beta-lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect* 14 Suppl 1:11–32. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01854.x>
67. Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C (2008) The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clinical Microbiology and Infection* 14:33–41. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01867.x>
68. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, Chaudhary U, Doumith M, Giske CG, Irfan S, Krishnan P, Kumar AV, Maharjan S, Mushtaq S, Noorie T, Paterson DL, Pearson A, Perry C, Pike R, Rao B, Ray U, Sarma JB, Sharma M, Sheridan E, Thirunarayan MA, Turtton J, Upadhyay S, Warner M, Welfare W, Livermore DM, Woodford N (2010) Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis* 10:597–602. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70143-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70143-2)
69. Aguirre L, Vidal A, Seminati C, Tello M, Redondo N, Darwich L, Martín M (2020) Antimicrobial resistance profile and prevalence of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL), AmpC beta-lactamases and colistin resistance (*mcr*) genes in *Escherichia coli* from swine between 1999 and 2018. *Porcine Health Manag* 6:8. <https://doi.org/10.1186/s40813-020-00146-2>
70. Carvalho I, Carvalho JA, Martínez-Álvarez S, Sadi M, Capita R, Alonso-Calleja C, Rabbi F, Dapkevicius M de LNE, Igrejas G, Torres C, Poeta P (2021) Characterization of ESBL-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Clinical Samples in a Northern Portuguese Hospital: Predominance of CTX-M-15 and High Genetic Diversity. *Microorganisms* 9:1914. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091914>
71. Freitag C, Michael GB, Kadlec K, Hassel M, Schwarz S (2017) Detection of plasmid-borne extended-spectrum β -lactamase (ESBL) genes in *Escherichia coli* isolates from bovine mastitis. *Vet Microbiol* 200:151–156. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.08.010>
72. Händel N, Otte S, Jonker M, Brul S, ter Kuile BH (2015) Factors that affect transfer of the Inc11 β -lactam resistance plasmid pESBL-283 between *E. coli* strains. *PLoS One* 10:e0123039. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123039>
73. Kim S, Kim H, Kim Y, Kim M, Kwak H, Ryu S (2020) Whole-Genome Sequencing-Based Characteristics in Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolated from Retail Meats in Korea. *Microorganisms* 8:E508. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040508>

74. Page MGP (2008) Extended-spectrum beta-lactamases: structure and kinetic mechanism. *Clin Microbiol Infect* 14 Suppl 1:63–74. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01863.x>
75. Walther-Rasmussen J, Høiby N (2006) OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother* 57:373–383. <https://doi.org/10.1093/jac/dki482>
76. Evans BA, Amyes SGB (2014) OXA β -lactamases. *Clin Microbiol Rev* 27:241–263. <https://doi.org/10.1128/CMR.00117-13>
77. Couture F, Lachapelle J, Levesque RC (1992) Phylogeny of LCR-1 and OXA-5 with class A and class D beta-lactamases. *Mol Microbiol* 6:1693–1705. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1992.tb00894.x>
78. Allen HK, Moe LA, Rodbumrer J, Gaarder A, Handelsman J (2009) Functional metagenomics reveals diverse beta-lactamases in a remote Alaskan soil. *ISME J* 3:243–251. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.86>
79. Hall LM, Livermore DM, Gur D, Akova M, Akalin HE (1993) OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 37:1637–1644. <https://doi.org/10.1128/AAC.37.8.1637>
80. Philippon LN, Naas T, Bouthors AT, Barakett V, Nordmann P (1997) OXA-18, a class D clavulanic acid-inhibited extended-spectrum beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 41:2188–2195. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.10.2188>
81. Toleman MA, Rolston K, Jones RN, Walsh TR (2003) Molecular and biochemical characterization of OXA-45, an extended-spectrum class 2d' beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 47:2859–2863. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.9.2859-2863.2003>
82. Shin KS, Son BR, Hong SB, Kim J (2008) Dipicolinic acid-based disk methods for detection of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *Diagn Microbiol Infect Dis* 62:102–105. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.04.015>
83. Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y (2002) Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 40:3798–3801. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.10.3798-3801.2002>
84. Carfi A, Pares S, Duée E, Galleni M, Duez C, Frère JM, Dideberg O (1995) The 3-D structure of a zinc metallo-beta-lactamase from *Bacillus cereus* reveals a new type of protein fold. *EMBO J* 14:4914–4921
85. Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, Yoshimura F, Kato N (1994) Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 38:71–78. <https://doi.org/10.1128/AAC.38.1.71>
86. Yang Y, Rasmussen BA, Bush K (1992) Biochemical characterization of the metallo-beta-lactamase CcrA from *Bacteroides fragilis* TAL3636. *Antimicrob Agents Chemother* 36:1155–1157. <https://doi.org/10.1128/AAC.36.5.1155>
87. Lee M-F, Peng C-F, Hsu H-J, Chen Y-H (2008) Molecular characterisation of the metallo-beta-lactamase genes in imipenem-resistant Gram-negative bacteria from a university hospital in southern Taiwan. *Int J Antimicrob Agents* 32:475–480. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.07.009>
88. Liénard BMR, Garau G, Horsfall L, Karsisiotis AI, Damblon C, Lassaux P, Papamichael C, Roberts GCK, Galleni M, Dideberg O, Frère J-M, Schofield CJ (2008) Structural basis for the broad-spectrum inhibition of metallo-beta-lactamases by thiols. *Org Biomol Chem* 6:2282–2294. <https://doi.org/10.1039/b802311e>
89. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, Chaudhary U, Doumith M, Giske CG, Irfan S, Krishnan P, Kumar AV, Maharjan S, Mushtaq S, Noorie T, Paterson DL, Pearson A, Perry C, Pike R, Rao B, Ray U, Sarma JB, Sharma M, Sheridan E, Thirunarayan MA, Turton J, Upadhyay S, Warner M, Welfare W, Livermore DM, Woodford N (2010) Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis* 10:597–602. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70143-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70143-2)
90. Kus JV, Tadros M, Simor A, Low DE, McGeer AJ, Willey BM, Larocque C, Pike K, Edwards I-A, Dedier H, Melano R, Boyd DA, Mulvey MR, Louie L, Okeahialam C, Bayley M, Whitehead C, Richardson D, Carr L, Jinnah F, Poutanen SM (2011) New Delhi metallo- β -lactamase-1: local acquisition in Ontario, Canada, and challenges in detection. *CMAJ* 183:1257–1261. <https://doi.org/10.1503/cmaj.110477>
91. Paget JT, Burge TS (2014) Keeping New Delhi metallo- β -lactamase-1 at the door. *J Burn Care Res* 35:e125-127. <https://doi.org/10.1097/BCR.0b013e3182920d41>
92. Nordmann P, Poirel L, Toleman MA, Walsh TR (2011) Does broad-spectrum beta-lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria? *J Antimicrob Chemother* 66:689–692. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq520>

93. Hornsey M, Phee L, Wareham DW (2011) A novel variant, NDM-5, of the New Delhi metallo- β -lactamase in a multidrug-resistant *Escherichia coli* ST648 isolate recovered from a patient in the United Kingdom. *Antimicrob Agents Chemother* 55:5952–5954. <https://doi.org/10.1128/AAC.05108-11>
94. Nordmann P, Poirel L, Walsh TR, Livermore DM (2011) The emerging NDM carbapenemases. *Trends Microbiol* 19:588–595. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.09.005>
95. Zhang H, Hao Q (2011) Crystal structure of NDM-1 reveals a common β -lactam hydrolysis mechanism. *FASEB J* 25:2574–2582. <https://doi.org/10.1096/fj.11-184036>
96. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, Walsh TR (2009) Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother* 53:5046–5054. <https://doi.org/10.1128/AAC.00774-09>
97. Kopotsa K, Osei Sekyere J, Mbelle NM (2019) Plasmid evolution in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a review. *Ann N Y Acad Sci* 1457:61–91. <https://doi.org/10.1111/nyas.14223>
98. Miriagou V, Tzelepi E, Gianneli D, Tzouveleakis LS (2003) *Escherichia coli* with a self-transferable, multiresistant plasmid coding for metallo-beta-lactamase VIM-1. *Antimicrob Agents Chemother* 47:395–397. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.1.395-397.2003>
99. Leflon-Guibout V, Speldooren V, Heym B, Nicolas-Chanoine M (2000) Epidemiological survey of amoxicillin-clavulanate resistance and corresponding molecular mechanisms in *Escherichia coli* isolates in France: new genetic features of bla(TEM) genes. *Antimicrob Agents Chemother* 44:2709–2714. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.10.2709-2714.2000>
100. Prinarakis EE, Miriagou V, Tzelepi E, Gazouli M, Tzouveleakis LS (1997) Emergence of an inhibitor-resistant beta-lactamase (SHV-10) derived from an SHV-5 variant. *Antimicrob Agents Chemother* 41:838–840. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.4.838>
101. Shurina BA, Page RC (2021) Structural Comparisons of Cefotaximase (CTX-M-ase) Sub Family 1. *Front Microbiol* 12:688509. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.688509>
102. Karim A, Poirel L, Nagarajan S, Nordmann P (2001) Plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-3 like) from India and gene association with insertion sequence ISEcp1. *FEMS Microbiol Lett* 201:237–241. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2001.tb10762.x>
103. Bush K, Jacoby GA (2010) Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 54:969–976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
104. Augère-Granier M-L (2019) The EU poultry meat and egg sector: Main features, challenges and prospects
105. Agunos A, Léger D, Carson C (2012) Review of antimicrobial therapy of selected bacterial diseases in broiler chickens in Canada. *Can Vet J* 53:1289–1300
106. FAO (2022) World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2022. FAO, Rome, Italy
107. (2013) 2013/652/EU: Commission Implementing Decision of 12 November 2013 on the monitoring and reporting of antimicrobial resistance in zoonotic and commensal bacteria (notified under document C(2013) 7145) Text with EEA relevance
108. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control (2019) The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. *EFSA J* 17:e05598. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5598>
109. Gomes TAT, Elias WP, Scaletsky ICA, Guth BEC, Rodrigues JF, Piazza RMF, Ferreira LCS, Martinez MB (2016) Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Braz J Microbiol* 47:3–30. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>
110. Commensal and Pathogenic *Escherichia coli* Metabolism in the Gut - Metabolism and Bacterial Pathogenesis - Wiley Online Library. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1128/9781555818883.ch16>. Accessed 13 Jul 2023
111. IJERPH | Free Full-Text | *Escherichia coli* in Europe: An Overview. <https://www.mdpi.com/1660-4601/10/12/6235>. Accessed 10 Jul 2023
112. Vila J, Sáez-López E, Johnson JR, Römling U, Dobrindt U, Cantón R, Giske CG, Naas T, Carattoli A, Martínez-Medina M, Bosch J, Retamar P, Rodríguez-Baño J, Baquero F, Soto SM (2016) *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiology Reviews* 40:437–463. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw005>
113. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT (2004) Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2:123–140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
114. Cefotaxime - Abstract - Europe PMC. <https://europepmc.org/article/MED/32809488/undefined#free-full-text>. Accessed 25 Jun 2023
115. Todd PA, Brogden RN (1990) Cefotaxime. *Drugs* 40:608–651. <https://doi.org/10.2165/00003495-199040040-00008>

116. Das N, Madhavan J, Selvi A, Das D (2019) An overview of cephalosporin antibiotics as emerging contaminants: a serious environmental concern. *3 Biotech* 9:231. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1766-9>
117. Pérez-Moreno MO, Katargina O, Pérez-Moreno M, Carulla M, Rubio C, Jardí AM, Zaragoza J (2004) Mechanisms of reduced susceptibility to amoxycillin-clavulanic acid in *Escherichia coli* strains from the health region of Tortosa (Catalonia, Spain). *Clinical Microbiology and Infection* 10:234–241. <https://doi.org/10.1111/j.1198-743X.2004.00766.x>
118. Neu HC, Fu KP (1978) Clavulanic Acid, a Novel Inhibitor of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 14:650–655. <https://doi.org/10.1128/aac.14.5.650>
119. Papp-Wallace KM, Bonomo RA (2016) New β -Lactamase Inhibitors in the Clinic. *Infect Dis Clin North Am* 30:441–464. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.007>
120. (1991) Imipenem. *Mayo Clinic Proceedings* 66:1074–1081. [https://doi.org/10.1016/S0025-6196\(12\)61732-7](https://doi.org/10.1016/S0025-6196(12)61732-7)
121. Two decades of imipenem therapy | *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* | Oxford Academic. <https://academic.oup.com/jac/article/58/5/916/740065>. Accessed 30 Jun 2023
122. Aminoglycosides: An Overview - PMC. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4888811/>. Accessed 30 Jun 2023
123. Becker B, Cooper MA (2013) Aminoglycoside Antibiotics in the 21st Century. *ACS Chem Biol* 8:105–115. <https://doi.org/10.1021/cb3005116>
124. Sykes RB, Bonner DP (1985) Aztreonam: The first monobactam. *The American Journal of Medicine* 78:2–10. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(85\)90196-2](https://doi.org/10.1016/0002-9343(85)90196-2)
125. Johnson DH, Cunha BA (1995) Aztreonam. *Med Clin North Am* 79:733–743. [https://doi.org/10.1016/s0025-7125\(16\)30036-0](https://doi.org/10.1016/s0025-7125(16)30036-0)
126. Ramsey C, MacGowan AP (2016) A review of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of aztreonam. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 71:2704–2712. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw231>
127. Cunha BA (1993) Aztreonam. *Urology* 41:249–258. [https://doi.org/10.1016/0090-4295\(93\)90568-U](https://doi.org/10.1016/0090-4295(93)90568-U)
128. (2018) CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*, 11. th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
129. Adorján A, Makrai L, Mag T, Jánosi S, Könyves L, Tóth I (2020) High Frequency of Multidrug-Resistant (MDR) Atypical Enteropathogenic *Escherichia coli* (aEPEC) in Broilers in Hungary. *Frontiers in Veterinary Science* 7:
130. Eltai NO, Abdfarag EA, Al-Romaihi H, Wehedy E, Mahmoud MH, Alawad OK, Al-Hajri MM, Al Thani AA, Yassine HM (2018) Antibiotic Resistance Profile of Commensal *Escherichia coli* Isolated from Broiler Chickens in Qatar. *Journal of Food Protection* 81:302–307. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-191>
131. Musa L, Casagrande Proietti P, Branciari R, Menchetti L, Bellucci S, Ranucci D, Marenzoni ML, Franciosini MP (2020) Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* and ESBL-Producing *Escherichia coli* Diffusion in Conventional, Organic and Antibiotic-Free Meat Chickens at Slaughter. *Animals (Basel)* 10:1215. <https://doi.org/10.3390/ani10071215>
132. Davis GS, Waits K, Nordstrom L, Grande H, Weaver B, Papp K, Horwinski J, Koch B, Hungate BA, Liu CM, Price LB (2018) Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from retail poultry meat with different antibiotic use claims. *BMC Microbiology* 18:174. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1322-5>
133. Yassin AK, Gong J, Kelly P, Lu G, Guardabassi L, Wei L, Han X, Qiu H, Price S, Cheng D, Wang C (2017) Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolates from poultry and livestock, China. *PLOS ONE* 12:e0185326. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185326>
134. Gharaibeh MH, Al Sheyab SY, Malkawi IM, Al Qudsi FR (2023) Evaluation of Slaughterhouse Conditions on *Escherichia Coli* Isolated from Chicken Livers: Phenotypic and Genotypic Assessment
135. Moawad AA, Hotzel H, Hafez HM, Ramadan H, Tomaso H, Braun SD, Ehricht R, Diezel C, Gary D, Engelmann I, Zakaria IM, Reda RM, Eid S, Shahien MA, Neubauer H, Monecke S (2022) Occurrence, Phenotypic and Molecular Characteristics of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Healthy Turkeys in Northern Egypt. *Antibiotics* 11:1075. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081075>
136. Apostolakis I, Piccirillo A (2018) A review on the current situation and challenges of colistin resistance in poultry production. *Avian Pathol* 47:546–558. <https://doi.org/10.1080/03079457.2018.1524573>
137. de Jong A, Thomas V, Simjee S, Godinho K, Schiessl B, Klein U, Butty P, Vallé M, Marion H, Shryock TR (2012) Pan-European monitoring of susceptibility to human-use antimicrobial agents in enteric bacteria isolated from healthy food-producing animals. *J Antimicrob Chemother* 67:638–651. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr539>
138. Home - DANMAP -. In: <https://www.danmap.org>. <https://www.danmap.org/>. Accessed 22 Sep 2023

139. Harisberger M, Gobeli S, Hoop R, Dewulf J, Perreten V, Regula G (2011) Antimicrobial Resistance in Swiss Laying Hens, Prevalence and Risk Factors. *Zoonoses and Public Health* 58:377–387. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2010.01376.x>
140. Adelowo OO, Fagade OE, Agersø Y (2014) Antibiotic resistance and resistance genes in *Escherichia coli* from poultry farms, southwest Nigeria. *J Infect Dev Ctries* 8:1103–1112. <https://doi.org/10.3855/jidc.4222>
141. Perrin-Guyomard A, Bruneau M, Houée P, Deleurme K, Legrandois P, Poirier C, Soumet C, Sanders P (2016) Prevalence of mcr-1 in commensal *Escherichia coli* from French livestock, 2007 to 2014. *Euro Surveill* 21:. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.6.30135>
142. de Greeff SC, Schoffelen AF, Verduin CM (2020) NethMap 2020: Consumption of antimicrobial agents and antimicrobial resistance among medically important bacteria in the Netherlands in 2019 / MARAN 2020: Monitoring of Antimicrobial Resistance and Antibiotic Usage in Animals in the Netherlands in 2019. Rijksoverheid voor Volksgezondheid en Milieu RIVM
143. jvarm2008_2011.pdf
144. Shrestha RD, Agunos A, Gow SP, Deckert AE, Varga C (2022) Associations between antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* isolates and antimicrobial use in Canadian turkey flocks. *Front Microbiol* 13:954123. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.954123>
145. Hassan IZ, Wandrag B, Gouws JJ, Qekwana DN, Naidoo V (2021) Antimicrobial resistance and mcr-1 gene in *Escherichia coli* isolated from poultry samples submitted to a bacteriology laboratory in South Africa. *Vet World* 14:2662–2669. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2662-2669>
146. Kaushik P, Anjay A, Kumari S, Dayal S, Kumar S (2018) Antimicrobial resistance and molecular characterisation of *E. coli* from poultry in Eastern India. *Vet Ital* 54:197–204. <https://doi.org/10.12834/VetIt.330.1382.2>
147. Much P, Sun H, Lassnig H, Koeberl-Jelovcan S, Schliessnig H, Stueger HP (2019) Differences in antimicrobial resistance of commensal *Escherichia coli* isolated from caecal contents of organically and conventionally raised broilers in Austria, 2010–2014 and 2016. *Preventive Veterinary Medicine* 171:104755. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104755>
148. De Jong A, El Garch F, Hocquet D, Prenger-Berninghoff E, Dewulf J, Migura-Garcia L, Perrin-Guyomard A, Veldman KT, Janosi S, Skarzynska M, Simjee S, Moyaert H, Rose M, EASSA Study Group (2022) European-wide antimicrobial resistance monitoring in commensal *Escherichia coli* isolated from healthy food animals between 2004 and 2018. *J Antimicrob Chemother* 77:3301–3311. <https://doi.org/10.1093/jac/dkac318>
149. Martínez-Álvarez S, Sanz S, Olarte C, Hidalgo-Sanz R, Carvalho I, Fernández-Fernández R, Campaña-Burguet A, Latorre-Fernández J, Zarazaga M, Torres C (2022) Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* from the Broiler Farm Environment, with Detection of SHV-12-Producing Isolates. *Antibiotics* 11:444. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040444>
150. Boulianne M, Arsenault J, Daignault D, Archambault M, Letellier A, Dutil L (2016) Drug use and antimicrobial resistance among *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. isolates from chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada. *Can J Vet Res* 80:49–59
151. Majewski M, Józefiak A, Kimsa-Furdzik M, Dziubdziela L, Hudak-Nowak M, Wilczyński J, Anusz K (2021) Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. conventionally sampled from factory-farmed chickens – clinical submissions. *Ann Agric Environ Med* 28:271–276. <https://doi.org/10.26444/aaem/120927>
152. Cook A, Reid-Smith R, Irwin R, McEwen SA, Valdivieso-Garcia A, Ribble C (2009) Antimicrobial resistance in *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* isolated from retail turkey meat from southern Ontario, Canada. *J Food Prot* 72:473–481. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.3.473>
153. Agunos A, Gow SP, Léger DF, Carson CA, Deckert AE, Bosman AL, Loest D, Irwin RJ, Reid-Smith RJ (2019) Antimicrobial Use and Antimicrobial Resistance Indicators-Integration of Farm-Level Surveillance Data From Broiler Chickens and Turkeys in British Columbia, Canada. *Front Vet Sci* 6:131. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00131>
154. Wasyl D, Hoszowski A, Szulowski K, Zajac M (2013) Antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* isolated from animals at slaughter. *Frontiers in Microbiology* 4:
155. Kaesbohrer A, Schroeter A, Tenhagen B-A, Alt K, Guerra B, Appel B (2012) Emerging Antimicrobial Resistance in Commensal *Escherichia coli* with Public Health Relevance. *Zoonoses and Public Health* 59:158–165. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2011.01451.x>
156. Grobbel M, Hammerl JA, Alt K, Irrgang A, Kaesbohrer A, Tenhagen B-A (2022) Comparison of Antimicrobial Resistances in *Escherichia coli* from Conventionally and Organic Farmed Poultry from Germany. *Antibiotics* 11:1282. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101282>
157. Schwaiger K, Schmied E-MV, Bauer J (2008) Comparative analysis of antibiotic resistance characteristics of Gram-negative bacteria isolated from laying hens and eggs in conventional and organic

- keeping systems in Bavaria, Germany. *Zoonoses Public Health* 55:331–341. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01151.x>
158. Asai T, Masani K, Sato C, Hiki M, Usui M, Baba K, Ozawa M, Harada K, Aoki H, Sawada T (2011) Phylogenetic groups and cephalosporin resistance genes of *Escherichia coli* from diseased food-producing animals in Japan. *Acta Vet Scand* 53:52. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-52>
 159. Shrivastav A, Sharma RK, Sahni YP, Shrivastav N, Gautam V, Jain S (2016) Study of antimicrobial resistance due to extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in healthy broilers of Jabalpur. *Vet World* 9:1259–1263. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.1259-1263>
 160. Overdevest I, Willemsen I, Rijnsburger M, Eustace A, Xu L, Hawkey P, Heck M, Savelkoul P, Vandenbroucke-Grauls C, van der Zwaluw K, Huijsdens X, Kluytmans J (2011) Extended-Spectrum β -Lactamase Genes of *Escherichia coli* in Chicken Meat and Humans, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 17:1216–1222. <https://doi.org/10.3201/eid1707.110209>
 161. Doi Y, Paterson DL, Egea P, Pascual A, López-Cerero L, Navarro MD, Adams-Haduch JM, Qureshi ZA, Sidjabat HE, Rodríguez-Baño J (2010) Extended-spectrum and CMY-type β -lactamase-producing *Escherichia coli* in clinical samples and retail meat from Pittsburgh, USA and Seville, Spain. *Clinical Microbiology and Infection* 16:33–38. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03001.x>
 162. Lu Q, Zhang W, Luo L, Wang H, Shao H, Zhang T, Luo Q (2022) Genetic diversity and multidrug resistance of phylogenetic groups B2 and D in InPEC and ExPEC isolated from chickens in Central China. *BMC Microbiol* 22:60. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02469-2>
 163. Al-Mustapha AI, Alada SA, Raufu IA, Lawal AN, Eskola K, Brouwer MS, Adetunji V, Heikinheimo A (2022) Co-occurrence of antibiotic and disinfectant resistance genes in extensively drug-resistant *Escherichia coli* isolated from broilers in Ilorin, North Central Nigeria. *J Glob Antimicrob Resist* 31:337–344. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2022.11.002>
 164. Hess C, Troxler S, Jandreski-Cvetkovic D, Zloch A, Hess M (2022) *Escherichia coli* Isolated from Organic Laying Hens Reveal a High Level of Antimicrobial Resistance despite No Antimicrobial Treatments. *Antibiotics (Basel)* 11:467. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040467>

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, dr. Kerek Ádám egyetemi tanársegédnek, támogató segítségéért, amelyet a gyakorlati labormunka és a dolgozat megírása alatt is maradéktalanul megkaptam tőle. Szintén köszönettel tartozom dr. Mag Patrik egyetemi tanársegédnek támogatásáért, és mindenre kiterjedő segítségéért, kifejezetten a gyakorlati munkában.

Továbbá köszönettel tartozom az Állatorvostudományi Egyetem Gyógyszertani és Méregtani Tanszékének, külön kiemelve dr. Jerzsele Ákos tanszékvezetőt, amiért lehetőséget és teret biztosított a dolgozat megvalósításához.

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

Témavezetői nyilatkozat

Alulírott **Dr. Kerek Ádám**, mint témavezető nyilatkozom, hogy **Szabó Kinga**, **negyedik** évfolyamos hallgató „*Nagylétszámú baromfiállományokból izolált Escherichia coli törzsek kiterjedt spektrumú béta-laktamáz (ESBL) termelésének felmérése Magyarországon*” című dolgozatát átolvastam és jóváhagytam, részvételét támogatom az Állatorvostudományi Egyetem 2023. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján. Továbbá nyilatkozom, hogy a feltöltött TDK dolgozat plágiumellenőrzésen sikeresen átesett és az esetlegesen feltárt egyezőség az Egyetemi iránymutatásoknak/szabályoknak megfelel.

Budapest, 2023. október hó 03. nap.

.....

Dr. Kerek Ádám
témavezető