

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**Vadmadarak szerepe az antibiotikum rezisztencia  
terjedésében**

**Nagy József Bálint**

**Témavezető: Dr. Kardos Gábor**



**DEBRECENI EGYETEM**

**GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2024**

Rövidítésjegyzék .....	4
1. Bevezetés.....	6
2. Irodalmi áttekintés.....	8
2.1. Enterobacterales .....	8
2.2. Béta-laktamázok és csoportosításuk .....	8
2.3. ESBL-ek.....	8
2.3.1. TEM .....	9
2.3.2. SHV.....	9
2.3.3. CTX-M.....	9
2.4. Karbapenemázok.....	10
2.4.1. KPC .....	10
2.4.2. Metallo-enzimek .....	11
2.4.3. IMP.....	11
2.4.4. VIM.....	11
2.4.5. NDM .....	12
2.4.6. OXA .....	12
2.5. A béta-laktamázok epidemiológiája.....	12
2.6. Plazmidok.....	15
2.7. Egy egészség .....	16
2.8. Társ- és haszonállatok, mint lehetséges forrásai és közvetítői az antibiotikum rezisztenciának.....	16
2.9. A környezet szerepe az antibiotikum rezisztenciában .....	17
2.10. Rezisztencia a vadvilágban .....	19
3. Célkitűzés .....	25
4. Anyagok és módszerek.....	26
4.1. Minták és baktérium törzsek .....	26
4.2. Rezisztencia gének kimutatása.....	27
4.3. Tipizálás .....	30
4.4. Pulzáló-mezejú gél elektroforézis (PFGE) .....	30
4.5. Teljes genom szekvenálás (WGS) .....	30
5. Eredmények.....	35

5.1. A varjú eredetű ESBL-termelő <i>E. coli</i> izolátumok prevalenciája és jellemzői .....	35
5.2. A székletből származó tünetmentesen hordozott ESBL-termelő <i>E. coli</i> izolátumok prevalenciája és jellemzői .....	35
5.3. A klinikai mintákból származó ESBL-termelő <i>E. coli</i> izolátumok jellemzői .....	36
5.4. Az ESBL-termelő <i>E. coli</i> izolátumok molekuláris epidemiológiája .....	38
5.5. A 2019-ben és 2020-ban gyűjtött sirály eredetű CRE törzsek jellemzői..	45
5.6. A Dunából származó CRE izolátumok jellemzői .....	46
5.7. Humán eredetű CREc izolátumok jellemzői.....	47
5.8. A sirályokból, Dunából és emberekből származó CREc izolátumok összehasonlítása .....	54
6. A társszerzők közreműködése az értekezés alapjául szolgáló közleményekben .....	58
7. Megbeszélés .....	59
8. Új eredmények .....	67
9. Összefoglalás.....	68
10. Summary .....	69
11. Irodalomjegyzék.....	70
12. Tárgyszavak-keywords.....	87
13. Köszönetnyilvánítás .....	88
14. Függelék .....	89

## Rövidítésjegyzék

APEC	avian pathogenic (madárpatógén) <i>Escherichia coli</i>
cgMLST	core-genome multi locus sequence typing
CRE	karbapenem resistant Enterobacterales (karbapenem rezisztens Enterobacterales)
CREc	karbapenem resistant <i>Escherichia coli</i> (karbapenem rezisztens <i>Escherichia coli</i> )
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid (Etilén-diamin-tetraecetsav)
ESBL	extended spectrum beta-lactamase (kiterjedt spektrumú béta-laktamáz)
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
EPEC	entero pathogenic (enteropatógén) <i>Escherichia coli</i>
ExPEC	extraintestinal pathogenic (extraintesztinális patogén) <i>Escherichia coli</i>
HGT	Horizontal gene transfer (horizontális gén transzfer)
INC	Incompatibiliti (inkompatibilitási)
MALDI-TOF MS	matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (mátrix asszociált lézer deszorpciós/ionizációs tömegspektrometira)
MIC	minimális gátló koncentráció
MBL	Metallo-beta-lactamase (Metallo-béta-laktamáz)
MLST	multi locus sequence typing (multilókus szekvencia tipizálás)
MGE	Mobile genetic element (mobilis genetikai elem)

NCBI	National Center for Biotechnology Information (Nemzeti Biotechnológiai Információs Központ)
PCR	polimerase chain reaction (polimeráz láncreakció)
PFGE	Pulse-field gel electrophoresis (pulzáló-mezejű gél elektroforézis)
ST	Sequence type (szekvencia típus)
TBE	Tris-Borate-EDTA
TE	Tris-EDTA
VRE	Vancomycin-resistant enterococci (Vankomicin rezisztens enterococcus)
WGS	Whole Genome Sequencing (teljes genom szekvenálás)

# 1. Bevezetés

Az Enterobacterales családba tartozó baktériumok a nozokomiális és közösségekben szerzett fertőzések gyakori kórokozói. Az általuk okozott fertőzések kezelése a legtöbb esetben 3. generációs cefalosporinokkal (ceftriaxon, cefotaxim, ceftazidim) történik, azonban a kiterjedt spektrumú béta-laktamáz (ESBL)-termelő törzsek megjelenése és jelenlegi világméretű elterjedése drasztikusan csökkentette e szerek hatékonyságát (Livermoore és mtsai, 2007; Cantón és mtsai, 2008; Shaikh és mtsai, 2015). Az ESBL-termelő baktériumok ellen olyan utolsó vonalbeli szereket alkalmaznak, mint a karbapenemek (meropenem, imipenem, ertapenem), ennek következményeként pedig a karbapenem rezisztens törzsek előfordulása ugrásszerűen megnövekedett (Codjoe és Donkor, 2017).

Az antibiotikum rezisztencia a modern egészségügy egyik legnagyobb gondjává nőtte ki magát az elmúlt két évtizedben (Magiorakos és mtsai, 2012), ami nem csak az embereket érinti. Az „Egy egészség” elv alapján az emberek, az állatok és a környezet egészsége összefügg, és szoros körforgásban van egymással, ez a megközelítés pedig az antibiotikum rezisztenciára is igaz (Graham és mtsai, 2019). Jó példák erre az avoparcin hozamfokozóként történő felhasználása az állattenyésztésben és a vankomicin rezisztens *Enterococcus*-ok (VRE) elterjedése Európában illetve az *mcr* gének megjelenése a kolisztin alkalmazás hatására (Bager, 1997; Liu és mtsai, 2016). A környezet szerepéről az antibiotikum rezisztencia esetében sokáig nem vettünk tudomást, azonban az Egy egészség elv szerint az utóbbi években egyre nyilvánvalóvá vált, hogy a környezet milyen fontos tényező. A rezisztens törzsek és a rezisztencia gének képesek a környezet, állattartó telepek, az emberi populáció és társállataik között is terjedni (Hu és mtsai, 2017; Graham és mtsai, 2019). A különböző állati eredetű élelmiszerek, leginkább húsfélék, a nemzetközi utazás és a vándorló vadállatok mind hozzájárulhattak az antibiotikum rezisztencia egész világon való szétterjedéséhez (Coque és mtsai, 2008; Bevan és mtsai, 2017; Graham és mtsai, 2019). Az *E. coli* és más Gram-negatív bélbaktériumok különösen jó példák az Egy egészség elv szempontjából, mivel ezek a baktériumok az emberi és állati bél mikrobiom tagjai illetve a környezetben is sokáig képesek életben maradni (Graham és mtsai, 2014; Mills 2019). A különböző környezeti, emberi illetve állati eredetű törzsek a horizontális géntranszfer (HGT) segítségével képesek egymásnak mobilis genetikai elemeket (MGE) átadni, tehát az Egy egészség elvnek megfelelően járványtani kapcsolatban állnak (Hu és mtsai, 2017). Továbbá a zoonotikus vagy környezeti rezervoárok fontos forrásaiként szolgálhatnak újonnan megjelenő rezisztencia géneknek, mint például a *Kluyvera* fajok a *bla<sub>CTX-M</sub>* géneknek vagy a *Shewanella* fajok a *bla<sub>OXA-48</sub>* géncsaládnak

(Livermoore, 2007; Poirel és mtsai, 2012). A haszonállatok (brojler csirke, pulyka, szarvasmarha, sertés) gyakran hordoznak rezisztens *E. coli* törzseket, akár humán patogén klónokat is (Saliu és mtsai, 2017, Van Damme és mtsai 2017; Dantas Palmeira és Ferreria, 2020), viszont általában az állati törzsek csekély hányada egyezik a human klinikai törzsekkel (Dahms és mtsai, 2015).

Napjainkra az egészségügy és az állattenyésztés általi óriási mértékű antibiotikum felhasználás oda vezetett, hogy a természetes élőhelyek, a környezet antibiotikumokkal, rezisztencia génekkel és rezisztens humán patogén baktériumokkal szennyezetté váltak (Graham és mtsai, 2014). Azok a vadállatok, amelyek ilyen szennyezett élőhelyeken, mint például szemételepek, szennyvízzel szennyezett felszíni vizek közelében élnek, vagy közvetlenül kapcsolatba kerülhetnek az állattartó telepekről származó trágyával, megfertőződhetnek rezisztens baktériumokkal, így a rezisztencia gének hordozóivá válhatnak (Graham és mtsai, 2014; Varela és mtsai, 2015; Graham és mtsai, 2019; Adekanmbi és mtsai, 2021). Ha ez megtörténik, felmerül annak a lehetősége, hogy ezek az állatok -különösen a nagy mobilitású fajok- akár az egész világon keresztül terjesszék a rezisztens törzseket, vagy a rezisztencia géneket (Hu és mtsai, 2017). Ez magyarázná az antibiotikum rezisztencia jelenlétét az emberei tevékenységtől illetve antibiotikum felhasználástól távol eső földrajzi területeken. A mindenevő, húsevő és antropofil életmódot folytató vadállatok vannak leginkább kitéve a rezisztens törzsekkel való megfertőződés veszélyének, amihez a vizes élőhelyek és szemételepek melegágyként szolgálhatnak (Bonedahl és mtsai, 2014; Atterby és mtsai, 2016; Wang és mtsai, 2017a; Mills és Lee, 2019; Adekanmbi és mtsai, 2021). Antibiotikum rezisztens baktériumok hordozóiként leggyakrabban különböző vad madárfajokat írtak le (Wang és mtsai 2017a), különösképpen varjúfélét (Loncaric és mtsai, 2013; Jamborova és mtsai, 2015; Jamborova és mtsai, 2017) és sirályfélét (Bonedahl és mtsai, 2014, Atterby és mtsai, 2016 Ahlstrom és mtsai, 2021; 2022). Ezek a madarak gyakran megtalálhatóak a városokban, az ürülékük pedig folyamatosan szennyezi a különböző városi területeket. A vándorló és kóborló viselkedésüknek köszönhetően ezek a madarak rezervoárként és hosszú-távú vektorokként is szolgálhatnak a rezisztens törzsek és a rezisztencia gének számára gyaránt (Wang és mtsai, 2017a; Zeballos-Gross és mtsai, 2021).

## **2. Irodalmi áttekintés**

### **2.1. Enterobacterales**

Az ide tartozó Gram-negatív baktériumok a normál bél mikrobióta részét alkotják emberekben és állatokban egyaránt, viszont néhány emberi szempontból fontos intesztinális vagy extra-intesztinális kórokozó (Graham és mtsai, 2019). A környezetben, talajban, növényeken vagy vízben is meg találhatóak és képesek akár sokáig életben is maradni, perzisztálni ezeken a területeken (Kittinger és mtsai, 2016; Graham és mtsai, 2019; Furlan és mtsai, 2021). Az *Escherichia coli* és a *Klebsiella pneumoniae* a két leggyakrabban előforduló faj a humán klinikai mintákban (Livermoore és mtsai, 2007). Míg a legtöbb bél mikrobiomban előforduló *E. coli* kommenzális eredetű, addig néhány törzs, bizonyos virulencia géneknek köszönhetően képes különböző intesztinális vagy extra-intesztinális fertőzéseket okozni (Persson és mtsai, 2007; Clermont és mtsai, 2013). Ezen fertőzések kezelése leggyakrabban valamilyen béta-laktám típusú antibiotikummal történik, de a kezelésben egyre nagyobb gondot okoz a béta-laktámokkal szembeni rezisztenciájuk (Shaikh és mtsai, 2015).

### **2.2. Béta-laktamázok és csoportosításuk**

A Gram-negatív törzsek esetében a béta-laktámok elleni legfontosabb rezisztencia mechanizmus a béta-laktamáz termelés (Shaikh és mtsai, 2015). Ezek olyan bakteriális enzimek, melyek a béta-laktám gyűrű elhasításával hatástalanítják ezeket az antibiotikumokat (Bush és Jacoby, 2010). A béta-laktamázok csoportosítására a szakirodalomban két elfogadott megközelítés terjedt el. Az Ambler-féle molekuláris klasszifikáció fehérje homológia alapján 4 osztályba sorolja a béta-laktamázokat (A-D). Az A, C és D csoportok filogenetikailag különböző szerin béta-laktamázok tartoznak, míg a B csoportban a metallo-béta-laktamázok (MBL) találhatóak (Castanheira és mtsai, 2021). Az A csoport penicillináz aktivitású enzimekből áll függetlenül attól, hogy milyen egyéb szubsztrátokat képesek még bontani, a C csoportban főként cefalosporináz aktivitású enzimek találhatóak, míg a D csoportba az oxacillint hasító enzimeket sorolunk (Castanheira és mtsai, 2021). A Bush-Jacoby-Medeiros-féle funkcionális osztályozás szubsztrátspecifitás és az inhibitorokkal való gátolhatóság alapján 4 fő és számos alcsoportra osztja a béta-laktamázokat (Bush és Jacoby, 2010).

### **2.3. ESBL-ek**

Az ESBL-ek olyan plazmidon kódolt enzimek, amelyek rezisztenciát biztosítanak penicillin származékok, cefalosporinok (1-5. generáció) és aztreonam ellen, de hatástalanok

cefamycinekkel és karbapenemekkel szemben, továbbá béta-laktamáz inhibitorokkal gátolhatóak (Castanheira és mtsai, 2021). Az Ambler-féle csoportosítás alapján az ESBL-ek az A osztályba tartoznak, az OXA típusúak pedig a D csoportba (Castanheira és mtsai, 2021). A Bush-Jacoby-Medeiros-féle osztályozás esetében a legtöbb ESBL a 2be csoportba tartozik, az OXA enzimek pedig a 2de csoportba (Bush és Jacoby, 2010; Bonomo, 2017). Napjainkban a klinikai szempontból legfontosabb ESBL csoport a CTX-M és kisebb mértékben az SHV és TEM enzimek csoportja (Cantón és mtsai, 2008).

### **2.3.1. TEM**

A TEM-1 a leggyakrabban előforduló nem ESBL típusú béta-laktamáz Gram-negatív baktériumokban az egész világon, ami a penicillinek mellett az első generációs cefalosporinok hidrolizálására is képes. Az első TEM típusú ESBL a TEM-3 volt, 1983-ban írták le és azóta több mint 90 további TEM-1-ből származtatható béta-laktamáz fedeztek fel, ESBL és nem ESBL típusokat egyaránt (Cantón és mtsai, 2008; Shaikh és mtsai, 2015; Castanheira és mtsai, 2021). TEM-típusú ESBL-eket leggyakrabban *E. coli*-ban és *K. pneumoniae*-ban írtak le (Cantón és mtsai, 2008; Bush és Jacoby, 2010; Shaikh és mtsai, 2015).

### **2.3.2. SHV**

Az SHV-1 leggyakrabban *K. pneumoniae*-ban előforduló kromoszómán kódolt béta-laktamáz, amely ampicillin rezisztenciáért felelős. Az első SHV típusú ESBL az SHV-2 volt, ami a szülő enzimhez (SHV-1) képest a 238. pozícióban lévő glicin→szerin csere következtében lett képes az oxyimino-cefalosporinok hidrolízisére (Cantón és mtsai, 2008; Bush és Jacoby, 2010; Shaikh és mtsai, 2015; Castanheira és mtsai, 2021). Jelenleg valamivel több, mint 40 féle SHV variánst írtak le, melyek többsége ESBL fenotípust okoz és leggyakrabban *E. coli*-ban és *K. pneumoniae*-ban fordulnak elő (Bush és Jacoby, 2010; Shaikh és mtsai, 2015; Castanheira és mtsai, 2021).

### **2.3.3. CTX-M**

Először 1989-ben írták le és a cefotaxim gyors lebontásán túl egy másik fontos jellemzőjük, hogy a tazobaktám hatékonyabban gátolja ezeket az enzimeket, mint a klavulánsav vagy szulbaktám (Cantón és mtsai, 2008; Shaikh és mtsai, 2015). A CTX-M enzimek sokkal hatékonyabban képesek cefotaximot és ceftriaxont hidrolizálni, mint a ceftazidimet. Bizonyos pontmutációk képesek a ceftazidim elleni aktivitást növelni, például a CTX-M-15 és CTX-M-32 csak Asp-240→Gly cserében különböznek a CTX-M-3 és CTX-M-1 enzimektől, viszont ennek a pontmutációnak köszönhetően 100-szoros aktivitás béli emelkedés figyelhető meg (Livermoore és mtsai, 2007; Castanheira és mtsai, 2021). A *bla*<sub>CTX-M</sub> gének szekvenciái és azok

genetikai környezete nagy hasonlóságot mutatnak különböző *Kluyvera* fajok (*K. ascorbata*, *K. cryocrescens*, *K. georgiana*) kromoszómális cefalosporinázaival (Livermoore és mtsai, 2006; Cantón és mtsai, 2008; Shaikh és mtsai, 2015; Castanheira és mtsai, 2021) A többi ESBL-hez hasonlóan pontmutációval különböző CTX-M enzimek jöttek létre és napjainkban több mint 160 féle CTX-M variánst tartunk számon. A filogenetikájuk alapján ezeket az enzimeket 5 nagy alcsoportba lehet besorolni: CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 és CTX-M-25 alcsoportokba (Shaikh és mtsai, 2015; Castanheira és mtsai, 2021). A CTX-M béta-laktamázok előfordulása ugrásszerűen megemelkedett és jelenleg a világ minden táján előfordulnak. Erre magyarázat lehet, hogy rendkívül gyors terjedési képességgel rendelkező MGE-eken kódolódnak, amelyek mindig jelen vannak a sikeres klónokban illetve a ko-rezisztencia jelensége a CTX-M-termelő törzsekben, ami a ko-szelekciót segíti (Livermoore és mtsai, 2006; Cantón és mtsai, 2008; Coque és mtsai, 2008). Napjainkban ezek az enzimek szinte minden Enterobacteralesben megtalálhatóak, de a *K. pneumoniae* és különösen az *E. coli* a legjelentősebb hordozók (Bonomo, 2017).

## **2.4. Karbapenemázok**

A karbapenemázok olyan plazmidon vagy kromoszómán kódolt enzimek, amelyek hidrolizálják a karbapenemeket, emellett típustól függően akár a penicillineket, cefalosporinokat, monobaktámokat is, ezáltal az összes béta-laktám típusú antibiotikumot képesek lehetnek hatástalanítani (Nordmann és mtsai, 2011). Az Ambler A (KPC), és D (OXA) csoportba szerin-függő enzimek tartoznak, a B csoportba a metallo-enzimek. A szubsztrát és inhibitor profiljuk csoporttól függően eltér egymástól (Bush és Jacoby, 2010; Nordmann és mtsai, 2014). Járványtani szempontból a mobilis karbapenemázok jelenleg a legfontosabb enzimek (Halat és Moubareck, 2020).

### **2.4.1. KPC**

A klinikumban leggyakrabban előforduló Ambler A karbapenemáz. Az első KPC típusú enzimet 1996-ban Észak-Karolinában írták le egy *K. pneumoniae* izolátumból, ami a karbapenemeken kívül penicillineket, cefalosporinokat és monobaktámokat is képes volt lebontani a klavulánsav, szulbaktám és tazobaktám mellett (Nordmann és mtsai, 2014; Bonomo, 2017; Halat és Moubareck, 2020). Az avibaktám, relebaktám és boronsav származékok (pl. vaborbactam) hatékony gátlószerei a KPC enzimeknek. A KPC-3 csak egy aminosavban tér el a KPC-2-től és ezek a leggyakrabban előforduló enzimek és köszönhetően a klonális terjedésnek és HGT-nek más Enterobacterales fajokban is gyakran elfordulnak. Eddig

több mint 20 féle KPC variánst írtak le (Bonomo, 2017; Codjoe és Donkor, 2017; Halat és Moubareck, 2020). A *bla<sub>KPC</sub>* géneket hordozó plazmidok nagy változatosságot mutatnak típusban, méretben és sokszor további rezisztencia gének is megtalálhatóak rajtuk korlátozva ezzel a terápiás lehetőségeket. A magas szintű karbapenem rezisztenciát sok esetben a *bla<sub>KPC</sub>* gén kópia számának megemelkedése, vagy az Omp K35 és/vagy Omp K36 (karbapenemek bejutásáért felelős porin csatornák) külső membrán fehérjék elvesztése eredményezi (Bonomo, 2017; Halat és Moubareck, 2020).

#### **2.4.2. Metallo-enzimek**

Ezek olyan bakteriális enzimek, amelyek aktív centrumában  $Zn^{2+}$  szükséges az enzimatisz aktivitáshoz. A MBL-termelő baktériumok rendszerint rezisztensek penicillinekkal, cefalosporinokkal, karbapenemekkel és a jelenleg klinikai használatban lévő béta-laktám inhibitorokkal szemben is (Bonomo, 2017). Az aztreonám az egyetlen olyan béta-laktám antibiotikum, amely ennek az enzimatisz hidrolízisnek ellenáll, így más ESBL/AmpC génekkel nem rendelkező baktérium törzsek érzékenyek lesznek rá. Továbbá, a MBL-ok érzékenyek az olyan kelát-képző vegyületekre, mint pl. az etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA) (Bush és Jacoby, 2009; Bonomo, 2017; Codjoe és Donkor, 2017). Napjainkban a leggyakrabban előforduló MBL családok a VIM, IMP és NDM típusok, melyek változatos MGE-eken kódoltak és könnyen terjedhetnek különböző baktérium törzsek és fajok között (Halat és Moubareck, 2020).

#### **2.4.3. IMP**

Az első mobilis MBL típusú imipenem rezisztenciáért felelős gént (*bla<sub>IMP-1</sub>*) 1991-ben Japánban írták le egy *Pseudomonas aeruginosa* törzsből (Halat és Moubareck, 2020). Napjainkban Dél-Ázsia és Óceánia tekinthető az IMP típusú enzimek rezervoárjának (Codjoe és Donkor, 2017; Halat és Moubareck, 2020). Jelenleg több mint 18 IMP variánst írtak le, melyek gyakran 1-es típusú integronokba ágyazódott génekazettákon kódolódnak, amik általában más típusú antibiotikumokkal szembeni rezisztencia géneket is hordoznak (Bonomo, 2017; Halat és Moubareck, 2020).

#### **2.4.4. VIM**

Az első VIM enzimet 1997-ben Veronában egy *P. aeruginosa* törzsből izolálták. A VIM-1-et és VIM-2-it is számos bélbaktériumban leírták de a *P. aeruginosa* tűnik ezen enzimek legfontosabb rezervoárjának (Bonomo, 2017; Codjoe és Donkor, 2017; Halat és Moubareck, 2020). A VIM enzimek több mint 15 variánsát írták le, az Enterobacterales esetében a VIM-4 a legfontosabb (Halat és Moubareck, 2020). A *bla<sub>VIM</sub>* gének is rendre 1-es típusú integronokon

lévő génkazettákon kódolódnak, melyek akár plazmidba akár a kromoszómába is integrálódhatnak. A *bla<sub>VIM</sub>* gének leggyakrabban IncA/C és IncN típusú plazmidokon kódoltak az Enterobacterales családban (Bonomo, 2017; Halat és Moubareck, 2020).

#### **2.4.5. NDM**

Az NDM-1-et először 2008-ban írták le egy svéd beteg vizelet mintájából származó *K. pneumoniae*-ből, aki nem sokkal előtte Új Delhiben járt (Nordmann és mtsai, 2014). A *bla<sub>NDM-1</sub>* konjugatív volt és csekély hasonlóságot mutatott a már ismert MBL-okkal. Eddig 24 NDM variánst írtak le, bizonyos variánsok az NDM-1-hez képest fokozott karbapenemáz aktivitással rendelkeznek (Halat és Moubareck, 2020). A *bla<sub>NDM</sub>* gének általában plazmidon kódoltak és ezeket a géneket hordozó plazmidok leggyakrabban az IncFII, IncX3 és IncC családba tartoznak (Dong és mtsai, 2019). A *bla<sub>NDM</sub>* gének leggyakrabban *K. pneumoniae*-ban és *E. coli*-ban fordulnak elő, de különböző NDM variánsok *A. baumannii*-ban és *P. aeruginosa*-ban is megtalálhatóak (Halat és Moubareck, 2020).

#### **2.4.6. OXA**

Az Enterobacterales szempontjából az OXA-48-szerű enzimek a legfontosabbak, ezek szinte csak ebben a családban fordulnak elő. Nagy hasonlóságot mutatnak a *Shewanella* fajok (vizes élőhelyeken megtalálható Gram-negatív pálcák) kromoszómális karbapenemázaival (Bonomo, 2017; Halat és Moubareck, 2020). Az OXA-48 enzimnek alacsony hidrolitikus aktivitása van a karbapenemekkel szemben, ami megnehezíti a diagnosztizálásukat (Nordmann, 2011). A penicillineket és szűk spektrumú cefalosporinokat (első és második generáció) is hidrolizálják. EDTA-val és klasszikus béta-laktamáz inhibitorokkal nem gátolhatóak, viszont az avibaktam hatékony gátlószerük (Halat és Moubareck, 2020). Számos variánsa (OXA-48, OXA-181, OXA-232, OXA-204, OXA-162, OXA-163, OXA-244, gyakoriság ebben a sorrendben) ismert, de jelenleg az OXA-48 a legelterjedtebb (Nordmann, 2011; Bonomo, 2017; Halat és Moubareck, 2020).

### **2.5. A béta-laktamázok epidemiológiája**

A 90-es évek végéig a legtöbb ESBL SHV vagy TEM típusú volt, az ezeket hordozó izolátumok szinte kizárólag nozokomiális fertőzésekből, közösségben szerzett fertőzésekben ritkán fordultak elő. Az ESBL-termelő izolátumok döntő többsége *K. pneumoniae* volt (Livermoore és mtsai, 2007; Cantón és mtsai, 2008). Az ezredforduló után az SHV és TEM ESBL-ok helyét a CTX-M vette át és a leggyakrabban azonosított ESBL-termelő Enterobacterales a *K. pneumoniae* mellett az *E. coli* lett (Livermoore és mtsai, 2007; Cantón és mtsai, 2008;

Castanheira és mtsai, 2021). Ezen izolátumok döntő többsége közösségben szerzett, főleg húgyúti fertőzésekből származott (Canton és mtsai, 2008; Castanheira és mtsai, 2021). Míg a *bla<sub>SHV</sub>* és *bla<sub>TEM</sub>* gének terjedése számos plazmiddal történhet, a *bla<sub>CTX-M</sub>* gének csak néhány féle plazmidon fordulnak elő (pl. IncF-*bla<sub>CTX-M-15</sub>*), általában kapcsolódnak más MGE-ekkel (transzpozon, integron), és terjedésük klonális úton, ezeket stabilan hordozó klónok segítségével történik (Livermoore és mtsai, 2007; Canton és mtsai, 2008; Bevan és mtsai, 2017). A *bla<sub>CTX-M-15</sub>* a világ legtöbb részén (kivéve Kína, Dél-Kelet Ázsia, Japán, Spanyolország, Dél-Korea) a domináns ESBL gén jelenleg is, ami összefüggésben áll a 131-es szekvencia típus-ba (ST131) tartozó *E. coli* C2/H30-Rx klón világméretű pandémiás elterjedésével (Coque és mtsai, 2008; Matsumura és mtsai, 2016; Bevan és mtsai, 2017; Castanheira és mtsai, 2021). A *bla<sub>CTX-M-15</sub>* mellett a *bla<sub>CTX-M-14</sub>* és *bla<sub>CTX-M-27</sub>* is világszerte elterjedté váltak és több bizonyíték is arra utal, hogy a *bla<sub>CTX-M-27</sub>* elkezdte kiszorítani a többi *bla<sub>CTX-M</sub>* genotípust (Bevan és mtsai, 2017; Castanheira és mtsai, 2021). Japánban, Kínában, Dél-Kelet-Ázsiában, Észak-Amerikában és Európában a *bla<sub>CTX-M-27</sub>* az egyik leggyakoribb CTX-M jelenleg, és az ST131 C1/H30R *E. coli* fontos szerepet játszott a terjedésében (Matsumura és mtsai, 2016). Az ST131 C1/H30R *bla<sub>CTX-M-27</sub>* hordozását először Japánban figyelték meg és további vizsgálatok során kiderült, hogy ez egy a C1/H30R-en belüli távoli csoport, melyet C1-M27 alkálnak neveztek el és a világ számos országában beszámoltak már a jelenlétéről (Matsumura és mtsai, 2016; 2017). Ezek alapján az ST131 felelős az *E. coli* által okozott extraintesztinális fertőzések körülbelül 70%-áért az egész világon. Ezek más ESBL-termelő törzsekkel együtt gyakran ko-rezisztensek olyan általánosan használt szerekkel szemben, mint az aminoglikozidok, fluorokinolonok és co-trimoxazol, jelentősen csökkentve ezzel a terápiás lehetőségeket (Canton és mtsai, 2008; Castanheira és mtsai, 2021). A fokozott karbapenem felhasználás olyan szelekciós nyomást gyakorolt az ESBL-termelő és egyéb Gram-negatív baktériumokra, ami a karbapenem rezisztencia megjelenését és gyors terjedését eredményezte. A helyzetet tovább súlyosítja, hogy a karbapenem rezisztens Enterobacterales (CRE) törzsek által okozott fertőzések esetében a halálozási arány 18-67%-ra tehető (Codjoe és Donkor, 2017; Halat és Moubareck, 2020; Hansen, 2021; Ma és mtsai, 2023). Jelenleg járványtani szempontból a KPC, NDM, VIM és OXA-48-szerű enzimek a legfontosabb karbapenemázok az Enterobacterales családban (Halat és Moubareck, 2020; Hansen, 2021; Ma és mtsai, 2023). A KPC enzimek megjelenésük után néhány évvel az egész világon elterjedté váltak, Észak- és Dél-Amerikában, a Közel-Keleten, Görögországban, Olaszországban és Kínában pedig endémiásnak számítanak, ami az ST258-as pandémiás *K. pneumoniae* klónnak köszönhető (Nordmann, 2014; Halat és Moubareck, 2020; Hansen, 2021; Ma és mtsai, 2023). Eleinte ezek az enzimek csak *K. pneumoniae*-ban fordultak

elő, azonban napjainkban más Enterobacterales fajokban is megtalálhatóak és több Európai országban illetve Dél-Amerikában is előfordultak KPC-termelő törzsek által okozott járványok (Nordmann és mtsai, 2011; Halat és Moubareck, 2020; Hansen, 2021; Ma és mtsai, 2023). Az NDM-1-et 2008-as felfedezése óta az összes földrészen leírták már, eleinte a legtöbb eset közvetlen járványtani kapcsolatban volt az Indiai szubkontinenssel, de mostanára a Balkán és a Közel-Kelet másodlagos rezervoárként funkcionálhat (Nordmann és mtsai, 2011; Halat és Moubareck, 2020; Hansen, 2021; Ma és mtsai, 2023). A KPC-hez hasonlóan, a nemzetközi utazás és turizmus fontos szerepet játszott a *bla<sub>NDM</sub>* gének gyors terjedésben. A *bla<sub>NDM</sub>* gének a *K. pneumoniae*-ban és *E. coli*-ban fordulnak elő legtöbbször és bizonyos ST-okban gyakrabban, mint másokban (*K. pneumoniae*: ST11, ST14, ST15, ST147; *E. coli*: ST167, ST410, ST617), viszont a *bla<sub>NDM-1</sub>* esetében a törzsek gyakran semmilyen klonális kapcsolatban nem állnak egymással (Nordmann és mtsai, 2011; Bonomo és mtsai, 2017; Hansen, 2021; Ma és mtsai, 2023). VIM-termelő baktériumokat és hozzájuk köthető járványokat alapvetően az egész világon leírtak, de endémiás szinten Görögországban és Olaszországban vannak jelen a KPC enzimek mellett (Nordmann és mtsai, 2011; Nordmann, 2014; Halat és Moubareck, 2020). A VIM-1 és VIM-4 Európában, a VIM-3 Taiwanban, a VIM-6 Ázsiában és a VIM-7 főként az USA-ban fordulnak elő, míg a VIM-2 világszerte elterjedt (Grundmann és mtsai, 2017; Halat és Moubareck, 2020; Hansen, 2021; Ma és mtsai, 2023). Magyarországon a *K. pneumoniae* a domináns karbapenemáz-termelő törzs, a *bla<sub>VIM-4</sub>* pedig a domináns karbapenemáz, azonban az elmúlt néhány évben megjelentek a *bla<sub>OXA-48</sub>*-szerű, *bla<sub>KPC</sub>* és *bla<sub>NDM</sub>* gének is a CRE törzsekben, a *bla<sub>VIM-4</sub>* prevalenciája pedig csökkent (Grundmann és mtsai, 2017; Nemzeti Népegészségügyi és Gyógyszerészeti Központ-nem közölt adat). A *bla<sub>OXA-48</sub>* Törökországban endémiás karbapenemáz, azonban mostanra a Közel-Kelet, India és Észak-Afrikai országok is fontos rezervoárjaivá váltak. Franciaországban, Németországban és Spanyolországban országos szinten elterjedté váltak, továbbá az OXA-48 más Enterobacterales fajokban is széleskörben elterjedt (Nordmann és mtsai, 2011; Bonomo, 2017; Grundmann és mtsai, 2017; Halat és Moubareck, 2020; Hansen, 2021; Ma és mtsai, 2023). A *bla<sub>OXA-48</sub>* terjedésének fő hajtóereje egy 62 kbp méretű konjugatív IncL plazmid, a pOXA-48a, ami magas konjugációs hatékonysággal rendelkezik, így könnyen terjed a különböző bélbaktériumok között (Halat és Moubareck, 2020; Hansen, 2021; Ma és mtsai, 2023). A jelenleg ismert hét OXA-48 variáns közül az OXA-181 a második leggyakoribb enzim, négy aminosavban tér el az OXA-48-tól. Először Indiában írták le, de az óta számos országban azonosították már. Leggyakrabban IncX3 típusú plazmidokon fordul elő (Bonomo, 2017; Halat és Moubareck, 2020; Hansen, 2021; Ma és mtsai, 2023). Az ESBL-ekkel ellentétben a karbapenemázok közösségben még nem igazán

elterjedtek, leggyakrabban kórházban szerzett fertőzésekben azonosíthatjuk őket. Azonban míg az ESBL-termelő baktériumokkal szemben a karbapenemek általában hatékonyak, a karbapenemáz-termelő törzsek által okozott fertőzések kezelésére gyakran nincs hatékony terápiás antibiotikum, ami egészségügyi szempontból súlyos következményekkel járhat.

## 2.6. Plazmidok

A plazmidok duplaszálú cirkuláris DNS molekulák, melyek a bakteriális kromozómától függetlenül replikálódnak. Olyan mechanizmusokkal rendelkeznek, amelyek szabályozzák a kópia számukat, biztosítják a független replikációjukat és a stabil öröklődést a baktérium sejt osztódása során és hatékonyan tartják fent a plazmidot a baktérium populációban még szelekciós nyomás hiányában is (Carattoli, 2009; Johnson és Nolan, 2009). A plazmidok képesek új, akár antibiotikum rezisztencia génekre is szert tenni különböző MGE-eken keresztül, mint a transzpozonok és inzerciók szekvenciák. A plazmidok képesek különböző baktérium törzsek és fajok között is terjedni a konjugációnak nevezett folyamat során, ami az egyik fő mechanizmusa az antibiotikum rezisztencia terjedésének (Rozwandowicz és mtsai, 2018). A legtöbb plazmidot inkompatibilitási (Inc) csoportokba lehet sorolni a plazmidokon lévő különböző egyedi vagy konzervált replikációs régiók alapján. A plazmid inkompatibilitáson azt értjük, hogy egy baktérium sejtben adott Inc típusú plazmidból csak egy lehet jelen. Jelenleg 27 különböző Inc típust írtak le az Enterobacterales családban. Az eltérő Inc csoportokba tartozó plazmidok változó karakterisztikával rendelkeznek, mint például szűk vagy széles gazda spektrum és magas vagy alacsony kópia szám (Carattoli, 2009; Johnson és Nolan, 2009). A szűk gazda spektrumú plazmidok leggyakrabban az IncF csoportba tartoznak, ami különböző (FIA, FIB, FII) replikonokat tartalmazhat, míg a széles gazda spektrumú csoport többek között az IncA/C, IncL/M, és IncN típusokból áll. A széles gazda spektrumú plazmidok könnyedén terjedhetnek fajok között, míg a szűk gazda spektrumú plazmidok jelenléte általában bizonyos fajra/fajokra, esetleg fajon belüli klónra korlátozódik, például magas-kockázatú klónokban főként IncF bizonyos béta-laktamázokkal (*bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>KPC-2</sub> és *bla*<sub>KPC-3</sub>) (Carattoli, 2009; Johnson és Nolan, 2009; Rozwandowicz és mtsai, 2018). Ezeket a plazmidokat gyakran járványos plazmidoknak nevezik a rezisztencia gének felvételére való hajlamuk és a gyors terjedésük miatt (Carattoli, 2009; Rozwandowicz és mtsai, 2018). A pandémiás ST131 tartozó *E. coli* és ST258 *K. pneumoniae* klónokban is az IncF plazmidok dominálnak. Ezek a járványos plazmidok és a rajtuk lévő rezisztencia gének szelekciós előnyt nyújtanak a magas-kockázatú klónoknak és fontos szerepet is játszanak a sikerükben (Rozwandowicz és mtsai, 2018).

## 2.7. Egy egészség

Az antibiotikum rezisztenciával foglalkozó kutatások eleinte csak az emberi, ezen belül is elsősorban a kórházi fertőzésekre összpontosítottak, viszont egyre elfogadottabbá válik az a nézet, hogy az emberek mellett a társállatok, haszonállatok, vadállatok és a környezet is fontos szerepet játszanak a rezisztens törzsek, rezisztencia géneket hordozó MGE-ek és a rezisztencia gének perzisztenciájában, evolúciójában és terjedésében (Hu és mtsai, 2017; Graham és mtsai, 2019). Ez a sokrétű folyamat illeszkedik az Egy egészség elv koncepciójába, amit eredendően a zoonózisok komplex terjedésének megismerése ihletett (Graham és mtsai, 2019). Az antibiotikum rezisztencia és az Egy egészség elv összefüggésére egy jó példa az avoparcin állattenyésztésben hozamfokozóként történő nagymértékű felhasználása és a VRE Európában való elterjedése közötti kapcsolat (Bager és mtsai, 1997). A zoonotikus és környezeti rezervoárok humán eredetű baktériumokkal kapcsolatba kerülhetnek, ezáltal fontos forrásai lehetnek újonnan megjelenő rezisztencia géneknek, ahogyan a *Kluyvera* és *Shewanella* fajok a *bla*<sub>CTX-M</sub> illetve *bla*<sub>OXA-48-szerű</sub> géneknek (Livermore és mtsai, 2007, Poirel és mtsai, 2012). Az *E. coli* az Egy egészség elv szempontjából egy fontos modell baktérium faj az antibiotikum rezisztencia esetében, mivel az emberi és állati mikrobióta gyakori tagja továbbá fontos állati és emberi kórokozó is. Képesek a környezetben túlélni és rezisztens törzseket leírtak már különböző felszíni vizekből, növényekből), talajból és számos vadállatfajból egyaránt (Wang és mtsai, 2017a,b; Köck és mtsai, 2018; Bonardi és Pitino, 2019; Graham és mtsai, 2019; Mills és mtsai, 2019; Furlan és mtsai, 2021). Az állati, emberi és környezeti törzsek képesek egymás között a HGT segítségével MGE-eket illetve az ezeken hordozott rezisztenciagéneket átadni egymásnak (Hu és mtsai, 2017).

## 2.8. Társ- és haszonállatok, mint lehetséges forrásai és közvetítői az antibiotikum rezisztenciának

A társállatok fontos, de gyakran alul értékelt forrásai lehetnek az antibiotikum rezisztencia géneknek és a rezisztens törzseknek az emberi populációban, még hozzá az emberek és kedvenceik közötti szoros fizikai kapcsolat miatt, ezért a családdal együtt élő társállatok és gazdáik egy járványtani egységnek tekintendők. (Ewers és mtsai, 2012; Ljungquist és mtsai, 2016). Az emberrel való szoros kapcsolatra utal az is, hogy a társállatokból izolált ESBL-termelő baktériumok leggyakrabban *bla*<sub>CTX-M</sub> géneket hordoznak, főként az emberekben is elterjedt *bla*<sub>CTX-M-15</sub>-öt (Bogaerts és mtsai, 2014, Schaufler és mtsai, 2016), de CRE törzsek is előfordulhatnak kedvenceinkben (Melo és mtsai, 2016, Köck és mtsai, 2018). Bizonyos

esetekben ugyanazok a rezisztens törzsek vannak jelen egy háztartáson belül élő gazdáiban és társállataikban (Grönthal és mtsai, 2015; Ljungquist és mtsai, 2016, Köck és mtsai, 2018), ezek között gyakran humán-patogén eredetű ST-ok szerepelnek, például ST73, ST131 és ST410 (Bogaerts és mtsai, 2014; Schaufler és mtsai, 2015, Valat és mtsai, 2020).

Az intenzív haszonállattartás hatalmas mennyiségű antibiotikumot használ fel, fontos szerepet játsza ezzel a rezisztencia megjelenésében és terjedésében (Graham és mtsai, 2019), amire jó példa kolisztin hozamfokozóként való alkalmazása Kínában és az *mcr-1* rezisztencia gén megjelenése és terjedése (Liu és mtsai, 2016). A béta-laktámok és kinolon származékok gyakran használt szerek bakteriális fertőzések kezelésére az állattenyésztésben, azonban ezen antibiotikumok használata az ESBL-termelő törzseket szelektálhatja, melyek kolonizálhatják a haszonállatok bélrendszerét és ezek nagy mennyiségben lehetnek jelen az ürülékükben is (Ewers és mtsai, 2012; Graham és mtsai, 2019, Mills és mtsai, 2019). Az ürülékkel való szennyezettség veszélye illetve a megfelelő higiéniai körülmények hiánya, különösen a fejlődő országokban melegágyként szolgálnak a törzsek emberekre való terjedéséhez illetve a HGT számára az állati és emberi törzsek között (Bevan és mtsai, 2017; Graham és mtsai, 2019). Az ESBL gének tekintetében a haszonállatokban egységesen a *bla<sub>CTX-M</sub>* a domináns típus világszerte, Európában a *bla<sub>CTX-M-1</sub>*, *bla<sub>CTX-M-14</sub>* és *bla<sub>CTX-M-15</sub>* gének mind a tünetmentesen hordozott mind a fertőzésekből izolált törzsekben (Ewers és mtsai, 2012; Dahms és mtsai, 2015; Bevan és mtsai, 2017; Saliu és mtsai, 2017, Van Damme és mtsai 2017; Dantas Palmeira és Ferreria, 2020). Bár a cefalosporinokkal ellentétben karbapenemeket nem használnak az állattenyésztésben, karbapenemáz-termelő baktériumokat már leírtak minden földrészen haszonállatokban (Köck és mtsai, 2018; Bonardi és Pitino, 2019; Mills és mtsai, 2019), noha a prevalenciájuk és elterjedtségük jelenleg meg sem közelíti az ESBL-termelő törzsekét. Európában a *bla<sub>VIM-1</sub>*, Ázsiában a *bla<sub>NDM</sub>* gének fordulnak elő leggyakrabban haszonállatokban (Köck és mtsai, 2018).

## **2.9. A környezet szerepe az antibiotikum rezisztenciában**

A környezet több irányból is kontaminálódhat antibiotikum rezisztens törzsekkel. A mezőgazdasági területek termékenységét gyakran az állattartó telepekről származó hígtrágya felhasználásával vagy szennyvíziszappal fokozzák, ami az állati illetve humán eredetű antibiotikum rezisztens törzsek környezetbe történő kijutásának egy fontos forrása (Dolejska és mtsai, 2019). A növénytermesztésben használt kezeletlen, komposztálatlan trágya ezért

rezisztens törzseket tartalmazhat, ami szennyezheti a növényeket, a növényi eredetű élelmiszert, például a nyersen fogyasztott zöldségeket, az élelmiszert és az ivóvizet, növelve a kockázatát a rezisztens baktériumok élelmiszertáplálékláncon keresztüli terjedésének (Graham és mtsai, 2019).

A hulladéktároló telepek fontos forrásai az antibiotikumoknak, azok bomlástermékeinek, a rezisztencia géneknek és a rezisztens törzseknek egyaránt (Zhang és mtsai, 2022). A szemételepek fontos helyszíneként szolgálnak az antibiotikum rezisztencia kialakulásában és terjedésében. Az antibiotikumok, nehéz fémek és különböző más xenobiotikumok nagy mennyiségben vannak jelen a hulladéktároló telepeken és erős szelekciós nyomást gyakorolnak, ami az ide kijutó rezisztens törzsek túlélésében és terjedésében jelentős szerepet játszik (Wang és mtsai, 2015; Adekanmbi és mtsai, 2021; Zhang és mtsai, 2022). A hulladék lebomlása során jelen lévő körülmények kedveznek a rezisztencia gének szelekciójának és HGT-rel történő terjedésének (Wang és mtsai, 2015; Adekanmbi és mtsai, 2021). A lebomlási folyamatok során keletkező csurgalékban leggyakrabban kuinolonok, szulfonamidok, tetraciklinek, makrolidok és béta-laktámok elleni rezisztencia gének fordulnak elő (Adekanmbi és mtsai, 2021; Zhang és mtsai, 2022). A fluorokinolon típusú antibiotikumok közismerten sokáig képesek a környezetben fenn maradni, ezáltal folyamatos szelekciós nyomást biztosítani a baktériumok számára. Az ESBL-ek esetében a *bla*<sub>CTX-M</sub> típusú géneket azonosították legtöbbször (Adekanmbi és mtsai, 2021; Zhang és mtsai, 2022). A csurgalékban lévő rezisztencia gének megfelelő szabályozási és eltávolítási folyamatainak hiánya miatt azok tovább is terjedhetnek a környezetbe, különös tekintettel a felszíni vizekre (Zhang és mtsai, 2022).

A szennyvíz rendszer és szennyvíztisztító telepek által kezelt városi területek, kórházak és vágóhidak nagy mennyiségű multirezisztens baktériumot juttatnak a felszíni vizekbe és a környezetbe (Varela és mtsai, 2015, Kittinger és mtsai, 2016, Szekeres és mtsai, 2017; Mutuku és mtsai, 2022). Portugáliában kórházi és városi szennyvízben olyan ST-ú *E. coli* törzseket találtak, melyek általában humánpatogén eredetűek (ST10, ST131) és legtöbbször kórházi mintákban fordulnak elő (Varela és mtsai, 2015). Svájcban 56 folyót és tavat vizsgáltak, ebből 21 esetben találtak ESBL-termelő baktériumokat, a domináns gén a *bla*<sub>CTX-M-15</sub> volt és ST131 C1-M27 és C2 *E. coli* törzsek is jelen voltak (Zurfluh és mtsai, 2013). A Dunát korábban már vizsgálták teljes hosszában antibiotikum rezisztens baktériumok után kutatva és gyakran előforduló humán eredetű ESBL-termelő *E. coli* ST-okat (ST10, ST69, ST131, ST405) találtak, a legtöbb törzs a *bla*<sub>CTX-M-15</sub>-öt hordozta (Kittinger és mtsai, 2016, Lepuschitz és mtsai, 2019). Az ESBL-termelő baktériumok mellett karbapenem rezisztens Enterobacteralest is találtak az

előbbi tanulmányokban, melyek a *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>NDM-1</sub>* és *bla<sub>KPC-2</sub>* géneket hordozták (Zurfluh és mtsai, 2013, Kittinger és mtsai, 2016, Lepuschitz és mtsai, 2019). Ezek a törzsek a környezetben másodlagos rezervoárként fontos szerepet játszhatnak a rezisztencia perzisztenciájában és terjedésében (Mills és mtsai, 2019). A legtöbb országban a karbapenemek használata az emberi fertőzések kezelésére korlátozódik, de ezek az antibiotikumok a cefalosporin származokokkal együtt még a szennyvízkezelési eljárások után is jelen lehetnek a tisztított kórházi szennyvízben (Szekeres és mtsai, 2017; Mills és mtsai, 2019), ami később a felszíni vizekbe engedve szelektív nyomásként hozzájárulhat a rezisztencia terjedéséhez. A szennyvíztisztító üzemek nagymértékben, de nem 100%-os hatékonysággal csökkentik az antibiotikum rezisztens baktériumok mennyiségét, így még a megfelelően kezelt kórházi szennyvíz is tartalmazhat antibiotikum rezisztens baktériumokat. (Bonardi és Pitino, 2019; Graham és mtsai, 2019). Sao Paulóban és Rio de Janeiróban *bla<sub>KPC</sub>* géneket találtak a kórházi szennyvíztisztító, valamint a végző kivezető szakaszokban is (Mills és mtsai, 2019). Amikor ezt a vizet öntözésre használják a rezisztens baktériumok megtapadhatnak a növények felszínén, amit az emberek vagy állatok elfogyaszthatnak, így az élelmiszerláncon keresztül visszajut az emberekbe (Bonardi és Pitino, 2019; Graham és mtsai, 2019; Mills és mtsai, 2019). A felszíni vizek tehát egyrészt fontos rezervoárként, másrészt a rezisztencia gének átadódásának helyszínéül szolgálhatnak, ahol az antibiotikumokra érzékeny törzsek, különösen a szennyvízből származó antibiotikumok, vagy azok bomlástermékeinek jelenléte mellett, új rezisztencia géneket szerezhetnek meg (Kittinger és mtsai, 2016; Mills és mtsai, 2019). A vizes élőhelyek melegágyként szolgálhatnak a HGT számára, ami fontos mozgató eleme a rezisztencia terjedésének az emberi és környezeti törzsek között (Mills és mtsai, 2019), amire nagyszerű példa a *bla<sub>OXA-48</sub>*-szerű és *Shewanella* fajok közötti kapcsolat (Poirel és mtsai, 2012).

## **2.10. Rezisztencia a vadvilágban**

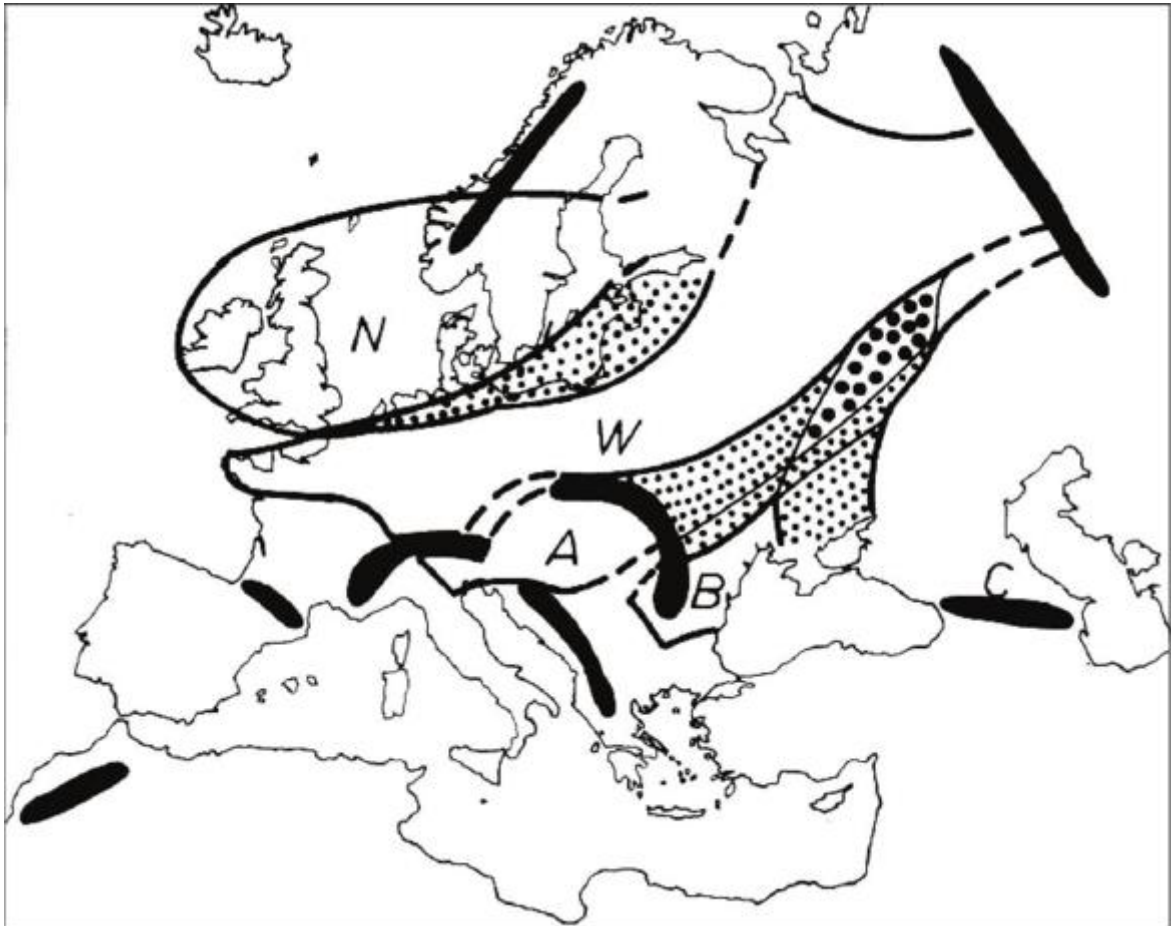
Antibiotikum rezisztens baktériumokat vadállatokban először 1978-ban írtak le Japán vadmadarakban, azóta viszont ugrásszerűen megemelkedett a rezisztens törzseket hordozó vadállat fajok száma (Wang és mtsai, 2017a), ami adódhat abból is, hogy egyre több figyelem társul a vadállatok szerepére a rezisztencia terjedésében. A vadállatok alapján véve nem részesülnek antibiotikum kezelésben, így az expozíció mértéke kisebb, de a közegészségügyben és állattenyésztésben való tömeges felhasználás rájuk is hatással van (Graham és mtsai, 2019).

Azok a vadállatok, melyek emberekhez közel élnek, városokban, hulladék-tároló telepeken vagy mezőgazdasági területeken keresnek táplálékot gyakrabban hordoznak antibiotikum rezisztens

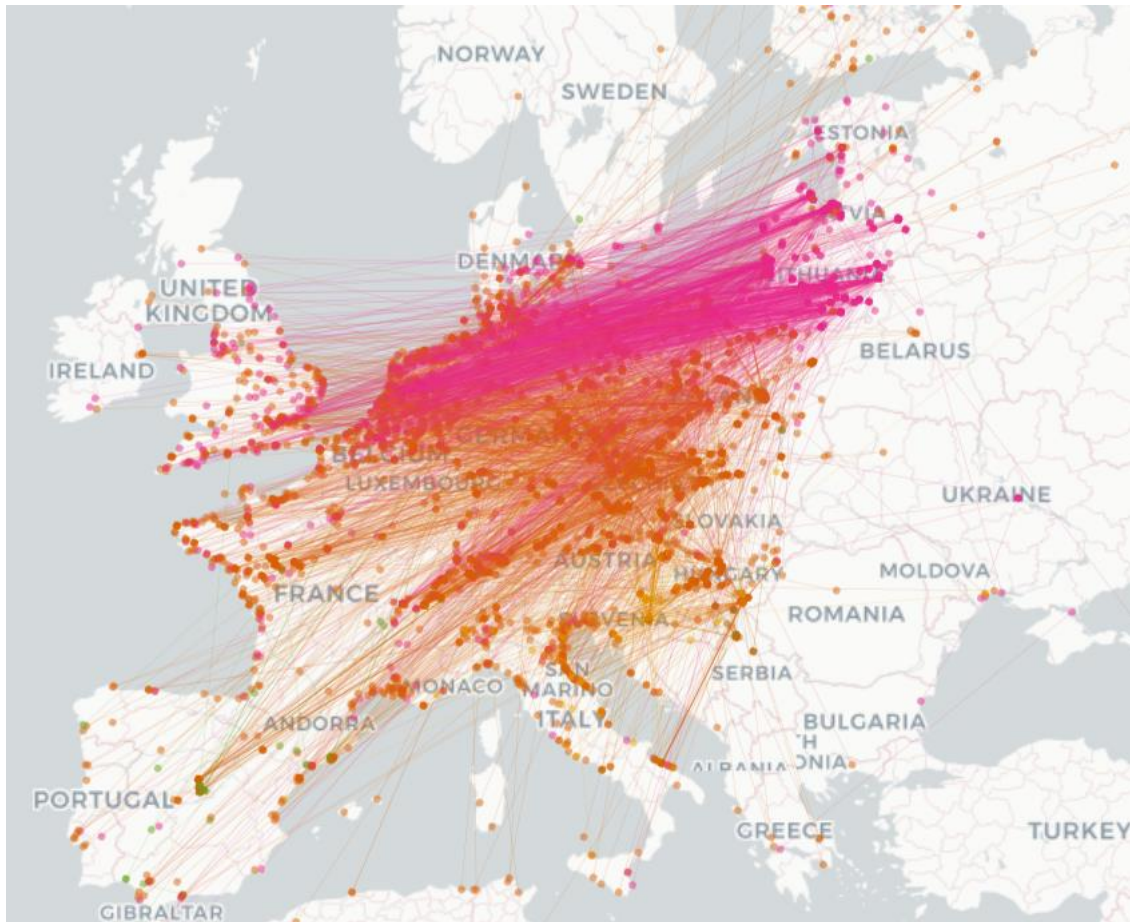
baktériumokat, mint azon társaik, melyek emberektől távoli területeken élnek (Loncaric és mtsai, 2013; Dolejska és mtsai, 2018). Ilyen szempontból pedig a vadállatok bioindikátoroknak is tekinthetők a környezet rezisztens törzsekkel való szennyezettségének vizsgálatára bizonyos területeken (Loncaric és mtsai, 2013). A jelenlegi szakirodalom számos lehetséges terjedési útvonalat tárt fel az emberi és haszonállati eredetű rezisztens törzsek és rezisztencia gének vadállatokban való elterjedésére és azok vektor illetve másodlagos rezervoár szerepére (Dolejska és mtsai, 2018). A szennyvíz tisztító telepek, szeméttelpek, városok, kórházak, vágóhidak és mezőgazdasági területek az élőhelyek kontaminációján keresztül fontos forrásai a vadállatokban megjelenő rezisztens törzseknek (Dolejska és mtsai, 2016; Jamborova és mtsai, 2017; Dolejska és mtsai, 2018; Graham és mtsai, 2019; Furlan és mtsai, 2021). A rezisztens törzsek emberektől a vadvilág felé történő terjedésében bizonyítékként szolgálnak a kórházi betegekből, szennyvízből, szeméttelpekről és vadállatokból izolált hasonló genetikai profillal rendelkező rezisztens *E. coli* törzsek, emellett az emberekben gyakori rezisztencia gének (*bla*<sub>CTX-M-15</sub>, karbapenemáz gének) és humán-asszociált ST-ok (ST10, ST38, ST69, ST131, ST405, ST410) jelenléte vadállatokban (Bonnedahl és mtsai, 2014; Varela és mtsai, 2015; Dolejska és mtsai, 2016; Dolejska és mtsai, 2018).

Az első, 2006-ban megjelent publikáció óta ESBL-termelő Enterobacteralest vadállatokban már minden földrészen leírtak, legtöbbször emlősöket és szinantróp életmódot folytató madárfajokat, és bár sokféle bélbaktériumban találtak már ESBL-eket, a leggyakrabban azonosított faj az *E. coli* (Wang és mtsai, 2017a). A rezisztens törzsek prevalenciája és a leírt ESBL gének típusa gyakran összefüggést mutatott az adott területen élő emberi és haszonállati járványtani helyzettel (Dolejska és mtsai, 2018). A köz- és állategészségügyhöz köthető izolátumokhoz hasonlóan a vadállatokban talált ESBL-termelő baktériumokban is a CTX-M a domináns ESBL típus (Jamborova és mtsai, 2015; Wang és mtsai, 2017a; Dolejska és mtsai, 2018). A *bla*<sub>CTX-M-1</sub> és *bla*<sub>CTX-M-15</sub> a leggyakrabban leírt gének vadállatokban, ezeket követik a *bla*<sub>CTX-M-14</sub>, *bla*<sub>CTX-M-32</sub>, *bla*<sub>CTX-M-9</sub>, *bla*<sub>CTX-M-3</sub> és *bla*<sub>CTX-M-2</sub> (Wang és mtsai, 2017a). Más gének, mint például a *bla*<sub>CTX-M-27</sub> és *bla*<sub>CTX-M-55</sub> kevésbé gyakoriak, de az elmúlt időszakban egyre több esetben azonosítják ezeket a géneket vadállatokban (Jamborova és mtsai, 2015; Bevan és mtsai, 2017; Söderlund és mtsai, 2019). A CTX-M enzimek mellett, legtöbbször az SHV-12 és TEM-52 enzimeket írták le vadállatokban (Wang és mtsai, 2017a). ESBL-termelő *E. coli* esetében több mint 170 ST-t azonosítottak már vadállatokban, leggyakrabban az ST131-et (Wang és mtsai, 2017a). Ez a klinikailag fontos világszerte elterjedt multirezisztens klón az embereken kívül sokszor fordul elő társ-, haszonállatokban és

a környezetben is és a *bla<sub>CTX-M-15</sub>* és *bla<sub>CTX-M-14</sub>* világméretű elterjedésében is fontos szerepet játszott (Bevan és mtsai, 2017; Jamborova és mtsai, 2018). További, vadállatokban gyakrabban leírt ST-k, mint az ST10, ST69, ST224, ST405, ST410, ST648 és ST744 szintén számos forrásból leírták már és hozzájárultak a *bla<sub>CTX-M</sub>* gének nemzetközi terjedéséhez (Bonnedahl és mtsai, 2014; Varela és mtsai, 2015; Dolejska és mtsai, 2016; Schaufler és mtsai, 2016, Wang és mtsai, 2017a; Dolejska és mtsai, 2018). Az emberekben, haszon- és vadállatokban talált sikeres klónok az ESBL-termelő törzsek gazdafajok közötti terjedésére utalhatnak (Wang és mtsai, 2017a,b), azonban a HGT egy másik fő módja az ESBL-ek terjedésének világszerte (Cantón és mtsai, 2008). Az ESBL-ok epidemiológiája a vadállatokban hasonló mintát követ, mint ami az emberek esetében is folyamatosan zajlik, némi időbeli eltolódással. Ennek következtében a CRE törzsek a vadállatok is megjelentek, azonban ez még viszonylag ritka jelenségnek számít, és kevés tanulmány van jelenleg az irodalomban. Az első karbapenemáz-termelő baktériumot vadállatokban 2013-ban írták le Németországban (Wang és mtsai, 2017a). A kóborló vagy vándorló madarak közül a sirályok és varjúfélék fontos rezervoárjai lehetnek az ESBL-termelő és/vagy CRE törzseknek (Wang és mtsai, 2017a, Zeballos-Gross és mtsai, 2021). Ezek az állatok gyakran fordulnak elő városokban, halgazdaságokban, előszeretettel fogyasztanak emberek által hátrahagyott táplálékot vagy pedig városi és vidéki szeméttelpeken, közeli szántóföldeken keresnek élelmet, ezek a helyszínek pedig fontos forrásai az antropogén eredetű rezisztens törzsek vadvilágba történő terjedésének (Literák és mtsai, 2007, Dolejska és mtsai, 2018, Furlan és mtsai, 2021; Zeballos-Gross és mtsai, 2021).



**1. ábra:** A vetési varjú (*Corvus frugilegus ssp. frugilegus*) európai populációs mintázata. A betűk különböző populációkat jelölnek; vékony vonalakkal tiszta populációk területei; kis pontokkal két szomszédos populáció által vegyített területek; nagy pontokkal több populáció általi kevert területek; vastag csíkok-főbb hegyvonulatok, Busse (1987).



**2. ábra:** A dankasirályok (*Chroicocephalus ridibundus*) kóborlási, vonulási útvonalai közép és kelet Európában 37786 gyűrűzött madár adatai alapján. Forrás: <https://migrationatlas.org/>

Ezt támasztják alá olyan bizonyítékok, mint a kórházi betegekből, szennyvízből, szeméttelpekről és vad madaraktól származó antibiotikum rezisztens *E. coli* törzsek nagy genetikai hasonlósága, humán izolátumokban domináns gének (*bla<sub>CTX-M-14</sub>*, *bla<sub>CTX-M-15</sub>*) és *E. coli* ST-k (ST10, ST131) szeméttelpel együtt élő sirályokban, VIM-1-termelő *E. coli* magas prevalenciája emberek közelében élő sirályokban Franciaországban (Bonnedahl és mtsai, 2014; Varela és mtsai, 2015; Dolejska és mtsai, 2016, Vittecoq és mtsai, 2017). Ausztráliában egy nagy szeméttelpel melletti költőhelyen a mintázott sirály fiókák 40%-a IMP-4-termelő Enterobacteralest hordozott, ami feltehetően antropogén eredetű tekintve, hogy a *bla<sub>IMP-4</sub>* a leggyakoribb karbapenemáz gén emberekben Ausztráliában (Dolejska és mtsai, 2016).

Mivel a madarak, főként a vándorló vagy kóborló fajok nagy földrajzi távolságokat képesek megtenni (1. ábra és 2. ábra) és ürülékük folyamatosan szennyezi a városi és vidéki területeket, ezért a rezervoár szerep mellett fontos vektorként is szolgálhatnak a rezisztens törzsek számára (Dolejska és mtsai, 2018). A madarak az emberek és a társ-/haszonállatok felé is terjeszthetik a rezisztens törzseket, például az állatok táplálékának, legelőinek, és felszíni vizek (ivóvízkészlet,

pihenőhelyek) ürülékükkel való szennyezésével (Dolejska és mtsai, 2018, Graham és mtsai, 2019). Alaszka és a Mongóliai sivatag elszigetelt részein ESBL-termelő baktériumokat írtak le vándorló sirályokból és ragadozó madaraktól, ami jól szemlélteti a madárvonulás esetleges szerepét a rezisztens törzsek nagy távolságokra vagy akár kontinenseken át való terjedésében (Dolejska és mtsai, 2018). Báez és mtsai által végzett tanulmányban a Chilében mintázott Franklin sirályok (*Leucophaeus pipixcan*) nagy része a pandémiás CTX-M-15-termelő ST131 *E. coli* törzset hordozta, ami az USA-ban élő emberekben nagyon gyakori, azonban Chilében ritkán fordul elő (Báez és mtsai, 2015). A sirályok vándorlási szokásait figyelembe véve azt feltételezték, hogy a sirályok amerikai tartózkodásuk alatt válnak hordozóivá az ott domináns ST131 törzseknek és vonulásuk során Chilébe is eljuttatják azokat. Kínában Wang és mtsai *bla<sub>NDM</sub>* és *mcr-1* hordozó baktériumokat izoláltak ugyanazon a farmon élő csirkékből, rovarokból és vad madaraktól, rámutatva ezzel a rezisztens törzsek farmon belüli gyakori terjedésére illetve kiemelve a vadvilág fontosságát e fontos baktériumok további terjesztésében is (Wang és mtsai, 2017b).

### 3. Célkitűzés

A szakirodalomban nagyszámú közlemény fordul elő, ami vándorló madarak által hordozott antibiotikum rezisztens törzsek vizsgálatáról szól, azonban ezek közül egy sem érinti Magyarországot. Továbbá, a nemzetközi irodalomban jelenleg is kevés olyan tanulmány létezik, ami az Egy egészség elv tükrében egyszerre vizsgálja a vadállatokat, embereket és a környezetet az antibiotikum rezisztencia esetében. Hazánk számos vándorló madárfajnak ad ideiglenesen otthont a téli időszakban, így kutatásunk fő célja különböző, Magyarországon telelő vándorló illetve kóborló madarak által hordozott ESBL-termelő és/vagy karbapenem rezisztens Enterobacterales epidemiológiájának vizsgálata volt az Egy egészség elv tükrében, amihez a madaraktól származó törzseket hasonlítottuk össze lokális humán és/vagy környezeti törzsekkel.

Kutatásunk során az alábbiakat tűztük ki célul:

- Megvizsgálni a téli időszakban a Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Nagyerdei Campus területének fűin gyülekező vetési varjakban (*Corvus frugilegus ssp. frugilegus*, Linnaeus 1758) az ESBL-termelő Enterobacterales prevalenciáját.
- A humán tünetmentesen hordozott ESBL-termelő *E. coli* hordozás arányát vizsgálni.
- Jellemezni a madaraktól, a klinika betegeiből származó illetve a tünetmentesen hordozott humán eredetű ESBL-termelő *E. coli* izolátumokat és összehasonlítani őket egymással a lehetséges járványtani kapcsolatok feltárására.
- Megvizsgálni a CRE prevalenciáját a Duna budapesti szakaszának dokkjain nagy számban előforduló dankasirályokban (*Chroicocephalus ridibundus*, Linnaeus, 1766).
- Meghatározni a CRE jelenlétét a Dunában.
- Jellemezni a gyűjtött sirály, dunai és a Nemzeti Népegészségügyi és Gyógyszerészeti Központ Nemzeti Referencia Laboratóriumából származó CREc törzseket majd összehasonlítani azokat egymással.
- Kutatásunkal egy olyan komplex munkát létrehozni, ami egyrészt hiánypótlóan vizsgálja hazánkban a vadmadarak által hordozott antibiotikum rezisztens baktériumok járványtanát, másrészt egyszerre vizsgálja és hasonlítja össze különböző forrásokból származó antibiotikum rezisztens baktériumok epidemiológiáját az Egy egészség elv megközelítés összefüggésében.

## 4. Anyagok és módszerek

### 4.1. Minták és baktérium törzsek

2016. október és 2017. március között 112 mintát gyűjtöttünk a Debreceni Egyetem, Klinikai Központ, Nagyerdei Campus területének fáin gyülekező vetési varjakból. A varjakat élve-fogó csapdázással (Kövér és mtsai, 2018) fogtuk be majd mintavételezés és gyűrűzés után szabadon engedték. Ugyanebből az időszakból az összes, az Orvosi Mikrobiológiai Intézet Bakteriológiai Laboratóriumába rutin széklettenyésztésre küldött humán széklet mintát (2455) is vizsgáltuk a tünetmentesen hordozott ESBL-termelő *E. coli* prevalenciájának megismerésére és a madarak által hordozott izolátumokkal való összehasonlításra. Továbbá, a Bakteriológiai Laboratóriumból 42 invazív humán klinikai mintából származó ESBL-termelő *E. coli* izolátumot gyűjtöttünk a már említett periódusból összehasonlítás céljából.

2019. január és március között 122, míg 2020. Január és Március között 105 kloákatampon mintát gyűjtöttünk gyűrűzés céljából befogott dankasirályokból. Mindkét madárfaj esetében a mintavételezés az intézményi irányelveknek megfelelően, a helyi és nemzeti előírások betartásával a legkevésbé invazív módon történt, ezért tanulmányunk mentesült az engedélykötelezettség alól. A Dunából összesen 24 mintát gyűjtöttünk ugyanebből a két mintavételi időszakból; 2019-ben és 2020-ban is 12-12 mintát gyűjtöttünk, hatot-hatot a Budapest feletti és hatot-hatot a Budapest utáni szakaszokból. A minták kútsor oldali partról és sodorvonalból származtak egyenlően elosztva. Ehhez a mintacsoporthoz kaptunk még 21, a Nemzeti Népegészségügyi és Gyógyszerészeti Központ, Nemzeti Referencia Laboratóriumába küldött és/vagy ott gyűjtött CREc izolátumot összehasonlítás céljából.

A madaraktól vett kloákatampon valamint a széklettenyésztésre küldött humán mintákat 2 mg/l cefotaximmal kiegészített eozin-metilénkék táptalajokra szélesztettük. A vízi mintákat Colilert-18/Quanti-Tray teszttel (IDEXX Laboratories, Westbrook, USA) dolgoztuk fel, ami 10mg/l cefotaximmal volt kiegészítve. Minden pozitív zsebet felnyitottunk és eozin-metilénkék táptalajokra oltottuk őket. Ettől a lépéstől minden minta típus esetén ugyanazt az eljárást követtük. Az összes eltérő morfológiával rendelkező kolóniát tovább oltottuk véragarra, majd mátrix asszociált lézer deszorpció/ionizáció (MALDI-TOF) (Bruker, Bremen, Germany) tömegspektrométerrel faj szinten azonosítottuk. Minden Gram-negatív bélbaktériumot tovább vizsgáltunk korongdiffúziós módszerrel a European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) aktuális évi ajánlása alapján a következő antibiotikumokra: ertapenem, meropenem, imipenem, cefotaxim, ceftazidim, cefepim, amoxicillin-klavulánsav, ceftazidim-

avibaktám, ciprofloxacín, amikacín, gentamicin, tobramycín, foszomicin, tigecklin és cotrimoxazol. Az izolátumok kolisztin iránti érzékenységének meghatározását leves-hígítási módszerrel (MERLIN Diagnostika GmbH, Németország) végeztük. Az ESBL-termelést kettős korong teszttel határoztuk meg cefotaxim, ceftazidim, cefepim és amoxicillin-klavulánsav korongok segítségével. A karbapenemekre csökkent érzékenységet mutató törzseket tovább vizsgáltuk. A karbapenem rezisztencia megerősítését módosított karbapenem inaktivációs teszttel igazoltuk (Pierce és mtsai, 2017). A karbapenem rezisztencia típusokat tovább vizsgáltuk MASTDISCS Combi Carba Plus teszttel (Mast Group Ltd, UK).

## 4.2. Rezisztencia gének kimutatása

Az ESBL vagy karbapenem rezisztens fenotípust mutató izolátumokat polimeráz láncreakcióval (PCR) jellemeztük tovább. Ehhez a DNS kinyerése 98 °C-on történt 15 perces keresztüli melegítéssel, amihez 200 µl Tris-EDTA (TE) pufferben egy oltó kacsnyi (10 µl) baktériumot oldottunk fel. A centrifugálás után a felülúszót leszívtuk, majd tízszeres hígításban alkalmaztuk a PCR reakciók templátjaiként. A reakciók kivitelezését T100 Thermal Cycler (BioRad, Hercules, Kalifornia, USA) készülékben végeztük. A PCR amplikonok láthatóvá tételét agaróz gélelektroforézissel végeztük Tris-Borate-EDTA (TBE) pufferben 1%-os gélen (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) 50 perces át 100V feszültségen. A multiplex PCR-eket 70 perces át 100V feszültségben 2%-os gélen elektroforezizáltuk. A DNS festés ECO Safe-el történt (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA), a gélek elemzéséhez GelDoc 2000 (BioRad, Hercules, Kalifornia, USA) UV transzilluminátort használtunk.

Az ESBL fenotípusú törzsekben a *bla<sub>SHV</sub>* és *bla<sub>CTX-M-1,-2,-8,-9</sub>* alcsoport gének jelenlétét vizsgáltuk (Pitout és mtsai, 2004; Ebrahimi és mtsai, 2014). Az amplikonokat QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Hilden, Germany) segítségével tisztítottuk ki a gyártó utasításait követve és szekvenálással (Macrogen, Amszterdam, Hollandia) vizsgáltuk tovább. A szekvenciákat CLC Main Workbench (CLC Bio, Aarhus, Dánia) segítségével elemeztük.

A karbapenemáz-termelő törzsek esetében a *bla<sub>NDM</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>IMP</sub>*, *bla<sub>KPC</sub>* és *bla<sub>OXA-48</sub>*-szerű gének jelenlétét multiplex PCR-ekkel vizsgáltuk (Poirel és mtsai, 2011). A plazmidon-kódolt mobilis kolisztin rezisztencia gének vizsgálatát egy erre kifejlesztett multiplex PCR-el végeztük, ami az *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* és *mcr-5* gének kimutatására képes (Rebelo és mtsai, 2018). A használt primerek szekvenciái és annealációs hőmérsékletei az 1. táblázatban találhatóak.

<b>Célgén</b>	<b>Primer</b>	<b>Szekvencia (5'-3')</b>	<b>Annelációs hőmérséklet</b>	<b>Amplikon méret</b>	<b>Referencia</b>
bla <sub>SHV</sub>	blaSHV-F blaSHV-R	CGCCGGGTTATTCTTATTTGTCGC TCTTTCCGATGCCGCCGCCAGTCA	56°C	1017 bp	Ebrahimi és mtsai, 2014
bla <sub>CTX-M-1-like</sub>	CTX-M-1F CTX-M-1R	GACGATGTCACTGGCTGAGCAG AGCCGCCGACGCTAATACA	55°C	449 bp	Pitout és mtsai, 2004
bla <sub>CTX-M-2-like</sub>	CTX-M-2F CTX-M-2R	GCGACCTGGTAACTACAATCC CGGTAGTATTGCCCTTAAGCC	55°C	351	Pitout és mtsai, 2004
bla <sub>CTX-M-8-like</sub>	CTX-M-8F CTX-M-8R	CGCTTTGCCATGTGCAGCACC GCTAGTACGATCGAGCC	55°C	307	Pitout és mtsai, 2004
bla <sub>CTX-M-9-like</sub>	CTX-M-9F CTX-M-9R	GCTGGAGAAAAGCAGCGGAG GTAAGCTGACGCAACGTCTG	62°C	474	Pitout és mtsai, 2004
bla <sub>IMP</sub>	IMP-F IMP-R	GGAATAGAGTGGCTTAAAYTCTC GGTTTAAAYAAAACAACCACC	59°C	232	Poirel és mtsai, 2011
bla <sub>VIM</sub>	VIM-F VIM	GATGGTGTGGTTCGCATA CGAATGCGCAGCACCAG	59°C	390	Poirel és mtsai, 2011
bla <sub>NDM</sub>	NDM-F NDM-R	GGTTTGGCGATCTGGTTTTC CGGAATGGCTCATCACGATC	52°C	620	Poirel és mtsai, 2011

<i>bla</i> <sub>OXA-48-like</sub>	OXA-48-F OXA-48-R	GCGTGGTTAAGGATGAACAC CATCAAGTTCAACCCAACCG	52°C	438	Poirel és mtsai, 2011
<i>bla</i> <sub>KPC</sub>	KPC-F KPC-R	CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG CTTGTCATCCTTGTTAGGCG	52°C	798	Poirel és mtsai, 2011
<i>mcr-1</i>	<i>mcr1_320bp_fw</i> <i>mcr1_320bp_rev</i>	AGTCCGTTTGTCTTGTGGC AGATCCTTGGTCTCGGCTTG	58°C	320	Rebelo és mtsai, 2018
<i>mcr-2</i>	<i>mcr2_700bp_fw</i> <i>mcr2_700bp_rev</i>	CAAGTGTGTTGGTCGCAGTT TCTAGCCCGACAAGCATACC	58°C	715	Rebelo és mtsai, 2018
<i>mcr-3</i>	<i>mcr3_900bp_fw</i> <i>mcr3_900bp_rev</i>	AAATAAAAATTGTTCCGCTTATG AATGGAGATCCCCGTTTTT	58°C	929	Rebelo és mtsai, 2018
<i>mcr-4</i>	<i>mcr4_1100bp_fw</i> <i>mcr4_1100bp_rev</i>	TCACTTTCATCACTGCGTTG TTGGTCCATGACTACCAATG	58°C	1116	Rebelo és mtsai, 2018
<i>mcr-5</i>	MCR5_fw MCR5_rev	ATGCGGTTGTCTGCATTTATC TCATTGTGGTTGTCCTTTTCTG	58°C	1644	Rebelo és mtsai, 2018

**1. táblázat:** A PCR során detektálni kívánt ESBL- és karbapenemáz-termelésért illetve a mobilis kolisztin rezisztenciáért felelős gének, a hozzájuk tartozó primerpárok és azok szekvenciái, az alkalmazott annealációs hőmérsékletek, valamint a felhasznált irodalmi források. R=A vagy G; Y=C vagy T.

### 4.3. Tipizálás

Az *E. coli* izolátumok filocsoportjainak meghatározására a Clermont és mtsai által kifejlesztett multiplex PCR-t használtuk (Clermont és mtsai, 2013). Ez a PCR négy markert használ: *chuA*, *yjaA*, *TsPE4C2* és *arpA*, ezen markerek illetve további PCR-k segítségével az *E. coli* törzseket az A, B1, B2, C, D, E és F és *Escherichia* Klád 1 filocsoportokba lehet besorolni (Clermont és mtsai, 2013).

A B2 filocsoportba sorolt törzseket tovább vizsgáltuk multiplex PCR technikával a pandémiás ST131 klón és kládjainak (A, B, C2, C1-M27, C1-non-M27) kimutatására, amihez a Matsumura és mtsai által kidolgozott primereket használtuk (Matsumura és mtsai, 2017).

Az enterovirulens *E. coli* patotípusainak meghatározására egy erre kifejlesztett multiplex PCR-t alkalmaztunk (Persson és mtsai, 2007). A tipizálási módszerekhez használt primerek szekvenciái és annealációs hőmérsékletei a 2. táblázatban találhatóak.

### 4.4. Pulzáló-mezejű gél elektroforézis (PFGE)

A varjú, széklet és klinikai izolátumok közötti lehetséges epidemiológiai kapcsolatok feltárása PFGE-vel történt. A makrorestrikciót XbaI (Fermentas, Vilnius, Lithuania) enzimmel végeztük CHEF DRIII rendszerben (Bio-Rad) 1%-os SeaKem Gold agarózban (Lonza). Az elektroforézis a következőképpen zajlott: 14° C-on, 20 órán át, pulzus idő 2-64 másodperc, szög 120°, feszültség 6 V/cm. A géleket ethidium bromiddal festettük és UV fény alatt digitalizáltuk, a kapott mintázatokat pedig Fingerprinting II szoftver (Bio-Rad) segítségével elemeztük. A 90%, vagy afeletti hasonlósággal rendelkező izolátumokat klonális rokonságban lévőeknek tekintettük.

### 4.5. Teljes genom szekvenálás (WGS)

A PFGE eredményei alapján 20 izolátumot választottunk az első mintagyűjtésből, hogy WGS-sal tovább vizsgáljuk őket. A szelektálás során a varjak által hordozott, számos izolátumot magába foglaló pulzotípusokból illetve a varjú és humán törzseket egyaránt tartalmazó pulzotípusokból választottunk izolátumokat (6. ábra; 3. táblázat) A varjú, széklet és klinikai törzsek esetében a genomi DNS izolálását Zixpress32 Bacterial DNA Extraction Kit segítségével Zixpress-32 Automated Nucleic Acid Purification Instrument (Zinexts Life Science Corporation) platformon végeztük a gyártó utasításainak megfelelően. A WGS-t Nextera XT DNA Library Preparation Kit-et használva Illumina NextSeq500 platformon 150bp single-end szekvenálással hajtottuk végre.

<b>Célgén</b>	<b>Primer</b>	<b>Szekvencia (5'-3')</b>	<b>Annelációs hőmérséklet</b>	<b>Amplikon méret</b>	<b>Referencia</b>
chuA	chuA.1b chuA.2	ATGGTACCGGACGAACCAAC TGCCGCCAGTACCAAAGACA	59°C	288	Clermont és mtsai, 2013
yjaA	yjaA.1b yjaA.2b	CAAACGTGAAGTGTCAGGAG AATGCGTTCCTCAACCTGTG	59°C	211	Clermont és mtsai, 2013
TspE4C2	TspE4C2.1b TspE4C2.2b	CACTATTCGTAAGGTCATCC AGTTTATCGCTGCGGGTCGC	59°C	152	Clermont és mtsai, 2013
ArpA*	AceK.f ArpA1.r	AACGCTATTCGCCAGCTTGC TCTCCCCATACCGTACGCTA	59°C	400	Clermont és mtsai, 2013
trpA	trpAgpC.1 trpAgpC.2	AGTTTTATGCCAGTGCGAG TCTGCGCCGGTCACGCC	59°C	219	Clermont és mtsai, 2013
ArpA	ArpAgpE.f ArpAgpE.r	GATTCCATCTTGTCAAAATATGCC GAAAAGAAAAAGAATTCCCAAGAG	52°C	301	Clermont és mtsai, 2013
trpA*	trpBA.f trpBA.r	CGGCGATAAAGACATCTTCAC GCAACGCGGCCTGGCGGAAG	52°C vagy 59°C	489	Clermont és mtsai, 2013
Klád A	CladeAspe4-YF5 CladeAspe4-YR5	TGACGGGACGTGAGCAAATTA AGTCAGACCTAGCCACCCTT	57°C	707	Matsumura és mtsai, 2017

ST131	ST131_R19-YF1 ST131_R19-YR1	AGCAACGATATTTGCCATT GGCGATAACAGTACGCCATT	57°C	580	Matsumura és mtsai, 2017
Klád B	prfC-1615spe0-YF1 prfC-d2034-YR1	CAACGTTGAAGCAGTGTATGAG TGACAATCGACGGCTTTAGA	57°C	442	Matsumura és mtsai, 2017
Klád C1	C1-578spe-YF1 C1-898-YR1	GGCCCCACAAATTGCTT CGCACCTCCGATACCAAA	57°C	337	Matsumura és mtsai, 2017
M27PP1	M27PP1C-YF1 M27PP1C-YR1	TGAATCAAAGGTCCGAGCTG TATGGCTGGCAGATGCTTTA	57°C	232	Matsumura és mtsai, 2017
Klád C2	nrdI-534spe2-YF1 nrdI-678R	ACGGATTCAGGTAGACGATT CCTCACCAAAGTTGCGATTAC	57°C	164	Matsumura és mtsai, 2017
Klád C	C-SNP1-700spe-YF1 C-SNP1-762spe-YR2	CGCTGGCCAGTTATCTGAAAT CCTTTCACCAACTGGGTTACT	57°C	103	Matsumura és mtsai, 2017
Humán estA	StFh StRh	TTTCGCTCAGGATGCTAAACCAG CAGGATTACAACACAATTCACAGCA GTA	57°C	151	Persson és mtsai, 2007
Porcine estA	StFp StRp	CTTTCCTCTTTTAGTCAGTCAACT G CAGGATTACAACAAAGTTCACAGCA G	57°C	160	Persson és mtsai, 2007

vtx1	PS3	GTTTGCAGTTGATGTCAGAGGGA	57°C	260	Persson és mtsai, 2007
	PS4	CAACGAATGGCGATTTATCTGC			
eae	PS5	GGYCAGCGTTTTTTCCTTCCTG	57°C	377	Persson és mtsai, 2007
	PS6	TCGTCACCARAGGAATCGGAG			
vtx2	PS7	GCCTGTCGCCAGTTATCTGACA	57°C	420	Persson és mtsai, 2007
	PS8	GGAATGCAAATCAGTCGTCCTC			
eltA	PS9	AAACCGGCTTTGTCAGATATGATGA	57°C	479	Persson és mtsai, 2007
	PS10	TGTGCTCAGATTCTGGGTCTCCT			
ipaH	PS11	TTGACCGCCTTTCCGATACC	57°C	647	Persson és mtsai, 2007
	PS12	ATCCGCATCACCGCTCAGAC			
16S rDNS*	PS13	GGAGGCAGCAGTGGGGAATA	57°C	1062	Persson és mtsai, 2007
	PS14	TGACGGGCGGTGTGTACAAG			

**2. táblázat:** A filotipizálási, az ST131 és kládjainak kimutatásához valamint az enterovirulens *E. coli* patotípusainak meghatározásához használt PCR-k során detektálni kívánt gének, a hozzájuk tartozó primerpárok és azok szekvenciái, az alkalmazott annealációs hőmérsékletek, valamint a felhasznált irodalm. \*Belső kontrollként szolgáló gének. R=A vagy G; Y=C vagy T.

A sirályokból, a Dunából származó illetve a klinikai izolátumok közül csak a szerzett karbapenem rezisztenciát hordozó törzseket vizsgáltuk tovább WGS-sal. Ehhez a genomi DNS-t DNeasy UltraClean Microbial Kit (Qiagen, Németország) segítségével nyertük ki a gyártó utasításait követve. Ezt követően a WGS-t Nextera DNA Flex Library Preparation Kit (Illumina, USA) használatával Illumina MiSeq platformon 150-bp paired-end szekvenálással végeztük. A kapott FASTQ fájlokat minden esetben quality trimmeltük majd *de novo* szereltük össze Ridom SeqSphere+ szoftverbe (Ridom GmbH, München, Németország) integrált Velvet (v1.0.0.) segítségével. A varjú, széklet és klinikai ESBL-termelő *E. coli* szekvenálásából származó nyers readok a PRJNA693168, a sirály, dunai és klinikai CREc izolátumok szekvenálásából generált readok a PRJNA807502 BioProject azonosítók alatt elérhetőek a Nemzeti Biotechnológiai Információs Központ (NCBI) adatbázisában. A kapott szekvenciák elemzéséhez core-genom multilókuszos szekvencia tipizálást (cgMLST) végeztünk a SeqSphere+ szoftver segítségével (Ridom, Münster, Germany) az ‘*E. coli* multilókuszos szekvencia tipizálás (MLST) Warwick v1.0’ és ‘*E. coli* cgMLST’ verzió 1.0 sémának megfelelően. Ezen cgMLST minta alapján azon izolátumokat, melyek 10 allélnál kevesebb távolságban voltak közeli rokonságban állóknak határoztuk. A rezisztencia gének, plazmid replikon típusok és virulencia gének azonosítását a Center for Genomic Epidemiology (<http://www.genomicepidemiology.org/>) oldalán elérhető ResFinder (v4.1), PlasmidFinder (v2.1) és VirulenceFinder (v2.0) adatbázisok segítségével végeztük. A baktérium fajok MALDI-TOF által kapott eredményeit szintén a Center for Genomic Epidemiology oldalon megtalálható KmerFinder (v3.2) adatbázis segítségével ellenőriztük. A filocsoportok kimutatására használt multiplex PCR-ek eredményeit megerősítettük az In silico Clermont Phylotyper (<https://ezclermont.hutton.ac.uk/>) segítségével. A karbapenemáz géneket tartalmazó kontigok azonosítottuk, majd az egymással és az irodalommal való összehasonlítást az NCBI webserveren (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) található eszközzel végeztük. Továbbá, ezen kontigokat a PROKKA (v1.13) szoftverrel annotáltuk (Seemann, 2014), majd a Clinker (Gilchrist és Chooi, 2021) segítségével létrehozott ábrák alapján vizsgáltuk a karbapenemáz gének közvetlen genetikai környezetét.

## 5. Eredmények

### 5.1. A varjú eredetű ESBL-termelő *E. coli* izolátumok prevalenciája és jellemzői

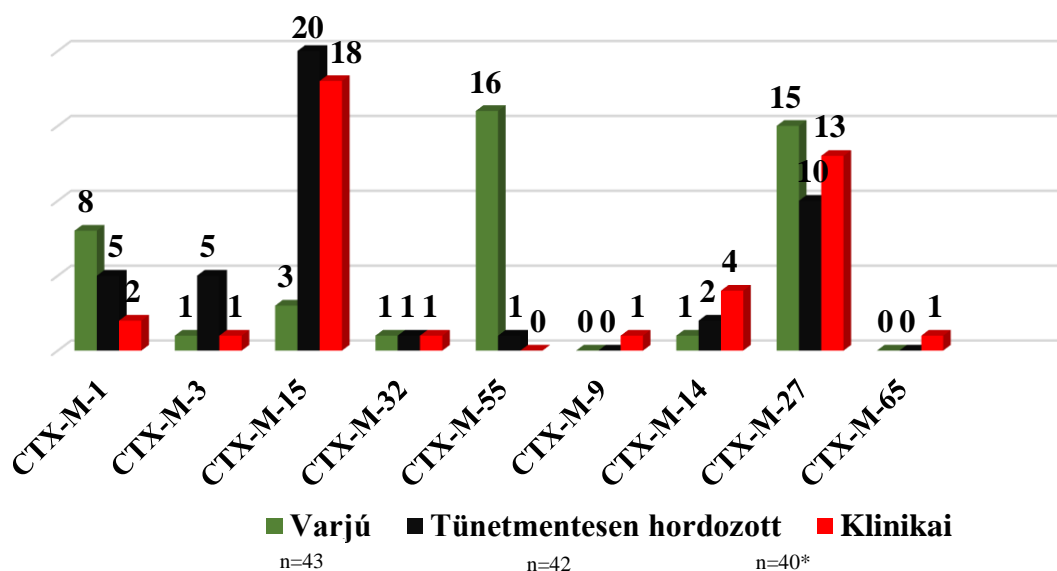
A vizsgált varjak 42%-a (47/112) hordozott legalább egy cefotaxim rezisztens Enterobacteralest. Ezek közül 47 volt *E. coli*, négy *Enterobacter cloacae* complex, kettő *Citrobacter* ssp., míg *Klebsiella* ssp.-okat nem találtunk a vizsgált mintákban. Hat madár (8544, 8551, 8557, 8578, 8583 és HOR3) egyszerre két különböző morfológiájú *E. coli*-t hordozott, melyek a további vizsgálatok során fenotípusban és genotípusban is eltérő ESBL-termelő törzseknek bizonyultak. Az *Enterobacter* ssp.-k, *Citrobacter* ssp.-k és négy *E. coli* AmpC-termelő volt, így ezeket jelen kutatásban nem vizsgáltuk tovább. A 43 ESBL-termelő törzs mindegyike *E. coli* volt, az ESBL-termelő törzsek prevalenciája pedig 33% (37/112) volt.

A varjaktól származó ESBL-termelő *E. coli* izolátumokban a *bla*<sub>CTX-M-55</sub> (16/43) és *bla*<sub>CTX-M-27</sub> (15/43) voltak a domináns gének és két izolátum egyszerre két különböző *bla*<sub>CTX-M</sub> gént is hordozott (3. ábra). A fluorokinolon (17/43) és co-trimoxazol (23/43) rezisztencia gyakori volt, miközben az összes izolátum érzékeny volt a vizsgált aminoglikozidokkal szemben (4. ábra). Az izolátumok 40%-a (17/43) érzékeny volt az összes vizsgált nem béta-laktám típusú antibiotikumra, köztük az összes *bla*<sub>CTX-M-15</sub> hordozó. Az izolátumok nagyobb része valamely kommenzális filocsoportba, A (1/43), B1 (22/43) és C (3/43) tartozott és a B1 volt összességében a leggyakoribb filocsoport (5. ábra). Mindazonáltal, a varjú izolátumok 40%-a (17/43) a humán fertőzésekben fontos szerepet játszó B2 (35%, 15/43) vagy D (5%, 2/43) filocsoportba tartozott (5. ábra). Kettő B2 filocsoportba tartozó CTX-M-27-termelő *E. coli* izolátum a pandémiás ST131 klónhoz tartozott, azon belül a C1-M27 alkládba. Továbbá, az izolátumok 21%-a (9/43) az intimint kódoló *eae* gént hordozta és ezek mindegyike CTX-M-27-termelő volt.

### 5.2. A székletből származó tünetmentesen hordozott ESBL-termelő *E. coli* izolátumok prevalenciája és jellemzői

A humán széklet minták esetében a tünetmentesen hordozott ESBL-termelő *E. coli* aránya 1,7% (42/2455) volt. A tünetmentesen hordozott izolátumokban a *bla*<sub>CTX-M-15</sub> (20/42) és *bla*<sub>CTX-M-27</sub> (10/42) gének fordultak elő legtöbbször, és két izolátum is két különböző *bla*<sub>CTX-M</sub> gént hordozott (3. ábra). Az izolátumok körében gyakori volt a fluorokinolon (24/42), co-trimoxazol (29/42), amikacin (14/42), gentamicin (12/42) és tobramycin (14/42) elleni rezisztencia

egyenként (4. ábra). A törzsek 24%-a (10/42) volt a három vizsgált nem béta-laktám antibiotikum csoportra rezisztens, ezek közül nyolc CTX-M-15-termelő. A kommenzális filocsoportokba tartozó izolátumok többségben voltak, de a domináns filocsoport a B2 volt (5. ábra). A B2 filocsoportba tartozó törzsek közül kettő, egy, egy és tíz tartozott az ST131 A, B, C2 és C1-M27 alkládjába.



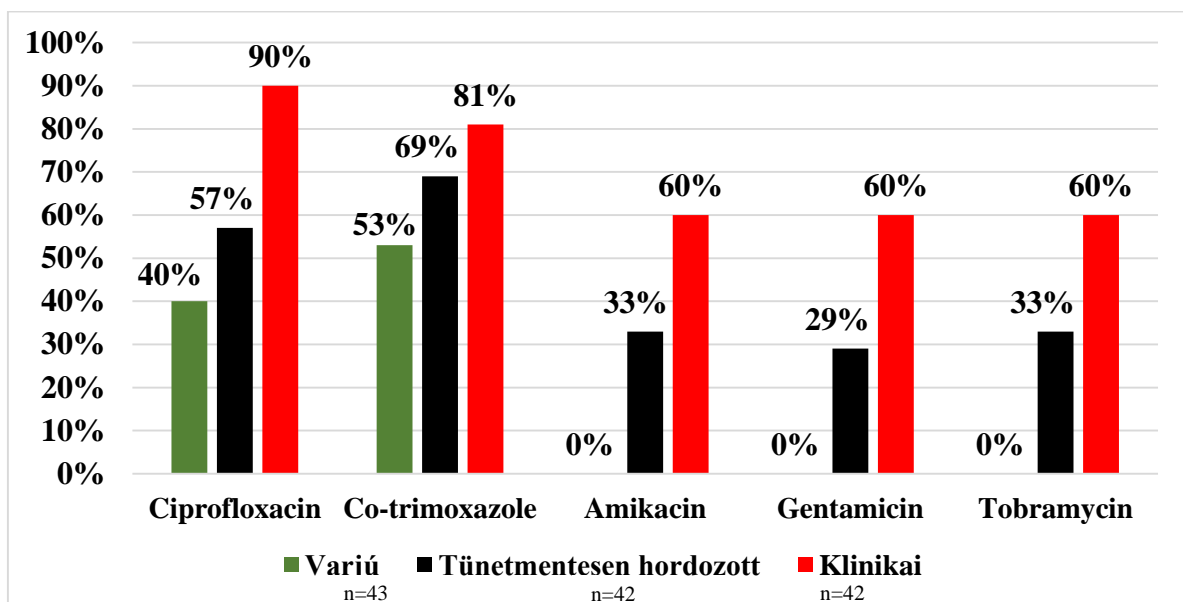
3. ábra: Az ESBL gének megoszlása az egyes mintacsoportokban. \*A két *bla<sub>SHV-12</sub>*-t hordozó izolátum nincs ide számítva.

### 5.3. A klinikai mintákból származó ESBL-termelő *E. coli* izolátumok jellemzői

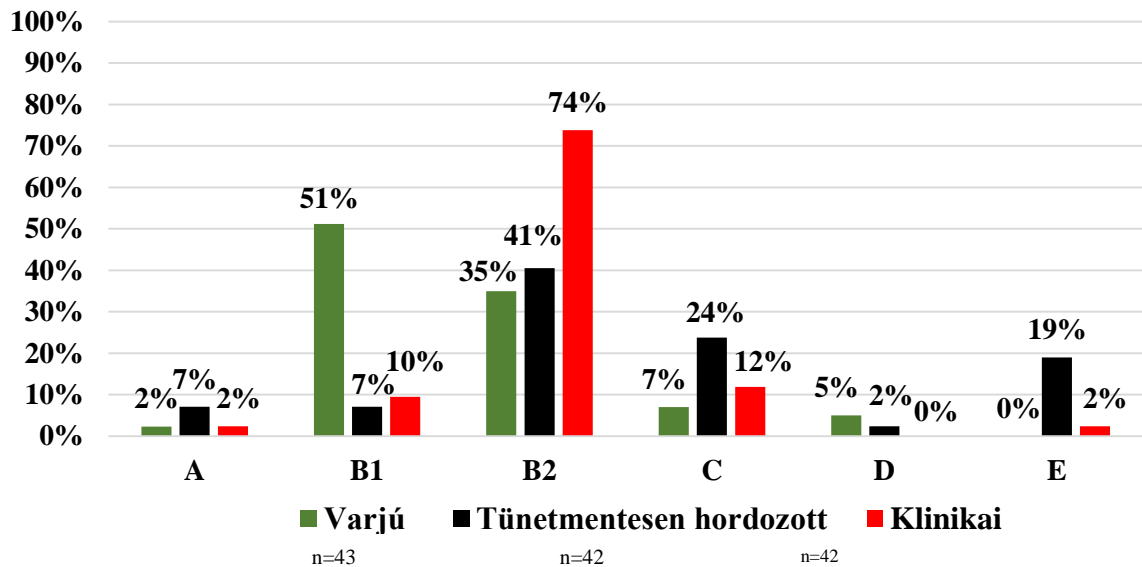
A beteganyagból származó ESBL-termelő *E. coli* izolátumok nagy része (48%, 20/42) húgyúti fertőzésekből származott (pfeje ábra). A leggyakoribb ESBL gének a *bla<sub>CTX-M-15</sub>* (18/42) és *bla<sub>CTX-M-27</sub>* (13/42) voltak, egy izolátum pedig két eltérő *bla<sub>CTX-M</sub>* gént hordozott, míg két izolátumban csak *bla<sub>SHV</sub>* típusú gén volt jelen, mégpedig a *bla<sub>SHV-12</sub>* (3. ábra, 6. ábra). A korezisztencia szintek magasak voltak, az izolátumok 45%-a (19/42) rezisztens volt fluorokinolonokra, co-trimoxazolra és aminoglikozidokra egyaránt (4. ábra), melyek a legtöbb esetben a CTX-M-15-termelők (13/19) voltak. Az izolátumok nagy része (31/42) a B2 filocsoportba tartozott (5. ábra), melyek döntő többsége (62%, 26/42) ST131 volt. Az ST131-es izolátumok közül egy, kilenc és 16 a B, C2 és C1-M27 alkládokba tartozott.

A varjából, székletből és klinikai mintákból izolált ESBL-termelő *E. coli* törzsek összehasonlítása

A varjú eredetű izolátumok esetében a *bla*<sub>CTX-M-55</sub>, míg mindkét humán gyűjteményben a *bla*<sub>CTX-M-15</sub> volt a domináns ESBL gén, a második leggyakoribb pedig a *bla*<sub>CTX-M-27</sub> volt mindhárom minta populációban egyaránt (3. ábra). CTX-M-2 és CTX-M-8 alcsoportokba tartozó gének nem voltak jelen a vizsgált izolátumokban. A varjú-eredetű törzsek kisebb hányada volt rezisztens nem-béta-laktám típusú antibiotikumokra a humán törzsekhez viszonyítva (4. ábra). Azon izolátumok, melyek aminoglikozidokra, fluorokinolonokra és co-trimoxazolra is rezisztensek voltak általában *bla*<sub>CTX-M-1</sub> alcsoportba tartozó gént hordoztak, leggyakrabban *bla*<sub>CTX-M-15</sub>-öt a varjakat leszámítva, ahol a *bla*<sub>CTX-M-15</sub> hordozók minden nem béta-laktámra érzékenyek voltak. A *bla*<sub>CTX-M-27</sub> hordozók rezisztensek voltak fluorokinolonokra és co-trimoxazolra, de aminoglikozidokra nem. Karbapenem rezisztens izolátumok nem fordultak elő a vizsgált mintákban. A varjak és emberek által hordozott izolátumok döntő többsége kommenzális filocsoporthoz tartozott, míg a klinikai izolátumok főként a B2 filocsoporthoz tartoztak (5. ábra). A pandémiás ST131-es klón a varjakban és emberekben is egyaránt jelen volt és a C1-M27 volt a leggyakrabban előforduló alklád. Az összes izolátum negatív volt az általunk vizsgált *mcr* rezisztencia génekre.



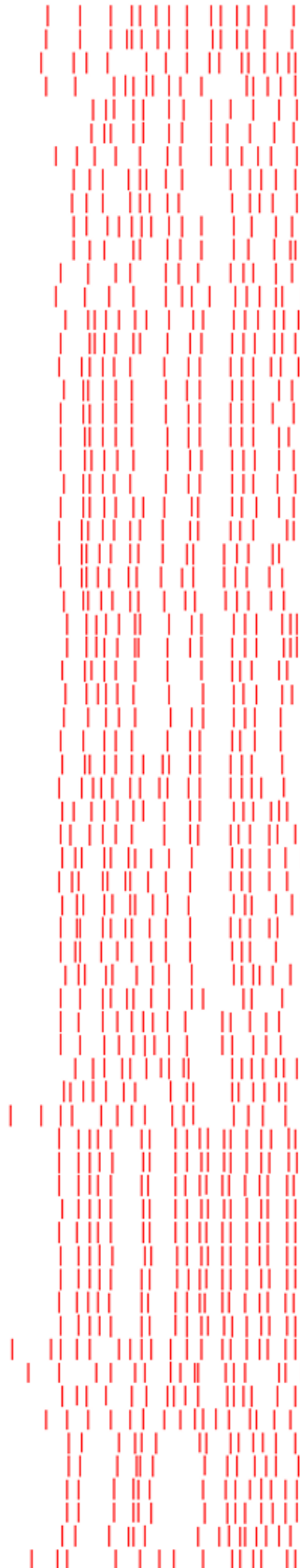
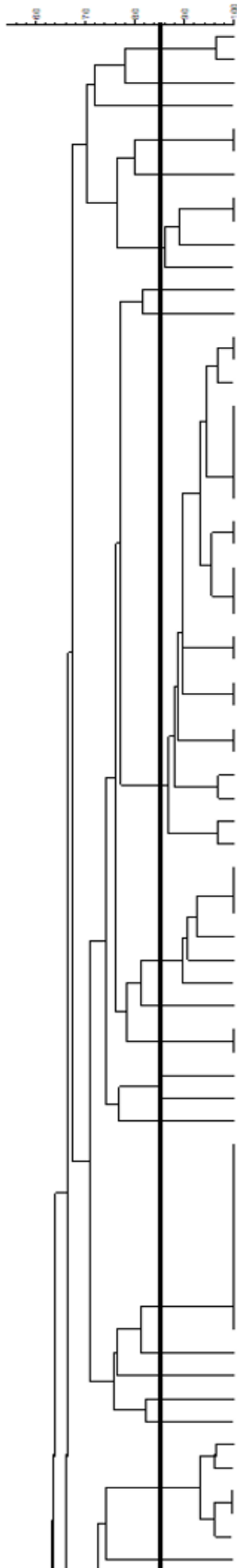
4. ábra: A vizsgált ESBL-termelő *E. coli* izolátumok korezisztencia profilja a különböző minta populációkban.



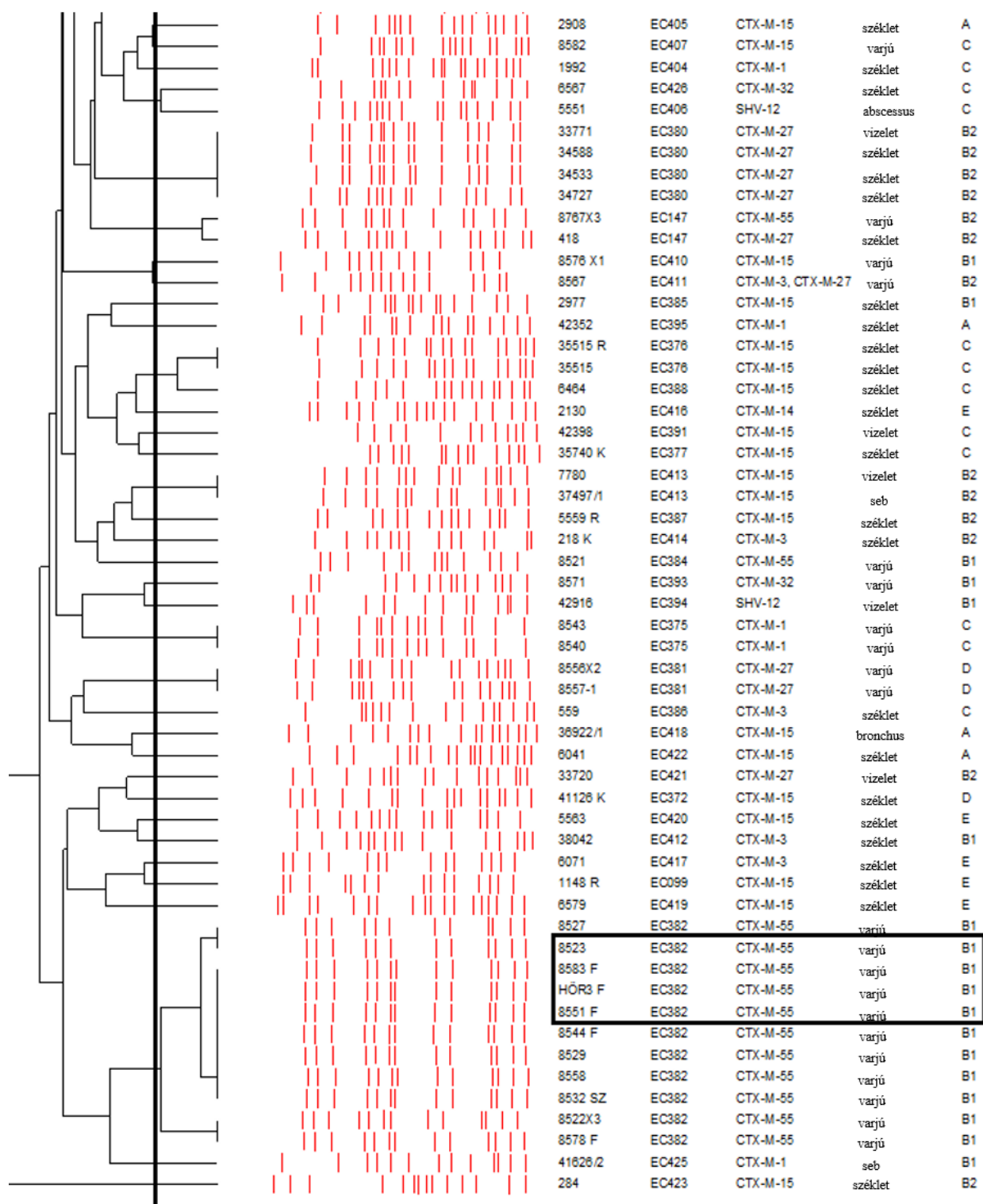
**5. ábra:** Az ESBL-termelő *E. coli* filocsportjainak megoszlása a három vizsgált minta populációban. F filocsportú izolátum nem volt jelen egyik mintacsoportban sem.

#### 5.4. Az ESBL-termelő *E. coli* izolátumok molekuláris epidemiológiája

A PFGE eredménye alapján elmondható, hogy a humán klinikai és tünetmentesen hordozott izolátumok gyakran együtt klasztereződtek, míg a varjú izolátumok ezektől jól láthatóan elszeparálódtak (EC378, EC382) néhány olyan klaszterbe leszámítva, ami humán és varjú izolátumokat is tartalmazott (6. ábra). Ezek közül a legnagyobb az EC069 nyolc széklet, tíz klinikai és két varjú izolátumból állt és ezen izolátumok mindegyike az ST131-ba tartozott. A legtöbb ST131-es izolátum három klaszterbe (EC003, EC069, and EC380) tartozott, azonban néhány ST131-es izolátum random fordult elő. Az EC003-as klaszterbe kizárólag klinikai ST131 izolátumok míg az EC380-as klaszterbe csak székletből származó ST131 izolátumok tartoztak (6. ábra). Az EC069-es klaszterben a két varjú eredetű ST131-es izolátum PFGE profilja teljesen megegyezett a klinikai és tünetmentesen hordozott izolátumok profiljával. Egy kisebb klaszter (EC088) is találtunk, amibe három klinikai, egy széklet és egy varjú izolátum tartozott. Továbbá, az EC147 és EC183 klaszterek egy-egy varjú és széklet izolátumot tartalmaztak (6. ábra).

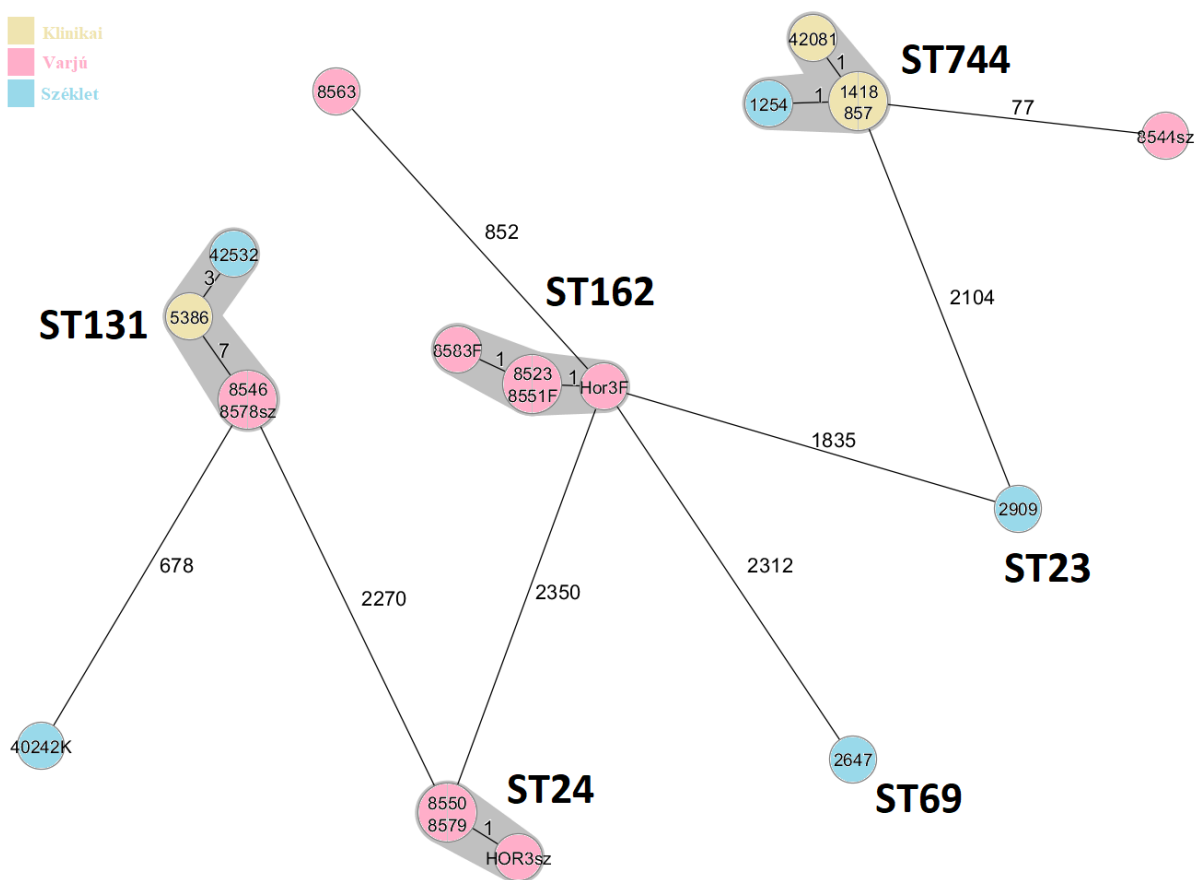


8569	EC390	CTX-M-1	varjú	B1
8570	EC390	CTX-M-1	varjú	B1
35051	EC389	CTX-M-15	széklet	B1
32416	EC383	CTX-M-15	köpet	B2
31638	EC379	CTX-M-15	hüvely	B2
35840/2	EC379	CTX-M-15	torok	B2
38884/1	EC335	CTX-M-85	bronchus	B1
<b>40242 K</b>	<b>EC183</b>	<b>CTX-M-15</b>	<b>széklet</b>	<b>B2</b>
8563	EC183	CTX-M-1	varjú	B1
<b>2929</b>	<b>EC399</b>	<b>CTX-M-15</b>	<b>széklet</b>	<b>E</b>
284 R	EC400	CTX-M-15	széklet	B2
6745	EC397	CTX-M-15	vizelet	B2
8573	EC275	CTX-M-1	varjú	B1
40531	EC089	CTX-M-27	széklet	B2
3699	EC089	CTX-M-27	bronchus	B2
1158	EC089	CTX-M-27	széklet	B2
<b>8578 SZ</b>	<b>EC089</b>	<b>CTX-M-27</b>	<b>varjú</b>	<b>B2</b>
<b>2847</b>	<b>EC089</b>	<b>CTX-M-15</b>	<b>széklet</b>	<b>D</b>
39967	EC089	CTX-M-15	vizelet	B2
6771	EC089	CTX-M-27	széklet	B2
<b>8546</b>	<b>EC089</b>	<b>CTX-M-27</b>	<b>varjú</b>	<b>B2</b>
42825	EC089	CTX-M-27	széklet	B2
35797	EC089	CTX-M-27	vizelet	B2
1713/1	EC089	CTX-M-15	abscessus	B2
37293	EC089	CTX-M-27	hüvely	B2
645 K	EC089	CTX-M-27	széklet	B2
<b>5386</b>	<b>EC089</b>	<b>CTX-M-27</b>	<b>vizelet</b>	<b>B2</b>
<b>42532</b>	<b>EC089</b>	<b>CTX-M-27</b>	<b>széklet</b>	<b>B2</b>
32433	EC089	CTX-M-27	vizelet	B2
7382	EC089	CTX-M-27	ascites	B2
2236	EC388	CTX-M-15	seb	B2
1751/1	EC388	CTX-M-9	vizelet	B2
36482/2	EC089	CTX-M-27	vizelet	B2
37493	EC089	CTX-M-27	vizelet	B2
7031	EC249	CTX-M-27	bronchus	B2
7240	EC249	CTX-M-27	vizelet	B2
5342	EC003	CTX-M-15	vizelet	B2
5396	EC003	CTX-M-15	abscessus	B2
37328	EC003	CTX-M-15	vizelet	B2
1517/1	EC003	CTX-M-15	vizelet	B2
2037/1	EC003	CTX-M-15	vizelet	B2
37931/1	EC003	CTX-M-15	köpet	B2
38905	EC402	CTX-M-15	bronchus	B2
40807	EC384	CTX-M-15	széklet	B2
40002	EC384	CTX-M-15	vizelet	B2
33762/1	EC401	CTX-M-3	seb	B2
41675	EC427	CTX-M-15	vér	B2
35051	EC408	CTX-M-15	széklet	B1
8557-2E	EC378	CTX-M-27	varjú	B2
8583 SZ	EC378	CTX-M-14	varjú	B2
8551 SZ	EC378	CTX-M-27	varjú	B2
<b>8579</b>	<b>EC378</b>	<b>CTX-M-27</b>	<b>varjú</b>	<b>B2</b>
8560	EC378	CTX-M-27	varjú	B2
8563 SZ	EC378	CTX-M-27	varjú	B2
<b>8550</b>	<b>EC378</b>	<b>CTX-M-27</b>	<b>varjú</b>	<b>B2</b>
<b>HÖR3 SZ</b>	<b>EC378</b>	<b>CTX-M-27</b>	<b>varjú</b>	<b>B2</b>
8572	EC378	CTX-M-27	varjú	B2
8548	EC396	CTX-M-15, CTX-M-27	varjú	B2
504 K	EC409	CTX-M-1	széklet	A
738	EC398	CTX-M-15	széklet	B2
31935	EC392	CTX-M-32	seb	B2
<b>8544 SZ</b>	<b>EC088</b>	<b>CTX-M-55</b>	<b>varjú</b>	<b>A</b>
42081	EC088	CTX-M-14	vizelet	A
1418/1	EC088	CTX-M-14	torok	A
1254	EC088	CTX-M-1, CTX-M-14	széklet	A
857	EC088	CTX-M-1, CTX-M-14	vizelet	A
41914	EC403	CTX-M-15	széklet	C



**6. ábra:** Az *E. coli* izolátumok makrorestrikciós profilja. A bekeretezett izolátumokat választottuk ki WGS-ra.

A cgMLST eredménye a 7. ábrán látható. Az EC183 és EC399 klaszterekbe tartozó izolátumok közötti PFGE alapján vélt kapcsolatot a WGS eredményei nem támasztották alá (3. táblázat, 7. ábra). Az EC378 ST24-es, az EC382 pedig ST162-es izolátumokból álltak, melyek egyaránt nagyon hasonló genotípussal rendelkeztek (3. táblázat) és az allélok jelenléte alapján számított távolság  $\leq 1$  volt mindkét ST-ba tartozó izolátumok esetében (7. ábra), noha ezek az izolátumok különböző madaraktól származtak, melyeket Novemberben és Decemberben mintáztunk. A humán eredetű ST744 izolátumok közeli rokonságban álltak egymással, viszont a varjú ST744-es izolátum távol állt ettől a klasztertől; a két ST131 C1-M27 varjú törzs teljesen megegyezett egymással (0 allél különbség) és közeli kapcsolatban álltak a vizsgált humán törzsekkel ( $\leq 7$  allél) (7. ábra). Virulencia faktorok tekintetében az egyes ST-okba (ST24, ST162) tartozó varjú törzsek teljesen azonos virulencia gén készlettel rendelkeztek (4. táblázat). Az EC069-be tartozó ST131 C1-M27 törzsekre szintén ez volt a jellemző függetlenül, hogy klinikai, széklet vagy varjú eredetűek voltak. Az EC088-ba tartozó varjú ST744 izolátum ötször annyi virulencia gént hordozott, mint az ugyanabba a pulzotípusba tartozó klinikai és széklet ST744 izolátumok (4. táblázat).



**7. ábra:** A 20 teljes genom szekvenált *E. coli* izolátum cgMLST allélprofilja alapján készült minimális feszítő fa. Mindegyik kör egy allélprofil jelöl a 2513 vizsgált cél gén szekvencia analízise alapján. Az összekötő vonalakra írt számok azon gének számát mutatják, amelyek eltérő allélokkal rendelkeznek.  
A közeli rokonságban álló genotípusok szürke háttérrel festettek.

PFGE	Törzs Forrás	ST	Rezisztencia gének								Plazmid replikonok
			Bl	Fq	Agl	Tri	Sul	Mac	Phe	Tet	
EC088	857 Klinikai	744	<i>bla</i> CTX-M-1 <i>bla</i> CTX-M-14	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.A56T parC p.S80I	aadA5 aph(6)-Id aph(3'')-Ib	dfrA17	sul2	mdf(A)	catA1	tet(B)	IncFII IncI1-I IncQ1
	1254 Széklet	744	<i>bla</i> CTX-M-1 <i>bla</i> CTX-M-14	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.A56T	aadA5 aph(6)-Id aph(3'')-Ib	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A)	catA1	tet(B)	IncFII IncI1-I IncQ1
	1418 Klinikai	744	<i>bla</i> CTX-M-14	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.A56T parC p.S80I	aadA5 aph(6)-Id aph(3'')-Ib	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A)	catA1	tet(B)	IncFII IncQ1
	8544sz Varjú	744	<i>bla</i> CTX-M-55	qnrS1 gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.A56T parC p.S80I	aadA5 aph(6)-Id aph(3'')-Ib	dfrA17	sul1	mdf(A) mph(A)	catA1	tet(A) tet(B)	IncFIA IncFIB IncFIC IncI1-I IncN
	42081 Klinikai	744	<i>bla</i> CTX-M-14	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.A56T parC p.S80I	aadA5 aph(6)-Id aph(3'')-Ib	dfrA17	sul1 sul2		catA1	tet(B)	IncFII IncI1-I IncQ1
EC378	8579 Varjú	24	<i>bla</i> CTX-M-27					mdf(A)			IncFIB IncFII
	8550 Varjú	24	<i>bla</i> CTX-M-27					mdf(A)			IncFIB IncFII
	HOR3sz Varjú	24	<i>bla</i> CTX-M-27					mdf(A)			IncFIB IncFII
EC069	5386 Klinikai	131	<i>bla</i> CTX-M-27 <i>bla</i> TEM-1B	qnrS1 gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parC p.E84V parE p.I529L	aadA5 aph(6)-Id aph(3'')-Ib	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A) mph(A)		tet(A)	IncFIA IncFIB IncFII IncN
	42532 Széklet	131	<i>bla</i> CTX-M-27 <i>bla</i> TEM-1B	qnrS1 gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parC p.E84V parE p.I529L	aadA5 aph(6)-Id aph(3'')-Ib	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A)			IncFIA IncFIB IncFII IncN
	8578sz Varjú	131	<i>bla</i> CTX-M-27	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parC p.E84V parE p.I529L	aadA5 aph(6)-Id aph(3'')-Ib	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A) mph(A)		tet(A)	Col156 IncFIA IncFIB IncFII
	2647 Széklet	69	<i>bla</i> CTX-M-15	gyrA p.S83L		dfrA14		erm(B) mdf(A) mph(A)		tet(B)	Col156 IncFIA IncFIB IncFII IncX1
	8546 Varjú	131	<i>bla</i> CTX-M-27	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parC p.E84V parE p.I529L	aadA5 aph(6)-Id aph(3'')-Ib	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A) mph(A)		tet(A)	Col156 IncFIA IncFIB IncFII
EC183	40242k Széklet	131	<i>bla</i> CTX-M-15 <i>bla</i> TEM-1B	gyrA p.S83L parE p.I529L	aadA5 aph(6)-Id aph(3'')-Ib	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A) mph(A)		tet(A)	Col156 IncFIB IncFII
	8563 Varjú	162	<i>bla</i> CTX-M-1				sul2	mdf(A)		tet(A)	IncFIB IncFII IncI1-I IncX1
EC399	2909 Széklet	23	<i>bla</i> CTX-M-3					mdf(A)			IncFIB IncFIC IncI1-I
EC382	8523 Varjú	162	<i>bla</i> CTX-M-55 <i>bla</i> TEM-1B	qnrS1	aph(6)-Id aph(3'')-Ib	dfrA7	sul1 sul2	mdf(A)		tet(A)	IncN IncQ1

									p0111
8583F Varjú	162	<i>bla</i> CTX-M-55 <i>bla</i> TEM-1B	<i>qnr</i> S1	<i>aph</i> (6)-Id <i>aph</i> (3'')-Ib	<i>dfr</i> A7	<i>sul</i> 1 <i>sul</i> 2	<i>mdf</i> (A)	<i>tet</i> (A)	IncN IncQ1 p0111
HOR3F Varjú	162	<i>bla</i> CTX-M-55 <i>bla</i> TEM-1B	<i>qnr</i> S1	<i>aph</i> (6)-Id <i>aph</i> (3'')-Ib	<i>dfr</i> A7	<i>sul</i> 1 <i>sul</i> 2	<i>mdf</i> (A)	<i>tet</i> (A)	IncN IncQ1 p0111
8551F Varjú	162	<i>bla</i> CTX-M-55 <i>bla</i> TEM-1B	<i>qnr</i> S1	<i>aph</i> (6)-Id <i>aph</i> (3'')-Ib	<i>dfr</i> A7	<i>sul</i> 1 <i>sul</i> 2	<i>mdf</i> (A)	<i>tet</i> (A)	IncN IncQ1 p0111

**3. táblázat:** A teljes genom szekvenált varjú, tünetmentesen hordozott széklet és klinikai izolátumok ST-ai és rezisztencia profiljai. *Bl:* Béta-laktámok; *Qui:* Kinolonok; *Agl:* Aminoglikozidok; *Tri:* Trimetoprim; *Sul:* Szulfonamidok; *Mac:* Makrolidok; *Phe:* Fenikolok; *:* Tet: Tetraciklinek

PFGE Pulzotípus	Törzs-Forrás	Virulencia gén	Funkció
EC088	857 Klinikai 1418/1 Klinikai 1254 Széklet 42081 Klinikai	<i>terC</i>	Tellúrium ion rezisztencia fehérje
		<i>gad</i>	Glutamát dekarboxiláz
	8544sz Varjú	<i>traT</i>	Külső membrán fehérje komplement elleni rezisztencia
		<i>cia</i>	Kolicin ia
		<i>cma</i>	Kolicin M
		<i>cvaC</i>	Mikrocin C
		<i>etsC</i>	1-es típusú szekréciós külső membrán fehérje
		<i>gad</i>	Glutamát dekarboxiláz
		<i>hlyf</i>	Hemolizin F
		<i>iss</i>	Emelkedett szérum túlélés
		<i>iroN</i>	Enterobactin sziderofor receptor fehérje
		<i>iucC</i>	Aerobaktin szintetáz
		<i>iutA</i>	Vas aerobaktin receptor
		<i>mchF</i>	ABC transzporter fehérje MchF
		<i>ompT</i>	Külső membrán proteáz (fehérje proteáz 7)
<i>sitA</i>	Vas transzport fehérje		
EC378	8579 Varjú 8550 Varjú HOR3SZ Varjú	<i>terC</i>	Tellúrium ion rezisztencia fehérje
		<i>traT</i>	Külső membrán fehérje komplement elleni rezisztencia
		<i>chuA</i>	Külső membrán hemin receptor
		<i>cif</i>	3-as típusú szekretált effektor
		<i>eae</i>	Intimin
		<i>espA</i>	3as típusú szekréciós rendszer
		<i>espC</i>	EPEC szekretált fehérje C
		<i>espF</i>	3-as típusú szekréciós rendszer
		<i>espJ</i>	Profág-kódolt 3-as típusú szekréciós rendszer effektor
		<i>nleB</i>	Nem-LEE kódolt effektor B
		<i>ompT</i>	Külső membrán proteáz (fehérje proteáz 7)
<i>terC</i>	Tellúrium ion rezisztencia fehérje		
<i>tir</i>	Transzlokált intimin receptor fehérje		

		<i>toxB</i>	Toxin B
		<i>yfcV</i>	Csilló fehérje
EC069	5386 Klinikai 42532 Széklet 8578sz Varjú 8546 Varjú	<i>chuA</i>	Külső membrán hemin receptor
		<i>fyuA</i>	Sziderofor receptor
		<i>iha</i>	Adherencia fehérje
		<i>irp2</i>	Nagy molekula súlyú nem-riboszómális peptid szintetáz fehérje 2
		<i>iss</i>	Emelkedett szérum túlélés
		<i>iucC</i>	Aerobactin szintetáz
		<i>iutA</i>	Vas aerobaktin receptor
		<i>kpsE</i>	Poliszacharid tok belső membrán fehérje
		<i>kpsMII_K5</i>	Polisziálsav transzport fehérje: 2-es csoportú tok
		<i>ompT</i>	Külső membrán proteáz (fehérje proteáz 7)
		<i>papA_F43</i>	Fő pilin alegység F43
		<i>sat</i>	Szekretált autotranszporter toxin
		<i>sitA</i>	Vas transport fehérje
		<i>terC</i>	Tellúrium ion rezisztencia fehérje
		<i>traT</i>	Külső membrán fehérje komplement elleni rezisztencia
		<i>usp</i>	Uropatogén specifikus fehérje
		<i>yfcV</i>	Csilló fehérje
EC382	8523 Varjú 8583F Varjú HOR3F Varjú 8551F Varjú	<i>cba</i>	Kolicin B
		<i>gad</i>	Glutamát dekarboxiláz
		<i>lpfA</i>	Hosszú poláris csilló
		<i>neuC</i>	Polisziálsav tok bioszintézis fehérje
		<i>terC</i>	Tellúrium ion rezisztencia fehérje

**4. táblázat:** A teljes genom szekvenált varjú, széklet és klinikai izolátumok által hordozott virulencia gének. A táblázat nem tartalmazza az EC183 és EC399 pulzotípusokba illetve a 2647-es EC069-be tartozó izolátumot, mivel a WGS nem tárt fel közöttük járványtani kapcsolatot.

## 5.5. A 2019-ben és 2020-ban gyűjtött sirály eredetű CRE törzsek jellemzői

A 2019-ben gyűjtött sirály minták 7,4%-ában (9/122) találtunk CRE törzseket, ezek közül hat *E. coli*, egy *E. fergusonii* és két *Enterobacter cloacae* complex volt. A 2020-ban gyűjtött sirály minták esetében a CRE hordozási arány 6,7% (7/105) volt, melyekből tizenegy különböző CRE izolátum tenyésztett ki, mivel két sirály is (6164 és 6168 gyűrűszámú madarak) egynél több CRE törzset hordozott. A tizenegy izolátumból nyolc *E. coli*, egy *K. pneumoniae*, egy *Citrobacter* ssp. és egy *E. cloacae* complex fordult elő.

Az összes *Escherichia* izolátum MBL-termelő volt egy *E. coli* kivételével, ami a *bla*<sub>OXA-181</sub> gént hordozta (5. táblázat). A leggyakoribb gén a *bla*<sub>NDM-1</sub> (14/15) és a *bla*<sub>VIM-4</sub> (5/15) voltak, ami minden esetben olyan izolátumokban fordult elő, ami *bla*<sub>NDM-1</sub>-et is hordozott (5. táblázat). Az izolátumok több mint a fele hordozott valamilyen harmadik generációs cefalosporin rezisztencia gént, a legtöbb esetben ESBL gént és a *bla*<sub>SHV-12</sub> volt az, amelyik a legtöbbször fordult elő a vizsgált CREc izolátumokban (5. táblázat). Az OXA-181-termelő *E. coli* törzset

leszámítva minden *Escherichia* izolátum rezisztens volt a karbapenemeken kívül az összes tesztelt béta-laktámra, fluorokinolonokra, aminoglikozidokra és co-trimoxazolra egyaránt. Négy *E. coli* foszfomicinre is rezisztens volt és a *fosA3* vagy *fosL1* gének valamelyikét hordozták. Egy izolátum egy a *pmrB* régióban bekövetkezett mutációt (p.V161G) hordozott (5. táblázat), azonban a kolisztinnel szembeni minimális gátló koncentráció (MIC) értéke 2 mg/l volt. Az *E. coli* izolátumok közül kilenc az A, négy a B1 és egy a B2 filocsoportba tartozott. Az *E. coli* izolátumok kilenc különböző ST-ba tartoztak: ST224 (2), ST226, ST372, ST744 (2), ST1437 (4), ST2772, ST8890, ST13079 és egy új ST (5. táblázat, 8. ábra). Kilenc *E. coli* izolátum az A, négy a B1 és egy a B2 filocsoportba tartozott. A 2019-es ST1437 izolátumok ugyanazzal a rezisztómmal és cgMLST profillal rendelkeztek, míg a 2020-ban gyűjtöttek rezisztencia mintázata hasonlított hozzájuk és 22-24 allél távolság volt közöttük (5. táblázat, 8. ábra). Az ST744-es izolátumok nem álltak közeli kapcsolatban a rezisztencia és cgMLST (124 allél távolság) profiljuk alapján. A két ST224-es izolátum 2019 és 2020-ból származott melyek hasonló rezisztencia mintázattal rendelkeztek és 24 allél távolság volt közöttük (5. táblázat, 8. ábra). Két *E. cloacae* complex izolátum karbapenem rezisztens, de nem karbapenemáz termelő volt. A harmadik, amit a WGS után *E. kobei*-ként azonosítottunk az ST1001-be tartozott, a *bla<sub>VIM-1</sub>*-et hordozta és kolisztinre is rezisztens volt (MIC>64 mg/L), azonban nem találtunk olyan rezisztencia gént (*mcr-1-10*) vagy olyan ismert *PmrAB/PhoPQ* mutációt, ami ezt a fenotípust okozhatná (5. táblázat). A *K. pneumoniae* izolátum az ST273-ba tartozott, foszfomicinre is rezisztens volt és a *fosA5* gént hordozta. A *Citrobacter* ssp.-t *C. braakii*-nak azonosítottuk, egy új ST-ba tartozott és az *mcr-9* gént hordozta, viszont a MIC értéke kolisztinre 1 mg/L volt. A *K. pneumoniae* és a *C. braakii* is NDM-1-termelő volt (5. táblázat).

## 5.6. A Dunából származó CRE izolátumok jellemzői

A 2019-es dunai minták egyikében sem és a 2020-as Budapest feletti szakaszból vett mintákban sem találtunk CRE törzset, míg a 2020-ban a Budapest utáni szakaszából származó hat mintából ötben is találtunk CRE izolátumokat. Kettő, a Duna partjáról származó mintában egy *E. coli*-t és egy *E. cloacae* complexet találtunk, míg három sodorvonalból származó mintából hat különböző *E. coli*-t izoláltunk; a Budapesttől legtávolabb eső mintában (387-es) négy különböző karbapenem rezisztens *E. coli* CREc volt jelen (5. táblázat). Az *E. cloacae* complex nem karbapenemáz-termelő volt, hanem porin-mutáns. Az összes *E. coli* MBL-típusú karbapenemáz-t hordozott, melyek közül három *bla<sub>NDM-1</sub>*, három *bla<sub>NDM-1</sub> + bla<sub>VIM-4</sub>* és egy *bla<sub>NDM-5</sub>* hordozót találtunk. Az összes izolátum rezisztens volt a vizsgált béta-laktámokra, fluorokinolonokra, co-trimoxazolra és aminoglikozidokra. A hét izolátumból hat ESBL vagy

pAmpC gént is hordozott (5. táblázat). Két izolátum továbbá foszfomicinre is rezisztens volt, melyek a *fosA3* illetve *fosA4* géneket hordozták. A hét CREc izolátumból öt az A és kettő az F filocsoportokba tartozott. Mindegyik izolátum eltérő ST-ba tartozott (ST10, ST354, ST410, ST624, ST746, ST1303, ST1437) (5. táblázat, 8. ábra).

## 5.7. Humán eredetű CREc izolátumok jellemzői

A MBL-termelő (12/21) CRE törzsek fordultak elő leggyakrabban a vizsgált izolátumok között. A genotípusok tekintetében a következő géneket találtuk: *bla<sub>NDM-1</sub>* (5/21), *bla<sub>VIM-4</sub>* (5/21), *bla<sub>OXA-48</sub>* (4/21), *bla<sub>NDM-5</sub>* (3/21), *bla<sub>KPC-3</sub>* (2/21), *bla<sub>OXA-244</sub>* (2/21), *bla<sub>NDM-7</sub>* (1/21), *bla<sub>OXA-181</sub>* (1/21) (5. táblázat). Két izolátum egyszerre hordozta a *bla<sub>VIM-4</sub>* és *bla<sub>OXA-48</sub>* géneket (5. táblázat). Az izolátumok 71%-a (15/21), 76%-a (16/21), 71%-a (15/21), 38%-a (8/21) és 76%-a (16/21) volt rezisztens fluorokinolonokra, co-trimoxazolra, amikacinra, gentamicinre és tobramycinre. ESBL/pAmpC gének az izolátumok nagy részében voltak jelen (15/21) és a *bla<sub>CTX-M-15</sub>* (8/15) volt a leggyakoribb (5. táblázat). Egy izolátum az *mcr-9* kolisztin rezisztencia gént hordozta, azonban a MIC értéke kolisztinre 0,125 mg/L volt. A filocsoportok esetében a D (9/21) volt a leggyakoribb, de A (5/21), B2 (4/21), B1 (1/21), E (1/21) és F (1/21) filocsoportba tartozó törzsek is előfordultak. A vizsgált CREc izolátumok a következő ST-okba tartoztak: ST38 (2), ST69 (2), ST73 (2), ST88, ST131 (2), ST405 (5), ST410 (3), ST448, ST617, ST648, ST1011 (5. táblázat, 8. ábra). Az ugyanabba a ST-ba tartozó izolátumok (ST38, ST69, ST73, ST405) nagyban hasonlítottak és közeli kapcsolatban is álltak egymással (15,8,1,1 allélnyi távolság) az ST131 izolátumok kivételével (122 allél távolság). A *bla<sub>NDM-5</sub>* hordozó ST410 izolátumok ugyanolyan rezisztommal rendelkeztek és nulla allél távolság volt közöttük (5. táblázat, 8. ábra).

Törzs Forrás	Faj	ST	Rezisztencia genotípusok										Replikon típusok	
			Bl	Qui	Agl	Tri	Sul	Mac	Phe	Fos	Pmx	Tet		
4977x2 Sirály	<i>E. coli</i>	224	blaNDM-1 blaVIM-4 blaOXA-10	aac(6)-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	aac(6)-IIa aac(6)-Ib-cr aph(3')-VI aadA1 aadA2 aph(3')-I	dfrA12 dfrA14	sul1 sul3	mdf(A) erm(42) mph(A)	cmlA1				tet(A)	IncX1 IncY
4978x2 Sirály	<i>E. coli</i>	Új	blaNDM-1 blaTEM-1B	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	aac(3)-IId aph(3')-VI aadA1 aph(3")-Ib aph(6)-Id	dfrA1 dfrA14	sul1 sul2	mdf(A)	floR				tet(A)	IncC IncFIA IncFIB IncHI2A
6257x2 Sirály	<i>E. coli</i>	2772	blaNDM-1	qnrS1	rmtC		sul1	mdf(A)					tet(B)	IncFIA IncFIB IncFII IncHI1A IncHI1B
6258x2 Sirály	<i>E. fergusonii</i>	4419	blaNDM-1 blaVIM-4 blaSHV-12 blaTEM-1B	aac(6)-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87G	rmtC aac(6)-Ib-cr aadA2 aph(3")-Ib aph(6)-Id	dfrA12	sul1 sul2	mph(A)	floR catA1					IncFII IncHI2A IncQ1 p0111
6832x3 Sirály	<i>E. coli</i>	1437	blaNDM-1 blaCTX-M-15 blaSHV-12 blaTEM-1B blaOXA-10	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S57T parC p.S80I	aac(6)-IIa aph(3')-VI aadA1 aph(3")-Ib aph(6)-Id	dfrA14	sul1 sul2	mdf(A) erm(42) mph(A)		fosA3			tet(B)	IncFII IncHI2A IncI1-I IncR IncX1
6836x1sz Sirály	<i>E. coli</i>	1437	blaNDM-1 blaCTX-M-15 blaSHV-12 blaTEM-1B blaOXA-10	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S57T parC p.S80I	aac(6)-IIa aph(3')-VI aadA1 aph(3")-Ib aph(6)-Id	dfrA14	sul1 sul2	mdf(A) erm(42) mph(A)		fosA3			tet(B)	IncFII IncHI2A IncI1-I IncR IncX1
6861x2 Sirály	<i>E. coli</i>	372	blaOXA-181 blaDHA-1	qnrS1 qnrB4		dfrA17	sul1							Col156 Col8282 ColKP3 IncFIC IncFII IncI2 IncX3
6862x1 Sirály	<i>E. kobei</i>	1001	blaVIM-1 blaACT-9	qnrA1	aac(6)-IIc		sul1			fosA2				IncC

6164x4 Sirály	<i>E. coli</i>	13079	blaNDM-1 blaVIM-4 blaCTX-M-14 blaTEM-1b blaOXA-10	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	aac(6')-Ib-cr aac(6')-IIa aac(3)-IId aph(3')-VI aadA1 aadA2	dfrA1 dfrA12 dfrA14	sul1 sul3	mdf(A) mph(A) erm(42)	cmlA1			tet(A)	Col IncFIA IncFIB IncQ1 IncX1 IncY
6164x6 Sirály	<i>E. coli</i>	1437	blaNDM-1 blaVIM-4 blaSHV-12 blaTEM-1b blaOXA-10	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S57T parC p.S80I	aac(6')-Ib-cr aac(6')-IIa aph(3')-VI aph(3'')-Ib aph(6)-Id aadA1	dfrA14	sul1 sul2	mdf(A) mph(A) erm(42)	floR catA1			tet(A) tet(B)	IncHI2A IncI1-I IncQ1 IncR IncX1
6168x2 Sirály	<i>K. pneumoniae</i>	273	blaNDM-1 blaSHV-11 blaSHV-67	aac(6')-Ib-cr qnrS1	aac(6')-Ib-cr aph(3')-VI aadA1 aadA2 aadA16	dfrA12 dfrA27	sul1	mph(A)	catA2	fosA5			Col440I IncFIB IncFII
6168x3 Sirály	<i>Citrobacter braakii</i>	Ism*	blaNDM-1 blaCMY-93 blaDHA-1 blaOXA-10	aac(6')-Ib-cr qnrB4	aac(6')-Ib-cr aadA1	dfrA14	sul1 sul2	mph(A)	cmlA1 floR		mcr-9	tet(D)	IncC IncFII IncHI1A IncHI1B
6168x5 Sirály	<i>E. coli</i>	744	blaNDM-1 blaSHV-12 blaTEM-1B	qnrB19 gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.A56T parC p.S80I	rmtC aac(3)-IId aph(3'')-Ib aph(6)-Id aadA5	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A) mph(A)	floR catA1	fosL1		tet(B)	IncFIA IncFII IncHI2A IncN IncQ1 IncX2
6168x6 Sirály	<i>E. coli</i>	1437	blaNDM-1 blaTEM-1b blaOXA-10	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S57T parC p.S80I	aac(6')-IIa aph(3')-VI aadA1	dfrA14	sul1	mph(A) erm(42) mdf(A)				tet(B)	IncI1-I IncR IncX1
6289x4 Sirály	<i>E. coli</i>	226	blaNDM-1 blaCTX-M-3 blaTEM-1B blaOXA-10	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80R	aac(6')-IIa aac(3)-IId aph(3')-VI aadA1	dfrA1 dfrA14	sul1	mdf(A) mph(A) erm(42)		fosA3	pmrB p.V161 G		IncFIA IncFIB IncFII IncN
7450x4 Sirály	<i>E. coli</i>	224	blaNDM-1 blaVIM-4 blaTEM-1B blaOXA-10	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	aac(6')-Ib-cr aac(6')-IIa aac(3)-IId aph(3')-VI aadA1 aadA2	dfrA1 dfrA12 dfrA14	sul1 sul3	mdf(A) mph(A) erm(42)	cmlA1			tet(A)	Col IncFIA IncFIB IncQ1 IncX1 IncY

7640x3 Sirály	<i>E. coli</i>	8890	blaVIM-1 blaCTX-M-14	aac(6')-Ib-cr qnrS1 gyrA p.S83L	aac(6')-Ib-cr aph(3')-XV aph(3'')-Ib aph(6)-Ib aadA1 aadA2	dfrA12	sul1 sul2	erm(B) mph(A) mdf(A)	catB2					IncA IncFII IncI1-I IncX5
7646x4 Sirály	<i>E. coli</i>	744	blaNDM-1 blaCMY-4 blaCMY-16 blaOXA-10	qnrA1 gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.A56T parC p.S80I	aac(3')-IId aph(3')-VI aph(3')-Ia aph(3'')-Ib aph(6)-Ib aadA1 aadA5	dfrA14 dfrA17	sul1	mph(A) mdf(A)	cmlA1 catA1 floR			tet(A) tet(B) tet(D)	Col440I IncC IncFIB IncHI1B IncQ1	
5889/5 Duna	<i>E. coli</i>	410	blaNDM-5 blaCTX-M-15 blaCMY-2 blaTEM-1B blaOXA-1	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	aac(6')-Ib-cr aac(3)-IId aph(6)-Ib aph(3'')-Ib aadA2 aadA5	dfrA12 dfrA17	sul1 sul2	mph(A) mdf(A)	catB3			tet(B)	Col Col8282 IncFIA IncFIB IncFII IncN IncQ1	
385/11 Duna	<i>E. coli</i>	1303	blaNDM-1 blaOXA-1 blaTEM-1B	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I	aac(6')-Ib-cr aac(3)-IId aph(6)-Ib aph(3'')-Ib aadA2	dfrA12	sul1 sul2	mph(A) mdf(A)	catB3 floR			tet(A)	IncC IncR IncY	
386/10 x1 Duna	<i>E. coli</i>	354	blaNDM-1 blaCTX-M-24 blaTEM-1 blaOXA-9 blaOXA-10	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parC p.E84G parE p.I355T	aac(6')-Ib-cr aac(6')-IIa aph(3')-VI ant(3'')-Ia aadA1	dfrA14	sul1	mdf(A) mph(A) erm(42)					ColE10 IncQ1 IncX5 IncY	
387/11 Duna	<i>E. coli</i>	10	blaNDM-1 blaVIM-4 blaSHV-12 blaTEM-1 blaOXA-10 blaCARB-12	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I	aac(6')-Ib-cr aac(6')-IIa ant(2'')-Ia aph(3')-VI aph(3'')-Ib aph(6)-Ib aadA1 aadA5	dfrA1 dfrA7 dfrA14	sul1 sul2	mdf(A) mph(A) mph(B)	floR catA1			tet(A)	IncFIB IncFII IncHI2A IncQ1 p0111	

387/12 x2 Duna	<i>E. coli</i>	1437	blaNDM-1 blaVIM-4 blaSHV-12 blaTEM-1 blaOXA-10	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S57T parC p.S80I	aac(6')-Ib-cr aac(6')-IIa aph(3')-VI aph(3'')-Ib aph(6)-Id aadA1	dfrA14	sul1 sul2	mdf(A) mph(A) erm(42)	catA1	fosA3		tet(B)	IncFII IncHI2A IncI1-I IncR IncX1
387/14 Duna	<i>E. coli</i>	624	blaNDM-1 blaVIM-4 blaSHV-12 blaTEM-1 blaOXA-10	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I	aac(6')-Ib-cr aac(6')-IIa aph(3')-VI aph(3'')-Ia aph(3'')-Ib aph(6)-Id aadA1 aadA5	dfrA1 dfrA14 dfrA17	sul1 sul2	mdf(A) mph(A) erm(42)	catA1 floR			tet(A) tet(B)	ColE10 IncHI2A IncQ1
387/18 Duna	<i>E. coli</i>	746	blaNDM-1 blaSHV-12 blaTEM-1 blaOXA-1 blaOXA-10	aac(6')-Ib-cr qnrS1 gyrA p.S83L	rmtC aac(6')-Ib-cr aph(3')-IIa aadA1 aadA2	dfrA1 dfrA12	sul1 sul3	mdf(A) mph(A) mph(B)	floR catB3 cmlA1	fosA4		tet(A)	IncFIB IncFII IncHI2A IncX1 p0111
10-5432 Humán	<i>E. coli</i>	1011	blaVIM-4 blaSHV-12 blaTEM-1B	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I	aac(6')-Ib-cr aac(3)-IId aadA2 aadA13	dfrA12	sul1	mdf(A) mph(A)			mcr-9		IncHI2A IncW
13-5445 Humán	<i>E. coli</i>	405	blaOXA-48 blaCTX-M-15 blaTEM-1B blaOXA-1	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	aac(3)-IId aadA1 aadA5 aph(3'')-Ib aph(6)-Id	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A) mph(A)	catA1			tet(A)	Col156 IncFIB IncFII IncI1-I IncL
14-6011 Humán	<i>E. coli</i>	73	blaNDM-1		rmtC		sul1	mdf(A)					IncFII
15-5022 Humán	<i>E. coli</i>	73	blaNDM-1		rmtC		sul1	mdf(A)					IncFII
15-5648 Humán	<i>E. coli</i>	131 C2	blaNDM-1 blaCTX-M-15 blaOXA-1	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parC p.E84V parE p.I529L	aac(6')-Ib-cr aac(3)-IIa aph(3')-VI		sul1	mdf(A) mph(A)	catB3				IncFIA IncFIB IncFII
16-5412 Humán	<i>E. coli</i>	448	blaNDM-1 blaCTX-M-15 blaCMY-2 blaOXA-1	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458T	aac(6')-Ib-cr aph(3')-VI aadA5	dfrA17	sul1	mdf(A) mph(A) erm(B)	catB3				Col156 ColpVC IncC IncFIB IncFII

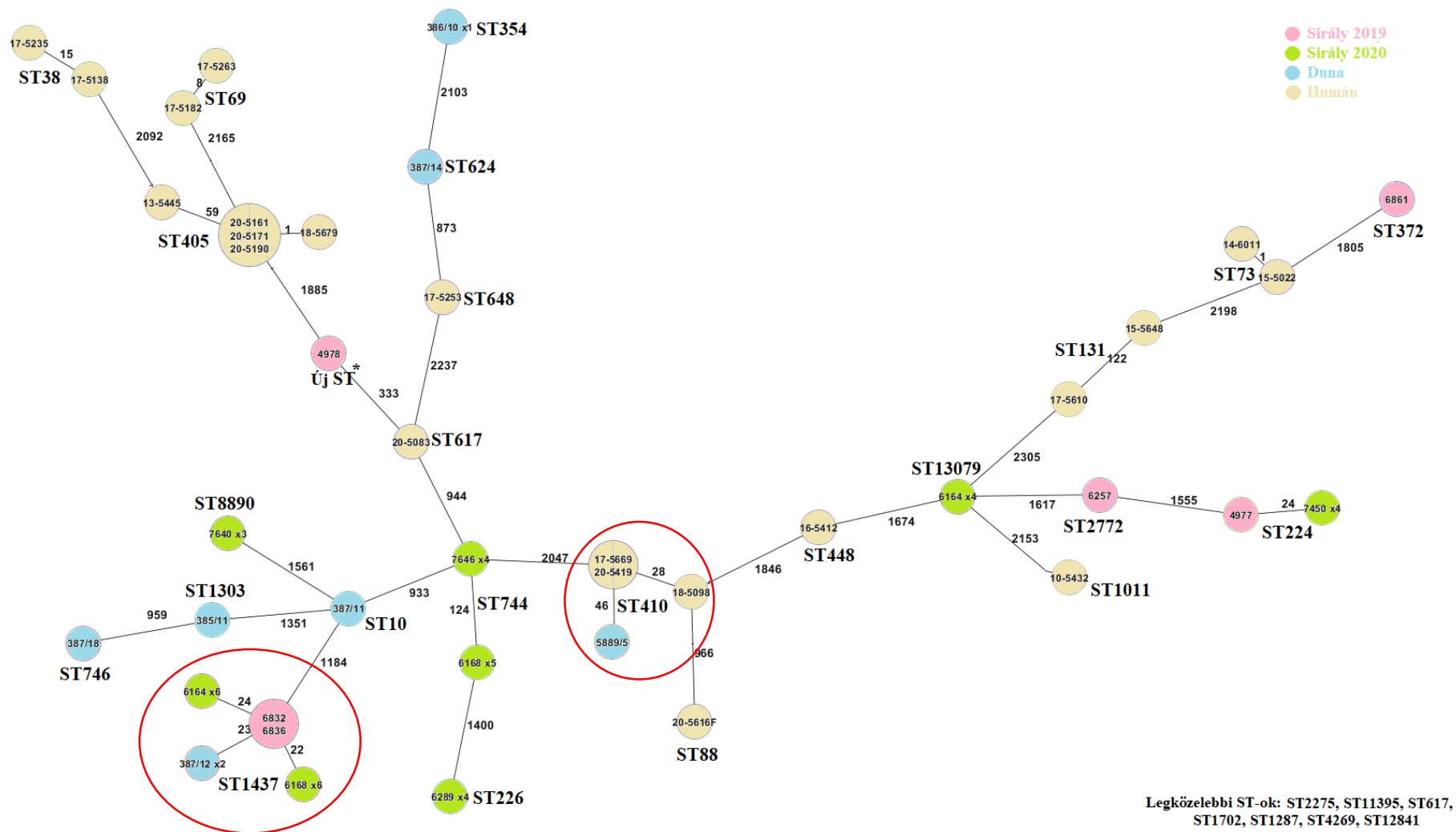
													IncY
17-5138 Humán	<i>E. coli</i>	38	blaOXA-244 blaCTX-M-14 blaTEM-1B		aadA1 aph(3')-Ia aph(3")-Ib aph(6)-Id	dfrA1	sul2	mdf(A)					Col156 IncFIB IncFII IncQ1
17-5182 Humán	<i>E. coli</i>	69	blaKPC-3 blaTEM-1B					mdf(A)				tet(B)	Col156 IncFIB IncFII IncR
17-5235 Humán	<i>E. coli</i>	38	blaOXA-244 blaCTX-M-14 blaTEM-1B		aadA1 aph(3')-Ia aph(3")-Ib aph(6)-Id	dfrA1	sul2	mdf(A)					Col156 IncFIB IncFII IncQ1
17-5253 Humán	<i>E. coli</i>	648	blaNDM-7 blaCTX-M-15 blaCMY-6 blaOXA-1	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	aac(6')-Ib-cr	dfrA17	sul1	mdf(A) mph(A) erm(B)				tet(B)	IncFIA IncFIB IncFII IncX3
17-5263 Humán	<i>E. coli</i>	69	blaKPC-3 blaTEM-1B					mdf(A)				tet(B)	IncR
17-5610 Humán	<i>E. coli</i>	131	blaNDM-1 blaTEM-1B	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parC p.E84V parE p.I529L	aac(3)-IIId aph(3')-VI aadA5	dfrA17	sul1	mdf(A)					IncFIA IncFIB IncFII
17-5669 Humán	<i>E. coli</i>	410	blaNDM-5 blaCTX-M-15 blaCMY-2 blaTEM-1B blaOXA-1	aac(6')-Ib-cr qnrS13 gyrA p.S83L gyrA p.D87N parE p.S458A	aac(6')-Ib-cr aadA2 aadA5	dfrA5 dfrA12 dfrA17	sul1	mdf(A) mph(A) erm(B)	catB3			tet(B)	Col IncB/O/K/Z IncFIA IncFIB IncFII
18-5098 Humán	<i>E. coli</i>	410	blaOXA-181 blaCMY-2	qnrS1 gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A				mdf(A)					Col ColKP3 IncX3 p0111
18-5679 Humán	<i>E. coli</i>	405	blaVIM-4 blaOXA-48 blaCTX-M-15 blaTEM-1B	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	aac(6')-Ib-cr aac(3)-IIa aph(3")-Ib aph(6)-Id aadA5	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A) mph(A)				tet(A) tet(D)	Col IncFII IncM2
20-5083 Humán	<i>E. coli</i>	617	blaNDM-5 blaCTX-M-15 blaOXA-1	aac(6')-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N	aac(6')-Ib-cr aadA2 aadA5	dfrA12 dfrA17	sul1	mdf(A) mph(A)	catA1 catB3			tet(B)	Col IncFIA IncFIB

				parC p.S80I parE p.S458A									IncFII
20-5161 Humán	<i>E. coli</i>	405	blaVIM-4 blaOXA-48 blaCTX-M-15 blaTEM-1B	aac(6)-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	aac(6)-Ib-cr aac(3)-IIa aph(3")-Ib aph(6)-Id aadA5	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A) mph(A)				tet(A) tet(D)	Col IncFII IncM2
20-5171 Humán	<i>E. coli</i>	405	blaVIM-4 blaCTX-M-15 blaCMY-2	aac(6)-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	aac(6)-Ib-cr aph(3")-Ib aph(6)-Id aadA5	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A) mph(A)				tet(A) tet(D)	Col IncFII Incl-1
20-5190 Humán	<i>E. coli</i>	405	blaVIM-4 blaCTX-M-15	aac(6)-Ib-cr gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	aac(6)-Ib-cr aph(3")-Ib aph(6)-Id aadA5	dfrA17	sul1 sul2	mdf(A) mph(A)				tet(A) tet(D)	IncFII
20-5419 Humán	<i>E. coli</i>	410	blaNDM-5 blaCTX-M-15 blaCMY-2 blaTEM-1B blaOXA-1	aac(6)-Ib-cr qnrS13 gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	aac(6)-Ib-cr aadA2 aadA5	dfrA5 dfrA12 dfrA17	sul1	mdf(A) mph(A) erm(B)	catB3			tet(B)	Col IncB/O/K/Z IncFIA IncFIB IncFII
20-5616F Humán	<i>E. coli</i>	88	blaOXA-48	gyrA p.S83L gyrA p.D87N parC p.S80I parE p.S458A	ant(2")-Ia aadA1	dfrA36	sul1 sul2	mdf(A)	floR			tet(B)	Col156 Col440II IncL

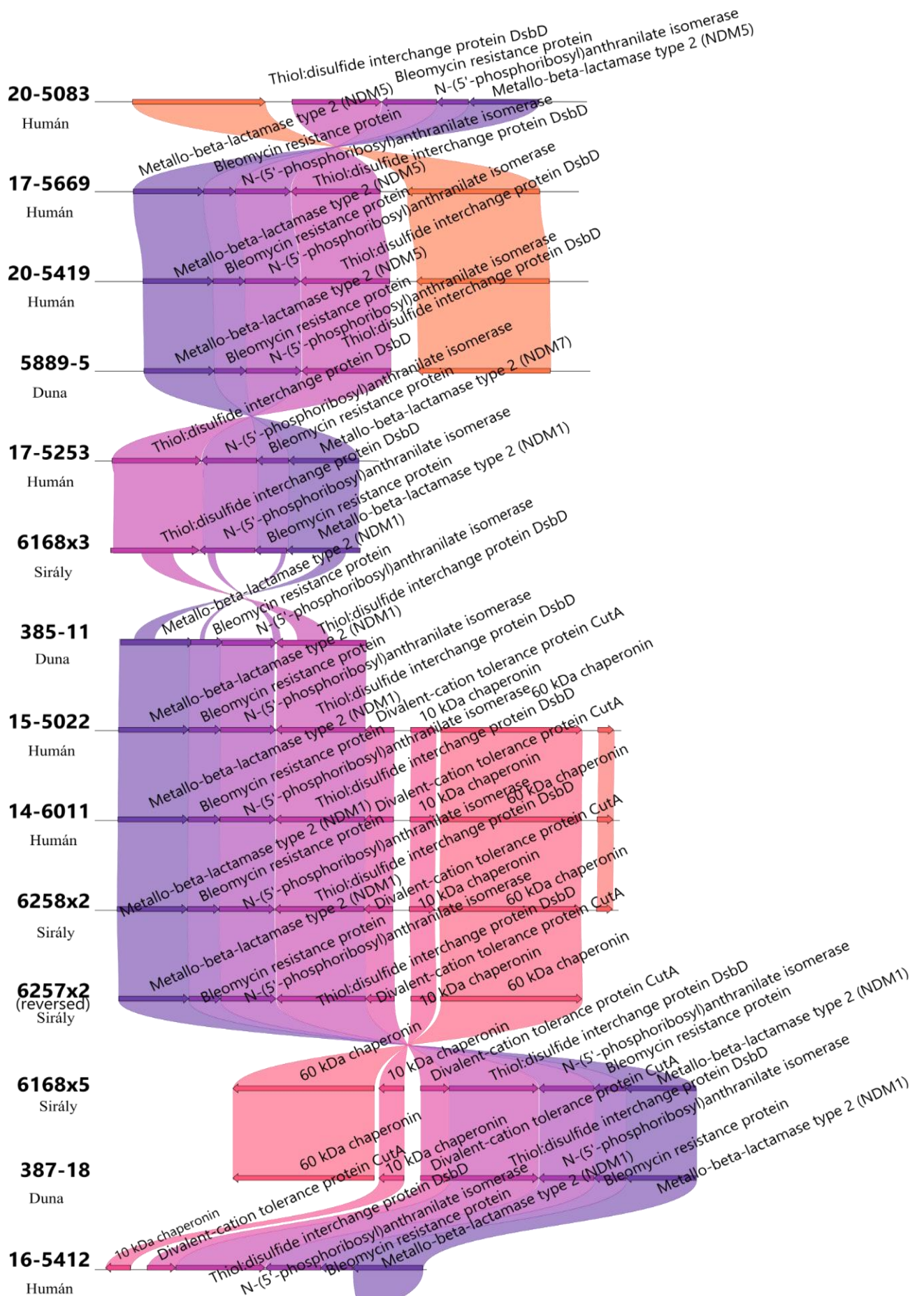
**5. táblázat:** A teljes genom szekvenált sűrű, dunai és klinikai izolátumok ST-ai és rezisztencia profiljai. Bl: Béta-laktámok; Qui: Kinolonok; Agl: Aminoglikozidok; Tri: Trimetoprim; Sul: Szulfonamidok; Mac: Makrolidok; Phe: Fenikolok; Fos: Foszfomicin; Pmx: Polimixynek; Tet: Tetraciklinek. \*Ism: Ismeretlen ST.

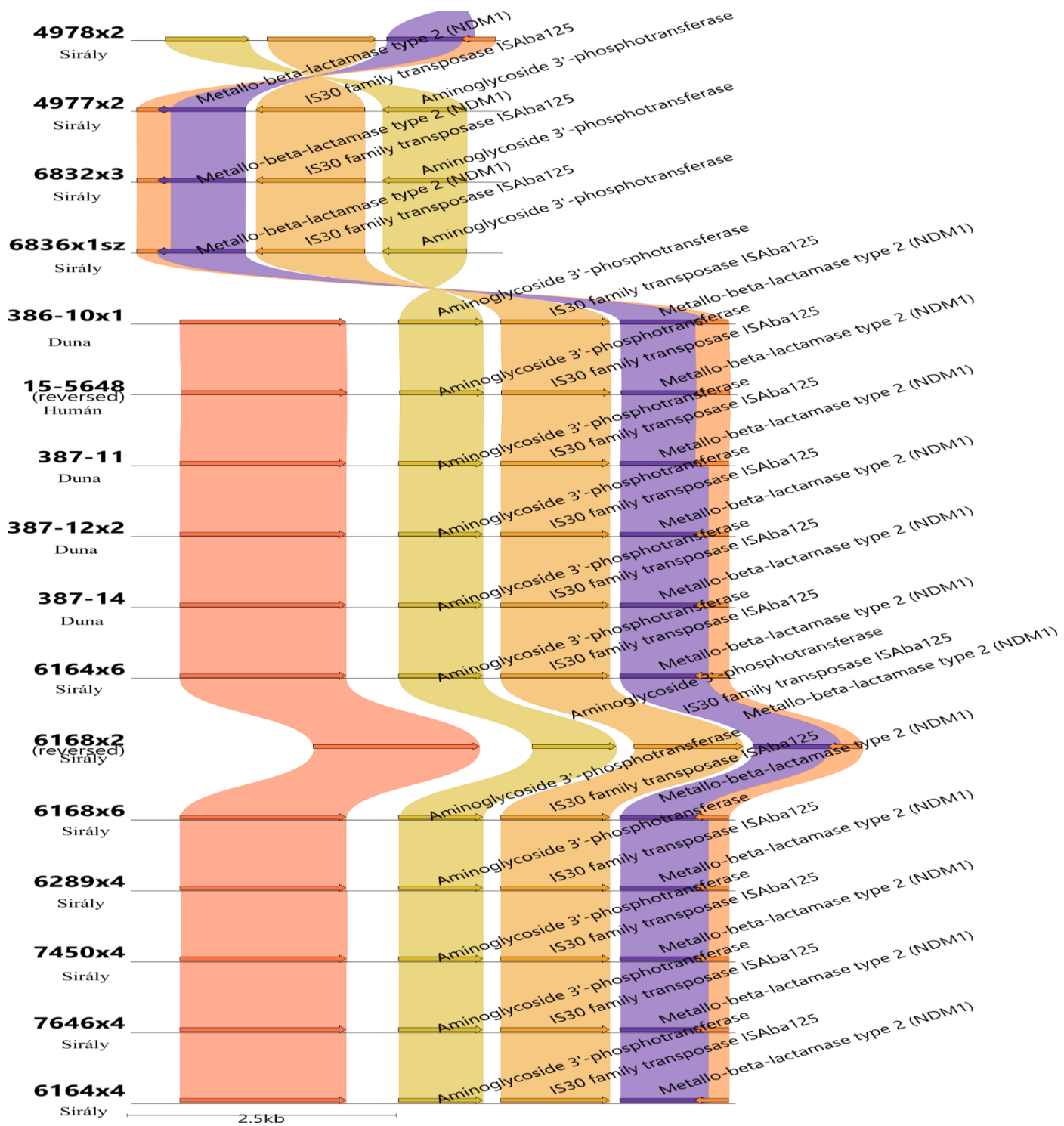
## 5.8. A sirályokból, Dunából és emberekből származó CREC izolátumok összehasonlítása

A *bla<sub>NDM-1</sub>* volt a leggyakoribb gén mindegyik minta csoportban. Míg a sirály és dunai izolátumokban a *bla<sub>VIM-4</sub>* kizárólag *bla<sub>NDM-1</sub>*-el együtt fordult elő, addig a humán izolátumokban *bla<sub>OXA-48</sub>*-al, vagy pedig egyedül volt jelen (5. táblázat). Az összes *bla<sub>KPC</sub>* és *bla<sub>OXA-48</sub>*-szerű (egy sirály izolátum kivételével) gént humán izolátumokban találtuk. Egy kivétellel az összes *bla<sub>OXA-48</sub>*-szerű hordozó izolátum valamilyen ESBL/pAmpC gént hordozott még. Összességében az ESBL/pAmpC gének gyakran előfordultak; humán izolátumokban a *bla<sub>CTX-M-15</sub>*, míg a sirály és dunai izolátumokban a *bla<sub>SHV-12</sub>* volt a leggyakoribb (5. táblázat). Foszfomicin rezisztens izolátumok csak a Dunából és sirályokból származó mintákban (2019 és 2020 is) fordultak elő és a *fosA3* volt a legtöbbször azonosított gén. Tigeciklin és kolisztin rezisztens izolátumok nem voltak jelen egyik mintacsoportban sem. A legtöbb sirály és dunai izolátum kommenzális filocsoportba tartozott és az A volt a domináns típus, viszont a humán izolátumok túlnyomó része humán-patogén csoportba tartozott, jellemzően a D csoportba. A 42 *E. coli* izolátum 25 különböző ST-ba tartozott és alapjában véve eltérő ST-ú törzseket találtunk a sirályokban, Dunában és embereken, de voltak olyan ST-ok is, melyek több mintacsoportban is előfordultak (5. táblázat, 8. ábra). Például, az ST1437 a Dunában és sirályokban is jelen volt, mindkét mintavételi időszakban; a 2019-ben gyűjtöttek azonosak voltak (nulla allélkülönbség, egyező rezisztencia mintázat), míg hozzájuk képest a 2020-ban gyűjtöttek és a dunai izolátum 22-24 allélnyi távolságokra voltak minimális eltérésekkel a rezisztencia profiljukban (5. táblázat, 8. ábra). NDM-5-termelő ST410 izolátumok embereken és a Dunában is jelen voltak: a vízi izolátum 46 allélkülönbségre volt a humán izolátumoktól de hasonló rezisztencia profillal rendelkezett. A vizsgált izolátumokban bizonyos rezisztencia gének mindig ugyanazon a kontigon voltak megtalálhatóak, igaz volt ez a *bla<sub>NDM-1</sub>* és *aph(3')-VI* génekre a vízi és sirály izolátumokban illetve a *bla<sub>VIM-4</sub>* és *aac(6')-Ib-cr* génekre az összes *bla<sub>VIM-4</sub>* hordozó izolátumban. A *bla<sub>OXA-181</sub>* és *qnrS1* gének valamint az IncX3 replikonok szintén ugyanazon a kontigon fordultak elő a humán és sirály izolátumokban is. A *bla<sub>NDM</sub>* gének közvetlen genetikai környezete alapvetően két féle volt: *dsbD-trpF-bleMBL- bla<sub>NDM-1/5/7</sub>* vagy *bla<sub>NDM-1-ISAba125-aph(3')-VIa</sub>* (9. ábra). A *bla<sub>KPC-3</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>*-szerű és *bla<sub>OXA-48</sub>*-szerű gének a *bla<sub>NDM</sub>* génektől rövidebb kontigonok voltak (~1900-2500 bp), ebből adódóan e gének genetikai környezetének feltárására nem volt lehetőség.



**8. ábra:** A teljes genom szekvenált CREc izolátumok cgMLST allélprofilja alapján készült minimális feszítő fa. Mindegyik kör egy allélprofil jelöl a 2513 vizsgált cél gén szekvencia analízise alapján. Az összekötő vonalakra írt számok azon gének számát mutatják, amelyek eltérő allélokkal rendelkeznek. A különböző mintacsoportokban előforduló azonos ST-ok piros körbe foglaltak.





9. ábra: A *bla*<sub>NDM</sub> gének közvetlen genetikai környezete.

## **6. A társszerzők közreműködése az értekezés alapjául szolgáló közleményekben**

A varjú minták gyűjtésében Dr. Gyüre Péter, Dr. Kövér László, Dr. Balázs Bence és Isma Benmazouz, a sirály minták gyűjtésében Dr. Koleszár Balázs és Dr. Lovas-Kiss Ádám nyújtottak segítséget. A dunai minták gyűjtésében és rendelkezésre bocsátásában Dr. Khayer Bernadett, Dr. Róka Eszter és Dr. Vargha Márta vettek részt. A humán CREc izolátumokat Nemzeti Népegészségügyi és Gyógyszerészeti Központ Nemzeti Referencia Laboratóriumából Dr. Tóth Ákos biztosította számunkra.

A PFGE elvégzésében Dr. Ivelina Damjanova nyújtott segítséget. A teljes genom analízis (DNS izolálás, könyvtárkészítés, szekvenálás) részben a Nemzeti Népegészségügyi és Gyógyszerészeti Központ munkatársainak (Dr. Tóth Ákos, Dr. Ungvári Erika) részben pedig az Állatorvostudományi Kutatóintézet munkatársainak (Bali Krisztina, Dr. Kaszab Eszter, Dr. Bányai Krisztián) a közreműködésével történt. A szekvenálás során kapott nyers adatok feldolgozása, a kontigok összeszerelése és az *in silico* MLST és cgMLST Dr. Tóth Ákos és Dr. Laczkó Levente segítségével történt. A karbapenemáz gének genetikai környezetének feltárásában Dr. Laczkó Levente nyújtott segítséget.

## 7. Megbeszélés

Napjainkban egyre több tanulmány számol be ESBL-termelő *E. coli* magas prevalenciájáról különböző vadállatokban, a madarak pedig a leggyakrabban tanulmányozott állati hordozók csoportját képviselik (Wang és mtsai, 2017a). A vad madarak hosszútávú vektorokként szolgálhatnak a humán-eredetű rezisztens törzseknek illetve a rezisztencia géneknek egyaránt (Báez és mtsai, 2015). Világszerte a legtöbbször azonosított ESBL gének a *bla*<sub>CTX-M-1</sub> és *bla*<sub>CTX-M-15</sub> vadállatokban (Wang és mtsai, 2017a), ami összhangban van több korábbi Európában telelő varjakon végzett tanulmány eredményeivel, ahol hasonló géneloszlást tapasztaltak (Loncaric és mtsai, 2013; Jamborova és mtsai, 2015). Néhány korábbi vizsgálat alacsony előfordulással ugyan, de a *bla*<sub>CTX-M-55</sub> gén jelenlétét mutatta ki varjakban (Jamborova és mtsai, 2015; Söderlund és mtsai, 2019). Fontos kiemelni, hogy egy korábbi, 2005-ben végzett tanulmány során a kutatók nem találtak ESBL-termelő baktériumokat a Cseh Köztársaságban telelő varjakban (Literák és mtsai, 2007).

Jelen munkánk során a *bla*<sub>CTX-M-55</sub> és *bla*<sub>CTX-M-27</sub> gének fordultak elő leggyakrabban a vizsgált varjakban. A *bla*<sub>CTX-M-55</sub> Európában ritkán, míg Délkelet-Ázsiában nagyon gyakran előforduló gén emberekben (Lupo és mtsai, 2018) és azt feltételezik, hogy haszonállatokban jelent meg először és terjedt tovább az emberek felé (Bevan és mtsai, 2017). A haszonállatok ürülékét gyakran használják szántóföldek trágyázására, így a mezőgazdasági területeken táplálékot kereső varjak megfertőződhetnek *bla*<sub>CTX-M-55</sub> hordozó törzsekkel, ami jól mutatja az Egy egészség elv fontosságát a rezisztencia terjedésében (Furlan és mtsai, 2021). Korábban a *bla*<sub>CTX-M-15</sub> és a *bla*<sub>CTX-M-14</sub> voltak a domináns ESBL gének Ázsiában, azonban a közelmúltban a *bla*<sub>CTX-M-55</sub> vált a leggyakoribb ESBL génné az emberi és állati törzsekben egyaránt, míg a *bla*<sub>CTX-M-27</sub> elkezdte felváltani a *bla*<sub>CTX-M-14</sub>-et (Bevan és mtsai, 2017). A *bla*<sub>CTX-M-27</sub> és *bla*<sub>CTX-M-55</sub> is nagyszámú replikon típusal van kapcsolatban állati izolátumokban és bizonyos plazmidokkal asszociálva járványosan fordulnak elő az emberekben Ázsiában (Bevan és mtsai, 2017; Lupo és mtsai, 2018). Míg a *bla*<sub>CTX-M-27</sub> terjedésében az ST131 C1-M27-el való asszociáció fontos szerepet játszott, addig a *bla*<sub>CTX-M-55</sub> terjedésében a HGT tűnik jelenleg a fő mozgató erőnek Kínában (Ho és mtsai, 2013). Jelen munkánkban a *bla*<sub>CTX-M-55</sub> IncN replikonokkal volt összefüggésben, ami gyakran hordoz különböző ESBL géneket, de ritkán *bla*<sub>CTX-M-55</sub>-öt (<https://pubmlst.org>). A *bla*<sub>CTX-M-55</sub> IncN plazmidokkal való kapcsolata és e kombináció ST162-ben való megjelenése egy új utat nyithat a *bla*<sub>CTX-M-55</sub> terjedésének Ázsiában, valamint Ázsiából Európa felé a madárvonulással, ahogy az korábban történt az ST131 C1-M27 esetében (Matsumura és mtsai, 2016).

A Magyarországon illetve a környező országokban telelő varjak a Vetési varjú egyik alfaját képviselik, a *Corvus frugilegus frugilegus*-t (nyugati varjú). A nyugati varjú költőterülete a Kelet-európai Síkságtól egészen a Nyugat-szibériai Síkságig húzódik, a telelő madarak tehát Oroszországból és Nyugat-Ázsiából a Fekete-tenger-Mediterrán útvonalon keresztül vándorolnak és rendszerint különböző európai országokban telelnek (Madge, 2020). A Vetési varjú másik alfaja, a *Corvus frugilegus pastinator* (keleti varjú), fészkelőhelyei a Közép-szibériai-fennsíkon és Észak-kínai fennsíkon találhatóak, telelni pedig Kínába, Koreába és Japánba vándorolnak a Kelet-ázsiai útvonalon keresztül. A Nyugat-szibériai-síkság és a Közép-szibériai-fennsík határán hibrid zóna található, ahol ezek a madarak egymással keveredhetnek (Madge, 2020).

Ezek alapján azt feltételeztük, hogy a keleti varjak a Kínában élő emberekben és állatokban gyakori rezisztencia géneket hordozó törzsekkel fertőződnek meg és a hordozóvá vált keleti varjak átadhatják ezeket a törzseket a nyugati varjaknak az előbb említett hibrid zónában való interakciókon keresztül, így pedig hosszú-távú vektorként szolgálhatnak a törzsek/rezisztencia gének Ázsiából Európába történő terjedésében. Ebben a folyamatban a HGT-nek is jelentős szerepe lehet. Éppen ezért Ázsiában az ESBL gének járványtanában bekövetkezett változások okozhatták az általunk vizsgált varjakban talált ESBL gének eltérését a korábbi tanulmányok eredményeihez képest (Loncaric és mtsai, 2013; Jamborova és mtsai, 2015). Ez a terjedési útvonal állhatott fent az ST131 C1-M27 kládjának terjedésében is, amit először 2006-ban Japánban, majd 2008-ban Koreában írtak le és az óta Európában és Amerikában is megjelent (Matsumura és mtsai, 2016). A H5N1 madárinfluenza esetében is hasonló terjedési útvonalakat figyeltek meg különböző madárfajokban (Gauthier-Clerc és mtsai, 2007). A varjú és humán eredetű ST131 C1-M27 izolátumok nagyfokú hasonlósága (6. ábra, 7. ábra) jelen munkánkban arra is utalhat, hogy a varjak Magyarországon fertőződtek meg ezekkel a törzsekkel, megteremtve így egy kétirányú terjedési útvonalat. Az élelmiszer behozatal egy másik fontos terjedési útvonal lehet, ahonnan a *bla<sub>CTX-M-55</sub>* terjedhet az állatoktól az emberek felé Európában, ahogy az az *mcr-1* rezisztencia gén terjedésében is bekövetkezett, mivel nagyszámú baromfi és sertés kerül behozatalra Kínából Európába (Hasman és mtsai, 2015) és e gének jelenléte gyakran visszakövethető egészen odáig (Lupo és mtsai, 2018). Természetesen szerepet játszik a humán globális mobilitás is a törzsek terjedésében. Míg a humán mobilitás és az élelmiszerkereskedelem legalább elvben nyomon követhető lenne, a madarak és más vadállatok általi terjedés rejtve marad.

A B2 filocsoportba tartozó varjú izolátumok döntő többsége ugyanazzal a makrorestrikciós profillal rendelkezett (6. ábra), ezek a *bla*<sub>CTX-M-27</sub>-et hordozták és ST24 törzsek voltak (3. táblázat). Az ST24 egy viszonylag ritkán, főleg hasmenéses nyulakból, szarvasmarhákból és emberekből leírt törzs (Moura és mtsai, 2009; Xiong és mtsai, 2012). Az összes ST24 izolátumunk hordozta az *eae* gént (4. táblázat), ami az enteropatogén *E. coli* (EPEC) egyik fő virulencia faktorát kódolja, azonban a *bfp* gén hiánya alapján ezek az izolátumok atipikus EPEC törzsek lehetnek, melyeket emberekből és állatokból is leírtak (Moura és mtsai, 2009; Arais és mtsai, 2018). Több tanulmány is azt találta, hogy az állati eredetű atipikus EPEC törzsek képesek lehetnek akár embereken is hasmenést okozni és az emberi és állati törzsek között szoros klonális kapcsolat állt fent az említett tanulmányokban (Moura és mtsai, 2009; Arais és mtsai, 2018). Ezek alapján az ST24 törzseink humán fertőzések okozására képesek lehetnek.

A varjú B1 filocsoportú izolátumaink egy nagy klasztert alkottak, az ST162-be tartoztak és a *bla*<sub>CTX-M-55</sub>-öt hordozták (6. ábra). ESBL-termelő ST162 törzseket már korábban is írtak le Európában telelő varjakban alacsony prevalenciával, azonban azok a *bla*<sub>CTX-M-1</sub>-et hordozták (Loncaric és mtsai, 2013), ez a különbség pedig a *bla*<sub>CTX-M-55</sub> elterjedtségével állhat összefüggésben (Bevan és mtsai, 2017). Ezt a multirezisztens *E. coli* klónt napjainkban az egész világon leírták haszonállatokban, vadállatokban és embereken illetve folyókban és szennyvízben is kimutatták jelenlétüket (Fuentes-Castillo és mtsai, 2020). ST162 *E. coli*-t tőgygyulladásban szenvedő tejelő marhákból és humán klinikai mintákból is kimutatták (Tahar és mtsai, 2020), sőt embereken *bla*<sub>NDM-5</sub> karbapenemáz gén hordozójaként is leírták (Yoon és mtsai, 2018). Továbbá, baromfiból származó ST162 *E. coli* törzseket azonosítottak magas virulenciájú klónként, ami annak ellenére, hogy B1 filocsoportba tartozott, véráram fertőzést és meningitist is képes volt okozni állati modellekben (Zhuge és mtsai, 2019). Ezek a jelenségek aggodalomra adnak okot, egyrészt a kommenzális multirezisztens törzsek emberi populációban való terjedésének, másrészt e törzsek által hordozott antibiotikum rezisztencia gének más, nem-kommenzális, patogén törzsek felé történő terjedésének lehetősége miatt (Zhuge és mtsai, 2019).

Emberekben is fontos szerepet játszó ST-ok közül (ST131 C1-M27, ST744) is fordult elő a varjakban. Az ST744 egy nemzetközi magas-kockázatú klón, amit széklet, klinikai és varjú mintáinkban is azonosítottunk (3. táblázat), de a humán és varjú izolátumok között több különbség is volt (3. táblázat; 4. táblázat). CTX-M-55-termelő ST744 törzseket már korábban leírtak sertésekből, szarvasmarhákból, szennyvízből és ragadozó madaraktól (Guenther és mtsai, 2012; Lupo és mtsai, 2018; Hayer és mtsai, 2020) valamint társállatokból és emberekből

(Tacão és mtsai, 2017; Zhong és mtsai, 2017; Zogg és mtsai, 2018). ESBL gének mellett az ST744-et elszórtan azonosították *mcr-1*, *mcr-3*, *bla<sub>KPC-3</sub>* vagy *bla<sub>NDM</sub>* gének hordozóiként (Tacão és mtsai, 2017; Zhong és mtsai, 2017; Lupo és mtsai, 2018; Ahlstrom és mtsai, 2022). Az A filocsoportba tartozó ST744 törzsek kevésbé virulensek, mint a B2 vagy D filocsoportba tartozó törzsek, azonban a mi varjú ST744 izolátumunk 15 különböző virulencia gént (4. táblázat) hordozott, többek között olyanokat is, amelyek gyakran megtalálhatóak extraintesztinális patogén *E. coli* (ExPEC) izolátumokban (Johnson és mtsai, 2008; Zhuge és mtsai, 2019).

A különböző fő virulencia gének (*iss*, *iroN*, *hlyF* and *ompT*, *iutA* and *cvaC*) (4. táblázat) valamint az A filocsoport alapján a mi varjú ST744 izolátumunk feltehetően egy madárpatogén *E. coli* (APEC) törzs (Johnson és mtsai, 2008). Ez a fő kórokozója a madár kólibacillózis fertőzésnek világszerte, éppen ezért a különböző APEC törzseket hordozó vad madarak komoly veszélyforrást jelenthetnek a baromfitenyésztésre, különös tekintettel arra, hogy ez a törzs rezisztens volt béta-laktámokra és fluorokinolonokra is (3. táblázat). Ezek a virulencia gének a humán ExPEC törzsekben is gyakran előfordulnak, ami felveti az esetleges zoonotikus terjedés lehetőségét (Johnson és mtsai, 2008; Zhuge és mtsai, 2019). Ezek alapján az ST744 egy zoonotikus törzs lehet, ami képes akár kolonizálni számos gazdafajt és fertőzést okozni, beleértve az embereket is, valamint fontos rész juthat neki a rezisztencia plazmidok más *E. coli* ST-okba történő terjedésében.

Egy másik közegészségügyi szempontból is fontos klón, az ST131 C1-M27 is jelen volt az általunk vizsgált varjakban, illetve gyakran előfordult humán (széklet és klinikai) mintáinkban. Ezt a klónt is összefüggésbe hozták klonális terjedéssel, továbbá nagy kárókatonákból (*Phalacrocorax carbo*), kacsákból (*Anas platyrhynchos*) (Tausova és mtsai, 2012), sirályokból (Zendri és mtsai, 2020) társ állatokból, édesvízből és szennyvízből is leírták (Bevan és mtsai, 2017). A *bla<sub>CTX-M-15</sub>* maradt a domináns ESBL gén a humán izolátumokban, mellette a *bla<sub>CTX-M-27</sub>* vált a második leggyakoribb ESBL génné jelen tanulmányban, ez a változás pedig Magyarországon más városokban is (Budapest, Pécs) megfigyelhető (Mutuku és mtsai, 2022) volt. A CTX-M-15 termelő ST131 *E. coli* prevalenciája csökkent, míg a C1-M27 előfordulása ugrásszerűen megnőtt a munkacsoportunk korábbi eredményeihez képest (Ebrahimi és mtsai, 2014, 2016a,b), ami feltételezhetően a *bla<sub>CTX-M-15</sub>*-öt hordozó C2 alkklád C1-M27 alkkládra való lassú lecserélődésének a következménye (Merino és mtsai, 2018). Ezt támasztja alá a Merino és mtsai által végzett tanulmány, ahol az ST131 C1-M27 törzsek magasabb transzmissziós rátával rendelkeztek, mint a CTX-M-15-termelő ST131 C2 törzsek (Merino és mtsai, 2018). A

C1-M27 törzsek gyakran szegényebb korezisztencia profillal rendelkeznek nem-béta-laktám antibiotikumokkal szemben, mint a C2 törzsek (Jamborova és mtsai, 2018), ami akár szelekciós előnyként is szolgálhat. Különösen fontos ez olyan helyeken, ahol leginkább béta-laktámokat használnak, mint a legtöbb Európai ország, köztük Magyarország is, különösen ahol a jelen tanulmány is zajlott (Tóth és mtsai, 2019). A különböző sikeres *E. coli* klónok közül az ST131 C2 volt az, amelyik döntő szerepet viselt az ESBL-ek egész világon való elterjesztésében (Bevan és mtsai, 2017). Ez a 3. generációs cefalosporinok hatékonyságának jelentős csökkenését és a karbapenemek fokozott használatát eredményezte az egészségügyben (Cantón és mtsai, 2008, Halat és Moubareck, 2020).

Karbapenemeket a legtöbb országban kizárólag kórházakban, súlyos fertőzések kezelésére használnak, azonban e szerek maradéka, bomlástermékei vagy maguk a rezisztens törzsek a tisztított kórházi szennyvízben is jelen lehetnek, amit sok esetben különböző felszíni vizekbe juttatnak, jelentős szelekciós nyomás gyakorolva ezzel a CRE környezetben való perzisztenciájában és terjedésében (Mills és Lee, 2019). Egy másik jelentős forrás lehet a karbapenemeket gyártó gyógyszergyárak szennyvize. CRE törzseket jelentettek már szennyvíztisztító telepekről, folyókból és tavakból egyaránt különböző európai országokból (Kittinger és mtsai, 2016; Mills és Lee, 2019; Mutuku és mtsai, 2022). Korábbi tanulmányok CRE-t már találtak a Duna szerbiai és romániai szakaszaiban 2013-ban és Ausztriában 2016-ban, de Magyarországon nem (Kittinger és mtsai, 2016; Lepuschitz és mtsai, 2019). A fajeloszlás (*K. pneumoniae* és ECC) és a hordozott karbapenemáz gének (*bla<sub>KPC-2</sub>*, *bla<sub>VIM-4</sub>*, *bla<sub>OXA-48</sub>*) az előbb említett publikációkban (Kittinger és mtsai, 2016; Lepuschitz és mtsai, 2019) nagyban eltértek a jelen kutatásunkban talált *E. coli* és *bla<sub>NDM-1</sub>* dominanciájától. Más európai tavakban és folyókban főként *bla<sub>KPC-2</sub>*, *bla<sub>VIM-1</sub>* és/vagy *bla<sub>OXA-48</sub>*-szerű géneket találtak (Kittinger és mtsai, 2016; Lepuschitz és mtsai, 2019; Mills és Lee, 2019); *bla<sub>NDM-1</sub>*-et ritkán, míg a *bla<sub>NDM-1</sub>* és *bla<sub>VIM-4</sub>* kombinációját, ami a mi tanulmányunkban gyakori volt, legjobb tudomásunk szerint még nem írtak le. A vizsgált humán gyűjteményben is ugyanezek a karbapenemáz gének domináltak, viszont a *bla<sub>NDM-1</sub>* és *bla<sub>VIM-4</sub>* géneket egyszerre hordozó izolátum nem fordult elő (5. táblázat).

Kutatásunk során a dankasirályokban talált CRE prevalenciája hasonló volt más sirály fajokon végzett tanulmányok eredményeihez (1.5-16%), amiket olyan európai országokban végeztek, ahol a CRE előfordulása emberekben jóval magasabb (Vergara és mtsai, 2017; Vittecoq és mtsai, 2017; Aires-de-Sousa és mtsai, 2020; Ahlstrom és mtsai, 2022). Az általunk vizsgált sirályokban a karbapenemáz gének megoszlása hasonló volt ahhoz, amit a Dunából származó

izolátumokban találtunk, éppúgy, mint más tanulmányokban, a sirályokban és a hozzájuk közel eső felszíni vizekben (Dolejska és mtsai, 2016; Piedra-Carrasco és mtsai, 2017; Vergara és mtsai, 2017).

A Dunában közegészségügyi szempontból is fontos magas-kockázatú *E. coli* klónokat találtunk. Az ST10 és ST354 *E. coli* pandémiás multirezisztens klónok, melyek akár súlyos fertőzéseket is okozhatnak emberekben (Manges és mtsai, 2019), kommenzalistaként vagy patogénként jelen lehetnek különböző haszonállatokban (Bojesen és mtsai, 2022), társállatokban (Dolejska és mtsai, 2016). Az ST410 egy fontos ember-asszociált magas-kockázatú pandémiás ExPEC klón, ami általában a *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>OXA-181</sub> és/vagy *bla*<sub>NDM-5</sub> géneket hordozza, és egyre gyakrabban számolnak be e klón jelenlétéről világszerte (Roer és mtsai, 2018).

A sirályokban is találtunk humán vagy állatorvosi vonatkozásban fontos ST-okat. Az ST224 és ST744 is magas-kockázatú ExPEC klónok, amik emberekben és állatokban is sokféle fertőzést képesek okozni és jellemzően valamilyen ESBL és/vagy karbapenemáz gént hordoznak (Guenther és mtsai, 2012; Dolejska és mtsai, 2016; Tacão és mtsai, 2017; Zhong és mtsai, 2017; Lupo és mtsai, 2018; Hayer és mtsai, 2020; Ahlstrom és mtsai, 2021; 2022). Az ST372 egy nemzetközi ExPEC klón, ami főleg kutyákban okoz húgyúti fertőzéseket, de emberekben is képes fertőzést okozni (Melo és mtsai, 2016; Flament-Simon és mtsai, 2020; Valat és mtsai, 2020). Mivel a kutyák ürüléke gyakran szennyezi a városi környezetet és a sirályok fekális anyagokkal is táplálkoznak, jelen vannak például a margitszigeti kutyafuttató helyek közelében, ezért az ST372 jelenléte a sirályokban „Egy egészség” kapcsolat lehet vadállatok, társállatok és végső soron az emberek között. Az ST224 törzsek a 2019-es és 2020-as sirály mintákban is előfordultak és rokonságban álltak egymással (24 allél távolság). Az ST1437 törzsek a Dunában, a 2019-es és 2020-as sirály törzsek között is előfordultak illetve rokoni kapcsolatban is álltak a rezisztencia profilok és allélkülönbségek alapján. Ez azt sugallja, hogy az ST224 és ST1437 stabilan jelen van a sirály populációban, vagy a sirályok a közelmúltban válhattak hordozóivá e klónoknak, feltehetően egy a sirályok által gyakran látogatott forrásból. Az ST1437 *E. coli* egy ritkán leírt ST, ami talán kommenzális sertés törzs lehet tekintettel arra, hogy irodalmi adatok alapján csak ebből a gazdafajból jelentették *fosA3*, *bla*<sub>CTX-M</sub> és *bla*<sub>NDM</sub> gének hordozójaként (Kong és mtsai, 2017; Reid és mtsai, 2017; Wang és mtsai, 2017c). Ebből adódóan az ST1437 jelenléte a sirályokban feltehetően sertésállomány eredetű, mivel a művelt területeket gyakran szórják sertés trágyával, ami párhuzamba állítható a *bla*<sub>CTX-M-55</sub> terjedésével a haszonállatokból a szántóföldeken keresztül a varjakig.

Az egyetlen *K. pneumoniae* izolátum az ST273-ba tartozott, ami egyetlen lókuszt variánsa az ST147-nek. Az ST147-ST273 komplexben korábban már leírták a *bla*<sub>NDM-1</sub> jelenlétét valamint irodalmi adatok alapján ez a komplex magas járványtani potenciállal rendelkezik (Giske és mtsai, 2012; Mammina és mtsai, 2012). A karbapenem rezisztens ECC jelenléte a sirályokban illetve, hogy kolisztin és foszofomicin rezisztens törzsek is voltak köztük különösen aggasztó, mivel ezek az emberekben világszerte fontos nozokomiális kórokozók (Annajhala és mtsai, 2019).

A Dunában, emberekben és sirályokban talált karbapenemázok és kombinációik nagy hasonlósága és a hordozó ST-ok sokfélesége azt jelezheti, hogy a CRE járványtana hazánkban főként a HGT által formálódik. Ezt a feltevést az is támogatja, hogy a különböző forrásokból származó *bla*<sub>NDM-1</sub> gének genetikai környezete nagyon hasonló volt (9. ábra). Egy 2021-es tanulmány hasonló eredményeket tárt fel, ahol a humán és sirály eredetű CRE törzsekben a *bla*<sub>KPC</sub> gének genetikai környezete ugyanolyan konzervált régiókból állt, viszont a genom analízis nem támasztotta alá a CRE törzsek közvetlen terjedését a sirályok és az emberek között (Ahlstrom és mtsai, 2021). Egy másik példa a *bla*<sub>OXA-181</sub>, ami általában IncX3 plazmidokon kódolt (Bleichenbacher és mtsai, 2020). A mi esetünkben a *bla*<sub>OXA-181</sub> és Incx3 replikon is ugyanazon a kontigon fordult elő és nagyon hasonlóak voltak egymással (99%) valamint más *bla*<sub>OXA-181</sub>-et hordozó Incx3 plazmidok megfelelő régióival (99%), amiket különböző ST-ú *E. coli*-ban találtak folyókban, kutyákban és emberekben is Svájcban (Bleichenbacher és mtsai, 2020). Továbbá, egy korábbi tanulmányban Portugália partvidékén élő sirályokban *bla*<sub>OXA-181</sub>-et hordozó Incx3 plazmidok nagy arányban fordultak elő (Aires-de-Sousa és mtsai, 2020).

A vizes élőhelyek optimális helyszíneként szolgálnak a HGT számára (Mills és Lee, 2019); a rezisztencia gének az üledékben felhalmozódhatnak (Kittinger és mtsai, 2016) és a felszíni vizeket látogató vadállatok megfertőződhetnek a kórházakból a felszíni vizekbe kerülő rezisztens törzsekkel. Magyarországon a *K. pneumoniae* a domináns CRE emberekben, ami korábban a *bla*<sub>VIM-4</sub>-et hordozta, azonban az elmúlt néhány évben a hordozott karbapenemázok diverzifikálódtak és megjelentek a *bla*<sub>OXA-48</sub>-szerű, *bla*<sub>KPC</sub> és *bla*<sub>NDM</sub> gének is (Grundmann és mtsai, 2017; Nemzeti Népegészségügyi és Gyógyszerészeti Központ-nem közölt adat). Ez a változás a CREc izolátumainkban is jól megfigyelhető volt (5. táblázat). Figyelembe véve a *bla*<sub>NDM-1</sub> magas prevalenciáját a klinikai *E. coli* izolátumokban és az ST410 gyakori előfordulását a humán izolátumaink között feltehető, hogy a Dunában talált karbapenemázok egy része kórházi eredetű, ami a szennyvízzel juthat a Dunába (a Budapest feletti szakaszból vett minták negatívak voltak CRE-re). Ily módon még a budapesti kórházakból származó

tisztított szennyvíz is fontos szerepet játszhat a karbapenemázok járványtanának alakulásában a környezetben, ebből adódóan pedig bizonyos mértékben a vadvilágban is. Az NDM-termelő törzsek egyre növekvő prevalenciája Európa számos részén (ECDC, 2019), és a *bla<sub>NDM-1</sub>* gyors terjedése HGT-en keresztül hozzájárulhatott e gének dominanciájához a vizsgált madarakban. A Budapesten telelő dankasirályok jellemzően Svájc és Olaszország alpesi és szubalpesi tavaitól és az adriai partoktól egészen Németország és Lengyelország tengerparti régiójáig kóborolnak, de akár Hollandiába vagy az atlanti partokig is elrepülhetnek 37786 gyűrűzött madár vándorlási adatai alapján (Spina és mtsai, 2022).

A sirályok és varjak urbanizált, mindenevő, kóborló és vándorló viselkedésük miatt valamint a folyók, mint a Duna, fontos helyi és hosszú-távú vektorként szolgálhatnak a törzsek, MGE-ek és gének számára összekapcsolva különböző földrajzi területeket egy komplex hálózattá, felhívva ezzel a figyelmet a madarak és folyók szerepére illetve az Egy egészség elv fontosságára az antibiotikum rezisztencia terjedésében.

## 8. Új eredmények

- A varjakban az ESBL-termelő *E. coli* prevalenciája korábbi évek tanulmányaihoz képest tovább emelkedett, a korábban domináns *bla*<sub>CTX-M-1</sub>-et és *bla*<sub>CTX-M-15</sub>-öt pedig felváltották a *bla*<sub>CTX-M-55</sub> és *bla*<sub>CTX-M-27</sub> gének. A humán széklet és klinikai izolátumokban is megjelent a *bla*<sub>CTX-M-27</sub> és a *bla*<sub>CTX-M-15</sub> mögött a második leggyakoribb gén lett.
- Az ST131 C1-M27 alkládja megjelent a varjakban, a széklet és klinikai izolátumokban is egyaránt. Továbbá a széklet és klinikai izolátumok esetében a korábban domináns CTX-M-15-termelő C2 alklád prevalenciája csökkent, a CTX-M-27-termelő C1-M27 alkládé pedig ugrásszerűen megnőtt és elkezdte felváltani a korábban domináns C2-t.
- Ritka atipikus EPEC ST24 törzsek nagy arányban fordultak elő a varjakban, melyek emberekben és állatokban is képesek lehetnek fertőzést okozni.
- A dankasirályokban illetve a Duna magyarországi szakaszán is megjelentek a CRE törzsek, a domináns faj pedig *E. coli* volt. Szinte mindegyik izolátum a *bla*<sub>NDM-1</sub>-et hordozta, holott ez a gén alapvetően ritkán fordult elő Magyarországon, illetve a klinikai mintákban korábban domináns *bla*<sub>VIM-4</sub>-et felváltotta a *bla*<sub>NDM-1</sub>.
- A sirályokban és a Dunában is jelen voltak olyan izolátumok, amelyek eddig még nem dokumentált módon, együttesen hordozták a *bla*<sub>NDM-1</sub> és *bla*<sub>VIM-4</sub> géneket.
- Ritkán leírt ST1437 törzsek a Dunában és 2019-es és 2020-as sirály mintákban előfordultak a *bla*<sub>NDM-1</sub> hordozóiként.

## 9. Összefoglalás

Az Egy egészség elv tekintetében az emberek és az állatok egészsége és a környezet szoros kölcsönhatásban áll egymással, ami az antibiotikum rezisztenciára is vonatkozik, ennek fényében pedig vadmadarak szerepét vizsgáltuk az antibiotikum rezisztencia terjedésében. A 2016. október és 2017. március között vizsgált vetési varjak 33%-ában, a rutin diagnosztikai vizsgálatra érkező humán székletminták 1,7%-ában találtunk ESBL-termelő *E. coli*-t. Az ESBL gének szekvenálásából kiderült, hogy a varjakban a *bla*<sub>CTX-M-55</sub> és *bla*<sub>CTX-M-27</sub> gének, míg a humán széklet és klinikai mintákban a *bla*<sub>CTX-M-15</sub> és *bla*<sub>CTX-M-27</sub> domináltak. A PFGE alapján a humán klinikai és széklet izolátumok jól elkülönültek a varjú izolátumoktól néhány kivétellel. Az ST131 a varjú, széklet és klinikai mintákban is előfordult, a domináns alkklád a C1-M27 volt. Az EC069-es PFGE klaszterbe tartozó varjú eredetű ST131 C1-M27 izolátumok WGS és cgMLST alapján közeli kapcsolatban álltak a humán izolátumokkal. A varjakban ST24-be tartozó atipikus EPEC törzsek, *bla*<sub>CTX-M-55</sub> hordozó ST162 törzsek és APEC törzsek is előfordultak. A 2019 és 2020-ban mintázott dankasirályok 7,4%-a illetve 6,7%-a hordozott CRE törzset, a Duna esetében csak a 2020-as Budapest alatti szakaszból gyűjtött mintákban találtunk CRE-t. A domináns faj az *E. coli* volt, ezeket hasonlítottuk össze humán carbapenem rezisztens *E. coli* (CREc) törzsekkel. A WGS eredménye alapján a *bla*<sub>NDM-1</sub> volt a domináns karbapenemáz gén, melyek közvetlen genetikai környezete minden esetben ugyanaz volt. A sirály és dunai izolátumokban a *bla*<sub>VIM-4</sub> csak *bla*<sub>NDM-1</sub>-gyel együtt volt jelen, míg a klinikai izolátumokban önmagában, vagy a *bla*<sub>OXA-48</sub>-cal együtt fordult elő. Alapvetően az emberi, vízi és sirály CREc izolátumok különböző ST-okba tartoztak. A klinikai izolátumok döntő többségét jellemzően humán patogén ST-ok adták, de a sirály és dunai törzsek között is találtunk fontos magas kockázatú klónokat (ST224, ST372, ST744 és ST10, ST354, ST410). A humán és sirály izolátumok között nem találtunk közvetlen kapcsolatot. A dunai és humán ST410 törzsek kapcsolatban álltak egymással. A 2019-ben gyűjtött ST1437 törzsek teljesen azonosak voltak míg a 2020-as sirály és dunai izolátumok között 22-24 allél allélnyi különbség volt. A mindenevő, urbanizált, kóborló és vándorló viselkedésük miatt ezek a sirályok és varjak fontos rezervoárok, helyi és hosszútávú vektorok a rezisztens törzsek, MGE-ek és rezisztencia gének számára, felhívva ezzel a figyelmet a vadmadarak szerepére illetve az Egy egészség elv fontosságára az antibiotikum rezisztencia terjedésében.

## 10. Summary

The One Health concept sets forth that the health of the animals, humans and the environment is interconnected and it also applies to antibiotic resistance. Thus, we examined the role of wild birds in the dissemination of antibiotic resistance. Between October 2016 and March 2017 the prevalence of ESBL-producing *E. coli* in rooks was 33% while the asymptomatic carriage was 1.7% in human stool samples. ESBL genes were sequenced; rook isolates carried mostly *bla*<sub>CTX-M-55</sub> or *bla*<sub>CTX-M-27</sub> genes while *bla*<sub>CTX-M-15</sub> and *bla*<sub>CTX-M-27</sub> dominated in human stool and clinical isolates. Based on PFGE clinical and stool isolates clustered separately from rook isolates with minor exceptions. ST131 clone was present in rooks, stool and clinical samples C1-M27 being the dominant subclade. EC069 PFGE cluster contained rook, stool and clinical isolates belonging to ST131 C1-M27 subclade which were in close connection based on WGS and cgMLST results. Rooks carried ST24 atypical EPEC strains, *bla*<sub>CTX-M-55</sub> harbouring ST162 strains and APEC strains. Overall 7.4% and 6.7% of sampled gulls in 2019 and 2020 carried CRE, respectively. CRE was found in the Danube only in samples taken in 2020 downstream of Budapest. *E. coli* was the dominant species and these CREc isolates were compared to human clinical strains. Based on WGS the predominant carbapenemase was *bla*<sub>NDM-1</sub> located within the same immediate genetic context in all isolate collections. In gull and river isolates *bla*<sub>VIM-4</sub> occurred only in *bla*<sub>NDM-1</sub> carriers while it was carried alone or with *bla*<sub>OXA-48</sub> in human isolates. Though human river and gull isolates belonged to different STs, shared STs between sample types were also found. Most human isolates belonged to typical human pathogen STs but important high-risk clones were also found in gulls and Danube (ST224, ST372, ST744 and ST10, ST354, ST410, respectively). Direct link was not found between gull and human isolates. Human and river ST410 isolates were connected. Gull ST1437 isolates found in 2019 were identical while those collected in 2020 from gulls and Danube had 22-24 allelic distances between them. Because of their omnivorous, urbanised, vagrant and migratory behaviour these gulls and rooks are serious reservoirs, local and long-range vectors for the resistant strains, MGEs and resistance genes highlighting the role of wild birds and the importance of One Health in the dissemination of antibiotic resistance.

## 11. Irodalomjegyzék

Adekanmbi, A. O.; Oluwaseyi, T. A.; Oyelade, A. A. Dumpsite Leachate as a Hotspot of Multidrug Resistant Enterobacteriaceae Harbours Extended Spectrum and AmpC  $\beta$ -Lactamase Genes; a Case Study of Awotan Municipal Solid Waste Dumpsite in Southwest Nigeria. *Meta Gene* 2021, 28, 100853.

Ahlstrom, C. A.; Frick, A.; Pongratz, C.; Spink, K.; Xavier, C.; Bonnedahl, J.; Ramey, A. M. Genomic Comparison of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae from Humans and Gulls in Alaska. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2021, 25, 23–25.

Ahlstrom, C. A.; Woksepp, H.; Sandegren, L.; Mohsin, M.; Hasan, B.; Muzyka, D.; Hernandez, J.; Aguirre, F.; Tok, A.; Söderman, J.; Olsen, B.; Ramey, A. M.; Bonnedahl, J. Genomically Diverse Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae from Wild Birds Provide Insight into Global Patterns of Spatiotemporal Dissemination. *Science of The Total Environment* 2022, 824, 153632.

Aires-de-Sousa, M.; Fournier, C.; Lopes, E.; de Lencastre, H.; Nordmann, P.; Poirel, L. High Colonization Rate and Heterogeneity of ESBL- and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Isolated from Gull Feces in Lisbon, Portugal. *Microorganisms* 2020, 8 (10), 1487.

Annavajhala, M. K.; Gomez-Simmonds, A.; Uhlemann, A.-C. Multidrug-Resistant Enterobacter Cloacae Complex Emerging as a Global, Diversifying Threat. *Front. Microbiol.* 2019, 10, 44.

Arais, L. R.; Barbosa, A. V.; Andrade, J. R. C.; Gomes, T. A. T.; Asensi, M. D.; Aires, C. A. M.; Cerqueira, A. M. F. Zoonotic Potential of Atypical Enteropathogenic Escherichia Coli (aEPEC) Isolated from Puppies with Diarrhoea in Brazil. *Vet Mic* 2018, 227, 45–51.

Báez, J.; Hernández-García, M.; Guamparito, C.; Díaz, S.; Olave, A.; Guerrero, K.; Cantón, R.; Baquero, F.; Gahona, J.; Valenzuela, N.; del Campo, R.; Silva, J. Molecular Characterization and Genetic Diversity of ESBL-Producing *Escherichia Coli* Colonizing the Migratory Franklin's Gulls (*Leucophaeus Pipixcan*) in Antofagasta, North of Chile. *Microbial Drug Resistance* 2015, 21 (1), 111–116.

Bager, F.; Madsen, M.; Christensen, J.; Aarestrup, F. M. Avoparcin Used as a Growth Promoter Is Associated with the Occurrence of Vancomycin-Resistant *Enterococcus Faecium* on Danish Poultry and Pig Farms. *Preventive Veterinary Medicine* 1997, 31 (1–2), 95–112.

Bevan, E. R.; Jones, A. M.; Hawkey, P. M. Global Epidemiology of CTX-M  $\beta$ -Lactamases: Temporal and Geographical Shifts in Genotype. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2017, 72 (8), 2145–2155.

Bleichenbacher, S.; Stevens, M. J. A.; Zurfluh, K.; Perreten, V.; Endimiani, A.; Stephan, R.; Nüesch-Inderbilen, M. Environmental Dissemination of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Rivers in Switzerland. *Environmental Pollution* 2020, 265, 115081.

Bogaerts, P.; Huang, T.-D.; Bouchahrouf, W.; Bauraing, C.; Berhin, C.; El Garch, F.; Glupczynski, Y.; the ComPath Study Group. Characterization of ESBL- and AmpC-Producing *Enterobacteriaceae* from Diseased Companion Animals in Europe. *Microbial Drug Resistance* 2015, 21 (6), 643–650.

Bojesen, A. M.; Ahmed, U.; Skaarup, H.; Espinosa-Gongora, C. Recurring Outbreaks by the Same *Escherichia Coli* ST10 Clone in a Broiler Unit during 18 Months. *Vet Res* 2022, 53 (1), 2.

Bonardi, S.; Pitino, R. Carbapenemase-Producing Bacteria in Food-Producing Animals, Wildlife and Environment: A Challenge for Human Health. *Ital J Food Safety* 2019, 8 (2).

Bonnedahl, J.; Hernandez, J.; Stedt, J.; Waldenström, J.; Olsen, B.; Drobni, M. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases in *Escherichia Coli* and *Klebsiella Pneumoniae* in Gulls, Alaska, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 2014, 20 (5).

Bonomo, R. A.  $\beta$ -Lactamases: A Focus on Current Challenges. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2017, 7 (1), a025239.

Bush, K.; Jacoby, G. A. Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010, 54 (3), 969–976.

Busse, P.; Zaniewicz, G.; Cofta, T. Evolution of the Western Palaearctic Passerine Migration Pattern Presentation Style. *The Ring* 2015, 36 (1), 3–21.

Canton, R.; Novais, A.; Valverde, A.; Machado, E.; Peixe, L.; Baquero, F.; Coque, T. M. Prevalence and Spread of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 144–153

- Carattoli, A. Resistance Plasmid Families in *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009, 53 (6), 2227–2238.
- Clermont, O.; Christenson, J. K.; Denamur, E.; Gordon, D. M. The Clermont *Escherichia Coli* Phylo-Typing Method Revisited: Improvement of Specificity and Detection of New Phylo-Groups: A New *E. Coli* Phylo-Typing Method. *Environmental Microbiology Reports* 2013, 5 (1), 58–65.
- Codjoe, F.; Donkor, E. Carbapenem Resistance: A Review. *Medical Sciences* 2017, 6 (1), 1.
- Coque, T. M.; Baquero, F.; Cantón, R. Increasing Prevalence of ESBL-Producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Eurosurveillance* 2008, 13 (47).
- Dahms, C.; Hübner, N.-O.; Kossow, A.; Mellmann, A.; Dittmann, K.; Kramer, A. Occurrence of ESBL-Producing *Escherichia Coli* in Livestock and Farm Workers in Mecklenburg-Western Pomerania, Germany. *PLoS ONE* 2015, 10 (11), e0143326.
- Dantas Palmeira, J.; Ferreira, H. M. N. Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-Producing *Enterobacteriaceae* in Cattle Production – a Threat around the World. *Heliyon* 2020, 6 (1), e03206.
- Dolejska, M.; Literak, I. Wildlife Is Overlooked in the Epidemiology of Medically Important Antibiotic-Resistant Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2019, 63 (8), e01167-19.
- Dolejska, M.; Masarikova, M.; Dobiasova, H.; Jamborova, I.; Karpiskova, R.; Havlicek, M.; Carlile, N.; Priddel, D.; Cizek, A.; Literak, I. High Prevalence of *Salmonella* and IMP-4-Producing *Enterobacteriaceae* in the Silver Gull on Five Islands, Australia. *J. Antimicrob. Chemother.* 2016, 71 (1), 63–70.
- Dolejska, M.; Papagiannitsis, C. C. Plasmid-Mediated Resistance Is Going Wild. *Plasmid* 2018, 99, 99–111.
- Dong, D.; Li, M.; Liu, Z.; Feng, J.; Jia, N.; Zhao, H.; Zhao, B.; Zhou, T.; Zhang, X.; Tong, Y.; Zhu, Y. Characterization of a NDM-1- Encoding Plasmid PHFK418-NDM From a Clinical *Proteus Mirabilis* Isolate Harboring Two Novel Transposons, Tn6624 and Tn6625. *Front. Microbiol.* 2019, 10, 2030.
- Ebrahimi, F.; Mózes, J.; Mészáros, J.; Juhász, Á.; Kardos, G. Carriage Rates and Characteristics of *Enterobacteriaceae* Producing Extended-Spectrum Beta-Lactamases in

Healthy Individuals: Comparison of Applicants for Long-Term Care and Individuals Screened for Employment Purposes. *Chemotherapy* 2014, 60 (4), 239–249.

Ebrahimi, F.; Mózes, J.; Mészáros, J.; Juhász, Á.; Majoros, L.; Szarka, K.; Kardos, G. Asymptomatic Faecal Carriage of ESBL Producing Enterobacteriaceae in Hungarian Healthy Individuals and in Long-Term Care Applicants: A Shift towards CTX-M Producers in the Community. *Infectious Diseases* 2016a, 48 (7), 557–559.

Ebrahimi, F.; Mózes, J.; Monostori, J.; Gorácz, O.; Fésűs, A.; Majoros, L.; Szarka, K.; Kardos, G. Comparison of Rates of Fecal Colonization with Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteria among Patients in Different Wards, Outpatients and Medical Students: ESBL Carriage in Different Ward Types. *Microbiol Immunol* 2016b, 60 (5), 285–294.

European Centre for Disease Prevention and Control. Regional outbreak of New Delhi metallo-beta-lactamase-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, Italy, 2018–2019 – 4 June 2019. ECDC: Stockholm; 2019.

Ewers, C.; Bethe, A.; Semmler, T.; Guenther, S.; Wieler, L. H. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing and AmpC-Producing *Escherichia Coli* from Livestock and Companion Animals, and Their Putative Impact on Public Health: A Global Perspective. *Clinical Microbiology and Infection* 2012, 18 (7), 646–655.

Flament-Simon, S.-C.; de Toro, M.; García, V.; Blanco, J. E.; Blanco, M.; Alonso, M. P.; Goicoa, A.; Díaz-González, J.; Nicolas-Chanoine, M.-H.; Blanco, J. Molecular Characteristics of Extraintestinal Pathogenic *E. Coli* (ExPEC), Uropathogenic *E. Coli* (UPEC), and Multidrug Resistant *E. Coli* Isolated from Healthy Dogs in Spain. Whole Genome Sequencing of Canine ST372 Isolates and Comparison with Human Isolates Causing Extraintestinal Infections. *Microorganisms* 2020, 8 (11), 1712.

Fuentes-Castillo, D.; Esposito, F.; Cardoso, B.; Dalazen, G.; Moura, Q.; Fuga, B.; Fontana, H.; Cerdeira, L.; Dropa, M.; Rottmann, J.; González-Acuña, D.; Catão-Dias, J. L.; Lincopan, N. Genomic Data Reveal International Lineages of Critical Priority *Escherichia Coli* Harboring Wide Resistome in Andean Condors ( *Vultur Gryphus* Linnaeus, 1758). *Mol Ecol* 2020, 29 (10), 1919–1935.

Furlan, J. P. R.; Stehling, E. G. Multiple Sequence Types, Virulence Determinants and Antimicrobial Resistance Genes in Multidrug- and Colistin-Resistant *Escherichia Coli* from Agricultural and Non-Agricultural Soils. *Environmental Pollution* 2021, 288, 117804.

Gauthier-Clerc, M.; Lebarbenchon, C.; Thomas, F. Recent Expansion of Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1: A Critical Review: Recent Expansion of Avian Influenza H5N1. *Ibis* 2007, 149 (2), 202–214.

Gilchrist, C. L. M.; Chooi, Y.-H. Clinker & Clustermap.js: Automatic Generation of Gene Cluster Comparison Figures. *Bioinformatics* 2021, 37 (16), 2473–2475.

Giske, C. G.; Fröding, I.; Hasan, C. M.; Turlej-Rogacka, A.; Toleman, M.; Livermore, D.; Woodford, N.; Walsh, T. R. Diverse Sequence Types of *Klebsiella Pneumoniae* Contribute to the Dissemination of *Bla*<sub>NDM-1</sub> in India, Sweden, and the United Kingdom. *Antimicrob Agents Chemother* 2012, 56 (5), 2735–2738.

Graham, D. W.; Collignon, P.; Davies, J.; Larsson, D. G. J.; Snape, J. Underappreciated Role of Regionally Poor Water Quality on Globally Increasing Antibiotic Resistance. *Environ. Sci. Technol.* 2014, 48 (20), 11746–11747.

Graham, D. W.; Bergeron, G.; Bourassa, M. W.; Dickson, J.; Gomes, F.; Howe, A.; Kahn, L. H.; Morley, P. S.; Scott, H. M.; Simjee, S.; Singer, R. S.; Smith, T. C.; Storrs, C.; Wittum, T. E. Complexities in Understanding Antimicrobial Resistance across Domesticated Animal, Human, and Environmental Systems. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2019, 1441 (1), 17–30.

Grönthal, T.; Österblad, M.; Eklund, M.; Jalava, J.; Nykäsenoja, S.; Pekkanen, K.; Rantala, M. Sharing More than Friendship – Transmission of NDM-5 ST167 and CTX-M-9 ST69 *Escherichia Coli* between Dogs and Humans in a Family, Finland, 2015. *Eurosurveillance* 2018, 23 (27).

Grundmann, H.; Glasner, C.; Albiger, B.; Aanensen, D. M.; Tomlinson, C. T.; Andrasević, A. T.; Cantón, R.; Carmeli, Y.; Friedrich, A. W.; Giske, C. G.; Glupczynski, Y.; Gniadkowski, M.; Livermore, D. M.; Nordmann, P.; Poirel, L.; Rossolini, G. M.; Seifert, H.; Vatopoulos, A.; Walsh, T.; Woodford, N.; Monnet, D. L.; Koraqi, A.; Lacey, D.; Apfalter, P.; Hartl, R.; Glupczynski, Y.; Huang, T.-D.; Strateva, T.; Marteva-Proevska, Y.; Andrasevic, A. T.; 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, S. G.; Vatopoulos, A.; Tryfinopoulou, K.; Tóth, Á.

Jánvári, L.; Boo, T. W.; 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.; Debattista, S.; Mijovic, G.; Lopicic, M.; Samuelsen, Ø.; Haldorsen, B.; Zabicka, D.; Literacka, E.; Caniça, M.; Manageiro, V.; Kaftandzиеva, 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, D. J. 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* 2017, 17 (2), 153–163.

Guenther, S.; Aschenbrenner, K.; Stamm, I.; Bethe, A.; Semmler, T.; Stubbe, A.; Stubbe, M.; Batsajkhan, N.; Glupczynski, Y.; Wieler, L. H.; Ewers, C. Comparable High Rates of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-Producing *Escherichia Coli* in Birds of Prey from Germany and Mongolia. *PLoS ONE* 2012, 7 (12), e53039.

Halat, HD.; Moubareck, AC. The Current Burden of Carbapenemases: Review of Significant Properties and Dissemination among Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics* 2020, 9 (4), 186.

Hasman, H.; Hammerum, A. M.; Hansen, F.; Hendriksen, R. S.; Olesen, B.; Agersø, Y.; Zankari, E.; Leekitcharoenphon, P.; Stegger, M.; Kaas, R. S.; Cavaco, L. M.; Hansen, D. S.; Aarestrup, F. M.; Skov, R. L. Detection of Mcr-1 Encoding Plasmid-Mediated Colistin-Resistant *Escherichia Coli* Isolates from Human Bloodstream Infection and Imported Chicken Meat, Denmark 2015. *Eurosurveillance* 2015, 20 (49).

Hayer, S. S.; Lim, S.; Hong, S.; Elnekave, E.; Johnson, T.; Rovira, A.; Vannucci, F.; Clayton, J. B.; Perez, A.; Alvarez, J. Genetic Determinants of Resistance to Extended-Spectrum Cephalosporin and Fluoroquinolone in *Escherichia Coli* Isolated from Diseased Pigs in the United States. *mSphere* 2020, 5 (5), e00990-20.

Ho, P. L.; Chan, J.; Lo, W. U.; Law, P. Y.; Li, Z.; Lai, E. L.; Chow, K. H. Dissemination of Plasmid-Mediated Fosfomycin Resistance *FosA3* among Multidrug-Resistant *Escherichia Coli* from Livestock and Other Animals. *J Appl Microbiol* 2013, 114 (3), 695–702.

Hu, Y.; Gao, G. F.; Zhu, B. The Antibiotic Resistome: Gene Flow in Environments, Animals and Human Beings. *Front. Med.* 2017, 11 (2), 161–168.

Jamborova, I.; Dolejska, M.; Vojtech, J.; Guenther, S.; Uricariu, R.; Drozdowska, J.; Papousek, I.; Pasekova, K.; Meissner, W.; Hordowski, J.; Cizek, A.; Literak, I. Plasmid-Mediated Resistance to Cephalosporins and Fluoroquinolones in Various *Escherichia Coli* Sequence Types Isolated from Rooks Wintering in Europe. *Appl Environ Microbiol* 2015, *81* (2), 648–657.

Jamborova, I.; Dolejska, M.; Zurek, L.; Townsend, A. K.; Clark, A. B.; Ellis, J. C.; Papousek, I.; Cizek, A.; Literak, I. Plasmid-Mediated Resistance to Cephalosporins and Quinolones in *Escherichia Coli* from American Crows in the USA: ESBL, AmpC and PMQR *E. Coli* from American Crows. *Environ Microbiol* 2017, *19* (5), 2025–2036.

Jamborova, I.; Johnston, B. D.; Papousek, I.; Kachlikova, K.; Micenkova, L.; Clabots, C.; Skalova, A.; Chudejova, K.; Dolejska, M.; Literak, I.; Johnson, J. R. Extensive Genetic Commonality among Wildlife, Wastewater, Community, and Nosocomial Isolates of *Escherichia Coli* Sequence Type 131 (*H* 30R1 and *H* 30Rx Subclones) That Carry *Bla*<sub>CTX-M-27</sub> or *Bla*<sub>CTX-M-15</sub>. *Antimicrob Agents Chemother* 2018, *62* (10), e00519-18.

Johnson, T. J.; Wannemuehler, Y.; Johnson, S. J.; Stell, A. L.; Doetkott, C.; Johnson, J. R.; Kim, K. S.; Spanjaard, L.; Nolan, L. K. Comparison of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia Coli* Strains from Human and Avian Sources Reveals a Mixed Subset Representing Potential Zoonotic Pathogens. *Appl Environ Microbiol* 2008, *74* (22), 7043–7050.

Johnson, T. J.; Nolan, L. K. Pathogenomics of the Virulence Plasmids of *Escherichia Coli*. *Microbiol Mol Biol Rev* 2009, *73* (4), 750–774.

Kittinger, C.; Lipp, M.; Folli, B.; Kirschner, A.; Baumert, R.; Galler, H.; Grisold, A. J.; Luxner, J.; Weissenbacher, M.; Farnleitner, A. H.; Zarfel, G. Enterobacteriaceae Isolated from the River Danube: Antibiotic Resistances, with a Focus on the Presence of ESBL and Carbapenemases. *PLoS ONE* 2016, *11* (11), e0165820.

Kong, L.-H.; Lei, C.-W.; Ma, S.-Z.; Jiang, W.; Liu, B.-H.; Wang, Y.-X.; Guan, R.; Men, S.; Yuan, Q.-W.; Cheng, G.-Y.; Zhou, W.-C.; Wang, H.-N. Various Sequence Types of *Escherichia Coli* Isolates Coharboring *Bla*<sub>NDM-5</sub> and *Mcr-1* Genes from a Commercial Swine Farm in China. *Antimicrob Agents Chemother* 2017, *61* (3), e02167-16.

Köck, R.; Daniels-Haardt, I.; Becker, K.; Mellmann, A.; Friedrich, A. W.; Mevius, D.; Schwarz, S.; Jurke, A. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in Wildlife, Food-

Producing, and Companion Animals: A Systematic Review. *Clinical Microbiology and Infection* 2018, 24 (12), 1241–1250.

Kövé, L., Tóth, N., Lengyel, S., & Juhász, L. (2018). Corvid control in urban environments: a comparison of trap types. *North-Western Journal of Zoology*, 14(1), 85-90.

Lepuschitz, S.; Schill, S.; Stoeger, A.; Pekard-Amenitsch, S.; Huhulescu, S.; Inreiter, N.; Hartl, R.; Kerschner, H.; Sorschag, S.; Springer, B.; Brisse, S.; Allerberger, F.; Mach, R. L.; Ruppitsch, W. Whole Genome Sequencing Reveals Resemblance between ESBL-Producing and Carbapenem Resistant *Klebsiella Pneumoniae* Isolates from Austrian Rivers and Clinical Isolates from Hospitals. *Science of The Total Environment* 2019, 662, 227–235.

Literák, I.; Vanko, R.; Dolejská, M.; Čížek, A.; Karpíšková, R. Antibiotic Resistant *Escherichia Coli* and *Salmonella* in Russian Rooks (*Corvus Frugilegus*) Wintering in the Czech Republic. *Lett Appl Microbiol* 2007, 45 (6), 616–621.

Liu, Y.-Y.; Wang, Y.; Walsh, T. R.; Yi, L.-X.; Zhang, R.; Spencer, J.; Doi, Y.; Tian, G.; Dong, B.; Huang, X.; Yu, L.-F.; Gu, D.; Ren, H.; Chen, X.; Lv, L.; He, D.; Zhou, H.; Liang, Z.; Liu, J.-H.; Shen, J. Emergence of Plasmid-Mediated Colistin Resistance Mechanism MCR-1 in Animals and Human Beings in China: A Microbiological and Molecular Biological Study. *The Lancet Infectious Diseases* 2016, 16 (2), 161–168.

Livermore, D. M.; Canton, R.; Gniadkowski, M.; Nordmann, P.; Rossolini, G. M.; Arlet, G.; Ayala, J.; Coque, T. M.; Kern-Zdanowicz, I.; Luzzaro, F.; Poirel, L.; Woodford, N. CTX-M: Changing the Face of ESBLs in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2006, 59 (2), 165–174.

Ljungquist, O.; Ljungquist, D.; Myrenås, M.; Rydén, C.; Finn, M.; Bengtsson, B. Evidence of Household Transfer of ESBL-/PampC-Producing Enterobacteriaceae between Humans and Dogs – a Pilot Study. *Infection Ecology & Epidemiology* 2016, 6 (1), 31514.

Loncaric, I.; Stalder, G. L.; Mehinagic, K.; Rosengarten, R.; Hoelzl, F.; Knauer, F.; Walzer, C. Comparison of ESBL – And AmpC Producing Enterobacteriaceae and Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) Isolated from Migratory and Resident Population of Rooks (*Corvus Frugilegus*) in Austria. *PLoS ONE* 2013, 8 (12), e84048.

Lupo, A.; Saras, E.; Madec, J.-Y.; Haenni, M. Emergence of BlaCTX-M-55 Associated with FosA, RmtB and Mcr Gene Variants in *Escherichia Coli* from Various Animal Species in France. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2018, 73 (4), 867–872.

Madge, S. Rook (*Corvus Frugilegus*). In *Birds of the World*; Billerman, S. M., Keeney, B. K., Rodewald, P. G., Schulenberg, T. S., Eds.; Cornell Lab of Ornithology, 2020.

Magiorakos, A.-P.; Srinivasan, A.; Carey, R. B.; Carmeli, Y.; Falagas, M. E.; Giske, C. G.; Harbarth, S.; Hindler, J. F.; Kahlmeter, G.; Olsson-Liljequist, B.; Paterson, D. L.; Rice, L. B.; Stelling, J.; Struelens, M. J.; Vatopoulos, A.; Weber, J. T.; Monnet, D. L. Multidrug-Resistant, Extensively Drug-Resistant and Pandrug-Resistant Bacteria: An International Expert Proposal for Interim Standard Definitions for Acquired Resistance. *Clinical Microbiology and Infection* 2012, 18 (3), 268–281.

Mammaia, C.; Bonura, C.; Di Bernardo, F.; Aleo, A.; Fasciana, T.; Sodano, C.; Saporito, M. A.; Verde, M. S.; Tetamo, R.; Palma, D. M. Ongoing Spread of Colistin-Resistant *Klebsiella Pneumoniae* in Different Wards of an Acute General Hospital, Italy, June to December 2011. *Eurosurveillance* 2012, 17 (33).

Manges, A. R.; Geum, H. M.; Guo, A.; Edens, T. J.; Fibke, C. D.; Pitout, J. D. D. Global Extraintestinal Pathogenic *Escherichia Coli* (ExPEC) Lineages. *Clin Microbiol Rev* 2019, 32 (3), e00135-18.

Matsumura, Y.; Pitout, J. D. D.; Gomi, R.; Matsuda, T.; Noguchi, T.; Yamamoto, M.; Peirano, G.; DeVinney, R.; Bradford, P. A.; Motyl, M. R.; Tanaka, M.; Nagao, M.; Takakura, S.; Ichiyama, S. Global *Escherichia Coli* Sequence Type 131 Clade with *Bla*<sub>CTX-M-27</sub> Gene. *Emerg. Infect. Dis.* 2016, 22 (11), 1900–1907.

Matsumura, Y.; Pitout, J. D. D.; Peirano, G.; DeVinney, R.; Noguchi, T.; Yamamoto, M.; Gomi, R.; Matsuda, T.; Nakano, S.; Nagao, M.; Tanaka, M.; Ichiyama, S. Rapid Identification of Different *Escherichia Coli* Sequence Type 131 Clades. *Antimicrob Agents Chemother* 2017, 61 (8), e00179-17.

Melo, L. C.; Boisson, M. N. G.; Saras, E.; Médaille, C.; Boulouis, H.-J.; Madec, J.-Y.; Haenni, M. OXA-48-Producing ST372 *Escherichia Coli* in a French Dog. *J. Antimicrob. Chemother.* 2016, dkw531.

Merino, I.; Hernández-García, M.; Turrientes, M.-C.; Pérez-Viso, B.; López-Fresneña, N.; Diaz-Agero, C.; Maechler, F.; Fankhauser-Rodriguez, C.; Kola, A.; Schrenzel, J.; Harbarth, S.; Bonten, M.; Gastmeier, P.; Canton, R.; Ruiz-Garbajosa, P.; R-GNOSIS Study Group; Desilets, M.; Dul, S.; Scherrer-Muller, F.; Huttner, B.; Uçkay, I.; Prendki, V.; Renzi, G.

Emergence of ESBL-Producing *Escherichia Coli* ST131-C1-M27 Clade Colonizing Patients in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2018, 73 (11), 2973–2980.

Mills, M. C.; Lee, J. The Threat of Carbapenem-Resistant Bacteria in the Environment: Evidence of Widespread Contamination of Reservoirs at a Global Scale. *Environmental Pollution* 2019, 255, 113143.

Moura, R. A.; Sircili, M. P.; Leomil, L.; Matté, M. H.; Trabulsi, L. R.; Elias, W. P.; Irino, K.; Pestana de Castro, A. F. Clonal Relationship among Atypical Enteropathogenic *Escherichia Coli* Strains Isolated from Different Animal Species and Humans. *Appl Environ Microbiol* 2009, 75 (23), 7399–7408.

Mutuku, C.; Melegh, S.; Kovacs, K.; Urban, P.; Virág, E.; Heninger, R.; Herczeg, R.; Sonnevend, Á.; Gyenesei, A.; Fekete, C.; Gazdag, Z. Characterization of  $\beta$ -Lactamases and Multidrug Resistance Mechanisms in Enterobacterales from Hospital Effluents and Wastewater Treatment Plant. *Antibiotics* 2022, 11 (6), 776.

Nordmann, P.; Naas, T.; Poirel, L. Global Spread of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg. Infect. Dis.* 2011, 17 (10), 1791–1798.

Nordmann, P. Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*: Overview of a Major Public Health Challenge. *Médecine et Maladies Infectieuses* 2014, 44 (2), 51–56.

Persson, S.; Olsen, K. E. P.; Scheutz, F.; Krogfelt, K. A.; Gerner-Smidt, P. A Method for Fast and Simple Detection of Major Diarrhoeagenic *Escherichia Coli* in the Routine Diagnostic Laboratory. *Clinical Microbiology and Infection* 2007, 13 (5), 516–524.

Piedra-Carrasco, N.; Fàbrega, A.; Calero-Cáceres, W.; Cornejo-Sánchez, T.; Brown-Jaque, M.; Mir-Cros, A.; Muniesa, M.; González-López, J. J. Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* Recovered from a Spanish River Ecosystem. *PLoS ONE* 2017, 12 (4), e0175246.

Pierce, V. M.; Simner, P. J.; Lonsway, D. R.; Roe-Carpenter, D. E.; Johnson, J. K.; Brasso, W. B.; Bobenchik, A. M.; Lockett, Z. C.; Charnot-Katsikas, A.; Ferraro, M. J.; Thomson, R. B.; Jenkins, S. G.; Limbago, B. M.; Das, S. Modified Carbapenem Inactivation Method for Phenotypic Detection of Carbapenemase Production among *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* 2017, 55 (8), 2321–2333.

Pitout, J. D. D.; Hossain, A.; Hanson, N. D. Phenotypic and Molecular Detection of CTX-M- $\beta$ -Lactamases Produced by *Escherichia Coli* and *Klebsiella* Spp. *J Clin Microbiol* 2004, 42 (12), 5715–5721.

Poirel, L.; Walsh, T. R.; Cuvillier, V.; Nordmann, P. Multiplex PCR for Detection of Acquired Carbapenemase Genes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2011, 70 (1), 119–123.

Poirel, L.; Potron, A.; Nordmann, P. OXA-48-like Carbapenemases: The Phantom Menace. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2012, 67 (7), 1597–1606.

Rebelo, A. R.; Bortolaia, V.; Kjeldgaard, J. S.; Pedersen, S. K.; Leekitcharoenphon, P.; Hansen, I. M.; Guerra, B.; Malorny, B.; Borowiak, M.; Hammerl, J. A.; Battisti, A.; Franco, A.; Alba, P.; Perrin-Guyomard, A.; Granier, S. A.; De Frutos Escobar, C.; Malhotra-Kumar, S.; Villa, L.; Carattoli, A.; Hendriksen, R. S. Multiplex PCR for Detection of Plasmid-Mediated Colistin Resistance Determinants, Mcr-1, Mcr-2, Mcr-3, Mcr-4 and Mcr-5 for Surveillance Purposes. *Eurosurveillance* 2018, 23 (6).

Reid, C. J.; Wyrsh, E. R.; Roy Chowdhury, P.; Zingali, T.; Liu, M.; Darling, A. E.; Chapman, T. A.; Djordjevic, S. P. Porcine Commensal *Escherichia Coli*: A Reservoir for Class 1 Integrons Associated with IS26. *Microbial Genomics* 2017, 3 (12).

Roer, L.; Overballe-Petersen, S.; Hansen, F.; Schønning, K.; Wang, M.; Røder, B. L.; Hansen, D. S.; Justesen, U. S.; Andersen, L. P.; Fulgsang-Damgaard, D.; Hopkins, K. L.; Woodford, N.; Falgenhauer, L.; Chakraborty, T.; Samuelsen, Ø.; Sjöström, K.; Johannesen, T. B.; Ng, K.; Nielsen, J.; Ethelberg, S.; Stegger, M.; Hammerum, A. M.; Hasman, H. *Escherichia Coli* Sequence Type 410 Is Causing New International High-Risk Clones. *mSphere* 2018, 3 (4), e00337-18.

Rozwandowicz, M.; Brouwer, M. S. M.; Fischer, J.; Wagenaar, J. A.; Gonzalez-Zorn, B.; Guerra, B.; Mevius, D. J.; Hordijk, J. Plasmids Carrying Antimicrobial Resistance Genes in Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2018, 73 (5), 1121–1137.

Saliu, E.-M.; Vahjen, W.; Zentek, J. Types and Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing *Enterobacteriaceae* in Poultry. *Anim. Health. Res. Rev.* 2017, 18 (1), 46–57.

Schaufler, K.; Semmler, T.; Wieler, L. H.; Wöhrmann, M.; Baddam, R.; Ahmed, N.; Müller, K.; Kola, A.; Fruth, A.; Ewers, C.; Guenther, S. Clonal Spread and Interspecies Transmission

of Clinically Relevant ESBL-Producing *Escherichia Coli* of ST410—Another Successful Pandemic Clone? *FEMS Microbiology Ecology* 2016, 92 (1), fiv155.

Seemann, T. Prokka: Rapid Prokaryotic Genome Annotation. *Bioinformatics* 2014, 30 (14), 2068–2069.

Shaikh, S.; Fatima, J.; Shakil, S.; Rizvi, S. Mohd. D.; Kamal, M. A. Antibiotic Resistance and Extended Spectrum Beta-Lactamases: Types, Epidemiology and Treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences* 2015, 22 (1), 90–101.

Söderlund, R.; Skarin, H.; Börjesson, S.; Sannö, A.; Jernberg, T.; Aspán, A.; Ågren, E. O.; Hansson, I. Prevalence and Genomic Characteristics of Zoonotic Gastro-Intestinal Pathogens and ESBL/PAmpC Producing *Enterobacteriaceae* among Swedish Corvid Birds. *Infection Ecology & Epidemiology* 2019, 9 (1), 1701399.

Spina F, Baillie SR, Bairlein F, Fiedler W. and Thorup, K. (Eds) 2022. The Eurasian African Bird Migration Atlas. <https://migrationatlas.org>. EURING/CMS. 1 Joint lead editors.

Szekeres, E.; Baricz, A.; Chiriac, C. M.; Farkas, A.; Opris, O.; Soran, M.-L.; Andrei, A.-S.; Rudi, K.; Balcázar, J. L.; Dragos, N.; Coman, C. Abundance of Antibiotics, Antibiotic Resistance Genes and Bacterial Community Composition in Wastewater Effluents from Different Romanian Hospitals. *Environmental Pollution* 2017, 225, 304–315.

Tacão, M.; Tavares, R. dos S.; Teixeira, P.; Roxo, I.; Ramalheira, E.; Ferreira, S.; Henriques, I. *Mcr-1* and *Bla<sub>KPC-3</sub>* in *Escherichia Coli* Sequence Type 744 after Meropenem and Colistin Therapy, Portugal. *Emerg. Infect. Dis.* 2017, 23 (8), 1419–1421.

Tahar, S.; Nabil, M. M.; Safia, T.; Ngaiganam, E. P.; Omar, A.; Hafidha, C.; Hanane, Z.; Rolain, J.-M.; Diene, S. M. Molecular Characterization of Multidrug-Resistant *Escherichia Coli* Isolated from Milk of Dairy Cows with Clinical Mastitis in Algeria. *Journal of Food Protection* 2020, 83 (12), 2173–2178.

Tausova, D.; Dolejska, M.; Cizek, A.; Hanusova, L.; Hrusakova, J.; Svoboda, O.; Camlik, G.; Literak, I. *Escherichia Coli* with Extended-Spectrum -Lactamase and Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in Great Cormorants and Mallards in Central Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2012, 67 (5), 1103–1107.

Tóth, H.; Fésűs, A.; Kungler-Gorács, O.; Balázs, B.; Majoros, L.; Szarka, K.; Kardos, G. Utilization of Vector Autoregressive and Linear Transfer Models to Follow Up the Antibiotic

- Resistance Spiral in Gram-Negative Bacteria From Cephalosporin Consumption to Colistin Resistance. *Clinical Infectious Diseases* 2019, 69 (8), 1410–1421.
- Valat, C.; Drapeau, A.; Beurlet, S.; Bachy, V.; Boulouis, H.-J.; Pin, R.; Cazeau, G.; Madec, J.-Y.; Haenni, M. Pathogenic *Escherichia Coli* in Dogs Reveals the Predominance of ST372 and the Human-Associated ST73 Extra-Intestinal Lineages. *Front. Microbiol.* 2020, 11, 580.
- Van Damme, I.; Garcia-Graells, C.; Biasino, W.; Gowda, T.; Botteldoorn, N.; De Zutter, L. High Abundance and Diversity of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-Producing *Escherichia Coli* in Faeces and Tonsils of Pigs at Slaughter. *Veterinary Microbiology* 2017, 208, 190–194.
- Varela, A. R.; Manageiro, V.; Ferreira, E.; Guimarães, M. A.; da Costa, P. M.; Caniça, M.; Manaia, C. M. Molecular Evidence of the Close Relatedness of Clinical, Gull and Wastewater Isolates of Quinolone-Resistant *Escherichia Coli*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2015, 3 (4), 286–289.
- Vergara, A.; Pitart, C.; Montalvo, T.; Roca, I.; Sabaté, S.; Hurtado, J. C.; Planell, R.; Marco, F.; Ramírez, B.; Peracho, V.; de Simón, M.; Vila, J. Prevalence of Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase- and/or Carbapenemase-Producing *Escherichia Coli* Isolated from Yellow-Legged Gulls from Barcelona, Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2017, 61 (2), e02071-16.
- Vittecoq, M.; Laurens, C.; Brazier, L.; Durand, P.; Elguero, E.; Arnal, A.; Thomas, F.; Aberkane, S.; Renaud, N.; Prugnotte, F.; Solassol, J.; Jean-Pierre, H.; Godreuil, S.; Renaud, F. VIM-1 Carbapenemase-Producing *Escherichia Coli* in Gulls from Southern France. *Ecol Evol* 2017, 7 (4), 1224–1232.
- Wang, Y.; Tang, W.; Qiao, J.; Song, L. Occurrence and Prevalence of Antibiotic Resistance in Landfill Leachate. *Environ Sci Pollut Res* 2015, 22 (16), 12525–12533.
- Wang, J.; Ma, Z. B.; Zeng, Z. L.; Yang, X. W.; Huang, Y.; & Liu, J. H. The role of wildlife (wild birds) in the global transmission of antimicrobial resistance genes. *Zool Res* 2017a, 38(2), 55.
- Wang, Y.; Zhang, R.; Li, J.; Wu, Z.; Yin, W.; Schwarz, S.; Tyrrell, J. M.; Zheng, Y.; Wang, S.; Shen, Z.; Liu, Z.; Liu, J.; Lei, L.; Li, M.; Zhang, Q.; Wu, C.; Zhang, Q.; Wu, Y.; Walsh, T. R.; Shen, J. Comprehensive Resistome Analysis Reveals the Prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese Poultry Production. *Nat Microbiol* 2017b, 2 (4), 16260.

Wang, X.-M.; Dong, Z.; Schwarz, S.; Zhu, Y.; Hua, X.; Zhang, Y.; Liu, S.; Zhang, W.-J. Plasmids of Diverse Inc Groups Disseminate the Fosfomycin Resistance Gene *FosA3* among *Escherichia Coli* Isolates from Pigs, Chickens, and Dairy Cows in Northeast China. *Antimicrob Agents Chemother* 2017c, 61 (9), e00859-17.

Xiong, Y.; Wang, P.; Lan, R.; Ye, C.; Wang, H.; Ren, J.; Jing, H.; Wang, Y.; Zhou, Z.; Bai, X.; Cui, Z.; Luo, X.; Zhao, A.; Wang, Y.; Zhang, S.; Sun, H.; Wang, L.; Xu, J. A Novel *Escherichia Coli* O157:H7 Clone Causing a Major Hemolytic Uremic Syndrome Outbreak in China. *PLoS ONE* 2012, 7 (4), e36144.

Yoon, E.-J.; Kang, D. Y.; Yang, J. W.; Kim, D.; Lee, H.; Lee, K. J.; Jeong, S. H. New Delhi Metallo-Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in South Korea Between 2010 and 2015. *Front. Microbiol.* 2018, 9, 571.

Zeballos-Gross, D.; Rojas-Sereno, Z.; Salgado-Caxito, M.; Poeta, P.; Torres, C.; Benavides, J. A. The Role of Gulls as Reservoirs of Antibiotic Resistance in Aquatic Environments: A Scoping Review. *Front. Microbiol.* 2021, 12, 703886.

Zendri, F.; Maciucă, I. E.; Moon, S.; Jones, P. H.; Wattret, A.; Jenkins, R.; Baxter, A.; Timofte, D. Occurrence of ESBL-Producing *Escherichia Coli* ST131, Including the H30 -Rx and C1-M27 Subclones, Among Urban Seagulls from the United Kingdom. *Microbial Drug Resistance* 2020, 26 (6), 697–708.

Zhang, R.; Yang, S.; An, Y.; Wang, Y.; Lei, Y.; Song, L. Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Landfills: A Review. *Science of The Total Environment* 2022, 806, 150647.

Zhong, L.-L.; Zhang, Y.-F.; Doi, Y.; Huang, X.; Zhang, X.-F.; Zeng, K.-J.; Shen, C.; Patil, S.; Xing, Y.; Zou, Y.; Tian, G.-B. Coproduction of MCR-1 and NDM-1 by Colistin-Resistant *Escherichia Coli* Isolated from a Healthy Individual. *Antimicrob Agents Chemother* 2017, 61 (1), e01962-16.

Zhuge, X.; Jiang, M.; Tang, F.; Sun, Y.; Ji, Y.; Xue, F.; Ren, J.; Zhu, W.; Dai, J. Avian-Source Mcr-1-Positive *Escherichia Coli* Is Phylogenetically Diverse and Shares Virulence Characteristics with *E. Coli* Causing Human Extra-Intestinal Infections. *Veterinary Microbiology* 2019, 239, 108483.

Zurfluh, K.; Hächler, H.; Nüesch-Inderbinen, M.; Stephan, R. Characteristics of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase- and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Isolates from Rivers and Lakes in Switzerland. *Appl Environ Microbiol* 2013, 79 (9), 3021–3026.



Nyilvántartási szám: DEENK/530/2023.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Nagy József Bálint  
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola  
MTMT azonosító: 10077875

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Nagy, J. B.**, Koleszár, B., Khayer, B., Róka, E., Laczkó, L., Ungvári, E., Kaszab, E., Bali, K., Bányai, K., Vargha, M., Lovas-Kiss, Á., Tóth, Á., Kardos, G.: Carbapenem-resistant *Escherichia coli* in Black-headed gulls, the Danube, and human clinical samples: a Health comparison of contemporary isolates.  
*Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 35, 257-261, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2023.10.002>  
IF: 4.6 (2022)
2. **Nagy, J. B.**, Balázs, B., Benmazouz, I., Gyüre, P., Kövér, L., Kaszab, E., Bali, K., Lovas-Kiss, Á., Damjanova, I., Majoros, L., Tóth, Á., Bányai, K., Kardos, G.: Comparison of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates From Rooks (*Corvus frugilegus*) and Contemporary Human-Derived Strains: A One Health Perspective.  
*Front. Microbiol.* 12, 1-9, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2021.785411>  
IF: 5.2

### További közlemények

3. Balázs, B., Tóth, Z., **Nagy, J. B.**, Majoros, L., Tóth, Á., Kardos, G.: Faecal Carriage of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*: comparison to Clinical Isolates from the Same Period (2017-2019).  
*Pathogens*. 11 (9), 1-9, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens11091003>  
IF: 3.7





4. Tóth, H., Buchholcz, G., Fésüs, A., Balázs, B., **Nagy, J. B.**, Majoros, L., Szarka, K., Kardos, G.:  
Evolution of the Gram-Negative Antibiotic Resistance Spiral over Time: a Time-Series  
Analysis.  
*Antibiotics-Basel*. 10 (6), 1-10, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics10060734>  
IF: 5.222
5. Balázs, B., **Nagy, J. B.**, Tóth, Z., Nagy, F., Károlyi, S., Turcsányi, I., Bistyák, A., Kálmán, A.,  
Sárközi, R., Kardos, G.: Occurrence of *Escherichia coli* producing extended spectrum [béta]-  
lactamases in food-producing animals.  
*Acta Vet. Hung.* 69 (3), 1-5, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/004.2021.00036>  
IF: 0.959
6. Balázs, B., Tóth, Z., Nagy, F., Kovács, R. L., Tóth, H., **Nagy, J. B.**, Tóth, Á., Szarka, K., Majoros,  
L., Kardos, G.: The Role of Uniform Meropenem Usage in *Acinetobacter baumannii* Clone  
Replacement.  
*Antibiotics*. 10 (2), 1-12, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics10020127>  
IF: 5.222

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 24,903**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):  
9,8**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai  
ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján  
elvégezte.

Debrecen, 2023.12.05.



## **12. Tárgyszavak-keywords**

ESBL, CRE, városi madarak, ST131 C1-M27, Egy egészség elv, blaCTX-M-15, blaNDM-1, ST410, ST1437, Duna, sirály, varjú

ESBL, CRE, urbanised birds, ST131 C1-M27, One Health, blaCTX-M-15, blaNDM-1, ST410, ST1437, Danube, gull, rook

### **13. Köszönetnyilvánítás**

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Kardos Gábor egyetemi docensnek a szakmai segítségért és támogatásért, melyet a kísérletek és az értekezésem megírása során nyújtott.

Külön köszönettel tartozok Prof. Dr. Kónya József intézetigazgatónak, hogy PhD tanulmányaimat az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben végezhettem el.

Köszönettel tartozok Dr. Tóth Ákosnak, Dr. Szarka Krisztinának és Dr. Laczkó Leventének szakmai segítségükért és hasznos tanácsaikért, amikkel támogatták szakmai fejlődésemet.

Köszönettel tartozok Dr. Balázs Bencének, aki TDK hallgatói koromban segített a gyakorlati munkavégzés elsajátításában, segítette pályám kezdetét, illetve akihez a további kísérleteim során is bármikor fordulhattam segítségért.

Köszönök Katona Melinda, Jeles Krisztina, Rahmani Leila és Éles Zsolt Barnabás PhD hallgató társaimnak segítségükért és az állandó jó társaságért, amit az intézetben töltöttem éveim során biztosítottak.

Továbbá szeretném megköszönni a segítséget az Orvosi Mikrobiológia Intézet valamennyi korábbi és jelenlegi dolgozójának, akik hozzájárultak a kutatómunkám elvégzéséhez az elmúlt években.

Végül, de nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani szüleimnek és feleségemnek, akik biztatása, támogatása és türelme nélkül nem tartanék ott, ahol. Hálás vagyok nekik, hogy ily módon nagyban hozzájárultak PhD tanulmányaim sikeres elvégzéséhez.

## 14. Fűggelék