

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**AZ ANTIBIOTIKUM FOGYASZTÁS ÉS A REZISZTENCIAMECHANIZMUSOK
EPIDEMIOLOGIÁJÁNAK KAPCSOLATA NEM FERMENTÁLÓ NOZOKOMIÁLIS
KÓROKOZÓK ESETÉBEN**

Mózes Julianna

Témavezető: Dr. Kardos Gábor



**DEBRECENI EGYETEM
GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA
Debrecen, 2015**

AZ ANTIBIOTIKUM FOGYASZTÁS ÉS A REZISZTENCIAMECHANIZMUSOK
EPIDEMIOLOGIÁJÁNAK KAPCSOLATA NEM FERMENTÁLÓ NOZOKOMIÁLIS
KÓROKOZÓK ESETÉBEN

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a gyógyszerészeti tudományok tudományágában

Írta:

Mózes Julianna

orvosdiagnosztikai laboratóriumi analitikus
okleveles népegészségügyi szakember

Készült a Debreceni Egyetem Gyógyszerészeti Tudományok doktori iskolája
Mikrobiológia programja keretében
Témavezető: Dr. Kardos Gábor, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Tótsaki Árpád, az MTA doktora
tagok: Dr. Kristóf Katalin, PhD
Dr. Urbán Edit, PhD

A doktori szigorlat időpontja:

2015. május 21. 11 óra, Debreceni Egyetem ÁOK, Gyógyszerhatástani Tanszék könyvtára

Az értekezés bírálói:

Dr. Tóth Ákos, PhD
Dr. Tóth Beáta, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Tótsaki Árpád, az MTA doktora
tagok: Dr. Kristóf Katalin, PhD
Dr. Tóth Ákos, PhD
Dr. Tóth Beáta, PhD
Dr. Urbán Edit, PhD

Az értekezés védésének időpontja: 2015. május 21. 13:00 óra, Debreceni Egyetem ÁOK
Belgyógyászati Intézet „A” épületének tanterme

BEVEZETÉS

Korábban a multirezisztens Gram pozitív baktériumok (meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*, MRSA; vancomycin rezisztens *Enterococcus*, VRE, vancomycinnel szemben mérsékelten érzékeny *Staphylococcus aureus*, VISA, penicillin rezisztens *Streptococcus pneumoniae*) jelentették a legfontosabb és legnehezebben kezelhető problémát, ma már azonban a multirezisztens Gram negatív baktériumok, így a multirezisztens *Pseudomonas aeruginosa*, multirezisztens *Acinetobacter baumannii*, széles spektrumú β -laktamázt (ESBL-t) termelő bélbaktériumok váltak a legfontosabb kórházi patogénekké.

A *Pseudomonas aeruginosa* és az *Acinetobacter ssp.* opportunisták mikroorganizmusokként az immunrendszerben lévő lokális vagy szisztémás zavart kihasználva súlyos, gyakran életveszélyes fertőzések kialakításra képesek. Az összes nosokomiális fertőzés mintegy 14%-át a *P. aeruginosa*, és 2-10%-át az *A. baumannii* okozza. A gépi lélegeztetéssel összefüggő pneumonia (VAP: ventilator-associated pneumonia) általában 48-72 órán belül alakul ki az endotrachealis intubációt követően és letalitása akár a 70%-ot is elérheti. Jelentősek még az általuk okozott véráramfertőzések (34%), a katéter viselés következtében kialakult húgyúti infekciók (40%), az égési sérülések, valamint a sebészeti beavatkozások következtében létrejött sebfertőzések. Nem ritka az *A. baumannii* által okozott másodlagos meningitis sem, mely idegsebészeti műtétet követően alakul ki és hasonló letalitási (70%) aránnyal bír, mint a VAP.

A béta-laktámokkal szembeni multirezisztencia következtében a terápiában felhasznált más antibiotikumok alkalmazása felértékelődött, különösen a széles spektrumú, baktericid aminoglikozidok és fluorokinolonok használata, de más, egyes multirezisztens kórokozókkal szemben hatásosságukat megőrző szercsoportok, így a tigecyclin, polymyxin használata is. Ennek következtében ezen szerek felhasználása is növekszik, így a velük szembeni rezisztencia mértéke is nő. Az aminoglikozidokkal szembeni rezisztencia kialakulását többféle mechanizmus eredményezi: enzimatisz modifikáció, csökkent membrán permeabilitás, a 16S rRNS metilációja, a riboszomális proteinek, illetve a 16S rRNS mutációja, valamint az aktív efflux. A karbapenem rezisztencia esetében pedig jelentős a β -laktamáz termelés, a porinok vagy a PBP-k megváltozása, valamint az efflux pumpák működése. Ezek a mechanizmusok önmagukban vagy ezek kombinációi magas szintű rezisztenciát eredményeznek az aminoglikozidokkal és karbapenemekkel szemben.

Az antibiotikumokkal szembeni rezisztencia arány alakulását tekintve Magyarország a kritikus területek közzé tartozik Európában. Az aminoglikozid-rezisztens invazív *Klebsiella*

pneumoniae és *P. aeruginosa* izolátumok aránya 25-50% közé tehető, míg *A. baumannii* esetében ez az arány már az 50%-ot is meghaladja. Hasonló előfordulási arány tapasztalható a karbapenem-rezisztens *P. aeruginosa* és *A. baumannii*, valamint a fluorokinolon-rezisztens *P. aeruginosa* izolátumok esetében is. A 2013-as monitor rendszer adatai alapján az *A. baumannii*-*A. calcoaceticus* komplexbe tartozó izolátumoknak az 1,9%-a colistin esetében 4 feletti MIC értékkel rendelkezett.

Az antibiotikumokkal szembeni rezisztencia terjedésében fontos szerepe van a mobilis genetikai elemeknek (plazmidoknak, transzpozonoknak és integronoknak), melyek horizontális géntranszfer útján jelentősen felgyorsítják a szerzett rezisztencia terjedését a különböző baktérium fajok között. A multirezisztens, illetve a kiterjedten rezisztens törzsek kisselektálódása komoly problémákhoz vezetett az egészségügyben, mivel ezekkel szemben a terápiás lehetőségek beszűkültek, a tigecyclinen és a colistinen kívül más szer nem hatásos.

CÉLKITŰZÉS

A munkánk során célunk volt a karbapenemek és aminoglikozidok fogyása, a velük szembeni rezisztencia és a rezisztens törzsek előfordulása közötti összefüggéseknek a vizsgálata a Debreceni Egyetem, különböző intenzív osztályain *P. aeruginosa* és *A. baumannii* által okozott fertőzések esetében.

1. Az aminoglikozid rezisztenciamechanizmusok genetikai hátterének vizsgálata *P. aeruginosa* és *A. baumannii* izolátumok körében.
2. A karbapenem rezisztenciamechanizmusok genetikai hátterének vizsgálata *A. baumannii* izolátumok körében.
3. Az integronok hordozása és a rezisztencia közötti összefüggés vizsgálata.
4. Az izolátumok genetikai rokonságának analízise pulzáló mezejű gélelektroforézissel (PFGE).
5. A rezisztencia gének és a klonalitás közötti összefüggés vizsgálata.
6. A Tüdőklinikán felhasznált aminoglikozid antibiotikumok és *Pseudomonas aeruginosa* klónok aminoglikozid rezisztenciája közötti összefüggés vizsgálata.
7. Az Egyetem Klinikáin felhasznált karbapenem antibiotikumok és az *Acinetobacter baumannii* klónok karbapenem rezisztenciája közötti összefüggés vizsgálata.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Izolátumok

A DE-KK-ról összesen 95 *Pseudomonas aeruginosa* (2008. december és 2010. február között a Tüdőklinikáról), és 160 *A. baumannii* izolátumot (2010. november és 2011. május között különböző intenzív osztályokról, ami az *A. baumannii*-val fertőzött betegek 46,9% -át reprezentálja) gyűjtöttünk össze. A *P. aeruginosa* izolátumok többsége alsó légúti mintákból (bronchusmosó folyadék, trachealis aspirátum, köpet), az *A. baumannii* izolátumok pedig bronchusból, vérből, kanülből, sebváladékból és tubusváladékból tenyészttek ki. Az izolátumokat biokémiai tulajdonságaik alapján identifikáltuk, a fajazonosságot *P. aeruginosa* izolátumok esetében specifikus PCR-ral, *A. baumannii* esetében MALDI-TOF-fal igazoltuk.

A kórokozók antibiotikum rezisztenciáját a rutin diagnosztika adataiból (Kirby-Bauer-féle korongdiffúziós módszerrel, CLSI ajánlása alapján) nyertük. Az alábbi antibiotikumok vizsgálatára került sor: imipenem, meropenem, piperacillin+tazobactam, ceftazidim, cefepim, ciprofloxacin, amikacin, gentamicin és tobramycin (*P. aeruginosa*). Az *A. baumannii* esetében a fent említett antibiotikumok mellett a colistint, sulfamethoxazol+trimethoprim kombinációt, doxycyclint és a tigecyclint is vizsgálták.

A DNS izolálása 98°C-os 15 perces hőkezeléssel történt.

A vizsgált gének

A *P. aeruginosa* izolátumok körében három aminoglikozid modifikáló enzimet kódoló gént - *aac(6')-Ib*, *aac(3'')-Ia*, *ant(2')-IIa* - vizsgáltunk, míg az *A. baumannii* izolátumok esetében hatot: *aac(6')-Ib*, *aac(3'')-Ia*, *ant(2')-IIa*, *ant(3'')-Ia*, *aph(3')-Ia*, *aph(3')-VIa*. Emellett mindkét faj esetében három, 16S rRNS metiláz kódoló gén *ArmA*, *rmtA*, *rmtB* vizsgálatára is sor került.

A karbapenem-hidrolizáló oxacillinázokat (Ambler D csoport) kódoló gének közül öt, a *bla_{OXA-23-like}*, *bla_{OXA-24-like}*, *bla_{OXA-48-like}*, *bla_{OXA-51-like}*, *bla_{OXA-58-like}* kimutatását végeztük el *A. baumannii* izolátumok körében. Mindezek mellett vizsgáltuk még az *ISAbA-1* inszerciós szekvencia jelenlétét is.

Elvégeztük 18 olyan gén hodozásának vizsgálatát is, melyek fontos szerepet játszanak a *P. aeruginosa* által okozott fertőzések patogenezisében: a fehérje szintézist gátló exotoxin A génje (*toxA*) gén, az alginát szintézisében szerepet játszó *algD* gén, III. típusú szekréción

rendszer effektor proteinjeit kódoló *exoT*, *exoS*, *exoU*, *exoY* gének, a foszfolipázokat kódoló *plcH*, *plcN* gének, a proteázokat kódoló *apr*, *lasB* gének, a IV-típusú pilust kódoló *pilA* gén, a fenazin szintézisét katalizáló enzimeket kódoló *phzI*, *phzII*, *phzS*, *phzM* operonok, illetve gének és a sziderofór rendszer részeként működő pioverdin receptorokat kódoló *fpvA-I*, *fpvA-II*, *fpvA-III* gének.

Integronok vizsgálata

Az integronok előfordulását I-es, II-es és III-as típusú integrázra specifikus PCR segítségével vizsgáltuk meg, majd a hordozott integronok variábilis régiójára specifikus primerekkel amplifikáltuk a mintákat. A variábilis régiónak a teljes elemzése szekvencia analízis útján valósult meg a Sanger-féle láncterminációs módszer szerint.

A szekvenciákat a CLC DNA Gene Workbench szoftver segítségével elemeztük és ismert génbanki szekvenciákkal összehasonlítva (BLAST[®] www.ncbi.nih.gov/blast) azonosítottuk az integronon hordozott géneket. Az azonosított integronok restrikciós térképének elkészítése után az azonos méretű variábilis régiók azonosságát RFLP (restriction fragment length polymorphism) analízissel erősítettük meg. A *P. aeruginosa* esetében: XbaI és XhoI, míg az *A. baumannii* esetében XbaI, HindIII, DdeI enzimeket alkalmaztuk.

A klonalitás vizsgálata

Az izolátumok genetikai rokonságát pulzáló mezejű gélelektroforézissel (PFGE) vizsgáltuk. A restrikciós analízishez 10U restrikciós enzimet használtunk, ami *P. aeruginosa* esetében BcuI (SpeI), *A. baumannii* esetében ApaI volt.

A PFGE mintázatok elemzését a Fingerprinting II szoftverrel végeztük. A hasonlóság meghatározásához a Dice koefficiens, a csoportosításhoz az UPGMA (unweighted pair-group method with averages) módszert használtuk.

Az antibiotikum fogyás mérése

A nyers gyógyszer felhasználási adatokat a Debreceni Egyetem Központi Gyógyszertára szolgáltatta. A felhasznált antibiotikumok mennyiségét az Egészségügyi Világszervezet (WHO) által meghatározott napi terápiás dózisban (Defined Daily Dose, DDD) 100 ápolási napra vagy az adott betegre vonatkoztatva határoztuk meg (MS Excel ABC Calc 3.1. alkalmazás).

Statisztikai analízis

Pseudomonas aeruginosa

Az egyes betegek kezelésére alkalmazott aminoglikozidok, illetve összes antibiotikum mennyisége közötti különbségeket a Kruskal-Wallis teszttel, valamint post-hoc Mann-Whitney páronkénti összehasonlítással - Bonferrini korrekciót alkalmazva – elemeztük.

Acinetobacter baumannii

Az antibiotikum felhasználás és az *Acinetobacter baumannii* izolátumok előfordulásának gyakoriságában, valamint az antibiotikum rezisztenciájában bekövetkező változások közötti összefüggés lehetőségét lineáris regresszióval, mint szűrő módszerrel elemeztük. Azon antibiotikumok esetében, ahol a regresszió során a felhasználási adatok szignifikáns korrelációt mutattak a prevalencia vagy a rezisztencia adataival, a negyedéves periódusonként összegyűjtött antibiotikum felhasználási, prevalencia és a rezisztencia adatokból összeálló idősorokat trend eltávolítását követően keresztkorrelációs analízisnek vetettük alá. A különböző fekvőbeteg osztályon lévő karbapenem érzékeny és rezisztens *A. baumannii* prevalenciáját Chi-négyzet próbával, illetve Fisher-egzakt teszttel, a különböző fekvőbeteg osztályokon felhasznált antibiotikumok mennyiségét Kruskal-Wallis teszttel hasonlítottuk össze.

A statisztikai elemzéshez a PAST 3.0. szoftvert használtuk.

EREDMÉNYEK

Pseudomonas aeruginosa

Az aminoglikozid rezisztencia gének és az integronok előfordulása

A *P. aeruginosa* izolátumok körében a leggyakrabban az *aac(6')-Ib* gén fordult elő, ezt az amikacinnal és tobramycinnel szemben rezisztenciát biztosító gént az izolátumok 62,2%-ában (61/98) mutattuk ki. Az *aac(6')-Ib* génen kívül, 16 izolátum esetében (16,3%) megtalálható volt *ant(2'')-Ia* gén is, amely gentamicinnel és tobramycinnel szembeni rezisztenciáért felelős. Az általunk vizsgált többi gén (*aac(3')-IIa*, *armA*, *rmtA*, and *rmtB*) nem fordult elő. Az izolátumok döntő többsége (92,0%) I. típusú integront hordozott, II. és III. típusú integront egyik csoport esetében sem találtunk.

A klonalitás vizsgálata

A vizsgálatba bevont 95 *P. aeruginosa* izolátum esetében három fő rokonsági csoportot, valamint 22 egyedi mintázattal rendelkező izolátumot különítettünk el.

A legnagyobb rokonsági csoportot az „A” klaszter képviselte. Ebbe a klaszterbe összesen 49 izolátum tartozott, ami 12 betegről származott. A Tüdőklinika Intenzív Osztályáról egy kihurcolás is megfigyelhető volt a klinika Rehabilitációs Osztályára. A klaszteren belül a törzs rezisztencia fenotípusa nagyon változatos volt, míg minden izolátum rezisztens volt ciprofloxacinra, amikacinra, gentamicinre és tobramycinre, addig a β -laktámokkal szembeni rezisztenciájuk eltérő volt. Mindegyik izolátum ugyanazt az I. típusú integront hordozta és az integron variábilis régiójában *aac(6')-Ib* és *ant(3'')-Ib* gének mellett béta-laktamázt kódoló gén *bla_{PSE-1}* volt azonosítható (In99). Az izolátumok a *pilA* és az *exoU* gének kivételével az általunk vizsgált összes virulencia gént hordozták. A pioverdin receptor gének közül a III. típusú fordult elő ebben a csoportban.

A „B” rokonsági csoportba 16 izolátum tartozott, amelyek egy nukleotidil transzferáz enzimet kódoló *ant(2'')-Ia* gén hordoztak az integronjuk variábilis régiójában (In159). A rezisztencia fenotípusa a ciprofloxacin, a gentamicin és a tobramycin rezisztenciával volt jellemezhető, amikacin rezisztenciát nem találtunk. A β -laktámokkal szembeni rezisztencia kevésbé volt kiterjedt ebben a klaszterben, mint az „A” klaszterben, hiszen csak 5 izolátum volt rezisztens antipseudomonas β -laktámokkal szemben. A virulencia géneknek a megoszlása szinte azonos volt az „A” klaszterrel, kivételt képez a pioverdin receptor gén, ugyanis ebben a rokonsági csoportban a III. típusú helyett az I. típusú fordult elő.

A harmadik rokonsági csoportot a „C” klaszter képviselte, melybe 8 izolátum tartozott 6 betegtől. Az izolálások időben elszórtan történtek 2009-ben. Egy izolátum esetében, mely 2009 júliusában tenyésztett ki egy a Pulmonológia Osztályon fekvő beteg mintájából, felmerült a kihurcolás vagy behozatal gyanúja. A klaszter tagjainak rezisztencia fenotípusát az imipenem rezisztencia jellemezte, kivételt képez az az egy izolátum, amely a Tüdőklinika fekvőbeteg osztályáról származott nem pedig az Intenzív Osztályról. Az imipenem rezisztencia mellett három izolátum eltérő rezisztenciát mutatott a β -laktámokkal, a ciprofloxacinnal, valamint az aminoglikozidokkal szemben. Ezek közül az izolátumok közül egy hordozott egy I. típusú integront, amelynek a variábilis régiójában nem volt rezisztencia gén (In0). A klaszter többi tagjánál a vizsgált aminoglikozid rezisztencia gének, illetve I. típusú integronok nem fordultak elő. A csoport minden tagjánál megtalálható volt az összes vizsgált virulencia gén, kivéve az *exoS*-t.

A közös rokonsági csoportba nem tartozó független izolátumok száma 22 volt, melyek összesen 20 betegtől származtak. Az izolátumok közül antipseudomonas antibiotikumokkal szemben 9 izolátum mutatott érzékenységet és csak egy hordozott közülük *aac(6')-Ib* aminoglikozid rezisztencia gént. A független izolátumok között előfordult egy olyan izolátum, ami hordozott egy üres I. típusú integront, egyébként integront nem találtunk. Ebben a rokonsági csoportban a virulencia géneknek a megoszlása nagyon heterogén volt, csak a *phzII*, *apr*, *plcH* és az *exoT* gén volt jelen minden egyes izolátum esetében. Az izolátumok többségénél más virulencia gének igen magas arányban fordultak elő, kivételt képez ez alól a *pilA* és *exoU* gén. Egy izolátum mind a 16 virulencia gént hordozta.

Az antibiotikum fogyás

A Tüdőklinikán felhasznált antibiotikum mennyiség (97,8 DDD/100 ápolási nap) jóval az egyetemi átlag felett volt (37,8 DDD/100 ápolási nap) 2005 és 2009 között. A terápia során az aminoglikozidok közül leggyakrabban az amikacint (átlagos fogyasztás 2,9 DDD/100 ápolási nap), a gentamicint (2,8 DDD/100 ápolási nap) és a tobramycint (1,4 DDD/100 ápolási nap) alkalmazták. A streptomycin, valamint a netilmicin esetében az átlagos fogyás alacsony értéket mutatott (0,3 és 0,02 DDD/100 ápolási nap) és csak alkalmanként használták őket. 2006 és 2007 között tobramycinről gentamicinre váltottak, majd az ezt követő évben 2008 és 2009 között a gentamicint részlegesen amikacinnal helyettesítették. A 2008 és 2010 eleje között követett 39 betegből 19 kapott amikacint, ebből tizenhatot az intenzív osztályon kezeltek, míg a maradék hármat pedig más fekvőbeteg osztályon. További három beteg

gentamicin kezelésben részesült. Egy-egy beteg esetében tobramycint és streptomycint alkalmaztak. Az aminoglikozidok mellett a fluorokinolonoknak a felhasználása is igen jelentős volt, az aminoglikozidokhoz hasonlóan felhasználásuk szintén emelkedést mutatott (16,6 DDD/100 ápolási napról 20,7 DDD/100 ápolási napra emelkedett). 2009-ben ez az emelkedés megállt, sőt majdnem felére csökkent (12,3 DDD/100 ápolási nap). A széles spektrumú β -laktámokat (piperacillin+tazobactam, karbapenem) szintén gyakran alkalmazták a kezelések során. A vizsgálatban szereplő betegek közül csak egy nem részesült antibiotikum terápiában.

A statisztikai elemzés alapján, azok a betegek, akiknek az izolátumai az „A” rokonsági csoportba tartoztak, és az amikacin rezisztenciát kódoló *aac(6')-Ib* gént az integron variábilis régiójában hordozták, kezelésük során szignifikánsan több amikacint kaptak, szemben azokkal a betegekkel, akiknek az izolátumai más rokonsági csoportokból vagy a független izolátumok csoportjából származtak ($p=0,046$). A β -laktám antibiotikumok és fluorokinolonok fogyasztása, valamint az összes antibiotikum fogyasztás között nem volt különbség ($P>0,05$).

Acinetobacter baumannii

Az aminoglikozid rezisztencia gének és az integronok előfordulása

A *P. aeruginosa* izolátumokhoz hasonlóan *aac(6')-Ib* gén hordozása igen gyakori volt az *A. baumannii* izolátumok körében is, hiszen az izolátumok 56,9 %-ban (91/160) fordult elő. A legmagasabb arányban az *A. baumannii*-ra jellemző *aph(3')-VIa* gén volt jelen (90,6%, 144/160). Kimutatható volt a kanamycinnel szembeni rezisztenciát biztosító *aph(3')-Ia*, valamint a streptomycinnel és spectinomycinnel szembeni rezisztenciát biztosító *ant(3'')-Ia* géneknek a jelenléte is, azonban ezek a gének klinikai szempontból kevésbé relevánsak, mivel az említett szereket Magyarországon ritkán vagy egyáltalán nem alkalmazzák. Az *ant(2'')-Ia* gén egyik izolátumban sem fordult elő. A 16S rRNS metilázt kódoló gének közül csak *armA*-t mutattunk ki 19 (11,9%) izolátum esetében.

Az izolátumok döntő többsége I. típusú integront hordozott, II. és III. típusú integront egyik izolátum esetében sem találtunk.

Karbapenem rezisztencia gének megoszlása *Acinetobacter baumannii* izolátumok körében

A vártak megfelelően az összes izolátum hordozta a kromoszómálisan előforduló *bla*_{OXA-51-like} karbapenemázt kódoló gént az ISAb_a-1 inzerációs szekvenciával együtt. A *bla*_{OXA-51-like} génen kívül, az izolátumok 78,1%-nál (125/160) *bla*_{OXA-23-like} gén, míg 1,2%-nál (2/160) *bla*_{OXA-24-like} gén volt detektálható. Egyik izolátumban sem fordult elő a *bla*_{OXA-48-like} és a *bla*_{OXA-58-like} gén. A karbapenem érzékeny izolátumok csak *bla*_{OXA-51-like} gént hordoztak, a karbapenem rezisztens izolátumok viszont a *bla*_{OXA-51} gén mellett a *bla*_{OXA-23-like} gént vagy a *bla*_{OXA-24-like} gént is hordozták.

A klonalitás vizsgálata

Az *A. baumannii* izolátumok esetén hat rokonsági csoportot, valamint négy független izolátumot különítettünk el PFGE-vel.

Az „A1” rokonsági csoportba 19 beteg 26 izolátuma tartozott. Az izolátumok többsége a Neurológiai Intenzív Osztályról (15/26), valamint a Gyermek Intenzív Osztályról (7/26) származott. A klaszter tagjainak fenotípusát a karbapenem érzékenység, valamint a ciprofloxacín, amikacín és tobramycín rezisztencia jellemezte. Az izolátumok körében igen magas arányban fordultak elő foszfortranszferázt kódoló gének az *aph*(3')-Ia (20/26), *aph*(3')-VIa (13/26). Minden egyes izolátum hordozott I. típusú integront, melynek a variábilis régiójában egy *aac*(6')-Ib gén, egy feltételezett fehérje, valamint egy *bla*_{OXA-20} gén volt (In426).

Az „A2” klaszterbe hét izolátum tartozott, amely 4 betegtől származott. A hét izolátumból hat a Sebészeti Intenzív Osztályról tenyésztett ki, egy izolátum pedig az Idegsebészeti Intenzív Osztályról. A Neurológiai ITO-ról származó törzset kivéve mindegyik multirezisztens kórokozó volt és ezért csak a polymyxinekre voltak érzékenyek. A *bla*_{OXA-51-like} gén mellett mindegyik hordozott *bla*_{OXA-23-like} gént is. Az aminoglikozid rezisztencia géneknek (*aph*(3')-Ia, *aph*(3')-VIa) a megoszlása hasonló volt az „A1” klaszteréhez, azonban I. típusú integront egyik izolátum sem hordozott.

A „B” klaszterbe 19 izolátum tartozott, melyeket 11 beteg mintáiból izoláltunk. Az izolátumok többsége (14/19) a Perinatális Intenzív Centrumból (PIC) származott. Az antibiotikum érzékenységet a karbapenem és aminoglikozid rezisztencia jellemezte. Az „A2” klaszterhez hasonlóan, a *bla*_{OXA-51-like} és *bla*_{OXA-23-like} gének egyszerre voltak jelen. Az *aph*(3')-

Ia, *aph(3')-VIa* gének mellett egy harmadik aminoglikozid rezisztencia gén az *ant(3')-Ia* is kimutatható volt. A csoport minden egyes tagja hordozott I. típusú integront, amelynek a variábilis régiójában két aminoglikozid rezisztencia gén (*aac(3)-Ia*, *ant(3'')-Ia*) és két feltételezett protein volt (In561).

A „C1” rokonsági csoportba 10 beteg 12 izolátuma tartozott. Egy izolátum kivételével, mindegyik az I. Belgyógyászati Klinika Intenzív Osztályáról származott és 10 közülük *in vitro* érzékeny volt doxycyclinre, tigeccyclinre és polymyxin-B-re, egy pedig csak polymyxin-B-re. A *bla_{OXA-51-like}* és *bla_{OXA-23-like}* gének együttes hordozása volt megfigyelhető ebben a csoportban is. A fent említett klaszterekhez hasonlóan, ugyanazok az aminoglikozid rezisztencia gének (*aph(3')-Ia*, *aph(3')-VIa*) fordultak elő minden egyes tagnál. Mindegyik izolátum hordozott I. típusú integront. Tizenegy izolátum esetében a variábilis régióban hordozott géneknek a mintázata megegyezett a „B” klaszterben azonosított mintázattal (In561), azonban egy izolátum integronjának variábilis régiójában egy *ant(3'')-Ib* gén volt azonosítható (In127).

A „C2” klaszterbe 29 izolátum tartozott 24 betegtől. Az izolátumok eredete nagyon változatosan alakult: Sebészeti ITO (11); Idegsebészeti ITO (6); Neurológiai ITO (6); I. belgyógyászati ITO (2); fekvőbeteg osztályok (4). Az antibiotikum érzékenység nagyon eltérő volt klaszteren belül. Míg a Neurológiai ITO-ról származó izolátumok mindegyike érzékeny volt karbapenemekre, addig más osztály izolátumai csak doxycyclinre, tigeccyclinre és polymyxin-B-re voltak érzékenyek. A rezisztencia gének eloszlása nagyon hasonló volt a „C1” klaszter esetén találthoz, azzal az egy kivétellel, hogy hat karbapenem érzékeny izolátum (neurológiai ITO) esetében hiányzott a *bla_{oxa23-like}* gén. Az I. típusú integronnak a struktúrája teljesen megegyezett a „C1” klaszterben azonosított integronéval (In561).

A „D” klaszter képviselte a legnagyobb rokonsági csoportot. Ide összesen 63 izolátum (23 betegtől) tartozott és az izolátumok 79,3%-a (50/63) a Tüdőgyógyászati Intenzív Osztályról származott. Az izolátumok többsége csak tigeccyclinnel és polymyxin-B-vel szemben volt érzékeny. Mindegyik izolátumban előfordult a *bla_{oxa-23-like}*, a *bla_{oxa-51-like}* karbapenemáz gén és az ISAb-1 inzerációs szekvencia, valamint az *aac(6')-Ib*, az *aph(3')-Ia*, a *ant(3'')-Ia*, az *aph(3')-VIa* és az *aac(3')-Ia* gének. Mindezek mellett az izolátumok 30,2% (19/63) hordozott egy 16S rRNS metiláz kódoló gént (*armA*). Az izolátumok által hordozott I. típusú integron variábilis régiójában a két aminoglikozid rezisztencia gén *aac(6')-Ib*, *ant(3')-Ia* mellett egy klóramfenikol acetiltranszferáz kódoló gént azonosítottunk.

A közös rokonsági csoportba nem tartozó független izolátumok száma négy volt. A sebészeti ITO-ról származó izolátum 86,6% -os hasonlóságot mutatott az „A2” klaszter tagjaival,

azonban egy további aminoglikozid rezisztencia gént (*aac(6')-Ib*) hordozott. Az a két izolátum, amelyik azonos mintázatot mutatott, de különböző fekvőbeteg osztályról származtak (Tüdőklinika ITO, I. Belgyógyászati ITO), kiterjedt antibiotikum rezisztenciával rendelkezett és csak a tigecyclinnel, valamint a polymyxinnel szemben voltak érzékenyek. Ez a két izolátum a *bla_{oxa51-like}* gén mellett egy *bla_{oxa24-like}* gént is hordozott, azonban I. típusú integront nem. A negyedik izolátum szintén kiterjedt rezisztenciával rendelkezett. A rezisztencia génjeinek mintázata hasonló volt a „D” klaszter tagjainak mintázatához, azzal a különbséggel, hogy az *aph(3')-Ia* és az *armA* gének nem voltak jelen. Az általa hordozott I. típusú integron szintén megegyezett a „D” csoportéval.

Az antibiotikum felhasználás, a prevalencia és a rezisztencia kialakulása közötti összefüggés vizsgálata

A 2000-2008 között az *A. baumannii* prevalenciájában számottevő változás nem volt megfigyelhető, a kitenyészett baktériumoknak az 1%-át tette ki. Azonban 2009-ben és 2010-ben hirtelen megnövekedett a prevalenciája és az összes pozitív mintáknak már a 2,3%-, valamint 2,5%-ában volt kimutatható. Hasonló növekedés volt tapasztalható a pozitív vérminták esetén is, itt 1-2%-ról 4,4%-ra emelkedett a prevalencia. Ezzel párhuzamosan a 2002 és 2012 között gyűjtött adatok azt mutatják, hogy az *A. baumannii* okozta fertőzések kezelésében az elsőként választandó karbapenemekkel szembeni rezisztencia tízszeresére nőtt, mivel 2000 és 2010 között 6,3%-ról 63,8%-ra emelkedett, és 2011-re pedig már 73,0% is elérte.

A kereszt-korrelációs elemzés alapján, a karbapenem fogyás körülbelül 2 éves késéssel követte a III. generációs cefalosporin alkalmazást (9 negyedévi késés; $r=0,63$; $p<0,001$) és 1 éves késéssel pedig a piperacillin+tazobactam felhasználás csökkenését (4 negyedéves késés; $r=-0,54$; $p<0,001$). Szignifikáns időbeli összefüggés volt kimutatható a karbapenem felhasználás és a polymyxin felhasználás között is. A polymyxin felhasználás öt negyedévvél később követte a karbapenem felhasználást ($r=0,80$, $P<0.001$).

A karbapenem rezisztencia két és fél éves késéssel követte a karbapenem felhasználást (-9 lag; $r=0,43$, $p=0.005$), viszont más antibiotikum felhasználással nem lehetett összefüggésbe hozni. A karbapenemek közül a meropenem és az ertapenem felhasználás mutatott időbeli összefüggést az *A. baumannii* prevalenciájával valamint karbapenem rezisztenciájával. A prevalenciában és a karbapenem rezisztenciában észlelt növekedés 1-1,5 év késéssel (4-8 negyedéves késés; $r=0,45-0,49$, $p=0.002-0.006$, illetve $r=0,44$, $p=0,007$) követte a meropenem

fogyást. Hasonló összefüggés volt tapasztalható az *A. baumannii* pozitív betegek prevalenciája és a meropenem felhasználása között is (2 negyedéves késés; $r=0,39$, $p=0,01$). Az ertapenem felhasználás esetében a prevalenciában tapasztalt növekedés rövidebb késéssel követte az ertapenem fogyást (1-5 negyedéves késés, $r=0,54-0,58$, $p<0,001$), míg a karbapenem rezisztencia hat negyedéves késéssel követte azt ($r=0,42$, $p=0,009$). Érdekes, hogy miközben az imipenem felhasználás az előző két karbapenemhez hasonlóan nőtt, mégsem befolyásolta az *A. baumannii* prevalenciáját és karbapenem rezisztenciáját. Az *ArmA* gén előfordulásának hátterében álló tényezők vizsgálata érdekében megvizsgáltuk az aminoglikozidok felhasználásában mutatkozó különbségeket is. Azt tapasztaltuk, hogy az összes aminoglikozid felhasználás a Tüdőklinikán volt a legmagasabb ($p=0.002-0.041$, páronkénti összehasonlítással), ahol az *armA* hordozó izolátumok aránya a legnagyobb volt.

MEGBESZÉLÉS

Az izolátumok előfordulásának mintázata mind a *P. aeruginosa*, mind pedig az *A. baumannii* esetében endémiás jelenlétükre utal. A legelterjedtebb klaszterekbe tartozó izolátumok hosszú ideig perzisztáltak (*P. aeruginosa* esetén „A” és „B” klaszterek; *A. baumannii* esetén „A1”-„D” klaszterek), de járványt nem okoztak a vizsgált intenzív osztályokon. Hasonló endémiás esetről számolt be Foca munkatársaival egy olyan újszülött intenzív osztályon, ahol a fertőzőforrást maga az ápoló személyzet és a hosszú ideig ápolott betegek jelentették. Az *A. baumannii* esetében a legtöbb klasztert egy vagy két különböző intenzív osztályról származó izolátumok uralták, azonban néhány klaszter esetében az izolátumokat kettőnél több fekvőbeteg osztályról izoláltuk. A *P. aeruginosa* esetén egy kihurcolást tapasztaltunk. Ezek az eredmények felhívják a figyelmet az osztály-specifikus törzsek fekvőbeteg osztályok közötti transzmissziójára, ami poliklonális endémia kialakulását tette lehetővé.

Az antibiotikum rezisztencia és a klonalitás közötti kapcsolat az aminoglikozidok, illetve a karbapenemek szerepére utal a sikeres klónok fennmaradásában és terjedésében. A molekuláris epidemiológiai vizsgálatok alapján a karbapenem illetve aminoglikozid rezisztencia nemcsak egyetlen klónhoz köthető. A *P. aeruginosa* esetében az amikacin rezisztencia az acetiltranszferázt kódoló *aac(6')-Ib* gén, *A. baumannii* izolátumok esetében a karbapenem rezisztencia pedig a karbapenemázt kódoló *bla_{oxa23-like}* gén megszerzésének köszönhető, melyet az összes rezisztens klón hordozott. Az ugyanazon („C2”) klaszterbe tartozó karbapenem érzékeny és karbapenem rezisztens *A. baumannii* izolátumok is a *bla_{oxa23-like}* gén hordozásában különböztek egymástól. A legtöbb karbapenem érzékeny izolátum a Neurológiai Klinikáról származott, ahol a karbapenem felhasználás szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a többi vizsgált klinikán. Hasonló jelenség volt megfigyelhető az aminoglikozid rezisztens izolátumoknál is. Azok a betegek, akiknek az izolátumai 16S rRNS metilázt kódoló *armA* gént hordoztak, a Tüdőklinika ITO-ján feküdtek, ahol az aminoglikozid felhasználás a legmagasabb volt a vizsgált klinikák között. Itt az aminoglikozidok közül az amikacint alkalmazták nagy mennyiségben. A vizsgált *P. aeruginosa* izolátumok legnagyobb csoportja („A” rokonsági csoport) az *aac(6)-Ib* gént hordozta, mely az amikacinnal szemben biztosít rezisztenciát. Az ilyen izolátumokkal fertőzött betegek szignifikánsan több amikacint kaptak, mint azok a betegek, akikben ez az amikacin rezisztens klón nem fordult elő. Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy az antibiotikum használat okozta szelekciós nyomás közvetlenül elősegíti a rezisztencia gének horizontális transzfer útján való terjedését, illetve a rezisztens klónok fennmaradását.

Az integron hordozás szoros kapcsolatban áll az aminoglikozid és karbapenem rezisztenciával. Ennek megfelelően a *P. aeruginosa* és *A. baumannii* izolátumok döntő többsége I. típusú integront hordozott. Más Gram-negatív baktériumok (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella spp.*, *Proteus spp.*) körében is elterjedt az integronoknak a hordozása, leggyakrabban az I. típus fordul elő. Az izolátumokban megtalált és azonosított integronok variábilis régiójukban valamilyen β -laktámmal vagy aminoglikoziddal szemben rezisztenciát biztosító gént hordoztak, amelyek a fentiek alapján szerepet játszhattak a törzsek sikeres perzisztenciájában. A perzisztenciához hozzájárulhat az I. típusú integronok esetében a 3' konzervatív régióban hordozott kationos detergens fertőtlenítőszerrel szembeni rezisztenciát kódoló gén is.

Az irodalomban számos tanulmány található arra vonatkozóan, hogy a sikeres klónok perzisztenciájában - az antibiotikum rezisztencia hordozása mellett - fontos szerepe lehet a kórokozók virulencia faktorainak is. Emiatt jelen tanulmányunkban is megvizsgáltuk az összefüggést a virulencia faktorokat kódoló gének hordozása és a sikeres klónok perzisztenciája között *P. aeruginosa* izolátumok körében. (Az *A. baumannii* virulenciájáról igen keveset tudunk, így eddig egyetlen virulencia faktornak tartott tényezőről sem bizonyították, hogy a kórházi törzsek virulenciájában szerepe van.) A virulencia géneknek a megoszlása érdekes kérdést vet fel a *P. aeruginosa* által okozott fertőzések patogenezisében. Az általunk kapott eredmények azt mutatják, hogy a virulencia faktor készlet megegyezett az egyes sporadikusan előforduló izolátumokban és a perzisztens izolátumokban. Bár a sikeres klónok hordozták a VAP patogenezisében fontos szerepet játszó *exoS* gént, azonban a legsúlyosabb fertőzésekkel összefüggésbe hozott *exoU*-t csak a sporadikus izolátumokban találtuk meg. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a virulencia gének ebben az esetben nem álltak közvetlen összefüggésben a klónok sikerével. A klónok elterjedtségében tehát inkább az antibiotikum rezisztenciájuk játszhatott szerepet.

A terápia során a választandó antibiotikumokkal szembeni rezisztenciától tartva a széles spektrumú antibiotikumok használata egyre fokozódik, ami a rezisztencia további fokozódását eredményezi, rezisztencia spirált hozva létre. A tanulmányunk ilyen szituációról számol be. A Debreceni Egyetem összes antibiotikum fogyasztási adatai alapján, az antibiotikum felhasználás 2006-tól emelkedő tendenciát mutatott. Ennek hátterében főleg a széles spektrumú antibiotikumoknak az alkalmazása állt, mint a III. generációs cefalosporinok, fluorokinolonok, valamint 2008-tól a karbapenemek. A III. generációs cefalosporinok túlzott alkalmazása az ESBL-termelő törzsek megjelenését segítette elő, melynek következményeként emelkedett a karbapenem felhasználás az Egyetem klinikáin (még nem

publikált adat). A karbapenemek fokozott felhasználásával párhuzamosan nőtt az *A. baumannii* prevalenciája, valamint a karbapenemekkel szembeni rezisztenciája: a karbapenemekkel szembeni rezisztencia 10 év alatt közel tízszeresére emelkedett. Ez az eredmény összhangban van a szakirodalomban található tapasztalatokkal, mely szerint az *A. baumannii* esetében megjelenő karbapenem rezisztencia a III. generációs cefalosporin és a karbapenem felhasználásának az eredménye.

A különböző karbapenemeknek a fogyása eltérő mértékben befolyásolta a rezisztencia alakulását *A. baumannii* esetében. Míg az imipenem fogyás kevésbé befolyásolta, addig a meropenem és különösen az ertapenem fogyás szignifikáns összefüggésben állt nemcsak az *A. baumannii* karbapenem rezisztenciájának fokozódásával, de az *A. baumannii* prevalenciájának növekedésével is. Ez az összefüggés összhangban van azzal a megfigyeléssel, mely szerint az imipenem valamivel hatékonyabb az *A. baumannii* által okozott fertőzések kezelésében, mint a meropenem vagy az ertapenem.

Az elmúlt évek folyamán, az alternatív terápiaként alkalmazható aminoglikozid antibiotikumok felhasználása a karbapenemek alkalmazásában tapasztalathoz hasonló emelkedést mutatott. Az aminoglikozid fogyás a Tüdőklinika ITO-ján volt a legmagasabb, ahol a terápia során az amikacint alkalmazták a leggyakrabban, ami így az összes aminoglikozid fogyás 50%-át tette ki. Az aminoglikozidok felhasználásának növekedésével párhuzamosan nőtt az aminoglikozidokkal szembeni rezisztencia a *P. aeruginosa* (*aac(6')-Ib*) és *A. baumannii* (*ArmA*) izolátumok esetében.

Rövidtávon az antibiotikumok felhasználásában bekövetkező változásokat követik a rezisztenciában bekövetkező változások, azonban hosszú folyamat, amíg a rezisztencia tartósan mérsékelhetővé válik. A rezisztencia terjedését egyazon családba tartozó, különböző szerek eltérő mértékben befolyásolják (ertapenem vs. imipenem, amikacin vs. gentamicin). A rezisztencia mérséklésének tehát az aminoglikozidok esetében egyik lehetséges megoldása az aminoglikozidok felhasználásának diverzifikálása lehetne, vagyis csökkenteni az amikacin fogymást és növelni a tobramycin és gentamicin felhasználás arányát. A kedvezőtlen járványtani helyzet megoldásában pedig több szerepet kellene kapnia hazánkban az antibiotikum felhasználás optimalizálásának.

Összességében megállapítható, hogy az antibiotikum felhasználás jelentős hajtóereje lehet az endémiás törzsek fennmaradásának járványmentes időszakban is. Bizonyos esetekben az antibiotikum rezisztencia fontosabb szerepet játszik a sikeres klónok terjedésében, mint a virulencia faktorok.

ÖSSZEFOGLALÁS

A tanulmány során a Debreceni Egyetem Klinikai Központ klinikáiról származó *P. aeruginosa* és *A. baumannii* izolátumok molekuláris epidemiológiai jellemzésére került sor, melyben vizsgáltuk az antibiotikum fogyás és a klónok antibiotikum rezisztenciája közötti összefüggést, valamint a rezisztenciamechanizmusoknak a genetikai hátterét.

Pulzáló mezejű gél elektroforézissel *P. aeruginosa* esetében három, *A. baumannii* esetében pedig hat fő rokonsági csoportot különítettünk el. Ezek a klónok hosszú ideig perzisztáltak, azonban járványt nem okoztak a vizsgált intenzív osztályokon. A karbapenem, illetve aminoglikozid rezisztencia nemcsak egyetlen klónhoz volt köthető. Az *A. baumannii* izolátumok esetében a karbapenem rezisztencia hátterében a *bla_{oxa23-like}* gén hordozása állt, míg a *P. aeruginosa* esetében az amikacin rezisztencia az *aac(6')-Ib* gén hordozásának volt tulajdonítható. Az aminoglikozid rezisztencia szoros kapcsolatot mutatott az integronhordozással, mivel integronok variábilis régiójában valamilyen β -laktámmal vagy aminoglikoziddal szemben rezisztenciát biztosító gént azonosítottunk.

A karbapenem rezisztens *A. baumannii* terjedése egyértelmű kapcsolatban állt az ertapenem, illetve meropenem fogyasztással, viszont nem volt összefüggésbe hozható az imipenem fogyasztásával. Az Idegklinika Intenzív Terápiás Osztályán - ahol a karbapenem fogyasztás szignifikánsan alacsonyabb volt a többi klinikához képest és ertapenemet szinte egyáltalán nem alkalmaztak- az *A. baumannii* izolátumok nagy része karbapenem érzékeny volt. Az aminoglikozid rezisztens *P. aeruginosa* izolátumoknak az aránya viszont az amikacin fogyasztással korrelált, melyet a Tüdőklinika Intenzív Terápiás Osztályán alkalmaztak igen gyakran.

Eredményeink alapján, az antibiotikum rezisztencia és a klonalitás közötti kapcsolat az aminoglikozidok illetve a karbapenemek felhasználásnak szerepére utaltak a sikeres klónok fennmaradásában és/vagy terjedésében. A kedvezőtlen járványtani helyzet megoldásában több szerepet kellene kapnia az antibiotikum felhasználás optimalizálásának.



Nyilvántartási szám: DEENK/44/2015.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Mózes Julianna
Neptun kód: SGYJFL
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Mózes, J.**, Ebrahimi, F., Gorácz, O., Miszti, C., Kardos, G.: Effect of carbapenem consumption patterns on the molecular epidemiology and carbapenem resistance of *Acinetobacter baumannii*.
J. Med. Microbiol. 63, 1654-1662, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.082818-0>
IF:2.266 (2013)
2. **Mózes, J.**, Szűcs, I., Molnár, D., Jakab, P., Fatemeh, E., Szilasi, M., Majoros, L., Orosi, P., Kardos, G.: A potential role of aminoglycoside resistance in endemic occurrence of *Pseudomonas aeruginosa* strains in lower airways of mechanically ventilated patients.
Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 78 (1), 79-84, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.09.015>
IF:2.568 (2013)





További Közlemények

3. Földi, R., Kovács, R., Gesztelyi, R., Kardos, G., Berényi, R., Juhász, B., Szilágyi, J., **Mózes, J.**, Majoros, L.: Comparison of In Vitro and Vivo Efficacy of Caspofungin Against *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* and *C. albicans*.
Mycopathologia. 174 (4), 311-318, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11046-012-9554-7>
IF:1.489

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 6,323

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 4,834

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

Debrecen, 2015.02.24.



AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ ELŐADÁSOK JEGYZÉKE

Mózes J, Gorács O, Ebrahimi F, Miszti C, Kardos G. A karbapenem felhasználás és az *Acinetobacter baumannii* klónok előfordulása közötti összefüggés vizsgálata a Debreceni Egyetemen. A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2014. évi Nagygyűlése, Keszthely 2014.

Mózes J, Gorács O, Ebrahimi F, Kardos G. Examination of integron carriage and identification of resistance genes in integron associated gene cassettes among Nosocomial *Acinetobacter* ssp. 5th Central European Forum for Microbiology, 2013, Keszthely, Hungary.

Mózes J, Ebrahimi F, Szűcs I, Szilasi M, Orosi P, Kardos G. A virulencia gének előfordulásának vizsgálata lélegeztetett betegekből származó *Pseudomonas aeruginosa* izolátumok körében. DOSZ, Tavaszi Szél Konferencia, Sopron 2013.

Mózes J, Szűcs I, Molnár D, Jakab P, Ebrahimi F, Szilasi M, Majoros L, Orosi P, Kardos G. Investigation of the genetic background of aminoglycoside resistance and the distribution of virulence genes among *Pseudomonas aeruginosa*. 4th Central European Forum for Microbiology, 2012, Keszthely, Hungary

Mózes J, Gorács O, Ebrahimi F, Gábor K. Az aminoglikozid és tetraciklin rezisztencia genetikai hátterének vizsgálata *Acinetobacter* izolátumok körében. XIII. RODOSZ Konferencia Kolozsvár, Románia 2012.

Mózes J, Ebrahimi F, Szűcs I, Szilasi M, Orosi P, Kardos G. Examination of the distribution of virulence genes among *Pseudomonas aeruginosa* isolates. European Medical Students Conference, 2012, Debrecen, Hungary

A kutatás Mec8/2008 DEOEC és az Európai Unió és Magyarország támogatásával a TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0024, valamint a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú "Nemzeti Kiválóság Program - Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése országos program" című kiemelt projekt keretei között valósult meg

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, Dr. Kardos Gábornak, aki szakmai tanácsaival segítségemre volt, és a munkámat minden körülmények között támogatta és segítette. Külön köszönettel tartozok a statisztikai elemzéseknél nyújtott segítségéért. Köszönöm korábbi témavezetőmnek, Dr. Majoros Lászlónak, hogy lehetőséget biztosított számomra a Candida fajokkal kapcsolatos kísérletes munkák elvégzésében.

Köszönettel tartozom Dr. Kónya Józsefnek, hogy lehetővé tette számomra a kísérletes munka elvégzését az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben.

Köszönöm Rendesné Székely Évának a molekuláris módszerek technikai elsajátításában nyújtott segítségét, illetve hasznos tanácsait.

Köszönöm az Egyetemi Gyógyszertárnak, hogy az antibiotikumfogyás elemzéséhez szükséges nyers gyógyszerfelhasználási adatokat biztosította számomra.

Külön köszönettel tartozom a rutin diagnosztika minden dolgozójának az izolátumok azonosításában nyújtott segítségért.

Köszönöm Dr. Szarka Krisztának és Dr. Majoros Lászlónak, hogy a dolgozat elkészítését kritikai megjegyzéseikkel segítették.

Végül hálámat szeretném kifejezni családomnak, akik minden körülmények között mellettem álltak és áldozatos munkájukkal támogatták az egyetemi tanulmányaimat. Külön köszönet illeti barátaimat, akik szintén mellettem álltak, motiváltak és jó hangulattal vettek körbe.