

Válasz Prof. Dr. Emődy Levente opponensi véleményére

Köszönöm szépen Prof. Dr. Emődy Leventének disszertációm alapos bírálatát, kritikai megjegyzéseit és a doktori értekezés elfogadására tett javaslatát.

Kérdéseire az alábbi válaszokat adom:

1. A rövidítések jegyzéke a DNA rövidítés feloldásaként a „deoxynucleid acid” formát adja meg. A Google adatbázisban erre a kifejezésre csak egy találatot kaptam, ami a szerző doktori értekezésére vonatkozik. Valóban használatos ez a kifejezés?

Nem, elnézést kérek az elírásáért, a helyes kifejezés a deoxyribonucleid acid.

2. A 18. oldalon leírtak szerint a penicillin a Gram-negatív szervezetekre hatástalan. Ezt pontosítani kellene, mivel a Neisseria meningitidis, a Pasteurella multocida és számos spirál alakú baktérium jól reagál erre a szerre.

A penicillin története részben többek között Fleming megfigyeléseit írtam le. Nem sikerült a nyomára jutnom, hogy Fleming a penicillin hatását, mely Gram-negatív baktériumokkal szemben vizsgálta. Ennek alapján a mondat helyesen így szól:

„Ebben a korai szakaszban Fleming és munkatársai arra a következtetésre jutottak, hogy a penicillin elsősorban a Gram-pozitív baktériumok ellen hatásos, míg az általuk vizsgált Gram-negatív baktériumokra és gombákra hatástalan volt. Ez a Gram-negatív baktériumokra vonatkozó megállapítás a későbbiekben módosult, mivel a penicillin hatékonynak bizonyult a Spirocheták, a Neisseriák és a Pasteurellák ellen is.”

3. A 24. oldalon ugyanarra a taxonra vonatkozóan a Morganella morganii és Proteus morganii megnevezés is szerepel. A jelenlegi nevezéktan szerint az előbbi megnevezés érvényes.

Elnézést kérek a figyelmetlenségért, valóban nem *Proteus morganii*, hanem *Morganella morganii* a helyes elnevezés a jelenlegi nevezéktan szerint. A mondat helyesen így szól: „A *Morganella morganii*-ra az enzim túltermelése, hiperprodukciója a jellemző.”

4. A 26. oldalon a K. oxytoca-ra történi hivatkozás esetében törzs helyett a species megnevezés lenne helyes.

Igaza van professzor Úrnak a mondat helyesen így szól:

„Azonban idővel sajnos az ESBL-termelés megjelent olyan speciesekben is, mint a *K. oxytoca*, ahol korábban ez igen ritka volt.”

5. A 31., 48., 56. és 120. oldalon egyaránt letalitásról van szó. A 31., 56. és 120. oldalon a disszertáns a mortalitás szót használja. Bár a két fogalom használata olyan jeles folyóiratokban is keveredik, mint az *Infection and Immunity*, egy adott baktériumfaj által okozott fertőzésben elhunytak arányának meghatározására a letalítás fogalma alkalmazandó.

Elnézést kérek a fogalmak nem megfelelő használata miatt. Helyesen a következőképpen szólnak a mondatok:

31. oldalon

„Célunk volt továbbá, egy ötéves követéses molekuláris epidemiológiai vizsgálat során meghatározni az ESBL-termelő *Klebsiella* fajok molekuláris epidemiológiáját a Semmelweis Egyetem II. Perinatális Intenzív Centrumában. Egyidejűleg, retrospektív módon vizsgálni a fertőzések rizikófaktorait és a letalitást is.”

56. oldalon

„Még ha a nem ESBL-termelő *Klebsiella* fajokkal fertőzött páciensek esetében nagyobb is volt a túlélési arány (letalitás: 2/45, 4,4%), mint az ESBL-termelő *Klebsiella* fajokkal fertőzöttek betegeknél (letalitás: 6/39, 15%), ez a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns.”

120. oldalon

„Bár a letalítás magasabb volt az ESBL-termelő *Klebsiella* fajokhoz tartozó csoportban, mint a nem ESBL-termelő csoportban, ez a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns.”

6. A 3. táblázatban a termék méretegysége nincs megadva. Bár az egység nyilvánvaló, ennek ellenére a tudományos precizitás megkívánta volna annak megadását.

Elnézést kérek, hogy a 3. táblázatban a Real-time PCR során használt primerek ismertetésénél, a szekvenciáknál a mértékegységet nem adtam meg, a mértékegység: bázispár.

7. A 3. és 4. ábrákon az ESBL termelő *K. pneumoniae* törzsek havi megoszlása nem teljesen fedi egymást. A két ábra adatai nem ugyanazokra az izolátumokra vonatkoznak?

A 3. ábrán, melynek címe az „ESBL-termelő *K. pneumoniae*, nem ESBL-termelő *K. pneumoniae* izolátumok, illetve egyéb *Enterobacteriaceae* izolátumok gyakorisága a szolnoki

PIC-en 1998. január és november között” az összes ESBL-termelő *K. pneumoniae* izolátumot feltüntettem függetlenül attól, hogy az adott törzs kolonizációt vagy infekciót okozott. Ezzel szemben 4. ábrán - melynek címe „Az ESBL-termelő *K. pneumoniae* fertőzések száma és incidenciája a szolnoki PIC-en 1998. májusa és novembere között” -, már csak az infekciót okozó ESBL-termelő *K. pneumoniae* vannak jelölve.

8. A 61. oldalon az „izolátumok izoelektromos pontját” helyett az „ESBL enzimek izoelektromos pontját” lenne a pontos kifejezés.

Elnézést kérek, a mondat helyesen így szól:

„Az ESBL enzimek izoelektromos pontját a **10. táblázat**-ban mutatjuk be.”

9. A 10. táblázatban és a 9. ábrán szereplő ESBL termelő *E. cloacae* törzsek száma és jelölése sem egyezik meg teljesen. Ez megnehezíti az egyes törzsek plazmid profiljainak azonosítását.

A Professzor Úr által feltett kérdésben valószínűleg elütés miatt hibásan szerepel a 9. ábra. Válaszomat úgy adom meg, mintha a kérdésben a 8. ábra szerepelne.

A 10. táblázatban, melyben az „ESBL-termelő *E. cloacae* izolátumok tulajdonságai”-t foglaltam össze, valóban az utolsó két *E. cloacae* törzs jelölése nem egyezik meg a 8. ábrán található jelölésekkel. A 10. táblázatban jelölt utolsó két törzs száma tévesen szerepel. A helyes jelölések, ES49=ES44 és ES53=ES45, amint az a publikációban is szerepel (Szabó D, Bonomo RA, Silveira F, Pasculle AW, Baxter C, Linden PK, Hujer AM, Hujer KM, Deeley K, Paterson DL. SHV-type extended-spectrum beta-lactamase production is associated with Reduced cefepime susceptibility in *Enterobacter cloacae*. *J Clin Microbiol.* 2005 Oct;43(10):5058-64.)

10. A 7.2.2.4. fejezet címe nem pontos, mivel az izoelektromos fókuszálás nem a baktériumtörzsre, hanem annak béta-laktamáz enzimeire vonatkozik.

Elnézést kérek, a fejezet címe helyesen így szól:

„Az *E. cloacae* ES24 törzs által termelt béta-laktamáz enzimek izoelektromos fókuszálással történt vizsgálatának eredménye”

11. A 7.3.1.1. fejezet címe sem pontos, mivel az érzékenység valójában nem a TEM-131 enzimre, hanem az azt termelő törzsekre vonatkozik.

Elnézést kérek, a fejezet címe helyesen így szól:

„A TEM-131-termelő törzsek antibiotikum érzékenysége”

12. A 81. oldal utolsó bekezdésében a *kcat/KM* érték változás szignifikanciája alátámasztható statisztikai módszerrel?

Ebben az esetben a szignifikancia szó használata nyelvhelyességi probléma volt, inkább a „jelentősen” szót kellett volna használnom, mert a nem elégséges számú adat miatt statisztikai próbát sajnos nem tudtunk végezni.

13. A kinolon rezisztencia plazmid átvitele önmagában nem okozott jelentős változást a kinolon érzékenységben, amennyiben a recipiens a laboratóriumi *E. coli* J53 törzs volt. Érdemes lenne azt vizsgálni, hogy egy eredetileg kinolon érzékeny *K. pneumoniae* törzs MIC értéke hogyan változna a rezisztencia plazmid átvitele után. Rendelkezik-e azon kiegészítő mechanizmusokkal, amelyek a rezisztencia magasabb fokú kifejeződését eredményezik? Van-e adat arra vonatkozóan, hogy miként alakul a vad törzs kinolon MIC értéke a kinolon rezisztencia plazmid elvesztése után.

Kísérleteink során mi nem végeztünk vizsgálatokat arra vonatkozóan, hogy eredetileg fluorokinolon érzékeny klinikai törzsek hogyan viselkednek a rezisztencia plazmid felvétele után, illetve hogy a klinikai törzsek érzékenysége hogyan változik a plazmid elvesztése után, így csak irodalmi adatokat tudok ismertetni.

A plazmid mediálta kinolon rezisztencia gének, ezek közül is a *qnr* gének jelenléte önmagában ugyan valóban nem okoz jelentős változást a laboratóriumi törzsek fluorokinolon MIC értékeiben, azonban jelenlétükben, több mint 100-szorosára emelkedik a ciprofloxacin és nalidixsav rezisztenciához vezető spontán mutációk frekvenciája a kromoszómán (Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. *Lancet. Quinolone resistance from a transferable plasmid*. 1998 Mar 14;351(9105):797-9.).

Martinez-Martinez és mtsai az általuk elsőként izolált és karakterizált *qnr* gént hordozó pMG252 plazmidot klinikai mintákból izolált *K. pneumoniae* törzsekbe transzferálták. Azokban a klinikai *K. pneumoniae* törzsekben (C1, C2), amelyek nem rendelkeztek OmpK35 és OmpK36 külső membrán fehérjével, továbbá egyéb nem definiált rezisztencia mechanizmusokkal is rendelkeztek, az eredeti fluorokinolon MIC értékek voltak alacsonyak. A C1 törzs ciprofloxacin MIC értéke 4 µg/ml volt, a C2 törzsé 0.5 µg/ml. A plazmid transzfer után a ciprofloxacin MIC értékek 32 µg/ml-re illetve 4 µg/ml-re emelkedtek, és a C1 és C2 törzs többi fluorokinonnal szembeni MIC értéke is 4-16 szoros mértékben megnőtt.

A pMG252 plazmid transzfere klinikai mintából izolált fluorokinolon érzékeny *K. pneumoniae* törzsbe, ugyan 8-64 szorosára emelte az eredeti fluorokinolon MIC értékeket,

azonban mivel az eredeti fluorokinolon MIC értékek is rendkívül alacsonyak voltak, így a transzfer után mért MIC értékek is csak a 0.125-0.25 µg/ml tartományba estek.

A pMG252 plazmid transzfere klinikai mintákból izolált szintén fluorokinolon érzékeny *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhimurium* és *Pseudomonas aeruginosa* törzsekbe a fluorokinolon MIC értékeket szintén csak kis mértékben emelte meg. A *qnr* gént tartalmazó pMG252 plazmid felvétele után *C. freundii* esetében 0.125 µg/ml, *S. typhimurium* esetében 0.25 µg/ml, és *P. aeruginosa* esetében pedig 0.5 µg/ml volt a ciprofloxacin MIC érték. (Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. *Lancet*. Quinolone resistance from a transferable plasmid. 1998 Mar 14;351(9105):797-9.).

Ezek az adatok azt bizonyítják, hogy a *qnr* gén jelenléte önmagában nem okoz kinolon rezisztenciát, egyéb rezisztencia mechanizmusok, mint például külső membrán fehérjék elvesztése, vagy kromoszómális mutáció jelenléte szükséges a magas szintű kinolon rezisztencia kialakulásához.

Arra vonatkozóan nem találtam adatot, hogy vad törzs *qnr* tartalmú plazmidjának az elvesztése után miként alakulnak a fluorokinolon MIC értékek. Ennek oka talán az lehet, hogy a *qnr* tartalmú plazmidok relatív stabilak. Ezt egy kísérlet is bizonyította, melyben klinikai törzsekből származó *qnr* tartalmú plazmidokkal rendelkező transzkonjugánsok stabilitását vizsgálták antibiotikummentes LB táptalajban történő passzálások során. A kísérlet során a plazmidok relatív stabilnak bizonyultak és a *qnr* tartalmú plazmid elvesztése együtt járt a trimetoprim/sulfamethoxazol, klóramfenikol és tetraciklin rezisztencia egyidejű elvesztésével is (Wang M, Tran JH, Jacoby GA, Zhang Y, Wang F, Hooper DC. Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Jul;47(7):2242-8).

14. Előfordul-e az ESBL és kinolon rezisztencia plazmidok együttes transzfere?

Igen, az ESBL és az ún. plazmid mediálta kinolon rezisztencia együttes transzfere gyakran előfordul. A harmadik generációs cephalosporinokkal szembeni rezisztencia és a kinolon rezisztencia együttes előfordulását és elterjedését több szerző is leírta nagy összefoglaló epidemiológiai tanulmányában (Lautenbach E, Strom BL, Bilker WB, Patel JB, Edelstein PH, Fishman NO. Epidemiological investigation of fluoroquinolone, resistance in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Infect Dis*. 2001;33:1288–94.; Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, Ko WC, Goossens H, Von GA, et al. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2000;30:473–8.).

Ennek a jelenségnek a hátterében többek között a plazmid mediálta kinolon rezisztencia és az ESBL-ek, illetve AmpC típusú béta-laktamázok génjeinek az azonos mobilis genetikai elemeken – plazmidon vagy transzpozonon való elhelyezkedése a felelős. A plazmid mediálta kinolon rezisztencia hátterében a Qnr fehérjék, az aminoglikozid acetiltranszferáz AAC(6')-Ib-cr enzim jelenléte és a QepA-típusú illetve OqxAB-típusú efflux pumpák állnak. Leggyakrabban a *qnr* gének és az ESBL enzimek együttes előfordulását és transzferét figyelték meg.

Míg *qnrA* gént és CTX-M-1, CTX-M-9, CTX-M-14, CTX-M-15, FOX-5, SHV-5, SHV-7, SHV-12, SHV-92, és VEB-1 béta-laktamázokat írtak le azonos transzferábilis plazmidon (Cheung TK, Chu YW, Chu MY, Ma CH, Yung RW, Kam KM. *Plasmid-mediated resistance to ciprofloxacin and cefotaxime in clinical isolates of the Salmonella enterica serotype Enteritidis in Hong Kong. J Antimicrob Chemother.* 2005;56:586–9.; Mammeri H, Van De LM, Poirel L, Martinez-Martinez L, Nordmann P. *Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in Escherichia coli in Europe. Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:71–6.; Wang M, Sahm DF, Jacoby GA, Hooper DC. *Emerging plasmid-mediated quinolone resistance associated with the qnr gene in Klebsiella pneumoniae clinical isolates in the United States. Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:1295–9. ; Corkill JE, Anson JJ, Hart CA. *High prevalence of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnrA in multidrug-resistant Enterobacteriaceae from blood cultures in Liverpool, UK. J Antimicrob Chemother.* 2005;56:1115–7.; 102. Lavigne JP, Marchandin H, Delmas J, Bouziges N, Lecaillon E, Cavalie L, et al. *qnrA in CTX-M-producing Escherichia coli isolates from France. Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50:4224–8., Lavilla S, Gonzalez-Lopez JJ, Sabate M, Garcia-Fernandez A, Larrosa MN, Bartolome RM, et al. *Prevalence of qnr genes among extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacterial isolates in Barcelona, Spain. J Antimicrob Chemother.* 2008;61:291–5.; Nazic H, Poirel L, Nordmann P. *Further identification of plasmid-mediated quinolone resistance determinant in Enterobacteriaceae in Turkey. Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:2146–7.), addig a *qnrB* gént és CTX-M-15, SHV-12 és SHV-30 béta-laktamázok génjét is tartalmazó plazmidokat is izolálták, (Jacoby GA, Walsh KE, Mills DM, Walker VJ, Oh H, Robicsek A, et al. *qnrB, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:1178–82.; Gay K, Robicsek A, Strahilevitz J, Park CH, Jacoby G, Barrett TJ, et al. *Plasmid-mediated quinolone resistance in non-typhi serotypes of Salmonella enterica. Clin Infect Dis.* 2006; 43:297–304.), *qnrS* esetében pedig TEM-1 és SHV-12-vel való együttes előfordulást figyelték meg (Hata M, Suzuki M, Matsumoto M, Takahashi M, Sato K, Ibe S, et al. *Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in Shigella flexneri 2b. Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:801–3.; Lavilla S, Gonzalez-Lopez JJ, Sabate M, Garcia-Fernandez A, Larrosa MN, Bartolome RM, et al. *Prevalence of qnr genes among extended-spectrum beta-*

lactamase-producing enterobacterial isolates in Barcelona, Sp Ahmed AM, Motoi Y, Sato M, Maruyama A, Watanabe H, Fukumoto Y, et al. Zoo animals as reservoirs of Gram-negative bacteria harboring integrons and antimicrobial resistance genes. Appl Environ Microbiol. 2007;73:6686–90. J Antimicrob Chemother. 2008;61:291–5.) A aac(6')-Ib-cr gének gyakran fordulnak elő qnrA, qnrB, qnrS, qepA génekkel és különböző ESBL enzimek: CTX-M-1, CTX-M-14, CTX-M-24, SHV-12 génjeivel transzferábilis plazmidon. (Quiroga MP, Andres P, Petroni A, Soler Bistue AJ, Guerriero L, Vargas LJ, et al. Complex class 1 integrons with diverse variable regions, including aac(60)-Ib-cr, and a novel allele, qnrB10, associated with ISCR1 in clinical enterobacterial isolates from Argentina. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51:4466–70.; Xu X, Wu S, Ye X, Liu Y, Shi W, Zhang Y, et al. Prevalence and expression of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnrA1. Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51:4105–10.; Jiang Y, Zhou Z, Qian Y, Wei Z, Yu Y, Hu S, et al. Plasmidmediated quinolone resistance determinants qnr and aac(60)-Ibcr in extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in China. J Antimicrob Chemother. 2008;61:1003–6.; Ma J, Zeng Z, Chen Z, Xu X, Wang X, Deng Y, et al. High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnr, aac(60)-Ib-cr, and qepA among ceftiofur-resistant Enterobacteriaceae isolates from companion and food-producing animals. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53:519–24.; Picao RC, Poirel L, Demarta A, Silva CS, Corvaglia AR, Petrini O, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance in Aeromonas allosaccharophila recovered from a Swiss lake. J Antimicrob Chemother. 2008;62:948–50., Pomba C, da Fonseca JD, Baptista BC, Correia JD, Martinez-Martinez L. Detection of the pandemic O25-ST131 human virulent Escherichia coli CTX-M-15-producing clone harboring the qnrB2 and aac(60)-Ib-cr genes in a dog. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53:327–8.;Yang H, Chen H, Yang Q, Chen M, Wang H. High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance genes qnr and aac(60)-Ib-cr in clinical isolates of Enterobacteriaceae from nine teaching hospitals in China. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52:4268–73.)

15. A 95. oldalon tárgyalt VIM gént hordozó plazmidok mérete bizonyára nem 90 bp, hanem 90 kb.

Elnézést kérek, a mondat helyesen így szól:

„DNS hibridizációval kimutattuk, hogy a VIM-gén mindkét törzsben kb. 90 kb nagyságú plazmidon helyezkedik el.”

16. Az in vivo kísérletekben milyen nemű egereket használtak?

A ciszplatinnak az egér farmakokinetikai paramétereire gyakorolt hatásának vizsgálatakor, továbbá az imipenem, cefepim, amikacin, ciprofloxacín és levofloxacín aktivitásának

vizsgálatakor CD-1-es hím egereket használtunk. Az A3-APO vizsgálatakor pedig CD-1-es és CFW-1-es nőtény egereket használtunk.

17. A 106. és 111. oldalakon az *in vitro* ölési görbék leírása az állatkísérletek között szerepel. Mi indokolta ezt?

Az *in vitro* ölési görbék leírása azért szerepel az állatkísérletek között, mert az *in vitro* kísérlet során az állatkísérletek során létrehozott körülményeket próbáltuk modellezni. Az alkalmazott csíraszámok is az állatok vérében meghatározott csíraszámokkal egyeztek meg, és az alkalmazott antibiotikum koncentrációkat is úgy választottuk meg, hogy az állatkísérletekben alkalmazott dózisok során létrejött szérumszintekhez közelítsenek.

18. Az egerek véréből történt baktérium koncentráció meghatározások esetén az „Antibiotikum kezelés időtartama” megjelölés szerepel a megfelelő ábrán. Ennek értelmezését a dózisok és időpontok megadása, vagy az *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (2001), 45: 1287- 1291. közleményre való hivatkozás elősegítette volna.

Elnézést kérek, valóban az antibiotikum kezelés értelmezése nem szerepel a megfelelő helyen. „Az egerek antibiotikumos kezelése 3 órával a fertőzés után kezdődött. Antibiotikumot az egerek 21 órán át kaptak intraperitoneálisan a következő dózisokban: 40 mg/kg imipenemet 5,25 óránként; 7,5 mg/kg amikacint 10,5 óránként és 80 mg/kg cefepimet 7 óránként.”

19. Hogyan alakult a cefepimmal kezelt egerek vérében a *K. pneumoniae* csíraszám? A 6. és 12. óra közötti emelkedés szignifikánsnak tekinthető-e? Mi történt a 12. óra utáni megfigyelési periódusban?

A cefepimmal kezelt egerek vérében a baktérium csíraszám a kezdeti 8.07 log₁₀ csíraszámról a 6. órára 6.2 log₁₀-re csökkent, azonban további csökkenést nem tapasztaltunk, a 12. órában mért csíraszám 6.24 log₁₀ volt. A 12. óra után pedig olyan mértékű volt az elhullás a cefepimmal kezelt csoportban, hogy nem volt alkalmunk már több vérvételre.

A vér baktérium csíraszámait kétmintás t-próbával vizsgálva megállapítható, hogy a 6. és a 12. órás eredmények közt nincs szignifikáns különbség (p=0,8999).

20. A 108. oldalon tárgyalt túlélési adatok szerint a fertőzött és antibiotikummal kezelt csoportokban magasabb volt a 24 órás elhullás (6/15 és 7/15), mint a fertőzött kezeletlen csoportban (4/15). (A cefepimmal kezelt egerekre vonatkozóan nincs megadva az elhullási adat.) Ugyanakkor a 24. ábra és a statisztikai elemzés a szerek hatásosságát támasztotta alá.

Ez az opponens számára az adatok összességét nehezen értelmezhetővé tette. Az ellentmondást a tézisfüzetben, illetve a szerző és munkatársai eredeti közleményében szereplő adat oldotta fel. Ezek szerint a fertőzött kezeletlen csoportban az elhullás nem 4/15, hanem 14/15 volt.

Elnézést kérek az elírásért és köszönöm szépen, hogy Professor Úr feloldotta az ellentmondást.

21. Az A3-APO peptiddel végzett ismételt toxicitási vizsgálatoknál legmagasabb dózisként a 114. oldalon 40 mg/kg és 50 mg/kg is szerepel. Melyik a valóban alkalmazott dózis?

Az A3-APO peptiddel végzett ismételt toxicitási vizsgálatoknál 40 mg/kg volt a maximális dózis.

22. Az ESBL termelő E. coli-val fertőzött és A3-APO peptiddel kezelt egerek vérében a csíraszám a 29. ábra szerint már az első A3-APO dózis adása után csökkent, a második dózis adása után pedig a kimutathatósági határ alá esett. Bár a kezelés befejezése után csíraszám emelkedés következett be, ez 4 és 12 órával a befejezés után is több kitevővel az LD50 érték alatt volt (Némi bizonytalanságot okoz, hogy az ábrán CFU/ml, a szöveges elemzésben CFU/g szerepel). Mi magyarázza a 28. ábra szerint a peptiddel kezelt csoportban az ekkor bekövetkezett elhullást, ha az imipenemmel kezelt csoportban a csíraszámok alakulása hasonló volt, de ezen időszakban egyetlen egér sem pusztult el a csoportban?

Elnézést kérek a kétféle mértékegység szerepeltetése miatt, az ábrán szerepel helyesen a mértékegység, mely vér baktérium csíraszámának a meghatározásánál CFU/ml.

Az alacsony vér baktérium csíraszám az A3-APO mellett megfigyelt magas halálozásban, az endotoxin is szerepet játszhatott, azonban az endotoxin oki szerepét sem bizonyítani, sem cáfolni nem sikerült.

A továbbiakban szeretném mellékelni Márialigeti Professor Úr kérdésére adott válaszomat is:

Az A3-APO peptiddel általunk végzett állatkísérletek során azt feltételeztük, hogy az A3-APO esetleg endotoxin felszabadító hatással is bír, annak ellenére, hogy a hatásmechanizmusa alapján ez nem várható.

Endotoxin felszabadulást elsősorban a sejtfalszintézist gátló antibiotikumok okoznak, és azok közül is a PBP3-hoz kötődő antibiotikumok (pl.:aztreonam, piperacillin, mezlocillin, továbbá cefuroxim, ceftazidim és cefotaxim alacsony koncentrációban) bírnak a legnagyobb mértékű

endotoxin felszabadító hatással. Az ún „endotoxin shock”-ért az endotoxin által aktivált macrophágoknak a pro-inflammatorikus citokin: TNF α , IL-6 és IL-8 termelése a felelős. Az A3-APO peptid egyrészt a membrán dezintegritásán keresztül fejti ki sejtölő hatását, másrészt intracellulárisan a fehérje funkciókat gátolja a DnaK hősokk proteinek gátlása révén. Közismert más peptidről is, hogy csökkenti a pro-inflammatorikus citokinek szintjét (Yu J, Mookherjee N, Wee K, et al. Host defense peptide LL-37, in synergy with inflammatory mediator IL-1 β , augments immune responses by multiple pathways. *J Immunol* 2007; 179: 7684-7691.). Az azóta megjelent, legfrissebb irodalmi adatok alapján, az A3-APO nem változtatja meg a macrophágok által termelt TNF α szintjét, de jelentősen megemeli az anti-inflammatorikus IL-10 és a sebgyógyulásban szerepet játszó IL-4 szintjét (Ostorhazi E, Holub MC, Rozgonyi F, Harmos F, Cassone M, Wade JD, Otvos L Jr.: Broad-spectrum antimicrobial efficacy of peptide A3-APO in mouse models of multidrug-resistant wound and lung infections cannot be explained by in vitro activity against the pathogens involved. *Int J Antimicrob Agents*. 2011 May;37(5):480-4.).

23. A szerző javasolja az éretlen újszülöttek édesanyjainak rutinszerű bélflóra szűrését. Az értekezésben szereplő járvány alkalmával történt-e anyai széketvizsgálat? Ha igen, annak során sikerült-e a járványt okozó ESBL termelő *K. pneumoniae* törzset izolálni?

Nem történtek a járványok során anyai széket vizsgálatok, így az esetleges bélflóra kolonizáció szerepéről nincsen adatunk. A szolnoki Hetényi Géza Kórházban történt esethalmozódás során sikerült a környezeti mintából igazolni a járványt okozó törzset, azonban a Semmelweis Egyetem II. Perinatális Intenzív Centrumában történt öt éves megfigyelési időszakban a több alkalommal elvégzett környezeti szűrés során sem sikerült ESBL-termelő *Klebsiella* törzset kimutatni.

Végezetül ismét köszönöm Professzor Úr észrevételeit, és hogy az értekezés nyilvános vitára bocsátását és az MTA doktora cím odaítélését javasolta.

Budapest, 2012-04-04

Tisztelettel:

Szabó Dóra