

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

**Különböző állatfajokból származó *Pasteurella multocida* törzsek
jellemzése tradicionális és molekuláris módszerekkel**

PhD értekezés tézisei

Sellyei Boglárka

MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézete

2010

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

Témavezető:

Dr. Magyar Tibor
Magyar Tudományos Akadémia
Állatorvos-tudományi Kutatóintézete

Bevezetés

A *Pasteurella multocida* a házi és a vadon élő emlősök és madarak széles körében előforduló feltételes (fakultatív) kórokozó baktérium. A gerincesekben kifejtett patogén hatása több mint száz éve ismeretes. A baktérium huzamosan megtelepedhet a felső légutakat, valamint a száj és a nemi utakat bélelő nyálkahártyákon, miközben a fertőzés tünetmentes marad. Hajlamosító tényezők jelenlétében azonban önmagában (elsődleges pasteurellosis) vagy egyéb kórokozókhoz társulva szövődményként (másodlagos pasteurellosis) különböző megbetegedéseket idézhet elő. Legnagyobb gazdasági jelentősége a szarvasmarhák és bivalyok vézses vérfertőzésének, a sertés (progresszív) progrediáló torzító orrgyulladásának és a madarakban előforduló baromfikolerának van. A másodlagos fertőzések közül ki kell emelni a kérődzők (szarvasmarha, juh, kecske), a ló és a sertések szövődményes tüdőgyulladását, valamint a nyulak „ragadós nátháját”. Emberi fertőzések a baktériumhordozó állatokkal való közvetlen érintkezés (harapás, karmolás, a sebek nyállal való érintkezése) és cseppfertőzés útján, szórványosan jöhetnek létre.

A *P. multocida* által okozott megbetegedések hatalmas gazdasági terheket rónak a nagyüzemi állattenyésztésre, így egyre nagyobb az igény a kórokozó általános tulajdonságainak leírásán (faj, biotípus, szomatikus szerotípus, toxintermelés meghatározása) túlmutató, diagnosztikai célokat is szolgáló módszerek kidolgozására. A megfelelő diagnosztikai eljárások, valamint a hatékony vakcinák kifejlesztéséhez elengedhetetlen a törzseket jellemző virulencia tényezők és az esetleges gazdafaj-adaptációt szolgáló mechanizmusok alaposabb ismerete.

A *P. multocida* törzseket jelentős fenotípusos sokszínűség jellemzi. Ez a fajon belüli nagyfokú változatosság különböző, feltehetőleg egyedi sajátosságokkal rendelkező, összetartozó törzsek (törzscsoportok) együttes jelenlétének lehetőségét sejteti. A törzscsoportok közötti, még fel nem derített különbségek a törzsek megbetegítő képességben felmerülő eltérésekre, de a gazdafajok velük szemben mutatott változó fogékonyságára is magyarázatul szolgálhat.

Éppen ezért, vizsgálataink általános célja az volt, hogy a törzseket jellemző változatosságon belül próbáljunk törvényszerűségeket kimutatni, mivel csakis a megfelelő rendező elv felismerése teheti lehetővé a *P. multocida* populáción belül valóban létező és ható törzscsoportok körülhatárolását, melyek mind patogenitásukban, mind gazdafaj-specifitásukban elkülönülhetnek. A törzscsoportok célzott vizsgálatával pedig megnő az esélye a *P. multocida* valós virulencia és gazdafaj-adaptációs tényezőinek minél teljesebb felismerésének és azok célszerű diagnosztikai és oltóanyag-fejlesztési hasznosítására.

Célkitűzések

Az értekezés fő célja a heterogén *P. multocida* populáción belül törzscsoportok azonosítása és jellemzése volt, az alábbi részfeladatok megjelölésével:

- nagyszámú sertés-, nyúl- és baromfi-eredetű *P. multocida* törzs hagyományos és újabban leírt fenotipizáló módszerekkel való jellemzése, mely során olyan tulajdonságok meghatározására törekedtünk, melyek az egyes törzscsoportok összetartozására utalhatnak

- a törzsek szűkebb (baromfiból izolált) körében, változatos gazdafaji-eredet mellett, törzscsoportok létezését és/vagy a gazdafajokkal való összefüggését kívántuk alátámasztani teljes genomot érintő ERIC-PCR vizsgálattal

- a körülhatárolt törzscsoportok további jellemzését célirányos génvizsgálatokkal egészítettük ki olyan molekuláris markerek azonosítása céljából, melyek felhasználhatók a mezei izolátumok jellemzésére is.

Anyagok és módszerek

A felhasznált *P. multocida* törzsek:

Magyarország különböző területeiről származó sertés- (145), nyúl- (76) és baromfi-eredetű (17 házilúd, 20 házikacsa, 15 pulyka, 4 házityúk, 3 fácán, 2 pézsmaréce [*Cairina moschata*]) törzseket vizsgáltunk.

Módszerek

Fenotípusos jellegek vizsgálata

1, Fermentációs sajátosságok

A *P. multocida* törzsek fenotípusos tulajdonságait elsősorban hagyományos fermentáción alapuló biokémiai tipizálás során vizsgáltuk. Ennek keretén belül meghatároztuk a törzsek oxidáz, kataláz, ureáz, ornitin-dekarboxiláz aktivitását, indoltermelő és nitrát-redukáló képességét. Továbbá a különböző szénhidrátok (glükóz, laktóz, szacharóz, dulcit, szorbit, trehalóz, maltóz és xilóz) fermentációjára vonatkozó sajátosságát. A vizsgálatok eredményeinek tükrében a törzseinket alfajokba (subsp. *multocida*, subsp. *septica*, subsp. *gallicida*) és biotípusokba (1-14) soroltuk (Varga et al. 2007).

2, Antigén-sajátosságok

A szerológiai tipizálása során a törzsek poliszacharid-buroktípusát multiplex-PCR módszerrel (Sellyei et al. 2008a), a szomatikus szerotípusokat pedig agargél-precipitációs technikával határoztuk meg.

3, Antibiotikum-rezisztencia

A törzsek antibiotikum-érzékenységi vizsgálatát korongdiffúziós módszerrel, a CLSI/NCCLS M31-A3 (2008), állatokból izolált baktériumok antibiotikumokkal szembeni érzékenységének korongdiffúziós és hígítási vizsgálatára vonatkozó ajánlásainak megfelelően, végeztük el és értékeltük ki. Az antibiotikum-rezisztencia vizsgálatok 10 eltérő antibiotikum csoportban (Aminoglikozidok, β -laktám antibiotikumok, Klóramfenikolok, Quinolonok, Makrolidek, Nalidixsav származékok, Tetraciklinek, Trimetoprim származékok, Polipeptid antibiotikumok, Szulfonamidok), összesen 14-féle különböző antibiotikumra (apramicin, neomicin; penicillin; florfenikol, klóramfenikol; enrofloxacin, flumequin; eritromicin; oxolinsav; doxiciklin, tetraciklin; szulfametoxazol- trimetoprim; colistin; szulfonamidok) terjedtek ki. (Sellyei et al. 2009).

Genotípusos jellegek vizsgálata

A genotípusos vizsgálatainkat kisebb mintaszám mellett, 61 baromfiból izolált *P. multocida* törzsön végeztük el.

1, Teljes genom vizsgálat

A törzsek rokonsági viszonyainak feltérképezésére az enterális baktériumokra kidolgozott, a gének közötti nukleinsav szakaszokra jellemző, ismétlődő konzervatív szekvenciákon alapuló (ERIC)-PCR technikát alkalmaztuk. A kapott ujjlenyomat mintázatokat szoftveres (Fingerprinting II Informatix™ Software) csoportátlagot felhasználó, távolság-optimalizáló módszerrel (UPGMA) értékeltük ki (Sellyei et al. 2008b).

2, Génvizsgálatok

Az ERIC-PCR kiértékelése során kialakult törzscsoportok további jellemzéséhez célzott génvizsgálatokat terveztünk.

PCR-RFLP

Öt, a bakteriális sejtfelszínen előforduló sejt-komponenst kódoló génszakasz (*hyaDC*, *oma87*, *ompH*, *ptfA-hofB*, *ompA*) PCR – restrikciós fragment-hossz polimorfizmus (RFLP) vizsgálatát végeztünk el *DraI*, *BsrDI*, *PvuII* restrikciós enzimek felhasználásával.

Szekvenálás

Negyven, különböző földrajzi és törzscsoport-eredetű, változatos szerológiai sajátosságokkal rendelkező baromfi-eredetű törzsből felerősített *ptfA-hofB* génszakasz szekvenálását (BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit, ABI Prism 3100 Genetic Analyzer kapilláris szekvenáló) és többszörös szekvencia-illesztését (MultAlin V5.4.1) végeztük el.

Allél-specifikus PCR

A szekvencia illesztés alapján a *ptfA* gén 3'végi régiójában megmutatkozó szekvencia különbségek felhasználásával, a gén allél típusainak gyors kimutatására, allél-specifikus PCR reakciót hoztunk létre (Sellyei et al. 2010). A reakciót 32 törzsön teszteltük.

Eredmények

Fermentációs sajátosságok

A dulcit- és szorbit-fermentáció alapján meghatározott *P. multocida* alfajok előfordulása, gazdafajtól függetlenül, a *P. multocida* subsp. *multocida* dominanciáját mutatta a *P. multocida* subsp. *septica* fölött, ami a *P. multocida* subsp. *multocida* alfajba tartozó törzsek jelentős mértékű alkalmazkodóképességére utal. A két alfaj egymáshoz viszonyított aránya megközelítette az irodalmi adatokat (80%-20%), kivéve a házilúd-eredetű törzseket, ahol közel egyenlő számban fordultak elő. *P. multocida* subsp. *gallicida* alfajba tartozó törzseket, kis számban, a sertés-eredetű törzsek között találtunk.

A fermentációs-sajátosságok szélesebb körű vizsgálata a törzsek jelentős fenotípusos sokszínűségét mutatta, a házikacsa-eredetű törzsek kivételével, melyek igen egységesnek bizonyultak. A három gazdakörben összesen 10 fermentációs mintázatot (biotípust) tudtunk kimutatni. Közülük a leggyakoribb a 3-as, 6-os, 2-es és az 1-es biotípus volt. Az egyes gazdafajokból származó törzsek domináns fermentációs mintázatuk alapján két csoportra voltak oszthatók. Ennek megfelelően a törzsek elsősorban vagy a 3-as (és kisebb mértékben 2-es) biotípusba (ld. házilúd, pulyka), vagy az 1-es és 6-os biotípusba (ld. házikacsa, nyúl) tartoztak. Néhány jellemző fermentációs bélyeg illetve biotípus mint a 9-es és 13-as biotípus (ornitin-dekarboxiláz termelő képesség hiánya) egyes emlős-eredetű törzsekre vagy a 12-es biotípus (laktóz fermentáló típus) adott sertés-eredetű törzsekre volt jellemző.

Antigenitási sajátosságok

Vizsgálataink során a *P. multocida* törzseket jellemző poliszacharid-burok három típusát (A, D, F) tudtuk kimutatni. Mindhárom gazdakörben az A buroktípus előtérbe kerülését tapasztaltuk (baromfi: 93,5%, nyúl: 63% sertés: 41%). A D buroktípusú törzsek aránya ennek köszönhetően csökkent a sertés- eredetű törzsek közt (59%). Az eredendően pulyka-eredetű törzsekre jellemző F buroktípussal rendelkező törzsek száma viszont megnövekedett a nyúl-eredetű törzsek közt (25%).

A *P. multocida* törzsek antigén sajátosságait a burok és a szomatikus szerotípus együttesen határozza meg. A baromfi-eredetű törzseknél hét különböző szerotípust (A:1; A:3; A:3,5; A:4,5; F:1; F:4,5,[7]; F:10) tudtunk kimutatni, közülük az A:1 és az A:3 bizonyult a leggyakoribbnak. A feltehetőleg fokozott virulenciával rendelkező törzseket az A:1, a mérsékelt virulenciájúakat az A:3 törzsek képviselték. Egyedi szerotípusok csak a pulyka-eredetű törzsek között fordultak elő.

Antibiotikum-rezisztencia

A *P. multocida* a legtöbb antibiotikummal szemben érzékeny. Jelenlegi ismereteink szerint, antibiotikum-rezisztencia csak más baktériumfajtól felvett mechanizmusok révén jön létre a törzsekben. A törzsek antibiotikum-rezisztenciáért felelős mechanizmusok felvételére való hajlandósága utalhat az egyes törzscsoportok genetikai változásokra való fogékonyságában fennálló különbségekre. A baromfi-eredetű törzsek 54%-a rendelkezett valamilyen antibiotikum-rezisztenciával. E törzsek többsége (93%) 2-8 antibiotikummal szemben volt rezisztens. Leggyakrabban a nalidixsav és a szulfonamid származékokkal szembeni rezisztenciát tudtunk kimutatni. Figyelemre méltó volt a neomicin-, vagy tetraciklinrezisztencia is (29 - 32%). Alacsony számban fordult elő azonban doxiciklin-, penicillin- (7%) valamint enrofloxacin-, florfenikolrezisztencia (3,5%). A különböző antibiotikum-rezisztenciák az időben előrehaladva és egyes gazdafajokból származó törzsek esetén (házikacsa, házilúd) a halmozódás jeleit mutatták. A multirezisztens törzsek 82%-a az A:1 típusba tartozott.

A törzsek rokonsági viszonyai

Az ERIC-PCR által létrehozott ujjlenyomat-mintázatok értékelésének eredményeként hasonlósági indexen alapuló fenogramot kaptunk. A fenogram, 75%-os hasonlósági index mellett, a különböző gazdafaji-eredetű törzscsoportok elkülönülését jelezte. Négy nagy klasztert lehetett körülhatárolni (I, II, III, IV). Ennek értelmében a pézsmaréce-eredetű törzsek (I) egyértelműen elváltak (66%-os hasonlósági index) az egyéb récefélékből (házikacsa, házilúd – III klaszter), sőt a tyúkalkatúakból (házityúk, fácán, pulyka – II és IV klaszter) származó törzsektől is. Az egyes csoportokon belül földrajzi megosztottság is kimutatható volt. A tyúkalkatú madaraktól származó törzseket magukba foglaló két klaszter (II, IV) a Dunától keletre és nyugatra eső országrész, egymástól független területeit fedte le. Míg a házikacsa- és házilúd-eredetű törzseket magában foglaló klasztert alkotó subklaszterek (III/1, 2, 3, 4a, 4b) a Tisza felső- és középső folyása, valamint a Duna-Tisza köze mentén oszlottak meg. A III klaszter alcsoportjai részben gazdafaji (III/1, 4b – házikacsa; III/2, 3, 4a - házilúd), részben földrajzi megosztottságot mutattak. A két, dominánsan házikacsa-eredetű törzseket tartalmazó alcsoport (III/1, 4b) területileg (Duna-Tisza köze) átfedett.

A fenogrammon körülhatárolt klaszterek, elsősorban a récefélékből származó A:1 és A:3 törzsek gazdafaj független kohézióját mutatta.

Génvizsgálatok

A célzott génvizsgálatok során öt különböző sejtfelszíni fehérjét kódoló gén PCR-RFLP vizsgálatát végeztük el.

Az adott megközelítésben a *hyaDC* és az *oma87* génszakasz vizsgálata alapján a törzsek egységesnek mutatkoztak, az *ompA* és a *ptfA-hofB* génszakasz esetében a pézsmaréce-eredetű törzs egyaránt elkülönült az egyéb baromfi-eredetű törzstől.

Számottevő különbségek az *ompH* génszakasz vizsgálatokor mutatkoztak meg. Öt különböző hasítási típust (I., II., III., IV., VI.) sikerült azonosítanunk, melyek a törzsek antigenitási sajátágaival, elsősorban a különböző szerotípusokkal mutattak összefüggést. A kapott hasítási mintázatok azonban nem voltak a törzseinket jellemző szerotípusokkal minden esetben egyértelműen azonosíthatók, de az A:1 szerotípusú törzsek és az egyedi szerotípust képviselő pulyka törzsek jellegzetes hasítási mintázattal rendelkeztek.

A 4-es típusú fimbria kisalegységét kódoló *ptfA* génszakaszt érintő szekvenálási vizsgálatok két, a gén 3' végi régiójában egyértelműen elkülönülő allélváltozat létezését jelezték. A génszakasz konzervatív szekvenciális eltérései az egyes típusok (A és B allél) elkülönítésére szolgáló allél-specifikus PCR reakció kidolgozását tette lehetővé (Sellyei et al. 2010). Az e módszerre alapozott vizsgálatok eredményei szerint dominánsan az A:1 típusú törzsek rendelkeznek a gén A allél típusával, míg az egyéb törzsek a gén B allél változatát hordozzák.

Főbb eredmények összefoglalása:

Munkánk során:

- összefüggéseket tudtunk kimutatni a *P. multocida* törzsek egyes fenotípusos sajátosságai, mint az indoltermelés, vagy az ornitin-dekarboxiláz enzim hiánya és a laktóz fermentáció képessége, és a gazdafaji eredete között
- ERIC-PCR módszer segítségével *P. multocida* törzsek között, mind gazdafaj-adaptációs, mind földrajzi eredet tekintetében, elkülönülő törzscsoportot sikerült azonosítanunk
- az *ompH* gén PCR-RFLP vizsgálataival a hagyományos szerológiai vizsgálatok eredményeit kiegészítő, a törzsek jellemzésére alkalmas rendszert hoztunk létre
- mind az ERIC-PCR, mind az *omaA* és *hofB* (*ptfA* génszakasz) gének PCR-RFLP vizsgálataival kimutattuk a pézsmaréce-eredetű törzsek elkülönülését az egyéb baromfi-eredetű törzsektől
- szekvenciálisan jellemeztük a *ptfA* gén (4-es típusú fimbria kisaegység) két allélvariánsát a magyarországi baromfi-eredetű *P. multocida* populáción belül
- a *ptfA* gén 3' végi régiójában megmutatkozó szekvenciális különbségek felhasználásával, az allélvariánsok (A és B allél) gyors és egyszerű felismerésére alkalmas allél-specifikus PCR reakciót dolgoztunk ki
- a fent említett módszerek segítségével elkülönítettük és jellemeztük egy, a *P. multocida* törzseken belül dominánsan az A:1 törzseket magában foglaló, feltehetőleg fokozottan virulens törzscsoportot

Közlemények

Cikkek:

1. Boglárka Sellyei, K. Bányai, T. Magyar: Characterization of the *ptfA* gene of avian *Pasteurella multocida* strains by allele specific polymerase chain reaction. J. Vet. Diagn. Invest. (közlésre benyújtva)
IF: 1,403
2. Boglárka Sellyei; Enikő Wehmann, L. Makrai, T. Magyar: Characterisation of *Pasteurella dagmatis*-like isolates recovered from the feline oral cavity. Vet. Microbiol. (közlésre benyújtva)
IF:2,370
3. Zs. Varga, B. Sellyei, É. Ivanics, T. Magyar: Distinguishing between *Pasteurella multocida* strains responsible for fowl cholera and pasteurellosis cases in geese
IF:
4. Boglárka Sellyei, Zsuzsanna Varga, Katalin Szentesi-Samu, Éva Kaszanyitzky and Tibor Magyar: Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from swine and poultry. Acta Vet., 57 (3). 357-367, 2009.
IF:0,624
5. Boglárka Sellyei, Zsuzsanna Varga, Éva Ivanics, T. Magyar: Characterisation and comparison of avian *Pasteurella multocida* strains by conventional and ERIC-PCR assays. Acta Vet., 56 (4). 429-440, 2008b.
IF:0,624
6. Sellyei Boglárka, Varga Zsuzsanna, Samu Péterné, Magyar Tibor: Nyúlból izolált *Pasteurella multocida* törzsek jellemzése (**Characterisation of *Pasteurella multocida* strains isolated from rabbits**). MÁL., 130. 396-403, 2008a.
IF:0,088
7. Zsuzsanna Varga, Boglárka Sellyei és T. Magyar: Phenotypic and genotypic characterisation of *Pasteurella multocida* strains isolated from pigs in Hungary. Acta Vet., 55 (4). 425-434, 2007.
IF:0,474

Előadások és absztraktok:

2nd Central European Forum for Microbiology , 2009 okt. 7-9., Keszthely

Zs. Varga, B. Sellyei, É. Ivanics, T. Magyar: Comparison of avian *Pasteurella multocida* isolates by conventional characterisation methods and by their outer membrane protein pattern. Acta Microbiol. Imm. Hung., Volume 56, 2009, Supplement. Pp.257

Magyar Mikrobiológiai Társaság Nagygyűlése, 2008 okt.14-17., Keszthely

B. Sellyei, Zs. Varga, É. Ivanics, T. Magyar: Characterisation of avian *Pasteurella multocida* isolates with some molecular methods. Acta Microbiol. Imm. Hung., Volume 56, 2009, Supplement. Pp.88

Magyar Mikrobiológiai Társaság Nagygyűlése, 2006 okt.18-20., Keszthely

B. Sellyei, Zs. Varga, É. Ivanics, T. Magyar: Traditional and molecular characterisation of *Pasteurella multocida* strains isolated from various animal species in Hungary. Acta Microbiol. Imm. Hung., Volume 53 (3), 2006, Supplement. Pp.337

1st Central European Forum for Microbiology , 2005 okt. 26-28., Keszthely

B. Sellyei, Zs. Varga, T. Magyar: Comparative study on *Pasteurella multocida* isolates using traditional and molecular diagnostic method. Acta Microbiol. Imm. Hung., Volume 52, 2005, Supplement. Pp.140

Akadémiai beszámolók:

2010. Sellyei Boglárka, Enikő Wehmann, Makrai László, Magyar Tibor: Egyedi, macska szájlóra eredetű *Pasteurella dagmatis*-szerű izolátumok fenotípusos és genotípusos jellemzése

Varga Zsuzsanna, Sellyei Boglárka, Ivanics Éva, Magyar Tibor: Libákból izolált eltérő patogenitású *Pasteurella multocida* törzsek összehasonlító vizsgálata

2009. Sellyei Boglárka, Varga Zsuzsanna, az ÁO Tud. Kandidátusa, Ivanics Éva és Magyar Tibor, az ÁO Tud. Kandidátusa: Baromfi eredetű *Pasteurella multocida* izolátumok molekuláris jellemzése

Varga Zsuzsanna, az ÁO Tud. Kandidátusa, Sellyei Boglárka, Ivanics Éva és Magyar Tibor, az ÁO Tud. Kandidátusa. Madarakból izolált *Pasteurella multocida* törzsek külső membránfehérjéinek összehasonlító vizsgálata

Makrai László, Sellyei Boglárka, Varga Zsuzsanna, az áó tud kandidátusa, Lisanne Willimzing, Jánosi Katalin, Gyuranecz Miklós és Magyar Tibor, az áó tud kandidátusa: Különböző eredetű *Pasteurella multocida* törzsek anyagcsere ujjlenyomatának vizsgálata

2008. Sellyei Boglárka, Varga Zsuzsanna, az áó tud kandidátusa, Ivanics Éva és Magyar Tibor, az áó tud kandidátusa: Magyarországi baromfi eredetű *Pasteurella multocida* izolátumok összehasonlító vizsgálata

Varga Zsuzsanna, az áó tud kandidátusa, Sellyei Boglárka, Juhászné Kaszanitzky Éva, PhD, és Magyar Tibor, az áó tud kandidátusa: Magyarországi sertés- és nyúlállományokból származó *Pasteurella multocida* izolátumok összehasonlító vizsgálata

2006. Sellyei Boglárka, Varga Zsuzsanna, az áó tud kandidátusa és Magyar Tibor, az áó tud kandidátusa: Magyarországi *Pasteurella multocida* izolátumok összehasonlító vizsgálata hagyományos és újszerű diagnosztikai módszerek felhasználásával

Poszterek:

MED-VET-NET 5th Annual Scientific Meeting, 2009 jún. 3-6., San Lorenzo de El Escorial, Madrid, Spain

B. Sellyei, L. Makrai, T. Magyar: Characterisation of *Pasteurella dagmatis* strains. 5th Annual Scientific Meeting Abstract Book Pp. 48-49., Med-Vet-Net 3-6 June 2009, Madrid, Spain.

MED-VET-NET 4th Annual Scientific Meeting, 2008 jún. 11-14., San Malo, France

T. Magyar, B. Sellyei, Zs. Varga: Epidemiological study on avian strains of *Pasteurella multocida* in Hungary. 4th Annual Scientific Meeting Abstract Book Pp.19, Med-Vet-Net11-14 June 2008, St Malo, France

15th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, 2007 júl. 18-20., Budapest

B. Sellyei, Zs. Varga, É. Ivanics, T. Magyar: Diversity of avian *Pasteurella multocida* isolates in Hungary. Acta Microbiol. Imm. Hung., Volume (54), 2007, Supplement. Pp.114

Köszönetnyilvánítás

E helyen szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, **Dr. Magyar Tibornak**, az MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézete igazgatójának, aki az általa vezetett Légzőszervi bakteriológia témacsoportban helyet biztosított számomra, és ezzel lehetővé tette a disszertáció elkészítését. Köszönettel tartozom a témaválasztásban és kidolgozásban nyújtott segítségéért, szakmai tanácsaiért, valamint mind a dolgozat, mind a munkám során elkészült egyéb publikációk értékének növelése érdekében tett észrevételeiért és kritikáiért.

Hálás köszönettel tartozom **Dr. Varga Zsuzsanna** kolleganőmnek, aki szakmai szemléletemet formáló tanácsai mellett a laboratóriumi munka során is mindig segítségemre volt, mindvégig hitt bennem és a munkánk sikerében.

Köszönet illeti **Dr. Wehmann Enikő** kolleganőmet, aki a munkám során felmerülő, molekuláris módszereket érintő problémák megoldásában és az ezzel kapcsolatos számítógépes alkalmazások elsajátításában nyújtott segítő kezet.

Továbbá, köszönöm témacsoportunk többi tagjának, **Hegedűs Évának**, **Schihlgruberné Oryszcsák Katalinnak**, **Khayer Bernadettnek** és **Dr. Szabó Rékának**, hogy szükség szerint gyakorlati és elméleti kérdésekben segítségemre voltak.

Köszönettel tartozom **Dr. Ivanics Évának**, **Juhászné Dr. Kaszanyitzky Évának** és **Samu Péterné Dr. Szentesi Katalinnak**, az MgSzH Központ Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság munkatársainak az osztályukon izolált *P. multocida* törzsek rendelkezésünkre bocsátásáért, és az az antibiotikum-rezisztencia vizsgálatok elvégzése során nyújtott segítségükért. Végül, de nem utolsó sorban, köszönöm **Dr. Nógrády Noéminek**, az ERIC-PCR ujjlenyomat-mintázatok szoftveres kiértékelésében és **Dr. Bányai Krisztiánnak** a szekvenálásban és az allél-specifikus PCR kidolgozásában nyújtott szakmai segítségét.