

**Állatorvostudományi Egyetem
Állatorvostudományi Doktori Iskola**

A Riemerella anatipestifer hazai előfordulása, a törzsek jellemzése klasszikus és molekuláris módszerekkel

PhD értekezés

dr. Gyuris Éva

2019

Témavezető:

.....

Dr. Magyar Tibor

MTA ÁTK Állatorvos-tudományi Intézet

Készült 8 példányban. Ez a(z)sz. példány.

.....

dr. Gyuris Éva

Tartalomjegyzék

Rövidítésjegyzék	4
1. Összefoglalás.....	5
Summary.....	7
2. Bevezetés	9
3. Irodalmi áttekintés	11
3.1 A <i>R.</i> anatiszterifera rendszertani besorolása.....	11
3.2 Történelmi áttekintés	11
3.3 A kórokozó tulajdonságai.....	13
3.3.1 Morfológia	13
3.3.2 Tenyésztés.....	13
3.3.3 Biokémiai tulajdonságok.....	15
3.4 Az anatiszterifera betegség járványtana	15
3.4.1 Előfordulás	15
3.4.2 Gazdaspektrum	15
3.4.3 Fertőződéshatás	16
3.4.4 Megbetegítő képesség	17
3.4.5 Virulenciafaktorkok.....	18
3.4.6 Kórfejlődés	21
3.5 Klinikai tünetek és kórbonctani elváltozások	21
3.5.1 Lappangási idő.....	21
3.5.2 Klinikai tünetek	21
3.5.3 Kórbonctani elváltozások.....	22
3.5.4 Kórszöveti elváltozások.....	22
3.6 Kórjelzés.....	23
3.7 A kórokozó jellemzése	25
3.7.1 Szerotipizálás	25
3.7.2 Molekuláris tipizáló módszerek.....	26
3.8 A betegség elleni védekezés	29
3.8.1 Gyógykezelés.....	29
3.8.2 Megelőzés.....	33
3.8.3 Vakcinák alkalmazása	33
4. Anyag és módszer.....	37
4.1 Mintagyűjtés.....	37

4.1.1 A minták eredete	37
4.2 Járványtani adatok.....	37
4.3 Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok.....	38
4.4 Bakteriológiai vizsgálatok.....	38
4.4.1 A <i>R. anatipestifer</i> izolátumok azonosítása	38
4.5 A felhasznált baktériumtörzsek	39
4.6 A törzsek fenotípusának meghatározása	39
4.6.1 Telepmorfológiai vizsgálatok	39
4.6.2 Biokémiai tulajdonságok vizsgálata	39
4.6.3 A növekedés körülményeinek vizsgálata	40
4.6.4 A hemolízis vizsgálata	40
4.6.5 A szerotípus meghatározása	40
4.6.6 Az antibiotikum-érzékenység vizsgálata	41
4.7 A törzsek genotípusának meghatározására irányuló vizsgálatok	42
4.7.1 DNS-izolálás.....	42
4.7.2 Plazmidizolálás.....	43
4.7.3 Polimeráz láncreakciók.....	43
4.7.4 Az ERIC-PCR vizsgálatok eredményeinek elemzése	45
5. Eredmények	46
5.1 Járványtani adatok.....	46
5.2 Kórbonctani vizsgálatok	47
5.2.1 Kórbonctani vizsgálatok lúdban és kacsában	47
5.2.2 Kórbonctani vizsgálatok pulykában.....	50
5.3 Kórszövettani vizsgálatok.....	51
5.4 A baktériumok izolálása és azonosítása	53
5.5 A baktériumok fenotípusos vizsgálatainak eredményei	55
5.5.1 Biokémiai tulajdonságok vizsgálata	55
5.5.2 A növekedés körülményeinek vizsgálata	55
5.5.3 A hemolízis vizsgálata	56
5.5.4 A szerotípus meghatározása	56
5.5.5 Antibiotikum-érzékenység meghatározása	58
5.6 A baktériumok genotípusos vizsgálatainak eredményei	60
5.6.1 Plazmidizolálás.....	60

5.6.2 ERIC-PCR.....	61
6. Megvitatás.....	67
6.1 Járványtani adatok.....	67
6.2 Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok.....	68
6.2.1 Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok lúdban.....	68
6.2.2 Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok kacsában.....	69
6.2.3 Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok pulykában.....	69
6.3 A baktériumok izolálása és biokémiai tulajdonságai.....	70
6.4 A növekedés körülményeinek vizsgálata.....	72
6.5 A hemolízis vizsgálata.....	72
6.6 A szerotípus meghatározása.....	73
6.7 Antibiotikum-érzékenység meghatározása.....	77
6.8 Plazmidizolálás.....	80
6.9 ERIC-PCR.....	82
6.10 Következtetések.....	84
7. Új tudományos eredmények.....	87
8. Irodalomjegyzék.....	88
9. A doktori kutatás eredményeiből született közlemények.....	102
9.1 Lektorált tudományos folyóiratban megjelent publikációk.....	102
9.2 A doktori kutatás témájához nem kapcsolódó publikációk.....	102
9.3 Kutatási témában tartott előadások.....	103
9.4 Egyéb témában tartott előadások.....	103
10. Köszönetnyilvánítás.....	104
11. Mellékletek.....	105

Rövidítésjegyzék

AGP	agargél-precipitáció	agar gel precipitation
bp	bázispár	base pair
CLSI		Clinical and Laboratory Standards Institute
DMSO	dimetil-szulfoxid	dimethyl-sulphoxide
DNS	dezoxiribonukleinsav	deoxyribonucleic acid
dNTP	dezoxinukleotid-trifoszfát	deoxynucleotide triphosphate
EDTA	etiléndiamin tetraecetsav	Ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA	enzimkött immunoassay vizsgálat	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ERIC	enterobaktériumokban leírt repetitív intergénikus konszenzus szekvencia	Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Sequence
H.E.	hematoxilin-eozin festés	hematoxylin and eosin staining
MIC	minimális gátló koncentráció	minimal inhibitory concentration
mtsai.	munkatársai	<i>et alii</i>
PBS	foszfáttal pufferelt sóoldat	phosphate buffered saline
PCR	polimeráz lánreakció	polymerase chain reaction
PFGE	pulzáló mezejű gélelektroforézis	pulsed field gel electrophoresis
RFLP	restrikciós fragmenthossz polimorfizmus	restriction fragment length polymorphism
rRNS	riboszomális ribonukleinsav	ribosomal ribonucleic acid
REP-PCR	repetitív extragenikus palindrom PCR	repetitive extragenic palindromic PCR
SPF	specifikus kórokozótól mentes	specific pathogen free
TAE	trisz-acetát-EDTA puffer	tris-acetate-EDTA buffer
TBE	trisz-bórsav-EDTA puffer	tris-borate-EDTA buffer
XDR	kiterjedten vagy extrém rezisztens	extensively drug-resistant

1. Összefoglalás

A *Riemerella anatipestifer* okozta anatipestifer betegség világszerte előfordul, ahol intenzív körülmények között tartanak ludat és kacsát. Az említett fajokat érintő egyik leggyakoribb fiataalkori megbetegedés, de nagy veszteséget eredményezhet pulykaállományokban is. A megemelkedett mortalitáson túl jelentős gazdasági kárt okoz, többek között a testtömeg-gyarapodás csökkenése, valamint a gyógykezelés és a vakcinázás költségei miatt.

Munkánk célja egyrészt az anatipestifer betegséggel kapcsolatos klinikai, kórbonctani, kórszövettani és kóroktani vizsgálatok eredményeinek összefoglalása volt természetes körülmények között megbetegedett lúdban, kacsában és pulykában. Másrészt a különböző gazdafajokból izolált és eltérő földrajzi területekről származó *R. anatipestifer* törzsek fenotípus- és genotípusjellemzőkkel történő jellemzését tűztük ki célul.

A vizsgálati mintákat a hazai lúd-, kacsá- és pulykaállományokból a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóságába (NÉBIH-ÁDI) diagnosztikai vizsgálatra érkezett növendék madarak képezték. A beküldött állatokat kórhatározás céljából boncoltuk, majd kórszövettani és bakteriológiai vizsgálatokat végeztünk.

Növendék lúdban és kacsában az anatipestifer betegség az egyik leggyakrabban diagnosztizált megbetegedés volt 2010 és 2014 között. Lúdban 5 napos és 17 hetes kor között, kacsában 3 és 6,5 hetes kor között jelentkezett. Kórbonctani és kórszövettani vizsgálattal mindkét fajban lépduzzanatot, savós-fibrines szívburok-, légzsák- és hashártyagyulladást, hurutos bélgyulladást, savós-fibrines agyburokgyulladást, esetenként hurutos tüdőgyulladást, a fej bőr alatti kötőszövetének oedemáját és bővérűségét, savós-fibrines ízületgyulladást és savós-fibrines petevezető-gyulladást lehetett látni. Nyolc hetesnél idősebb lúdban a kórokozó általában csak helyi elváltozást, hurutos tüdőgyulladást okozott.

Az anatipestifer betegség pulykában kifejezetten ritka, a vizsgált időszakban csak hét esetben diagnosztizáltuk. A megbetegedés 12 és 19 hetes kor között jelentkezett. Két esetben a baktérium szeptikémiát vagy bakteriémiát okozott és a fentiekhez hasonló elváltozásokat láttunk. A kórokozó leggyakrabban helyi elváltozásokat, a koponyacsontban gennyos osteomyelitist és savós-gennyos agyburokgyulladást okozott. Pulykában *R. anatipestifer* fertőzéssel kapcsolatban koponyacsont-gyulladást korábban még nem írtak le.

A vizsgálatokba bevont törzsek fajspecifikus polimeráz láncreakció (PCR) segítségével történő azonosítását követően megvizsgáltuk a fenotípusos tulajdonságaikat. A biokémiai próbák elemzése során a *R. anatipestifer* törzsek csak kistípusú változatosságot mutattak.

Vizsgáltuk a baktériumtörzsek oxidáz-, katalázaktivitását, indoltermelő, nitrátredukáló, ureabontó képességét. A baktériumok szénhidrátbontó-képességét glükóz-, laktóz- és szacharóztartalmú táplevesben határoztuk meg. A *R. anatipestifer* törzsek oxidáz- és kataláztesztben pozitív, míg indol- és nitráttesztben és laktózbontásban negatív eredményt mutattak. Urea-, glükóz- és szacharózbontásban az általában negatív eredményt adó törzsek mellett néhány törzs kétes vagy pozitív eredményt mutatott.

Vizsgáltuk a törzsek növekedési sajátosságait aerob körülmények között és megemelt széndioxid koncentráció mellett is. A törzsek 24%-ának növekedését a megemelt széndioxid koncentráció jelentősen elősegítette.

A *R. anatipestifer* törzsek szerotípusát agargél-precipitációs próbával határoztuk meg. Az eddig leírt 21 szerotípus közül a törzsek kétharmada az 1-es szerotípusba tartozott (64,5%). Kisebb számban fordultak elő az 1,7-es (16,9%), 2-es (7,2%), 4-es (3,6%) és 7-es (4,8%) szerotípusba tartozó törzsek. Két törzset 10-es (1,2%), egy-egy törzset pedig 13-as (0,6%), 17-es (0,6%) és 18-as (0,6%) szerotípusúként azonosítottunk. Egyes szerotípusok csak lúd vagy csak kacsaaeredetű törzsekben fordultak elő.

A *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum-érzékenységét Kirby-Bauer korongdiffúziós módszerrel vizsgáltuk. A legtöbb törzs érzékeny volt florfenikolra (98%), ampicillin/amoxicillinre (95,4%), penicillinre (93,4%), szulfametoxazol-trimetoprimra (90,8%) és spektinomycinre (86,8%). A törzsek nagy arányban rezisztensek voltak flumekvinnel (93,4%), tetraciklinnel (90,8%), eritromicinnel (75,5%) és sztreptomocinnel (70,9%) szemben. Gentamicinnel, doxiciklinnel, szulfonamidokkal és enrofloxacinnal szemben változatos eredményeket kaptunk. A rezisztencia mértéke kisfokú eltérést mutatott az eltérő földrajzi területekről származó és a különböző években izolált törzsek között.

ERIC-PCR (Enterobaktériumokban leírt repetitív intergénikus konszenzus szekvencia) módszerrel a *R. anatipestifer* törzsek között tizenhét mintázatot különítettünk el. A törzsek nagy része a két, egymáshoz hasonló A és B ERIC-PCR típusba tartozott, a C és F típusba is több törzset soroltunk, míg a többi típusba csak néhány törzs tartozott. Tizenkettő ERIC-PCR mintázat csak a lúderedetű törzsekre volt jellemző. A lúderedetű törzsek változatosabb mintázatot mutattak, mint a kacsából izolált törzsek. Az ERIC-PCR típusok és a szerotípusok között szoros korrelációt figyeltünk meg. Az 1-es szerotípusú törzsek 94,4%-a az A ERIC-PCR típusba tartozott, a fennmaradó hat törzs öt különböző ERIC-PCR típust (D, G, L, M és O) képviselt. A 7-es szerotípusú törzsek a C ERIC-PCR típusba tartoztak, míg az 1,7-es szerotípusúak a B ERIC-PCR típust képviselték. A 2-es 4-es és 10-es szerotípusú törzseket az ERIC-PCR kettő-négy további csoportra osztotta.

Summary

The anatipestifer disease caused by *Riemerella anatipestifer* occurs all over the world where intensive goose or duck production is practiced. It is one of the most common disease in goslings and ducklings, however, it can cause severe losses in turkey flocks as well. It causes severe economic losses through high mortality rate, reduced growth performance, and the costs of antibiotic treatment and vaccination.

The aim of our work was to summarize the results of the clinical, pathological, histopathological and etiological examinations in connection with anatipestifer disease in geese, ducks and turkeys. Furthermore, our goal was to characterize *R. anatipestifer* strains of different host and geographical origin by pheno- and genotyping methods.

Birds from goose, duck and turkey flocks submitted for routine laboratory investigation to the National Food Chain Safety Office - Veterinary Diagnostic Directorate were involved in the study. After detailed gross pathological examination of the animals, histopathology and bacteriological examinations were performed.

The anatipestifer disease is one of the most frequently diagnosed disease in goslings and ducklings between 2010 and 2014. It occurred in 5-day to 17-week old geese and 3 to 6.5-week old ducks, respectively. Enlarged spleen, sero-fibrinous pericarditis, perihepatitis and airsacculitis, catarrhal enteritis, sero-fibrinous meningitis and occasionally catarrhal pneumonia, oedema and hyperaemia of the subcutaneous connective tissue over the cranium, sero-fibrinous arthritis and caseous salpingitis could be seen in both species by pathology and histopathology examination. *R. anatipestifer* caused generally just local lesions, catarrhal pneumonia in 8 to 17-week old geese.

The anatipestifer disease is rather rare among turkeys, it was diagnosed only in seven cases between 2010 and 2014. The disease occurred in 12 to 19-week old birds. In two cases the bacterium caused septicaemia or bacteraemia and similar lesions were seen as described above. In the majority of the cases, *R. anatipestifer* caused only local lesions such as purulent osteomyelitis of the cranium and seropurulent meningitis. Purulent osteomyelitis in the cranium caused by *R. anatipestifer* infection has not been previously reported in turkeys.

The identification of the examined strains was confirmed by a species-specific polymerase chain reaction (PCR), then the phenotypic properties of the strains were examined. The *R. anatipestifer* strains showed low variability in the biochemical tests. They were examined for oxidase and catalase activity, production of indole, urease, nitrate reductase. The ability of sugar fermentation such as glucose, lactose and saccharose was examined in liquid media. The

R. anatipestifer strains were positive in oxidase and catalase tests and negative in indole, nitrate tests and lactose fermentation. The majority of the strains were negative in urea tests, glucose and saccharose fermentation, but some strains showed positive or uncertain result.

The growth requirements of the strains were examined in aerob condition and in an atmosphere containing 5% carbon dioxide. The growth of the 24 percent of the strains was more abundant with increased carbon dioxide concentration.

The *R. anatipestifer* strains were serotyped using agar-gel precipitation test. Two-thirds of the strains (64.5%) belonged to serotype 1 of the presently known 21 serotypes. Fewer strains belonged to serotype 1,7 (16.9%), serotype 2 (7.2%), serotype 4 (3.6%) and serotype 7 (4.8%). Two strains were determined as serotype 10 (1.2%), while serotype 13, 17, and 18 were present in one strain each (0.6%). Some serotypes occurred only in strains from geese or ducks.

The antibiotic susceptibility of *R. anatipestifer* strains were examined by the Kirby-Bauer disk-diffusion method. The majority of the strains were susceptible to florfenicol (98%), ampicillin/amoxicillin (95.4%), penicillin (93,4%), sulphamethoxazole-trimethoprim (90,8%) and spectinomycin (86,8%). The highest resistance rates were observed for flumequine (93,4%), tetracycline (90,8%), erythromycin (75.5%) and streptomycin (70,9%). The antibiotic susceptibility of the strains to gentamicin, doxycycline, sulphonamide compounds and enrofloxacin was variable. The resistance rates showed slight differences depending on geographical origin or year of isolation.

The *R. anatipestifer* strains showed seventeen distinct patterns with ERIC-PCR. The majority of the strains belonged to two closely related ERIC-PCR types (type A and B), some strains belonged to type C and F, while the rest of the types contained only a few strains in each. Twelve ERIC-PCR types were found only in strains isolated from geese. The goose origin strains showed more diverse patterns than the strains from ducks. A correlation could be seen between ERIC-PCR patterns and serotypes. The majority of serotype 1 strains (94.4%) belonged to ERIC-PCR type A, whereas the remaining six strains represented five different ERIC-PCR types (type D, G, L, M and O). Serotypes 1,7 and 7 corresponded to ERIC-PCR types B and C, respectively. Serotypes 2, 4 and 10 could be subdivided by the ERIC-PCR showing 2 – 4 patterns within each of these serotypes.

2. Bevezetés

A *Riemerella anatipestifer* széles körben elterjedt kórokozó, minden országban előfordul, ahol intenzív körülmények között tartanak vízibaromfit, így hazánkban is gyakori. A *R. anatipestifer* széles gazdaspektrummal rendelkezik. Elsősorban nyolchetesnél fiatalabb kacsákban és libákban idéz elő anatipestifer betegséget, de súlyos veszteségeket okozhat pulykaállományokban is. A betegséget leírták már csirkében, fácánban, fogolyban, gyöngytyúkban, fűrjben és vadon élő vízimadarokban, sirályban, hattyúban és különböző récefajokban is. A betegség megjelenéséhez hajlamosító tényezőkre van szükség, ez lehet a fiatal életkor, a nem megfelelő higiénia, tartási, takarmányozási hibák, mycotoxicosis vagy társfertőzések. Heveny esetben a beteg madarak elesettek, könnyezés, orrfolyás, tüszögés, híg, zöldes hasmenés, valamint idegrendszeri tünetek, fejremegés, mozgászavar figyelhető meg. Idült esetben sántaságot, fejlődésbeli visszamaradást láthatunk. A legszembetűnőbb kórbonctani elváltozás a savós-fibrines szívburok-, légzsák- és hashártyagyulladás, lépduzzanat és hurutos bélgyulladás. Esetenként hurutos tüdőgyulladás, savós-fibrines petevezető-gyulladás és savós-fibrines ízületgyulladás is kialakulhat.

Bár a magyar fogyasztói szokásokra kevésbé jellemző a kacsá- és a libahús fogyasztása, több milliós kacsá- és libaállományunk jó felvevőpiacra talál Nyugat-Európában, ezzel jelentős bevételt hozva országunknak. A vízibaromfi sokoldalúan hasznosítható, a hús, tömés esetén a máj és a toll is értékesíthető. Az anatipestifer betegség nagy gazdasági jelentőségű, megjelenésekor 10-75% mortalitással számolhatunk, további gazdasági kárt jelent a csökkent testtömeg-gyarapodás, a gyógykezelés, vakcinázás költsége és a vágóhídi kobzások.

A dolgozat célja egyrészt az anatipestifer betegséggel kapcsolatos klinikai, kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok eredményeinek összefoglalása természetes körülmények között megbetegedett vízibaromfiban és pulykában. Másrészt az anatipestifer betegség előfordulási gyakoriságát kívántuk felderíteni a hazai liba-, kacsá- és pulykaállományokban.

Vizsgálataink célja továbbá a hazai baromfiállományokból *R. anatipestifer* törzsek izolálása és egy törzsgyűjtemény létrehozása volt. Munkánk során az igen elterjedt *R. anatipestifer* faj eltérő földrajzi területekről és különböző gazdafajokból izolált törzseit jellemeztük és csoportosítottuk különböző fenó- és genotipizáló módszerekkel. Először meghatároztuk az izolált kórokozók fenotípusos tulajdonságait, megvizsgáltuk, hogy a talált különbségek összefüggnek-e az izolálás helyével, idejével vagy a gazdafaji eredettel. Majd molekuláris tipizáló módszerekkel jellemeztük törzseinket, a molekuláris technikák segítségével elemeztük a

törzseink genetikai állományának változatosságát és a módszer felbontóképességét. Megvizsgáltuk, hogy a törzsek genotípusos tulajdonságai eltérnek-e időben, térben vagy különböző gazdafajokban.

A *R. anatipestifer* intenzíven kutatott kórokozó, de kevés a nagy mintaszámú törzsgyűjteményt többféle feno- és genotipizáló módszerrel vizsgáló átfogó tanulmány. Eredményeink a kórokozó és a betegség jobb megismeréséhez járulnak hozzá, ami a tudományos ismeretek bővítésén túl előfeltétele a jelentős gazdasági veszteségeket okozó megbetegedés elleni korszerűbb és hatékonyabb diagnosztikai és védekezési eljárások kidolgozásának is.

3. Irodalmi áttekintés

3.1 A *R. anatipestifer* rendszertani besorolása

A *Riemerella*, *Ornithobacterium*, *Coenonia*, *Cytophaga*, *Flexibacter*, *Chryseobacterium* (korábban *Flavobacterium*), *Capnocytophaga*, *Bergeyella* (korábban *Weeksella*) nemzetségek több más nemzetséggel együtt az V. rNS szupercsaládba tartoznak, melyek külön lezármazási ágat alkotnak a Gram-negatív baktériumok között (Bernardet és mtsai., 1996, Segers és mtsai., 1993; Subramaniam és mtsai., 1997, Vandamme és mtsai., 1999). Ezen belül a *R. anatipestifer* a *Flavobacteriaceae* családba tartozik több madárpatógén baktériumfajjal együtt, mint az *Ornithobacterium rhinotracheale* és a *Coenonia anatina*. Legközelebbi rokonságot a *Bergeyella zoohelcum* baktériumfajjal mutatja (Subramaniam és mtsai., 1997; Vandamme és mtsai., 1994, Vandamme és mtsai., 1999).

A *R. anatipestifer* pontos rendszertani besorolása a következő: Baktériumok országa, *Bacteroidetes/Chlorobi* csoport, *Bacteroidetes* törzs, *Flavobacteriia* osztály, *Flavobacteriales* rend, *Flavobacteriaceae* család, *Riemerella* nemzetség, *Riemerella anatipestifer* faj.

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?lvl=0&id=34085>)

Az értekezésben a jelenleg elfogadott fajnevet, a *R. anatipestifer*-t használom.

3.2 Történeti áttekintés

Az anatipestifer betegséget ludakban Riemer (1904) tanulmányozta és írta le először Németországban, 1904-ben „*septicemia anserum exsudativa*” néven. Kacsákban a betegségről amerikai állatorvosok számoltak be először 1932-ben, New York államban, akik először izolálták és jellemezték a baktériumot, melyet *Pfeifferella anatipestifer*-nek nevezték el (Hendrickson és Hilbert, 1932).

Amerikai kutatók a kórokozó további tanulmányozása során összehasonlították a tulajdonságait más, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Moraxella*, *Brucella*, *Actinobacillus* nemzetségbe tartozó fajokkal. Arra a következtetésre jutottak, hogy az a *Moraxella* nemzetséggel mutat leginkább hasonlóságot, ezért ők a *Moraxella anatipestifer* nevet javasolták (Bruner és Fabricant, 1954).

Később a *Riemerella anatipestifer* és különböző *Pasteurella* valamint *Moraxella* fajok összehasonlító vizsgálatai során a DNS guanin-citozin tartalma, a baktériumsejt zsírsav profilja és DNS-DNS hibridizációs vizsgálatok alapján nyilvánvalóvá vált, hogy a kórokozó nem tartozik sem a *Moraxella*, sem a *Pasteurella* nemzetségbe (Bangun és mtsai., 1987; Mannheim, 1984).

A baktérium bizonytalan rendszertani helyzetét mutatja, hogy a Bergey-féle baktérium rendszertan hetedik kiadásában még *Pasteurella anatipestifer*-ként szerepel (Breed és mtsai., 1957), míg a nyolcadik és kilencedik kiadásban „*species incertae sedis*”, azaz bizonytalan helyzetű faj megnevezéssel illették (Mannheim, 1984; Smith, 1974).

Piechulla és mtsai. (1986) *R. anatipestifer* törzsek tulajdonságait vetették össze különböző *Flavobacterium* és *Cytophaga* nemzetségbe tartozó fajokéval. A kromoszomális DNS alacsony guanin és citozin tartalma, a menakvinon (K-2 vitamin) termelés, a szénhidrát-fermentáció hiánya, hasonló hidrolitikus enzim aktivitás, a DNS hibridizáció és az elágazó láncú zsírsavak magas aránya alapján javasolták, hogy helyezték át a kórokozót a *Flavobacterium/Cytophaga* csoportba.

A betegség állatorvosi jelentősége ellenére a kórokozó baktérium pontos rendszertani helyzete közel 100 évig tisztázatlan maradt. Végül belga és német kutatók *Riemerella anatipestifer* törzsek és legközelebbi rokonai további vizsgálatával tisztázták a kórokozó pontos rendszertani helyzetét. A baktériumsejtek fehérje- és zsírsavösszetétele, a DNS- riboszomális RNS hibridizáció, kromoszomális DNS guanin- és citozintartalma, fenotípusos tulajdonságai, mint a pigmenthiány és a menakvinon-termelés alapján a baktérium jól elkülönült a többi V. rRNS szupercsaládba tartozó baktérium nemzetségtől. Ezért javasolták, hogy a kórokozót egy új, önálló *Riemerella* nemzetségbe sorolják és nevezzék *Riemerella anatipestifer*-nek a betegséget elsőként leíró Riemer tiszteletére. Az *anatipestifer* nevet, mely a kacsára utal, a félreértések elkerülése miatt nem változtatták meg, habár a kórokozó kacsákon kívül jelentős elhullást képes okozni lúd- és pulykaállományokban is. (Segers és mtsai., 1993). Később szingapúri kutatók *Riemerella anatipestifer* törzsek 16S rRNS génjének szekvenálásával megerősítették Segers és munkatársai eredményét. A kórokozó az V. rRNS szupercsaládba, a *Flavobacteriaceae* családba tartozik (Subramaniam és mtsai., 1997).

A korai beszámolók nyomán a betegség nevének számos szinonimája született: septicaemia anserum exsudativa (Riemer, 1904), új kacsabetegség (Hendrickson és Hilbert, 1932), kacsá septicaemia (Graham és mtsai., 1938), fertőző serositis (Dougherty és mtsai., 1955), anatipestifer szindróma. Ludakban nevezték meg tévesztő módon libainfluenzának is (Ruiz és Sandhu, 2013).

Hazánkban a kórokozót először Kis Csatári és Nyiredy (1966) izolálta és jellemezte, akik a törzs tulajdonságai alapján a *Haemophilus anserisepticus* Riemer nevet vetették fel. Magát az anatipestifer betegséget Bitay és mtsai. (1979) írták le nálunk először kacsákban, míg ludakban Ivanics és mtsai. (1996) számoltak be az előfordulásáról.

3.3 A kórokozó tulajdonságai

3.3.1 Morfológia

A *R. anatipestifer* Gram-negatív pálcá alakú baktérium, mozgásra képtelen, spórát nem képez, csillói, fimbriái nincsenek. Kenetben leggyakrabban önállóan vagy párban, ritkán rövid fonalakat alkotva látható. A sejtek 16-24 órás tenyészetben 0,2-0,4 µm szélesek és 1-5 µm hosszúak. Számos sejt bipolárisan festődik Wright festéssel, a baktérium burkát India-festékes előkészítéssel tehetjük láthatóvá (Ruiz és Sandhu, 2013; Segers és mtsai., 1993).

3.3.2 Tenyésztés

Véres agaron, 37°C-on, megemelt (5-10%) széndioxid koncentráció mellett 24-48 óra múlva 1-2 mm átmérőjű, konvex, ép szélű, szürkés, átlátszó, csillogó, vajszerű konzisztenciájú telepei nőnek. Néhány törzs nyálkás telepeket képez. Világos táptalajon, ferdén ráeső fényben a telepek irizálnak (Ruiz és Sandhu, 2013). Néhány törzsnél megfigyelték β-hemolízist is (Segers és mtsai., 1993). A kórokozó izolálható csokoládé, véres- vagy triptikáz szója agaron is. Az igényesebb törzsek növekedését serkenteni lehet 0,05% élesztőkivonat és 5% borjúsérum hozzáadásával. A növekedés elősegíthető megemelt széndioxid koncentráció segítségével is, 37°C-on széndioxid termosztátban vagy anaerob tenyésztőedényben inkubálva nő a legjobban a kórokozó, így biztosíthatjuk a megemelkedett széndioxid koncentrációt és a magasabb páratartalmat, ami elősegíti a baktériumok szaporodását (Graham és mtsai., 1938, Ruiz és Sandhu, 2013). Korábbi kutatások szerint a kórokozó csapvízben 13 napig, pulykaalomban 27, csirkealomban 39 napig életképes marad (Bendheim és Even-Shoshan, 1975). Néhány *R. anatipestifer* törzs nő 45°C-on is, de 4°C-on vagy 55°C-on nem tapasztaltak növekedést (Bangun és mtsai., 1981).

1. táblázat. A *R. anatispestifer* biokémiai tulajdonságai szakirodalmi adatok alapján

	Bangun ^a	Piechulla ^b	Segers ^c	Vandamme ^d	Pathanasophon ^e	Hinz ^f	Hinz ^g	Ryll ^h	Összesítés
	1981	1986	1993	1994	1994	1998a	1998b	2001	
Oxidáz	+	N	+	N	N	N	N	N	+
Kataláz	+	N	+	N	N	N	N	N	+
Ureáz	V	N	V	N	-	V	N	V	V
Indoltermelés	-	N	-	N	-	-	-	-	-
Nitrátredukció	-	N	-	N	N	N	N	N	-
Foszfatáz	N	+	+	N	+	N	N	N	+
Voges-Proskauer reakció	N	N	N	N	N	V	N	+	V
Arginin-dihidroláz	N	N	N	N	N	V	N	+	V
Eszkulin-hidrolízis	N	N	N	N	N	-	N	-	-
Hialuronidáz	N	N	N	N	N	-	N	-	-
Kondroitin-szulfatáz	N	N	N	N	N	-	N	-	-
Zselatináz	+	N	+	N	+	V	N	+	+
H₂S-termelés	-	N	-	N	N	N	N	N	-
D-glükóz	-	N	+	+	+	V	V	+	V
D-fruktóz	-	N	N	-	V	-	-	V	V
D-mannóz	-	-	-	+	-	-	-	+	V
maltóz	-	N	N	+	+	V	V	+	V
dextrin	N	N	N	V	N	V	V	+	V
trehalóz	-	N	N	N	-	-	-	-	-
galaktóz	-	-	-	-	N	-	N	N	-
szaharóz	N	N	N	N	N	N	-	N	-
laktóz	-	N	N	-	N	-	N	N	-
szukróz	-	N	N	-	N	N	N	N	-
arabinóz	-	N	N	N	-	N	N	N	-
szorbit	-	N	N	N	-	N	N	N	-

+ = 90-100%, V = 11-89%, - = 0-10%, N = nem vizsgált, ^aBangun és mtsai., 1981; ^bPiechulla és mtsai., 1986; ^cSegers és mtsai., 1993;

^dVandamme és mtsai., 1994; ^ePathanasophon és mtsai., 1994; ^fHinz és mtsai., 1998a; ^gHing és mtsai., 1998b; ^hRyll és mtsai., 2001

3.3.3 Biokémiai tulajdonságok

A *R. anatipestifer* meglehetősen inaktív a biokémiai tesztekben, sokkal inkább jellemzi a fenotípusos tulajdonságok hiánya, mint megléte (Ryll és mtsai., 2001). A törzsek általában pozitív reakciót adnak a következő próbákban: oxidáz, kataláz, foszfatáz, észter lipáz C8, leucin-arilamidáz, valin-arilamidáz, cisztin-arilamidáz, foszfoamidáz, α -glükozidáz, észteráz C4. A következő próbákban negatív eredményt tapasztalhatunk: nitrátredukció, keményítőhidrolízis, eszkulin-hidrolízis, hialuronidáz, kondroitin-szulfatáz, α -és β -galaktozidáz, β -glükuronidáz, β -glükozidáz, β -glükozaminidáz, lipáz C14, fukozidáz, ornitin és lizin-dekarboxiláz (Hinz és mtsai., 1998a; Pathanasophon és mtsai., 1994; Piechulla és mtsai., 1986; Segers és mtsai., 1993; Vandamme és mtsai., 1994). Számos biokémiai tesztben az eredmény törzsfüggő, általában negatív eredményt adó törzsek mellett néhány törzs pozitív reakciót adhat a következő biokémiai próbákban: zselatinbontás, hidrogénszulfid-termelés, indol, glükóz, fruktóz, mannóz, inozit, maltóz, dextrin, trehalóz, ureáz, arginin-dihidroláz (Bangun és mtsai., 1981; Hinz és mtsai., 1998a; Hinz és mtsai., 1998b). A szénhidrát-hasznosítás vizsgálata során ha pufferelt, egyetlen szubsztrátot tartalmazó tesztet alkalmazunk, akkor a *R. anatipestifer* törzsek nagy része fermentálja a glükózt, a maltózt, a mannózt és a dextrint (Hinz és mtsai., 1998b).

3.4 Az anatipestifer betegség járványtana

3.4.1 Előfordulás

A *R. anatipestifer* széles körben elterjedt kórokozó, minden országban előfordul, ahol intenzív körülmények között tartanak kacsát és libát, így hazánkban is gyakori (Bitay és mtsai., 1979; Ivanics és mtsai., 1996; Sandhu, 1986). A betegségről beszámoltak Európa számos országában (Segers és mtsai., 1993), Izraelben (Rimler és Nordholm, 1998), Ausztráliában (Rosenfeld, 1973; Sandhu, 1986), az USA-ban (Rimler és Nordholm, 1998), Tajvanon (Yu és mtsai., 2008), Szingapúrban (Huang és mtsai., 1999; Singh és mtsai., 1983), Kínában (Cheng és mtsai., 2003), Japánban (Baba és mtsai., 1987), Bangladesben (Mustafa és mtsai., 1985) és Indiában is (Pala és mtsai., 2013).

3.4.2 Gazdaspektrum

A *R. anatipestifer* széles gazdaspektrummal rendelkezik. Elsősorban nyolchetesnél fiatalabb kacsákban és libákban idéz elő anatipestifer betegséget, de súlyos veszteségeket okozhat pulykaállományokban is (Frommer és mtsai., 1990, Helfer és Helmboldt, 1977; Smith és mtsai., 1987). A betegséget leírták már csirkében (Rosenfeld, 1973; Li és mtsai., 2011),

fácánban, fogolyban (Bruner és mtsai., 1970), hattyúban (Varga és mtsai., 2018; Wobeser és Ward, 1974), gyöngytyúkban, fürjben (Pascucci és mtsai., 1989), vadon élő vízimadárfaajokban is (Cha és mtsai., 2015; Karstad és mtsai., 1970, Ryll és mtsai., 2001), de izolálták már a kórokozót törpepapagájából, sirályból, sőt három tüdőgyulladásban elhullott sertésből is (Hinz és mtsai., 1998a). A galambokat, laboratóriumi rágcsálókat (egereket, nyulakat) ellenállónak találták a *Riemerella anatipestifer* fertőzéssel szemben, a tengerimalacokat csak nagy dózisu intraperitoneális oltással tudták megbetegíteni (Bangun és mtsai., 1981). A legtöbb forrás szerint a *R.anatipestifer*-nek nincs közegészségügyi jelentősége (Bisgaard és mtsai., 2008; Ruiz és Sandhu, 2013), de a kórokozót két esetben izolálták már emberből, macskaharapás okozta sebből (Talan és mtsai., 1999).

3.4.3 Fertőződés

A betegség horizontálisan terjed, a fertőződés leggyakrabban aerogén úton történik, de bőrsérülésen keresztül is bejuthat a szervezetbe a kórokozó, leginkább lábsérüléseken át, esetleg szúnyogcsípéssel is (Varga és mtsai., 2018). Pulykáknál megfigyelték, hogy a megbetegedés szezonálisan jelentkezik és feltételezik, hogy a kórokozó ízeltlábú vektorral is átvihető (Cooper, 1989). A baktériumot izolálták már befulladt lúdtojásban levő elpusztult embrióból is, így a vertikális fertőzés sem zárható ki (Glünder és Hinz, 1989).

Pickrell (1966) egyhetes kacsákat betegített meg intravénás fertőzéssel, 28%-os mortalitással. A klinikai tünetek és a kórbonctani elváltozások megegyeztek a természetes eseteknél leírtakkal. Mesterséges fertőzés során a kórokozót szubkután, intravénásan, intranazálisan vagy per os adva kéthetes kacsákban is előidézhető a betegség. A per os vagy intranazális fertőzés csak jóval kisebb mortalitást okozott, a kórokozó kisebb dózisa esetén pedig egyáltalán nem volt letális. A legnagyobb mortalitással az intravénás és a szubkután fertőzés járt (Sarver és mtsai., 2005). A betegséget 3 hetes kacsákban intraperitoneális, intratracheális és úszóhártyába oltással is elő lehet idézni, de míg az intraperitoneális oltás esetén 60%-os mortalitást tapasztaltak, az intratracheális és úszóhártyába oltott madarak néhány napos betegeskedés után visszanyerték egészségüket (Bitay és mtsai., 1979).

Korábbi kutatások alapján azt feltételezték, hogy a csirkék és a ludak rezisztensek a *R. anatipestifer* fertőzéssel szemben (Graham és mtsai., 1938; Hendrickson és Hilbert, 1932), de későbbi kísérletekben 1 és 10 napos csibéket fertőzve a kórokozó talppárnába oltásával, megbetegedést és 8%-os mortalitást idéztek elő (Heddleston, 1972; Li és mtsai., 2011). Kéthetes ludakban is a kacsákban leírtakhoz hasonló klinikai tüneteket és kórbonctani elváltozásokat figyeltek meg (Heddleston, 1972). Ivanics és mtsai. (1996) 5 napos ludakat

betegítettek meg intraperitoneális és intranazálisan fertőzéssel, előbbi esetében 47%-os mortalitást és jellemző kórbonctani elváltozásokat figyeltek meg, intranazálisan fertőzés esetén néhány napos betegség után a madarak meggyógyultak.

Intravénás, intramuszkuláris és szubkután fertőzéssel pulykákban is elő lehet idézni megbetegedést és elhullást (Smith és mtsai., 1987; Cooper és Charlton, 1992). Smith és mtsai. (1987) pulykákat intranazálisan vagy sinus infraorbitalis-ba oltva fertőztek, de a madarakat nem sikerült megbetegíteni. Rubbenstroth és mtsai. (2009) aeroszollal intranazális úton fertőzött pulykákban megbetegedést és enyhe fokú kórbonctani elváltozást figyeltek meg. Ha a *R. anatipestifer* fertőzés előtt avian metapneumovírussal is fertőzték az állatokat, akkor súlyosabb kórbonctani elváltozással és mortalitással járó megbetegedést tapasztaltak.

3.4.4 Megbetegítő képesség

Szakirodalmi adatok alapján a törzsek virulenciája nagy változatosságot mutat (Bisgaard és mtsai., 2008). A *R. anatipestifer* fakultatív patogén baktérium, természetes körülmények között is megtalálható a vízimadarak légutainak nyálkahártyáján (Varga, 1998). Német és dán kutatók 2-7 hetes korú, tünetmentes pekingi kacsákból a normál garatflóra részeként tudtak kimutatni *R. anatipestifer* törzseket. Vizsgálataik alapján feltételezhető, hogy a betegséget általában nem okozó szerotípusok a normál garatflóra részét képezik (Ryll és mtsai., 2001). Tünetmentes felnőtt kacsák orrmelléküregéből, vadon élő kanadai ludak, vándormadarak orrüregéből is izolálták már a kórokozót, ezért ezek fertőzési forrást jelenthetnek. Igen fontos szempont a betegség megelőzésében a vadmadarak távoltartása és a telepen levő különböző korcsoportok elkülönítése (Cha és mtsai., 2015; Harry, 1969; Hubálek, 2004; Smith és mtsai., 1987). Nem megfelelő járványvédelem esetén előfordulhat, hogy az egymással kapcsolatban álló (pl. egy céghez tartozó) telepek között terjed a kórokozó, egymás utáni járványkitöréseket okozva (Fulton és Rimler, 2010).

A megbetegedés kialakulásához hajlamosító tényezőkre van szükség, mint pl. a kedvezőtlen környezeti tényezők, nem megfelelő higiénia, stressz, zsúfoltság, takarmányozási hibák, mycotoxicosis, társfertőzések (Ruiz és Sandhu, 2013; Yu és mtsai., 2008). A kacsák és libák circovírus-fertőzöttsége esetén az immunszuppresszív hatás miatt a másodlagos fertőzések, így az *anatipestifer* betegség is súlyosabb tüneteket, elváltozásokat okozhat, a mortalitás nagyobb lehet, a betegség pedig időben elhúzódhat (Zhang és mtsai., 2009).

A megbetegedés súlyossága függ a gazdafajtól, életkortól, a kórokozó virulenciájától, a fertőzés módjától, társfertőzésektől, a környezeti tényezőktől és az állomány általános állapotától. Víziparaszitában a mortalitás 5-75% között változhat, a morbiditás magasabb

(Bisgaard és mtsai., 2008; Sarver és mtsai., 2005). A természetes úton megbetegedett pulykaállományokban a mortalitás kisebb volt, 1-12% között alakult (Smith és mtsai., 1987; Zehr és Ostendorf, 1970).

A *R. anatipestifer* törzseknek eddig 21 szerotípusát írták le (Ruiz és Sandhu, 2013). Nem ritka, hogy egy telepen egynél több szerotípus is jelen van, ráadásul a betegséget okozó szerotípusok adott helyen évről-évre változhatnak (Fulton és Rimler, 2010; Ryll és mtsai., 2001; Sandhu és Harry, 1981). A betegséget átvészelt madarak védettek egy későbbi fertőződés esetén, de a 21 szerotípus között nem vagy csak kismértékű keresztvédelmet tapasztaltak (Pathanasophon és mtsai., 1996; Ruiz és Sandhu, 2013; Sandhu, 1979; Sandhu, 1991).

3.4.5 Virulenciafaktorok

A törzsek virulenciája nagy változatosságot mutat a szerotípusok között és adott szerotípuson belül is (Bisgaard és mtsai., 2008). Subramaniam és mtsai. (2000) vizsgálatai alapján az összes szerotípus referencia törzs és a típustörzs is rendelkezik az *ompA* génnel, ami egy 42-kDa molekulatömegű *OmpA* külsőmembrán-fehérjét kódol. Egyes szerotípusok között találtak szekvenciabeli eltérést. Számos Gram-negatív baktériumfaj rendelkezik *OmpA* külsőmembrán-fehérjével, de a *R. anatipestifer* külsőmembrán-fehérjéje különbözik ezektől, mert rendelkezik 2 PEST régióval és 6 „EF-hand” kalciumkötő doménnel (EF-hand calcium-binding domain). Ezek alapján feltételezik, hogy a *R. anatipestifer* esetében az *OmpA* külsőmembrán-fehérje szerepet játszik a kórokozó virulenciájában is.

Kínai kutatók egy *R. anatipestifer* törzs virulenciáját vizsgálták az *ompA* gén deléciójával. A mutáns törzs telepmorfológiája és növekedése táptalajon nem változott, de sejtenyészetet fertőzve azt tapasztalták, hogy jelentősen csökkent a törzs adhéziós és inváziós képessége. Fertőzési kísérlet során azt tapasztalták, hogy a mutáns törzs virulenciája jelentősen csökkent, a kísérleti állatok vérében a baktérium jóval kisebb számban volt jelen. Tehát az *OmpA* külsőmembrán-fehérje egy virulenciafaktor, a baktérium adhéziójában és az invázióban játszik szerepet, nélküle a kórokozó virulenciája jelentősen csökken (Hu és mtsai, 2011).

Crasta és mtsai. (2002) meghatározták és jellemeztek egy potenciális virulenciafaktort, a ciklikus AMP (CAMP) kohemolizint, melyet a *cam* gén kódol. A CAMP kohemolizin egy szialoglikoproteáz, mivel szialoglikoprotein található a gazdaállat sejteiben is, így károsíthatja az immunsejteket és hámsejteket is a szervezetben. Az általuk vizsgált törzsek tartalmazták a *cam* gént, de csak az 1-es, 2-es, 3-as, 5-ös, 6-os, 19-es szerotípus termelte a CAMP kohemolizint, míg fenotípusos kohemolízitikus aktivitást csak a 19-es szerotípus mutatott.

Tajvani kutatók azonosítottak egy 3,9 kb méretű plazmidot, ami legalább 4 nyitott leolvasási keretet (open reading frame, ORF) tartalmaz, melyek közül kettő, a *vapD1* és *vapD2* olyan fehérjéket kódol, melyek hasonlóak más baktériumok (*Dichelobacter nodosus*, *Haemophilus influenzae*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Neisseria gonorrhoeae*) feltételezhetően a virulenciában szerepet játszó fehérjéihez (Chang és mtsai., 1998).

A ciklikus AMP kohemolizin, valamint a *vapD1* és *vapD2* fehérjék pontos hatásmechanizmusáról kevés adat áll rendelkezésre (Chang és mtsai., 1998; Crasta és mtsai., 2002). A kórokozó képességet szolgáló tényezőnek tekintenek még különböző extracelluláris enzimeket (mint pl. a fibrinolizint), valamint lipopoliszacharidokat is (Crasta és mtsai., 2002; Subramaniam és mtsai., 2000). A legtöbb törzsnek proteolitikus enzimeik vannak, az alvasztott vérsavót, a zselatint és a tojástartalmú táptalajokat elfolyósítják (Bangun és mtsai., 1981).

Hu és mtsai. (2010) 43 *R. anatipestifer* törzs, köztük 4 szerotípus referencia törzs biofilm képzését vizsgálták, melyek közül 18 izolátum képzett biofilmet. Eredményeik alapján a biofilmet létrehozó törzsek ilyen formában ellenállóbbak különböző antibiotikumokkal és detergenssel szemben, ami részben magyarázattal szolgálhat a vissza-visszatérő megbetegedésekre egy adott gazdaságban. Állatkísérlet során nem találtak összefüggést a törzsek biofilmképzése és a virulenciája között.

Virulens baktériumok esetében a vaskötő képesség a kevés vasat tartalmazó környezetben, mint amilyen a gazdaszervezet, feltételezhetően a virulenciával összefüggő tulajdonság. Kínai kutatók vizsgálatai alapján a *sip* gén által kódolt siderofór fehérje (siderophore-interacting protein) részt vesz a vas megkötésében, így virulenciafaktornak tekinthető. A *R. anatipestifer* törzs, melyből a *sip* gént eltávolították a kísérletes fertőzés során kevésbé bizonyult patogénnek, mint a vad törzs, csökkent a biofilmképző képessége és kevésbé volt képes megtapadni és bejutni a Vero sejtekbe (Tu és mtsai., 2014).

Lu és mtsai. (2013) vizsgálatai alapján egy TonB-függő külsőmembrán-receptor, a TbdR1 a hem-vas megkötésében játszik szerepet. A *R. anatipestifer* törzs, melyből a *tbdR1* gént eltávolították a kísérletes fertőzés során kevésbé bizonyult patogénnek, mint a vad törzs, kevésbé volt képes megtapadni és bejutni a Vero sejtekbe és csökkent a biofilmképző képessége, így virulenciafaktornak tekinthető.

Ni és mtsai. (2016) random mutagenézissel két gént találtak (*Riean_0060*, *Riean_1537*), melyek károsításával a törzs virulenciája jelentősen csökkent. A gének feltételezhetően cytoplazma-fehérjéket kódolnak.

Liao és mtsai. (2016) vizsgálatai alapján a *R. anatipestifer* törzsek tartalmaznak heminkötő fehérjéket a cytoplazmában és a külső membránban, melyek vasszegény környezetben

intenzívebben működnek. A *R. anatipestifer* genom vizsgálata alapján nincs génkészletük a hemin szintéziséhez, ezért a környezetből kell felvenniük (Wang és mtsai., 2014).

Az előzőekhez hasonló módszerrel vizsgálták az *M949_1556* gént, ami egy lipoproteint kódol, az *M949_1603* gént, ami egy glikozil-transzferázt kódol és az *M949_RS01915* gént, ami részt vesz a baktérium lipopoliszacharid felépítésében. A *R. anatipestifer* törzsnek, melyből eltávolították az *M949_1556* vagy az *M949_1603* gént vagy módosult az *M949_RS01915* génje, a vizsgálataik alapján jelentősen csökkent a patogenitása, ezért feltételezhetően virulenciafaktorok (Dou és mtsai., 2017; Zou és mtsai., 2015a, Zou és mtsai., 2015b).

Wang és mtsai. (2017) vizsgálatai alapján a *B739_1208* gén heminkötő receptort kódol a kórokozó külső membránjában. A gén eltávolításával a baktérium vasfelvétele sérült és kacsában végzett állatkísélet szerint csökkent a törzs virulenciája.

A *wza* gén a kórokozó burok szintézisében vesz részt, melynek inaktiválásával a törzs burka hibás lett, a baktérium biofilmképzése fokozódott, kiszáradásra és oxidatív stresszre érzékenyebbé vált és az állatkísélet eredménye szerint csökkent a virulenciája, ezért virulenciafaktorok tekinthető (Yi és mtsai., 2017).

A gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz (GAPDH) egy multifunkcionális extracelluláris fehérje, mely feltehetően a baktérium adhéziójában és a virulenciában játszik szerepet (Gao és mtsai., 2014).

Számos baktérium a sima felületeken ún. csúszó mozgással halad, mely során a Por szekréciós rendszer (Por SS) fehérjéket termel. Két teljes genom vizsgálatával 13 gént azonosítottak, melyek azonosak más baktériumfajok (*Flavobacterium johnsoniae*, *Porphyromonas gingivalis*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Cytophaga hutchinsonii*) Por szekréciós rendszerét alkotó génjeihez (Wang és mtsai., 2014).

Koreai kutatók a *R. anatipestifer* törzsek virulenciájának jellemzésére csirkeembrió-letalitási vizsgálatot írtak le, 3-3 virulens és avirulens törzset 10 napos csirke embrió allantois üregébe fecskendeztek, az embriók mortalitásában különbséget tapasztaltak, a virulens törzsek $\geq 50\%$, az avirulens törzsek $\leq 20\%$ mortalitást okoztak 3-5 nap alatt. 7 vagy 13 napos embrió már nem volt alkalmas a vizsgálatra, a vizsgálat nem működött, ha a kórokozót a chorioallatois membránra fecskendezték. A módszert korábban más baktériumok (*Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*) virulenciájának meghatározására már leírták (Seo és mtsai., 2013).

3.4.6 Kórfejlődés

A lappangási idő általában 2-5 nap között alakul (Ruiz és Sandhu, 2013). Fertőződés után a baktériumok legtöbbször a vérpályába törnek. A vérerek, főként a kapillárisok falát károsítják, ami így a vérplazma számára átjárhatóvá válik, szisztémás coagulopathia alakul ki. A kilépő vérplazmából fibrin válik ki a testüregekben, szív, máj felületén, légzsákokon, légutakban, agyburokban és az agykamrában (Dobos-Kovács, 2014). Kacsában történt vizsgálatok alapján, ha a fertőzött madár vérében eléri a viszonylag alacsony $7,5 \times 10^2$ CFU/ml koncentrációt a kórokozó, akkor képes átjutni a vér-agy gáton, majd ott az agyburok- és agykamragyulladás miatt idegrendszeri tüneteket okoz (Li és mtsai., 2018).

3.5 Klinikai tünetek és kórbonctani elváltozások

3.5.1 Lappangási idő

A betegség általában 2-5 nap lappangási idő után jelentkezik, mesterséges fertőzés során akár 24 órával a fertőzés után mutathatnak klinikai tüneteket, sőt el is pusztulhatnak a madarak (Hatfield és Morris, 1988; Ruiz és Sandhu, 2013; Sarver és mtsai., 2005).

3.5.2 Klinikai tünetek

Fiatal madarakban gyakran alakul ki heveny vérfertőzés. Az 1-8 hetes vízibaromfi a legfogékonyabb, 5 hetes kor alatt a tünetek megjelenése után általában 1-2 nappal elhullanak. Idősebb vízibaromfiban anatipestifer betegség ritkán fordul elő, ekkor idült, lokalizált elváltozás vagy szubklinikai megbetegedés alakul ki (Bisgaard, 1995; Ruiz és Sandhu, 2013). Pulykákban 6-15 hetes kor között számoltak be *R. anatipestifer* okozta megbetegedésről (Helfer és Helmboldt, 1977; Smith és mtsai., 1987; Zehr és Ostendorf, 1970).

Leggyakoribb tünetek az elesettség, könnyezés, orrfolyás, enyhe tüszögés, sinusitis, fejduzzanat, zöldes hasmenés, ataxia, fej és nyakremegés, fejdaltartás, opisthotonus, esetleg bénulás, elfekvés. A súlyosan beteg állatok a hátukra fekszenek, eveznek a lábaikkal (Bisgaard és mtsai., 2008; Fulton és Rimler, 2010; Ivanics és mtsai., 1996; Ruiz és Sandhu, 2013; Smith és mtsai., 1987; Turbahn és mtsai., 1997). Idült esetben a madarak visszamaradnak a fejlődésben, lefognak, savós ízületgyulladás, bőrelhalás, fibrines-gennyes kötőhártyagyulladás, a sinus infraorbitalis gyulladása, duzzanata alakulhat ki. A betegség során az állatok között szétnövést láthatunk (Bisgaard és mtsai., 2008; Bitay és mtsai., 1979; Pickrell, 1966; Varga és mtsai., 2018).

3.5.3 Kórbonctani elváltozások

A *R. anatipestifer* okozta kórbonctani elváltozások a különböző madárfajokban hasonlóak lehetnek. A legszembeütőbb elváltozás a savóshártyák savós-fibrines gyulladása. Ilyenkor fibrines perihepatitis, pericarditis, a légzsákok savós-fibrines gyulladása látható. A hasi és mellkasi légzsákokat egyaránt érintheti a betegség. Ritkán apró vérzések is előfordulhatnak a savóshártyákon. A lép enyhébb vagy súlyosabb mértékben megnagyobbodik, márványozott lehet. Változó súlyosságú elváltozásokat láthatunk a légzőszervrendszerben: hurutos-gennyes exsudatum halmozódhat fel az orrüregben és az orrmelléküregekben, ekkor a sinus infraorbitalis duzzanata feltűnő lehet, tüdőgyulladást és savós-fibrines légzsákgyulladást láthatunk. Hurutos bélgyulladás is előfordul, esetenként sajtos izzadmányt találhatunk a petevezetőben. Idültté váló betegség során elváltozások jelenhetnek meg a bőrben és az ízületekben is: az ízületek a savós-fibrines gyulladás miatt megduzzadnak. Elhalásos bőrgyulladás jelentkezhet a háton és a kloáka körül. A bőr és a bőr alatti kötőszövet között sajtos izzadmányt találhatunk. (Bisgaard és mtsai., 2008; Bitay és mtsai., 1979; Dougherty és mtsai., 1955; Fulton és Rimler, 2010;). A kacsákhoz viszonyítva libákban a savóshártyák gyulladása többnyire enyhébb fokú, az orrmelléküregek gyulladása ritkábban jelentkezik, az idegrendszeri tünetek viszont kifejezettebbek lehetnek (Ivanics és mtsai., 1996; Hess és mtsai., 2013.). Pulykában leggyakrabban *R. anatipestifer* okozta vérfertőzésről számoltak be. Amerikai szerzők többször megfigyelték, hogy az anatipestifer betegséget *E. coli* vérfertőzés követi 1-2 héten belül (Helfer és Helmboldt, 1977; Smith és mtsai., 1987; Zehr és Ostendorf, 1970). Egy esetben vakcinázott pulykák intravénás ráfertőzése után a csigolyák osteomyelitisét írták le (Cooper és Charlton, 1992).

3.5.4 Kórszövettani elváltozások

Szövettani vizsgálattal a szív és máj felszínén fibrines exsudatumot találunk, ami kevés gyulladós sejtet (heterophil granulocitákat, lymphocytákat és histiocytákat) tartalmaz. Heveny elváltozás esetén a májban savós gyulladást, enyhe periportális lympho-histiocytás infiltrációt láthatunk, esetleg a parenchymasejtek zavaros duzzadását és hidropikus elfajulását, ritkán gyulladós-elhalásos góccokat figyelhetünk meg. Félheveny esetben a májban mérsékelt periportális lymphocytás infiltrációt láthatunk. Heveny esetben a légzsákok megvastagodnak, a savós-fibrines gyulladást mutató légzsák exsudatumában túlnyomóan lymphocyták, histiocyták találhatók, míg idült elváltozás esetén az exsudatum körül többmagvú óriássejteket és fibroblasztokat láthatunk. Előfordulhat, hogy a tüdőben nincs elváltozás, más esetben viszont heveny hurutos tüdőgyulladás alakulhat ki, BALT (bronchus-asszociált lymphoid szövet)

proliferációt láthatunk a parabronchusok mellett, esetleg enyhe fokú interstitialis lymphohistiocytás infiltrációt is megfigyelhetünk. A központi idegrendszer érintettsége esetén savós-fibrines agyburok- és agykamragyulladás alakul ki. Ilyenkor az agy- és gerincvelő lágy burkának megszálesbedése, lymphocytás, histiocytás és heterophil granulocytás beszűrődése mellett az agyhártya vérerei körül lymphocytás beszűrődés is előfordulhat. Az agykamrákban exsudatum található, az agykamrával, agyburokkal határos agyszövetben pedig reaktív gliasejt-proliferáció alakulhat ki. A petevezető érintettsége esetén savós-fibrines petevezető-gyulladást láthatunk. A lépben és a Fabricius-féle bursában lymphocytakiürülés és lymphocytaelhalás mutatkozhat (Dougherty és mtsai., 1955; Fulton és Rimler, 2010; Hess és mtsai., 2013; Ivanics és mtsai., 1996; Jortner és mtsai., 1969; Pickrell, 1966; Ruiz és Sandhu, 2013; Sarver és mtsai., 2005; Smith és mtsai., 1987).

3.6 Kórjelzés

A tünetek és a kórbonctani elváltozások alapján a betegség valószínűsíthető, de túlheveny lefolyás esetén a kórbonctani kép kevésbé jellegzetes. A madarak életkora, a betegség járványtana, a tünetek és a kórbonctani elváltozások alapján számos más betegség is szóba jöhet, mint a colibacillosis, madarak paratyphusa, streptococcosis, *Staphylococcus* fajok okozta vérfertőzés, mycoplasmosis, baromfikolera, chlamydiosis, kacsahépatitis, Derzsy-betegség, esetleg a borreliosis és a kacsapestis (Bisgaard és mtsai., 2008; Ruiz és Sandhu, 2013; Varga és mtsai., 2018).

A biztos diagnózishoz a kórokozó izolálása és azonosítása szükséges (Ryll és mtsai, 2001). A kórokozó izolálása legegyszerűbb a betegség heveny szakaszában, ez történhet szívveréből, szívburokból, agykamrából, agyburokból, légzsákokról, csontvelőből, tracheából, tüdőből, májból, gyulladásos exsudatumból, esetleg a petevezetőből (Ruiz és Sandhu, 2013).

A *R. anatipestifer*-t azonosíthatjuk a kórokozó számos ismert biokémiai tulajdonsága alapján és Gram-festéssel, bár nehézséget jelenthet, hogy több biokémiai tesztben inaktív és néhány tesztben az eredmény törzsfüggő lehet (Hinz és mtsai., 1998a; Hinz és mtsai., 1998b ; Ruiz és Sandhu, 2013; Sandhu, 1979).

A kórokozó azonosítása legtöbbször lehetséges API-ZYM és API-20 NE teszttel (Ryll és mtsai., 2001).

A *R. anatipestifer* törzsek gyors, fajszinten való azonosítására számos fajspecifikus PCR-t leírtak (Hu és mtsai., 2002; Kardos és mtsai., 2007; Qu és mtsai., 2006; Tsai és mtsai., 2005), de a közeli rokon baktériumfajokkal (*Coenonia anatina*, *Riemerella columbina*, *Wautersiella falsenii*, *Pelistega europaea*) végzett vizsgálatok alapján (Christensen és Bisgaard,

2010) a fals pozitív eredmények elkerülése érdekében a Rubbenstroth és mtsai. (2013) által leírt fajspecifikus PCR bizonyult a legalkalmasabb módszernek a kórokozó fajszerű azonosítására.

A kórokozó azonosítására korábban a DNS-DNS hibridizációt vagy a rRNS-DNS hibridizációt alkalmazták (Bangun és mtsai., 1987; Piechulla és mtsai., 1986; Segers és mtsai., 1993).

A 16S rRNS gén szekvenálásával is azonosíthatjuk a kórokozót (Christensen és Bisgaard, 2010; Subramaniam és mtsai., 1997). Az *rpoB* gén részleges szekvenciája alapján is elkülöníthetjük a *R. anatipestifer* törzseket a rokon baktériumfajoktól (Christensen és Bisgaard, 2010).

A kórokozót azonosíthatjuk a teljes sejt fehérjéinek elektroforézisével (whole-cell protein electrophoresis), és a teljes sejt zsírsav metil-észter analízisével (whole-cell fatty acid methyl ester analysis) melyek többek között alapul szolgáltak a *R. anatipestifer* faj önálló nemzetségbe sorolásának (Ryll és mtsai, 2001; Segers és mtsai., 1993).

A MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry) is alkalmas módszer a *R. anatipestifer* törzsek azonosítására, más *Flavobacteriaceae* családba tartozó fajoktól egyértelműen elkülönülnek (Hess és mtsai., 2013; Rubbenstroth és mtsai., 2013).

Leírták, hogy a kórokozót felülethez kötött, *R. anatipestifer* ellen termelt IgY segítségével képalkotó ellipszometria módszerrel (imaging ellipsometry) is azonosíthatjuk (Huang és mtsai., 2011).

Kacsában és pulykában a kórokozó ellen termelt ellenanyag vérből kimutatható ELISA-val, de a kifejlesztett ELISA-k nem szerotípus-specifikusak, csak egy vagy több, de nem az összes szerotípust képesek kimutatni (Hatfield és mtsai., 1987; Higgins és mtsai., 2000; Huang és mtsai, 2002a; Li és mtsai, 2010; Lobbedey és Schlatterer, 2003; Rubbenstroth és mtsai., 2009).

Egy vakcinázási kísérletben a gazdafaj immunválaszának mérésére ideális, de a gyakorlatban használatuk kevésbé elterjedt (Bisgaard és mtsai., 2008).

Lobbedey és Schlatterer (2003) olyan módszert fejlesztettek ki, amely a *R. anatipestifer* ellen termelt maternális ellenanyagot képes kimutatni vakcinázott tenyésztett tojásainak sárgájából, valamint a kiskacsák vérből. Huang és mtsai. (2002a) egy rekombináns 41 kDa tömegű részleges fehérje (P45N') segítségével kifejlesztettek egy indirekt ELISA-t, ami a tesztek során specifikusnak bizonyult. A P45 egy újonnan felfedezett feltételezett *R. anatipestifer* felületi fehérje, melynek génjét a 21 szerotípus közül 16 tartalmazta.

Az ellenanyag kimutatására a nem szerotípus-specifikus agglutinációs próbát is alkalmazhatjuk, amely azonban az ELISA-nál kevésbé érzékeny (Hatfield és mtsai., 1987).

3.7 A kórokozó jellemzése

3.7.1 Szerotipizálás

A szerotípust tárgylemez-agglutinációval, csőagglutinációval vagy agargél-precipitációs próbával határozhatjuk meg. A tárgylemez-agglutináció gyors és egyszerűen kivitelezhető próba. A csőagglutináció kvantitatív, mellyel az ellenanyagtitert is meghatározhatjuk (Brogden és mtsai., 1982; Ruiz és Sandhu, 2013).

A *R. anatispestifer* szerotípusainak leírása hosszú, fordultatos, revíziókkal kísért történet. Agglutinációs próbával Harry 16 szerotípust határozott meg, az ABC betűivel A-tól P-ig jelölte őket, melyek közül négy a tárolás során elveszett, míg később kettő-kettő törzsről kiderült, hogy azonos szerotípusba tartoznak (Bisgaard, 1982; Harry, 1969). Egy másik kutatócsoport agargél-precipitációs próbával 7 szerotípust írt le, melyeket 1-7-ig számokkal jelöltek (Brogden és mtsai., 1982). Később Bisgaard beszámolt róla, hogy az 1-6 szerotípusok azonosak Harry A, I(G), L, H, M, B szerotípusaival, ezért javasolta, hogy a félreértések elkerülése miatt a szerotípusokat jelöljék egységesen számokkal, melyekhez két új szerotípust is leírt (Bisgaard, 1982). Sandhu és Harry (1981) úgy találták, hogy a 7-es szerotípus azonos a Harry-féle O(N) szerotípussal, és egy új szerotípust is leírtak. Sandhu és Leister (1991) módosította a Bisgaard által javasolt szerotípus sémát: Harry C és D szerotípusát átnevezték 9-es, és 10-esnek, a 4-es szerotípust kivették, mivel kiderült, hogy nem *R. anatispestifer* és öt új szerotípust azonosítottak. Napjainkban is az utóbbi kutatók által leírt nomenklaturát használjuk, de a szerotípusok száma az évek során 21-re bővült (Loh és mtsai., 1992; Pathanasophon és mtsai., 1995; Ryll és Hinz, 2000).

Szakirodalmi adatok alapján a 21 szerotípus közül leggyakrabban az 1-es és 2-es szerotípust izolálják, de a vizsgált országtól függően gyakoriak még a következő szerotípusok is: 3-10, 14, 15 (Brogden és mtsai., 1982; Loh és mtsai., 1992; Ryll és mtsai., 2001; Sandhu és Leister, 1991).

Korábbi vizsgálatok alapján Dániában, Kacsákban az 1-es, 2-es, 3-as, 8-as, 9-es, 12-es, 13-as szerotípusok elterjedtek, melyek közül az 1-es, 3-as, 9-es a leggyakoribbak (Bisgaard, 1982; Bisgaard, 1995). Más kutatások eredményei alapján szintén az 1-es és 2-es szerotípusok

bizonyultak a leggyakoribbnak. Németországban gyakori szerotípusok az 1-es, 2-es, 6-os, 7-es, USA-ban az 1-es, 2-es, 4-es, 5-ös, 6-os, 7-es, 8-as, 11-es, 16-os, Angliában az 1-es, 2-es, 3-as, 4-es, 5-ös, 9-es, Szingapúrban az 1-es, 2-es, 6-os, 7-es, 10-es, 11-es, 13-as, 14-es, 15-ös, 17-es, 18-as, 19-es, Izraelben az 1-es, 2-es, 3-as, 4-es, 5-ös, 6-os és 7-es szerotípusok (Huang és mtsai., 1999; Rimler és Nordholm, 1998). Tajvanon a leggyakoribb szerotípusok a 2-es, 6-os, emellett még a 4-es, 5-ös (Yu és mtsai., 2008). Kínában egy tartomány vizsgálata alapján 2-es szerotípust izoláltak leggyakrabban, de előfordult még az 1-es és 13-as (Li és mtsai., 2002). Egy kiterjedtebb, 1847 törzset érintő vizsgálat alapján az 1-es és 2-es szerotípus volt a leggyakoribb és emellett még előfordult a 3-as, 4-es, 5-ös, 6-os, 7-es, 8-as, 10-es, 11-es, 13-as, 14-es szerotípus is (Cheng és mtsai., 2003).

A különböző szerotípusok specifikusan reagálnak a homológ savókkal, kivéve az 5-ös szerotípust, ami keresztreakál a 2-es és 9-es szerotípussal (Sandhu és Harry, 1981; Loh és mtsai., 1992). Későbbi vizsgálatok alapján a keresztreakciók sokkal gyakoribbak, a törzsek majdnem 20 %-ánál előfordulnak (Rimler és Nordholm, 1998). Kínai kutatók írtak le keresztreakciót a 6-os, 12-es és a 12-es, 16-os, valamint a 2-es és 17-es szerotípusok között (Zhang és Guo, 2002a; Zhang és Guo, 2002b). Az eddigi kutatások alapján kérdéses, hogy ez a jelenség keresztreakció vagy ezek a törzsek több mint egy szerotípust meghatározó antigént hordoznak (Pathanasophon és mtsai., 2002; Rimler és Nordholm, 1998).

Adott területen a *R. anatipestifer* szerotípusok meghatározása a későbbi hatékony vakcinás védekezés miatt fontos lenne, de csak néhány specializált laboratórium rendelkezik a szerotípusok referencia törzsei ellen termeltetett savóval. Már kapható kereskedelmi forgalomban a *R. anatipestifer* szerotípusok ellen termeltetett savó (Biovac, Beaucozéz, France), de nem teljesen egyezik a nomenklátúra a Sandhu és Leister (1991) által leírt és elfogadott elnevezésekkel, ami félreértésekhez vezethet (Rubbenstroth és mtsai., 2013).

A szerotípusok molekuláris háttere még nem ismert. A különböző szerotípusú törzsek *OmpA* külsőmembrán-fehérje génjének szekvenciái nem mutattak egyértelmű összefüggést a szerotípusokkal (Subramaniam és mtsai., 2000; Tsai és mtsai., 2005; Yu és mtsai., 2008). Ezt bizonyítja az a vizsgálat, miszerint az *OmpA* fehérjét nem tartalmazó mutáns törzs ugyanúgy agglutinált a szerotípus-specifikus savóval, mint az *OmpA* fehérjét tartalmazó eredeti törzs (Hu és mtsai., 2011).

3.7.2 Molekuláris tipizáló módszerek

A baktériumfaj azonosítása után a molekuláris tipizáló módszerek a törzsek további jellemzésére, csoportosítására, járványtani kapcsolatok elemzésére szolgálnak. A molekuláris

tipizáló módszerekkel felmérhetjük, hogy egy adott telepen a kórokozó endémiássá vált-e vagy egy újabb fertőzéssel állunk szemben, ezáltal segíthetik a betegség járványtanának megértését és növelhetik a védekezés eredményességét (Bisgaard és mtsai., 2008; Fulton és Rimler, 2010; Kardos, 2007). Számos vizsgálat alapján elmondható, hogy a *R. anatipestifer* törzsek jellemzésére a szerotípus-meghatározásnál részletesebb felbontóképességgel rendelkező molekuláris tipizáló módszerek alkalmasabbak lehetnek (Huang és mtsai., 1999; Rimler és Nordholm, 1998).

A rep-PCR-ek (repetitive element PCR) a baktérium genomjában jelen levő ismétlődő elemeket amplifikálják. Többféle ilyen repetitív elem ismert, ezért a rep-PCR-eknek többféle típusa létezik, többek közt az ERIC-PCR és a REP-PCR. Az ERIC-PCR során az *Enterobacteriaceae* családban felfedezett, de más baktériumfajokban is megtalálható, ismétlődő ERIC (enterobacterial repetitive intergenic consensus) szekvenciákra tervezett primereket alkalmaznak. Az így keletkező különböző méretű PCR-termékek az agaróz-gélelektroforézis során egyedi mintázatot adnak, amit „genetikai ujjlenyomatnak” is neveznek. ERIC szekvenciák számos baktériumfajban előfordulhatnak, ezért a módszer több baktériumfaj jellemzésére is alkalmas (Olive és mtsai., 1999; Versalovich és mtsai., 1991).

A REP-PCR során a genomban lévő palindrom, repetitív elemeket (repetitive extragenic palindromic elements) amplifikálják. Hasonlóan az ERIC-PCR-hez, a különböző méretű PCR termékek itt is egyedi mintázatot mutathatnak. Irodalmi adatok alapján a módszer jól használható a *R. anatipestifer* törzsek mellett számos más baktériumfaj (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pasteurella multocida*) esetében is a törzsek jellemzésére, csoportosítására és járványtani nyomozásra (Georghiou és mtsai., 1994; Poh és mtsai., 1996; Townsend és mtsai., 1997; Versalovich és mtsai., 1991). Szingapúri kutatók 35 *R. anatipestifer* törzset vizsgáltak REP-PCR-rel, és a reakció eredményeképp 19-féle mintázatot különítettek el. A vizsgált törzsek 18 különböző szerotípust képviseltek, néhány szerotípus mintázata jól elkülönült a többitől, de nem találtak egyértelmű összefüggést a REP-PCR mintázatok és a szerotípus között (Huang és mtsai., 1999). Tajvani kutatók REP-PCR használatával az általuk vizsgált 24 *R. anatipestifer* törzset 4 genotípusba tudták besorolni, ami alkalmas volt járványtani nyomozásra, de ők sem találtak összefüggést a törzsek genotípusa és szerotípusa között (Yu és mtsai., 2008).

A *R. anatipestifer* törzsek 16S rRNS génjének szekvenálása során a különböző vizsgálatok változatos eredményre vezettek. Szingapúri kutatók egy típus-törzs és három szerotípus referencia törzs 16S rRNS génjének (*rrs* gén) szekvenálásával a törzsek között 99-100% szekvencia egyezést találtak. (Subramaniam és mtsai., 1997). Tajvani kutatók a 16S

rRNS gén egy szakaszának szekvencia analízisével 35 törzs vizsgálata alapján 95-100%-os egyezést találtak. A vizsgálataik alapján a *R. anatipestifer* törzsek 16S rRNS génjének vizsgált szakasza sokkal változatosabb, mint korábban gondoltuk (Tsai és mtsai., 2005). Dán kutatók vizsgálatai szerint viszont 9 *R. anatipestifer* törzs vizsgálata alapján a 16S rRNS gén szekvencia 97,2-99,1% egyezést mutatott. Az összes publikált *R. anatipestifer* eredetű 16S rRNS gén pedig 96,3-100%-ban azonos volt (Christensen és Bisgaard, 2010).

A törzsek *rpoB* gén szekvenciája alapján történő osztályozását többek között a *Pasteurellaceae* családba tartozó baktériumok esetében is alkalmazták már. Az *rpoB* gén az RNS polimeráz β -alegységét kódolja. A *Pasteurellaceae* családban a 16S rRNS gén és az *rpoB* gén filogenetikai analízise során fajsinten azonos törzsfát kaptak (Korczak és mtsai., 2004). Dán kutatók az *rpoB* gén részleges szekvenciájának filogenetikai analízise során a *R. anatipestifer* törzsek egy ágon helyezkedtek el, egymással 97,1-100%-os egyezést mutattak. A szerotípusok nem különültek el az *rpoB* gén szekvenciák alapján (Christensen és Bisgaard, 2010).

Tajvani kutatók *R. anatipestifer* törzsek *ompA* (külsőmembrán-fehérjét kódoló gén) szekvenciáinak vizsgálatával a törzsek között 88,1-100% egyezést találtak. 23 törzs részleges *ompA* szekvenciáját alapul véve a filogenetikai analízis a vizsgált törzseket 3 csoportba sorolták, míg az aminosav sorrendet figyelembe véve 7 csoportot kaptak, melyek nem mutatottak összefüggést sem a szerotípussal, sem a gazdafajjal, sem a földrajzi eredettel (Tsai és mtsai., 2005).

A plazmidprofil analízis során a törzseket a plazmidok jelenléte (vagy hiánya) és mérete alapján jellemzik. A módszer hátránya, hogy a plazmidok mobilis elemek, ezért a rokonságra nézve messzemenő következtetéseket nem vonhatunk le (Kardos, 2007). Eddigi kutatások szerint a legtöbb *R. anatipestifer* törzs tartalmaz plazmido(ka)t, több kutatócsoport is többféle, különböző méretű (2,9-20 kb) plazmidot írt le (Chang és mtsai., 1998; Weng és mtsai., 1999; Yu és mtsai., 2008). Tajvani kutatók által vizsgált 60 törzsnek csupán 13%-ában nem izoláltak plazmidot, a többiben 1, 2 vagy 3 különböző méretű plazmidot találtak (Chang és mtsai., 1998). Számos vizsgálat alátámasztja, hogy a *R. anatipestifer* törzsekben található plazmidok hordozhatnak rezisztenciagéneket (*cat*, *floR*, *catB* és *bla_{OXA-209}*), valamint virulenciagéneket is (*vapD1*, *vapD2*) (Chang és mtsai., 1998; Chen és mtsai., 2010; Chen és mtsai., 2012; Weng és mtsai., 1999).

A PFGE (pulzáló mezejű gélelektroforézis) is alkalmas a törzsek jellemzésére. Meglehetősen idő- és munkaigényes módszer, mely során a genomot restrikciós endonuklázal hasítják, majd a kapott DNS-darabokat speciális elektroforézis során változó irányú erőter

mellett szétválasztják. Egyes vizsgálatok során a módszerrel kapott ujjlenyomatok a törzsek földrajzi eredetével mutattak összefüggést (Kiss és mtsai., 2007), míg tajvani kutatók sem a törzsek földrajzi eredetével, sem a szerotípusával nem találtak összefüggést (Yu és mtsai., 2008).

További módszerként alkalmazták a teljes genom RFLP-t (restrikciós fragmenthossz polimorfizmus), ami során a teljes genomi DNS-t hasítják restriktív endonukleázzal, majd ezt követően agaróz-gélelektroforézissel szétválasztják a fragmenteket. Amerikai kutatók 89 törzs vizsgálatával 52 csoportot tudtak elkülöníteni, melyek sem a törzsek szerotípusával, sem a földrajzi eredetével nem mutattak összefüggést (Rimler és Nordholm, 1998). Későbbi vizsgálatok során az előbbiekhöz hasonlóan *Hinfl* hasítással csupán 2 genotípusba tudták sorolni a törzseket (Fulton és Rimler, 2010). Nemcsak a teljes genom, hanem egy-egy gén, az *ompA* vagy a 16S rRNS gén RFLP analízise alapján is jellemezni lehet a kórokozót (Pathanasophon és mtsai., 2002; Subramaniam és mtsai., 1997; Yu és mtsai., 2008). Legújabban a MALDI-TOF (mátrix által segített lézer deszorpción és ionizáción alapuló repülési idő mérése) módszer is alkalmas a törzsek csoportosítására, jellemzésére (Rubbenstroth és mtsai., 2013).

3.8 A betegség elleni védekezés

3.8.1 Gyógykezelés

A nemzetközi szakirodalomban számos tanulmány foglalkozott az antibiotikum-rezisztencia témájával, melyekben az eredmények nagy változatosságot mutattak. A törzsek antibiotikum-érzékenysége jelentősen eltérhet a különböző országok és az állattartó telepek között is. Az antibiotikum-rezisztencia függ a törzs izolálásának idejétől, az izolálás helyétől és az adott telepen jellemző antibiotikum-használattól (Ruiz és Sandhu, 2013). A különböző antibiotikum-érzékenységi adatok közötti ellentmondás oka lehet a különböző módszerek alkalmazása is (Szabó és Magyar, 2014).

Az Amerikai Egyesült Államokban egy 80-as évekbéli vizsgálat alapján a *R. anatipestifer* törzsek sokkal nagyobb arányban voltak érzékenyek különböző antibiotikumokra, mint manapság. Érzékenyek voltak a penicillinre, novobiocinre, klóramfenikolra, linkomicinre, enrofloxacinra, sztreptomycinre, eritromicinre, ampicillinre, bacitracinra, neomicinre és tetraciklinre és csupán 3 hatóanyaggal szemben, kanamicinnel, polimixin B-vel és gentamicinnel szemben voltak rezisztensek (Bangun és mtsai., 1981).

Pathanasophon és mtsai. (1994) tajvani kacsállóanyagokból a 80-as évek végén izolált *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum-érzékenységét vizsgálták a minimális gátló koncentráció

(MIC) meghatározásával. A tajvani törzsek érzékenyek bizonyultak ampicillinre, eritromicinre, penicillinre, tilozinra, mérsékelten érzékenyek voltak cefalexinre, klóramfenikolra, nalidixsavra, oleandomicinre, míg rezisztensek csupán kolisztinnel, gentamicinnel, kanamicinnel és szulfadimetoxinnal szemben voltak.

Chang és mtsai. (2003) szintén tajvani kacsáállományokból származó, de 10 évvel később izolált *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum-érzékenységét vizsgálták MIC-meghatározás segítségével. A törzsek érzékenyek voltak penicillinre, ceftiofurra, cefalotinra, klóramfenikolra, flumekvinre, és kanamicinre. A MIC értékek alapján rezisztensnek találták a következő hatóanyagokkal szemben: amikacin, ampicillin, gentamicin, linkomicin, spektinomicin, sztreptomycin, tetraciklin, trimetoprim.

Tajvani kutatók 24 libából és kacsából izolált *R. anatipestifer* törzs antibiotikum-érzékenységét vizsgálták meg korongdiffúziós módszerrel. A törzsek nagy része, több mint 70%-a rezisztens volt novobiocinnal, flumekvinnel, trimetoprinnal, gentamicinnel, klóramfenikollal, tetraciklinnel és kolisztinnel szemben. A törzsek közel fele rezisztensnek bizonyult amoxicillinnel, bacitracinnal, ampicillinnel, penicillinnel, cefalotinnal, oxitetraciklinnel, eritromicinnel szemben. Míg a vizsgált törzsek nagy része érzékeny volt enrofloxacinra (83%) és doxiciklinre (65%) (Yu és mtsai., 2008).

Szintén tajvani kutatók a *R. anatipestifer* törzsek klóramfenikol-érzékenységét vizsgálták. Habár az antibiotikum használatát 2003-ban betiltották az országban, a törzsek 40,5%-a rezisztens volt, 45,9%-a mérsékelten érzékeny és csupán 13,5%-a volt érzékeny klóramfenikolra. A klóramfenikol rezisztencia (*cat*) gént a tajvani törzsek 78,4%-a hordozta (Chen és mtsai., 2010).

Német kutatók is a multirezisztens törzsek arányának jelentős növekedését figyelték meg. A törzsek több mint 90%-át rezisztensnek találták gentamicinnel, kolisztinnel, kanamicinnel, neomicinnel és polimixin B-vel szemben (Köhler és mtsai., 1995).

Kínai kutatók több mint 200 törzs antibiotikum-érzékenységét vizsgálták Kirby-Bauer korongdiffúziós módszerrel. A törzsek több mint 70%-a rezisztens volt cefepimmal, ceftazidimmal és szulfametoxazol-trimetoprinnal szemben. Még nagyobb arányú rezisztenciát mutattak a törzsek (80% felett) aztreonammal, oxacillinnel és penicillinnel szemben. Míg amikacinra, cefoperazonra, imipenemre és neomicinre a törzsek több mint 90%-a érzékenyek bizonyult (Zhong és mtsai., 2009a).

További 54 Kínában izolált törzs minimális gátló koncentráció (MIC) értékének meghatározása alapján nagy arányban rezisztens volt oxacillinnel (100%), penicillinnel (100%), cefotaximmal (66,7%), cefepimmal (98,15%) szemben. A penicillint és az oxacillint évtizedeken

keresztül gyakran használták baromfiállományok kezelésére, ami magyarázatot adhat a nagyfokú rezisztenciára (Zhong és mtsai., 2009b).

Szintén kínai kutatók kacsákból izolált 103 törzs antibiotikum-érzékenységét vizsgálták mikrohígítási módszerrel. A törzseket rezisztensnek találták sztreptomocinnal, kanamicinnal, gentamicinnal, apramicinnal, amikacinnal, neomicinnal, nalidixsavval és szulfadimidinnel szemben. Míg ampicillinre és florfenikolra érzékenynek bizonyultak (Sun és mtsai., 2012).

További törzsek érzékenységét vizsgálták a gyakorlatban gyakran használt antibiotikumokkal szemben korongdiffúziós módszerrel kínai kutatók 2012-ben. A törzsek fele rezisztens volt gentamicinnal, enrofloxaccinnal, levofloxaccinnal, klóramfenikollal, klórtetraciklinnel szemben, a törzsek 30%-a rezisztens volt cefoperazonnal, ceftazidimmal, penicillinnel, ampicillinnel, mezlocillinnel, meropenemmel, biapenemmel, vankomicinnal, ciprofloxacinnal, eritromicinnal szemben. Míg csupán 2 hatóanyagra volt érzékeny a törzsek 80%-a: cefoxitinre és florfenikolra. Vizsgálataik alapján megállapították, hogy a gyakran használt antibiotikumokkal szemben az évek során csökkent a törzsek érzékenysége. (Zheng és mtsai., 2012).

2015-ben 31 *R. anatipestifer* törzs antibiotikum-érzékenységét határozták meg Kínában a minimális gátló koncentráció (MIC) alapján. Egy izolátum kivételével az összes törzs multirezisztensnek bizonyult (Zheng és mtsai., 2015).

Kínai kutatók 2016-ban további 105 törzs antibiotikum-érzékenységét vizsgálták ceftiofurra, cefquinomra, florfenikolra és tilmikozinra. Míg ceftiofurra és cefquinomra a törzsek nagy része érzékeny volt, tilmicosinnal és főként florfenikollal szemben számos törzs rezisztensnek bizonyult (Li és mtsai., 2016a). Li és mtsai. (2016b) által vizsgált 69 kínai törzs kb. 60 %-a érzékeny volt levofloxacinra, ceftizoximra és ceftriaxonra. A törzsek fele volt érzékeny tetraciklinre és klóramfenikolra, míg amikacinra, sztreptomocinre, nalidixsavra, enrofloxacinra és ciprofloxacinnal csupán a törzsek 5-22 %-a bizonyult érzékenynek.

Dél-Koreában vad madaraktól, főként récékből (tökés réce *Anas platyrhynchos*, nyíl farkú réce *Anas acuta*, foltoscsőrű réce *Anas poecilorhyncha*) izolált *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum-érzékenységét korongdiffúziós módszerrel vizsgálták. A 33 törzs nagy arányban rezisztens volt aminoglikozidokkal: kanamicinnal (100%), gentamicinnal (94%), amikacinnal (91%) és neomicinnal (88%) szemben. Valamennyi törzs rezisztens volt oxacillinnel szemben, továbbá norfloxacin (21%), nalidixsav (15%), szulfametoxazol-trimetoprim (9%), klóramfenikol (6%), minociklin (3%) hatóanyagokkal szemben kisebb arányú rezisztenciát találtak. 15 további hatóanyag vizsgálatával (amoxicillin-klavulánsav, penicillin, piperacillin, imipenem, cefalotin, cefepim, cefoperazon, ceftazidim, ceftiofur, ciprofloxacinnal, ofloxacin, szulfonamidok

(szulfisoxazol), tetraciklin, doxiciklin, eritromicin) az összes törzs érzékenynek bizonyult (Cha és mtsai., 2015).

A szakirodalmi adatok alapján megállapítható, hogy az évek során a rezisztens törzsek arányának növekedése és az antibiotikum-érzékenység változatossága miatt fontos az antibiotikum-érzékenység vizsgálata alapján történő gyógykezelés (Chang és mtsai., 2003; Zheng és mtsai., 2015).

Ha a betegség megjelenik, az egész állományt érdemes gyógykezeltetni ivóvízbe adagolható antibiotikummal 3-5 napig. A betegség kezelésénél további fontos szempont, hogy néhány antibiotikum (pl. aminociklitol és aminoglikozidok: gentamicin, neomicin, sztreptomycin, spektinomycin, és a polipeptid-antibiotikumok: pl. kolisztin) bélből nem vagy csak korlátozott mértékben szívódik fel, így szisztémás megbetegedés esetén ivóvízbe adagolásuk nem javasolt (Gálfai és mtsai., 2012; Varga és mtsai., 2018). Állatkísérletek során a fertőzés után végzett antibiotikus kezeléssel meg tudták előzni a tünetek kialakulását, csökkenteni az elhullásokat (Chang és mtsai., 2003). A gyógyszeres kezelés annál sikeresebb volt, minél hamarabb megkezdték a fertőzés után (Sandhu és Dean, 1980).

Az antibiotikum-rezisztencia genetikai hátteréről egyre bővülnek az ismereteink. A *R. anatipestifer* törzsekben az utóbbi években számos rezisztenciagént azonosítottak a kromoszómán és plazmidokon egyaránt (Chen és mtsai., 2012; Luo és mtsai., 2018; Sun és mtsai., 2012; Yang és mtsai., 2012; Zhao és mtsai., 2016).

Li és mtsai. (2016b) vizsgálatai alapján effluxpumpa gátló alkalmazásával a *R. anatipestifer* törzsek érzékenyebbnek bizonyultak több antibiotikumra a MIC érték meghatározása során. Tehát az aktív effluxpumpa felelős lehet a rezisztencia kialakulásáért *R. anatipestifer* törzsekben.

Megvizsgálták a különböző nem antibiotikumnak minősülő antimikrobiális peptidek hatását a betegség elleni védekezésben. Az anti-lipopoliszaharid factor, epinecidin-1 és a hepcidin szignifikánsan csökkentették a mortalitást *R. anatipestifer* vérfertőzés esetén kacsában, ha a fertőzés előtt vagy utána 24 órával kezelték a madarakat. Az antibakteriális hatásért feltételezhetően a baktérium plazma membránjának károsítása felelős (Pan és mtsai., 2010). Dél-Koreai kutatók egy feltételezhetően antibakteriális és gyulladáscsökkentő hatású vegyület, a berberin hatását vizsgálták *R. anatipestifer* törzsszel fertőzött kacsákban. A fertőzés után berberinnel kezelt kacsákban a gyulladási citokinek szintje csökkent, kisebb volt a madarak baktériumterheltsége és nagyobb arányban éltek túl a nem kezelt csoporthoz képest (Fernandez és mtsai., 2017).

3.8.2 Megelőzés

Mivel a *R. anatipestifer* fakultatív patogén kórokozó, bár a virulenciában jelentős különbségek lehetnek, a megbetegedés kialakulásához hajlamosító tényezőkre van szükség (Ruiz és Sandhu, 2013; Yu és mtsai., 2008). Ezért a megelőzés fontos eleme a megfelelő környezet biztosítása, a stresszhatások csökkentése, a zsúfoltság elkerülése, megfelelő szellőztetés, védelem a környezet viszontagságaitól, a különböző korcsoportok elkülönítése, a társfertőzések kivédése, a kielégítő takarmányozás, zárt, izolált tartás, a vadmadarak távoltartása, rendszeres takarítás, fertőtlenítés (Bisgaard és mtsai., 2008; Ruiz és Sandhu, 2013). Olyan gazdaságban, ahol a betegség endémiás, esetleg egyszerre ki- és betelepítéssel (all in, all out), megfelelő takarítással, fertőtlenítéssel, szerviz periódussal minimalizálhatók a veszteségek (Bisgaard és mtsai., 2008). Különösen a különböző korú baromfit tartó telepeken fontos a vakcinázás: a betegségen átesett idősebb madarak fertőzhetik a fiatalabbakat (Ruiz és Sandhu, 2013).

3.8.3 Vakcinák alkalmazása

Kísérletes fertőzés vagy vakcinázás után a *R. anatipestifer* specifikus ellenanyagok megtalálhatók a savóban és a tracheamosó folyadékban kacsában és pulykában (Hatfield és Morris, 1988; Hatfield és mtsai., 1987; Higgins és mtsai., 2000; Lobbedey és Schlatterer, 2003; Rubbenstroth és mtsai., 2009). Légutakon keresztül fertőzött pulykában az ellenanyagok már négy nappal a fertőzés után kimutathatók voltak (Rubbenstroth és mtsai., 2009).

Előtt teljes sejtet tartalmazó bakterinvakcinák

Számos vakcina-fejlesztési próbálkozás ismert a szakirodalomból. Különböző szerotípusú, formalinnal inaktivált sejtszuszpenzióval (bakterinnel) vakcinázva a kacsákat szerotípus-specifikus védettséget értek el. A vakcinázás hatására nem tapasztaltak elhullást vagy szignifikánsan csökkent a mortalitás. A megfelelő védelemhez legalább kétszeri vakcinázás volt szükséges (Harry és Deb, 1979; Layton és Sandhu, 1984; Sandhu, 1979; Sandhu és Layton, 1985). Kacsában inaktivált vakcina alkalmazásával az ellenanyagok a vakcinázás utáni 5-7. naptól a 105. napig kimutathatók voltak (Hatfield és mtsai., 1987).

Trivalens, 3 különböző szerotípust tartalmazó bakterinnel immunizálva a kacsák védettek voltak mindhárom szerotípussal szemben, de a védettség kevesebb ideig tartott. Egy másik kísérletben szintén 3 különböző szerotípust tartalmazó vakcinát alkalmaztak, a kacsák 2 és 3 hetes korukban oltva védettnek bizonyultak a vágási korig (Layton és Sandhu, 1984).

Olajadjuvánssal készült vakcinával tartósabb védettséget lehet elérni, de az oltás helyén kialakuló granulóma miatt sok helyen nem használnak ilyen oltóanyagot (Higgins és mtsai., 2000; Sandhu, 1979). A baktériumtenyészet sejtmentes szűrlete szintén védelmet nyújtott a homológ fertőzéssel szemben (Pathanasophon és mtsai., 1996).

Kínai kutatók egy külső membránban található lipoproteint kódoló *M949_1556* gén eltávolítása után inaktivált *R. anatipestifer* törzs védő hatását vizsgálták. A vakcina a ráfertőzési kísérlet során 100, 75 és 100%-os védelmet nyújtott az 1-es, 2-es és 10-es szerotípussal szemben kacsában (Zou és mtsai., 2015a). Hasonló vizsgálatban az 1-es szerotípusú törzs *M949_1603* génjének eltávolítása után inaktivált *R. anatipestifer* törzs is keresztvédelmet nyújtott az 1-es, 2-es és 10-es szerotípussal szemben. Ezért feltételezik, hogy a *M949_1603* gén részt vesz az 1-es szerotípusú törzsek O antigénjének felépítésében (Zou és mtsai., 2015b).

Liu és mtsai. (2013) trivalens, formalinnal inaktivált vakcinát fejlesztettek, ami védelmet nyújtott az 1-es, 2-es és 10-es szerotípussal szemben. Két immunizálás után a ráfertőzési kísérletben a vakcina 100%-os védelmet nyújtott mindhárom szerotípussal szemben, nem tapasztaltak elhullást, klinikai tünetet vagy kórbonctani elváltozást a kacsákban. Magas ellenanyagtitereket mértek 1: 3200 és 1:6400 között.

Élő vakcinák

1-es, 2-es és 5-ös szerotípust tartalmazó élő, avirulens törzset spray-ben vagy ivóvízbe applikálva 1 napos kiskacsáknál a vakcinatörzs a felső légutakban szaporodott el, mellyel hathetes védettséget értek el. A vakcina törzsek ártalmatlannak bizonyultak a kísérletben, mely során napos kacsák sinus infraorbitalisába oltották. Élő vakcinával általában hosszabb védettséget biztosíthatunk. Az 1-es és 2-es szerotípusú vakcina csupán 17-38%-os keresztvédeltséget biztosított (Sandhu, 1991).

Vakcinázott tenyészkacsákban *R. anatipestifer*-specifikus ellenanyagok kimutathatók voltak a vérben és a tojássárgájában, az utódokban pedig a maternális ellenanyagok 10 napos korig jelen voltak (Lobbedey és Schlatterer, 2003).

Higgins és mtsai. (2000) vizsgálatai alapján élő, attenuált vakcinával hosszabb sejthez kötött immunitást és hasonló ellenanyag választ lehet kiváltani, mint inaktivált vakcinával, de az élő vakcinának kedvezőtlen hatása lehet a testtömeg gyarapodásra.

Zhao és mtsai. (2016) egy polimixin B rezisztenciát okozó gént (B739-2187) távolítottak el *R. anatipestifer* törzsből. A baktérium természetesen érzékennyé vált polimixin B-re, a növekedési görbéje, lipopoliszaccharid és külsőmembrán-fehérje profilja és szövettanilag

az inváziós képessége nem változott. Viszont állatkísérlet során csökkent virulenciát tapasztaltak, vakcinaként alkalmazva 4 hetes kacsákban 100%-os védelmet tapasztaltak a ráfertőzés során.

Rekombináns vakcinák

Huang és mtsai. (2002b) egy új rekombináns vakcina védőhatását vizsgálták kacsákban. Rekombináns glutation szulfotranszferáz (GST) fúziós fehérjével immunizáltak, ami az *OmpA* külsőmembrán-fehérjét (42 kDa) és a P45N'-t (újjonnan azonosított 45 kDa feltételezett *R. anatipestifer* felületi fehérje 41 kDa N-terminális szakaszát) tartalmazta. Az *OmpA* és a P45N' génjét a 15-ös és egy 19-es szerotípusba tartozó törzsből izolálták. ELISA-val és immunoblottal vizsgálva a rekombináns fehérjék ellenanyag termelést indukáltak az immunizált kacsákban. A virulens, 15-ös szerotípusba tartozó *R. anatipestifer* törzssel történt ráfertőzés során azonban a rekombináns vakcina nem nyújtott védeltséget. A formalinnal inaktivált 15-ös szerotípusba tartozó törzs ellenben védelmet nyújtott a homológ ráfertőzéssel szemben.

Han és mtsai. (2012) immunproteomikai módszerekkel egy új immunogén hőszokkfehérjét (chaperonin GroEL) azonosítottak, ami a *R. anatipestifer* törzsek külső membránján található. Meglehetősen konzervatív fehérje, mely immunválaszt indukál. A fehérjét kódoló gén (GroEL) 1629 nukleotidból áll és a vizsgált törzsekben 97,5%-os hasonlóságot mutatott, sajnos az ráfertőzési kísérletekben egy homológ és két heterológ törzssel szemben csak 50-37,5%-os védeltséget eredményezett.

Kínában tovább vizsgálták a kórokozó immunogén fehérjéit immunproteomikai módszerekkel, ami egy tömegspektrométer alapú módszer. A teljes sejt fehérjéi közül kacsában termelt ellenanyagok segítségével meghatározták az immunogén fehérjéket. Az *OmpA* és a GroEL fehérjéken túl 32 új fehérjét írtak le, ami elősegítheti a további vakcina fejlesztést (Hu és mtsai, 2012). A Kínában elterjedt 2-es szerotípus vizsgálata során 11 különböző immunreaktív fehérjét azonosítottak, melyek közül az elongációs faktor G csak a 2-es szerotípusú *R. anatipestifer* ellen termeltetett savóval reagált, míg az *OmpA* az 1-es és 2-es szerotípusúval is reagált, ami ígéretes eredménynek bizonyult (Zhai és mtsai., 2012).

További lépésként immunproteomikai módszerrel meghatározták az 1-es és 2-es szerotípusú törzsek közös immunreaktív fehérjéit. Hat közös fehérjét azonosítottak vakcina jelöltként, végül ezek közül az *OmpA* külsőmembrán-fehérje biztosított 50-60%-os keresztvédelmet a ráfertőzési kísérletben (Zhai és mtsai., 2013).

Tajvani kutatók rekombináns *OmpA* külsőmembrán-fehérje mellett CpG oligodezoxinukleotid adjuvánst tartalmazó vakcinát fejlesztettek ki, ami a második

komponensnek köszönhetően fokozta a humorális és a sejtes immunválaszt is, a csak *OmpA* fehérjét tartalmazó vakcinához képest. Homológ ráfertőzéssel vizsgálták a vakcina hatékonyságát, ami a kórbonctani elváltozásokat a nem vakcinázott csoporthoz képest 90%-kal mérsékelte (Chu és mtsai., 2015).

Telep-specifikus, autogén vakcinák

Hazánkban telepspecifikus, autogén vakcina elérhető. A helyzetet bonyolítja, hogy a *R. anatipestifer* törzsek különböző szerotípusai között nem vagy csak kismértékű keresztvédelmet tapasztaltak (Pathanasophon és mtsai., 1996; Ruiz és Sandhu, 2013; Sandhu, 1979; Sandhu, 1991). Nem ritka, hogy egy telepen több szerotípus is jelen van, és az évek során újabbak is megjelenhetnek (Ryll és mtsai., 2001; Sandhu és Harry, 1981), ezért fontos, hogy időről-időre izoláljuk a kórokozót, meghatározzuk a szerotípusát, ezzel biztosítva a vakcina hatékonyságát az adott állományban (Bisgaard és mtsai., 2008).

4. Anyag és módszer

4.1 Mintagyűjtés

A vizsgálati mintákat a hazai liba-, kacsá- és pulykaállományokból a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állat-egészségügyi Diagnosztikai Igazgatóságának (NÉBIH-ÁDI) elsősorban a budapesti, valamint kisebb mértékben a debreceni és a kaposvári laboratóriumaiba 2010-2014 években diagnosztikai vizsgálatra küldött növendék madarak képezték. Növendék korcsoportban egy eset kivizsgálásához rendszerint 4-10 elhullott vagy ritkán klinikai tüneteket mutató élő, beteg állat került beküldésre.

A NÉBIH-ÁDI említett laboratóriumaiba összesen 1418 növendék lúd, 411 növendék kacsá és 1292 növendék pulyka eset érkezett kórbonctani vizsgálatra. A növendék ludak életkora 5 nap-36 hét, a növendék kacsáké 5 nap-22 hét, a növendék pulykáké 5 nap-28 hét közé esett.

Jelen dolgozat tárgyát az anatipestifer betegséggel diagnosztizált esetek képezik. Egyéb betegségek jelenlétét is vizsgáltuk, a kapott diagnózisokat felhasználtuk a társfertőzések gyakoriságának számításához az anatipestifer betegséggel diagnosztizált eseteknél.

4.1.1 A minták eredete

A vizsgálati időszakban (2010-2014) 141 lúd, 31 kacsá és 7 pulyka esetben diagnosztizáltunk anatipestifer betegséget. A lúdesetek 84 állományból származtak, 19 állományból többször is küldtek diagnosztikai vizsgálatra. A kacsáesetek 19 állományból származtak, 3 állományból több alkalommal is kaptunk mintát. A pulykaesetek 4 állományból származtak, 2-ből többször is küldtek vizsgálati anyagot. Az anatipestifer betegséggel diagnosztizált esetek Magyarország hét megyéjéből származtak; Bács-Kiskun megye, Békés megye, Csongrád megye, Jász-Nagykun-Szolnok megye, Pest megye, Hajdú-Bihar megye és Somogy megye. Anatipestifer betegséget 140 alkalommal a NÉBIH-ÁDI budapesti laboratóriumában, 25 alkalommal a debreceni, 14-szer a kaposvári laboratóriumban diagnosztizáltunk. Az anatipestifer betegség diagnózist csak abban az esetben állapítottuk meg, amikor a madaraktól izoláltuk a *R. anatipestifer* kórokozót.

4.2 Járványtani adatok

A megbetegedett állományokra vonatkozó járványtani adatokat (az állomány nagysága, életkora, hasznosítási irány, klinikai tünetek, a betegség lefolyása) részben a vizsgálati

megrendelőben leírt adatokból nyertük, részben a beküldő állatorvosokkal történt telefonos beszélgetés során. Néhányszor (13 alkalommal) élő madarakat is kaptunk kórbonctani vizsgálatra, ekkor a klinikai tüneteket magunk is megfigyelhettük.

4.3 Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok

A diagnosztikai vizsgálatra beküldött ludakat, kacsákat és pulykákat az intézeti rutin diagnosztikában szokásos módon vizsgáltuk meg. Testtömegméréssel meghatároztuk a madarak fejlettségét a korukhoz és a hasznosítási irányhoz képest. Majd a madarakat kórmegállapítás céljából boncoltuk és kiegészítő kórszövettani, bakteriológiai, esetleg virológiai és molekuláris biológiai vizsgálatokhoz mintákat vettünk. Az azonnal nem feldolgozott mintákat a vizsgálat lehetséges céljának megfelelően tároltuk.

A részletes kórbonctani vizsgálat során kórszövettani vizsgálatához szervmintákat gyűjtöttünk. Mintákat általában az agyvelőből és a májból, esetenként a szívből, Fabricius-féle bursából, tüdőből, lépből, veséből és a koponyacsontból vettünk. A szövetmintákat 10%-os pufferolt formaldehid oldatban fixáltuk, paraffinba ágyazás után 4 µm vastag metszeteket készítettünk, végül megfestettük hematoxilin-eozinnal.

4.4 Bakteriológiai vizsgálatok

Bakteriológiai vizsgálatot a kórbonctani vizsgálat során vagy a bakteriológiai vizsgálatához kivett szervmintákból közvetlenül a kórbonctani vizsgálat után végeztünk. Különböző szerveket, elsősorban a májat, szívburkot, agykamrát, tüdőt, petevezetőt, ízületet, esetenként a légcsövet, kötőhártyát, koponyacsontot, légzsákot vagy a hashártyát mintáztuk meg. *R. anatipestifer* izolálásához 5% juhvérrel kiegészített Columbia agar táptalajokat (Biolab, Budapest, Magyarország) használtunk. A táptalajokat 37°C-on, 5% széndioxid jelenlétében 24 órán át inkubáltuk. Az *R. anatipestifer* gyanús telepmorfológiát mutató telepeket szintén 5% juhvérrel kiegészített Columbia agar táptalajra szélesztettük, majd az előbb leírt módon inkubáltuk. A kapott színtenyészetekkel végeztük el a vizsgálatainkat. Az izolált törzseket -70 és -80°C-on fagyasztva, több példányban tároltuk.

4.4.1 A *R. anatipestifer* izolátumok azonosítása

Az *R. anatipestifer* gyanús izolátumokat első körben telepmorfológia, biokémiai tulajdonságaik alapján azonosítottuk, majd fajspecifikus PCR-ek segítségével határoztuk meg a baktériumtörzseket fajsinten. Az ehhez elvégzett vizsgálatok részletes leírása a 4.6.1, a 4.6.2, a 4.7.1 és a 4.7.3 fejezetekben olvashatók.

4.5 A felhasznált baktériumtörzsek

A fentebb leírt esetekből, az anatiszter betegségekben elhullott vagy ritkán klinikai tüneteket mutató élő, beteg madaraktól izolált *R. anatiszter* törzsek mellett korábban izolált baktériumtörzseket is bevontunk vizsgálatainkba. Az Állatorvostudományi Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszéke rendelkezésünkre bocsátott 20 db törzset a tanszéki törzsgyűjteményből. Dr. Nagy József szintén felajánlott 8 db, korábban izolált *R. anatiszter* törzset a vizsgálatainkhoz. Három esetben a MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet Légzőszervi Bakteriológia témacsoporthoz érkezett ludaktól izoláltunk *R. anatiszter* törzseket. Az AniCon Labor GmbH-től (Emstek, Németország) kaptunk három törzset. Öt szerotípus referencia törzset Prof. Joachim Frey (Institute of Veterinary Bacteriology, University of Bern, Svájc) bocsátott rendelkezésünkre. Ezek a következők voltak: 1-es szerotípus (DRL 24105, Duck Research Laboratory, New York, USA), 2-es szerotípus (HPRS 2527, Houghton Poultry Research Station, Houghton, Anglia), 4-es szerotípus (HPRS 2565), 7-es szerotípus (DRL 27179), és 10-es szerotípus (HPRS 2199) (Huang és mtsai., 1999; Pathanasophon és mtsai., 2002). (Melléklet 1. táblázat).

4.6 A törzsek fenotípusának meghatározása

4.6.1 Telepmorfológiai vizsgálatok

A *R. anatiszter* izolátumok 37°C-on, 5% széndioxid jelenlétében 24 órán át történő inkubációja után megfigyeltük a baktériumtelepek nagyságát, alakját, színét, fényességét, a telepek szélét és konzisztenciáját.

4.6.2 Biokémiai tulajdonságok vizsgálata

Biokémiai próbákat végeztünk 64 db reprezentatív *R. anatiszter* izolátum fenotípusos jellemzéséhez. A katalázpróba során 3%-os hidrogén-peroxidot cseppentettük a tárgylemezen levő kacsnyi baktériumra, amit a pezsgés megléte vagy hiánya alapján bíráltunk el. Az izolátumok citokrómozidáz-C enzim aktivitását pozitív esetben színreakciót adó Bactident Oxydase tesztsík (Merck, Darmstadt, Németország) segítségével vizsgáltuk. A baktériumok nitrátredukáló és ureabontó képességét hagyományos levestáptalajok segítségével teszteltük, az izolátumok triptofánbontó képességét indolpróbával ellenőriztük. Megvizsgáltuk az izolátumok szénhidrát-hasznosító képességét glükóz-, laktóz- és szacharóztartalmú táplevesben (Konkoly Thege és Lányi, 1999). A leves táptalajokat 2 napig inkubáltuk 37°C-on.

4.6.3 A növekedés körülményeinek vizsgálata

Az *R. anatipestifer* törzsek ideális tenyésztési körülményeit 37°C-on, 5% juhvérrel kiegészített Columbia agar táptalajon vizsgáltuk aerob körülmények között és megemelt, 5% széndioxid koncentráció mellett. A táptalajokat 24 óráig inkubáltuk.

4.6.4 A hemolízis vizsgálata

A *R. anatipestifer* törzsek hemolitikus tulajdonságait 37°C-on, 5% juhvérrel kiegészített Columbia agar táptalajon vizsgáltuk a legtöbb törzs számára ideális 5% széndioxid koncentráció mellett. A táptalajokat 24 óráig termosztátban inkubáltuk.

4.6.5 A szerotípus meghatározása

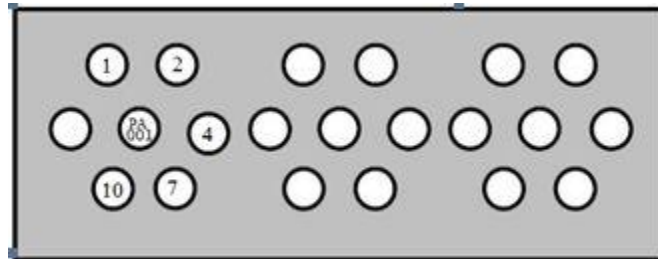
A baktériumok szerotípus meghatározásához 166 db *R. anatipestifer* izolátumot választottunk ki. Az izolátumok szerotípusának meghatározását agargél-precipitációs teszttel (AGP) végeztük Brogden és mtsai. (1982) módszere alapján. A leggyakoribb, 1-es, 2-es, 4-es, 7-es és 10-es szerotípusú törzsek ellen 16 hetes specifikus kórokozóktól mentes (SPF: specific pathogen free) kakasokban termeltünk szerotípus-specifikus savót.

Az 16 hetes korú madarakat 1 ml, formalinnal inaktívált és Freund inkomplett adjuvánssal adjuvált, 10^8 CFU/ml sűrűségű baktérium szuszpenzióval subcutan oltottuk. A madarakat 3 hét múlva ismét oltottuk ugyanezzel a vakcinával, ezúttal intramuscularisan, majd egy hét múlva az állatokat elvéreztettük.

A vizsgálatba bevont *R. anatipestifer* izolátumok szerotípusát hőstabil antigének alapján, agargél-precipitációs tesztben (AGP) határoztuk meg. Heddleston és mtsai. (1972) által leírt módszer szerint állítottuk elő a hőstabil antigéneket. A vizsgálandó izolátumokat és a szerotípus-specifikus törzseket 24 órán keresztül 37°C-on, 5% széndioxid koncentráció mellett, 5% juhvérrel kiegészített Columbia agar táptalajon inkubáltuk. A baktériumok 24 órás tenyészetét 1,5 ml foszfáttal pufferelt sóoldattal (PBS) lemostuk, majd 3 McFarland-re állítottuk be a szuszpenzió sűrűségét denzitométer (DEN-1 McFarland Densitometer, Biosan, Riga, Lettország) segítségével. Ezután 1 órán keresztül 100°C-on forraltuk a baktérium szuszpenziókat asztali blokk termosztátban (BioSan), majd 5 percig 12000 g-n centrifugáltuk, a szerotípus meghatározásához a felülúszót használtuk.

Az AGP teszt első lépéseként mikroszkóp-tárgylemezre 5 ml Noble-agarból (0,9% Noble agar [BD Difco™ Agar, Noble; Becton, Dickinson & Co., Franklin Lakes, New Jersey], 8,5% NaCl és 0,01% thimerosal desztillált vízben) gélt öntöttünk. A megdermedt gélben háromszor 7 db, 4 mm átmérőjű mélyedést készítettünk, a középső mélyedéstől és egymástól 6 mm

távolságra. A középső mélyedést hat további vett körbe hatszöget formázva. Az előkészített Noble agar középső mélyedésébe a vizsgált baktérium szuszpenzió felülúszójának 20 µl-ét tettük, az azt körülvevő mélyedésekbe a szerotípus-specifikus savókból mértünk 20-20 µl-t (1. ábra).



1. ábra: Az AGP teszt elrendezése mikroszkóp-tárgylemezen.

A tárgylemezeket nedves környezetben 37°C-on, 48 órán keresztül inkubáltuk. A precipitációs ívek megjelenését erős ferdén eső megvilágításban olvastuk le. 1-es, 2-es, 4-es, 7-es és 10-es szerotípusú törzsek ellen termelt savóval nem tipizálható törzseket a Ripac-Labor GmbH (Potsdam, Németország) szerotipizálta Rubbenstroth és mtsai. (2013) által leírtak alapján.

4.6.6 Az antibiotikum-érzékenység vizsgálata

Az antibiotikum-érzékenységet Kirby-Bauer korongdiffúziós módszerrel vizsgáltuk, a vizsgálathoz 196 *R. anatipestifer* izolátumot választottunk ki. A vizsgálatokat a Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2013, 2015) Gram-negatív baktériumokra kiadott irányelvei szerint végeztük el. A vizsgált törzseket 5% juhvérrel kiegészített Columbia agar táptalajon, 5% széndioxid koncentráció mellett, 37°C-on inkubáltuk. A friss színtenyészetből néhány telepet 5 ml fiziológiás sóoldatban szuszpendáltuk, majd a sűrűségét denzitométer (BioSan) segítségével 0,5 McFarland-re állítottuk be. A szuszpenziót steril vattapálcával 5% juhvért tartalmazó Müller-Hinton (Biolab, Budapest, Magyarország) táptalajra szélesztettük. Végül a táptalajokra helyeztük az antibiotikum korongokat a gyári utasításnak megfelelően. Törzseink érzékenységét 13 antibiotikumra vizsgáltuk (2. táblázat).

2. táblázat: Az antibiotikum-érzékenység vizsgálata során felhasznált antibiotikum korongok adatai

Antibiotikum neve	rövidítés	gyártó
Ampicillin / Amoxicillin	AMP 10 / AM 10	Biolab
Doxiciklin	DO 30	Biolab
Enrofloxacin	ENR 5	Biolab
Eritromicin	E 15	Biolab
Florfenikol	FFC 30	Biolab
Flumekvin	FLM 30	Biolab
Gentamicin	CN 10	Biolab
Penicillin	P 10	Biolab
Spektinomycin	SPT 100	Biolab
Sztreptomycin	S 10	Biolab
Szulfametoxazol-trimetoprim	SXT 25	Biolab
Szulfonamidok	S 3300	Biolab
Tetraciklin	TE 30	Biolab

*A rövidítés melletti szám a korongok µg-ban megadott antibiotikum tartalmát jelöli

A táptalajokat 5% széndioxid koncentráció mellett, 37°C-on, 24 óráig inkubáltuk. A gátlási zónákat mm pontossággal leolvastuk. Az antibiotikum-érzékenységet a CLSI M100-S21 (CLSI, 2013), CLSI VET01S (CLSI, 2015) dokumentumokban ajánlott határértékek alapján a NÉBIH-ÁDI Bakteriológiai Laboratórium (Budapest) által kidolgozott határértékek (Melléklet 2. táblázat) szerint bíráltuk el.

4.7 A törzsek genotípusának meghatározására irányuló vizsgálatok

4.7.1 DNS-izolálás

A vizsgált *R. anatipestifer* törzsek frissen inkubált színtenyészetéből egy kacsnyi telepet 50 µl PCR vízben (VWR, Padnor, PA, USA) szuszpendáltunk, majd 20 percig 99°C-on asztali blokktermosztátban (BioSan, Riga, Latvia) forraltuk. Az így kapott szuszpenziót 5 percig 12000 g-n centrifugáltuk, majd a DNS-t tartalmazó felülúszót steril csövekbe átpipettáztuk. Nanodrop spektrofotométer (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA) segítségével ellenőriztük a szuszpenzió sűrűségét, majd 50 ng/µl koncentrációra hígítottuk. A DNS templátot -20°C-on tároltuk további felhasználásig.

4.7.2 Plazmidizolálás

A vizsgálathoz QIAGEN Plasmid Mini Kit-et (Hilden, Németország) használtuk a gyártó útmutatásának megfelelően. A plazmidok kimutatásához a termékeket 0,5%-os TopVision (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, USA) agaróz gélben 1xTAE (trisz-acetát-EDTA, Lonza) pufferben, megfelelő méretű molekulasúly-markerek (Fermentas) mellett ellenőriztük 9 V/cm elektromos térerősségű gélelektroforézissel. A gél zsebeibe mintánként 15 µl eluált terméket és 5 µl 6xDNA Loading Dye-t (Fermentas) mértünk. A termékek detektálása és dokumentálása UV fényben történt Kodak Gel Logic 212 Imaging System (Rochester, USA) segítségével.

4.7.3 Polimeráz láncreakciók

Vizsgálataink során a következő primereket használtuk fel:

Név	5'-3' szekvencia	Hivatkozás
669 AF	5'-TTACCGACTGATTGCCTTCTAG-3'	Kardos és mtsai., 2007
669 AR	5'-AGAGGAAGACCGAGGACATC-3'	Kardos és mtsai., 2007
RA L-17	5'-TAGCATCTCTTGGATTCCCTTC-3'	Rubbenstroth és mtsai., 2013
RA R-354	5'-CCAGTTTTTAACCACCATTACCC-3'	Rubbenstroth és mtsai., 2013
ERIC R1	5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3'	Versalovich és mtsai., 1991
ERIC 2	5'-AAGTAAGTGAAGTGGGGTGAGCG-3'	Versalovich és mtsai., 1991

A *R. anatipestifer* fajazonosító PCR-t Kardos és mtsai. (2007) által publikált adatok alapján állítottuk össze kisebb módosításokkal.

A reakcióelegy összetétele:

18,3 µl	PCR víz
2,5 µl	10 x DreamTaq puffer
1,2 µl	25 mM MgCl ₂
1,0 µl	10 mM dNTP
0,4 µl	10 µM 669 AF primer
0,4 µl	10 µM 669 AR primer
0,2 µl	5 U/µl DreamTaq polimeráz
1,0 µl	100 ng/µl DNS templát

A fentebb leírt *R. anatipestifer* fajazonosító PCR-t rokon baktériumfajokkal (*Coenonia anatina*, *Riemerella columbina*, *Wautersiella falsenii*, *Pelistega europaea*) tesztelték (Christensen és Bisgaard, 2010) és a fals pozitív eredmények kiküszöbölése érdekében Rubbenstroth és mtsai. (2013) tovább fejlesztették. A következő fajazonosító PCR-t a

Rubbenstroth és mtsai. (2013) által leírtak alapján állítottuk össze. A fajazonosító PCR-eket minden *R. anatipestifer* törzs esetében elvégeztük.

A reakcióelegy összetétele:

18,25 µl	PCR víz
2,5 µl	10 x DreamTaq puffer
1,2 µl	25 mM MgCl ₂
1,0 µl	10 mM dNTP
0,4 µl	50 µM RA L-17 primer
0,4 µl	50 µM RA R-354 primer
0,25 µl	5 U/µl DreamTaq polimeráz
1,0 µl	100 ng/µl DNS templát

A *R. anatipestifer* törzsek jellemzésére használt ERIC-PCR vizsgálatokhoz 166 *R. anatipestifer* izolátumot választottunk ki.

Az ERIC-PCR reakcióelegy összetétele:

12,6 µl	PCR víz
2,5 µl	10 x DreamTaq puffer
1,0 µl	25 mM MgCl ₂
0,5 µl	10 mM dNTP
1,5 µl	10 µM ERIC 2 primer
1,5 µl	10 µM ERIC R1 primer
0,4 µl	5 U/µl DreamTaq polimeráz
5,0 µl	100 ng/µl DNS templát

Az egyes PCR-ek hőprofilját és a felhasznált primereket a 3. táblázat tartalmazza.

3. táblázat: A vizsgált génszakaszok felsokszorozásakor alkalmazott reakciókörülmények és primerek

PCR	Kezdeti denaturáció	Denaturáció	Anneláció	Extenzió	Végső extenzió	Ciklus-szám	Primerek
Fajspecifikus (Kardos, 2007)	95 °C 4 min	95 °C 1 min	55 °C 1 min	72 °C 1 min	72 °C 7 min	35	669 AF 669 AR
Fajspecifikus (Rubbenstroth, 2013)	94 °C 2 min	94 °C 30 sec	56.7 °C 30 sec	72 °C 30 sec	72 °C 10 min	35	RA L-17 RA R-354
ERIC	95 °C 5 min	94 °C 30 sec	40 °C 2 min	72 °C 2 min	72 °C 7 min	35	ERIC R1 ERIC 2

A fajspecifikus, 16S rRNS és *rpoB* PCR termékeit 1,5%-os SeaKem (Lonza; Basel, Svájc) agaróz gélben 1xTBE (trisz-bórsav-EDTA, Lonza) pufferben, megfelelő méretű molekulasúly-markerek (Fermentas) mellett ellenőriztük 9 V/cm elektromos térerősségű gélelektroforézissel. A gél zsebeibe mintánként 5 µl PCR terméket és 1 µl 6xDNA Loading Dye-t (Fermentas) mértünk. A termékek detektálása és dokumentálása UV fényben történt Kodak Gel Logic 212 Imaging System (Rochester, USA) segítségével.

A ERIC-PCR termékeket 1,5%-os agaróz gélben (TopVision agaróz; Thermo Fisher Scientific Inc.) 1 x AccuGENE TAE (Lonza, Verviers, Belgium) pufferben HyperLadder 50 bp (Bioline, London, Anglia) and GeneRuler DNA Ladder Mix (Thermo Fisher Scientific Inc.) molekulasúly-markerek mellett ellenőriztük 4 óráig 120 V feszültség mellett. A DNS-t GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain-vel (Biotium Inc., Hayward, CA, USA) festékkel tettük láthatóvá és a termékek dokumentálása szintén UV fényben történt Kodak Gel Logic 212 Imaging System (Rochester, USA) segítségével.

4.7.4 Az ERIC-PCR vizsgálatok eredményeinek elemzése

A különböző *R. anatipestifer* törzsekkel végzett ERIC-PCR reakciók során keletkezett termékek megléte (1) vagy hiánya (0) alapján bináris mátrixot készítettünk PyElph (1.4-es verzió, Pavel és Vasile, 2012) programmal. Dice koefficienset használtunk a törzsek genetikai rokonságának megállapításához és UPGMA módszerrel készítettük dendrogramot. A törzsfatopológiáját 100 ismétléses bootstrap analízissel vizsgáltuk (Pavel és Vasile, 2012).

5. Eredmények

5.1 Járványtani adatok

Anatipestifer betegséget 2010 és 2014 között ludakban 141 esetben diagnosztizáltunk, ami a beküldött lúdesetek 9,9%-a, kacsákban 31 esetben állapítottuk meg, ami a kacsaesetek 7,5 %-a. Pulykákban meglehetősen ritka volt az anatipestifer betegség, csupán 7 esetben, a pulykaesetek 0,5%-ában fordult elő. Az anatipestifer betegséget 5 napos-17 hetes korú ludakban, de leggyakrabban 1-8 hetes kor között diagnosztizáltuk. Kacsákban a betegség 3-6,5 hetes kor között fordult elő, míg pulykákban 12-19 hetes korban diagnosztizáltuk.

A beteg állatok általában a klinikai tünetek megjelenését követő 48-72 óra múlva hullottak el. Elhúzódó, lesoványodással járó megbetegedések csak ritkán fordultak elő.

A leggyakoribb klinikai tünetek a bágyadtság, zöldes hasmenés, ataxia, elfekvés (2. ábra), rendellenes nyak- és fejtartás (3. ábra), fej remegés, oldalt vagy háton fekvés és kapálózás voltak. Esetenként légzőszervi tüneteket, orrfolyást vagy kötőhártya-gyulladást is megfigyeltünk.



2. ábra: Elfekvés pulykában



3. ábra: Csillagvizsgáló fejtartás lúdban

Néhány esetben vírusos megbetegedés mellett másodlagos (szövődményes) betegségként diagnosztizáltuk az anatipestifer betegséget, azt is előfordult, hogy egy eseten belül néhány madárban más bakteriális megbetegedés volt az elhullás oka. Ludakban az esetek 19%-ában circovírus okozta megbetegedés, 5%-ában Derzsy-betegség volt az elsődleges bántalom. Az esetek 21%-ában az egy alkalommal beküldött ludak közül néhány colibacillosisban hullott el, az esetek 12%-ában tüdőmycosis, 8%-ában madarak paratyphusa

vagy streptococcosis is megjelentek diagnózisként, míg a madarak többsége anatipestifer betegségben pusztult el.

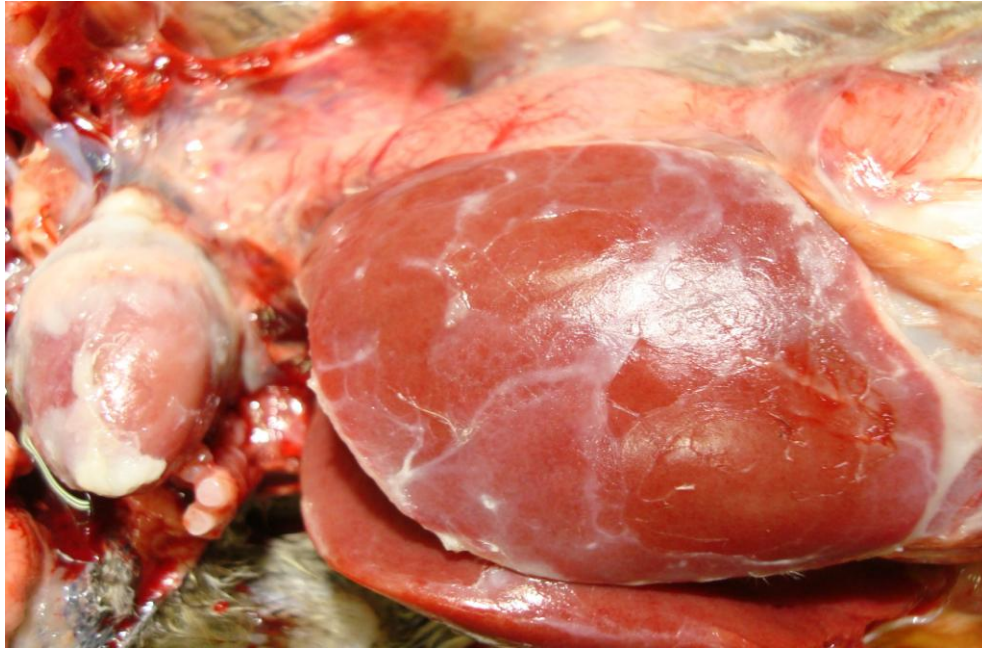
Kacsákban szintén előfordult, hogy másodlagos (szövődményes) betegségként diagnosztizáltuk az anatipestifer betegséget. Az esetek 46%-ában circovírus okozta megbetegedés, 13%-ában mycotoxicosis, 8%-ában mycoplasmosis volt az elsődleges bántalom. Az esetek 38%-ában az egy alkalommal beküldött kacsák közül néhány colibacillosisban hullott el, míg a madarak többsége anatipestifer betegségben pusztult el. Madarak paratyphusa, staphylococcosis, pasteurellosis, amyloidosis és zsigeri köszvény is előfordult egy-egy madárban egy eseten belül.

Pulykában egy esetben diagnosztizáltunk *R. anatipestifer* okozta vérfertőzést, egy esetben szintén vérfertőzésre utaló elváltozásokat láttunk, míg 5 esetben a kórokozó helyi elváltozásokat okozott *E.coli* vérfertőzés mellett. Ezekben az esetekben a *R. anatipestifer*-t szintenyészetben izoláltuk a helyi elváltozásokból; a koponyacsontból, agyburokból és esetenként az ízületből. A pulykaesetek különböző állományokban, időpontban és földrajzi területen jelentkeztek, de minden esetben azonos volt a tulajdonos.

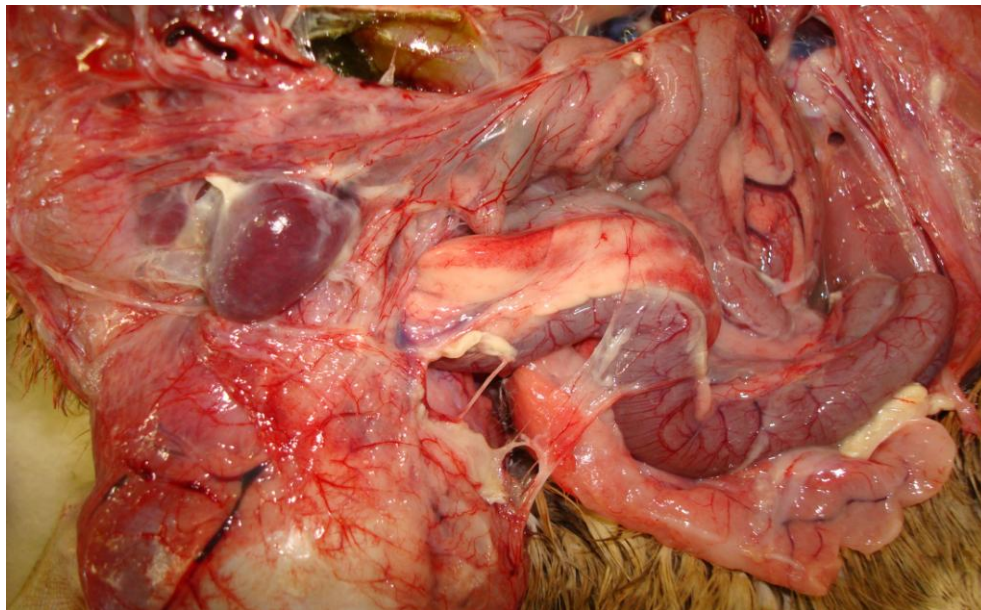
5.2 Kórbonctani vizsgálatok

5.2.1 Kórbonctani vizsgálatok lúdban és kacsában

Lúdban és kacsában savós-fibrines szívburok-, légzsák- és hashártyagyulladás volt a legszembetűnőbb kórbonctani elváltozás anatipestifer betegség esetén. Savós-fibrines felrakódást láttunk a máj felszínén és a szívburokban (4. ábra). A lép általában megnagyobbodott (5. ábra), esetenként márványozott volt, a májban bővérűséget láttunk. Az orrüregben és az orrmelléküregekben hurutos-gennyes izzadmány halmozódott fel, esetenként hurutos tüdőgyulladást is megfigyeltünk. A vékonybélben rendszerint hurutos bélgyulladást láttunk; a bélcsatorna nyálkahátyája duzzadt, kipirult és hurutos nyálkával borított volt. Általában egy eseten belül néhány madárban a fej bőr alatti kötőszövetének oedemáját és bővérűségét is megfigyeltük (6. ábra). Esetenként savós-fibrines ízületgyulladást láttunk az egyik vagy mindkét oldali csánkízületben vagy lábtőízületben, az ízületek üregében az ízületi folyadék megszorodott, zavarossá vált. Néhány esetben savós-fibrines petevezető-gyulladást is megfigyeltünk (7. ábra). Savós-fibrines ízületgyulladás a lúdesetek 6%-ában, savós-fibrines petevezető-gyulladás a lúdesetek 5%-ában, a kacsaesetek 13%-ában jelentkezett. Kötőhártyagyulladást a kacsaesetek 4%-ában figyeltünk meg. Felnőtt lúdban vagy kacsában anatipestifer betegséget nem diagnosztizáltunk.



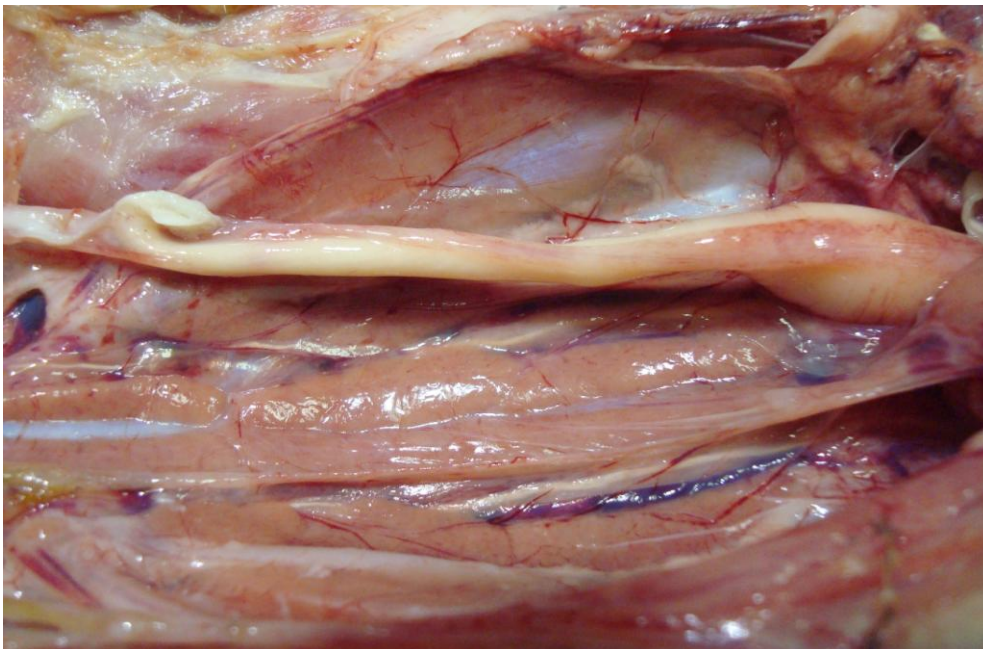
4. ábra: Fibrines felrakódás a máj felszínén és a szívburokban lúdban



5. ábra: Megnagyobbodott lép és savós-fibrines hashártyagyulladás lúdban



6. ábra: A fej bőr alatti kötőszövetének oedemája és bővérűsége lúdban

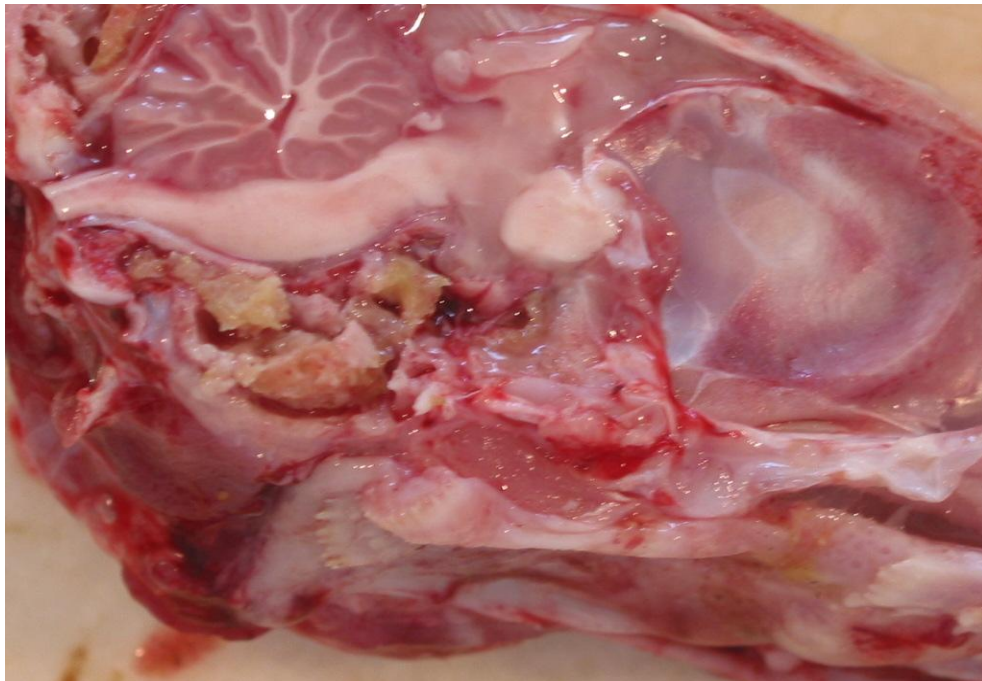


7. ábra: Savós-fibrines petevezető-gyulladás lúdban

5.2.2 Kórbonctani vizsgálatok pulykában

Az esetek 72%-ában, 5 esetben a *R. anatipestifer* csak helyi elváltozásokat okozott pulykában *E.coli* vérfertőzés mellett. A leggyakrabban, 4 esetben a koponyacsont gennyes osteomyelitisét (8. ábra) és savós-gennyes agyburokgyulladást láttunk. Esetenként az előző elváltozások mellett *R. anatipestifer* okozta savós-gennyes agykamragyulladást és/vagy savós-gennyes ízületgyulladást is megfigyeltünk. Egy esetben csak a koponyacsontban láttunk gennyes osteomyelitist agyburokgyulladás nélkül. A fent leírt esetekben, habár *E. coli* okozta vérfertőzést tapasztaltunk, a helyi elváltozásokból, a koponyacsontból, agyburokból, esetenként agykamrából vagy az ízületből a *R. anatipestifer*-t mindig szintenyészetben izoláltuk.

Egy esetben a kórokozó vérfertőzést okozott, nemcsak a helyi elváltozásokból, hanem a szívvérből is izoláltuk. Ekkor savós-fibrines szívburok-, légzsák- és hashártyagyulladást és savós-gennyes ízületgyulladást figyeltünk meg. Egy esetben a bakteriológiai vizsgálat a vérfertőzést nem igazolta, a szívvér és a máj negatív volt, de a *R. anatipestifer*-t izoláltuk a szívburokból, légzsákról, koponyacsontból, agyburokból, agykamrából és az ízületből. Kórbonctani vizsgálattal savós-fibrines szívburok-, légzsák- és hashártyagyulladást, a koponyacsont gennyes osteomyelitisét és savós-gennyes agyburok- és agykamragyulladást, savós-gennyes ízületgyulladást láttunk. Felnőtt pulykában anatipestifer betegséget nem diagnosztizáltunk.

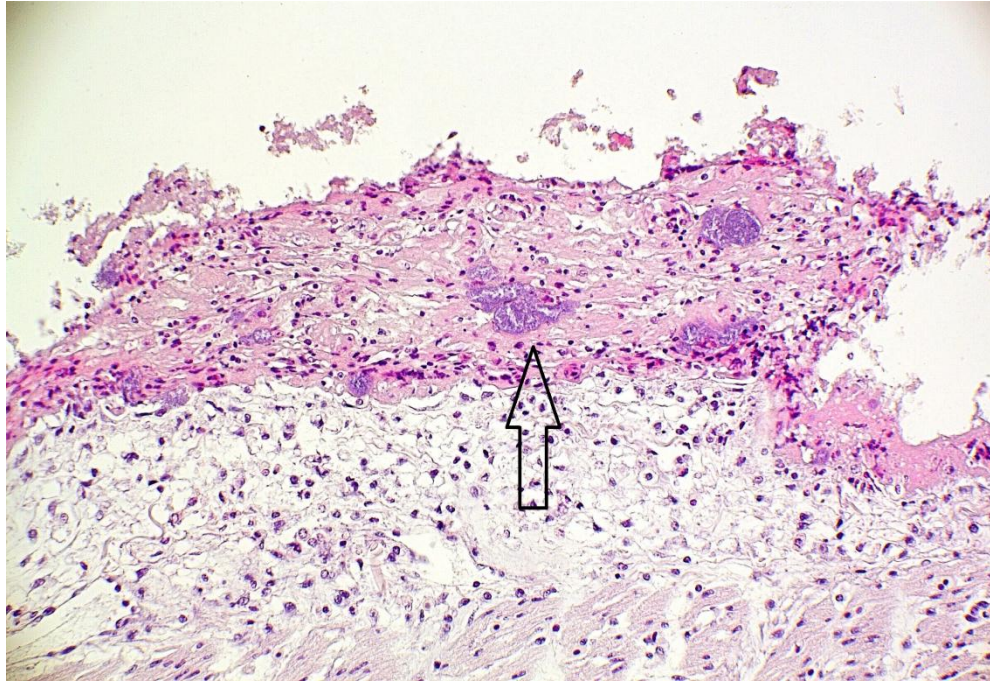


8. ábra: A koponyacsont gennyes osteomyelitisé pulykában

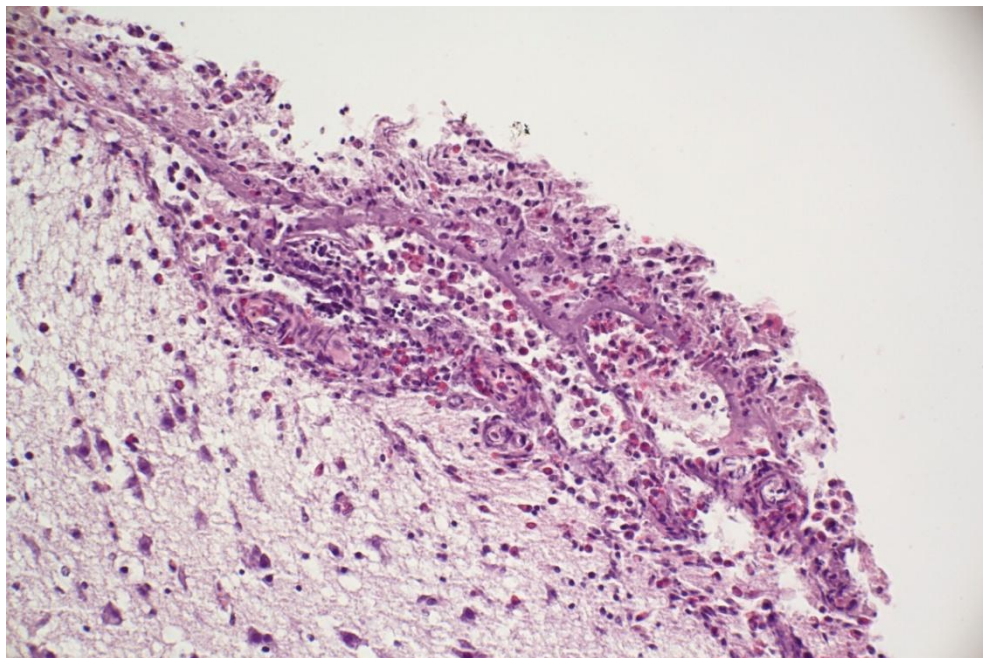
5.3 Kórszövettani vizsgálatok

Szövettani vizsgálattal lúdban, kacsában és két pulyka esetben savós-fibrines gyulladást figyeltünk meg a szív epicardiumában (9. ábra), a máj Glisson-tokjában, a légzsákok falában és a tüdőt borító savóshártyában. A savós-fibrines izzadmányban lymphocytákat, histiocytákat és heterophil granulocytákat lehetett megfigyelni. Savós májgyulladást láttunk, a máj sinusoidjai kitágultak és a benne található fehérvérsejtek megszorodtak. A hepatocyták cytoplasmájában esetenként hydropicus elfajulás látszott. Enyhe fokú periportális lympho-histiocytás infiltráció is előfordult. Esetenként az alsó légutakban, a tüdő parabronchusaiban savós vagy hurutos izzadmányt figyeltünk meg. A Fabricius-féle bursa folliculusainak velőállományában lymphocytá-kiürülés is előfordult. Idegrendszeri érintettség esetén savós-fibrines agyburok- és agykamragyulladást láttunk az agyvelőben. Az agy- és gerincvelőt borító lágy burok diffúzan megszálesbedett, savós-fibrines gyulladást, lymphocytás, histiocytás és heterophil granulocytás beszűrődést lehetett megfigyelni (10. ábra). Hasonló sejtes beszűrődés fordult elő az agykamrákban, a gerincvelő canalis centrálisában és az ezeket bélelő ependyma alatt.

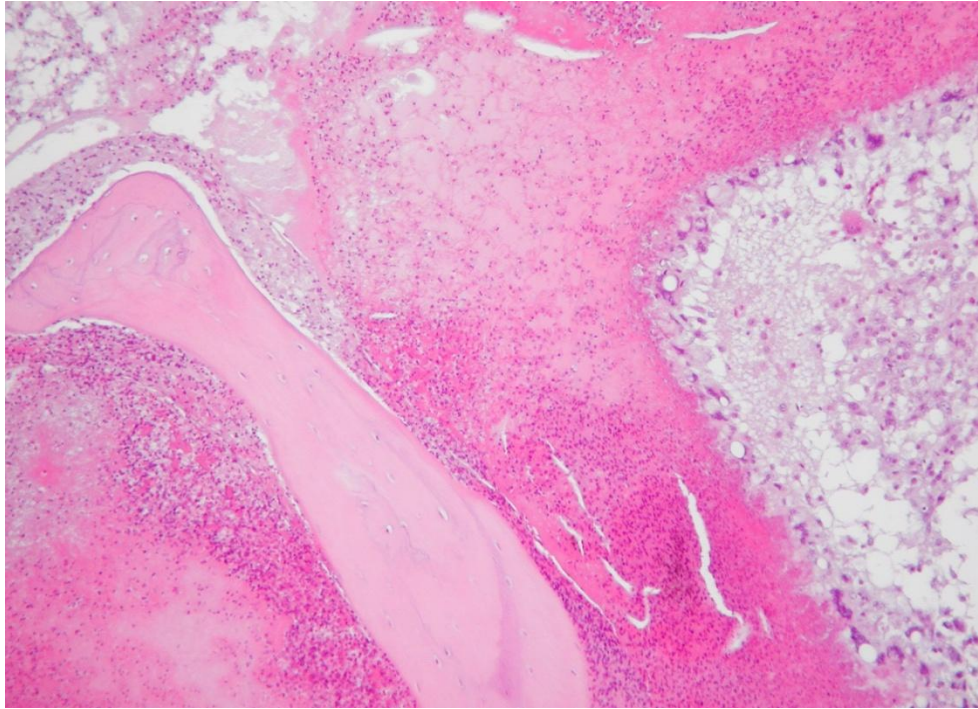
A pulykaesetek nagy részében a koponyacsontban heterophil granulocytás beszűrődéssel járó savós-gennyes osteomyelitist figyeltünk meg (11. ábra). Általában ehhez az elváltozáshoz savós-gennyes agyburokgyulladás vagy esetenként savós-gennyes agykamragyulladás is csatlakozott. Az agyvelőt borító lágy burok megszálesbedett, heterophil granulocytás, lymphocytás és histiocytás beszűrődéssel járó savós-gennyes gyulladást láttunk.



9. ábra: Savós-fibrines gyulladás a szív epicardiumában baktérium felhőkkel (↑) lúdban (H.-E.)
400x



10. ábra: Az agyvelőt borító lágycsőrök diffúzan megszálesbedett és gyulladással: lymphocytával, histiocytával és heterophil granulocytával beszűrődött lúdban (H.-E.) 400x

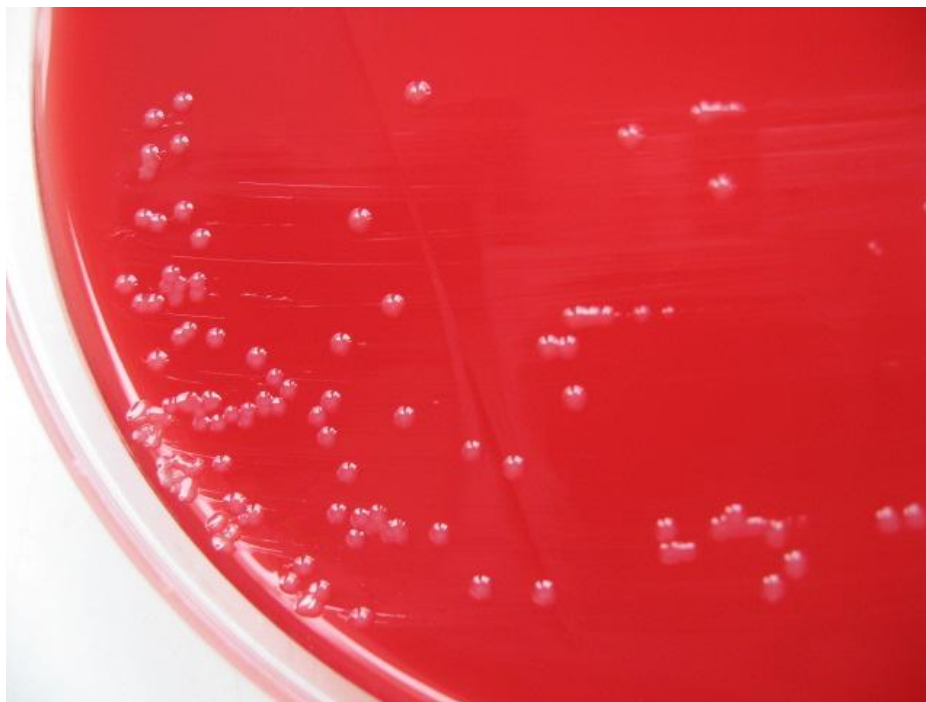


11. ábra: Heterophil granulocytás beszűrődéssel járó savós-gennyes osteomyelitis a koponyacsontban, pulykában (H.-E.) 200x

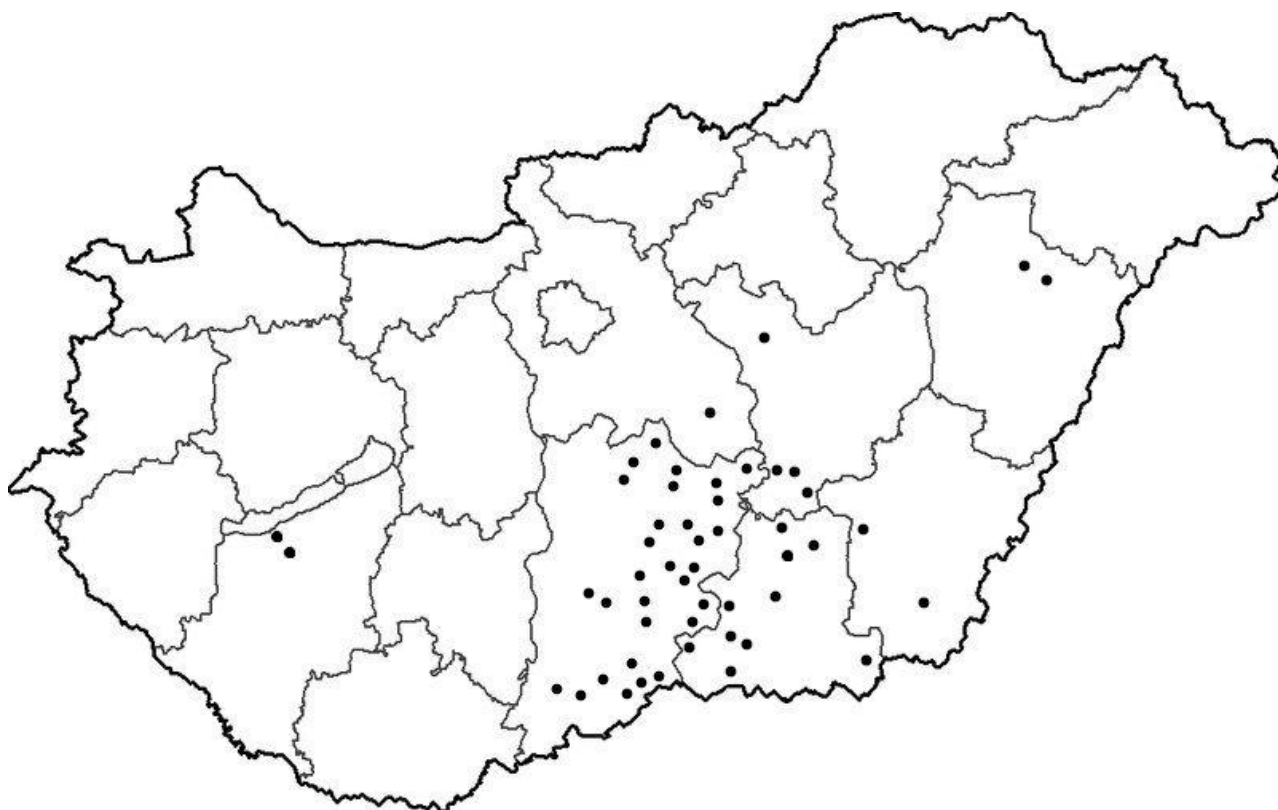
5.4 A baktériumok izolálása és azonosítása

A vizsgálati időszakban, 2010 és 14 között a NÉBIH-ÁDI laboratóriumaiba 1418 növendék lúdeset, 411 növendék kacsaeset és 1292 növendék pulykaeset érkezett kórbonctani vizsgálatra. Növendék korcsoportban egy eset kivizsgálásához rendszerint 4-10 madár került beküldésre. A bakteriológiai vizsgálat során azokat a telepeket tekintettük *R. anatipestifer* gyanúsak, amelyek 24 óra inkubálás után Columbia véres agaron 1-2 mm átmérőjű, konvex, ép szélű, szürkés, átlátszó, csillogó, vajszerű konzisztenciájú telepeket képeztek (12. ábra).

A telep morfológia megfigyelése és a fajazonosító PCR vizsgálatok után 136 lúd, 24 kacsa és 3 pulykaeredetű törzset izoláltunk. A fentebb leírt esetekből általunk izolált és a törzsgyűjtemény további izolátumainak földrajzi eredete a 13. ábrán látható.



12. ábra: A *R. anatipestifer* telepmorfológiája 24 óra inkubációt követően



13. ábra: A *R. anatipestifer* izolátumok földrajzi eredete

A molekuláris azonosítást az összes vizsgálatba bevont izolátumon elvégeztük. A fajazonosító PCR-ek során egy 546 bp (Kardos és mtsai., 2007) és egy 338 bp (Rubbenstroth és mtsai., 2013) hosszúságú DNS szakasz sokszorozódott fel.

5.5 A baktériumok fenotípusos vizsgálatának eredményei

5.5.1 Biokémiai tulajdonságok vizsgálata

Valamennyi *R. anatipestifer* törzs pozitív eredményt adott a katalázpróbában és a citokrómoxidáz-C enzim aktivitását vizsgáló tesztben. A nitrátredukció vizsgálatában és az izolátumok triptofán-bontó képességét mutató indolpróbában az összes törzs negatívnak bizonyult. Az urea-t a legtöbb törzs (58 db, 90,6%) nem bontotta, míg 5 törzs (7,8%) bontotta, 1 törzs (1,6%) pedig kétes (gyengén pozitív) eredményt adott. A törzsek meglehetősen inaktívak voltak a szénhidrát-hasznosító képességet vizsgáló tesztekben. A laktózt egy törzs sem volt képes felhasználni. A glükózbontásban 15 törzs (23,4%), a szacharózbontásban 1 törzs (1,6%) kétes (gyengén pozitív) eredményt adott, míg a többségük inaktívnak bizonyult (Melléklet 3. táblázat).

5.5.2 A növekedés körülményeinek vizsgálata

A *R. anatipestifer* törzsek ideális tenyésztési körülményeit 37°C-on, 5% juhvérrel kiegészített Columbia agar táptalajon vizsgáltuk aerob körülmények között és megemelt, 5% széndioxid koncentráció mellett. Valamennyi *R. anatipestifer* törzs növekedett 5% széndioxid koncentráció mellett, 1-2 mm átmérőjű, konvex, ép szélű, szürkés, átlátszó, csillogó, vajszerű konzisztenciájú telepeket képeztek. Aerob körülmények között a törzsek 76%-a (149 db) hasonló módon növekedett, míg a törzsek 24%-a (48 db) 24 órás inkubálás után csak apró, tűszúrásnyi telepeket hozott létre. A megemelt széndioxid koncentrációt igénylő törzsek 81%-át (39 db) lúdból, 17%-át (8 db) kacsából, 2%-át (1 db) pulykából izoláltuk. A 2000-ben izolált törzsek közül 1db, 2006-ban 13 db, 2011-ben 3 db, 2012-ben 15 db, 2013-ban 5 db, 2014-ben 10db, 2015-ben 1 db törzs igényelt megemelt széndioxid koncentrációt és Bács-Kiskun, Csongrád, Hajdú-Bihar, Békés és Somogy megyéből származtak. A széndioxid szükséglettel kapcsolatos vizsgálatok eredményeit a Melléklet 1. táblázata tartalmazza.

5.5.3 A hemolízis vizsgálata

A *R. anatipestifer* törzsek 98%-a (193 db) nem hemolizált, míg 2%-uk (4 db) 5% juhvérrel kiegészített Columbia agar táptalajon 5% széndioxid koncentráció mellett 24 óráig 37°C-on történő inkubálás után β -hemolizált. A hemolizáló törzsek közül hármat lúdból izoláltunk, egynek a faji eredete nem ismert. Kettő a Dél-Alföldről származik és 2000-ben izolálták, egy Bács-Kiskun megyéből származik és 2013-ban izoláltuk. Egynek a származási helye, izolálás ideje ismeretlen. A hemolízis vizsgálatának eredményeit a Melléklet 1. táblázata tartalmazza.

5.5.4 A szerotípus meghatározása

A *R. anatipestifer* törzsek között hagyományos agargél-precipitációs teszttel (AGP) nyolc szerotípust (1, 2, 4, 7, 10, 13, 17, 18) tudtunk azonosítani (Melléklet 1. táblázat). Az összes törzs tipizálhatónak bizonyult. A törzsek 83,1%-a (138 db) monospecifikus reakciót mutatott. A törzsek 16,9 %-a (28 db) az 1-es és a 7-es szerotípus-specifikus savóval is egyformán reagált (1,7 szerotípus). A legtöbb törzs az 1-es szerotípusba tartozott (107 db, 64,5%). A törzsek 16,9%-át (28 db) 1,7-es, 7,2%-át (12 db) 2-es, 4,8%-át (8 db) 7-es, 3,6%-át (6 db) 4-es szerotípusúként azonosítottuk. Két törzs (1,2%) a 10-es és további 1-1 törzs (0,6-0,6%) a 13-as, 17-es és a 18-as szerotípusba tartozott.

A vizsgált 139 lúderedetű törzs 67,6%-a (94 db) az 1-es, 14,4%-a (20 db) az 1,7-es, 5,8%-a (8 db) a 2-es, 5,8%-a (8 db) a 7-es, 4,3%-a (6 db) a 4-es, 1,4%-a (2 db) a 10-es, 0,7%-a (1 db) a 17-es szerotípusba tartozott. A 4-es, 7-es, 10-es és 17-es szerotípus csak a lúdból izolált törzsek között fordult elő. A 27 db kacsaaeredetű törzs 48,2%-a (13 db) az 1-es, 29,6%-a (8 db) az 1,7-es, 14,8%-a (4 db) a 2-es, 3,7-3,7%-a (1-1 db) a 13-as és a 18-as szerotípusba tartozott. Ez utóbbi két szerotípust csak a kacsaaeredetű törzsek között figyeltük meg. Az 1-es, 1,7-es és a 2-es szerotípus mindkét fajban előfordult, az 1-es a lúderedetű törzsek között volt gyakoribb, az 1,7-es és a 2-es a kacsából izolált törzsek között.

Az izolálás időpontját tekintve majdnem minden évben az 1-es szerotípus volt a leggyakoribb, ezt követte az 1,7-es, 7-es vagy a 2-es. A ritkábban előforduló szerotípusokat (4, 10, 13, 17, 18) különböző években izoláltuk, nem halmozódva fordultak elő (4. táblázat).

4. táblázat: Az egyes szerotípusok gyakorisága az izolálás éve szerint

izolálás éve	szerotípus								
	1	1,7	2	7	4	10	13	17	18
2000 (7)	2	-	2	-	3	-	-	-	-
2004+2006 (10)	7	-	-	2	-	1	-	-	-
2009+2010 (24)	20	2	-	2	-	-	-	-	-
2011 (24)	8	11	2	1	2	-	-	-	-
2012 (29)	19	6	-	2	-	1	-	1	-
2013 (34)	27	7	-	-	-	-	-	-	-
2014 (36)	24	2	8	1	-	-	-	-	1
2015 (1)	-	-	-	-	-	-	1	-	-
2017 (1)	-	-	-	-	1	-	-	-	-

A törzsek földrajzi eredete szerint is megvizsgáltuk a szerotípusok előfordulását. Bács-Kiskun megyében számos településről izoláltunk törzset, ezért a megyét égtájak szerint négy részre osztottuk. A legtöbb megyében vagy megye részben szintén az 1-es szerotípus volt a leggyakoribb és ezt követte az 1,7-es, 7-es vagy a 2-es. Csak Bács-Kiskun megye dél-nyugati részében és Hajdú-Bihar megyében fordult elő a 4-es szerotípus. Csak Bács-Kiskun megye dél-nyugati részéből izoláltunk 13-as és 18-es, csak Bács-Kiskun megye észak-nyugati részéből izoláltunk 17-es szerotípusú törzset (5. táblázat).

5. táblázat: Az egyes szerotípusok gyakorisága az izolálás földrajzi helye szerint

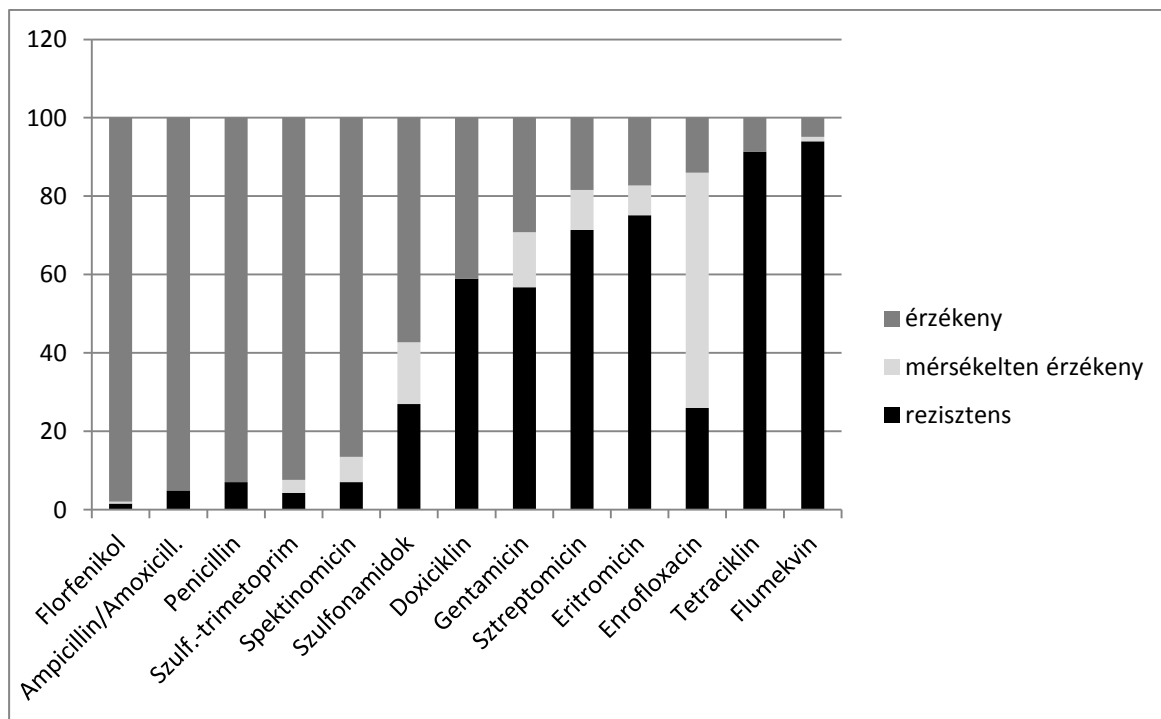
izolálás helye	szerotípus								
	1	1,7	2	7	4	10	13	17	18
DK Bács-Kiskun (43)	26	13	2	-	-	2	-	-	-
DNY Bács-Kiskun (28)	16	5	-	3	2	-	1	-	1
ÉK Bács-Kiskun (31)	22	6	1	2					
ÉNY Bács-Kiskun (22)	14	3	4	-	-	-	-	1	-
Csongrád (14)	11	1	1	1					
Jász-N-Sz (8)	8	-	-	-	-	-	-	-	-
Pest (6)	5	-	-	1	-	-	-	-	-
Hajdú-Bihar (5)	3	-	-	1	1	-	-	-	-
Békés (2)	-	-	2	-	-	-	-	-	-

5.5.5 Antibiotikum-érzékenység meghatározása

A *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum-érzékenységét Kirby-Bauer korongdiffúziós módszerrel vizsgáltuk, melynek részletes eredményei a Melléklet 2. táblázatában tekinthetők meg. Vizsgálataink alapján a legtöbb törzs érzékeny volt florfenikolra (98%), ampicillin/amoxicillinre (95,4%), penicillinre (93,4%), szulfametoxazol-trimetoprimra (90,8%) és spektinomycinre (86,8%). Az enrofloxacin és a szulfonamidok már kevésbé bizonyultak hatékonyak (26% és 29,1% rezisztencia), habár a mérsékelten érzékeny törzsek aránya magas volt enrofloxacinra (59,7%). A törzsek körülbelül fele rezisztens volt gentamicinnel (56,6%) és doxiciklinnel (58,2%) szemben. A törzsek nagy arányban rezisztensek voltak flumekvinnel (93,4%), tetraciklinnel (90,8%), eritromicinnel (75,5%) és sztreptomocinnel (70,9%) szemben (14. ábra).

Vizsgáltuk a törzsek antibiotikum-rezisztencia profiljának változását időben. A rezisztencia mértéke florfenikolra és spektinomycinre 1993-tól, eritromicinre és sztreptomocinre 1997-től, szulfonamidokra 2004-től és doxiciklinre 2009-től emelkedő tendenciát mutatott. A rezisztencia aránya a többi vizsgált antibiotikumra időben változó tendenciát mutatott.

Megvizsgáltuk az antibiotikum-rezisztenciáját négy törzsnek, melyeket három héten belül egy járvány kitörésből, ugyanabból az állományból izoláltunk. A törzsek egyre rezisztensebbnek bizonyultak, időrendben 4, 4, 5 és végül 7 antibiotikummal szemben mutattak rezisztenciát a vizsgált 13 hatóanyag közül.



14. ábra: A *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum-rezisztencia vizsgálatának eredménye

Megvizsgáltuk a törzsek antibiotikum-rezisztencia profiljának változását az izolálás földrajzi helye alapján. Bács-Kiskun megyében számos településről izoláltunk törzset, ezért a megyét égtájak szerint négy részre osztottuk. Bács-Kiskun megye észak-nyugati részében volt a legnagyobb a rezisztens törzsek aránya tetraciklinre, doxiciklinre, gentamicinre, spektinomycinre, szulfonamidokra, szulfametoxazol-trimetoprimra. Bács-Kiskun megye dél-nyugati részéből izolált törzsek voltak a legnagyobb arányban rezisztensek florfenikolra. Bács-Kiskun megye észak-keleti részében volt a legnagyobb a rezisztens törzsek aránya penicillinre, ampicillin/amoxicillinre, sztreptomicinre, eritromicinre. Csongrád megyéből izolált törzsek nagyobb arányban voltak rezisztensek enrofloxacinra, flumekvinre. A rezisztencia arányok az átlaghoz képest 3-19,5% növekedést mutattak. Bács-Kiskun megye dél-nyugati részében volt a legkisebb a rezisztens törzsek aránya flumekvinre, gentamicinre, spektinomycinre és sztreptomicinre.

A vizsgálataink során izoláltunk törzseket Békés, Hajdú-Bihar, Jász-Nagykun-Szolnok, Pest és Somogy megyéből, valamint egy törzset kaptunk Németországból, de a kis mintaszám ($n < 8$) torzította volna az eredményeinket, ezért csak a nagyobb mintaszámú ($15 < n < 53$) területeket értékeltük ki.

A rezisztens törzsek aránya a különböző hatóanyagokra nem mutatott összefüggést a madarak fajával. Az átlaghoz képest átlagosan 3%-os eltérést figyeltünk meg.

Az XDR törzsek aránya az összes törzset figyelembe véve: 31,6% volt. Az 1993 és 2000 között izolált törzsek között az XDR törzsek aránya 10%, a 2004 és 2006 között izolált törzseké 6,6 % volt. Az XDR törzsek aránya a 2009 és 2010 között izolált törzsek körében 42,4% volt. A 2011, 2012, 2013, 2014 és 2015 között izolált törzsek átmeneti csökkenés után emelkedő tendenciát mutattak az XDR törzsek arányát tekintve: 20%, 17,7%, 32,4%, 53,8%.

Az XDR törzsek aránya eltérő volt a különböző földrajzi területekről izolált törzsek esetében. Csongrád megyében (40%) és Bács-Kiskun megye észak-nyugati (36,3%) részében átlag feletti volt az XDR törzsek aránya. Bács-Kiskun megye észak-keleti (31,4%) és dél-nyugati (30,2%) részében átlag körüli, míg Bács-Kiskun megye dél-keleti (28,3%) részéből izoláltuk a legkevesebb XDR törzset.

Az XDR törzsek aránya lúdból (31%) és kacsából (27,6%) izolált törzsek esetén nem mutatott jelentős különbséget. A pulykából izolált törzsek a kis mintaszám miatt (n=3) nem voltak összehasonlíthatók az előző két csoporttal.

5.6 A baktériumok genotípusos vizsgálatainak eredményei

5.6.1 Plazmidizolálás

A vizsgált *R. anatipestifer* törzsek közül 41 törzs tartalmazott plazmidot, 6 törzs pedig nem hordozott ilyen extrakromoszómális DNS-t. Az izolált plazmidok mérete 2900 és 6900 bp közé esett, a baktériumtörzsek minden esetben csak egy plazmidot tartalmaztak. A megvizsgált törzsek 59,6%-a (28 db) 2900 bp nagyságú plazmidot tartalmazott, míg a törzsek 17%-a (8 db) 4800 bp nagyságú plazmidot hordozott. A harmadik leggyakoribb, 5500 bp nagyságú plazmidot a törzsek 6,4%-ából (3 db) izoláltuk; 4,2%-nál (2 db) pedig 6900 bp nagyságú plazmidot találtunk. A törzsek 12,8 %-a (6 db) a plazmidizolálás során negatív eredményt adott.

A vizsgált 38 lúderedetű törzs 71%-a (27 db) 2900 bp, 10,5%-a (4 db) 4800 bp, 7,9%-a (3 db) 5500 bp, 5,3%-a (2 db) 6900 bp nagyságú plazmidot tartalmazott, a törzsek 5,3%-ából (2 db) nem izoláltunk plazmidot. A vizsgált 9 kacsaredetű törzs 44,4%-ából (4 db) 4800 bp, 11,2%-ából (1 db) 2900 bp nagyságú plazmidot izoláltunk, míg a törzsek 44,4%-a (4 db) nem tartalmazott plazmidot. A kacsaredetű törzsek nagy része egyáltalán nem tartalmazott plazmidot, 5500 és 6900 bp nagyságú plazmidot csak lúderedetű törzsekben találtunk.

Az izolálás időpontját tekintve majdnem minden évben a 2900 bp nagyságú plazmidot izoláltuk a leggyakrabban, kivéve a 2011-es évet. Ezt követte gyakoriságban a 4800 bp és az 5500 bp méretű plazmid. A 6900 bp nagyságú plazmid csak 2011-ben izolált törzsekben fordult elő. Plazmidot nem tartalmazó törzset 2011-ben, 2012-ben és 2014-ben is izoláltunk (6. táblázat).

6. táblázat: Az egyes plazmidok gyakorisága az izolálás éve szerint

izolálás éve	plazmid				
	2900	4800	5500	6900	negatív
2010 (9)	8	1	-	-	-
2011 (8)	1	2	1	2	2
2012 (7)	5	-	1	-	1
2013 (9)	6	2	1	-	-
2014 (14)	8	3	-	-	3

A törzsek földrajzi eredete szerint is megvizsgáltuk az egyes plazmidok előfordulását. A legtöbb megyében vagy megye részben szintén a 2900 bp nagyságú plazmid volt a leggyakoribb, a 4800 és 5500 bp méretű is előfordult. 6900 bp nagyságú plazmidot csak Bács-Kiskun megye dél-nyugati részéből és Csongrád megyéből izoláltunk. 5500 bp méretű plazmidot Bács-Kiskun megye észak-nyugati, észak-keleti részében és Csongrád megyében izolált törzsekben találtunk. Plazmidot nem tartalmazó törzseket Bács-Kiskun megye dél-keleti, dél-nyugati és észak-nyugati részéből izoláltunk (7. táblázat).

7. táblázat: Az egyes plazmidok gyakorisága az izolálás földrajzi helye szerint

izolálás helye	plazmid				
	2900	4800	5500	6900	negatív
DK Bács-Kiskun (14)	7	5	-	-	2
DNY Bács-Kiskun (8)	6	-	-	1	1
ÉK Bács-Kiskun (7)	5	1	1	-	-
ÉNY Bács-Kiskun (9)	5	-	1	-	3
Csongrád (5)	2	1	1	1	-
Pest (3)	2	1	-	-	-
Jász-N-Sz (1)	1	-	-	-	-

5.6.2 ERIC-PCR

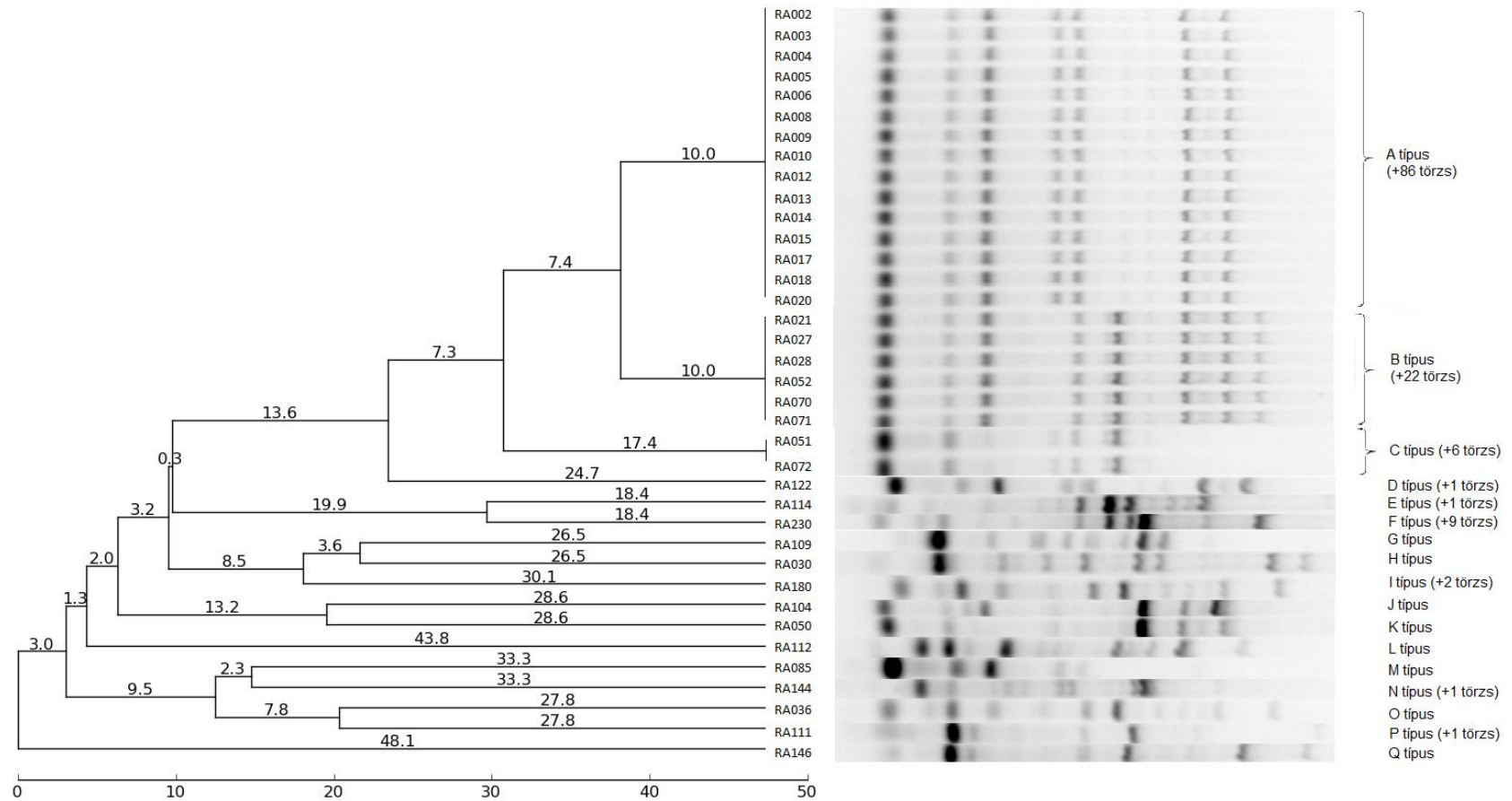
A *R. anatipestifer* törzsek között ERIC-PCR vizsgálattal 17 különböző ERIC-mintázatot (A-Q) tudtunk azonosítani (15. ábra). Az ERIC-PCR során 5-12 közötti terméket kaptunk 150-1800 bp méret tartományban, a vizsgálatot legalább háromszor ismételtük, az eredményeink reprodukálhatóak voltak. A 166 db vizsgált törzs közül a legtöbb, 60,8% (101 db) az A típusba

tartozott, a második leggyakoribb a B típus volt (16,9%, 28 db). Ezt követte az F (6%, 10 db), C (4,8%, 8 db) és az I típus (1,8%, 3 db). A többi ERIC-típus elvétve fordult csak elő, a D, E, N és P-mintázatot a törzsek 1,2%-a (2-2 db) adott. A legritkábban, az esetek 0,6-0,6%-ában (1-1 db) G, H, J, K, L, M, O, Q típusú törzset azonosítottunk.

A vizsgált 139 lúderedetű törzs 64%-a (89 db) az A típusba tartozott. A lúdból izolált törzsek 14,4%-a (20 db) a B, 5,8%-a (8 db) a C, 4,3%-a (6 db) az F típusba tartozott. Az E, N és P típus csak a törzsek 1,4-1,4%-ában (2-2 db), a D, G, H, I, J, K, L, M, O, Q típus csak a törzsek 0,7-0,7%-ában (1-1 db) fordult elő. C, E, G, H, J, K, L, M, N, O, P és Q mintázatot csak a lúdból izolált törzsek között láttunk. A 27 db kacsaaeredetű törzs 44,4%-a (12 db) az A, 29,6%-a (8 db) a B, 14,8%-a (4 db) az F típusba tartozott. Az I típus (7,4%, 2 db) és a D típus (3,7%, 1 db) csak ritkán fordult elő. Az A, B, D, F és I típus mindkét fajban előfordult, az A típus a lúderedetű törzsek között volt gyakoribb, a B, D, F és I típus a kacsából izolált törzsek között.

Az izolálás időpontját tekintve 2000 és 2011 kivételével a leggyakoribb az A típus volt, ezt követte a B és a C, esetenként az F típus. 2000-ben a leggyakoribb az N típus volt, valamint az E, G, L, P és Q típus is előfordult. Ezek közül az N, G, L és Q típusú törzset csak ebben az évben izoláltunk, később egy esetben sem. Az általában leggyakoribb A, B, C és F típus ebben az évben nem fordult elő. Majdnem minden évben izoláltunk egy-egy olyan törzset, ami egyedül képviselt egy ERIC-típust. Az időbeli tendenciát megfigyelve napjainkban az A típus a leggyakoribb, a B és C típus ritkábbá vált, az F típus gyakoribbá, valamint az I és P típus újra megjelent (8. táblázat).

Hasonlóan az izolálás időpontja szerinti csoportosításához, a törzsek földrajzi eredete szerint is a legtöbb megyében vagy megye részben a leggyakoribb az A típus volt, ezt követte a B, C vagy az F típus. Békés megyéből csak két törzset izoláltunk, mindkettő az F típusba tartozott. A ritkán előforduló típusok közül a D csak Bács-Kiskun megye dél-keleti és észak-keleti részében fordult elő. E és H típust csak Bács-Kiskun megye dél-nyugati részéből izoláltunk. Az I típus csak Bács-Kiskun megye dél-nyugati és észak-nyugati részében fordult elő. J és K típust csak Bács-Kiskun megye dél-keleti részéből izoláltunk. Az M típus csak Bács-Kiskun megye észak-keleti részében, az O típus csak Jász-Nagykun-Szolnok, a P típus csak Hajdú-Bihar megyében fordult elő (9. táblázat).



15. ábra: A *R. anatipestifer* törzsek ERIC-PCR eredményei alapján UPGMA módszerrel készített dendrogram

8. táblázat: Az egyes ERIC-típusok gyakorisága az izolálás éve szerint

izolálás éve	ERIC-típus																	9. tábl áza t: Az egy es ERI
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	
2000 (7)	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	1	-	2	-	1	1	
2004+2006 (10)	6	-	2	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	
2009+2010 (24)	20	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2011 (24)	8	11	1	-	1	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2012 (29)	18	6	2	-	-	-	-	-	1	1	-	-	1	-	-	-	-	
2013 (34)	25	7	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2014+2015+2017 (38)	24	2	1	-	-	8	-	-	2	-	-	-	-	-	-	1	-	

C-típusok gyakorisága az izolálás földrajzi helye szerint

izolálás helye	ERIC-típus																	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	
DK Bács-Kiskun (43)	25	13	-	1	-	2	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	
DNY Bács-Kiskun (28)	16	5	3	-	1	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	
ÉK Bács-Kiskun (31)	20	6	2	1	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	
ÉNY Bács-Kiskun (22)	14	3	-	-	-	4	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	
Csongrád (14)	11	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Jász-N-Sz (8)	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	
Pest (6)	5	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Hajdú-Bihar (5)	3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
Békés (2)	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Az ERIC-PCR vizsgálattal kapott ERIC-típusok és a szerotípusok között szoros korrelációt fedeztünk fel (10. táblázat). Egy kivétellel az összes ERIC-típus egy szerotípust képviselt. A kivétel az I ERIC-típus, az ide tartozó törzsek három ritka szerotípusba tartoztak (13,17,18). A B ERIC-típus az 1,7 szerotípusnak felelt meg, a C ERIC-típusba tartozó törzsek 7-es szerotípusúak voltak. Az 1-es szerotípusú törzsek döntő többsége (101/107) az A ERIC-típusba tartozott, míg a maradék hat törzs öt különböző ERIC-típust képviselt (D, G, L, M, O). A 2-es, 4-es és 10-es szerotípusú törzseket az ERIC-PCR mintázat alapján további kettő-négy csoportba tudtuk sorolni.

10. táblázat: Az ERIC-PCR típusok és a szerotípusok közötti összefüggés

Gazdafaj	Szerotípus	A törzsek száma (%)	ERIC-PCR típus
Összes	1	107 (64.5)	A, D, G, L, M, O
	7	8 (4.8)	C
	1,7	28 (16.9)	B
	2	12 (7.2)	F, N
	4	6 (3.6)	E, H, P, Q
	10	2 (1.2)	J, K
	13	1 (0.6)	I
	17	1 (0.6)	I
	18	1 (0.6)	I
	Összesen	166 (100)	
Lúd	1	94 (67.6)	A, D, G, L, M, O
	7	8 (5.8)	C
	1,7	20 (14.4)	B
	2	8 (5.8)	F, N
	4	6 (4.3)	E, H, P, Q
	10	2 (1.4)	J, K
	17	1 (0.7)	I
	Összesen	139 (100)	
Kacsa	1	13 (48.2)	A, D
	1,7	8 (29.6)	B
	2	4 (14.8)	F
	13	1 (3.7)	I
	18	1 (3.7)	I

Összesen

27 (100)

6. Megvitatás

A *Riemerella anatipestifer* széles körben elterjedt kórokozó, minden országban előfordul, ahol intenzív körülmények között tartanak vízibaromfit, így hazánkban is gyakran találkozunk vele. A *R. anatipestifer* széles gazdaspektrummal rendelkezik, a ludat és kacsát érintő egyik leggyakoribb fiatalkori megbetegedés, de nagy veszteséget okozhat pulykaállományokban is. Munkánk során az anatipestifer betegséggel kapcsolatos klinikai, kórbonctani, kórszövettani és kóroktani vizsgálatok eredményeit foglaltuk össze természetes körülmények között megbetegedett lúdban, kacsában és pulykában és az anatipestifer betegség előfordulási gyakoriságát derítettük fel a hazai liba-, kacsá- és pulykaállományokban. Munkánk során egy nagy mintaszámú törzsgyűjteményt hoztunk létre, melynek az eltérő időpontban, földrajzi területekről és különböző gazdafajokból izolált törzseit jellemeztük és csoportosítottuk különböző feno- és genotipizáló módszerekkel. Megvizsgáltuk a törzsek növekedési és biokémiai tulajdonságait, az antibiotikum-érzékenységet és a szerotípus meghatározásával a betegség elleni védekezéshez is hasznos adatokat szolgáltatunk. A molekuláris technikák segítségével megvizsgáltuk a módszerek felbontóképességét és elemeztük a törzseink genetikai állományának változatosságát, időbeli, térbeli vagy esetleg a gazdafaji eredethez kötött különbségeit.

6.1 Járványtani adatok

A NÉBIH-ÁDI-ba küldött vizsgálati anyagok eredményei arra utalnak, hogy 2010 és 2014 között az anatipestifer betegség volt a beküldött mintákban az egyik leggyakrabban előforduló betegség lúdban és kacsában, míg pulykában csak ritkán diagnosztizáltuk.

A beküldött növendék lúdesetek 9,9%-ában, 141 esetben állapítottuk meg. Az anatipestifer betegség előfordulási gyakorisága hasonló volt a Derzsy-betegséghez, circovírus okozta megbetegedéshez, polyomavírus okozta megbetegedéshez, colibacillosishoz, streptococcusishoz és mycotoxosisshoz. A baromfikolerát és a madarak paratyphusát fele olyan gyakran diagnosztizáltuk, mint az anatipestifer betegséget. Szakirodalmi adatok alapján az anatipestifer betegség lúdban általában 5 napos és 6 hetes kor között jelentkezik (Hess és mtsai., 2013; Ivanics és mtsai., 1996; Pierce és Vorhies, 1973; Riemer, 1904). Vizsgálataink során a betegséget megállapítottuk idősebb ludakban is, egészen 17 hetes korig. A világ más részein a kacsákkal ellentétben ritkán diagnosztizálták ludakban az anatipestifer betegséget (Hess és mtsai., 2013). A hazánkban gyakori előfordulásának oka lehet a lúdállományok nagy száma és sűrűsége az ország középső és dél-keleti részén.

Kacsákban a betegséget 31 esetben állapítottuk meg, ami a beküldött növendék kacsaesetek 7,5 %-a. A betegség gyakorisága - bár némi hullámzást mutatott a különböző években - hasonló volt a baromfikolerához, circovírus okozta megbetegedéshez, colibacillosishoz vagy mycotoxicosishoz.

Az anatipestifer betegség kacsában általában 1-8 hetes korban jelentkezik a szakirodalmi adatok alapján (Bitay és mtsai., 1979; Jortner és mtsai., 1969; Pickrell, 1966). Vizsgálataink során 3-6,5 hetes kor között diagnosztizáltuk a betegséget kacsákban, ami beleillik a fenti korcsoportba.

Az anatipestifer betegséget pulykában meglehetősen ritkán, csak 7 esetben, a növendék pulykaesetek 0,5%-ában diagnosztizáltuk. Szakirodalmi adatok alapján pulykákban az anatipestifer betegség általában 6-15 hetes korban jelentkezik (Helfer és Helmboldt, 1977; Smith és mtsai., 1987; Zehr és Ostendorf, 1970). Mi kissé idősebb korban, 12-19 hetes korú madarakban figyeltük meg a betegséget.

A megfigyelt klinikai tünetek - a bágyadtság, zöldes hasmenés, esetenként idegrendszeri vagy légzőszervi tünetek - egyezést mutattak az irodalmi adatokkal (Bitay és mtsai., 1979; Ivanics et al., 1996; Helfer és Helmboldt, 1977; Hess és mtsai., 2013; Smith és mtsai., 1987).

A *R. anatipestifer* fakultatív patogén kórokozó, ezért esetenként előfordul, hogy az anatipestifer betegség másodlagosan jelentkezik egyéb kórokozók mellett vízibaromfiban vagy pulykában (Ivanics és mtsai., 1996; Banda és mtsai., 2007; Rubbenstroth és mtsai., 2009). Az eseteink egy részében az anatipestifer betegség másodlagosan fordult elő circovírus okozta megbetegedés, mycotoxicosis, mycoplasmosis vagy Derzsy-betegség mellett. A circovírus immunszuppressziót okoz vízibaromfiban, így circovírus okozta megbetegedés mellé másodlagosan számos egyéb bakteriális vagy gomba okozta betegség társulhat. Egy-egy eset vizsgálata során circovírus okozta megbetegedés mellett néhány madárban colibacillosist, madarak paratyphusát, streptococcusist vagy tüdőmycosist is diagnosztizáltunk az anatipestifer betegség mellett. Ezek a tapasztalatok megegyeznek más szerzők megfigyeléseivel (Banda és mtsai., 2007; Ivanics és mtsai., 1996; Rubbenstroth és mtsai., 2009).

6.2 Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok

6.2.1 Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok lúdban

Az általunk vizsgált fiatal ludakban a kórbonctani és kórszövettani elváltozások hasonlóak voltak a szakirodalomban korábban leírtakhoz (Hess és mtsai., 2013; Ivanics és mtsai., 1996;

Pierce és Vorhies, 1973; Riemer, 1904), habár néhány eltérést megfigyeltünk. Idegrendszeri tünetek esetén a fej bőr alatti kötőszövetének jellemző oedemáját és bővérűségét láttuk. Ezt az elváltozást általában 2-6 hetes korú ludakban figyeltük meg savós-fibrines agyburok- és agykamragyulladás mellett. A betegség vérfertőzéssel járó formáját többnyire 1-6 hetes korú ludakban diagnosztizáltuk. A *R. anatipestifer*-t általában a szívburokból, agykamrából vagy a májból izoláltuk.

A 8-17 hetes korú ludakban, ami ludaknál magában foglalja a tömés időszakát, általában csak hurutos tüdőgyulladást figyeltünk meg. A kórokozót ekkor a tüdőből vagy esetenként a légzsákokról tenyésztettük ki. A szakirodalmi adatoknak megfelelően 8 hetesnél idősebb vízibaromfiban az anatipestifer betegség csak ritkán jelentkezik és főként helyi elváltozásokat okoz (Bisgaard, 1995; Ruiz és Sandhu, 2013). Néhány esetben 9-17 hetes korú ludakban is megfigyeltük az anatipestifer betegség heveny, vérfertőzéssel járó formáját. Ekkor a kórokozót legtöbbször a májból, esetenként a szívburokból, agykamrából, tüdőből vagy a légzsákokról izoláltuk. A ludak egy része tömés alatt állt, ami hajlamosító tényezőként lehetett jelen. A fenti esetek felében az anatipestifer betegség mellett másodlagos bántalmakat is diagnosztizáltunk. Felnőtt (ivarérett) lúdban anatipestifer betegséget nem állapítottunk meg.

6.2.2 Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok kacsában

A kacsákban megfigyelt kórbonctani és kórszövettani elváltozások megfeleltek a szakirodalomban korábban leírtaknak (Bitay és mtsai., 1979; Dougherty és mtsai., 1955; Jortner és mtsai., 1969; Pickrell, 1966; Sarver és mtsai., 2005), habár Bitay és mtsai. (1979) által leírt kifejezett orrmelléküreg-gyulladást mi nem láttunk. Hasonlóan a ludakhoz, idegrendszeri tünetek esetén a fej bőr alatti kötőszövetének oedemáját és bővérűségét figyeltük meg. Egy esetben 3 hetes kacsákban *R. anatipestifer* okozta súlyos kötőhártya-gyulladást láttunk, a kórszövettani vizsgálatok alapján mycoplasmosis gyanú mellett másodlagosan. Vérfertőzést nem figyeltünk meg, aminek oka lehet a baktérium alacsonyabb megbetegítő képessége, a kacsá eltérő fogékonysága vagy az eltérő fertőzési mód (Ruiz és Sandhu, 2013). Felnőtt kacsában sem diagnosztizáltunk anatipestifer betegséget.

6.2.3 Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok pulykában

Több korábbi tanulmány alapján az anatipestifer betegség pulykában vérfertőzést, savós-fibrines szívburok-, légzsák- és hashártyagyulladást, esetenként tüdőgyulladást, orrmelléküreg-gyulladást, ízületgyulladást és agyburokgyulladást okoz. A kórokozó izolálása

többnyire sikeres volt a májból vagy a lépéből (Helfer és Helmboldt, 1977; Smith és mtsai., 1987; Zehr és Ostendorf, 1970).

Saját vizsgálataink során *R. anatipestifer* okozta vérfertőzést csupán egy esetben diagnosztizáltunk. Általában helyi elváltozásokat figyeltünk meg, mint a koponyacsont gennyes osteomyelitis és a savós-gennyes agyburokgyulladás, ízületgyulladás és szívburokgyulladás, *E.coli* vérfertőzés vagy bakteriémia mellett. Amerikai szerzők szintén megfigyelték, hogy a pulykaállományban az anatipestifer betegséget követő 1-2 hétben *E. coli* okozta vérfertőzés jelentkezik, ami hajlamosító tényezők jelenlétére utal (Smith és mtsai., 1987).

Egy másik esetben savós-fibrines szívburok- és hashártyagyulladást, a koponyacsont gennyes osteomyelitisét, savós-gennyes agyburok- és agykamragyulladást és ízületgyulladást láttunk 15-18 hetes pulykákban. Ezekben a madarakban a bakteriológiai vizsgálat a vérfertőzést nem igazolta, a szívvér és a máj negatív volt, de számos más szervből izoláltuk a *R. anatipestifer*-t. Ennek oka lehet egy korábbi bakteriémia vagy a megkezdett antibiotikum kezelés. Feltételezhetően valamilyen immunszuppresszív tényező hatására jelent meg az anatipestifer betegség az állományban.

Izraeli szerzők szintén megfigyeltek anatipestifer betegséget pulykában vérfertőzés nélkül (Frommer és mtsai., 1990). Enyhén emelkedett mortalitás mellett idegrendszeri tüneteket láttak az állományban, a *R. anatipestifer*-t izolálták a megbetegedett madarak agyvelejéből, de makroszkópos kórbonctani elváltozásokat nem találtak.

Amerikai kutatók a csigolyacsont gennyes gyulladását írták le pulykában, egy héttel a vakcinázást követő kísérletes intravénás *R. anatipestifer* fertőzés után (Cooper és Charlton, 1992). A csigolyacsont osteomyelitisét (spondylitis) figyelték meg a hatodik hátcsigolyában, de *R. anatipestifer* fertőzéssel kapcsolatban a koponyacsont gennyes osteomyelitisét korábban még nem írták le.

Vizsgálataink során az *R. anatipestifer* fertőzés pontos forrására nem derült fény, de nem lehet kizárni, hogy a pulykák a régióban tartott kacsállományoktól fertőződtek. Korábbi közlemények általában egy közeli kacs gazdaságot vagy a kacsatrágyát jelölték meg fertőzési forrásként (Frommer és mtsai., 1990; Helfer és Helmboldt, 1977; Smith és mtsai., 1987; Zehr és Ostendorf, 1970).

6.3 A baktériumok izolálása és biokémiai tulajdonságai

Az általunk izolált *R. anatipestifer* törzsek telepmorfológiájuk tekintetében többnyire egységesebbek voltak, 1-2 mm átmérőjű, konvex, ép szélű, szürkés, átlátszó, csillogó, vajszerű

konzisztenciájú telepeket képeztek, ami egyezést mutat az irodalmi adatokkal (Ruiz és Sandhu, 2013; Segers és mtsai., 1993).

Törzseink egységesen pozitív eredményt adtak az oxidáztesztben és a katalázpróbában is, ami megfelel a korábbi tanulmányokban leírtaknak. A törzsek nitrátredukáló képességét vizsgálva valamennyi törzs negatívnak bizonyult a szakirodalomban ismertetett adatokkal megegyezően (Bangun és mtsai., 1981; Segers és mtsai., 1993). Az indolpróba vizsgálata során valamennyi törzsünk esetében egységesen negatív eredményt kaptunk. Több korábbi tanulmány vizsgálatai során hasonlóan negatív eredményre jutottak (Bangun és mtsai., 1981; Ryll és mtsai., 2001; Segers és mtsai., 1993). Két szerző megfigyelése alapján az *R. anatipestifer* törzsek többsége (90-92,5%) az indolpróbában negatív eredményt adott, kisebb részük pedig pozitívnak bizonyult (Hinz és mtsai., 1998a; Hinz és mtsai., 1998b; Pathanasophon és mtsai., 1994).

Az ureabontó és a szénhidrát-hasznosító képesség vizsgálata során nagyobb változatosságot figyeltünk meg. Ureabontó képesség vizsgálata során mások is találtak negatív és pozitív eredményt adó törzseket is. Bangun és mtsai. (1981) közleményében a törzsek 54% pozitív volt, a többi negatív. Hinz és mtsai. (1998a) vizsgálatai során a törzsek 26%-a gyengén pozitívnak, a többi negatívnak bizonyult. További két közleményben is a tulajdonságot törzsfüggőnek jellemezték, ami megegyezett a mi eredményeinkkel (Ryll és mtsai., 2001; Segers és mtsai., 1993). Glükózbontásban a törzseink 23,4%-a kétes (gyengén pozitív) eredményt adott, a többi negatív volt. Glükózbontás szempontjából több szerző is hasonlóan változatos eredményre jutott (Bangun és mtsai., 1981; Hinz és mtsai., 1998a; Hinz és mtsai., 1998b; Pathanasophon és mtsai., 1994), míg Vandamme és mtsai. (1994) öt törzs vizsgálata során egységesen pozitív eredményt kaptak. Szacharózbontásban csak a törzseink 1,6%-a adott kétes (gyengén pozitív) eredményt, ami megegyezik Hinz és mtsai. (1998b) megfigyeléseivel, a vizsgált törzseik szintén 1,6%-a volt képes a szacharózt hasznosítani. A laktózt egy vizsgált törzsünk sem bontotta, ami megfelel több szerző eredményének, akik a törzseiket szintén laktóz-negatívnak találták (Bangun és mtsai., 1981; Hinz és mtsai., 1998a; Vandamme és mtsai. (1994).

Német szerzők a szénhidrátbontás vizsgálata során amennyiben egyetlen szubsztrátot tartalmazó, puffertelt táplevest használtak, a törzsek nagyobb aránya mutatott pozitív eredményt (Hinz és mtsai., 1998b). A vizsgálataink során hagyományos tesztet alkalmaztunk, ami magyarázhatja az alacsony arányú pozitív eredményt.

Szakirodalmi adatok alapján a *R. anatipestifer* meglehetősen inaktív a biokémiai tesztekben (Ryll és mtsai., 2001). A fenti megfigyelést a frissen izolált és a törzsgyűjteményből

kiválasztott törzsek esetében is a saját megfigyeléseink is alátámasztják, ezért és a szénhidrát-hasznosításban mutatott változatos eredmények miatt a biokémiai próbák fajazonosításra teljes biztonsággal nem alkalmazhatók.

6.4 A növekedés körülményeinek vizsgálata

A szakirodalomban csak kisszámú közleményben vizsgálták a *R. anatipestifer* törzsek növekedését aerob körülmények között. Segers és mtsai. (1993) szerint az izolálás ideális körülményei a 24-48 órás inkubáció 37°C-on, véres Columbia vagy csokoládé agaron, megemelt (5-10%) széndioxid koncentráció mellett. Hinz és mtsai. (1998a) a növekedés körülményeit 7% juhvért tartalmazó véres Columbia táptalajon 37°C-on, 24-48 óra inkubációt követően vizsgálták. A 133 db *R. anatipestifer* törzs 17,3%-a aerob körülmények között is ugyanúgy növekedett, mint megemelt széndioxid koncentráció mellett. A törzsek nagy része (82,7%) aerob körülmények között csak gyengén nőtt. Ezzel szemben Ryll és mtsai. (2001) 29 törzs vizsgálata során azt figyelték meg, hogy valamennyi törzs ugyanúgy nőtt aerob körülmények között is, mint magasabb széndioxid koncentráció mellett. A törzseket szintén 7% juhvért tartalmazó véres Columbia táptalajon 37°C-on, 24-48 óra inkubációt követően vizsgálták. Hess és mtsai. (2013) azt tapasztalták, hogy a törzseik 5% juhvért tartalmazó Columbia agaron, 37°C-on, 24 óra inkubálás során aerob körülmények között is nőttek, de a növekedést elősegítette a megemelt széndioxid koncentráció.

Az eredményeink a szakirodalmi adatok végletei közé estek, a törzseink 24%-ának szüksége volt megemelt széndioxid koncentrációra, hogy a fajra jellemző telepeket képezzen, a többi törzsünk (76%) jól növekedett aerob körülmények között is. Nem találtunk összefüggést a törzsek széndioxid szükséglete és a gazdafaj, az izolálás ideje, földrajzi helye vagy a szerotípus között.

Több közlemény alapján a törzsek ez irányú szükséglete nem egzakt, a megemelt széndioxid koncentráció melletti izolálás után bizonyos fokig alkalmazkodni képesek az aerob körülményekhez is (Leavitt és Ayroud, 1997; Segers és mtsai, 1993).

6.5 A hemolízis vizsgálata

Legkorábban Bangun és mtsai. (1981) számoltak be *R. anatipestifer* törzsek esetében hemolízisről. Szarvasmarha vérrel kiegészített véres agaron 37°C-on inkubálva 127 db kacsaeredetű törzs közül 10 hemolizált (7,9%). Brogden és mtsai. (1982) 46 kacsa és néhány hattyúeredetű törzset vizsgáltak, 5% szarvasmarha vért tartalmazó véres agaron, 37°C-on, anaerob tenyésztőedényben inkubálták a törzseket, 14 napon keresztül naponta újra

megnézték a tenyészetet. A törzsek nagy arányban (39%) hemolizáltak. A kórokozót önálló nemzetségbe soroló közleményben a hemolízist törzsfüggő tulajdonságként jellemezték (Segers és mtsai., 1993). Hinz és mtsai. (1998a) 133 db *R. anatipestifer* törzset vizsgáltak 7% juhvért tartalmazó véres Columbia táptalajon 37°C-on, 24-48 óra inkubációt követően. A törzsek nagy részét kacsából, kevesebbet lúdból, néhányat pulykából és vadmadarokból izoláltak. A törzsek 18,8%-a gyenge β -hemolízist mutatott. Ezekkel ellentétben Ryll és mtsai. (2001) munkája során a 29 db tünetmentes kacsából, a felső légutakról izolált törzs közül egy sem hemolizált. A törzseket szintén 7% juhvért tartalmazó véres Columbia táptalajon 37°C-on, 24-48 óra inkubációt követően vizsgálták.

Vizsgálataink során, juhvérrel készült agar esetében csak a törzsek 2%-ánál (4 db) figyeltünk meg β -hemolízist, ami alacsony a szakirodalmi adatokhoz képest. Korábban csak tünetmentes madarokból izolált törzsek esetén figyelték meg az összes törzs esetében a hemolízis hiányát (Ryll és mtsai., 2001). Ezzel szemben a mi vizsgálataink során az összes törzs *anatipestifer* betegségségben elhullott madárból származott. Munkánk során az izolálás idejével vagy földrajzi helyével nem találtunk összefüggést. Az állatfaji eredet szerint hármat lúdból izoláltunk, egynek a faji eredete nem ismert, de a legtöbb törzsünk lúderedetű. Kettő hemolizáló törzs a leggyakoribb 1-es szerotípusba tartozott, kettőt nem szerotipizáltunk. Sajnos a hemolizáló törzsek kis száma miatt messzemenő következtetéseket nem tudtunk levonni.

A hemolizinek több baktériumfajban virulenciafaktorként szerepelnek. A hemolizinek jelenlétét *R. anatipestifer* esetében is feltételezik, de a kérdést még nem sikerült tisztázni (Bangun és mtsai., 1981; Subramaniam és mtsai., 2000). Crasta és mtsai. (2002) leírtak egy potenciális virulencia faktort, a ciklikus AMP (CAMP) kohemolizint, melyet a *cam* gén kódol. Az általuk vizsgált törzsek tartalmaztak *cam* gént, de csak néhány szerotípus termelte a CAMP kohemolizint, míg fenotípusos kohemolítikus aktivitást csak a törzsek 8,6%-a mutatott. Kohemolízis során szfingomielináz termelő *Staphylococcus aureus* dajkatenyészet mellett a *R. anatipestifer* törzs hemolizált 5% juhvért tartalmazó véres agaron, 20 óra inkubálás után. A kohemolízis vagy a hemolízis virulenciában betöltött szerepét állatkísérletben eddig még nem vizsgálták. A *cam* gén és a feltételezett hemolizin fehérje genetikai hátterének felderítése hozzájárulhatna a kórfejlődés és a törzsek virulenciájának jobb megismeréséhez.

6.6 A szerotípus meghatározása

Számos tanulmányban vizsgálták a *R. anatipestifer* törzsek szerotípusát. Világszerte – néhány távol-keleti országot kivételével – a leggyakoribban az 1-es szerotípust mutatták ki, ezt követte gyakoriságban a 2-es, 3-as, 4-es, 5-ös, 6-os, 7-es, 8-as, 9-es, 10-es, 13-as, 15-ös

szerotípusok közül több is, földrajzi területtől függően. Több szerotípus előfordulása pedig csak szórványos volt. Vizsgálataink eredménye illeszkedik a nemzetközi megfigyelésekbe. Magyarországon 2000 és 2017 között izolált törzseink többsége (64,5%) az 1-es szerotípusba tartozott. Gyakori volt még az 1,7-es (16,9%), 2-es (7,2%), 7-es (4,8%), 4-es (3,6%). A 10-es (1,2%), 13-as (0,6%), 17-es (0,6%) és 18-as (0,6%) pedig csak ritkán fordult elő. Rimler és Nordholm (1998) 89 számos országból származó (USA, Kanada, Egyesült Királyság, Ausztrália, Németország, Izrael), lúdból, kacsából, pulykából és csirkéből izolált *R. anatipestifer* törzs szerotipizálását végezték el. Az átfogó vizsgálat eredményei alapján a monospecifikus reakciót mutató törzsek közül 23 db 1-es, 15 db 2-es, 4 db 7-es, 3 db 5-ös, 2-2 db 3-as, 4-es, 6-os szerotípusba tartozott. Ryll és mtsai. (2001) Dániában tünetet nem mutató kacsák garatflórájából izolált törzsek szerotípusát határozták meg. 24 db 4-es, 2 db 17-es, 1 db pedig 1-es szerotípusba tartozott. Korábban szintén kacsák vizsgálatával 4-es és 17-es szerotípust nem találtak Dániában, a leggyakrabban megbetegedést okozó szerotípus az 1-es (63%) és a 3-as (15%) volt, ezt követte a 8-as (11%), 9-es (7%), 12-es (2%), 2-es (1%) és 13-as (1%) 1976 és 80 között izolált törzsek vizsgálatával (Bisgaard, 1982). Szintén Dániában 1980 és 89 között 1035 vízibaromfiból izolált törzs szerotipizálása során az 1-es (488 db) és a 9-es (280 db) volt a leggyakoribb, ezeket követte a 3-as (120 db), 8-as (75 db), 2-es (2 db), 13-as (2 db) és 12-es (1 db). 67 törzs nem volt tipizálható (Bisgaard, 1995). A korábbiakkal ellentétben, bár kis mintaszámmal dolgoztak Yu és mtsai. (2008) tajvani vízibaromfiból izolált törzsek vizsgálata során a leggyakoribb a 2-es (4 db) és 6-os (3 db) szerotípus volt, a 4-es (1 db) és 5-ös (1 db) ritkán fordult elő. Loh és mtsai. (1992) 352 db szingapúri kacsakeredetű törzseket vizsgáltak. A leggyakoribb szerotípus az 1-es (33%), 15-ös (26%), 10-es (15%), 7-es (8%) volt. Előfordult még a 2-es, 14-es, 11-es, 6-os, 17-es, 16-os. Sandhu és Leister (1991) nemzetközi vizsgálataik során arról számolt be, hogy az 1980 és 88 között izolált törzseket vizsgálva a szingapúri eredetű törzsek között a 15-ös (8 db), 10-es (4 db), 14-es (3 db), 7-es (3 db), 1-es (2 db) a leggyakoribb, de előfordult még a 2-es, 6-os, 11-es, 16-os. Az USA-ban izolált több, mint 2900 db törzs vizsgálatával az 1-es (42%), 2-es (33%) és 5-ös (16%) volt a leggyakoribb, míg a 3-as (4%) és 7-es (1%) szerotípus is megjelent. Li és mtsai. (2002) Kína egy tartományában 1999 és 2000 között 84 db kacsából izolált törzset szerotipizáltak, a 2-es (61%) szerotípus volt a leggyakoribb, az 1-es (25%), 13-as (1%) szerotípus ritkább volt, 13% nem reagált a szerotípus-specifikus savóikkal. Cheng és mtsai. (2003) szintén Kínában egy kiterjedtebb vizsgálat során, 1842 db kacsából izolált törzs alapján az 1-es (35%), 2-es (20%), 4-es (8%), 3-as (6%), 5-ös (5%), 7-es (5%) voltak a leggyakoribbak. De előfordultak még a következők is: 6-os, 8-as, 10-es, 11-es, 13-as, 14-es. Thaiföldön a 7-es (22%), 5-ös (6%), 10-es (6%), 21-es (5%) és az 1-es

(5%) voltak a leggyakoribb szerotípusok 1994 és 1999 között kacsában (Pathanasophon és mtsai, 2002).

A vizsgált törzseink 16,9 %-a (28 db) egyforma erősségű precipitációs ívet adott az 1-es és a 7-es szerotípus-specifikus savóval is. Az 1,7-es szerotípus, ami viszonylag nagy arányban fordult elő a törzseink között, feltehetőleg két szerotípus-specifikus antigént hordoz. Ezt igazolja az is, hogy az 1,7-es szerotípusú törzsek konzekvensen más ERIC típusba tartoztak (B), mint a monospecifikus 1-es (A, D, G, L, M, O) és 7-es (C) szerotípusú törzsek. Ezen törzsek kórokozó képessége és az általuk kiváltott szerológiai válasz további kutatást igényel.

Szakirodalmi adatok alapján gyakori a keresztreakció. Sandhu és Harry (1981) által vizsgált törzsek 17%-ában a 2-es és az 5-ös szerotípus keresztreakált. Loh és mtsai. (1992) megfigyelései alapján a 9-es szerotípus keresztreakálhat az 5-ös, a 12-es a 16-os szerotípussal. Későbbi vizsgálatok alapján a keresztreakciók a törzsek több, mint 20 %-ánál előfordulnak és kettőnél több, három vagy négy szerotípus között is megfigyelhető (Rimler és Nordholm, 1998). Kínai kutatók írtak le keresztreakciót a 6-os, 12-es és a 12-es, 16-os, valamint a 2-es és 17-es szerotípusok között is (Zhang és Guo, 2002a; Zhang és Guo, 2002b). A fenti szerotípus párok közül csak a 2-es és 17-es szerotípus fordult elő az általunk vizsgált törzsek között, azonban ezek nem mutattak keresztreakciót. További vizsgálatot igényel ez a jelenség, lehetséges, hogy ezek a törzsek több mint egy szerotípust meghatározó antigént hordoznak (Pathanasophon és mtsai., 2002).

Vizsgálataink során a *R. anatipestifer* törzsek szerotípusa csak kifestő összefüggést mutatott a gazdafajjal. A leggyakoribb szerotípusok lúdban és kacsában is hasonló gyakorisággal fordultak elő, de néhány ritkábban izolált szerotípust csak lúdban, vagy csak kacsában találtunk. A lúdból izolált törzsek kissé nagyobb változatosságot mutattak, hétféle szerotípust figyeltünk meg, míg kacsából származó törzsek esetében ötféle szerotípust találtunk. Az izolálás időpontja és a szerotípus között nem figyeltünk meg összefüggést. A gyakori szerotípusok előfordulása hasonló volt a különböző években, a ritka szerotípusok időben nem halmozódva fordultak elő. A szerotípusok nem mutattak szoros összefüggést az izolálás földrajzi helyével, a gyakori szerotípusok hasonló megoszlást mutattak a különböző nagy mintaszámú megyékben vagy megye részekben. Kivételt jelentettek a kisebb mintaszámmal képviselt megyék, Békés megye, ahonnan csak 2-es szerotípusú törzset izoláltunk, Jász-Nagykun-Szolnok, Pest és Hajdú-Bihar megye, ahonnan az 1-es szerotípus mellett csak a 7-es vagy a 4-es fordult elő. Ezekben az esetekben a kis mintaszám miatt nem vonhatunk le messzemenő következtetéseket. Emellett a földrajzi eltérések okai lehetnek esetleg a vízbaromfi termelésben jelen lévő integrációk, amik különböző helyről veszik a napos

madarakat. Sajnos az integrációk kapcsolatrendszerét nem ismerjük, csak a tulajdonosok nevét tudjuk.

A különböző időpontokban azonos településről izolált törzsek gyakran különböző szerotípusba tartoztak, nagyszámú törzs esetén megfigyeltük, hogy többnyire a leggyakoribb szerotípusok jelentek meg vagy váltakoztak, és időnként egy-egy ritkább szerotípus is felbukkant. Az egyes tulajdonosok szerint megvizsgálva a törzseinket arra is találtunk példát, hogy ritkán beküldők esetében három év múlva ugyanolyan szerotípusú volt a törzs, vagy minden évben más szerotípus volt jelen, de az is előfordult, hogy egy éven belül háromféle szerotípust is izoláltunk. Előfordulhat, hogy több szerotípus is jelen vagy egy-egy állományban vagy a domináns típusok gyakran változnak. Számos közleményben leírták, hogy egy telepen vagy akár egy madárban is egynél több szerotípus is jelen lehet egy időben és a betegséget okozó szerotípusok adott helyen évről-évre változhatnak (Bisgaard, 1982; Fulton és Rimler, 2010; Pathanasophon és mtsai., 2002; Ryll és mtsai., 2001; Sandhu és Harry, 1981). A fentiek alapján feltételezhető, hogy az országban a leggyakoribb szerotípusokat képviselő törzsek tartósan jelen vannak, cirkulálnak és visszatérően járványokat okoznak az adott régióban.

A törzseink nyolc szerotípusba tartoztak, ugyanakkor ERIC-PCR vizsgálattal 17-féle mintázatot adtak, a szerotipizálás megkülönböztető ereje elmaradt a genotipizáló módszerek felbontóképességétől.

Habár a törzsek virulenciája nagy változatosságot mutat a szerotípusok között és adott szerotípuson belül is (Bisgaard és mtsai., 2008), de a *R. anatipestifer* törzsek esetén fontos a szerotípus meghatározása. A szerotipizálás értékes információt nyújt a járványt okozó törzsről a hatékony vakcinás védekezés szempontjából. A *R. anatipestifer* törzseknek eddig 21 szerotípusát írták le, de a 21 szerotípus között nem vagy csak kisfokú keresztvédelmet tapasztaltak (Pathanasophon és mtsai., 1996; Ruiz és Sandhu, 2013; Sandhu, 1979; Sandhu, 1991). Nem ritka, hogy egy telepen egynél több szerotípus is jelen van és a betegséget okozó szerotípusok adott helyen évről-évre változhatnak (Bisgaard, 1982; Fulton és Rimler, 2010; Ryll és mtsai., 2001; Sandhu és Harry, 1981). Magyarországon az autogén telep-specifikus vakcinák használata elterjedt, ezért a betegség megelőzése szempontjából elsődleges szempont időről-időre monitorozni a jelen levő szerotípusokat. A szerotipizálás nem tekinthető elterjedt, rutin módszernek, mert csak néhány specializált laboratórium rendelkezik a szerotípus referencia törzsek ellen termeltetett savóval, ami nem olcsó és a módszer kivitelezése, elbírálása gyakorlatot igényel. Előfordulhat, hogy több izolátum nem tipizálható és többszörös keresztreakciók is megjelenhetnek (Rimler és Nordholm, 1998). Már kapható kereskedelmi forgalomban a *R. anatipestifer* szerotípusok ellen termeltetett savó (Biovac, Beaucozéz,

France), de nem egyezik a nomenklatúra a Sandhu és Leister (1991) által leírt és elfogadott elnevezésekkel, ami félreértésekhez vezethet (Rubbenstroth és mtsai., 2013).

6.7 Antibiotikum-érzékenység meghatározása

A betegség elleni védekezésben még mindig fontos az antibiotikum-használat a keresztvédelmet adó vakcina hiánya, adott állományban a szerotípusok gyakori változása vagy több szerotípus jelenléte miatt. Másrészt az antibiotikum-rezisztencia terjedése miatt különösen fontos a patogén baktériumok antibiotikum-érzékenységének vizsgálata.

Az általunk vizsgált *R. anatipestifer* törzsek többsége érzékeny volt penicillinre, csak 6,6%-uk bizonyult rezisztensnek. Korábbi közleményekben Thaiföldön és Tajvanon hasonló eredményekről számoltak be (Chang és mtsai., 2003; Pathanasophon és mtsai., 1994), majd öt évvel későbbi vizsgálat során a tajvani törzsek 58%-a rezisztens volt penicillinnel szemben (Yu és mtsai., 2008). Egy évvel később kínai szerzők szintén nagyarányú (86,9%) penicillin rezisztenciáról számoltak be. Saját vizsgálataink során az ampicillin is hatékonynak bizonyult. Több közlemény alapján a kínai törzsek ampicillin rezisztenciája érdekes változást mutatott az évek során: 58,4%-uk rezisztens volt 2009-ben, az összes vizsgált törzs érzékeny volt 2012-ben, végül a törzsek 93%-a rezisztens volt 2015-ben (Sun és mtsai., 2012; Zheng és mtsai., 2015; Zhong és mtsai., 2009b).

Az aminoglikozidok és aminociklitolok közül a spektinomicin volt a leghatékonyabb antibiotikum (7,1%-os rezisztencia), míg gentamicinnel és sztreptomocinnel szemben a törzsek nagyobb arányban voltak rezisztensek (56,6% és 70,9%). Az aminoglikozidok és aminociklitolok egyáltalán nem vagy csak kis mértékben szívódnak fel a bélcsatornából, ezért szájon át alkalmazni ezeket az antibiotikumokat nem ajánlott (Gálfi és mtsai., 2012). Kínai szerzők hasonló tendenciát figyeltek meg, a törzseik 11,3%-a rezisztens volt spektinomicinnel, 20,8%-a gentamicinnel és 42,5%-a sztreptomocinnel szemben (Zhong és mtsai., 2009a). Ugyanakkor a Tajvanon izolált törzsek nagy arányban rezisztensek bizonyultak aminoglikozidokkal és aminociklitolokkal szemben (Chang és mtsai., 2003). Német szerzők a törzseik több mint 90%-át rezisztensnek találták gentamicinnel szemben (Köhler és mtsai., 1995). Ezek az eredmények is alátámasztják, hogy az aminoglikozidok között változó mértékben keresztrezisztenciát figyelhetünk meg, feltehetőleg a különböző bakteriális enzimeknek köszönhetően, amik inaktíválják ezeket az antibiotikumokat.

Az általunk izolált *R. anatipestifer* törzsek 26%-a rezisztens volt enrofloxaccinnal szemben (2.2. generációs fluorokinolon), érdekes módon a törzsek nagy aránya (59,7%) volt mérsékelten érzékeny. A flumekvin (2.1. generációs fluorokinolon) jóval kevésbé bizonyult

hatékonyak (93,4% rezisztencia). Tajvani szerzők hasonló eredményekre jutottak: a helyi törzsek 83%-a érzékeny volt enrofloxacinra, míg 81%-uk rezisztens volt flumekvinnel szemben (Yu és mtsai., 2008). Vizsgálataink során a 174 db flumekvin rezisztens törzs közül 22 db kivételével mind csökkent érzékenységet mutatott enrofloxacinnal szemben, 47 db rezisztens, 105 db mérsékelten érzékeny volt. Ezek az adatok is alátámasztják, hogy a magasabb generációs fluorokinolonok, mint az enrofloxacin áttörheti a flumekvin rezisztenciát, habár ezekre a hatóanyagokra is csökkent érzékenységet mutathatnak (Gálfi és mtsai., 2012).

A magyarországi törzsek nagy része rezisztens volt tetraciklinnel szemben (90,8%), míg doxiciklin esetében kisebb arányú rezisztenciát (58,2%) figyeltünk meg. A tajvani törzsek hasonló tendenciát mutattak: a törzsek 69 %-a rezisztens volt tetraciklinnel szemben, míg doxiciklinnel szemben csak 35%-uk bizonyult rezisztensnek (Yu és mtsai., 2008). A kínai *R. anatipestifer* törzsek érzékenyebbek voltak az előbbi hatóanyagokra: tetraciklinnel szemben 46,6%-uk volt rezisztens, doxiciklinnel szemben 24,4%-uk (Zhong és mtsai., 2009a). A tendencia magyarázata, hogy a tetraciklinek között kereszt rezisztencia figyelhető meg, habár néhány hatóanyag, mint a doxiciklin vagy minociklin áttörheti ezt a rezisztenciát.

A törzseink 75,5%-a volt rezisztens eritromicinnal szemben. A különböző országokban eltérő eredményekre jutottak: kínai szerzők 32,7%-os rezisztenciát figyeltek meg (Zhong és mtsai., 2009a), míg tajvani kutatók 64%-os rezisztenciát tapasztaltak (Yu és mtsai., 2008).

Florfenikollal szemben csak a törzseink 1,5%-a volt rezisztens, ami egyezést mutatott a kínai adatokkal (Sun és mtsai., 2012).

Szulfonamidokkal szemben a törzseink 29,1%-a volt rezisztens, míg szulfametoxazol-trimetoprimmal szemben csak 6,1%-uk bizonyult rezisztensnek. Sun és mtsai. (2012) vizsgálata alapján a kínai törzsek rezisztensek voltak szulfonamidokkal szemben, de a törzsek kétharmada érzékeny volt szulfametoxazol-trimetoprimra. Az eredmények alapján a szulfametoxazol-trimetoprim kombináció még mindig hatékony anatipestifer betegség esetén.

Megvizsgáltuk a törzsek antibiotikum-rezisztencia profiljának időbeli változását. A rezisztens törzsek aránya florfenikolra és spektinomicinre 1993-tól, eritromicinre és sztreptomycinre 1997-től, szulfonamidokra 2004-től és doxiciklinre 2009-től emelkedő tendenciát mutatott. A rezisztencia aránya a többi vizsgált antibiotikumra időben változó tendenciát mutatott. Tapasztalatainkhoz hasonlóan Zhong és mtsai. (2009a) azt figyelték meg, hogy a rezisztencia mértéke piperacillinre és cefoperazonra emelkedett, spektinomicinre és aztreonamra csökkent 1998 és 2005 között Kínában, míg a többi antibiotikum nem mutatott egyértelmű tendenciát. A szerzők feltételezik, hogy a nem megfelelő antibiotikum-használat a rezisztens törzsek arányának emelkedéséhez vezethet. Más kutatók hasonló eredményekről

számoltak be, a kacsából izolált *R. anatipestifer* törzsek nagyarányú rezisztenciáját figyelték meg, amit a kacsza állományokban az antibiotikumok túlzott mértékű és helytelen használatával magyaráztak (Sun és mtsai., 2012). Másrészről egy adott hatóanyagra emelkedhet a baktérium érzékenysége, aminek a használatát mellőzik egy ideig (Zhong és mtsai., 2009a).

Kiterjedten vagy extrém rezisztens törzsek (extensively drug-resistant, XDR) azok a törzsek, melyek 5 vagy több antibiotikum csoportban legalább egy hatóanyagra nem érzékenyek. A nem érzékeny jelentheti, hogy a törzs rezisztens vagy mérsékelten érzékeny az adott hatóanyagra az in vitro antibiotikum-érzékenység vizsgálata során (Magiorakos és mtsai., 2012).

Az XDR törzsek aránya az összes törzset figyelembe véve: 31,6% volt. Az XDR törzsek aránya szintén emelkedő tendenciát mutatott az évek során. A kiterjedten rezisztens törzsek aránya 1993-2000, 2004-2006, 2009-2010, 2011, 2012, 2013, 2014-2015 között izolált törzsek esetében 10%, 6,6%, 42,4%, 20%, 17,7%, 32,4%, 53,8% volt. Tapasztalatainkhoz hasonlóan Köhler és mtsai. (1995) is a multirezisztens törzsek arányának időbeli növekedését figyelték meg.

Megvizsgáltuk az antibiotikum rezisztenciáját négy törzsnek, melyeket három héten belül egy járvány kitörésből, ugyanabból az állományból izoláltunk. Az eredmények alátámasztják azt a feltételezést, hogy a helyi antibiotikum-használat elősegítheti a rezisztencia kialakulását. Ezek a törzsek növekvő számú antibiotikummal szemben mutattak rezisztenciát (4, 4, 5, 7), a rezisztencia doxiciklinnel, enrofloxacinnal, gentamicinnel és spektinomocinnel szemben emelkedett. A kórelőzmény nem szolgáltatott információt a kezelésre használt antibiotikumokról. Habár csak néhány minta alapján figyeltük meg ezt az összefüggést, felhívja a figyelmet az antibiotikum-használat lehetséges kedvezőtlen következményére, az antibiotikum-rezisztencia gyors terjedésére. Hasonló következtetésre jutottak Zhong és mtsai. (2009a), akik a törzsek rezisztencia mintázatában jelentős eltéréseket figyeltek meg, ami a különböző telepek eltérő antibiotikum használatával mutatott összefüggést.

Chang és mtsai. (2003) összehasonlították a Tajvanon és az USA-ban izolált törzsek kanamicinre mért MIC értékeit. Szignifikáns különbséget találtak a két ország között, valószínűleg az eltérő antibiotikum-használatnak köszönhetően. Vizsgálataink során a szakirodalmi adatoknak megfelelően a törzsek rezisztencia mintázata és az XDR törzsek aránya mutatott némi összefüggést az izolálás földrajzi helyével, aminek a legvalószínűbb oka az eltérő terápiás gyakorlat lehet.

Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) rangsorolta az antibiotikumokat a humán gyógyászatban betöltött szerepük alapján. Kritikusan fontos antibiotikumok, melyeket (1)

gyakran használnak a humán gyógyászatban, (2) egyetlen hatóanyag, vagy egy a néhány alternatíva közül és (3) bizonyított a baktérium vagy a gének átvitele emberre nem emberi forrásból. Néhány hatóanyag ezekből az antibiotikum csoportokból a kritikusan fontos antibiotikumok közé tartozik: aminoglikozidok, ansamicinek, karbapenemek, 3. és 4. generációs cefalosporinok, glikopeptidek, lipopeptidek, makrolidok, oxazolidinonok, penicillinek, kinolonok, sztreptograminok, tetraciklinek és a Mycobacterium-ok ellen használt antibiotikumok és a kolisztin. Az élelmiszer-termelő állatok antibiotikum kezelése esetében ezek figyelembe vétele segíthet megőrizni a humán gyógyászatban fontos antibiotikumok hatékonyságát (Collignon és mtsai., 2009).

A patogén baktériumok esetében az antibiotikum-rezisztencia terjedése és a multirezisztens törzsek megjelenése növekvő veszélyt jelent az állat- és humán egészségügyre. Az antibiotikumok túlzott és helytelen használata feltehetőleg hozzájárul a rezisztens baktériumok kiszelektálásához. Tapasztalatainkhoz hasonlóan a szakirodalmi adatok is azt mutatják, hogy az elmúlt évtizedekben a rezisztens baktériumtörzsek aránya növekedett. Mindezek miatt kiemelten fontos, hogy csökkentsük az antibiotikum-használatot és pontos diagnózis és antibiotikum-érzékenységi vizsgálat alapján a megfelelő hatóanyagot helyesen, körültekintően alkalmazzuk.

6.8 Plazmidizolálás

Eddigi kutatások alapján a legtöbb *R. anatipestifer* törzs tartalmaz plazmidokat, több kutatócsoport is többféle, különböző méretű plazmidot írt le. Chang és mtsai. (1998) 60 db kacsza és lúderedetű tajvani törzset vizsgáltak, a legtöbb törzsből (60%) egy 3900 bp nagyságú plazmidot izoláltak, 11,7%-ból egy 6500 bp és egy 16000 bp méretűt, 5%-ból pedig három plazmidot izoláltak 2900 bp, 16000 bp és 18000 bp méretben. A törzsek 23,3%-a nem tartalmazott plazmidot.

Yu és mtsai. (2008) szintén tajvani vízibaromfi eredetű törzset vizsgáltak. A 24 törzs 29,1%-a egy 4000 bp, 20,8%-a egy 20000 bp, 12,5%-a egy 4500 bp, 4,2%-a egy 10000 bp méretű plazmidot tartalmazott. A törzsek 4,2%-ából két plazmidot izoláltak 4500 és 4000 bp méretben, 4,2%-ában szintén két plazmidot találtak 2900 és 20000 bp méretben. 25%-ukból nem sikerült plazmidot izolálni. Kacsából csak két törzsük volt, mindkettő a leggyakoribb 4000 bp méretű plazmidot tartalmazta. Nem találtak összefüggést az antibiotikum-rezisztencia és az izolált plazmidok között.

Chen és mtsai. (2010) vizsgálataik során egy kiválasztott tajvani törzsből 11435 bp nagyságú plazmidot izoláltak, melyet szekvenáltak és jellemeztek. Későbbi munkájuk során

florfenikol rezisztencia gén kerestek. Két törzs 11704 bp, három törzs 10302 bp méretű plazmidot tartalmazott, melyek *floR* rezisztencia gént hordoztak (Chen és mtsai., 2012)

Weng és mtsai. (1999) egy 5609 bp nagyságú plazmidot izoláltak, melyet szekvenáltak, és feltételezhetően a virulenciában szerepet játszó gént azonosítottak. Számos vizsgálat alátámasztja, hogy a *R. anatipestifer* törzsekben található plazmidok hordozhatnak klóramfenikol, tetraciklin, florfenikol és β -laktám rezisztencia géneket (*cat*, *catB*, *tetX2*, *floR*, és *bla_{OXA-209}*), valamint virulenciával összefüggésbe hozható géneket is (*vapD1*, *vapD2*) (Chang és mtsai., 1998; Chen és mtsai., 2010; Chen és mtsai., 2012; Weng és mtsai., 1999).

Munkánk során 2900, 4800, 5500, és 6900 bp méretű plazmidokat izoláltunk. Korábbi közleményekkel egyezést egyedül a 2900 bp nagyságú plazmid mutat (Chang és mtsai., 1998). A pozitív eredményt adó törzsek egy plazmidot tartalmaztak. Szakirodalmi adatok alapján is a leggyakoribb az egy plazmid jelenléte (Chang és mtsai., 1998; Yu és mtsai., 2008).

Vizsgálataink során a jelen levő plazmid és az izolálás időpontja között nem találtunk összefüggést. Az izolálás földrajzi helye szerint a ritkábban izolált plazmidok esetében kisfokú eltéréseket figyeltünk meg, aminek oka lehet a vizsgálatba vont törzsek kisebb mintaszáma. Az egyes tulajdonosok szerint megvizsgálva a törzseinket arra is találtunk példát, hogy 3 év múlva ugyanolyan méretű plazmidot tartalmazott a törzs, de az is előfordult, hogy néhány év múlva, vagy akár egy éven belül is változott az izolált plazmid. A plazmidok mobilis elemek, ezért a törzsek változatos méretben és számban kaphatnak más baktériumtörzsektől vagy fajoktól, amik időben is változhatnak.

Az izolált plazmidok előfordulási gyakorisága kissé eltérő volt gazdafaj szerint, de jóval kevesebb kacsaaeredetű törzsünk van, ezért ebben a vizsgálatban is arányosan kevesebb szerepelt. A 2900 és a 4800 bp méretű plazmid meglehetősen gyakori a hazai törzsekben, feltehetőleg jóval a vizsgálataink előtt kerültek a *R. anatipestifer* törzsekbe és terjedtek el az országban. Míg az 5500 és a 6900 bp nagyságú plazmid nem terjedt el a törzsek között.

A szakirodalmi adatokhoz hasonlóan (Yu és mtsai., 2008) mi sem találtunk összefüggést az izolált plazmidok és a törzsek antibiotikum rezisztenciája között. Az összes vagy a legtöbb hatóanyagra érzékeny törzs is tartalmazott plazmidot és az ellenkezőjét is tapasztaltuk, számos hatóanyaggal szemben rezisztens törzsben nem találtunk plazmidot. Már több antibiotikum-rezisztencia gént leírtak *R. anatipestifer* törzsben talált plazmidon (Chen és mtsai., 2010; Chen és mtsai., 2012), de természetesen az antibiotikum-rezisztencia gén kromoszómán is lehet rögzített.

6.9 ERIC-PCR

Az ERIC-PCR a rep-PCR-ek egy fajtája, a bakteriális genom tipizálására alkalmazott gyors, egyszerűen kivitelezhető és költséghatékony módszer (Kardos és mtsai., 2007). A vizsgálatokat legalább háromszor ismételtük, hogy igazoljuk a módszer reprodukálhatóságát, az ismétlések során mindig azonos mintázatot kaptunk.

Vizsgálataink során a *R. anatipestifer* törzsek ERIC-típusai a szakirodalmi adatokkal ellentétben nem mutattak összefüggést az izolálás helyével. Kiss és mtsai (2006) 24 db, 12 településről származó kacsaeredetű törzset jellemeztek ERIC-PCR módszerrel, mely során 11 féle mintázatot kaptak. Az ERIC-típusok leginkább a törzsek földrajzi eredetével mutattak összefüggést, azonos helyről származó törzsek többnyire azonos ujjlenyomatot adtak. De néhány esetben különböző településekről származó törzsek is azonos mintázatot mutattak, ami a fertőzés közös eredetére utalhat.

Munkánk során 166 db törzset vizsgáltunk 51 településről és az izolálás időpontját tekintve több, mint 15 évet fedtünk le. Vizsgálataink során a különböző megyékben vagy megye részekben a leggyakoribb ERIC-típusok (A, B, C és F) előfordulási gyakorisága hasonló volt. A különböző területeken ezek a típusok többnyire egyidejűleg jelen voltak és nagy távolságokban is előfordultak. Ezek alapján feltételezhető, hogy leggyakrabban az országban több, tartósan jelen levő, cirkuláló törzs okoz visszatérően járványokat. Békés megyéből csak két törzset izoláltunk és mindkettő az F típusba tartozott. Azonban az alacsony mintaszám miatt ebben az esetben sem vonhatunk le messzemenő következtetéseket. A leggyakoribb típusok mellett több, ritkán vagy csak egyszer előforduló mintázatot is megfigyeltünk, melyek azonban térben nem halmozódva fordultak elő. Az ERIC-típusok nem mutattak összefüggést az izolálás pontos földrajzi helyével sem. Az azonos településről különböző időpontokban izolált törzsek többnyire különböző ERIC-típusba tartoztak, nagyszámú törzs esetén gyakran megfigyeltük, hogy általában a leggyakoribb ERIC-típusok váltakoztak, esetenként egy-egy ritkább típus is megjelent. Hasonlóan a szerotípusoknál írtakhoz, a tulajdonosok szerint megvizsgálva a törzseinket arra is találtunk példát, hogy ritkán beküldők esetében három év múlva ugyanolyan ERIC-típusú volt a törzs, vagy minden évben más ERIC-típust találtunk, de az is előfordult, hogy egy éven belül három féle ERIC-típust is izoláltunk. A jelenség magyarázata lehet, hogy több típus is jelen vagy egy-egy állományban vagy a domináns típusok gyakran változnak.

A törzsek gazdafaji eredetével kapcsolatban a ritkán előforduló típusok esetében megfigyeltünk némi korrelációt. A leggyakoribb A, B és F típus lúdban és kacsában is gyakori volt, de a lúderedetű törzsek nagyobb változatosságot mutattak, a C, E, G, H, J, K, L, M, N, O, P és Q mintázatot csak a lúdból izolált törzsek között láttuk, ez 12 ERIC-típust jelent a 17-ből.

Ezek közül a legtöbb mintázat csak egyszer-kétszer fordult elő, egy pedig nyolcszor. A jelenség magyarázata lehet részben a lúderedetű törzsek nagyobb mintaszáma vagy a gazdaadaptáció. A Központi Statisztikai Hivatal adatai alapján Magyarországon 2010 és 2014 között 4,5-5,4 millió kacsát és 3,4-4,1 millió ludat tartottak. A vizsgálati mintaszám kacsából nem hogy nem éri el a lúdét, de bőven alatta marad annak ellenére, hogy nagyobb számban tartanak kacsát hazánkban. Valamint lúdban az anatipestifer betegség az esetek 76%-ában elsődleges bántalomként jelentkezett, míg kacsában csak az esetek 33%-ában. Feltételezhető, hogy a kacska kevésbé fogékony az anatipestifer betegségre és csak bizonyos törzsek képesek megbetegíteni, szemben a lúddal.

A törzseink ERIC-típusa és az izolálás ideje között csak a legrégebben izolált törzsek esetében találtunk összefüggést. A 2000-ben izolált törzsek egyedinek bizonyultak. Az általában leggyakoribb A, B, C és F típus ebben az évben nem fordult elő. Az ekkor izolált hatféle típus közül az N, G, L és Q típusú törzset csak ebben az évben láttuk, később egy esetben sem. 2004-ből egy törzsünk van, ami az O típusba tartozott, később es a típus sem fordult elő többször. A 2006-tól izolált törzsek esetében már többnyire az általában leggyakoribb típusokat találtuk meg nagyszámban. A jelenség magyarázata lehet a 2004-2006-os magyarországi madárinfluenza járvány miatt kiirtott nagyszámú vízibaromfiállomány, szigorú fertőtlenítés és új madárállomány betelepítése. A leggyakoribb típusok mellett évente egy-kettő ritkán vagy csak egyszer előforduló mintázatot is megfigyeltünk. Ezek mintázata jelentősen különbözött a gyakori, egymáshoz hasonló A és B mintázattól. Ezek a ritka mintázatot mutató törzsek feltehetőleg új behurcolásból származnak, melyek vizsgálataink alapján nem terjedtek el a környező területeken.

Vizsgálataink során az ERIC-típusok és a szerotípusok között szoros korrelációt fedeztünk fel. Hasonló összefüggést *R. anatipestifer* esetében még nem írtak le. Számos korábbi tanulmányban kerestek összefüggést a törzsek genotípusa és egyéb tulajdonságai, pl. a szerotípus között. Rimler és Nordholm (1998) teljes genom RFLP módszerrel vizsgálta a leggyakoribb (1 és 2) szerotípust. Az 1-es szerotípusú törzsek 17, a 2-es szerotípusú törzsek 5 csoportot alkottak, de nem találtak összefüggést a törzsek szerotípusa és genotípusa között. Philipp és mtsai. (2013) a 14-es szerotípusba tartozó törzseket PFGE módszerrel vizsgálták, *Sma*I restrikciós endonukleázt használva 9 mintázatot tudtak elkülöníteni, melyek összefüggést mutattak az izolálás helye és ideje között, de más szerotípust nem vizsgáltak. Yu és mtsai. (2008) tajvani kacska és lúdállományokból származó izolátumok genetikai diverzitását vizsgálták RFLP, REP-PCR és PFGE módszerrel, de nem sikerült összefüggést kimutatni a törzsek szerotípusa és az alkalmazott molekuláris tipizáló módszerek között. Chen és mtsai. (2015)

négyféle molekuláris tipizáló módszerrel vizsgálták meg a *R. anatipestifer* törzseiket. Találtak némi korrelációt az *ompA* szekvenciák és a szerotípusok között, bár a legtöbb *ompA* klaszter egynél több szerotípusnak felelt meg és vice versa. Huang és mtsai. (1999) szingapúri kacsákból származó izolátumok REP-PCR vizsgálatával 9 különböző mintázatot kaptak. Az összefüggés a szerotípus és a REP-PCR mintázat között nem volt teljesen egyértelmű, néhány szerotípus (1, 7, 11, 13, 15 és 19) egynél több REP-PCR mintázatnak felelt meg, míg különböző szerotípusú törzsek (2 és 9) azonos REP-PCR típusba tartoztak.

Eredményeink alapján az ERIC-PCR alkalmas módszer lehet a *R. anatipestifer* izolátumok szerotípusának meghatározására. A szerotípus meghatározása a hatékony védekezés szempontjából különösen fontos, mert a különböző szerotípusok között meggyőző keresztvédelmet nem tapasztaltak (Pathanasophon és mtsai., 1996; Ruiz és Sandhu, 2013; Sandhu, 1979; Sandhu, 1991; Zhai és mtsai., 2013). Ezen kívül az adott szerotípusokon belül altípusok megállapítása hasznos lehet a járványtani nyomozás során. Információ egy új törzs behurcolásáról, terjedéséről vagy tartós jelenlétéről az állományban segíthet meghatározni a szükséges lépéseket az állomány védelmében és a kórokozó terjedésének megelőzésében.

6.10 Következtetések

A diagnosztikai vizsgálatra érkezett madarak vizsgálata alapján meghatároztuk az *anatipestifer* betegség előfordulási gyakoriságát lúdban, kacsában és pulykában. Vízi baromfiban a betegség kifejezetten gyakori, előfordulása vetekszik a Derzsy-betegséggel, circovírus okozta megbetegedéssel, polyomavírus okozta megbetegedéssel, colibacillosissal vagy a baromfikolerával. Esetükben a nagy állategészségügyi jelentőség felhívja a figyelmet a megfelelő gyógykezelésre és a megelőzésre.

Lúdban és kacsában 8 hetes kor alatt - összhangban a korábbi leírásokkal - a betegség heveny vérfertőzéssel járó formáját diagnosztizáltuk, leggyakrabban a savóshártyák savós-fibrines gyulladását figyeltük meg. Adatokat szolgáltatunk arról, hogy idősebb, 9-17 hetes lúdban is előfordulhat az *anatipestifer* betegség, de ekkor többnyire helyi elváltozást, hurutos tüdőgyulladást találtunk, vérfertőzés többnyire csak komolyabb hajlamosító tényező hatására jelentkezett.

Pulykában az *anatipestifer* betegség ritka, és általában csak helyi elváltozást, a koponyacsont gennyos osteomyelitisét és savós-gennyos agyburokgyulladást okozott, vérfertőzést csak egy esetben láttunk. Pulykában feltehetőleg csak komolyabb immunszuppresszív tényező hatására jelenik meg az *anatipestifer* betegség. A nemzetközi

szakirodalomban elsőként számoltunk be *R. anatipestifer* fertőzéssel kapcsolatban a koponyacsont gennyes osteomyelitiséről.

Az antibiotikum-érzékenység vizsgálata és a szerotípus meghatározása közvetlen segítséget nyújt a betegség elleni védekezésben és a megelőzésben. A kórokozó fakultatív patogén, a betegség lúdban az esetek 24 %-ában, kacsában az esetek 67 %-ában másodlagosan jelentkezett, a betegség megelőzésének része az elsődleges megbetegedés gyógykezelése, és - amennyiben lehetséges - a hajlamosító tényezők csökkentése is. Rezisztencia vizsgálataink azt mutatják, hogy a florfenikol, ampicillin/amoxicillin, penicillin és a szulfametoxazol-trimetoprim többnyire eredményesen használható szerek. Az enrofloxacin doxiciklin és a szulfonamidok már kevésbé bizonyultak hatékonyak. A flumekvin, tetraciklin, eritromicin kezelés nagy valószínűséggel nem fog eredményre vezetni. A szerotipizálás során 1-es volt a leggyakoribb, emellett az 1,7-es, 2-es, 7-es és 4-es is előfordult.

A *R. anatipestifer* törzsek között fenotípusos vizsgálatokkal és genotipizáló módszerekkel is találtunk különbségeket. A különböző módszerek segítségével elkülönített csoportok egy kivételtől eltekintve nem függtek össze egymással. A fenotípusos vizsgálatokkal feltárt különbségek összefügghetnek virulencia tényezőkkel és hozzájárulhatnak a kórokozó környezetben való túlélésének, terjedésének jobb megértéséhez. A legtöbb fenotípusos vizsgálat során nem találtunk összefüggést a gazdafaj, az izolálás ideje, földrajzi helye között. Viszont kisfokú gazdafaj specificitást megfigyeltünk a ritkábban előforduló szerotípusok esetében. Az antibiotikum-érzékenység vizsgálata során pedig időbeli és térbeli különbségeket is találtunk, melyek feltehetőleg az antibiotikum-használati gyakorlattal függenek össze. Az antibiotikumok nem megfelelő alkalmazása minden bizonnyal hozzájárul a rezisztencia terjedéséhez.

A törzsek genotipizálása valósabb képet ad a törzsek rokonsági kapcsolatairól, a környezet nem befolyásolhatja az adott tulajdonság megjelenését. A legteljesebb képet a teljes genom szekvenálásával kaphatjuk, de ez a legköltségesebb módszer, ezért a mindennapi gyakorlatban nem elterjedt. A plazmidizolálás során egy mobilis genetikai elemet vizsgáltunk, nem találtunk összefüggést az izolált plazmid és a gazdafaj, az izolálás ideje, földrajzi helye között. Az ERIC-PCR vizsgálat során a teljes genomot vizsgáltuk, a módszer felbontóképessége alkalmassá tette a genetikai változatosság vizsgálatára, a törzsek csoportosítására. Tizenhét különböző ERIC-mintázatot különítettünk el, melyek közül a korábban izoláltak (2000-2004) legtöbbje egyedinek bizonyult. Több ERIC-típus csak ludakból izolált törzsek között fordult elő, ennek oka lehet a gazdaadaptáció vagy esetleg a kacsák kisebb fogékonysága. A szerotípusokhoz hasonlóan a különböző ERIC-típusok térbeli előfordulásában

sem láttunk különbséget. Valószínűleg a leggyakoribb ERIC-típusokat és szerotípusokat képviselő törzsek tartósan jelen vannak az adott régióban, cirkulálnak, és visszatérően járványokat okoznak. Mellettük esetenként térben elszórva egy-egy ritkább típus is felbukkant. Az ERIC-PCR vizsgálat a gyorsasága, egyszerűsége, kis költsége és eszközigénye miatt elterjedt módszer. A reprodukálhatóság ellenőrzése után alkalmas lehet járványtani nyomonra is.

Vizsgálataink során a törzsek szerotípusa és az ERIC-típusok között szoros korrelációt fedeztünk fel, egy kivétellel az összes ERIC-típus egy szerotípust képviselt. Korábbi vizsgálatok során még nem találtak összefüggést a *R. anatipestifer* törzsek szerotípusa és egy molekuláris tipizáló módszer között sem. Eredményeink alapján az ERIC-PCR alkalmas lehet a *R. anatipestifer* izolátumok szerotípusának meghatározására. Ugyanis a szerotipizálás nem tekinthető elterjedt, rutin módszernek, mert csak néhány specializált laboratórium rendelkezik a szerotípus referencia törzsek ellen termeltetett savóval, ami nem olcsó és a módszer kivitelezése, elbírálása gyakorlatot igényel. A kereskedelmi forgalomban kapható savók esetében pedig nem egyezik a nomenklatúra a szakirodalomban leírt és elfogadott elnevezésekkel. A szerotípus meghatározása a hatékony védekezés szempontjából különösen fontos, mert a különböző szerotípusok között meggyőző keresztvédelmet nem tapasztaltak.

7. Új tudományos eredmények

1. Elsőként számoltunk be a koponyacsont *R. anatipestifer* okozta gennyes osteomyelitiséről pulykában.
2. Elsőként végeztük el nagyszámú (197 db) magyarországi eredetű, különböző gazdafajokból származó *R. anatipestifer* törzs átfogó fenó- és genotípusos összehasonlító vizsgálatát.
3. Elsőként végeztük el a hazai *R. anatipestifer* törzsek átfogó antibiotikum-érzékenységi vizsgálatát 13 hatóanyagra nézve. A rezisztens törzsek aránya időben növekvő tendenciát mutatott.
4. Meghatároztuk a hazánkban előforduló szerotípusokat, felmértük a százalékos arányukat az izolálás helye, ideje és a gazdafaj szerint.
5. A hazai *R. anatipestifer* törzsek ERIC-PCR vizsgálatával 17 különböző ERIC-mintázatot különítettünk el, mely során a lúderedetű törzsek nagyobb változatosságot mutattak (17 típus), mint a kacsából származó törzsek (5 típus).
6. A világon elsőként találtunk összefüggést a *R. anatipestifer* törzsek szerotípusa és egy molekuláris tipizáló módszer, az ERIC-PCR között.

8. Irodalomjegyzék

- Baba, T., Odagiri, Y., Morimoto, T., Yamamoto, S.: **An outbreak of *Moraxella (Pasteurella) anatipestifer* infection in ducklings in Japan**, Jpn. J. Vet. Sci., 49. 939-941, 1987.
- Banda, A., Galloway-Haskins, R. I., Sandhu, T. S., Schat, K. A.: **Genetic analysis of a duck circovirus detected in commercial Peking ducks in New York**, Avian Dis., 51. 90-95, 2007.
- Bangun, A., Johnson, J. L., Tripathy, D. N.: **Taxonomy of *Pasteurella anatipestifer*. 1. DNA base composition and DNA-DNA hybridization analysis**, Avian pathol., 31. 43-45, 1987.
- Bangun, A., Tripathy, D. N., Hanson, L. E.: **Studies of *Pasteurella anatipestifer*: An approach to its classification**, Avian Dis., 25. 326-337, 1981.
- Bendheim, U., Even-Shoshan A.: **Survival of *Pasteurella multocida* and *Pasteurella anatipestifer* in various natural media**. Refu. Vet., 32. 43-45, 1975.
- Bernardet, J. F., Segers, P., Vancanneyt, M., Berthe, F., Kersters, K., Vandamme, P.: **Cutting a Gordian knot: emended classification and description of the genus *Flavobacterium*, emended description of the family *Flavobacteriaceae*, and proposal of *Flavobacterium hydatis* nom. nov. (basonym, *Cytophaga aquatilis* Strohl and Tait 1978)**, Int. J. Syst. Bacteriol., 46. 128-148, 1996.
- Bisgaard, M., Bojesen, A. M., Christensen, J. P.: ***Riemerella* infections**. In: *Poultry diseases*. Szerk.: Pattison, M., McMullin, P. F., Bradbury, J. M., Alexander, D. J.: Edinburgh, UK: Elsevier, 2008. p.172-175.
- Bisgaard, M.: **Antigenic studies on *Pasteurella anatipestifer*, species incertae sedis, using slide and tube agglutination**, Avian Pathol., 11. 341-350, 1982.
- Bisgaard, M.: **Salpingitis in web-footed birds: prevalence, aetiology and significance**, Avian Path., 24. 443-452, 1995.
- Bitay, Z., Kovács Gy., Takács, Gy., Török, L.: **A kacsák *anatipestifer* szindrómájának elődorsulása Magyarországon**, Magy. Állatorv. Lapja., 34. 747-750, 1979.
- Breed, R. S., Lessel, E. F., Heist Clise, E.: **Genus I. *Pasteurella* Trevisan**. In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (7th ed.). Szerk.: Breed, R. S., Murray, E. G. D., Smith, N. R.: Williams and Wilkins, 1957. p. 395-402.
- Brogden, K. A., Rhoades K. R., Rimler, R. B.: **Serologic types and physiologic characteristics of 46 avian *Pasteurella anatipestifer* cultures**, Avian Dis., 26. 891-896, 1982.

- Bruner, D. W., Angstrom, C. I., Price, J. I.: ***Pasteurella anatipestifer* infection in pheasants. A case report**, Cornell. Vet., 60. 491-494, 1970.
- Bruner, D. W., Fabricant, J.: **A strain of *Moraxella anatipestifer* (*Pfeifferella anatipestifer*) isolated from ducks**, The Cornell veterinarian., 44. 461-464, 1954.
- Cha, S. Y., Seo, H. S., Wei, B., Kang, M., Roh, J. H., Yoon, R. H., Kim, J. H., Jang, H. K.: **Surveillance and characterization of *Riemerella anatipestifer* from wild birds in South Korea**, J. Wildl. Dis., 51. 341-347, 2015.
- Chang, C. F., Hung, P. E., Chang, Y., F.: **Molecular characterization of a plasmid isolated from *Riemerella anatipestifer***, Avian. Pathol., 27. 339-345, 1998.
- Chang, C. F., Lin, W. H., Yeh, T. M., Chiang, T. S., Chang, Y. F.: **Antimicrobial susceptibility of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks and the efficacy of ceftiofur treatment**, J. Vet. Diagn. Invest., 15. 26-29, 2003.
- Chen, C. L., Wang, S. T., Chu, C., Wang, S.H.: **Comparison of four molecular typing methods for *Riemerella anatipestifer***, Taiwan Veterinary Journal, 41. 177-185, 2015.
- Chen, Y. P., Lee, S. H., Chou, C. H., Tsai, H. J.: **Detection of florfenicol resistance genes in *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks and geese**, Vet. Microbiol., 154. 325-331, 2012.
- Chen, Y. P., Tsao, M. Y., Lee, S. H., Chou, C. H., Tsai, H. J.: **Prevalence and molecular characterization of chloramphenicol resistance in *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks and geese in Taiwan**, Avian Pathol., 39. 333-338, 2010.
- Cheng, A. C.; Wang, M. S., Chen, X. Y., Zhu, D. K., Huang, C., Liu, F., Zhou, Y. Guo, Y. F., Liu, Z. Y., Fang, P. F.: **Epidemiology and new serotypes of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks in China and studies on their pathogenic characteristics**, Chinese Journal of Veterinary Science, 23. 320-323, 2003.
- Christensen, H., Bisgaard, M.: **Phylogenetic relationships of *Riemerella anatipestifer* serovars and related taxa and an evaluation of specific PCR tests reported for *R. anatipestifer***, J. Appl. Microbiol., 108. 1612-1619, 2010.
- Chu, C. Y., Liu, C. H., Liou, J. J., Lee, J. W., Cheng, L. T.: **Development of a subunit vaccine containing recombinant *Riemerella anatipestifer* outer membrane protein A and CpG ODN adjuvant**, Vaccine, 33. 92-99, 2015.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**, twenty-first informational supplement; informational supplement. CLSI document M100-S21. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2013.

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): **Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated From Animals**, third edition, CLSI document VET01S. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2015.
- Collignon, P., Powers, J. H., Chiller, T. M., Aidara-Kane, A., Aarestrup, F. M.: **World Health Organization ranking of antiicrobials according to their importance in human medicine: a critical step for developing risk management strategies for the use of antimicrobials in food production animals**, Clin. Inf. Dis., 49. 132-141, 2009.
- Cooper, G. L., Charlton, B. R.: **Spondylitis in turkeys associated with experimental *Pasteurella anatipestifer* infection**, Avian Dis., 36. 290-295, 1992.
- Cooper, G. L.: ***Pasteurella anatipestifer* infections is California turkey flocks: Circumstantial evidence of a mosquito vector**, Avian dis., 33. 809-815, 1989.
- Crasta, K. C., Chua, K. L., Subramaniam, S., Frey, J., Loh, H., Tan, H. M.: **Identification and characterization of CAMP cohemolysin as a potential virulence factor of *Riemerella anatipestifer***, Journal of Bacteriology, 184. 1932-1939, 2002.
- Dobos-Kovács, M.: **Savós testüreg**. In: *Házimadarak kórbonctana*. Szerk.: Dobos-Kovács, M.: Budapest, Magyarország, MÁOK Kft., 2014. p. 150-153.
- Dou, Y., Wang, X., Yu, G., Wang, S., Tian, M., Qi, J., Li, T., Ding, C., Yu, S.: **Disruption of the *M949_RS01915* gene changed the bacterial lipopolysaccharide pattern, pathogenicity and gene expression of *Riemerella anatipestifer***, Vet. Res., 48. 6-17, 2017.
- Dougherty, E., Saunders, L. Z., Parsons, E. H.: **The pathology of infectious serositis of ducks**, Am. J. Pathol., 31. 475-487, 1955.
- Fernandez, C.P., Afrin, F., Flores, R. A., Kim, W. H., Jeong, J., Kim, S., Chang, H. H., Lillehoj, H. S., Min, W.: **Downregulation of inflammatory cytokines by berberine attenuates *Riemerella anatipestifer* infection in ducks**, Developmental and Comparative Immunology, 77. 121-127, 2017.
- Frommer, A., Bock, R., Inbar, A., Zemer, S.: **Muscovy ducks as a source of *Pasteurella anatipestifer* infection in turkey flocks**, Avian. Pathol., 19. 161-163, 1990.
- Fulton, R. M., Rimler, R. B.: **Epidemiologic investigation of *Riemerella anatipestifer* in a commercial duck company by serotyping and DNA fingerprinting**, Avian Dis., 54. 969-972, 2010.
- Gálfi, P., Csikó, G. and Jerzsele, Á.: **Baktériumellenes szerek**. In: *Állatorvosi gyógyszerteran III*. Szerk.: Gálfi, P.: Budapest, Magyarország, Robbie-Vet Kft., 2012. p. 87-249.

- Gao, J., Ye, C., Zhu, L., Tian, Z., Yang, Z.: **A homolog of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Riemerella anatipestifer* is an extracellular protein and exhibits biological activity**, J Zhejiang Univ-Sci B, 15. 776-787, 2014.
- Georghiou, P. R., Doggett, A. M., Kielhofner, M. A., Stout, J. E., Watson, D. A., Lupski, J. R., Hamill, R. J.: **Molecular fingerprinting of *Legionella* species by repetitive element PCR**, J. Clin. Microbiol., 32. 2989- 2994, 1994.
- Glünder, G., Hinz, K. H.: **Isolation of *Moraxella anatipestifer* from embryonated goose eggs**, Avian Pathol., 18. 351-355, 1989.
- Graham, R., Brandly, C. A., Dunlap. G. L.: **Studies on duck septicaemia**, Cornell Vet., 28. 1-8, 1938.
- Han, X., Hu, Q., Ding, S., Chen, W., Ding, C., He, L., Wang, X., Ding, J., Yu, S.: **Identification and immunological characteristics of chaperonin GroEL in *Riemerella anatipestifer***, Applied Microbiology and Biotechnology, 93. 1197-1205, 2012.
- Harry, E. G., Deb, J. R.: **Laboratory and field trials on a formalin inactivated vaccine for the control of *Riemerella anatipestifer* septicaemia in ducks**, Res. Vet. Sci., 27. 329-333, 1979.
- Harry, E. G.: ***Pasteurella (Pfeifferella) anatipestifer* serotypes isolated from cases of anatipestifer septicaemia in ducks**, Vet. Rec., 84. 673, 1969.
- Hatfield, R. M., Morris B. A.: **Influence of the route of infection of *Pasteurella anatipestifer* in the clinical and immune responses of White Pekin ducks**, Res. Vet. Sci., 44. 208-214, 1988.
- Hatfield, R. M., Morris, B. A., Henry, R. R.: **Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of humoral antibody to *Pasteurella anatipestifer***, Avian Pathol., 16. 123-140, 1987.
- Heddleston, K. L., Gallagher, J. E., Rebers, P. A.: **Fowl cholera: Gel diffusion precipitin test for serotyping *Pasteurella multocida* from avian species**, Avian Dis., 16. 925-936, 1972.
- Heddleston, K. L.: **Infectious serositis**. In: *Diseases of Poultry*, 6th ed. Szerk.:Hofstad, M. S., Calnek, B. W., Helmboldt, C. F., Reid, W. M., Yoder, H. W.: Ames: Iowa State University Press, 1972. p. 246-251.
- Helfer, D. H., Helmboldt, C. F.: ***Pasteurella anatipestifer* infection in turkeys**, Avian. Dis., 21. 712-715, 1977.

- Hendrickson, J. M., Hilbert, K. F.: **A new and serious septicemic disease of young ducks with a description of the causative organism, *Pfeifferella anatipestifer***, Cornell Vet., 22. 239-252, 1932.
- Hess, C, Enichlmayr H., Jandreski-Cvetkovic, D., Liebhart, D., Bilic, I., Hess, M.: ***Riemerella anatipestifer* outbreaks in commercial geese flocks characterized by high mortality**, Avian Path., 42. 151-156, 2013.
- Higgins, D. A., Henry, R. R., Kounev, Z. V.: **Duck immune responses to *Riemerella anatipestifer* vaccines**, Developmental and Comparative Immunology, 24. 153-167, 2000.
- Hinz, K. H., Ryll, M., Köhler, B., Glünder, G.: **Phenotypic characteristics of *Riemerella anatipestifer* and similar micro-organisms from various hosts**, Avian pathol., 27. 33-43, 1998a.
- Hinz, K. H., Ryll, M., Köhler, B.: **Detection of acid production from carbohydrates by *Riemerella anatipestifer* and related organisms using the buffered single substrate test**, Vet. Microbiol., 60. 277-284, 1998b.
- Hu, Q., Ding, C., Tu, J., Wang, X., Han, X., Duan, Y., Yu, S.: **Immunoproteomics analysis of whole cell bacterial proteins of *Riemerella anatipestifer***, Vet. Microbiol., 157. 428-438, 2012.
- Hu, Q., Han, X., Zhou, X., Ding, C., Zhu, Y., Yu, S.: **OmpA is a virulence factor of *Riemerella anatipestifer***, Vet. Microbiol., 150. 278-283, 2011
- Hu, Q., Han, X., Zhou, X., Ding, S., Ding, C., Yu, S.: **Characterization of biofilm formation by *Riemerella anatipestifer***, Vet. Microbiol., 144. 429-436, 2010.
- Hu, Q., Liu, X. W., Zhao, S. H., Zhang, Z. L., Ding, C., Miao, J. F.: **Detection of *Riemerella anatipestifer* by PCR**, Chin. J. Pre. Vet. Med., 24. 471-473, 2002.
- Huang, B., Kwang, J., Loh, H., Frey, J., Tan, H. M., Chua, K. L.: **Development of an ELISA using a recombinant 41 kDa partial protein (P45N') for the detection of *Riemerella anatipestifer* infections in ducks**, Vet. Microbiol., 88. 339-349, 2002a.
- Huang, B., Subramaniam, D., Frey, J., Loh, H., Tan, H. M., Fernandez, C. J., Kwang, J., Chua, K. L.: **Vaccination of ducks with recombinant outer membrane protein (OmpA) and a 41 kDa partial protein (P45N') of *Riemerella anatipestifer***, Vet. Microbiol., 84. 219-230, 2002b.
- Huang, B., Subramaniam, S., Chua, K.-L., Kwang, J., Loh, H., Frey, J., Tan, H.-M.: **Molecular fingerprinting of *Riemerella anatipestifer* by repetitive sequence PCR**, Vet. Microbiol., 67. 213-219, 1999.

- Huang, C., Li, J., Tang, Y., Wang, C., Hou, C., Hou, D., Chen, Y., Jin, G.: **Biosensor based on imaging ellipsometry for serotype-specific detection of *Riemerella anatipestifer***, Materials Science and Engineering C., 31. 1609-1613, 2011.
- Hubálek, Z.: **An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds**, J. Wildlife Dis., 40. 639-659, 2004.
- Ivanics, É., Glávits, R., Édes, I.: **A növendék ludak anatipestifer betegségének vizsgálata**, Magy. Állatorv. Lapja., 51. 9-14, 1996.
- Jortner, B. S., Porro, R., Leibovitz, L.: **Central-nervous-system lesions of spontaneous *Pasteurella anatipestifer* infection in ducklings**, Avian. Dis., 13. 27-35, 1969.
- Kardos, G., Nagy, J., Antal, M., Bistyák, A., Tenk, M., Kiss I.: **Development of a novel PCR assay specific for *Riemerella anatipestifer***, Letters Appl. Microbiol., 44. 145-148, 2007.
- Kardos, G.: **Baromfipatogén *Pasteurella multocida* és *Riemerella anatipestifer* nyomon követése molekuláris epidemiológiai módszerekkel**. Thesis, Debreceni Egyetem, Debrecen, Magyarország, 2007.
- Karstad , L., Lusic, P., Long, J. R.: ***Pasteurella anatipestifer* as a cause of mortality in captive wild waterfowl**, J. Wildl. Dis., 6. 408-413, 1970.
- Kis Csatóri, M., Nyiredy, I.: **A libainfluenza kórokozójának bakteriológiai jellemzői**, Magy. Állatorv. Lapja., 21. 16-18, 1966.
- Kiss, I., Kardos, G., Nagy, J., Tenk, M., Ivanics, E.: **DNA fingerprinting of *Riemerella anatipestifer* isolates from ducks**, Vet. Rec., 160. 26-28, 2006.
- Konkoly Thege, M., Lányi, B.: **Az aerob és anaerob baktériumok azonosítására használatos leggyakoribb vizsgálatok**. In: *Klinikai és járványügyi bakteriológia*. Szerk.: Czírók É., Budapest: Melania Kft., 1999. p. 150-187.
- Korczak, B., Christensen, H., Emler, S., Frey, J., Kuhnert, P.: **Phylogeny of the family *Pasteurellaceae* based on *rpoB* sequences**, Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 54. 1393-1399, 2004.
- Köhler, B., Heiss, R., Albrecht, K.: ***Riemerella anatipestifer* as pathogen for geese in the northern and central parts of Germany**. In: *Proceeding of the 49th symposium on poultry diseases of the German Veterinary Medical Society*, Hannover. German Veterinary Medical Society Publisher. Giessen, Germany. 1995. p. 57-71.
- Layton, H. W., Sandhu, T. S.: **Protection of ducklings with a broth-grown *Pasteurella anatipestifer* bacterin**, Avian. Dis., 28. 718-726, 1984.
- Leavitt, S., Ayroud, M.: ***Riemerella anatipestifer* infection of domestic ducklings**, Can Vet J, 38. 113-114, 1997.

- Li, F., Yang, B., Chang, Z., Wang, C., Yao, J., Liu, Y., Li, H.: **Development and application of indirect ELISA for the detection of serum antibodies against *Riemerella anatipestifer* in duck**, China Animal Husbandry and Vet. Medicine, 37. 202-205, 2010.
- Li, J. X., Tang, Y., Gao, L. Y., Huang, C. H., Ding, M. J.: ***Riemerella anatipestifer* infection in chickens**, Pak. Vet. J., 31. 65-69, 2011.
- Li, S., Gong, X., Chen, Q., Zheng, F., Ji, G., Liu, Y.: **Threshold level of *Riemerella anatipestifer* crossing blood-brain barrier and expression profiles of immune-related proteins in blood and brain tissue from infected ducks**, Vet. Immunol. and Immunopath., 200. 26-31, 2018.
- Li, W. Y., Cheng, L. F., Peng, C. X., Huang, Y.: **Seroepidemiological investigation of *Riemerella anatipestifer* in Fujian Province**, Chinese journal of Preventive Veterinary Medicine, 2002.
- Li, Y., Jiang, H., Xiang, R., Sun, N., Zhang, Y., Zhao, L., Gu, P., Wang, L., Zeng, Z.: **Effects of two efflux pump inhibitors on the drug susceptibility of *Riemerella anatipestifer* isolates from China**, Journal of Integrative Agriculture, 15. 929-933, 2016b
- Li, Y., Zhang, Y., Ding, H., Mei, X., Liu, W., Zeng, J., Zeng, Z.: **In vitro susceptibility of four antimicrobials against *Riemerella anatipestifer* isolates: a comparison of minimum inhibitory concentrations and mutant prevention concentrations for ceftiofur, cefquinome, florfenicol, and tilmicosin**, Vet. Res., 12. 250-257, 2016a.
- Liao, H., Liu, M., Cheng, X., Zhu, D., Wang, M., Jia, R., Chen, S., Sun, K., Yang, Q., Biville, F., Cheng, A.: **The detection of hemin-binding proteins in *Riemerella anatipestifer* CH-1**, Curr. Microbiol., 72. 152-158, 2016.
- Liu, H., Wang, X., Ding, C., Han, X., Cheng, A., Wang, S., Yu, S.: **Development and evaluation of a trivalent *Riemerella anatipestifer* inactivated vaccine**, Clinical and Vaccine Immunol., 2013.
- Lobbedey, L. és Schlatterer, B.: **Development and application of an ELISA for the detection of duck antibodies against *Riemerella anatipestifer* antigens in egg yolk and in serum of their offspring**, J. Vet. Med. B., 50. 81-85, 2003.
- Loh, H., Teo, T., P., Tan, H.: **Serotypes of *Pasteurella anatipestifer* isolates from ducks in Singapore: A proposal of new serotypes**, Avian Pathol., 21. 453-459, 1992.
- Lu, F., Miao, S., Tu, J., Ni, X., Xing, L., Yu, H., Pan, L., Hu, Q.: **The role of Ton-B dependent receptor TbdR1 in *Riemerella anatipestifer* in iron acquisition and virulence**, Vet. Microbiol., 167. 713-718, 2013.

- Luo, H. Y., Liu, M. F., Wang, M. S., Zhao, X. X., Jia, R. Y., Chen, S., Sun, K. F., Yang, Q., Wu, Y., Chen, X. Y., Biville, F., Zou, Y. F., Jing, B., Cheng, A. C., Zhu, D. K. : **A novel resistance gene, *Inu(H)*, conferring resistance to lincosamides in *Riemerella anatipestifer* CH-2**, International Journal of Antimicrobial Agents, 51. 136-139, 2018.
- 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 resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance**, Clin. Microbiol. Infect., 18. 268-281, 2012.
- Mannheim, W.: **Family III. Pasteurellaceae**. In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th ed.). Szerk.: Krieg, N. R., Holt, J. G.: Williams and Wilkins, 1984. p. 550-557.
- Mustafa, A. H. M., Miah, M. A. H., Pandit, K. K., Hoque, A. F. M. H.: **Isolation of *Pasteurella anatipestifer* from ducks in Bangladesh**, Bangladesh Vet. J., 19. 73-76, 1985.
- Ni, X., Jiang, P., Xing, L., Ou, C., Yu, H., Qi, J., Sun, B., Cui, J., Wang, G., Hu, Q.: **Genome-wide mining of potential virulence-associated genes in *Riemerella anatipestifer* using random transposon mutagenesis**, Vet. Microbiol., 189. 52-58, 2016.
- Olive, B. M., Bean, P.: **Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms**, J. Clin. Microbiol., 37. 1661- 1669, 1999.
- Pala, S., Nair, U. R., Somu, C., Mahendran, M.: **Molecular diagnosis of New Duck disease in India by 16S rRNA gene based RCR**, Advances in Animal and Veterinary Sciences, 1. 140-142, 2013.
- Pan, C. Y., Chow, T. Y., Yu, C. Y., Chen, J. C., Chen, J. Y.: **Antimicrobial peptides of an anti-lipopolysaccharide factor, epinecidin-1, and hepcidin reduce the lethality of *Riemerella anatipestifer* sepsis in ducks**, Peptides 31. 806-815, 2010.
- Pascucci, S., Giovannetti, L., Massi, P.: ***Pasteurella anatipestifer* infection in guinea fowl and Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*)**, Rproc. Int. Congr. World. Vet. Poultry. Assoc., 9. 47, 1989.
- Pathanasophon, P., Phuektes, P., Tanticharoenyos, T., Narongsak, W., Sawada, T.: **A potential new serotype of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks in Thailand**, Avian Pathol., 31. 267-270, 2002.
- Pathanasophon, P., Sawada, T., Pramoolsinsap, T., Tanticharoenyos, T.: **Immunogenicity of *Riemerella anatipestifer* broth culture bacterin and cell-free culture filtrate in ducks**, Avian Path., 25. 705-719, 1996.

- Pathanasophon, P., Sawada, T., Tanticharoenyos, T.: **New serotypes of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks in Thailand**, Avian Path., 24. 195-199, 1995.
- Pathanasophon, P., Tanticharoenyos, T., Sawada, T.: **Physiological characteristics, antimicrobial susceptibility and serotypes of *Pasteurella anatipestifer* isolated from ducks in Thailand**, Vet. Microbiol.: 39. 179-185, 1994.
- Pavel, A. B., Vasile, C. I.: **PyElph – a software tool for gel images analysis and phylogenetics**, BMC Bioinformatics, 13. 1, 2012.
- Philipp, H. C., Taras, D., Liman, M., Grosse-Herrenthey, A., Ronchen, S. & Behr, P.: **Molecular typing of *Riemerella anatipestifer* serotype 14, an emerging pathogen for ducks**, Archiv für Geflügelkunde, 77. 218-225, 2013.
- Pickrell, J. A.: **Pathologic changes associated with experimental *Pasteurella anatipestifer* infection in ducklings**, Avian Dis., 10. 281-288, 1966.
- Piechulla, K., Pohl, S., Mannheim, W.: **Phenotypic and genetic relationships of so-called *Moraxella (Pasteurella) anatipestifer* to the *Flavobacterium/cytophaga* group**, Vet. Microbiol., 11. 261-270, 1986.
- Pierce, R. L., Vorhies, M. W.: ***Pasteurella anatipestifer* infection in geese**, Avian Dis., 17. 868-870, 1973.
- Poh, C. L., Ramachandran, V., Tapsall, J. W.: **Genetic diversity of *Neisseria gonorrhoeae* IB-2 and IB-6 isolates revealed by whole-cell repetitive element sequence-based PCR**, J. Clin. Microbiol., 34. 292- 295, 1996.
- Qu, F. F., Cai, C., Zheng, X. J., Zhang D. B.: **Rapid identification of *Riemerella anatipestifer* on the basis of specific PCR amplifying 16S rRNA**, Wei. Sheng. Wu. Xue. Bao., 46. 13-17, 2006.
- Riemer von, S.: **Kurze Mitteilung über eine bei Gänsen beobachtet exsudative Septikämie und deren Erreger**, Zentralbl. Bakteriol. I. Abt. I. Orig., 37. 641-648, 1904.
- Rimler, R. B., Nordholm, G. E.: **DNA fingerprinting of *Riemerella anatipestifer***, Avian Dis., 42. 101-105, 1998.
- Rosenfeld, L. E.: ***Pasteurella anatipestifer* infection in fowls in Australia**, Aust. Vet. J., 49. 55-56, 1973.
- Rubbenstroth, D., Ryll, M., Behr, K. P., Rautenschlein, S.: **Pathogenesis of *Riemerella anatipestifer* in turkeys after experimental mono-infection via respiratory routes or dual infection together with the avian metapneumovirus**, Avian Pathol., 38. 497-507, 2009.

- Rubbenstroth, D., Ryll, M., Knobloch, J. K., Köhler, B., Rautenschlein, S.: **Evaluation of different diagnostic tools for the detection and identification of *Riemerella anatipestifer***, Avian Pathol., 42. 17-26, 2013.
- Ruiz, J. A., Sandhu, T. S.: ***Riemerella anatipestifer* infection**. In: *Diseases of Poultry*, 13th ed. Szerk.: Saif, Y. M.: Ames: Wiley-Blackwell, 2013. p. 823-828.
- Ryll, M., Christensen, H., Bisgaard, M., Christensen J.-P., Hinz, K.-H., Köhler, B.: **Studies on the prevalence of *Riemerella anatipestifer* in the upper respiratory tract of clinically healthy ducklings and characterization of untypable strains**, J. Vet. Med., 48. 537-546, 2001.
- Ryll, M., Hinz, K. H.: **Exclusion of strain 670/89 as type strain of serovar 20 of *Riemerella anatipestifer***, Berl. Münch. Tierarztl. Wsch., 113. 65-66, 2000.
- Sandhu, T. S., Dean, W. F.: **Effect of chemotherapeutic agents on *Pasteurella anatipestifer* infection in white Pekin ducks**, Poultry Science, 59. 1027-1030, 1980.
- Sandhu, T. S., Harry, E. G.: **Serotypes of *Pasteurella anatipestifer* isolated from commercial White Pekin ducks in the United States**, Avian Dis., 25. 497-502, 1981.
- Sandhu, T. S., Layton, H. W.: **Laboratory and field trials with formalin-inactivated *Escherichia coli* (O78) *Pasteurella anatipestifer* bacterin in white Pekin ducks**, Avian Dis., 29. 128-135, 1985.
- Sandhu, T. S., Leister, M.: **Serotypes of *Pasteurella anatipestifer* isolates from poultry in different countries**, Avian Pathol., 20. 233-239, 1991.
- Sandhu, T. S.: **Immunization of White Pekin ducklings against *Pasteurella anatipestifer* infection**, Avian Dis., 23. 662-669, 1979.
- Sandhu, T. S.: **Immunogenicity and safety of a live *Pasteurella anatipestifer* vaccine in White Pekin ducklings: Laboratory and field trials**, Avian Pathol., 20. 423-432, 1991.
- Sandhu, T. S.: **Important diseases in ducks**. In: *Duck production science and world practice*. Szerk.: Farrell D. J. és Stapleton P.: University of New England, Australia, 1986. p. 111-134.
- Sarver, C. F., Morishita, T. Y., Nersessian, B.: **The effect of route of inoculation and challenge dosage on *Riemerella anatipestifer* infection in Pekin ducks**, Avian. Dis., 49. 104-107, 2005.
- Segers, P., Mannheim, W., Vancanneyt, M., de Brandt, K., Hinz, K.H., Kersters, K., Vandamme, P.: ***Riemerella anatipestifer* gen. nov., comb. nov., the causative agent of septicemia anserum exsudativa and its phylogenetic affiliation within the *Flavobacterium-Cytophaga* rRNA homology group**, Int. J. Syst. Bacteriol., 43. 768-776, 1993.

- Seo, H. S., Cha, S. Y., Kang, M., Jang, H. K.: **Chicken embryo lethality assay for determining the virulence of *Riemerella anatipestifer* isolates**, Avian Pathol., 42. 387-392, 2013.
- Singh, R., Teng, M. F., Teo, T. P., Kua, E. K.: **Anatipestifer disease in ducklings in Singapore**, Singapore Vet. J., 7. 53-57, 1983.
- Smith, J. E.: **Genus *Pasteurella* Trevisan**. In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (8th ed.). Szerk.: Buchanan, R. E.; Gibbons, N. E.; Williams and Wilkins, 1974. p. 370-373.
- Smith, J. M., Frame, D. D., Cooper, G., Bickford, A. A., Ghazikhanian, G. Y., Kelly, B. J.: ***Pasteurella anatipestifer* infection in commercial meat-type turkeys in California**, Avian Dis., 31. 913-917, 1987.
- Subramaniam, S. K. L., Chua, H. M., Tan, H., Loh, H., Kuhnert, P., Frey, J.: **Phylogenetic position of *Riemerella anatipestifer* based on 16S rRNA gene sequences**, Int. J. Syst. Bact., 47. 562-565, 1997.
- Subramaniam, S., Huang, B., Loh, H., Kwang, J., Tan, H. M., Chua, K. L., Frey, J.: **Characterization of a predominant immunogenic outer membrane protein of *Riemerella anatipestifer***, Clin. Diag. Lab. Immunol., 7. 168-174, 2000.
- Sun, N., Liu, J. H., Yang, F., Lin, D. C., Li, G. H., Chen, Z. L., Zeng, Z. L.: **Molecular characterization of the antimicrobial resistance of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks**, Vet. Microbiol., 158. 376-383, 2012.
- Szabó, R., Magyar, T.: **A baromfi *Ornithobacterium rhinotracheale* okozta megbetegedése**, Magy. Áll. Lapja, 10. 589-597, 2014.
- Talan, D. A., Citron, D. M., Abrahamian, F. M., Moran, G. J., Goldstein, E. J. C.: **Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites**, New England Journal of Medicine, 340. 85-92, 1999.
- Townsend, K. M., Dawkins, H. J., Papadimitriou, J. M.: **REP-PCR analysis of *Pasteurella multocida* isolates that cause haemorrhagic septicaemia**, Res. Vet. Sci., 63. 151-155, 1997.
- Tsai, H. J., Liu, Y. T., Tseng, C. S., Pan, M. J.: **Genetic variation of the *OmpA* and 16S rRNA genes of *Riemerella anatipestifer***, Avian Pathol., 34. 55-64, 2005.
- Tu, J., Lu, F., Miao, S., Ni, X., Jiang, P., Yu, H., Xing, L., Yu, S., Ding, C., Hu, Q.: **The siderophore-interacting protein is involved in iron acquisition and virulence of *Riemerella anatipestifer* strain CH3**, Vet. Microbiol., 168. 395-402, 2014.

- Turbahn, A., De Jackel, S. C., Greuel, E., De Jong, A., Froyman, R., Kaleta, E. F.: **Dose response study of enrofloxacin against *Riemerella anatipestifer* septicaemia in Muscovy and Pekin ducklings**, Avian Pathol., 26. 791-802, 1997.
- Vandamme, P., Segers, P., Vancanneyt, M., Van Hove, K., Muters, R., Hommez, J., Dewhirst, F., Paster, B., Kersters, K., Falsen, E., Devriese, L. A., Bisgaard, M., Hinz, K-H., Mannheim, W.: ***Ornithobacterium rhinotracheale* gen. nov., sp. nov., isolated from the avian respiratory tract**, Int. J. Syst. Bacteriol., 44. 24-37, 1994.
- Vandamme, P., Vancanneyt, M., Segers, P., Ryll, M., Kohler, B., Ludwig, W. & Hinz, K. H.: ***Coenonia anatina* gen. nov., sp. nov., a novel bacterium associated with respiratory disease in ducks and geese**, Int. J. Syst. Bacteriol., 49. 867-874, 1999.
- Varga, J., Rusvai, M., Fodor, L.: **A madarak anatipestifer betegsége**. In: *A háziállatok fertőző betegségei*. Szerk.: Varga, J., Rusvai, M., Fodor, L.: Budapest: MÁOK Kft, 2018. p. 172-175.
- Varga, J.: **Bakteriológia**. In: *Állatorvosi járványtan I. (Állatorvosi mikrobiológia)*. Szerk.: Medveczky I., Rusvai, M., Tuboly, S., Varga J.: Budapest, Mezőgazda Kiadó, 1998. p. 162-165.
- Versalovich, J., Koeuth, T., Lupski, J. R.: **Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes**, Nucleic Acid Res., 19. 6823-6831, 1991.
- Wang, M., Zhang, P., Zhu, D., Wang, M., Jia, R., Chen, S., Sun, K., Yang, Q., Wu, Y., Chen, X., Biville, F., Cheng, A., Liu, M.: **Identification of the ferric iron utilization gene B739_1208 and its role in the virulence of *R. anatipestifer* CH-1**, Vet. Microbiol., 201. 162-169, 2017.
- Wang, X., Liu, W., Zhu, D., Yang, L., Liu, M., Yin, S., Wang, M., Jia, R., Chen, S., Sun, K., Cheng, A., Chen, X.: **Comparative genomics of *Riemerella anatipestifer* reveals genetic diversity**, BMC Genomics, 15. 479-579, 2014.
- Weng, S. C., Lin, W. H., Chang, Y. F., Chang, C. F.: **Identification of a virulence-associated protein homolog gene and ISRa1 in a plasmid of *Riemerella anatipestifer***, FEMS Microbiol. Letters, 179. 11-19, 1999.
- Wobeser, G., Ward, G. E.: ***Pasteurella anatipestifer* infection in migrating whistling swans**, Journal of Wildlife Diseases, 10. 466-470, 1974.
- Yang, F. F., Sun, Y. N., Li, J. X., Wang, H., Zhao, M. J., Su, J., Zhang, Z. J., Liu, H. J., Jiang, S. J.: Letter to the editor: **Detection of aminoglycoside resistance genes in *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks**, Vet. Microbiol., 158. 451-452, 2012.

- Yi, H., Yuan, B., Liu, J., Zhu, D., Wu, Y., Wang, M., Jia, R., Sun, K., Yang, Q., Chen, S., Liu, M., Chen, X., Chen, A.: **Identification of a *wza*-like gene involved in capsule biosynthesis, pathogenicity and biofilm formation in *Riemerella anatipestifer***, *Microbial Pathogenesis*, 107. 442-450, 2017.
- Yu, C.-Y., Liu, Y.-W., Chou, S.-J., Chao, M.-R., Weng, B.-C., Tsay J.-G., Chiu, C.-H., Wu, C. C., Lin, T. L., Chang C.-C., Chu, C.: **Genomic diversity and molecular differentiation of *Riemerella anatipestifer* associated with eight outbreaks in five farms**, *Avian Pathol.*, 37. 273-279, 2008.
- Zehr, W. J., Ostendorf, J.: **Case report: *Pasteurella anatipestifer* in turkeys**, *Avian Dis.*, 14. 557-560, 1970.
- Zhai, Z., Cheng, L., Tang, F., Lu, Y., Shao, J., Liu, G., Bao, Y., Chen, M., Shang, K., Fan, H., Yao, H., Lu, C., Zhang, W.: **Immunoproteomic identification of 11 novel immunoreactive proteins of *Riemerella anatipestifer* serotypes 2**, *FEMS Immunol and Medical Microbiol.*, 65. 84-95, 2012.
- Zhai, Z., Li, X., Xiao, X., Yu, J., Chen, M., Yu, Y., Wu, G., Li, Y., Ye, L., Yao, H., Lu, C., Zhang, W.: **Immunoproteomics selection of cross-protective vaccine candidates from *Riemerella anatipestifer* serotypes 1 and 2**, *Vet. Microbiol.*, 162. 850-857, 2013.
- Zhang, D. B., Guo, Y. P.: **Cross reactions between serotype 2 and 17 of *Riemerella anatipestifer***, *Chinese journal of Preventive Veterinary Medicine*, 3, 2002b.
- Zhang, D. B., Guo, Y. P.: **Cross reactions between serotype 6, 12 and 16 of *Riemerella anatipestifer***, *Chinese Journal of Veterinary Science*, 6, 2002a.
- Zhang, X., Jiang, S., Wu, J., Zhao, Q., Sun, Y., Kong, Y., Li, X., Yao, M., Chai, T.: **An investigation of duck circovirus and co-infection in Cherry Valley ducks in Shandong Province, China**, *Vet. Microbiol.*, 133. 252-256, 2009.
- Zhao, X., Liu, Q., Zhang, J., Luo, Y., Luo, Y., Liu, Q., Li, P., Kong, Q.: **Identification of a gene in *Riemerella anatipestifer* CH-1 (B739-2187) that contributes to resistance to polymyxin B and evaluation of its mutant as a live attenuated vaccine**, *Microbial Pathogenesis*, 91. 99-106, 2016.
- Zheng, F., Chen, Q., Gong, X., Liu, Y.: **Comparison of antibiotic resistances of the bacteria harboring and not carrying integrons**, *J. An. Vet. Adv.*, 14. 69-74, 2015.
- Zheng, F., Kin, G., Zhong, J., Cao, X., Gong, X., Wang, G., Qiu, C.: **Discovery and characterization of gene cassettes-containing integrons in clinical strains of *Riemerella anatipestifer***, *Veterinary Microbiol.*, 156. 434-438, 2012.

- Zhong, C. Y., Cheng, A. C., Wang, M. S., Zhu, D. K., Luo, Q. H., Zhong, C. D., Li, L., Duan, Z.: **Antibiotic susceptibility of *Riemerella anatipestifer* field isolates**, Avian Dis., 53. 601-607, 2009a.
- Zhong, C. Y., Cheng, A. C., Wang, M. S., Zhu, D. K., Zhang, S. H., Luo, Q. H., Chen, X. Y.: **Study on the mechanism of resistance of *Riemerella anatipestifer* to β -lactam antibiotics**, Chinese Veterinary Science 39. 1066-1073, 2009b.
- Zou, J., Wang, X., Ding, C., Tian, M., Han, X., Wang, S., Yu, S.: **Characterization and cross-protection evaluation of *M949_1603* gene deletion *Riemerella anatipestifer* mutant RA-M1**, Appl. Microbiol. Biotechnol., 99. 10107-10116, 2015b.
- Zou, J., Wang, X., Tian, M., Cao, S., Hou, W., Wang, S., Han, X., Ding, C., Yu, S.: **The *M949_1556* gene plays a role on the bacterial antigenicity and pathogenicity of *Riemerella anatipestifer***, Vet. Microbiol., 177. 193-200, 2015a.

9. A doktori kutatás eredményeiből született közlemények

9.1 Lektorált tudományos folyóiratban megjelent publikációk

Gyuris É., Wehmann E., Magyar T.: **A baromfi *Riemerella anatipestifer* okozta megbetegedése. Irodalmi áttekintés**, Magyar Állatorv. Lapja, 138. 3-14, 2016.

IF: 0,196

Gyuris É., Wehmann E., Czeibert K., Magyar T.: **Antimicrobial susceptibility of *Riemerella anatipestifer* strains isolated from geese and ducks in Hungary**, Acta Vet. Hung. 65. 153-165, 2017.

IF: 1,042

Gyuris É., Nemes Cs., Magyar T.: **Data on the epidemiology and pathology of anatipestifer disease in Hungary (2010-2014)**, Acta Vet. Hung. 66. 350-364, 2018.

IF: 1,042

Magyar T., Gyuris É., Ujvári B., Metzner, M., Wehmann E.: **Genotyping of *Riemerella anatipestifer* by ERIC-PCR and correlation with serotypes**, Avian Pathol. DOI: 10.1080/03079457.2018.1535693.

IF: 2,054

9.2 A doktori kutatás témájához nem kapcsolódó publikációk

Glávits R., Palya V., Ivanics É., Szalay D., Nemes Cs., Gyuris É., Dán Á., Bálint Á., Harrach B.: **Adenovírus okozta légzőszervi betegség (tracheobronchitis) növendék pulykában**, Magyar Állatorv. Lapja, 136. 313-320, 2014.

IF: 0,185

Rónai Zs., Cshivincsik Á., Gyuris É., Rigó D., Dán Á.: ***Mycobacterium avium* subspecies *avium*, „*hominissuis*” és *silvaticum* alfajok jelentősége és magyarországi előfordulása**, Magyar Állatorv. Lapja, 137. 549-556, 2015.

IF: 0,212

Bányai K., Bistyák A. T., Thuma Á., Gyuris É., Ursu K., Marton S., Farkas S. L., Hortobágyi E., Bacsadi Á., Dán Á.: **Neuroinvasive influenza virus A (H5N8) in fattening ducks, Hungary, 2015**, Infect. Genet. Evol. 43. 418-423, 2016.

IF: 2,885

Szabó R., Wehmann E., Makrai L., Nemes Cs., Gyuris É., Thuma Á., Magyar T.:
Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* field isolates from Hungary,
Avian Pathol. 46. 506-514, 2017.

IF: 2,054

9.3 Kutatási témában tartott előadások

Gyuris É., Nemes Cs., Magyar T.: Anatipestifer betegség: hazai tapasztalatok. Derzsy Napok.
Hajdúszoboszló, 2018.06.08.

Gyuris É., Ujvári B., Wehmann E., Nemes Cs., Magyar T.: A *Riemerella anatipestifer* hazai előfordulása, a törzsek jellemzése klasszikus és molekuláris módszerekkel. Fiatal Kutatók Napja. Budapest, 2018.11.14.

9.4 Egyéb témában tartott előadások

Gyuris É., Glávits R., Palya V., Ivanics É., Szalay D., Nemes Cs., Dán Á., Harrach B.:
Adenovírus okozta tracheo-bronchitis pulykákban. Akadémiai Beszámoló. Budapest,
2012.01.17.

Gyuris É., Glávits R., Palya V., Ivanics É., Szalay D., Nemes Cs., Dán Á., Harrach B.:
Adenovírus okozta tracheo-bronchitis pulykákban. Derzsy Napok. Siófok, 2012.06.22.

Gyuris É., Kléh Zs., Dán Á., Bálint Á., Thuma Á.: Libákban polyomavírus okozta járvány 2012-ben, a betegséggel kapcsolatos megfigyelések kacsákban. Akadémiai Beszámoló. Budapest, 2013.01.27.

Gyuris É., Thuma Á.: A pulyka fertőző eredetű légzőszervi kórképeinek elkülönítő kórjelzése. MOÁE Baromfi-egészségügyi Társaság - Őszi Szakülés. Budapest, 2013.11.12.

Gyuris É., Szabó R., Magyar T.: *Ornithobacterium rhinotracheale* okozta megbetegedés pulykákban. MOÁE Baromfi-egészségügyi Társaság - Őszi Szakülés. Budapest, 2014.11.04.

10. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Magyar Tibornak, az MTA ATK Állatorvostudományi Intézete igazgatójának, aki lehetővé tette, hogy az általa vezetett Légzőszervi bakteriológia témacsoportban foglalkozhassam disszertációm témájával. Köszönöm, hogy teret engedett útkeresésemnek és tudásával, tapasztalatával segítette munkámat.

Köszönöm Dr. Abonyi Tamásnak, a NÉBIH-ÁDI igazgatójának, hogy lehetőséget biztosított a kutatás elvégzésére.

Köszönettel tartozom Dr. Glávits Róbertnek, Dr. Ivanics Évának és Dr. Thuma Ákosnak, hogy megismertették velem a baromfidiagnosztikát. Hálával tartozom a szakmai iránymutatásért és hogy kérdéseimmel bármikor fordulhattam hozzájuk.

Köszönöm Dr. Wehmann Enikőnek, hogy megismertette velem a különböző molekuláris biológiai módszereket és segítséget nyújtott a publikációk lektorálásában. Köszönet illeti Dr. Sellyei Boglárkát, Dr. Khayer Bernadettet és Dr. Szabó Rékát, hogy a felmerülő gyakorlati kérdéseimre választ adtak.

Köszönettel tartozom Hegedűs Évának, Schihlgruberné Oryszcsák Katalinnak és Ujvári Barbarának, hogy a molekuláris biológiai módszerek kivitelezésében segítségemre voltak.

Ezúton szeretném megköszönni Dr. Makrai Lászlónak, Dr. Nagy Józsefnek, Dr. Nemes Csabának és Dr. Bistyák Andreának, hogy korábban izolált törzsekkel a törzsgyűjteményt gazdagították.

Köszönöm Markovics Juditnak, Kempa-Tóth Angélának és Képíróné Szabó Ildikónak, hogy a kórbonctani és bakteriológiai mintavételekkor segítségemre voltak.

A szövettani metszetek elkészítéséért Lakosi Szilviának és Ráczné Mészáros Ágnesnek tartozok köszönettel.

Köszönöm a beküldő állatorvos kollégáknak, hogy többek között engem is megtisztelnek bizalmukkal.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm a családomnak és barátaimnak a türelmüket és a támogatásukat.

11. Mellékletek

M1.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek és a velük végzett vizsgálatok jellemzői

Azonosító	Állatfaj	Kor (nap)	Izolálás		Idő	Biokém.	Fajspec-PCR		Plazmid	Kórb.	Hemol.	CO ₂	Rezi.	Szerot.	ERIC
			Szerv	Hely		Kardos	Rubb.								
RA001	lúd	13	máj	Lakitelek	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	x	x
RA002	lúd	30	agykamra	Lakitelek	2010.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA003	lúd	14	máj	Ópusztaszer	2010.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA004	lúd	14	máj	Borota	2010.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA005	lúd	5	máj	Kiskunhalas	2010.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA006	lúd	18	agykamra	Kiskunmajsa	2010.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA007	lúd	18	agykamra	Kiskunmajsa	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	x	x
RA008	lúd	15	agykamra	Lajosmizse	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA009	lúd	13	máj	Kerekegyháza	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA010	lúd	11	máj	Bócsa	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA011	lúd	18	máj	Bócsa	2010.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	x	x
RA012	lúd	28	máj	Tiszaalpár	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA013	lúd	14	máj	Nyárlőrinc	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA014	lúd	18	agykamra	Pusztaszer	2010.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA015	lúd	14	máj	Szank	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA016	lúd	28	agykamra	Tiszaalpár	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	x	x
RA017	lúd	16	máj	Lakitelek	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA018	lúd	119	máj	Kiskunfélegyháza	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA019	lúd	18	máj	Lakitelek	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	x	x
RA020	lúd	24	máj	Tázlár	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA021	lúd	26	agykamra	Csolyospálos	2010.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	1,7	B
RA022	lúd	21	máj	Szank	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	x	x
RA023	lúd	12	máj	Pusztaszer	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	x	x
RA024	lúd	21	agykamra	Petőfiszállás	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA025	lúd	63	tüdő	Bócsa	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	7	C

M1.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek és a velük végzett vizsgálatok jellemzői (folytatás)

Azonosító	Izolálás		Biokém.	Fajspec-PCR		Plazmid	Kórb.	Hemol.	CO ₂	Rezi.	Szerot.	ERIC			
	Állatfaj	Kor (nap)		Szerv	Hely								Idő	Kardos	Rubb.
RA026	lúd	17	máj	Tiszakécske	2010.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA027	lúd	17	agykamra	Kiskunmajsa	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA028	lúd	21	szívburok	Lajosmizse	2011.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA029	lúd	70	légcső	Rém	2011.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	4	E
RA030	lúd	140	légcső	Rém	2011.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	4	H
RA031	lúd	14	agykamra	Nyíradony	2009.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	7	C
RA032	lúd	21	agykamra	Hajdúböszörmény	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA033	lúd	28	°	Tiszakürt	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA034	lúd	42	tüdő	Kiskunmajsa	2011.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA035	kacsa	növendék	agykamra	Mélykút	2010.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA036	lúd	17	°	Öcsöd	2004.	✓	+	+	x	x	-	-	✓	1	O
RA037	lúd	°	°	Bócsa	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	1	A
RA038	lúd	°	°	Kiskunmajsa	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	1	A
RA039	kacsa	°	°	Kerekegyháza	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	1	A
RA040	kacsa	°	°	Kömpöc	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	1	A
RA041	lúd	°	°	Bócsa	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	x	x
RA042	kacsa	°	°	Bócsa	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	x	x
RA043	lúd	°	°	Kiskunfélegyháza	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	1	A
RA044	lúd	°	°	Kiskunmajsa	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	x	x
RA045	lúd	°	°	Petőfiszállás	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	1	A
RA046	°	°	°	Magyarország	1997.	✓	+	+	x	x	-	-	✓	x	x
RA047	lúd	°	°	Bócsa	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	x	x
RA048	lúd	°	°	Bócsa	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	x	x
RA049	lúd	°	°	Kecel	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	7	C
RA050	lúd	°	°	Kiskunmajsa	2006.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	10	K

M1.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek és a velük végzett vizsgálatok jellemzői (folytatás)

Azonosító	Állatfaj	Kor (nap)	Izolálás		Idő	Biokém.	Fajspec-PCR		Plazmid	Kórb.	Hemol.	CO ₂	Rezi.	Szerot.	ERIC
			Szerv	Hely			Kardos	Rubb.							
RA051	lúd	°	°	Tizsakécske	2006.	✓	+	+	x	x	-	-	✓	7	C
RA052	pulyka	°	°	Pusztaberény	2010.	✓	+	+	x	x	-	-	✓	x	x
RA053	pulyka	°	°	Pusztaberény	2010.	✓	+	+	x	x	-	-	✓	x	x
RA054	kacsa	°	°	Németország	1993.	✓	+	+	x	x	-	-	✓	x	x
RA055	kacsa	28	szívburok	Kiskunmajsza	2011.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	2	F
RA056	kacsa	28	szívburok	Szank	2011.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA057	kacsa	35	szívburok	Csolyospálos	2011.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	2	F
RA058	kacsa	21	máj	Kelebia	2011.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA059	kacsa	°	szívburok	Kelebia	2011.	✓	+	+	x	x	-	+	✓	1,7	B
RA060	lúd	21	máj	Bócsa	2011.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA061	lúd	28	agykamra	Jászszentlászló	2011.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA062	lúd	45	szívburok	Bócsa	2011.	✓	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA063	lúd	14	szívburok	Pusztaszer	2011.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA064	lúd	35	máj	Szank	2011.	✓	+	+	✓	✓	-	-	✓	1,7	B
RA067	lúd	21	máj	Csengele	2011.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA068	°	°	°	°	°	x	+	+	x	x	-	-	✓	x	x
RA069	lúd	14	agykamra	Mórahalom	2011.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA070	lúd	24	máj	Lakitelek	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA071	kacsa	28	agykamra	Mélykút	2011.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1,7	B
RA072	lúd	14	szívburok	Pusztaszer	2011.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	7	C
RA073	lúd	42	agykamra	Sükösd	2011.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA074	lúd	61	tüdő	Tiszaalpár	2012.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1,7	B
RA075	lúd	42	szívburok	Kiskunmajsza	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	x	x
RA076	lúd	28	máj	Kiskunmajsza	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA077	lúd	61	máj	Lakitelek	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	7	C

M1.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek és a velük végzett vizsgálatok jellemzői (folytatás)

Azonosító	Izolálás		Biokém.		Fajspec-PCR		Plazmid	Kórb.	Hemol.	CO ₂	Rezi.	Szerot.	ERIC		
	Állatfaj	Kor (nap)	Szerv	Hely	Idő	Kardos								Rubb.	
RA078	lúd	16	szívburok	Lakitelek	2012.	x	+	+	✓	✓	-	+	✓	1,7	B
RA079	lúd	28	agykamra	Kiskunmajsza	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	x	x
RA080	lúd	19	agykamra	Pusztamérges	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA081	lúd	26	szívburok	Kecskemét	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA082	lúd	24	szívburok	Bócsa	2012.	x	+	+	✓	✓	-	+	✓	1	A
RA083	lúd	24	máj	Kerekegyháza	2012.	x	+	+	✓	✓	-	+	✓	17	I
RA084	lúd	19	agykamra	Kiskunfélegyháza	2012.	x	+	+	✓	✓	-	+	✓	1	A
RA085	lúd	28	agykamra	Tiszaalpár	2012.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	M
RA088	lúd	27	szívburok	Bócsa	2012.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	7	C
RA089	lúd	39	pet.vez	Pusztaszer	2012.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA090	lúd	31	szívburok	Bócsa	2012.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1,7	B
RA091	lúd	70	tüdő	Tiszaakécske	2012.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA092	lúd	28	szívburok	Tázlár	2012.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA093	lúd	35	szívburok	Lakitelek	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA096	pulyka	126	koponyacsont	Fonyód	2012.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	x	x
RA098	lúd	24	szívburok	Nagykőrös	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA099	kacsa	21	szívburok	Imrehegy	2011.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA101	lúd	56	légzszak	Fülöpjakab	2011.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1,7	B
RA102	lúd	13	agykamra	Kiskunmajsza	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA103	lúd	24	szívburok	Kiskunmajsza	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	x	x
RA104	lúd	14	agykamra	Kelebia	2012.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	10	J
RA105	lúd	28	agykamra	Kelebia	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	0	A
RA106	lúd	35	máj	Rém	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA107	lúd	23	szívburok	Tiszaalpár	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA108	lúd	°	°	Dél-Alföld	2000.	x	+	+	x	x	-	-	✓	2	N

M1.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek és a velük végzett vizsgálatok jellemzői (folytatás)

Azonosító	Állatfaj	Kor (nap)	Izolálás		Idő	Biokém.	Fajspec-PCR		Plazmid	Kórb.	Hemol.	CO ₂	Rezi.	Szerot.	ERIC
			Szerv	Hely			Kardos	Rubb.							
RA109	lúd	°	°	Dél-Alföld	2000.	x	+	+	x	x	+	-	✓	1	G
RA110	lúd	°	°	Dél-Alföld	2000.	x	+	+	x	x	+	-	✓	x	x
RA111	lúd	°	°	Dél-Alföld	2000.	x	+	+	x	x	-	-	✓	4	P
RA112	lúd	°	°	Dél-Alföld	2000.	x	+	+	x	x	-	+	✓	1	L
RA113	lúd	16	agykamra	Kömpöc	2012.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA114	lúd	°	°	Dél-Alföld	2000.	x	+	+	x	x	-	-	✓	4	E
RA115	lúd	13	agykamra	Kiskunmajsa	2012.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA116	lúd	23	máj	Kerekegyháza	2012.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA117	lúd	13	máj	Bócsa	2012.	x	+	+	✓	✓	-	+	✓	1	A
RA118	lúd	16	szívburok	Kiskunmajsa	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	x	x
RA119	kacsa	31	pet.vez	Kiskunmajsa	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA120	lúd	31	máj	Jászszentlászló	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA121	lúd	25	agykamra	Kunszentmárton	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA122	lúd	31	agykamra	Lakitelek	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	D
RA123	lúd	14	szívburok	Csengele	2013.	x	+	+	✓	✓	-	+	✓	1,7	B
RA124	lúd	19	agykamra	Kiskunfélegyháza	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA125	lúd	25	agykamra	Lakitelek	2013.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA126	lúd	28	agykamra	Lakitelek	2013.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA127	lúd	28	máj	Lakitelek	2013.	x	+	+	x	✓	+	-	✓	1	A
RA128	lúd	21	szívburok	Jászszentlászló	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA129	kacsa	24	agykamra	Tiszakürt	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA130	kacsa	21	szívburok	Kisszállás	2013.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	D
RA131	kacsa	38	szívburok	Tompa	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA132	kacsa	28	máj	Kelebia	2013.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1,7	B
RA133	lúd	26	agykamra	Nagykőrös	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A

M1.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek és a velük végzett vizsgálatok jellemzői (folytatás)

Azonosító	Izolálás		Biokém.	Fajspec-PCR		Plazmid	Kórb.	Hemol.	CO ₂	Rezi.	Szerot.	ERIC			
	Állatfaj	Kor (nap)		Szerv	Hely								Idő	Kardos	Rubb.
RA134	kacsa	28	szívburok	Bócsa	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA135	lúd	17	agykamra	Szank	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA136	lúd	21	szívburok	Szank	2013.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	x	x
RA138	lúd	21	agykamra	Öcsöd	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA139	lúd	21	máj	Kiskunmajsa	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA140	lúd	17	máj	Nyárlőrinc	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA141	kacsa	20	agykamra	Zsombó	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA144	lúd	°	°	Dél-Alföld	2000.	x	+	+	x	x	-	-	✓	2	N
RA146	lúd	°	°	Dél-Alföld	2000.	x	+	+	x	x	-	-	✓	4	Q
RA147	lúd	17	máj	Fülöpháza	2011.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA148	kacsa	21	agykamra	Bócsa	2013.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA149	lúd	16	agykamra	Bócsa	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA150	lúd	22	máj	Kecskemét	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA151	lúd	21	agykamra	Lakitelek	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA153	lúd	21	agykamra	Jászfákóhalma	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA154	kacsa	21	szívburok	Bócsa	2012.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA156	lúd	21	máj	Lakitelek	2011.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1,7	B
RA158	lúd	24	°	Nyíradony	2011.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA167	lúd	25	agykamra	Bugac	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA168	lúd	18	tüdő	Kömpöc	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA169	kacsa	27	agykamra	Csolyospálos	2013.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA170	lúd	21	agykamra	Csolyospálos	2013.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA171	lúd	18	agykamra	Lakitelek	2013.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	x	x
RA172	lúd	17	szívburok	Kömpöc	2013.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA173	lúd	28	szívburok	Kunszentmárton	2013.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A

M1.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek és a velük végzett vizsgálatok jellemzői (folytatás)

Azonosító	Állatfaj	Kor (nap)	Izolálás		Idő	Biokém.	Fajspec-PCR	Plazmid	Kórb.	Hemol.	CO ₂	Rezi.	Szerot.	ERIC	
			Szerv	Hely		Kardos	Rubb.								
RA174	lúd	26	tüdő	Kiskunmajsa	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA175	lúd	21	agykamra	Kunszentmárton	2013.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA176	lúd	26	szívburok	Szank	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA177	lúd	63	agykamra	Bugac	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA178	lúd	24	agykamra	Kiskunhalas	2014.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA179	kacsa	44	agykamra	Hajdúböszörmény	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA180	kacsa	42	szívburok	Kecel	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	18	I
RA181	lúd	28	agykamra	Jászszentlászló	2013.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA182	°	°	°	°	°	x	+	+	x	x	-	-	✓	x	x
RA183	°	°	°	°	°	x	+	+	x	x	+	-	✓	x	x
RA184	°	°	°	°	°	x	+	+	x	x	-	-	✓	x	x
RA185	°	°	°	°	°	x	+	+	x	x	-	-	✓	x	x
RA203	kacsa	31	agykamra	Csengele	2014.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA204	lúd	28	agykamra	Kiskunmajsa	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA205	lúd	10	agykamra	Nagykőrös	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA206	lúd	35	agykamra	Nagykőrös	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA207	lúd	17	agykamra	Helvécia	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA208	lúd	14	szívburok	Kiskunfélegyháza	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1,7	B
RA209	lúd	24	agykamra	Bócsa	2014.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA210	lúd	18	máj	Fábiánsebestyén	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA211	kacsa	42	pet.vez	Forráskút	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA212	lúd	17	máj	Bugac	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA213	lúd	21	agykamra	Nagykőrös	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA214	lúd	10	agykamra	Bugac	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA215	lúd	34	agykamra	Csolyospálos	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A

M1.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek és a velük végzett vizsgálatok jellemzői (folytatás)

Azonosító	Állatfaj		Izolálás		Idő	Biokém.		Fajspec-PCR	Plazmid	Kórb.	Hemol.	CO ₂	Rezi.	Szerot.	ERIC
	Állatfaj	Kor (nap)	Szerv	Hely		Kardos	Rubb.								
RA216	lúd	31	tüdő	Fülöpjakab	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA217	lúd	17	máj	Nyárlőrinc	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA218	lúd	26	agykamra	Kömpöc	2014.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	x	x
RA219	lúd	21	agykamra	Lajosmizse	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA220	lúd	11	szívburok	Fülöpháza	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA221	lúd	15	szívburok	Bócsa	2014.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	1	A
RA222	lúd	17	agykamra	Orosháza	2014.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	2	F
RA223	lúd	70	máj	Lajosmizse	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	2	F
RA224	lúd	42	agykamra	Kiskunfélegyháza	2014.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	2	F
RA225	lúd	21	pet.vez	Lakitelek	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1,7	B
RA226	lúd	35	szívburok	Magyarcsanád	2014.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	2	F
RA227	lúd	39	szívburok	Magyarbánhegyes	2014.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	2	F
RA228	lúd	13	agykamra	Bugac	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	2	F
RA229	lúd	24	agykamra	Szank	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA230	kacsa	28	agykamra	Kerekegyháza	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	2	F
RA231	kacsa	21	agykamra	Kerekegyháza	2014.	x	+	+	✓	✓	-	+	✓	2	F
RA232	lúd	38	szívburok	Szank	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	1	A
RA233	lúd	14	szívburok	Nagykőrös	2014.	x	+	+	✓	✓	-	-	✓	7	C
RA235	lúd	11	agykamra	Kiskunmajsza	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	x	x
RA236	lúd	21	agykamra	Kiskunmajsza	2014.	x	+	+	x	✓	-	-	✓	1	A
RA237	kacsa	21	kötőhártya	Rém	2015.	x	+	+	x	✓	-	+	✓	13	I
RA238	lúd	°	légcső	Hajdúböszörmény	2017.	x	+	+	x	x	-	-	x	4	P

°: nincs ismert adat; +: pozitív eredmény; -: negatív eredmény; ✓ : a vizsgálatot elvégeztük az adott törzssel; x: a vizsgálatot nem végeztük el az adott törzssel

M2.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum rezisztencia vizsgálatának milliméter pontosságban megadott eredményei

jelölés	P10	AMP10/AM10	CN10	S10	SPT100	ENR5	FLM30	TE30	DO30	E15	S3300	SXT25	FFC30
É	≥ 24	≥ 24	≥ 15	≥ 15	≥ 17	≥ 23	≥ 24	≥ 23	≥ 23	≥ 23	≥ 17	≥ 16	≥ 19
M			13-14	12-14	16	17-22	20-23			14-22	13-16	11-15	15-18
R	≤ 23	≤ 23	≤ 12	≤ 11	≤ 15	≤ 16	≤ 19	≤ 22	≤ 22	≤ 13	≤ 12	≤ 10	≤ 14
RA001	26	26	0	0	18	18	12	17	25	23	17	22	25
RA002	25	24	0	0	16	16	6	16	24	13	17	32	20
RA003	25	25	0	0	20	16	6	13	23	6	22	36	39
RA004	25	26	8	0	18	16	6	15	23	6	20	36	40
RA005	24	24	12	6	25	16	6	13	24	8	18	33	38
RA006	24	24	6	0	19	16	6	15	23	6	17	34	35
RA007	24	25	0	0	20	18	6	17	25	6	22	32	38
RA008	23	24	0	0	16	19	6	15	23	6	15	29	36
RA009	29	28	0	0	19	20	6	19	26	6	6	40	43
RA010	20	21	10	8	30	14	9	15	24	6	6	30	33
RA011	24	25	0	0	18	16	8	16	23	12	18	40	43
RA012	25	24	0	0	16	17	6	11	23	6	21	36	30
RA013	23	22	6	0	16	19	6	15	24	6	15	32	40
RA014	23	25	9	0	20	16	10	17	25	8	6	25	42
RA015	22	23	8	0	24	13	6	15	24	6	6	34	40
RA016	22	21	10	6	16	16	6	12	24	10	6	34	38
RA017	23	22	0	0	16	18	6	13	23	12	23	32	40
RA018	26	25	0	0	19	18	11	17	26	13	17	34	40
RA019	27	28	0	0	21	20	6	15	26	6	22	32	36
RA020	26	26	8	0	19	19	6	15	26	8	26	25	40
RA021	29	28	8	6	16	16	6	11	25	18	20	38	43
RA022	20	21	12	9	16	13	6	11	23	6	6	18	34
RA023	27	26	0	0	18	16	6	24	24	12	6	35	35

M2.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum rezisztencia vizsgálatának milliméter pontosságban megadott eredményei

jelölés	P10	AMP10/AM10	CN10	S10	SPT100	ENR5	FLM30	TE30	DO30	E15	S3300	SXT25	FFC30
É	≥ 24	≥ 24	≥ 15	≥ 15	≥ 17	≥ 23	≥ 24	≥ 23	≥ 23	≥ 23	≥ 17	≥ 16	≥ 19
M			13-14	12-14	16	17-22	20-23			14-22	13-16	11-15	15-18
R	≤ 23	≤ 23	≤ 12	≤ 11	≤ 15	≤ 16	≤ 19	≤ 22	≤ 22	≤ 13	≤ 12	≤ 10	≤ 14
RA024	32	30	8	0	24	23	15	16	24	26	24	38	46
RA025	40	32	13	16	28	26	12	30	31	32	17	32	39
RA026	22	23	0	0	19	16	6	20	23	13	20	36	40
RA027	27	28	0	0	18	23	6	13	24	6	26	37	38
RA028	31	29	0	0	18	21	6	15	25	20	20	38	41
RA029	28	26	14	17	18	20	14	16	17	28	16	14	26
RA030	30	28	14	18	22	22	12	18	20	30	22	28	32
RA031	34	30	20	22	20	22	16	24	21	30	16	24	35
RA032	28	25	13	11	20	14	12	15	16	0	20	26	34
RA033	34	34	14	12	22	15	12	14	16	0	14	26	33
RA034	25	27	0	0	23	15	9	13	28	6	17	32	34
RA035	32	30	14	13	23	17	15	17	19	0	12	20	30
RA036	42	32	10	16	34	20	20	23	23	22	11	0	45
RA037	34	32	20	16	28	18	20	18	20	0	24	24	35
RA038	40	30	28	22	35	20	14	19	22	0	28	32	40
RA039	33	27	24	21	33	18	15	18	20	0	28	28	35
RA040	36	26	22	20	30	18	12	18	20	0	28	22	40
RA041	34	30	20	18	32	20	15	18	18	0	28	28	40
RA042	32	30	24	22	34	18	14	18	18	0	28	26	40
RA043	30	26	22	18	30	15	8	16	18	0	22	20	42
RA044	36	32	24	18	30	18	14	18	17	0	28	24	42
RA045	35	32	25	18	28	18	18	20	20	0	30	26	40
RA046	40	35	18	20	22	30	30	24	24	28	22	30	32

M2.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum rezisztencia vizsgálatának milliméter pontosságban megadott eredményei

jelölés	P10	AMP10/AM10	CN10	S10	SPT100	ENR5	FLM30	TE30	DO30	E15	S3300	SXT25	FFC30
É	≥ 24	≥ 24	≥ 15	≥ 15	≥ 17	≥ 23	≥ 24	≥ 23	≥ 23	≥ 23	≥ 17	≥ 16	≥ 19
M			13-14	12-14	16	17-22	20-23			14-22	13-16	11-15	15-18
R	≤ 23	≤ 23	≤ 12	≤ 11	≤ 15	≤ 16	≤ 19	≤ 22	≤ 22	≤ 13	≤ 12	≤ 10	≤ 14
RA047	32	30	26	18	30	20	18	18	20	8	28	30	40
RA048	28	27	14	12	22	15	10	14	16	0	15	26	30
RA049	40	32	15	21	22	22	16	25	26	30	16	28	34
RA050	30	24	14	11	24	30	26	13	16	28	13	0	30
RA051	42	30	16	24	24	23	8	26	25	28	16	30	34
RA052	30	26	12	12	22	18	0	14	16	0	12	0	32
RA053	28	26	13	10	20	18	0	14	16	0	15	22	30
RA054	28	25	15	8	21	18	0	16	18	0	14	18	32
RA055	40	38	0	0	19	19	10	23	24	33	44	42	42
RA056	27	25	0	0	21	16	14	19	25	6	19	32	42
RA057	35	32	0	0	18	14	24	44	22	25	18	36	30
RA058	28	30	0	0	19	16	12	19	26	16	24	40	40
RA059	30	26	17	14	22	20	0	14	18	0	16	20	34
RA060	20	20	0	0	20	6	12	11	19	6	12	22	14
RA061	30	27	0	0	18	15	6	20	28	6	17	30	38
RA062	32	30	0	0	20	19	24	17	19	20	15	36	40
RA063	27	28	0	0	20	16	13	19	27	12	18	34	36
RA064	26	28	0	0	19	18	10	18	26	6	20	36	37
RA067	32	30	16	12	24	18	12	16	18	0	0	40	42
RA068	28	24	14	12	22	30	30	14	16	0	12	16	32
RA069	26	25	0	0	19	19	6	21	24	16	18	30	42
RA070	30	32	17	6	24	20	6	18	18	6	23	35	36
RA071	28	26	0	0	18	18	16	20	28	6	26	35	37

M2.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum rezisztencia vizsgálatának milliméter pontosságban megadott eredményei

jelölés	P10	AMP10/AM10	CN10	S10	SPT100	ENR5	FLM30	TE30	DO30	E15	S3300	SXT25	FFC30
É	≥ 24	≥ 24	≥ 15	≥ 15	≥ 17	≥ 23	≥ 24	≥ 23	≥ 23	≥ 23	≥ 17	≥ 16	≥ 19
M			13-14	12-14	16	17-22	20-23			14-22	13-16	11-15	15-18
R	≤ 23	≤ 23	≤ 12	≤ 11	≤ 15	≤ 16	≤ 19	≤ 22	≤ 22	≤ 13	≤ 12	≤ 10	≤ 14
RA072	40	40	11	17	23	26	10	42	36	40	26	38	40
RA073	28	25	0	0	20	16	14	22	24	10	22	36	36
RA074	31	25	17	6	27	22	12	19	23	6	24	40	22
RA075	24	26	13	6	25	27	10	19	20	6	20	38	39
RA076	34	34	16	6	28	23	12	18	20	6	20	42	40
RA077	35	32	40	10	6	15	6	6	12	6	6	18	10
RA078	36	34	22	6	28	22	18	22	24	22	32	42	23
RA079	34	32	18	0	26	20	16	22	25	14	24	44	20
RA080	31	30	16	0	27	18	0	18	21	0	19	30	25
RA081	25	27	15	0	25	16	12	17	22	0	20	32	32
RA082	28	28	20	8	30	38	32	22	26	38	28	38	20
RA083	38	32	21	0	0	26	0	20	24	38	36	26	40
RA084	27	27	12	0	23	16	0	18	22	0	20	26	38
RA085	26	27	12	0	22	18	0	15	17	0	16	28	34
RA088	33	33	16	16	26	23	27	13	16	13	9	21	30
RA089	27	24	14	0	20	18	0	18	21	0	15	28	35
RA090	26	28	16	0	19	19	0	16	18	0	21	31	35
RA091	24	28	11	0	0	15	0	15	18	0	18	28	35
RA092	18	32	14	0	22	19	11	18	20	12	0	36	40
RA093	28	27	14	0	21	19	12	20	23	10	22	38	38
RA096	24	26	16	14	20	18	0	14	16	0	20	18	28
RA098	28	24	15	6	23	20	7	17	18	11	18	35	35
RA099	30	32	0	0	18	16	15	21	24	13	20	38	44

M2.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum rezisztencia vizsgálatának milliméter pontosságban megadott eredményei

jelölés	P10	AMP10/AM10	CN10	S10	SPT100	ENR5	FLM30	TE30	DO30	E15	S3300	SXT25	FFC30
É	≥ 24	≥ 24	≥ 15	≥ 15	≥ 17	≥ 23	≥ 24	≥ 23	≥ 23	≥ 23	≥ 17	≥ 16	≥ 19
M			13-14	12-14	16	17-22	20-23			14-22	13-16	11-15	15-18
R	≤ 23	≤ 23	≤ 12	≤ 11	≤ 15	≤ 16	≤ 19	≤ 22	≤ 22	≤ 13	≤ 12	≤ 10	≤ 14
RA101	18	19	0	0	17	21	14	23	24	6	25	42	40
RA102	26	31	17	6	26	17	10	21	19	13	21	34	40
RA103	31	30	16	6	27	19	8	17	20	6	21	34	44
RA104	48	40	20	17	27	24	15	20	23	36	18	32	40
RA105	30	28	20	0	26	19	13	19	23	10	26	40	40
RA106	30	27	15	0	27	17	0	20	23	8	18	35	36
RA107	26	27	14	0	20	19	7	16	20	0	18	34	32
RA108	27	28	0	12	22	22	0	13	14	30	26	20	30
RA109	28	24	10	16	22	20	12	16	18	28	0	26	32
RA110	30	26	14	15	22	22	14	18	20	28	10	18	32
RA111	26	26	10	18	24	22	8	14	15	30	8	0	32
RA112	30	26	8	12	24	12	0	12	0	14	10	20	28
RA113	32	28	18	10	24	20	11	16	18	0	22	34	38
RA114	30	26	14	18	22	14	16	14	16	28	14	14	33
RA115	30	25	16	13	23	18	15	18	21	8	22	36	36
RA116	29	27	13	0	0	18	10	16	18	0	20	31	32
RA117	24	26	10	0	0	17	9	17	21	0	20	36	34
RA118	22	25	12	0	19	16	8	12	15	0	18	31	33
RA119	33	36	17	0	24	25	13	19	21	20	26	35	40
RA120	27	25	14	10	32	19	15	20	22	13	22	32	38
RA121	31	27	0	0	20	17	12	14	16	10	17	28	40
RA122	25	26	13	6	26	21	17	17	24	6	20	27	38
RA123	26	25	12	6	0	17	12	18	20	6	26	36	30

M2.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum rezisztencia vizsgálatának milliméter pontosságban megadott eredményei

jelölés	P10	AMP10/AM10	CN10	S10	SPT100	ENR5	FLM30	TE30	DO30	E15	S3300	SXT25	FFC30
É	≥ 24	≥ 24	≥ 15	≥ 15	≥ 17	≥ 23	≥ 24	≥ 23	≥ 23	≥ 23	≥ 17	≥ 16	≥ 19
M			13-14	12-14	16	17-22	20-23			14-22	13-16	11-15	15-18
R	≤ 23	≤ 23	≤ 12	≤ 11	≤ 15	≤ 16	≤ 19	≤ 22	≤ 22	≤ 13	≤ 12	≤ 10	≤ 14
RA124	32	28	13	6	28	22	12	17	20	0	20	24	38
RA125	29	31	16	9	29	21	9	20	21	6	18	25	30
RA126	27	25	14	6	0	12	0	13	17	12	23	37	32
RA127	35	30	20	10	32	22	12	17	23	0	20	31	28
RA128	26	24	10	6	6	24	16	12	17	8	10	32	36
RA129	29	32	12	6	28	30	17	14	18	0	19	28	32
RA130	31	32	0	0	16	14	0	19	20	10	11	4	30
RA131	26	28	0	0	18	19	13	12	24	12	21	33	30
RA132	25	26	8	0	19	22	12	16	16	0	22	29	40
RA133	35	32	12	0	0	17	6	14	19	13	6	22	42
RA134	31	34	17	9	30	21	14	20	21	11	20	30	28
RA135	34	31	13	8	6	20	15	17	19	0	18	26	34
RA136	26	25	13	6	26	16	4	21	22	0	0	23	34
RA138	33	30	25	11	32	22	16	20	21	11	27	40	30
RA139	27	26	0	0	22	20	15	14	16	8	15	29	30
RA140	28	25	0	0	18	18	9	18	19	9	14	25	32
RA141	26	24	26	14	32	21	8	16	17	0	24	36	38
RA144	25	25	0	12	22	22	0	11	13	26	18	18	32
RA146	34	36	10	13	28	22	0	22	24	33	0	18	32
RA147	28	30	0	0	19	19	6	21	24	12	22	34	38
RA148	30	26	16	18	35	22	10	19	20	8	16	28	14
RA149	26	26	14	6	26	20	10	17	18	0	19	33	42
RA150	27	28	0	0	21	19	12	15	17	9	26	32	44

M2.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum rezisztencia vizsgálatának milliméter pontosságban megadott eredményei

jelölés	P10	AMP10/AM10	CN10	S10	SPT100	ENR5	FLM30	TE30	DO30	E15	S3300	SXT25	FFC30
É	≥ 24	≥ 24	≥ 15	≥ 15	≥ 17	≥ 23	≥ 24	≥ 23	≥ 23	≥ 23	≥ 17	≥ 16	≥ 19
M			13-14	12-14	16	17-22	20-23			14-22	13-16	11-15	15-18
R	≤ 23	≤ 23	≤ 12	≤ 11	≤ 15	≤ 16	≤ 19	≤ 22	≤ 22	≤ 13	≤ 12	≤ 10	≤ 14
RA151	32	35	0	0	22	17	7	21	24	0	6	24	26
RA153	30	31	13	12	22	15	6	15	16	6	18	30	42
RA154	31	30	23	9	26	16	11	19	23	20	0	16	36
RA156	38	36	0	0	18	24	16	26	24	6	30	42	42
RA158	35	25	0	0	22	17	13	22	24	0	8	18	40
RA167	26	27	12	7	29	21	15	20	21	11	22	36	40
RA168	29	26	8	0	18	17	13	17	24	12	20	38	39
RA169	30	32	28	24	35	30	26	26	28	28	24	40	44
RA170	34	34	10	6	25	16	8	24	27	0	11	14	17
RA171	34	30	18	16	27	22	12	18	24	16	27	42	40
RA172	40	35	0	0	19	18	15	20	21	13	13	25	38
RA173	32	30	0	0	18	17	12	16	19	0	8	22	40
RA174	30	29	22	14	27	26	18	21	22	8	25	32	34
RA175	26	25	4	0	21	20	12	17	21	6	19	30	35
RA176	29	27	26	22	34	22	10	15	23	0	17	29	43
RA177	28	31	17	13	24	21	17	19	20	20	24	36	40
RA178	38	36	15	16	28	21	15	14	24	8	11	0	36
RA179	25	26	21	20	32	22	15	20	21	12	23	42	41
RA180	29	30	8	0	24	15	5	18	19	11	0	12	37
RA181	32	34	10	12	23	14	3	26	28	12	9	4	25
RA182	34	24	0	0	22	16	8	22	25	0	8	9	44
RA183	26	29	0	0	19	13	10	20	23	0	0	16	36
RA184	38	37	0	0	18	21	0	22	27	26	0	0	34

M2.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum rezisztencia vizsgálatának milliméter pontosságban megadott eredményei

jelölés	P10	AMP10/AM10	CN10	S10	SPT100	ENR5	FLM30	TE30	DO30	E15	S3300	SXT25	FFC30
É	≥ 24	≥ 24	≥ 15	≥ 15	≥ 17	≥ 23	≥ 24	≥ 23	≥ 23	≥ 23	≥ 17	≥ 16	≥ 19
M			13-14	12-14	16	17-22	20-23			14-22	13-16	11-15	15-18
R	≤ 23	≤ 23	≤ 12	≤ 11	≤ 15	≤ 16	≤ 19	≤ 22	≤ 22	≤ 13	≤ 12	≤ 10	≤ 14
RA185	28	30	0	0	12	18	0	20	25	0	0	0	35
RA203	27	25	18	16	29	14	4	19	21	10	15	26	30
RA204	32	31	10	6	28	15	6	16	19	6	6	30	44
RA205	40	26	10	6	27	22	11	15	17	6	6	24	36
RA206	28	30	8	0	16	13	6	12	16	0	8	29	40
RA207	31	35	0	0	19	17	6	15	19	0	4	23	34
RA208	34	33	0	0	18	18	8	19	20	13	0	16	38
RA209	32	30	17	12	25	20	15	15	18	9	0	11	45
RA210	27	26	0	0	20	19	13	14	17	0	14	32	37
RA211	33	30	5	0	16	13	0	14	17	0	11	27	26
RA212	36	34	12	5	24	22	12	19	16	6	16	36	40
RA213	28	25	22	14	27	21	11	20	22	6	18	33	39
RA214	40	35	0	0	16	18		14	15	8	0	22	30
RA215	30	28	0	0	18	17	0	16	20	0	25	33	42
RA216	42	34	0	0	0	17	0	20	25	6	11	28	36
RA217	28	26	11	5	24	21	16	17	24	0	6	24	33
RA218	26	28	24	22	34	22	18	19	24	12	28	40	40
RA219	40	37	8	0	27	21	14	16	18	10	9	25	36
RA220	27	26	10	6	30	22	10	18	21	10	11	31	38
RA221	30	29	13	12	23	19	15	14	16	0	14	26	32
RA222	31	26	0	0	17	23	16	20	22	30	0	16	34
RA223	38	38	0	0	20	25	14	19	21	26	5	29	35
RA224	35	37	12	6	28	32	19	14	19	31	13	15	33

M2.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek antibiotikum rezisztencia vizsgálatának milliméter pontosságban megadott eredményei

jelölés	P10	AMP10/AM10	CN10	S10	SPT100	ENR5	FLM30	TE30	DO30	E15	S3300	SXT25	FFC30
É	≥ 24	≥ 24	≥ 15	≥ 15	≥ 17	≥ 23	≥ 24	≥ 23	≥ 23	≥ 23	≥ 17	≥ 16	≥ 19
M			13-14	12-14	16	17-22	20-23			14-22	13-16	11-15	15-18
R	≤ 23	≤ 23	≤ 12	≤ 11	≤ 15	≤ 16	≤ 19	≤ 22	≤ 22	≤ 13	≤ 12	≤ 10	≤ 14
RA225	26	28	6	0	19	18		20	18	12	15	32	20
RA226	34	32	0	0	20	16	6	14	17	15	14	29	24
RA227	25	25	0	0	23	26	18	15	16	27	15	30	39
RA228	28	27	0	12	20	27	16	21	22	30	0	23	40
RA229	33	30	7	0	18	17	14	18	24	11	12	28	35
RA230	27	29	8	0	0	23	14	19	21	24	13	3	38
RA231	28	31	10	6	6	24	12	20	20	27	9	0	30
RA232	30	28	12	6	30	16	4	17	18	6	6	22	37
RA233	30	27	14	16	26	21	16	25	26	29	16	35	40
RA235	26	26	0	15	27	30	19	26	26	30	15	26	33
RA236	30	32	8	0	18	20	10	16	27	6	10	25	41
RA237	32	27	0	0	19	15	0	24	27	0	0	20	32

fehér háttér: érzékeny; világosszürke háttér: mérsékelten érzékeny; sötétszürke háttér: rezisztens

M3.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek biokémiai tulajdonságai

Azonosító	Biokémiai teszt							
	Oxidáz	Kataláz	Indol	Nitrát	Urea	Glükóz	Laktóz	Szacharóz
RA001	+	+	-	-	-	-	-	-/+
RA002	+	+	-	-	-	-	-	-
RA003	+	+	-	-	-	-	-	-
RA004	+	+	-	-	-	-	-	-
RA005	+	+	-	-	-	-	-	-
RA006	+	+	-	-	-	-	-	-
RA007	+	+	-	-	-	-	-	-
RA008	+	+	-	-	-	-	-	-
RA009	+	+	-	-	-	-	-	-
RA010	+	+	-	-	-	-	-	-
RA011	+	+	-	-	-	-	-	-
RA012	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA013	+	+	-	-	-	-	-	-
RA014	+	+	-	-	-	-	-	-
RA015	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA016	+	+	-	-	-	-	-	-
RA017	+	+	-	-	-	-	-	-
RA018	+	+	-	-	-	-	-	-
RA019	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA020	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA021	+	+	-	-	-	-	-	-
RA022	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA023	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA024	+	+	-	-	-	-	-	-
RA025	+	+	-	-	-/+	-	-	-
RA026	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA027	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA028	+	+	-	-	-	-	-	-
RA029	+	+	-	-	+	-	-	-
RA030	+	+	-	-	-	-	-	-
RA031	+	+	-	-	-	-	-	-
RA032	+	+	-	-	-	-	-	-
RA033	+	+	-	-	-	-	-	-
RA034	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA035	+	+	-	-	-	-	-	-
RA036	+	+	-	-	+	-	-	-

M3.táblázat: A *R. anatipestifer* törzsek biokémiai tulajdonságai (folytatás)

Azonosító	Biokémiai teszt							
	Oxidáz	Kataláz	Indol	Nitrát	Urea	Glükóz	Laktóz	Szacharóz
RA037	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA038	+	+	-	-	-	-	-	-
RA039	+	+	-	-	-	-	-	-
RA040	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA041	+	+	-	-	-	-	-	-
RA042	+	+	-	-	-	-	-	-
RA043	+	+	-	-	-	-	-	-
RA044	+	+	-	-	-	-	-	-
RA045	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA046	+	+	-	-	-	-	-	-
RA047	+	+	-	-	-	-	-	-
RA048	+	+	-	-	-	-	-	-
RA049	+	+	-	-	-	-	-	-
RA050	+	+	-	-	-	-	-	-
RA051	+	+	-	-	-	-	-	-
RA052	+	+	-	-	-	-	-	-
RA053	+	+	-	-	-	-	-	-
RA054	+	+	-	-	-	-	-	-
RA055	+	+	-	-	+	-	-	-
RA056	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA057	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA058	+	+	-	-	-	-/+	-	-
RA059	+	+	-	-	-	-	-	-
RA060	+	+	-	-	+	-	-	-
RA061	+	+	-	-	-	-	-	-
RA062	+	+	-	-	+	-	-	-
RA063	+	+	-	-	-	-	-	-
RA064	+	+	-	-	-	-	-	-

+: pozitív eredmény; -: negatív eredmény; -/+: gyengén pozitív eredmény