

SZAKDOLGOZAT

Kovács Ákos

2017

Állatorvostudományi Egyetem
Egzotikusállat- és Vadegészségügyi Tanszék



Salmonella szerotípusok kimutatása hullók bélsarából és
közegészségügyi jelentőségük

Készítette: Kovács Ákos

Témavezető: Dr. Gál János

ÁTE, Egzotikusállat- és Vadegészségügyi Tanszék

Egyetemi docens, tanszékvezető

Budapest

2017

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	2
2. Irodalmi áttekintés	3
2.1. A <i>Salmonella</i> nemzetség	3
2.2. Salmonellosisok háziállatainkban.....	4
2.2.1. Melegvérű állatok salmonellosisai	5
2.2.2. <i>Salmonella</i> a hüllőkben	7
2.3. Humán salmonellosisok.....	9
2.4. <i>Salmonella</i> kimutatási módszerei	13
2.4.1. Bakteriológiai izolálás.....	13
2.4.2. Biokémiai tulajdonságok.....	21
2.4.3. Szerotipizálás	24
2.4.4. Egyéb módszerek	25
3. Anyag és módszer	27
3.1. Bakteriológiai izolálás	27
4. Eredmények értékelése	29
5. Összefoglalás	31
6. Summary	32
7. Köszönetnyilvánítás	33
8. Irodalomjegyzék	34
9. Mellékletek	40

1. Bevezetés

Napjainkban egyre nagyobb számban tartanak a kutya, macska és rágcsáló mellett házi kedvencként hüllőt is. A kereskedésekben, internetes portálokon és börzéken egyre szélesebb választékban lehet beszerezni a különböző kígyó, gyík és teknős fajokat. Ezzel együtt egyre nagyobb gondot kezdenek jelenteni a hüllők által hordozott kórokozók, melyek az emberre is veszélyesek lehetnek, tehát a zoonótikus fertőzések gyakoriságát növelik.

Ezen kórokozók egyike a *Salmonella* baktérium, mely a hüllők bélcsatornájában és környezetében is megtalálható és fertőzési forrásként számolni kell vele. A megfelelő higiénia elhagyása és egyéb hajlamosító tényezők mellett ezek a baktériumok képesek megfertőzni az embert és enyhébb-súlyosabb kórképeket tudnak kialakítani.

1975-ben az Amerikai Egyesült Államokban a Food and Drug Administration (FDA) betiltotta a kisteknősök kereskedelmét az általuk okozott salmonellosisok visszaszorítása érdekében. Bár napjainkban a humán salmonellosisok döntő része még mindig élelmiszer eredetű, egyre nagyobb arányban jelentenek *salmonellosisokat*, melyeket hüllőkkel lehet kapcsolatba hozni. Manapság a széles választék miatt már nem csak a teknősök jelentik az egyetlen, hüllőktől származó fertőzési forrás. A kígyók és gyíkok által okozott fertőzésekre is fel kell hívni a figyelmet.

Dolgozatom során a hüllőkben található *Salmonella* szerotípusok bélsárból való kimutathatóságát vizsgáltam, azzal a szándékkal, hogy megállapítsam a hazai fogságban tartott kígyókban és gyíkokban milyen gyakorisággal fordul elő az emberre potenciálisan veszélyes *Salmonella* baktérium. Ezen felül vizsgáltuk a Drigalski táptalaj használhatóságát *Salmonella* bélsárból való kimutatására.

2. Irodalmi áttekintés

2.1.A *Salmonella* nemzetség

A *Salmonella* az *Enterobacteriaceae* családba tartozó, Gram negatívan festődő, 2-5 μm hosszú, fakultatív anaerob, nem spórásodó, csillóval önálló mozgásra képes, pálcika alakú baktérium. A nemzetségben találhatóak nem mozgó törzsekkel is, mint például a *S. Gallinarum* és a *S. Pullorum*. A *Salmonella* genust jelenleg két fajra osztják: *S. enterica* és *S. bongori*, bár a nemzetség felosztása mindig is vita tárgyát képezte a mikrobiológusok között. A *S. bongori* alá csak egy alfaj tartozik néhány szerotípussal, de régen a *S. enterica* V. alfajaként tartották számon. A *S. enterica* alá jelenleg hat alfaj tartozik: *S. enterica subspecies enterica* (I), *S. enterica subspecies salamae* (II), *S. enterica subspecies arizonae* (IIIa), *S. enterica subspecies diarizonae* (IIIb), *S. enterica subspecies houtenae* (IV), *S. enterica subspecies indica* (VI). Az úgynevezett „*S. Subterranea*”, melyet eleinte a genushoz soroltak, nem tartozik már a *Salmonella* nemzetségbe, mert vizsgálatokkal közelebbi rokonságba hozták az *Escherichia hermanni* baktériummal (Public Health England, 2015; Grimont & Weill, 2007). Az alfajokon belül szerotípusokat/szerovariánsokat különítenek el. Mára már több mint 2600 szerotípus ismert, melyek száma folyamatosan nő (Bastos, 2012; Gay et al., 2014; Grimont & Weill, 2007).

A szerotípusokat Kauffman-White-Le Minor rendszer szerint azonosítjuk (Gay et al., 2014). Az azonosítás a két-három fő antigén alapján történik. Az „O” vagy szomatikus antigén, a baktérium külső membránján megtalálható lipopoliszacharid (hőstabil), ami a szerotípusok különböző virulenciájáért is felelős (Bastos, 2012; Michell & Shane, 2001). A „H”, más néven csilló antigén, mely a csillók felszínén található, első és második fázisú antigének lehetnek. Az első fázisú „H” antigéneket specifikusnak tekintjük, mert önmagukban vagy kombinációban képesek meghatározni a szerotípust. A második fázisú „H” antigének nem specifikusak. A harmadik fő antigén a „Vi” vagy burok antigén (hőlabilis), mely csak kevés szerotípusban fordul elő és elfedi az „O” antigént, megtalálható például a *S. Typhi* burkában (Michell & Shane, 2001; Varga et al., 2007).

A szerotípusokat virulenciájuk alapján is lehet csoportosítani. Az első csoportba csak néhány szerotípus tartozik, melyek képesek egészséges állatban is súlyos szisztémás fertőzést előidézni. A második csoportba olyan szerotípusokat lehet sorolni, melyek fiatal egyedekben és vemhes vagy tojásrakó állatokban tudnak betegséget okozni. A harmadik csoportba azokat a szerotípusokat lehet sorolni, melyek csökkent védekezőképességgel bíró egyedeket tudnak

megfertőzni, például cukorbeteg, immunszuppresszív kezelés alatt álló vagy az immunrendszert támadó vírusfertőzéseknek kitett állatokat (Bastos, 2012).

Továbbá csoportosíthatjuk a szerotípusokat gazdaspektrumuk szerint is. A gazdaspecifikus szerotípusok, mint például a *S. Typhi*, *S. Paratyphi*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* és *S. Typhisuis* csak egy fajt képesek megfertőzni. A szűk gazdaspektrummal rendelkező szerotípusokat egy fajjal szokás összefüggésbe hozni, de azon kívül képesek más fajokban is betegséget kialakítani, mint például a *S. Dublin* vagy a *S. Choleraesuis*. A széles gazdaspektrummal rendelkező szerotípusok a fajok széles körében képesek megbetegedést előidézni, erre jó példa a *S. Typhimurium*, mely az embertől kezdve a haszonállatokon át madarakban és hüllőkben is képes betegséget okozni (Holzer et al., 2011). De ebbe a csoportba tartozik az emberi salmonellosisok egy jelentős részét okozó *S. Enteritidis* és *S. Infantis* is. Az eltérő spektrumú szerotípusok között fertőzőképességükben is található eltérés. A fajspecifikusabb szerotípusokra jellemző a magas morbiditás, de alacsony mortalitás, míg a tág gazdaspektrummal rendelkező törzsekre az alacsony morbiditás, de magas mortalitás (Bastos, 2012).

Világszerte elterjedtek, fő előfordulási helyük a melegvérű állatok bélcsatornája, de a hidegvérű állatokban is megtalálhatók, sőt a környezetben hosszabb ideig képes túlélni, különösen a meleg és nedves helyeken, de sokáig kimutathatók a szennyezett felületekről is. Csapvízben 89 napig, pocsolyában 115 napig képesek túlélni, de hüllők bélsarójában akár 30 hónapig is (Holzer et al., 2011; Spickler, 2013; Warwick et al., 2001). A *Salmonella* a gerincesek bélcsatornájában található meg, így alapvetően fertőzött állatok bélsarójával kerülhet a környezetbe, például pocsolyák üledékébe (Food and Drug Administration, 2012).

2.2. Salmonellosisok háziállatainkban

A *Salmonella* fertőzés mind az állatokban, mind az emberben komoly megbetegedést képes okozni (Michell & Shane, 2001). A *Salmonella* fertőzés zoonózis és azáltal, hogy az állati rezervoár fajok a környezetbe ürítik a baktériumot, fontos szerepet játszanak a betegség járványtanában (Geue & Löscher, 2002). A fertőzés változatos eredménnyel járhat, lehet tünetmentes fertőzés, gyógyulás után tünet nélküli hordozás vagy a különböző tünetek megjelenése is (Michell & Shane, 2001; Varga et al., 2007).

2.2.1. Melegvérű állatok salmonellosisai

Háziállatainkban változó súlyosságban lehet észlelni a *Salmonella* fertőzöttséget. Vannak fajok melyek kevésbé érzékenyek rá, bennük gyakran nem is okoz tünetet a baktérium, más fajokban (szerotípustól függően) enyhébb-súlyosabb megbetegedést tud előidézni.

Szarvasmarhában kortól függően változó megjelenésű lehet a fertőzés. Leggyakoribb szerotípusok a *S. Typhimurium* és a *S. Dublin*, emellett még a *S. Enteritidis*, *S. Agona*, *S. Derby* és egyéb szerotípusokat is ki lehet mutatni (Varga et al., 2007). Borjakban lázzal, hasmenéssel, étvágytalansággal, súlycsökkenéssel és dehidrátsággal jár, de a septicaemia miatt elhulláshoz vezető betegség is előfordul, a környezeti tényezőktől függően. Elhúzódó esetekben az ízületekre, inhvüvelyekre és nyálkatömlőkre is kiterjedhet a fertőzés.

Idősebb egyedekben már jóval gyakoribb a klinikailag tünetmentes fertőzés és gyakran hordozzák és ürítik a baktériumot. A megbetegedő állatoknál szintén lázat, hasmenést, ízületgyulladás miatti sántaságot és tejtermelés-csökkenést lehet észlelni. A *S. Dublin*, ami a kérődzőkhöz adaptálódott, nagyobb valószínűséggel okoz tünetmentes fertőzést a többi szerotípushoz képest. A vetélések kóroktanában ritkán a *Salmonella* is szerepet játszhat kérődzőkben (Hoelzer et al., 2011; Varga et al., 2007).

Kiskérődzőkben szintén változó súlyossággal és klinikai megjelenéssel lehet találkozni *Salmonella* fertőzés során. Míg az idősebb állatokban enterális salmonellosist okoz, ami lázzal, hasmenéssel, dehidrációval és kondícióromlással jár, addig a fiatal egyedekben gyakrabban okoz septicaemiát. Kiskérődzőkben a vetélések, halvaszületések és napos állatok elhullásának egyik fontos okozója, leggyakrabban az előhasi anyaállatokban okoz vetélést, ami súlyos gazdasági károkat képes okozni. Több szerotípus is képes vetélést eredményezni, mint például a *S. Typhimurium* vagy a *S. Dublin*, mégis a kiskérődzőkhöz adaptálódott *S. Abortusovis* a leggyakrabban kimutatott szerotípus. (Hoelzer et al., 2011; Varga et al., 2007).

Sertésekben változó formában, a tünetmentestől az elhullásig jelenhet meg klinikailag a *Salmonella*-fertőzés. Kóroktanilag és klinikailag három kórformát lehet elkülöníteni: a *S. Typhisuis* által okozott sertéstyphust, a *S. Choleraesuis*, *S. Typhimurium* és egyéb szerotípusok által okozott malacok paratyphusát, valamint a sertések tünetmentes *Salmonella*-hordozását, melyet a környezetben is megtalálható más szerotípusok idéznek elő (Varga et al., 2007). A sertéstyphus idülden kialakuló, súlyvesztéssel, étvágytalansággal és idővel fokozódó hasmenéssel, egyes állatokban köhögéssel is jár, mely csak a sertéseket képes megfertőzni. A malacok *paratyphusa* hevenyen lezajló, szisztémás megbetegedés, mely során láz,

étvágytalanság, septicaemia, pneumonia, gastroenteritis, elhúzódó eseteknél meningitis és ízületi gyulladás alakulhat ki, mely magas mortalitással jár (Hoelzer et al., 2011; Varga et al., 2007).

A *lovak salmonellosisa* egy fontos betegség, mely változó arányban jár az állatok megbetegedésével és elhullásával a környezeti tényezők függvényében. Felnőtt állatokban, ha okoz tünetet, akkor profúz hasmenéssel, kólikás nyugtalansággal és endotoxaemiával jár, melyet láz és bágyadság kísér. Vemhes kancák vetélését egy adaptálódott szerotípus, a *S. Abortusequi* idézheti elő, főleg előhasi kancákban, míg az idősebb állatok által normális időben világra hozott csikók gyengék, néhány napon belül el is hullnak septicaemia és ízületi gyulladás tüneteivel. Csikókban gyakrabban fordul elő szisztémás fertőzés során septicaemia, ízületi gyulladás, osteomyelitis, meningoencephalitis vagy lágyyszöveti tályog (Hoelzer et al., 2011; Varga et al., 2007; Jay-Russell et al., 2014).

Kutyában, macskában a Salmonella gyakran tünetmentesen van jelen és az állatok időszakosan ürítik is a kórokozót. Ezekben a háziállatainkban nagy számban mutattak már ki különböző szerotípusokat. A nagy számban felvett kórokozó képes tüneteket kialakítani, mint például hasmenést vagy endotoxaemiát, melyhez gyakran csatlakozik láz, bágyadság, hányás, lesoványodás, kiszáradás. Néha vetélés, koraszülés, meningoencephalitis, conjunctivitis vagy légzőszervi elégtelenség figyelhető meg. A fertőzés leggyakoribb forrása a táplálék, azon belül is a nyers hús, mely kifejezett kockázatot hordoz az állatra nézve (Hoelzer et al., 2011; Varga et al., 2007).

Baromfi fajokban gyakran lehet találkozni *Salmonellával*. Szerotípustól és az állatok korától függően változó mértékben képes megbetegíteni a madarakat. A tág gazdaspektrumú szerotípussal való fertőzések gyakran tünetmentesek és a baromfi hordozóvá válik, de fiatal madarakban már írtak le súlyos klinikai tünetekkel és magas elhullással járó fertőzéseket (Hoelzer et al., 2011). Az adaptálódott szerotípusok, mint a *S. Gallinarum* és *S. Pullorum* a baromfityphus okozói, elsősorban a tyúkfélék fogékonyak iránta, ahol súlyos tüneteket és magas elhullást idéznek elő, nagy gazdasági kárt okozva. A *S. Pullorum* inkább fiatal egyedekben okoz septicaemiát, magas elhullást mutat állomány szinten. Felnőtt állományban gyakran tünetmentes marad a fertőződés, idülten zajlik le a betegség és folyamatosan ürítik a baktériumot. Felnőtt állományokban ritkán hasmenést, dehidrációt, megnövekedett elhullást, csökkent tojástermelést és alacsony keltethetőségi rátát okozhat (Varga et al., 2007; Hoelzer et al., 2011). A fertőzött állományból származó tojások között megnő a befulladtak száma és a kikelők között a kelésgyengeség nagyobb számban lesz észlelhető, jellegzetes kettős elhullási

görbe jelentkezik az 2-5. napon és a 2-3. héten. A *S. Gallinarum* mind fiatal, mind felnőtt egyedeket képes megbetegíteni, de tünetekben hasonló a *S. Pullorum*hoz (Varga et al., 2007; Hoelzer et al., 2011). A madarak paratyphusát a *S. Gallinarum* és a *S. Pullorum*tól eltérő törzsek idézik elő és ellentétben az előző két szerotípussal, melyek fajspecifikusak, a paratyphust okozó szerotípusok az emberben is képesek megtelepedni, ezek közül a leggyakoribbak a *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Hadar* és a *S. Anatum*. Önállóan inkább fiatal állományokban okoz megbetegedéseket, idősebb állatokban leggyakrabban a tünetmentes hordozás alakul ki (Varga et al., 2007). A szájon át felvett baktériumok a két vakbélben megmaradnak, de tüneteket nem okoznak, viszont innen ürítik a *Salmonellát*. Fiatal állatokban tünetek képesek okozni és ezek megegyeznek a baromfitypusával (Gamazo & Irache, 2007; Varga et al., 2007).

A *Salmonella* direkt és indirekt úton is fertőzheti az állatokat és az embert is (Hoelzer et al., 2011). A salmonellosisok jelentős része a mai napig élelmiszereredetű, de minden évben lehet találkozni olyan esettel, hogy a fertőzés forrása állati kontaktusra vezethető vissza (Bošnjak et al., 2016). A haszonállatok és a kedvtelésből tartott állatok nem csak a fajhoz adaptálódott szerotípusokkal képesek megfertőződni, hanem a széles gazdaspektrumúakkal is, mint amilyen a *S. Typhimurium*, mely gyakori okozója a humán salmonellosisoknak (Hoelzer et al., 2011).

2.2.2. *Salmonella* a hüllőkben

Salmonella izolálását gyíkokból először 1939-ben írták le, majd 1943-ban kígyókból is kimutatták (Bastos, 2012). Hüllőkből gyakran izolálható *Salmonella*, frissebb tanulmányok szerint akár 50-94%-ban is (De Jong et al., 2005; Gamazo & Irache, 2007; Bastos, 2012; Romero et al., 2016), kígyókban 16-100% között, gyíkokban 30-77% között (Bastos, 2012; Hoelzer et al., 2011), krokodilokban 16-27%-ban (Magnino, 2009). Gyakori alkotórésze a bélflórájuknak és különböző szerotípusokkal fertőződhetnek bármilyen klinikai tünet megjelenése nélkül (Bastos, 2012; Cain et al., 2009). Gyakran lehet kimutatni olyan szerotípusokat hüllőkből, melyek nagymértékben virulensek és invazívak az emberre nézve (Warwick et al., 2001). Az összes ismert szerotípus körülbelül 40%-a hüllőkben található meg (Bastos, 2012). Egy hüllő egyszerre kettő, három, de akár öt szerotípust is hordozhat, de egyesek feltételezik, hogy az egyik szerotípus dominánsabb a többinél és ezért találkozni ritkán több szerotípussal egy hüllőben. (Michell & Shane, 2001; Pedersen et al., 2009; Chen

et al., 2010; Spickler, 2013; Hydeskov et al., 2013; Kuroki et al., 2013; Wikström et al., 2014; Romero et al., 2015).

A *Salmonella* a hullók vékonybelének distalis szakaszát és a vastagbelet kolonizálja (Bastos, 2012). A baktériumot nem folyamatosan, hanem intermittálóan ürítik bélsarukkal, de a hullók kloákájából és bőrükről, emellett a vízben élő fajok torkából is izoláltak már Salmonellát (De Jong et al., 2005). A vizelet is szerepet játszhat a kórokozó terjesztésében a kloákában maradó bélsáron keresztül szennyeződve (Warwick et al., 2001). A gyenge tartási körülmények, szisztémás vírusos fertőzések és a bélcsatornában található paraziták elősegíthetik a hullók *Salmonella*-ürítését és az állatok megbetegedését (Romero et al., 2016).

Ritkán hozható összefüggésbe megbetegedéssel a *Salmonella* hullókben, ilyenkor azonban enteritis, coelomitis, pneumonia, septicaemia diagnosztizálható. A bélsár ilyenkor zöldes-szürke, nyálkát és vért is tartalmazhat, a nyálkahártyákon és a hasi pikkelyeken bevérzések láthatók septicæmia során (Bastos, 2012; Romero et al., 2015). A septicæmia jele lehet még a letargia és az anorexia, de minden előjel nélkül, akut elhullással is járhat (Michell & Shane, 2001). Ezeken kívül még gyakran látni *Salmonellával* kapcsolatos megbetegedés során osteomyelitist, salpingitist, nephritist, dermatitist, tályogokat (Hoelzer, 2011). Boncolások során különböző szervekben lehet megfigyelni az elváltozásokat: enteritist, hepatitist, léziókat a májban, oophoritist, splenomegaliát, a vékonybél distalis szakaszának necrosisát, emellett a bélfal necrosisát és granulomatosus elváltozását, a gyomorfallal megvastagodását necrotikus és fibronecrotikus elváltozásokkal, bakteraemia során pedig a legkülönbözőbb szervekben lehet elhalásokat észlelni. Szepticaemia során megfigyeltek a szívben is elváltozásokat, mint például septikus endocarditist, granulomatosus myocarditist vagy az aorta billentyűk gyulladását (Bastos, 2012; Michell & Shane, 2001; Wikström et al., 2014). A betegség megjelenését és súlyosságát a környezeti tényezők, tartási körülmények nagymértékben befolyásolják, melyek az ellenállóképesség meggyengüléséhez vezetnek, mint például az egyedsűrűség, higiénia, hőmérséklet, páratartalom vagy a táplálék kontaminációja, de közre játszhat még az egyedi fogékonyság és a baktériumok száma is (Bastos, 2012; Michell & Shane, 2001; Dipineto et al., 2014).

Hullókból a szerotípusok széles spektrumát mutatták már ki, az ismert szerotípusok közel 40%-a hullókhöz köthető (Bastos, 2012; Hoelzer et al., 2011; Geue & Löscher, 2002). Bár nincsenek kifejezetten hulló-specifikus szerotípusok, mégis az egyes alfajokba tartozó szerotípusokat gyakrabban mutatnak ki bizonyos hullócsoportokból. A II. (*salamae*) és IV. (*houtenae*) alfajt leggyakrabban gyíkokhoz, a III.a (*arizonae*) és a III.b (*diarizonae*) alfajt

pedig kígyókhöz kapcsolják. (Bastos, 2012; Geue & Löscher, 2002; Warwick et al., 2001; Berendes et al., 2007; Whitten et al., 2015) Ezeket a szerotípusokat gyakran „egzotikus” szerotípusoknak is nevezik, mivel jóval ritkábban és nem a hagyományos élelmiszer-eredetű forrásból származnak, hanem kevésbé gyakori forrásból, mint például hullókból vagy azok környezetéből (Geue & Löscher, 2002). Az I. (*enterica*) alfaj foglalja magába az emberi patogén szerotípusok 99%-át, melyek a hullókból szintén nagy számban ki lettek már mutatva (Gamazo & Irache, 2007; Mughini-Gras et al., 2016). Feltételezik, hogy a többi inkább alfaj köthető hullókhöz, mégis az emberi kontaktus lévén az I. (*enterica*) alfaj tagjai is gyakran kolonizálják a hullók bélcsatornáját mind a közvetlen érintkezés, mind az eleség által (rágcsálók, madarak, zöldségek) (Mughini-Gras et al., 2016).

2.3. Humán salmonellosisok

Az emberekben a *Salmonella* a humán medicina szerint két féle salmonellosist képes kialakítani klinikai megjelenésük szerint: a typhoid és a non-typhoid salmonellosist (Food and Drug Administration, 2012; Sánchez-Vargas et al., 2011). A typhoid salmonellosist a *S. Typhi* (typhus) és a *S. Paratyphi* A, B és C okozhatja, mely csak embert képest megbetegíteni és csak ember tartja fent a fertőzést. A non-typhoid salmonellosist potenciálisan az összes többi szerotípus képes előidézni (Sánchez-Vargas et al., 2011).

A *S. Typhi* és *S. Paratyphi* által okozott *enterális láz* vagy *hastífusz* már évezredekkel ezelőtt okozott járványokat világszerte és a mai napig jelen van a fejlődő országokban (magas prevalenciával Dél-Közép-Ázsiában, Délkelet-Ázsiában, közepes gyakorisággal Afrikában, Latin-Amerikában, Karib-térségben, Ázsia többi részében és Óceániában). A fejlett országokban, mint Észak-Amerika és Európa, szintén előfordul, bár itt főleg külföldi utazásokról való visszatéréssel vagy külföldiek által bevitt megbetegedésekkel lehet kapcsolatba hozni a fertőzést (Sánchez-Vargas et al., 2011). A környezetben való előfordulásának forrása mindig emberi bélsárszennyeződésre vagy kezeletlen szennyvízre vezethető vissza (Food and Drug Administration, 2012).

A tünetek megjelenését 7-14 napos praepatens idő előzi meg, ami akár 2 hónap is lehet (Food and Drug Administration, 2012; Sánchez-Vargas et al., 2011). A láz megjelenése előtt gyakran tapasztalható fejfájás, hasmenés, székrekedés, hasi fájdalom. Ezen kívül nem jellemző tünetek még a hidegrázás, étvágycsökkenés, izomfájdalom. Az első héten egy alacsonyabb láz mérhető a fertőzést követően, majd a tünetek elmúlása után jelentkezik a tipikus magas láz, ami hetekig is megmaradhat, ha nem kezelik a beteget. Az betegvizsgálat

során ilyenkor a nyelven lerakódás található (typhoid nyelv), bradycardia és vörös pontok a hason és mellkason. Ezen felül lép- és májmegnagyobbodás (splenomegalia, hepatomegalia) és tudatzavar észlelhető (Sánchez-Vargas et al., 2011).

A tífusz, ha nem kezelik, az esetek 10%-ban halállal végződik (Food and Drug Administration, 2012). A betegségnek súlyos szövődményei lehetnek: vérzés a bélben a Peyer-plakkok eróziójának helyén, esetleg a bélfal perforációja és következményes peritonitis, hepatitis, pancreatitis, cholecystitis (Sánchez-Vargas et al., 2011). Ritkábban extraintestinálisan, septicaemia vagy bacteraemia során is megtelepszik az egyes szervekben a baktérium és ilyenkor súlyos gyulladásokat generál (Food and Drug Administration, 2012). A központi idegrendszerben meningitist, vérzéseket, encephalopathiát, perifériás neuropathiát, görcsöket okozhat. Keringési és légzőszervi elváltozás, mint myocarditis, endocarditis, pneumonia, mellúri folyadékgyülem is kapcsolódhat a kórképhez. Ezeken kívül még a vesékben, ízületekben, csontvelőben tud megtelepedni a septicaemia során a *Salmonella*. A fertőzés után akár még egy évnél hosszabb ideig is üríthetik a betegek a *S. Typhi*-t, így terjesztve és fenn tartva a betegséget (Sánchez-Vargas et al., 2011).

Becslések szerint évente mintegy 22 millió megbetegedést okoz és 200 ezer ember halálához vezet. Az olyan országokban, ahol gyakori a megbetegedés, mint például Ázsia, több mint 100 megbetegedés jut 100.000 lakosra. Közepesen fertőzött területeken 10 megbetegedés jut 100.000 lakosra. A fejlett országokban, mint például az Egyesült Államok, éves szinten mindössze 400 esetet regisztrálnak (Sánchez-Vargas et al., 2011).

A *non-typhoid salmonellosis* (NTS) emberben a *S. Typhi* és *S. Paratyphi* kivételével szinte mindegyik szerotípus képes okozni (Food and Drug Administration, 2012; Sánchez-Vargas et al., 2011). A tisztálkodási és higiéniai viszonyok fejlődésének ellenére az NTS jelentős megbetegedéseket okoz a fejlett és a fejlődő országokban egyaránt. Egyes becslések szerint a világon 93.8 millió gastroenteritis okozója a *Salmonella*, melyekből 155.000 halállal végződik. Világviszonylatban a *S. Enteritidis* (65%), azt követően a *S. Typhimurium* (12%) és a *S. Newport* (4%) volt izolálható leggyakrabban 2001 és 2005 között. Afrikában a *S. Enteritidis* (26%) és a *S. Typhimurium* (25%) mutatható ki leggyakrabban. Ázsiában, Európában, Latin-Amerikában és a Karibi-térségben a *S. Enteritidis* (sorrendben 38%, 78% és 31%) volt a leggyakrabban izolálható. Észak-Amerikában a *S. Typhimurium* (29%) azt követően a *S. Enteritidis* (21%) volt leggyakrabban jelentve (Sánchez-Vargas et al., 2011).

Az emberi fertőződés forrása lehet állati és nem állati eredetű élelmiszer, szennyezett víz vagy állati kontaktus. A fejlett országokban a haszon- és háziállatok az első számú rezervoárjai a non-typhoid Salmonella szerotípusoknak, mivel természetesen is megtalálhatók ezekben az állatokban (Sánchez-Vargas et al., 2011).

Változatos tünetekkel és súlyossággal járhat a fertőződés (Food and Drug Administration, 2012; Sánchez-Vargas et al., 2011). Egészséges embereknél a betegség önkorlátozó és általában nem jár súlyos tünetekkel az enyhe rosszullet és hasmenésen túl (Food and Drug Administration, 2012; De Jong et al., 2005). A betegség mortalitása 1% körül van (Food and Drug Administration, 2012). A tünetek a fertőzést követő 6-72 óra (Food and Drug Administration, 2012; Sánchez-Vargas et al., 2011; Snow, 2016) után jelentkeznek, 4-7 napig tartanak (Food and Drug Administration, 2012; Snow, 2016) az első néhány napban akut tünetekkel, függően az egyén ellenálló képességétől, a baktérium mennyiségétől és tulajdonságaitól (Food and Drug Administration, 2012). Leggyakoribb tünetek a hányinger, rosszullet, hasmenés, láz, hidegrázás, fejfájás (Food and Drug Administration, 2012; Sánchez-Vargas et al., 2011). Gastrointestinális komplikációk között az appendicitis, pancreatitis, cholecystitis és hasi tályogok szerepelnek (Sánchez-Vargas et al., 2011). A hasmenés következtében gyakori a dehidráció és az ionháztartás egyensúlyának felborulása, ami halálhoz is vezethet gyerekekben, idősebbekben vagy gyengébb immunrendszerrel rendelkező egyéneknél, ha nem kezelik időben (Food and Drug Administration, 2012). A gastrointestinális tüneteken kívül előfordul, hogy a baktérium szóródik a szervezetben (Sánchez-Vargas et al., 2011) és septicaemia vagy bakteraemia során telepszik meg különböző szervekben és okoz gyulladásokat (Food and Drug Administration, 2012; Sánchez-Vargas et al., 2011). Leggyakrabban a tüdőben okoz pneumóniát, de meningitist, encephalopathiát, endocarditist, empyemát, tályogokat, húgyúti fertőzéseket, osteomyelitist, cellulitist vagy arthritist okozhat (Sánchez-Vargas et al., 2011). Az igazolt esetek 2%-ában reaktív arthritis alakul ki 3-4 héttel az akut tünetek után (Food and Drug Administration, 2012). Gyakran társul az arthritishez egyúttal urethritis és conjunctivitis, amit együttesen Reiter-szindrómának is neveznek (Snow, 2016).

Lényegében bárki megfertőződhet NTS szerotípussal. Mégis a legnagyobb mértékben fenyegetett csoportba olyanok tartoznak, akiknek valamilyen okból gyengébb immunrendszerrel rendelkeznek (Food and Drug Administration, 2012), mint például a kisgyerekek, az idősebb, 60 év feletti és a csökkent védekezőképességgel rendelkező felnőttek, például a krónikus betegek, HIV fertőzött emberek, kemoterápiában részesülő rákos

betegek, vagy arthritis kezelésére immunszuppresszív gyógyszereket szedő emberek (Food and Drug Administration, 2012). A gyerekek és az idősek fertőződésének gyakoriságához a gyengült immunrendszer mellett még a gyomor hypochlorhydriája és a gyengébb nyálkahártya védelem is hozzájárul (Sánchez-Vargas et al., 2011; Weiss et al., 2011). A HIV fertőzött emberek között közel hússzor többször fordul elő salmonellosis, mint a populáció többi részében és visszatérő epizódjaik is vannak (Food and Drug Administration, 2012). Esetlegesen még a nemrégiben szedett antibiotikum és a bélflóra változása is hozzájárulhat a betegség kialakulásához (Sánchez-Vargas et al., 2011).

A hüllőkhöz kapcsolódó salmonellosis vagy RAS (reptile-associated salmonellosis) az állati kontaktus által elkapott non-typhoid salmonellosisok közé tartozik (Bastos, 2012; Hoelzer et al., 2011). Az összes jelentett salmonellosisnak 1-6%-a származik hüllőktől, országonként eltérő arányban (Mughini-Gras et al., 2016), az Európai Unióban a humán salmonellosisok megközelítőleg 1%-a hüllőkhöz köthető (Gay et al., 2014). A RAS nagyobb arányban okoz súlyosabb, szisztémás megbetegedést, ellentétben az élelmiszereredetű salmonellosissal (Hoelzer et al., 2011; Spichler, 2013). A megbetegedést leggyakrabban csecsemőknél és 5 év alatti gyerekeknél, idős embereknél, terhes anyáknál vagy gyengült immunrendszerrel rendelkező egyéneknél tapasztalható, de egészséges emberekben is okozott már megbetegedést (Hoelzer et al., 2011; Michell & Shane, 2001; Moffatt et al., 2010; Wikström et al., 2014). Súlyos, akár halállal is végződő eseteket általában ezekben a csoportokban látunk, főleg a szisztémás fertőzés okozta septicaemia vagy meningitis következtében (Spichler, 2013). Bár az esetek többsége sporadikus és egy-egy személyre vagy háztartásra korlátozódik, időnként előfordulnak nagyobb kitörések, melyek több száz ember megbetegedését is okozhatják (Bastos, 2012; Hoelzer et al., 2011). Továbbá egyre többen tartanak házi kedvencként hüllőt, így növelik a RAS esetek számát (Piasecki et al., 2014).

A betegek közvetlenül vagy követve is megfertőződhetnek a kórokozóval. Ehhez az állattal vagy tartási helyével való kontaktus biztosít lehetőséget (Bastos, 2012). A csecsemők és gyerekek gyakran a szülők által, közvetlen kontaktus (bőr, ruházat) útján fertőződnek meg, mely felhívja a figyelmet az alapos higiénia betartására, különösen kisgyerekes családokban (Hoelzer et al., 2011).

2.4. *Salmonella* kimutatási módszerei

A *Salmonella* kimutatása különböző helyekről változó nehézségeket okoz. Szisztémás fertőzés során a vérből színtenyészetben nyerhetők ki és azonosításuk így elég gyorsan megtörténhet (Spichler, 2013; Snow, 2016). Élő állatból már nehezebb a kimutatás, mert általános előfordulási helyük a bálcsatorna, mely rengeteg baktériumtörzset tartalmaz és a *Salmonella* elkülönítése ezektől a törzsektől nem egyszerű. Az izolálást továbbá nagyban befolyásolja a kimutatási módszer, bélsárból történő elkülönítést pedig befolyásolja az intermittáló ürítés (Bastos, 2012).

2.4.1. Bakteriológiai izolálás

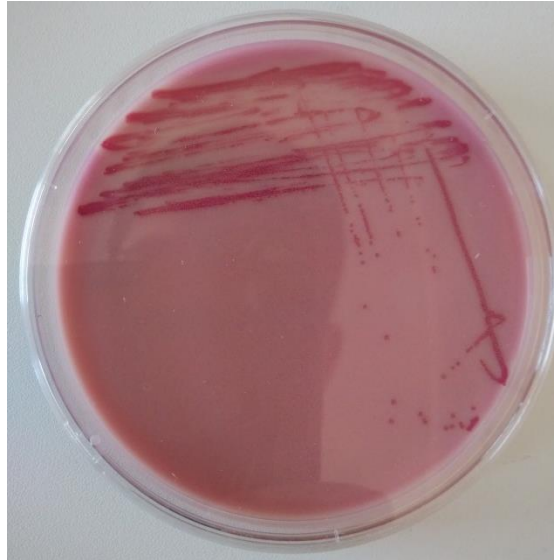
A *Salmonella* hüllőkből való izolálására még nincsenek pontosan kidolgozott módszerek (Gay et al., 2014). A technika fejlődésének ellenére a mai napig a baktériumizolálás számít a „gold standard”-nek a *Salmonella* kimutatására (Gray, 2011; Corrente et al., 2004). A *Salmonella* izolálását lehet közvetlen kioltással végezni, mivel sok szelektív és nem szelektív táptalajon képes nőni, de a legtöbb módszerben több táptalajt kombinálnak, hogy növeljék a kimutathatóság sikerességét (Spichler, 2013). Ha a mintában feltételezhetően kevés a *Salmonella*, gyakran használnak dúsító táptalajokat, hogy szelektíven felszaporítsák a kimutatni kívánt baktériumot (Tuboly, 1999). Vannak olyan intenzív vizsgálati módszerek, melyek a dúsító táptalajokon kívül még elődúsítással is kombinálják a tenyésztést. Ezeket a módszereket gyakran az ételek vizsgálatánál használják, de néha klinikai vizsgálatoknál is igénybe veszik (Spichler, 2013). Az elődúsító táptalajok, mint például a nem szelektív pufferolt peptonvíz, segítik a sérült baktériumok feléledését, valamint a kis számban lévő baktériumok abszolút számát is növeli, ezzel segítve a későbbi detektálás esélyének növelését (Spichler, 2013; Public Health England, 2014). Az elődúsító táptalaj után szelektív dúsító táptalajokra oltják a mintákat vagy közvetlen ezzel kezdik a tenyésztést (Michell & Shane, 2001). A *Salmonella* kimutatásához leggyakrabban tetracionát (pl.: Müller-Kauffmann tetracionát+/-novobiocindúsító) vagy szelenit tartalmú (pl.: Selenit Cystine dúsító) táptalajokat szokták alkalmazni brillantzölddel kombinálva. Ezen felül használják még a Rappaport-Vasiliadis táptalajt vagy módosítását, a módosított félfolyékony Rappaport-Vasiliadis (MSRV) táptalajt, melyek a nagy háttérszennyezettséggel rendelkező mintáknál eredményesek (Public Health England, 2014). Az előzőekben említett szelektív dúsító táptalajokban található különböző sók és szerves anyagok a *Salmonella* szaporodásának kedveznek, amellett hogy a többi faj növekedését gátolni hivatottak (Tuboly, 1999). A

tetrations tartalmú táptalajok egyes *Salmonella* törzseket gátolhat a növekedésben, ha alacsony számban van jelen a baktérium, a szelenit tartalmú táptalajok pedig egyes törzsekre toxikusak is lehetnek (Michell & Shane, 2001; Corrente et al., 2004). Régebben alkalmaztak, főleg a baromfiállományokban, egy úgynevezett késleltetett másodlagos dúsítást, mely során a dúsító táptalajt a normális inkubálási körülmények után néhány (3-5) napig szobahőmérsékleten tárolták, majd ezután friss dúsító táptalajba áttoltották, végül megfelelő körülmények között inkubálják ismét. Ezzel a módszerrel a *Salmonella* nagyobb valószínűséggel mutatható ki a vizsgált mintákból, a hagyományos, 24 órás inkubációs időhöz képest (Michell & Shane, 2001).

A szelektív dúsítást követően, ritkább esetekben közvetlenül a szelektív és differenciáló táptalajokra szokták kioltani a mintákat, bár a közvetlen szélesztés általában nem szokott pozitív eredményt hozni, de néha ez is sikerrel jár (Bastos, 2012; Michell & Shane, 2001; Corrente et al., 2004). A különböző táptalajok eltérő mértékben szelektívek az egyes baktériumokra, így vannak olyanok, melyek a *Salmonellára* nézve gyengén szelektívek, ezért sok más baktérium faj képes rajtuk nőni, ilyen például a MacKonkey, a Drigalski és az Eosin-metilénkék táptalaj. Közepes, illetve nagy szelektivitással bíró táptalaj például a Bizmut-szulfid (BS), Hekteon (HE), Brillantzöld-Fenolvörös-Laktóz-Szacharóz (BPLS), Dezoxikolát-Citrát (DC), Xilóz-Lizin-Dezoxikolát (XLD), Rambach (RA) vagy a *Salmonella-Shigella* agar (SS) (Michell & Shane, 2001; Tuboly, 1999). Újabb táptalajok is megjelentek, melyek még specifikusabban, a *Salmonella* korai növekedését serkentik, azáltal hogy különböző felületaktív anyagokat (Tergitol/Niaproof/ 4) és többféle cukrot (mannitol, laktóz, cellubióz, trechalóz, szacharóz) tartalmaznak a táptalajok, ilyen például a Xilóz-Lizin-Tergitol 4 (XLT4) és a Miller-Mallinson (MM) agar. A MM agar az egyik legígéretesebb szelektív táptalaj, mely a Tergitol 4 és β -galaktozidáz használatán kívül a nagyon pontosan beállított tápanyagok arányával tovább erősíti a *Salmonellák* kezdeti gyors növekedését és erőteljes H_2S termelését (Mallinson et al., 2000).

Ezen felül a kromogén táptalajok is egyre szélesebb választékban érhetők el, ahogy egyre több specifikus enzimátikus tulajdonságát próbálják kihasználni a *Salmonella* specifikus detektálásához. A Rambach agar (1. ábra) az elsők között volt, amely azt az újítást alkalmazta, azáltal hogy a *Salmonella* β -galaktozidáz (X-Gal) enzim segítségével propilén-glikolból savat képzett és a kromogén szubsztráttal kapcsolódva színes (piros) komplexet alkotott. A SM ID agar szintén hasonló elvek mentén, de még egy enzim és szubsztrát (D-glükoronát) reakcióját vizsgálja (Perez et al., 2003; Dusch and Altwegg, 1995). Az ABC

médium szintén két kromogén rendszert használ, melyek során a *Salmonella* α -galaktozidáz termelését is vizsgálja. Ezekon felül sok különböző táptalajt alkottak már meg, melyek ezen rendszerek kombinációit tartalmazzák (Perez et al., 2003).



1. ábra *Salmonella* sp. Rambach agaron

Az egyes táptalajok a *Salmonella* rá jellemző tulajdonságai alapján próbálják elkülöníteni más baktériumoktól. Ilyen tulajdonság például a kén-hidrogénképzés, amit például az XLD és SS agar is alkalmaz indikátor-rendszerében azért, hogy a táptalaj tartalmaz nátrium-tioszulfátot és vas-ammónium-citrátot (Tuboly, 1999). Másik fontos tulajdonsága a *Salmonellának*, hogy a laktózt és egyéb szénhidrátokat, mint például a szacharózt, nem fermentálja, viszont más baktériumok képesek erre és fermentálásuk során sav- és gáztermelés figyelhető meg, ami a táptalajokban lévő különböző indikátorok színváltozásának köszönhetően jelzik a pH változásán keresztül a reakciók végbemenetelét (Tuboly, 1999). Az egyes gátlóanyagok mellett, mint például a brillantzöld, malachitzöld vagy az epe, melyek gátolják a nemkívánatos baktériumok egy részének növekedését, még olyan anyagokat tartalmaznak, melyek a *Salmonella* növekedésének kedvez a többi baktériummal szemben (Tuboly, 1999).

Gyakran az ételek és különböző eredetű minták *Salmonella* fertőzöttségét megállapítani szolgáló ISO:6579 (ISO: International Organization for Standardization) módszert szokták használni magas detektálási százaléka miatt (Gray, 2011; Corrente et al., 2004). A módszerben foglalt táptalajok az idő előrehaladtával módosultak és kiegészültek, de

a lényeges lépései megmaradtak: nem szelektív elődúsítás, szelektív dúsítás, szelektív tenyésztés, biokémiai megerősítés és végül szerotipizálás. A különböző eredetű mintákhoz némileg eltérő módszert használnak a nagy kísérő flóra és a kis számban előforduló *Salmonella* kimutatására (Public Health England, 2015).

Első lépésként a minta homogenizálása történik, amit a nemszelektív elődúsító tápoldatba, a pufferolt peptonvízbe helyeznek és $37 \pm 1^\circ\text{C}$ -on $18-24 \pm 2$ óráig inkubálnak. Ezután átoltják a szelektív dúsító tápoldatokba, nevezetesen a Rappaport-Vasiliadis Soya pepton tápoldatba (RVS) és a Müller-Kauffmann Tetrationsát novobiocin (MKTTn) tápoldatba. Az RVS tápoldatot $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ -on 24 ± 3 órára helyezik inkubátorba. A MKTTn tápoldatot $37 \pm 1^\circ\text{C}$ -on 24 ± 3 órán át inkubálják (Public Health England, 2014).

Az inkubálást követően mindkét dúsítóból két-két szelektív szilárd táptalajon szélesztik a baktériumokat. A módszerben használt táptalajok a Xilóz-Lizin-Dezoxikolát (XLD) és a Brillantzöld agar (módosított) (BGA). Mindkét táptalajt $37 \pm 1^\circ\text{C}$ -on 24 ± 3 órán át inkubálják (Public Health England, 2014).

Ezt követően a telepek vizsgálata következik: a *Salmonella* az XLD táptalajon tipikusan piros telepeket képez, melyeknek a közepe fekete, de az egyes törzsek ettől eltérő morfológiát is felvehetnek. Egyes törzsek képesek a laktózt is bontani, ezek a telepek sárgák lesznek. Más törzsek kén-hidrogén termelése nem olyan erélyes és a telepek közepe nem feketedik be. Egyes baktériumok, mint például a *Proteus* és a *Pseudomonas* fajok egyes törzsei képesek növekedni a táptalajon és vörös telepeket hozhatnak létre. A BGA táptalajon a *Salmonella* általában piros telepeket képez és piros udvar veszi körbe. Egyes *Proteus* és *Pseudomonas* törzsek is képesek növekedni a táptalajon, melyek szintén piros telepeket hoznak létre. A laktózt és/vagy szacharózt bontani képes baktériumok sárga vagy zöldes-sárga telepeket hoznak létre, sárgás udvarral a telepek körül (Public Health England, 2014).

A módszer tartalmaz többek között egy olyan kiegészítést (Annex D), mely a nagy háttérszennyezettséggel rendelkező minták esetén, mint például a bélsárminták, a RVS helyett a módosított félfolyékony Rappaport-Vasiliadis (MSRV) táptalaj használatát javasolja. Ez a táptalaj a mozgó *Salmonella* detektálására szolgál, azáltal hogy a többi baktérium növekedését és mozgását gátolja. A szilárd táptalajokon gyanúsnak ítélt telepeket biokémiai és szerológiai vizsgálatoknak vetik alá (lásd később) (Public Health England, 2015; Public Health England, 2014).

Azonban ez a módszer sem tökéletes hullóknél, mivel ezek melegvérű állatokra és termékeikre lettek kidolgozva. A hullókben nagy számban elő forduló III.a (*arizonae*) és III.b

(*diarizonae*) alfajba tartozó szerotípusok között gyakran találkozni olyan törzsekkel, melyek képesek a laktóz fermentálására (az *arizonae* közel 25%-ban, a *diarizonae* pedig 75%-ban) és emiatt gyakran ezeket a törzseket nem detektáljuk a vizsgálat során (Gay et al., 2014; Michell & Shane, 2001). Emellett a hullókból való kimutatást tovább nehezíti, hogy az egészséges állatokban is jelen van a *Salmonella* szerotípusok széles spektruma, amit intermittálóan ürítenek, ebből kifolyólag nem lehet egy hullóról megbízhatóan kijelenteni, hogy *Salmonella*-mentes-e (Bastos, 2012; Spichler, 2013).

A fent említett okokból kifolyólag a táptalajok és módszerek különböző kombinációi születtek meg, hogy a hullókben található változatos *Salmonella* szerotípusokat minél nagyobb számban lehessen kimutatni.

Geue és Löschner (2002) az ISO 6579:1993 módszert használták kisebb változtatásokkal. A bélsármintákat először pufferolt peptonvízben (BPW) dúsították 37°C-on, 16-24 óráig. Ezt követően párhuzamosan átoltották a mintákat a szelektív dúsító közegekbe, ami a Rappaport-Vassiliadis (RV) és a tetracionát-brillantzöld (TBG) dúsító volt. A 37°C-on (TBG) illetve 42°C-on (RV) történő éjszakai inkubálás után friss szelektív dúsító tápoldatokat ismét beoltották a mintákkal. Ez után következett a lemezekben történő szélesztés, melyhez a Brillantzöld-phenolvörös-laktóz-szacharóz (BPLS) és xilóz-lizin-dezoxikolát (XLD) szilárd táptalajokat használták, és 37°C-on 24 óráig inkubálták. Lemezenként három gyanúsak ítélt telepet vizsgáltak meg szerológiaiilag. A gyíkoktól származó minták 61%-ában, kígyónál 73,8%-ban találtak egy vagy több szerotípust.

M. Corrente et al. (2004) egy összehasonlító tanulmányt végzett, melyben hullók kloáka- és bélsármintáit vizsgálták különböző szelektív dúsító és szelektív differenciáló táptalajokon. Elődúsításhoz pufferolt peptonvizet (BPW) használtak és 37°C-on 24 illetve 48 óráig hagyták a mintákat az inkubátorban. Ezt követően szelenit-cisztin (SCB) és Rappaort-Vassiliadis (RVB) dúsítóba oltották át a mintákat és inkubálták 37°C (SCB) vagy 42°C-on (RVB). Szélesztéshez a Rambach (RA) és a Xilóz-lizin-dezoxikolát (XLD) szelektív és differenciáló táptalajokat használták, melyeket szintén 37°C-on, 24 óráig inkubáltak. Lemezenként itt is három gyanús telepet vizsgáltak tovább, de itt még előbb egy táptalajt, a „Triple sugar iron (TSI)” agart használtak és csak ezt követően vizsgálták további biokémiai és szerológiai módszerrel a *Salmonella*-gyanús mintákat. Végül a minták közel feléből (50,5%) tudták kimutatni baktériumot (de a kutatásban teknősök is szerepeltek és vizsgálatuk során egyéb táptalajokat is használtak, de ez se befolyásolta az eredményt jelentősen). Kutatásuk eredményei alapján, ha a BPW-ben még gyenge is volt a növekedés, a RVB-XLD

kombinációt javasolják, mivel ezzel tudták a legtöbb *Salmonellát* kimutatni, függetlenül az inkubáció idejétől (24 vagy 48 óra) és a minta mennyiségétől (elődúsítással kombinált szelektív dúsításnak köszönhetően).

Egy 2006-ban kiadott tanulmányban az Antwerp Állatkert hullógyűjteményét vizsgálták meg *Salmonellára*, egyúttal különböző tenyésztési módszereket hasonlítottak össze. 1994 és 2004 között egészséges és beteg állatok bélsármintáit és boncolás során vett mintákat vizsgáltak. Az izoláláshoz közvetlenül vagy Szelenit-Cisztines elődúsítást követően MacKonkey, *Salmonella-Shigella* és Hektoen Enterális agart használtak. 2005-től 100 tamponmintát vettek a környezetből és vizsgálták őket a következők szerint: elődúsításhoz pufferolt peptonvizet (BPW) használtak, majd 37°C-on 18 ± 2 óráig inkubálták. A szelektív dúsítást több variációban vizsgálták. Egyik módszerben először módosított félfolyékony Rappaport-Vasiliadis (MSRV) oltottak be és inkubáltak 24 óráig, 42°C-on. A második módszerben egy ún. „Immonomagnetic separation (IMS)” módszerrel szelektálták a *Salmonellákat*, majd a mágneseles gyöngyöket ezután Rappaort-Vasiliadis Single Component (RVS) dúsítóban helyezték. A következő eljárásnál a BPW-ből Szelenit-Cisztin+novobiocin dúsítóba oltották. Végül az ISO 6579:2002 módszer szerint is dúsították a mintákat (Mueller-Kauffmann tetracionát+novobiocin [MKTTn] és RVS). Mindegyik dúsítóból Hektoen (HE), Fenolvörös-Brillantzöld (BG) és Xilóz-Lizin-Dezoxikolát (XLD) agarra oltották a mintákat és emellett MSRVR-re is átoltották a mintákat. Amennyiben az MSRVR táptalajon látható volt rajzás, akkor HE agarra átoltották az adott mintát. Biokémiai megerősítéshez a Klinger Iron Agar (KIA) tesztet, ureáz tesztet és a pyrrolidonyl aminopeptidase (PYR) tesztet használták. A továbbra is *Salmonella*- gyanús mintákat további gyorseszteknek vetették alá. Azokat a mintákat, ahol a biokémiai tulajdonságok *arizonae* (IIIa) vagy *diarizonae* (IIIb) alfajra utaltak, a malonát és a dulcitol fermentációját is vizsgálták (előzőt bontja, utóbbit nem). Minden gyanús mintából három telepet küldtek szerotipizálásra. 1995 és 2004 között összesen 137 *Salmonella* törzset izoláltak 1061 állatból. A környezeti minták 47%-ánál lehetett megállapítani *Salmonella* kontaminációt. Az MSRVR használata önmagában nem hozott megfelelő eredményeket, mindenféleképpen szükség volt utána egy szelektív táptalaj használatára. A szelenit tartalmú dúsító használata után kapták a legrosszabb eredményeket, vélhetőleg magas toxicitása miatt. Végül az IMS-RVS tenyésztési módszerrel sikerült a legtöbb törzset kimutatni Hektoen agarra oltás után. Ezzel a módszerrel még több pozitív minta lett, mint amit az ISO módszerrel sikerült kimutatni (Bauwens et al., 2006).

Pedersen et al. (2009) klinikai eseteknél vizsgálta a *Salmonella* jelenlétét. Az esetek többségében boncolás során nyerték a vizsgálati mintákat, de egyes esetekben csak bélsárminta állt rendelkezésre. A boncolás során a bélcsatornából és belső szervekből közvetlen oltottak ki véres agarra, Drigalski agarra és Enteric Mediumra. Ezen felül dúsítós módszerrel is vizsgálták a mintákat, melyet a kutatás ideje alatt kétszer is megváltoztattak. 1997-ig elődúsítónak pufferolt peptonvizet (BPW) használtak, 37°C, 16-20 óráig inkubálták. Szelektív dúsításhoz a Rappaport-Vasiliadis-Soya pepton (RVS) folyékony táptalajt használtak, melyet 42°C-on 18-24 óráig inkubáltak. Szélesztéshez módosított Brillantzöld agart használtak és 37°C-on 18-24 óráig inkubálták. 1997 és 2002 között a szelektív dúsítás után a Brillantzöld agar mellett Rambach agarra is kioltották a mintákat. 2002-től az elődúsító BPW után módosított félfolyékony Rappaport-Vasiliadis (MSRV) dúsítót használtak 42°C-on, 18-24 órán át és a szélesztéshez már csak a Rambach táptalajt alkalmazták. Lemezenként egy és öt közötti telepet vizsgáltak meg szerológiailag. Amennyiben nem reagált a savókkal, biokémiaileg is megvizsgálták, hogy biztosan kizárhassák a *Salmonella* jelenlétét. Kígyókban minden esetben ki tudtak mutatni egy vagy több *Salmonellát* a bélsárból vagy a belső szervekből, 22 gyíkból 21-ben szintén pozitív eredmény született.

Chen et al., (2010) tajvani kutatása során a háztartásokban található hullók *Salmonella*-hordozását vizsgálták. Szintén az ISO:6579 módszert alkalmazták a vizsgálathoz kisebb módosításokkal. A kloaka- és bélsármintákat először pufferolt peptonvízben (BPW) inkubálták 37°C-on, 18-24 óráig. Szelektív dúsításhoz a Rappaport-Vasiliadis R10 (RV) táptalajt használtak, melyet 18-24 óráig, 42°C-on inkubáltak. Szélesztéshez Xilóz-Lizin-Dezoxikolát (XLD) és Salmonella-Shigella (SS) agart használtak. Ezzel párhuzamosan a RV dúsítóból módosított félfolyékony Rappaport-Vasiliadis (MSRV) agarra is átoltották a mintákat és 42°C-on, 18-24 óráig inkubálták. Ha megfigyelhető volt a táptalajon migráció, akkor az opálos zóna határáról szintén XLD és SS agarra átoltották a mintákat és 37°C-on, 18-24 óráig inkubálták. A gyanúsak ítélt telepek közül egyet polivalens "O" antisérummal megvizsgáltak és az agglutinációt mutatókat tovább küldték szerotipizálásra. A megvizsgált gyíkok 62,8%-a, a kígyók 69,7%-a volt *Salmonellával* fertőzött.

Hydeskov et al. (2013) a Koppenhágában található állatkert hullógyűjteményét vizsgálták meg. A kimutatást pufferolt peptonvízzel (BPW) kezdték, melyet 37°C-on egy éjszakán át inkubáltak. Ezt követően módosított félfolyékony Rappaport-Vasiliadis (MSRV) táptalajra oltották a mintákat és 24 illetve 48 órán át, 42 °C-on hagyták szétfutni az oltási pontból. Differenciáló táptalaj gyanánt Brillantzöld-fenolvörös-laktóz-szacharóz agart (BPLS)

használtak. A gyanús telepeket biokémiai megerősítés után szerotipizálással azonosították. Ezzel a módszerrel a vizsgált kígyók 62%-ánál, a vizsgált gyíkok 15%-ánál találtak *Salmonellát*.

Egy 2014-es svédországi tanulmány az otthonokban tartott hullók és környezetük *Salmonella* hordozását vizsgálta, egyben összehasonlította a Rappaport-Vasiliadis-Soya pepton (RVS) dúsító tápoldatot és a módosított félfolyékony Rappaport-Vasiliadis (MSRV) táptalajt. A kloáka- vagy bélsármintákat először pufferolt peptonvízben inkubálták $37 \pm 1^\circ\text{C}$ -on, 18 ± 2 órán át. Ezután átoltották a mintákat a RVS dúsítóba és három egyenlő cseppet tettek a MRSV közepére, melyeket $41,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ -on inkubálták 24 ± 3 órán át. Amennyiben a MSRV nem mutatott növekedést, visszahelyezték újabb 24 ± 3 órára az inkubátorba. Szélesztéshez Xilóz-Lizin-Dezoxikolát+novobiocin (XLD+N) és Brillantzöld táptalajokat használtak. A gyanús telepeket brómkrezol bíbor laktóz agarra oltották és $37 \pm 1^\circ\text{C}$ -on 24 ± 1 órán át inkubálták. Az így is megerősített telepeket szerotipizálásra küldték. A terráriumok 80%-ából, a hullókból vagy a környezetükből, tudtak *Salmonellát* kimutatni. A hullókból 49%-ban, a környezetből 63%-ban lehetett izolálni a baktériumot, bár egyik terráriumban sem lehetett teljesen azonos szerotípusokat kimutatni. Az esetek 45%-ában találtak azonos szerotípust a hullóban és a környezetben is. A két szelektív dúsító közül a MSRV használatával lehetett több *Salmonellát* kimutatni (Wikström et al., 2014).

Egy Malajziában végzett tanulmány a vadonélő és fogságban tartott gyíkok *Salmonella* fertőzöttségét vizsgálta Geue és Löschner (2002) által leírt módszer szerint, de további megerősítéshez még multiplex PCR-t is használtak. Azokban az esetekben, amikor nem lehetett meghatározni PCR módszerrel alfaj szinten a baktériumot, akkor biokémiai vizsgálatokat alkalmaztak. Az összes vizsgált bélsárminta 36,7%-a volt fertőzött *Salmonellával*, továbbá szignifikáns különbség volt felfedezhető a fogságban tartott (83,3%) és a vadonélő gyíkok (48,25%) fertőzöttsége között (Cheng et al., 2014).

Gay et al. (2014) hullók kloáka tamponmintáit vizsgálták Francia Guyanában. A mintákat pufferolt peptonvízben (BPW) elődúsították 16-20 órán át, 37°C -on. Az elődúsítást követően közvetlenül a specifikus Hektoen agarra oltották a mintákat. A gyanús (laktóz negatív) telepeket ureáz tesztnel vetették alá. Ha negatív lett az eredmény (szintén *Salmonella*-gyanús), további biokémiai vizsgálatokat végeztek, melyhez az API 20E tesztet használtak. Az így azonosított mintákat szerotipizálásra küldték (kivéve az arizonae alfajba tartozókat). A vizsgálatuk végén az állatok 23,2%-át találták *Salmonellával* fertőzöttnek, ami a szakirodalomban leírtakhoz képest (45-98%) alacsonyabb volt (Gay et al., 2014).

Romero et al. (2015) 15 egészséges kaméleonban vizsgálta a *Salmonella* előfordulását. A kloákából vett tamponmintákat pufferolt peptonvízben (BPW) inkubálták 37°C-on 24 órán át. Ezután módosított félfolyékony Rappaort-Vasiliadis (MSRV) dúsítót használtak, 41,5°C inkubáltak 24-48 órán át, attól függően, hogy mikor jelent meg a rajzást jelző opálos növekedési zóna. A növekedési zóna széléről átoltották a mintákat Xilóz-Lizin-Dezoxikolát (XLD) és Brillantzöld (BG) agarra. A gyanús telepek megerősítésére egy ún. „matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry” (MALDI-TOF SM) módszert használtak. Az így megerősített mintákat szerológiaiailag is megvizsgálták és azonosították szerotípus szinten. A 15 állatból 12 (80%) hordozta a *Salmonellát*.

Bošnjak et al. (2016) Szerbiában végzett vizsgálatukban az ISO 6579:2008 (Annex D) szabvány szerint vizsgálták a kloáka- és bélsármintákat. A megerősítéshez közforgalomban kapható miniaturizált biokémiai tesztet használtak, emellett még a MALDI-TOF MS vizsgálati módszerrel is megerősítették a pozitivitást. Ezt követően szerotipizálásra elküldték a mintákat. A vizsgált kígyók 14,71%-a, a gyíkok 21,27%-a bizonyult pozitívnak *Salmonella*-fertőzöttség szempontjából.

2016-ban a Ljubljana Állatkertben található egészséges hullóket vizsgáltak, hogy felmérjék a *Salmonella* előfordulását az állatok között. A kloáka tamponmintákat először pufferolt peptonvízbe (BPW) helyezték egy éjszakára és 37°C-on inkubálták. Ezt követően módosított félfolyékony Rappaort-Vasiliadis (MSRV) agarra cseppentették a mintát és 41,5°C-on 24 és 48 óráig inkubálták. A növekedést mutató mintákról Xilóz-Lizin-Dezoxikolát (XLD) agaron szélesztették tovább a mintákat és 37°C-on 24 óráig inkubálták. A gyanús telepeket MALDI-TOF SM módszerrel erősítették meg és ezeket szerotipizálták. A gyíkok 18,2%-a, a kígyók 38,6%-a bizonyult *Salmonella* hordozónak (Romero et al., 2016).

2.4.2. Biokémiai tulajdonságok

Az egyes táptalajokon növekedett *Salmonella*-gyanús telepeket további biokémiai teszteknek vetik alá, hogy megerősítsék vagy kizárják a mintákat további vizsgálatokból. Erre azért van szükség, mert az *Enterobacteriaceae* családba tartozó nemzetségek szoros rokonságban vannak és biokémiai és antigenitási tulajdonságaik nagyban hasonlítanak, ezért is kell több biokémiai tulajdonságot megvizsgálni az egyes mintáknál (Tuboly, 1999; Mikoleit, 2014). Általában két nagy csoportra oszthatók először is a nemzetségek: a laktózt bontani képes nemzetségekre (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobakter*) és a laktózt nem bontókra (*Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*). Ám az egyes nemzetségeken belül találkozni olyan

törzsekkel, melyek a jellemző biokémiai tulajdonságoktól eltérőekkel rendelkeznek (Tuboly, 1999).

A *Salmonella*, mint az *Enterobacteriaceae* család többi tagja, oxidáz negatív és kataláz pozitív (Tuboly, 1999; Public Health England, 2015; Public Health England, 2014). Fakultatív anaerob, ezért a glükózt aerob és anaerob körülmények között is képes bontani sav és gáz képződése mellett. A *Salmonella* a laktózt nem bontók közé tartozik, ez az egyik jellegzetes tulajdonsága, mely a táptalajok is kihasználnak (Tuboly, 1999). Kivételt képeznek azonban a III.a (*arizonae*) és III.b (*diarizonae*) alfajba tartozó törzsek, melyek között gyakran találkozni olyan törzsekkel melyek képesek a laktózt bontani (Gay et al., 2014).

Gyakran használt vizsgáló médium a Triple Sugar Iron agar (TSI), melyben a három cukor (laktóz, szacharóz, glükóz) bontását és H₂S-termelését vizsgálja. A glükóz bontása miatt a táptalaj alsó része besárgul, esetleg a gázképződés miatt megrepedhet a táptalaj. A képződő fekete vas-szulfid szintén a táptalaj alsó részében figyelhető meg, gyakran elfedve a sárga színt. Mivel sem a laktózt, sem a szacharózt nem képes bontani a *Salmonella*, a táptalaj felső, ferde része vörös színű marad. Egyes törzsek képesek bontani a laktózt, ilyenkor sárga színű lesz az egész agar. Más törzsek, mint például a *S. Paratyphi A*, nem termelnek kénhidrogént és a táptalaj feketedése is elmarad (Bastos, 2012; Tuboly, 1999; Dusch and Altwegg, 1995; Mikoleit, 2014).

Másik teszt még a Lysine Iron agar (LIA), mely a *Salmonella* kénhidrogén termelését és lizin-dekarboxilációs képességét vizsgálja. A táptalajban található lizin dekarboxilálása lúgos irányba tolja a pH-t és a táptalaj alja lila lesz, a nátrium-tioszulfát a kénhidrogén termeléshez biztosít forrást és a ferro-ammónium-citráttal vas-szulfid kiválását jelzi a táptalaj feketedése (Bastos, 2012; Tuboly, 1999; Mikoleit, 2014).

A *Salmonella* nemzetség ureáz negatív (2. ábra), ami a *Proteus* nemzetségtől való elkülönítés egyik egyszerű módja, mivel a *Proteus* ureáz pozitív. A kénhidrogén-termelést mutató telepeket szelektív táptalajon így gyorsan el lehet különíteni a hasonló morfológiájú *Salmonellától*. Urea agaron a *Proteus* vöröses színváltozással jelzi az ammónia felszabadulását (Bastos, 2012; Tuboly, 1999; Public Health England, 2015; Mikoleit, 2014).



2. ábra: Tipikus *Salmonella* biokémiai tulajdonságok (*S. Newport*) (balról jobbra): TSI agar (laktóz-, H₂S+, gázképződés+), Urea agar (-), LIA agar (+), Simmon's Citrát agar (+), MIO (motilitás/ornithin +), agar, MIO agar (indol-) (Mikoleit, 2014)

A Motility-Indol-Ornithine agar (MIO) több tulajdonságát is vizsgálja a baktériumoknak. Egyrészt a baktériumok mozgását vizsgálja, triptofánból indol képzési képességüket és az ornitin dekarboxilációjához szükséges enzimtermelésüket. A *Salmonella* mozgásra képes (néhány kivételtől eltekintve), ezért diffúz zavarosodást lehet megfigyelni az agarban. Indol negatív, így a Kovács-reagens hozzáadása után nem alakul ki piros gyűrű az agar tetején. Ornitint képes elbontani, így a táptalaj pH értékét lúgos irányba tolja el és az indikátor lila színűre vált (Tuboly, 1999; Public Health England, 2015; Dusch and Altwegg, 1995; Mikoleit, 2014).

A glükóz fermentációs tulajdonságait vizsgáló Voges-Proskauer (VP) próbára a *Salmonella* negatív eredményt mutat a reagensek hozzáadása után (Kuroki et al., 2013; Tuboly, 1999).

Citrát hasznosítását is szokták vizsgálni az *Enterobacteriaceae* család tagjainak. Erre a Simmon's citrát magas ferde agart szokták használni, mely egyedüli szénforrásként citrátot, nitrogénforrásként pedig ammónium sókat tartalmaz. Az eredetileg zöld színű táptalaj felső, ferde része kék színű lesz, ha a citrát felhasználódik. A *Salmonella* képes hasznosítani a citrátot, így a kék színváltozás is tapasztalható lesz (Tuboly, 1999; Mikoleit, 2014).

A β -galaktozidáz enzim termelését is szokták vizsgálni további elkülönítés céljából. Ezt az ONPG (O-Nitrofenil- β -D-galactopiranozid) teszttel lehet vizsgálni. Az ONPG laktóz

analóg és az enzim szintén képes hasítani. Az enzim hatására az ONPG elhasad és a galaktóz mellett o-nitrofenol képződik, ami sárga színével jelzi a reakció végbemenetelét. A *Salmonella* alapvetően ONPG negatív, de a III.a (*arizonae*) alfajba tartozó szerotípusoknál általában pozitív reakció figyelhető meg (Grimont & Weill, 2007; Mikoleit, 2014; Pickett & Goodman, 1966).

Ritkábban, de még használható a Pirrolidonil-peptidáz (PYR) teszt, mely a szelektív táptalajokon gyakran hasonló morfológiát mutató, kénhidrogén-termelő *Citrobakter* törzsektől segít elkülöníteni a *Salmonellát*. A teszt alapján a *Salmonella* negatív, míg a *Citrobakter* pozitív eredményt fog mutatni (Inoue et al., 1996; Bauwens et al., 2006).

A fent leírt próbák ma már forgalomban kapható miniatürizált szettek formájában is beszerezhetők, melyek tartalmazzák az összes reakciót, amivel már nagy valószínűséggel be lehet azonosítani az egyes baktériumokat. Az *Enterobacteriaceae* család tagjainak vizsgálatához gyakran használt miniatür tesz az API 20E. A fenti próbákon kívül még egyéb szénhidrátok, mint például mannitol, arabinóz vagy szacharóz fermentációjának vizsgálatát is tartalmazza a teszt, mely egyes szerotípusok vagy biovariánsok elkülönítésében segíthet, mint például a *S. Typhisuis* és a *S. Choleraesuis* (Butler et al., 1975; Tuboly, 1999). A biokémiai tesztekkel általában nemzetség, faj és alfaj szintig lehet meghatározni az egyes *Salmonella* szerotípusokat (CDC, 2011).

2.4.3. Szerotipizálás

A biokémiai megerősítés után szerológiai vizsgálattal tudják megállapítani a *Salmonella* szerotípusát (CDC, 2011). Először a telepeket az auto-agglutináció kizárása miatt egy csepp fiziológiás sóoldatban elkeverik és vizsgálják, hogy képződik-e bármilyen csapadék. Amennyiben bármilyen kicsapódás észlelhető, akkor az adott telep nem vizsgálható tovább, mivel akkor a többi specifikus savóval adott reakciója sem megbízhatóan elbírálható (Public Health England, 2014). Esetlegesen meg lehet próbálni, hogy ezeket az ún. „durva” telepeket átoltjuk véres agarra és inkubáljuk, hátha a sima változatuk is kifejeződik (Hendriksen & Larsen, 2004).

Amennyiben az auto-agglutinációt kizárható, tovább folytatják a tipizálás az „O” és „H” antigének meghatározásával. Először mindig az „O” antigén kimutatásával kezdik, amihez polivalens savókat használnak, melyek több „O” antigénnel szembeni ellenanyagot is tartalmaznak (CDC, 2011). Néhány törzs, mint például a *S. Typhi*, rendelkezik a „Vi” antigénnel, ami elfedi az „O” antigént, ezért fordulhat elő, hogy nem mutat agglutinációt a

savóval a telep. Ilyenkor külön a „Vi” anigén ellen előallított ellenanyaggal vizsgálják meg a mintát. Mivel hőlabilis antigénről van szó, hőkezelés után, már lehet vizsgálni ismét az „O” antigént (Tuboly, 1999; Public Health England, 2015). A polivalens savó használata után specifikus, monovalens „O” savókat használnak, melyek csak egy bizonyos „O” antigén elleni ellenanyagot tartalmaznak (Public Health England, 2015).

Ezután következik a „H” antigének meghatározása. A mintát átoltják egy félfolyékony agarra, melyben a mozgásra képes *Salmonellák* szétrajzanak, serkentve ezzel a csilló antigének kifejeződését. Az innen vett mintát először megvizsgálják 1. fázisú „H” antigénjeire szintén polivalens savókkal. A következő lépésben monovalens savókkal vizsgálják, melyeket a polivalens savó tartalmazott és agglutinált a mintával (Hendriksen & Larsen, 2004; Public Health England, 2014; Public Health England, 2015). Ha sikerült meghatározni az 1. fázisú „H” antigéneket, következik a 2. fázisú „H” antigén megállapítása, melyhez a „H” antigén fázisváltására van szükség (Tuboly, 1999). Ilyenkor az előző táptalajról átoltják a mintát egy másik félfolyékony táptalajra, amit frissen készítenek el és tartalmazza az 1. fázisú „H” antigénekkal szemben kimutatott ellenanyagokat is. Ez arra serkenti a *Salmonellákat*, hogy a 2. fázisú antigénjeiket fejezzék ki és ilyenkor ismét rajzás figyelhető meg a táptalajon. Ezeket szintén megvizsgálják és meghatározzák a 2. fázisú „H” antigéneket (Public Health England, 2015; CDC, 2011; Hendriksen & Larsen, 2004). Vannak törzsek, melyek csak egy fázisú „H” antigént fejeznek ki, ezeket monofázisos típusnak is nevezik (Tuboly, 1999). A kimutatott antigénekkal meg lehet határozni a *Salmonella* szerotapusát, melyet a White-Kauffmann-Le Minor rendszer foglal össze (Grimont & Weill, 2007).

2.4.4. Egyéb módszerek

Dolgozatom során a hagyományos baktériumizolálást használtuk a *Salmonella* azonosítására, de a teljesség kedvéért szeretnék megemlíteni még néhány módszert, mely a mai fejlett világban egyre jobban kezd fontos diagnosztikai módszerré válni, mint az előbb említett baktériumizolálás is.

A szerotipizálás mellett a molekuláris módszerekből a pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) az egyik leggyakrabban használt módszer, mely képes szerotípus szinten is azonosítani egy *Salmonella* izolátumot. Bár mindkét módszer pontos, jól alkalmazható, de drága reagenseket kell hozzá beszerezni, jól képzett laboratóriumi dolgozókra van szükség, mindemellett idő- és munkaigényes (Public Health England, 2015; Yoshida et al., 2016).

A polimerase chain reaction (PCR) egy a másik módszer, mely a vizsgált baktérium egy adott DNS szakaszát egy háromlépéses folyamat során megsokszorozza és detektálja. Nagy specificitással és sensibilitással bír a módszer, mindamelllett hogy gyorsan, néhány óra alatt elvégezhető és eredményt produkál. Hátrányai között azonban meg kell említeni, hogy a vizsgálatot nagyban tudja befolyásolni a mintában található szennyező és gátló anyagok, továbbá nem tudja elkülöníteni az élő és halott baktériumokat (Public Health England, 2015; Mandal et al, 2011).

A teljes genom szekvenálására is léteznek már technikák (WGS-Whole Genom Sequencing), de még fejlesztésre szorulnak, mert jelenleg még elég drágák a többi módszerhez képest, ezért nem is része még a rutin diagnosztikai eljárásoknak (Public Health England, 2015; Yoshida et al., 2016).

Az immunológiai módszerek közül gyakori a latex agglutináció, enzyme immunassay (EIA), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) vagy a különböző közforgalomban kapható immunokromatográfias módszerek, melyeket a *Salmnoella* gyors detektálására fejlesztettek ki (Public Health England, 2015). Diagnosztikai vizsgálatokban még lehet találkozni az immunomágneses elválasztás (IMS-immunomagnetic separation) módszerével is, mely során a mágneses golyók felszínére ellenanyagokat kötnek, majd rövid ideig inkubálják, hogy létrejöjjön a kötődés a baktériumokkal, végül mágnesek segítségével elválasztják a mágneses golyókat a vizsgált mintától (Bauwens et al., 2006).

Az elmúlt évtizedben terjedőben van egy újabb eljárás, a Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), mely lézer segítségével ionizálja a sejt fehérjéit, majd elkülöníti és detektálja tömegük alapján, mely segítségével szerotípus szinten is meg lehet határozni az egyes baktériumokat (Public Health England, 2015).

Egy régóta használt módszer még a fágtipizálás, mely az egyes törzseket képes elkülöníteni egymástól egy adott fajon belüli, bakteriofág-érzékenységük alapján. A módszert mai napig használják járványügyi és epidemiológiai vizsgálatok során (Public Health England, 2015).

3. Anyag és módszer

A minták összegyűjtése 2016 tavasza és tele között zajlott. A minták egy részét a tulajdonosok gyűjtötték össze és kézbesítették, másik részük a helyszínen lett begyűjtve. Elsődleges szempont volt, hogy a minták frissen kerüljenek tenyésztésre, amennyiben megoldható volt, még aznap, megelőzve a kiszáradás lehetőségét. Azokban az esetekben amikor ez nem volt megoldható, a tulajdonosok a mintákat becsomagolva, lefagyasztva tartották az átadás időpontjáig. A minták egy másik része friss gyűjtésből származott, melyeket közvetlenül a terráriumból vagy – vízbe ürítő hullók esetén – a vízből nyertünk ki.

3.1. Bakteriológiai izolálás

A friss, jó állapotban lévő bélsarakat közvetlenül kioltottuk Drigalski táptalajra (1. számú melléklet), majd 24 órán keresztül 37°C-on inkubáltuk. A szárazabb bélsarakat előzetesen szuszpendáltuk fiziológiás sóoldatban rehidrálás céljából. A Drigalski táptalaj laktózt tartalmaz, mint fermentálható szénhidrátot, a pepton, élesztő- és húskivonat biztosítja nitrogén- és egyéb vitaminok jelenlétét. A kristályibolya és a Na-dezoxikolat a Gram pozitív baktériumok növekedését gátolja, a brómtimolkék pH indikátor. A laktózt fermentálni képes mikrobák (pl.: *E. coli*, *Enterobacter*) telepei a savtermelés miatt lecsökkentik a pH értéket a táptalajban és sárgára változtatják a brómtimolkék színét. A laktózt nem fermentálók (*Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*) kékeszöld telepeket hoznak létre, mivel savtermelésük nincs, de a fehérjebontás miatt még alkalikusabb irányba tolják el a pH-t.

Azokat a mintákat, melyek a Drigalski táptalajon *Salmonella* gyanús telepeket (kékeszöld) hoztak létre, egy elődúsítással kombinált szelektív dúsításos tenyésztési módszernek vetettük alá. Először pufferolt peptonvízbe (BPW) (2. számú melléklet) oltottuk és 24 órán át, 37°C-on inkubáltuk. A BPW nem szelektív elődúsításra szolgál, a mintában lévő sérült, subletális *Salmonella* helyreállításában segít, hogy a későbbi szelektív tenyésztést kibírja.

A szaporodást a BPW táptalaj zavarossá válása jelezte. Ezután steril oltókaccsal átoltottunk BPW táptalajról módosított félfolyékony Rappaport-Vassiliadis (MSRV) táptalajra (3. számú melléklet) a mintákat. Ez a táptalaj a mozgó Salmonellák detektálására szolgál nagy háttérszennyezettséggel bíró mintáknál, mint esetünkben a bélsár. A triptóz és a kazein hidrolizátum a szén- és nitrogénforrás, a malachitzöld és a novobiocin pedig gátolja a Gram pozitív és egyes Gram negatív baktériumok növekedését. A táptalaj összetétele, mint

például a magnézium-klorid, malachitzöld és a novobiocin, valamint a magasabb hőmérséklet is hozzájárul az egyéb baktériumok növekedésének és mozgásának gátlásában. Az átoltott minták 42°C-on, 24 órán keresztül voltak inkubálva.

Ezt követően a növekedést mutató mintákat tovább oltottuk a MSR/V táptalajról xilóz-lizin-dezoxikolat (XLD) táptalajra (4. számú melléklet) és 37°C-on 24 órán át inkubáltuk. Az XLD táptalaj szelektív és differenciáló táptalajként is szolgál. Élesztőkivonat biztosítja a nitrogénforrást és egyéb vitaminokat. A xilóz, laktóz és szacharóz bár szénforrásként vannak jelen, a *Salmonellák* a xilózt gyorsan tudják bontani, ami a pH-t savas irányba tolná el, de mivel kis mennyiségben van jelen, miután elfogy, a lizin bontását kezdi el, ami a pH-t lúgos irányba tolja el, így végül a telepek azonos színűek lesznek a táptalaj vörös színével (3. ábra). A *Shigellától* való elkülönítés miatt (melyek egyik szénhidrátot sem bontják és így szintén vörös színű telepeket képeznének), a táptalaj még nátrium-tioszulfátot és vas-ammónium-citrátot is tartalmaz, ami a *Salmonellák* kénhidrogén termelő képességét hivatott kimutatni, ugyanis a keletkező kén-hidrogén reagál a táptalajban található vassal és a telepek közepét feketére színezi a kiváló vas-szulfid.



3. ábra Pozitív (balra) és negatív (jobbra) minta

2016 őszén megváltoztattuk a tenyésztési módszert, mivel nem vezetett eredményre, ezért elhagytuk a Drigalski táptalajt és csak az elődúsítással kombinált szelektív dúsítási módszerrel vizsgáltuk a mintákat, melyhez a BPW, MSR/V és XLD táptalajokat használtuk.

Azokat a mintákat, melyeket a szelektív tenyésztés után *Salmonella*-gyanúnak bizonyultak, átoltottuk Drigalski táptalajra és véres agarra. Ezeket a mintákat elküldtük szerotipizálásra a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) Élelmiszer- és Takarmánybiztonsági Igazgatóság (ÉTbI) Salmonella Nemzeti Referencia Laboratóriumába.

4. Eredmények értékelése

Az vizsgált minták eredményeit az 1. és 2. számú táblázat tartalmazza. Összesen 90 hullót, 47 gyík és 43 kígyó bélsarát vagy környezetét vizsgáltuk meg. A vizsgált minták 11,1%-ából (10/90) lehetett Salmonellát kimutatni. Bár a Drigalski táptalaj szelektív és differenciáló táptalaj, mely a Gram pozitív baktériumokat gátolja és az *Enterobacteriaceae* családba tartozókat laktózbontó képességük alapján differenciálja, szelektivitása alacsonynak mondható. Vizsgálatunkban nem bizonyult elég szelektívnek, hogy előzetes felmérésként alkalmazzuk, mivel a kísérőflóra tagjai, melyek a laktózt képesek voltak bontani és gyorsabban tudtak osztódni, elfedték a *Salmonellára* jellemző telepmorfológiát és így nem kerültek a minták tovább a szelektív dúsításos eljárásához. A módszer változtatása után, a dúsításos eljárással a 30 mintából 10 mintában sikeresen tudtuk izolálni a *Salmonellát*. A 10 mintában egy *Salmonella* faj, a *Salmonella enterica* volt kimutatható, melyek 2 alfajba tartoztak, nevezetesen a *S. enterica subspecies enterica* (I.) és a *S. enterica subspecies diarizonae* (III.b). Összesen négy különböző szerotípust sikerült izolálni: *S. Matopeni*, *S. Oranienburg*, *S. enterica subsp. diarizonae* (III.b) 43:r:z₅₃ és a *S. enterica subsp. enterica* 45:b:--. Egy hullóból csak egy szerotípus lett kimutatva. A tíz hullóból egy hordozta a *S. Matopeni* szerotípust, egy a *S. enterica subsp. diarizonae* (III.b) 43:r:z₅₃-t, kettő kígyóban találtunk *S. Oranienburg* szerotípust és a leggyakoribb *S. enterica subsp. enterica* 45:b:-- típus, hat hullóból mutattuk ki.

A *S. Matopeni* szerotípus már okozott humán megbetegedéseket változó súlyossággal, főleg csecsemőkben és egyéves korú gyerekekben. Az esetek nagyobb részében a betegség hasmenés, hányás és láz tüneteivel jelentkezik. Azonban néhány esetben előfordultak komplikációk, mely során a vérbe és a központi idegrendszerbe is bejutott a kórokozó. Ezeknél az eseteknél meningitis és különböző komplikációk, mint például agyi vénás trombózis, görcsök vagy hydrocephalus alakult ki. Egy esetben hosszú távú következményei is lettek a meningitisnek, ami miatt a gyermek a fejlődésben visszamaradt és cerebrális parézis alakult ki nála. A *Salmonella* minden esetben ki lehetett mutatni a liquorból, de a vérből és bélsármintákból változó arányban lehetett izolálni a kórokozót (Lee et al, 1998; Lee et al, 1999).

A *S. Oranienburg* szintén képes emberi megbetegedéseket előidézni és súlyos szövődeményekkel is járhat, például szisztémás fertőzésnél görcsökkel és subdurális bevérzésekkel, de maradandó károsodásokat is okozhat (Lee et al, 1999). Több alkalommal

leírták már emberi megbetegedésekben, mint kórokozót, egyes esetekben még élelmiszerez eredetű járványokat is okozott (Whitten et al., 2015; Sumiyama et al., 2013). Kígyók szájüregi flórájának vizsgálata során is kimutatták már a szerotípust, mely a marások során átkerülhet az emberbe is (Dipineto et al., 2014).

A *S. enterica subsp. diarizonae* III.b 43:r:z₅₃ eddigi ismereteink szerint először lett kimutatva vörös gabonasiklóból (*Elaphe guttata*). A *diarizonae* (III.b)-t gyakran lehet izolálni hüllőkből és a tőlük származó emberi megbetegedésekben is gyakran kimutatott alfaj (Whitten et al., 2015).

A kutatás során sikerült kimutatnunk egy olyan szerotípust is, nevezetesen a *S. enterica subsp. enterica* 45:b:--, mely még nem szerepel a White-Kauffmann-Le Minor rendszerben (Grimont & Weill, 2007), sem a 2010-ben (No.47) , sem a 2014-ben (No.48) kiadott mellékletekben (Guibourdenche et al., 2010; Issenhuth-Jeanjean et al., 2014). Ez a vizsgálat is mutatja, hogy mennyire sok szerotípust foglal magába a *Salmonella* nemzetség, és hogy a világ minden táján folyamatosan fedeznek fel újabb és újabb szerotípusokat, bővítve minden évben a rendszert.

Kutatásunk megerősítette, hogy egészséges hüllőkben is nagy gyakorisággal fordul elő *Salmonella*. A szakirodalomhoz képest alacsonyabb számban tudtuk izolálni, de olyan szerotípusokat is hordozhatnak, melyek emberre potenciálisan veszélyesek (*S. Matopeni*, *S. Oranienburg*). Azoknál a családoknál, ahol csecsemő vagy 5 év alatti gyerek, 65 év feletti idős ember vagy gyenge immunrendszerrel rendelkező egyén van, a CDC (Center for Disease Control and Prevention) és ARAV (Association of Reptilian and Amphibian Veterinarian) útmutatókat és tájékoztatókat állítottak össze, hogy minél kisebb eséllyel fertőződhessenek meg a gyerekek vagy a felnőttek. Kisgyerekes családoknak nem is javasolják a hüllők tartását, mivel a közvetett fertőzés is nagy kockázatot hordoz, mivel a gyerekek higiéniai szokásai még nem alakultak ki, így például a hüllő megfogása után gyakran elmaradhat az alapos kézmosás (Bastos, 2012).

A feldolgozott szairodalom és a saját kutatás eredményei tehát arra engednek következtetni, hogy minden hüllőt *Salmonella*-hordozónak kell tekinteni és e szerint kell eljárni, hogy elkerüljük az általuk okozott, olykor az életet is veszélyeztető salmonellosisokat.

5. Összefoglalás

A *Salmonella* által okozott megbetegedések jelentős része a mai napig élelmiszer-eredetű, de az egyre növekvő hullóanyagok számával a hullóanyagokhoz kapcsolódó salmonellosisok (RAS) száma is megnövekedett. Vizsgálatunkban hullóanyag tulajdonosok egészséges állatainak bélsarát és néhány esetben környezetüket vizsgáltuk meg.

Hullóanyagokra még nem dolgoztak ki *Salmonella* izolálási protokollokat, de már sok tanulmányban többféle módszerrel próbálkoztak, változó eredményekkel. A Drigalski táptalaj használatával szerettük volna kiszűrni a *Salmonella*-gyanús mintákat, és a későbbiekben csak azokat a mintákat vizsgálni az elődúsítással kombinált szelektív dúsítási módszerrel. A Drigalski táptalaj nem hozta meg a hozzá fűzött reményeket – 60 vizsgált mintából egynél sem sikerült *Salmonellát* kimutatni – ezért a vizsgálat második felétől ezt elhagytuk és csak az elődúsítással kombinált szelektív dúsítási módszert használtunk. A *Salmonella* izolálására gyakran használt táptalajok közül a pufferolt peptonvíz (BPW), módosított félfolyékony Rappaport-Vasiliadis (MSRV) táptalaj és Xilóz-Lizin-Dezoxikolát (XLD) táptalajokat kombinálva tudtunk kimutatni *Salmonellát* bélsárból.

Az összes minta 11,11%-ában (10/90) volt észlelhető *Salmonella*-pozitivitás. A Drigalski táptalaj használatával 0/60 arányban, az elődúsítással kombinált szelektív dúsítási módszerrel 10/30 arányban lehetett kimutatni *Salmonellát*. Négy szerotípust izoláltunk vizsgálatunkban: *S. Matopeni*, *S. Oranienburg*, *S. enterica subsp. diarizonae* (III.b) 43:r:z₅₃ és a *S. enterica subsp. enterica* 45:b:--.

A *S. Matopeni* és a *S. Oranienburg* bizonyítottan képes súlyos megbetegedést okozni emberekben, kifejezetten csecsemőkben és 5 éves kor alatti gyerekekben. A szakirodalom alapján a *S. enterica subsp. diarizonae* (III.b) 43:r:z₅₃ először lett kimutatva vörös gabonasiklókból (*Pantherophis guttatus*), ez a szerotípus egy hullóanyagból gyakran kimutatott alfajba tartozik és az ide tartozó más szerotípusok bizonyítottan képesek emberi megbetegedést előidézni. A vizsgálat során kimutatott negyedik szerotípus, a *S. enterica subsp. enterica* 45:b:-- egy eddig még nem publikált, új szerotípus.

6. Summary

Most human salmonellosis cases are still foodborne, however with the increasing number of reptile owners, the number of reptile-associated salmonellosis (RAS) has also increased. In our study we investigated private reptile faeces or, in some cases, their environments.

Currently there is no isolation protocol for *Salmonella* from reptiles, but there have been other publications with various techniques and various results. We used Drigalski agar in order to preselect samples, which were found to be suspicious for *Salmonella*, for the combination of pre-enrichment, selective enrichment and selective isolation method. The Drigalski agar did not live up to expectations as we couldn't isolate *Salmonella* from 60 samples – therefore we left behind the Drigalski agar and used only the other method mentioned above. For this method, which we could successfully isolate *Salmonella* strains, we used buffered pepton water (BPW) for pre-enrichment, modified semisolid Rappaport-Vasiliadis (MSRV) medium for selective enrichment and Xylose-Lysine-Deoxycholate (XLD) agar as selective plating media because they are often used for the isolation of *Salmonella*.

11,11% (10/90) of samples were positive for *Salmonella*. The usage of Drigalski agar resulted in 0/60 positivity and the pre-enrichment with selective enrichment method isolated *Salmonella* from 10 out of 30 samples. Four serotypes were isolated: *S. Matopeni*, *S. Oranienburg*, *S. enterica subsp. diarizonae* (III.b) 43:r:z₅₃ and *S. enterica subsp. enterica* 45:b:--.

It has been published that *S. Matopeni* and *S. Oranienburg* can cause severe diseases in humans, especially in infants and young children under age five. According to the literature, *S. enterica subsp. diarizonae* (III.b) 43:r:z₅₃ was first isolated from corn snake (*Pantherophis guttatus*), which belongs to the subgenus that can be isolated from reptiles frequently and other serotypes of this subgenus can cause illness in human. The fourth isolated serotype in our study, *S. enterica subsp. enterica* 45:b:--, is a new, still unpublished serotype.

7. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, Gál János tanszékvezető úrnak és az Egzotikusállat- és Vadegészségügyi Tanszék munkatársainak a sok segítséget, amit a kutatás és a szakdolgozat elkészítése alatt nyújtottak, továbbá Orosi Zoltánnak, aki szintén sok segítséget nyújtott szakdolgozatom elkészültéig. Hálával tartozom a Patológiai Tanszéknek, különösképpen Pop Renáta szakasszisztensnek, hogy a vizsgálati minták tenyésztéséhez biztosították a feltételeket és további segítséget is nyújtottak. Végezetül a minták szerotipizálásáért köszönet jár Stréterné dr. Lancz Zsuzsanna laboratóriumvezetőnek. Végül szeretném megköszönni családomnak és Timár Zsófiának, akik végig támogattak e szakdolgozat megszületésében.

8. Irodalomjegyzék

- Bastos, Henrique Marçal, 2012: Salmonella Associated with Snakes (Suborder Serpentes). *Salmonella - Distribution, Adaptation, Control Measures and Molecular Technologies*, Dr Bassam Annous (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/30639, URL: <https://www.intechopen.com/books/salmonella-distribution-adaptation-control-measures-and-molecular-technologies/salmonella-associated-with-snakes-suborder-serpentes->
- Bauwens, L., Vercammen, F., Bertrand, S., Collard, J. M., & De Ceuster, S., 2006: Isolation of Salmonella from environmental samples collected in the reptile department of Antwerp Zoo using different selective methods. *Journal of applied microbiology*, 101.2, 284-289. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.02977.x, URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2006.02977.x/epdf>
- Berendes, T. D., Keijman, J. M. G., te Velde, L. F., & Oostenbroek, R. J., 2007: Splenic abscesses caused by a reptile-associated salmonella infection. *Digestive surgery*, 24.5, 397-399. DOI: 10.1159/000107718, URL: <https://www.karger.com/Article/PDF/107718>
- Bošnjak, I., Zdravković, N., Čolović, S., Randelović, S., Galić, N., Radojičić, M., Šekler, M., Aleksić-Kovačević, S., Krnjaić, D., 2016: Neglected zoonosis: The prevalence of Salmonella spp. in pet reptiles in Serbia. In *Vojnosanitetski pregled*, 73.10, 980-982. DOI: 10.2298/VSP160809222B URL: <http://scindeks-clanci.ceon.rs/data/pdf/0042-8450/2016/0042-84501610980B.pdf>
- Butler, D. A., Lobregat, C. M., & Gavan, T. L., 1975: Reproducibility of the analytab (API 20E) system. In *Journal of clinical microbiology*, 2(4), 322-326. URL: <http://jcm.asm.org/content/2/4/322.full.pdf>
- Cain, C. R., Tyre, D., Ferraro, D., 2009: Incidence of Salmonella on Reptiles in the Pet Trade, *RURALS: Review of Undergraduate Research in Agricultural and Life Sciences*, 4.1, 1. URL: <http://digitalcommons.unl.edu/rurals/vol4/iss1/1>
- CDC, 2011: National Salmonella Surveillance Overview. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, URL: https://www.cdc.gov/nationalsurveillance/pdfs/nationalsalmsurveilloverview_508.pdf
- Chen, C. Y., Chen, W. C., Chin, S. C., Lai, Y. H., Tung, K. C., Chiou, C. S., Hsu, Y.M., Chang, C. C., 2010: Prevalence and antimicrobial susceptibility of salmonellae isolates from reptiles in Taiwan. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 22.1, 44-50. DOI: 10.1177/104063871002200107, URL: <http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/104063871002200107>
- Cheng, B. Y., Wong, S. P., Dykes, G. A., 2014: Salmonella associated with captive and wild lizards in Malaysia. *Herpetology Notes*, 7, 145-147. URL: http://www.herpetologynotes.seh-herpetology.org/Volume7_PDFs/Cheng_HerpetologyNotes_volume7_pp145-147.pdf

- Corrente, M., Madio, A., Friedrich, K. G., Greco, G., Desario, C., Tagliabue, S., Tagliabue, S., D’Incau, M., Buonavoglia, C., 2004: Isolation of Salmonella strains from reptile faeces and comparison of different culture media. *Journal of Applied Microbiology*, 96,4, 709-715. DOI:10.1111/j.1365-2672.2004.02186.x, URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2004.02186.x/full>
- De Jong, B., Andersson, Y., Ekdahl, K., 2005: Effect of regulation and education on reptile-associated salmonellosis. *Emerging Infectious Diseases*, 11.3, 398. DOI: 10.3201/eid1103.040694, URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3298264/pdf/04-0694.pdf>
- Dipineto, L., Russo, T. P., Calabria, M., De Rosa, L., Capasso, M., Menna, L. F., Borelli, L., Fioretti, A., 2014: Oral flora of Python regius kept as pets. *Letters in applied microbiology*, 58.5, 462-465. DOI: 10.1111/lam.12214, URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/lam.12214/epdf>
- Dusch, H. & Altwegg, M., 1995: Evaluation of five new plating media for isolation of Salmonella species. *Journal of Clinical Microbiology*, 33.4, 802-804. URL: <http://jcm.asm.org/content/33/4/802.full.pdf>
- Food and Drug Administration, 2011: Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Second Edition. 9-13. URL: <https://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/>
- Gamazo, C. & Irache, J. M., 2007: Salmonella vaccines. *Communicating Current Research and Educational and Trends in Applied Microbiology* (A. Méndez-Vilas Editor), 518-524. URL: <http://www.formatex.org/microbio/pdf/Pages518-524.pdf>
- Gay, N., Le Hello, S., Weill, F. X., De Thoisy, B., Berger, F., 2014: Salmonella serotypes in reptiles and humans, French Guiana. *Veterinary microbiology*, 170.1, 167-171. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.01.024 URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113514000595>
- Geue, L. & Löschner, U., 2002: Salmonella enterica in reptiles of German and Austrian origin. *Veterinary microbiology*, 84.1, 79-91. DOI: 10.1016/S0378-1135(01)00437-0, URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113501004370>
- Gray T. Z. 2011: Update: Reptiles and Salmonella. *Journal of exotic pet medicine*, 20.1, 14-17. DOI: 10.1053/j.jepm.2010.11.005 URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1557506310002119>
- Grimont, P. A. & Weill, F. X., 2007: Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. WHO collaborating centre for reference and research on *Salmonella*, 9, 1-161. URL: https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf
- Guibourdenche, M., Roggentin, P., Mikoleit, M., Fields, P. I., Bockemühl, J., Grimont, P. A., Weill, F. X., 2010: Supplement 2003–2007 (No. 47) to the white-Kauffmann-Le Minor scheme.

- Research in microbiology*, 161.1, 26-29. DOI: 10.1016/j.resmic.2009.10.002, URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923250809001818>
- Hendriksen, R. S. & Larsen, J. N. (Eds.), 2004: Serotyping of *Salmonella enterica* O and H antigen. URL: http://antimicrobialresistance.dk/CustomerData/Files/Folders/6-pdf-protocols/59_salmonella4-pdf.pdf
- Hoelzer K, Moreno Switt AI, Wiedmann M., 2011: Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. *Veterinary Research*, 42:34, DOI: 10.1186/1297-9716-42-34, URL: <https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/1297-9716-42-34>
- Hydeskov, H. B., Guardabassi, L., Aalbæk, B., Olsen, K. E. P., Nielsen, S. S., Bertelsen, M. F., 2013: *Salmonella* prevalence among reptiles in a zoo education setting. *Zoonoses and public health*, 60.4, 291-295. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2012.01521.x, URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1863-2378.2012.01521.x/full>
- Inoue, K., Miki, K., Tamura, K., Sakazaki, R., 1996: Evaluation of L-pyrrolidonyl peptidase paper strip test for differentiation of members of the family Enterobacteriaceae, particularly *Salmonella* spp. *Journal of clinical microbiology*, 34.7, 1811-1812. URL: <http://jcm.asm.org/content/34/7/1811.full.pdf>
- Jay-Russell, M. T., Madigan, J. E., Bengson, Y., Madigan, S., Hake, A. F., Foley, J. E., Byrne, B. A., 2014: *Salmonella* Oranienburg isolated from horses, wild turkeys and an edible home garden fertilized with raw horse manure. *Zoonoses and public health*, 61.1, 64-71. DOI: 10.1111/zph.12043, URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/zph.12043/epdf>
- Kuroki, T., Ishihara, T., Furukawa, I., Okatani, A. T., Kato, Y., 2013: Prevalence of *Salmonella* in wild snakes in Japan. *Japanese journal of infectious diseases*, 66.4, 295-298. DOI: 10.7883/yoken.66.295, URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/yoken/66/4/66_295/pdf
- Lee, W. S., Puthuchery, S. D., Boey, C. C. M., 1998: Non-typhoid *Salmonella* gastroenteritis. *Journal of paediatrics and child health*, 34.4, 387-390. DOI: 10.1046/j.1440-1754.1998.00247.x, URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1440-1754.1998.00247.x/full>
- Lee, W. S., Puthuchery, S. D., Omar, A., 1999: *Salmonella* meningitis and its complications in infants. *Journal of paediatrics and child health*, 35.4, 379-382. DOI: 10.1046/j.1440-1754.1999.00387.x, URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1440-1754.1999.00387.x/full>
- Magnino, S., Colin, P., Dei-Cas, E., Madsen, M., McLauchlin, J., Nöckler, K., Miguel Maradona, M. P., Tsigarida, E., Vanopdenbosch, E., Van Peteghem, C., 2009: Biological risks associated with consumption of reptile products. *International journal of food microbiology*, 134.3, 163-175. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.001, URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160509003341>

- Mallinson, E. T., Miller, R. G., De Rezende, C. E., Ferris, K. E., de Graft-Hanson, J., Joseph, S. W., 2000: Improved plating media for the detection of Salmonella species with typical and atypical hydrogen sulfide production. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 12.1, 83-87. DOI: 10.1177/104063870001200119 URL: <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/104063870001200119>
- Mandal, P. K., Biswas, A. K., Choi, K., Pal, U. K., 2011: Methods for rapid detection of foodborne pathogens: an overview. *American Journal Of Food Technology*, 6.2, 87-102. DOI: 10.3923/ajft.2011.87.102, URL: <http://scialert.net/qredirect.php?doi=ajft.2011.87.102&linkid=pdf>
- Mikoleit, M. L., 2010: Biochemical Identification of Salmonella and Shigella Using an Abbreviated Panel of Tests. Version 002, updated 2015. URL: http://antimicrobialresistance.dk/CustomerData/Files/Folders/2-newsletter-pdf/20_07-gfn-biochem-v002-final-16oct2015.pdf
- Mitchell, M. A. & Shane, S. M., 2001: Salmonella in reptiles. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 10.1, 25-35, WB Saunders. DOI: 10.1053/saep.2001.19798, URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1055937X01800207>
- Moffatt, C. R., Lafferty, A. R., Khan, S., Krsteski, R., Valcanis, M., Powling, J., Veitch, M., 2010: Salmonella Rubislaw gastroenteritis linked to a pet lizard. *Med J Aust*, 193.1, 54-55. URL: https://www.mja.com.au/system/files/issues/193_01_050710/mof10136_fm.pdf
- Mughini-Gras, L., Heck, M., van Pelt, W., 2016: Increase in reptile-associated human salmonellosis and shift toward adulthood in the age groups at risk, the Netherlands, 1985 to 2014. *Eurosurveillance*, 21.34. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.34.30324, URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5144934/pdf/eurosurv-21-30324.pdf>
- Pedersen, K., Lassen-Nielsen, A. M., Nordentoft, S., Hammer, A. S., 2009: Serovars of Salmonella from captive reptiles. *Zoonoses and public health*, 56.5, 238-242. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2008.01196.x, URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1863-2378.2008.01196.x/full>
- Perez, J. M., Cavalli, P., Roure, C., Renac, R., Gille, Y., Freydiere, A. M., 2003: Comparison of four chromogenic media and Hektoen agar for detection and presumptive identification of Salmonella strains in human stools. *Journal of clinical microbiology*, 41.3, 1130-1134. DOI: 10.1128/JCM.41.3.1130-1134.2003, URL: <http://jcm.asm.org/content/41/3/1130.full.pdf>
- Piasecki, T., Chrzastek, K., Wieliczko, A., 2014: Salmonella serovar spectrum associated with reptiles in Poland. *Acta Veterinaria Brno*, 83.4, 287-294. DOI: 10.2754/avb201483040287, URL: https://actavet.vfu.cz/media/pdf/avb_2014083040287.pdf
- Pickett, M. J. & Goodman, R. E., 1966: β -Galactosidase for Distinguishing between Citrobacter and Salmonella. *Applied microbiology*, 14.2, 178-182. URL: <http://aem.asm.org/content/14/2/178.full.pdf>

- Public Health England, 2014: Detection of Salmonella species. Microbiology Services. Food, Water & Environmental Microbiology Standard Method FNES16 (F13); version 2. URL: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/330682/National_SOP_FNES16_F13_Detection_of_Salmonella_Species.pdf
- Public Health England, 2015: Identification of Salmonella species. UK Standards for Microbiology Investigations. ID 24 Issue 3. URL: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/443443/ID_24i3.pdf
- Romero, S. B., Knotek, Z., Čížek, A., Masaříková, M., Myšková, P., 2015: The incidence and antibiotic resistance of Salmonella species isolated from cloacae of captive veiled chameleons. *Acta Veterinaria Brno*, 84.3, 209-213. DOI: 10.2754/avb201584030209, URL: https://actavet.vfu.cz/media/pdf/actavet_2015084030209.pdf
- Romero, S. B., Kvapil, P., Čížek, A., Knotek, Z., 2016: The prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella species isolated from captive reptiles at Ljubljana zoo. *Slov Vet Res*, 53.1, 43-48. URL: https://www.researchgate.net/profile/Silvia_Barazorda_Romero/publication/302578229_The_prevalence_and_antimicrobial_resistance_of_Salmonella_species_isolated_from_captive_reptiles_at_Ljubljana_zoo/links/5799a88708aec89db7bb9ff7.pdf
- Sánchez-Vargas, F. M., Abu-El-Haija, M. A., Gómez-Duarte, O. G., 2011: Salmonella infections: an update on epidemiology, management, and prevention. *Travel medicine and infectious disease*, 9.6, 263-277. DOI: 10.1016/j.tmaid.2011.11.001 URL: [http://www.travelmedicinejournal.com/article/S1477-8939\(11\)00120-7/fulltext](http://www.travelmedicinejournal.com/article/S1477-8939(11)00120-7/fulltext)
- Snow, M., 2006: Preventing salmonella infection. *Nursing2016*, 36.9, 17. URL: http://journals.lww.com/nursing/Citation/2006/09000/Preventing_salmonella_infection.10.aspx
- Spickler, A. R., 2013: Reptile-Associated Salmonellosis, URL: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/reptile_associated_salmonellosis.pdf
- Sumiyama, D., Izumiya, H., Kanazawa, T., Murata, K., 2014: Salmonella Infection in Green Anoles (*Anolis carolinensis*), an Invasive Alien Species on Chichi Island of the Ogasawara Archipelago. *Japan. Journal of Veterinary Medical Science*, 76.3, 461-465. DOI: 10.1292/jvms.13-0217, URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jvms/76/3/76_13-0217/pdf
- Tuboly, S., Medveczky, I., Rusvai, M., Varga, J., Aranyosy, A., 1998: Állatorvosi járványtan I. Állatorvosi mikrobiológia, bakteriológia, virológia, immunológia. Budapest: Mezőgazda Kiadó. p. 100-110. URL: http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_521_Allatorvosi_jarvanytan1/ch02.html
- Varga, J., Tuboly, S., Mészáros, J., 2007: A háziállatok fertőző betegségei (Állatorvosi járványtan II.), Budapest, Mezőgazda Kiadó. p. 122-142. URL:

http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_521_Allatorvosi_jarvanytan2/c_h02s19.html

- Warwick, C., Lambiris, A. J., Westwood, D., & Steedman, C., 2001: Reptile-related salmonellosis. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 94.3, 124-126. DOI: 10.1177/014107680109400306, URL: <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/014107680109400306>
- Weiss, B., Rabsch, W., Prager, R., Tietze, E., Koch, J., Mutschmann, F, Roggentin, P., Frank, C., 2011: Babies and bearded dragons: sudden increase in reptile-associated *Salmonella enterica* serovar Tennessee infections, Germany 2008. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11.9, 1299-1301. DOI: 10.1089/vbz.2010.0239, URL: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/vbz.2010.0239>
- Whitten, T., Bender, J. B., Smith, K., Leano, F., Scheftel, J., 2015: Reptile-Associated Salmonellosis in Minnesota, 1996–2011. *Zoonoses and public health*, 62.3, 199-208. DOI: 10.1111/zph.12140, URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/zph.12140/full>
- Wikström, V. O., Fernström, L. L., Melin, L., Boqvist, S., 2014: *Salmonella* isolated from individual reptiles and environmental samples from terraria in private households in Sweden. *Acta veterinaria scandinavica*, 56.1, 7. DOI: 10.1186/1751-0147-56-7, URL: <https://actavetscand.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1751-0147-56-7?site=actavetscand.biomedcentral.com>
- Yoshida, C., Gurnik, S., Ahmad, A., Blimkie, T., Murphy, S. A., Kropinski, A. M., Nash, J. H., 2016: Evaluation of molecular methods for identification of *Salmonella* serovars. *Journal of clinical microbiology*, 54.8, 1992-1998. DOI:10.1128/JCM.00262-16 URL: <http://jcm.asm.org/content/54/8/1992.full.pdf>

9. Mellékletek

Táptalajok összetétele:

1. számú melléklet: Drigalski táptalaj

Összetétel:	gramm/liter
Pepton	15,000
Élesztő kivonat	3,000
Húskivonat	3,000
Nátrium-dezoxikolát	1,000
Nátrium-tioszulfát	1,000
Laktóz	15,000
Kristályibolya	0,005
Brómtimolkék	0,080
Agar	11,000
Végső pH (25°C)	7,4+/-0,2

2. számú melléklet: puffertolt peptonvíz (BPW)

Összetétel:	gramm/liter
Pepton	10,000
Nátrium-klorid	5,000
Dinátrium- hidrogén-foszfát, vízmentes	3,500
Kálium-dihidrogén-foszfát	1,500
Végső pH (25°C)	7,2+/-0,2

3. számú melléklet: módosított félfolyékony Rappaport-

Vassiliadis táptalaj (MSRV)

Összetétel:	gramm/liter
Tripton	4,590
Kazein hidrolizátum	4,590
Nátrium-klorid	7,340
Kálium-dihidrogén-foszfát	1,470
Magnézium-klorid, vízmentes	10,930

Malachitzöld-oxalát	0,037
Novobiocin	0.010
Agar	2,700
Végső pH (25°C)	5,2+/-0,2

4. számú melléklet: Xilóz-Lizin-Dezoxikolát táptalaj (XLD)

Összetétel:	gramm/liter
Élesztő kivonat	3,000
L-lizin	5,000
Laktóz	7,500
Szacharóz	7,500
Xilóz	3,500
Nátrium-klorid	5,000
Nátrium-dezoxikolát	2,500
Nátrium-tioszulfát	6,800
Vas-ammónium-citrát	0,800
Fenol vörös	0,080
Agar	15,000
Végső pH (25°C)	7,4+/-0,2

1. számú táblázat

Drigalski táptalaj használatával kapott eredmények					
Sor- szám	Alrend	Faj	Drigalski táptalajon	Szelektív tenyésztés	Szerotípus
1.	<i>Sauria</i>	<i>Timon lepidus</i>	negatív	-	-
2.		<i>Timon lepidus</i>	negatív	-	-
3.		<i>Eublepharis macularius</i>	negatív	-	-
4.		<i>Diplodactylus granariensis rex</i>	negatív	-	-
5.		<i>Diplodactylus granariensis rex</i>	negatív	-	-
6.		<i>Diplodactylus granariensis rex</i>	negatív	-	-
7.		<i>Diplodactylus tessellatus</i>	negatív	-	-
8.		<i>Diplodactylus tessellatus</i>	negatív	-	-
9.		<i>Coleonyx brevis</i>	negatív	-	-
10.		<i>Coleonyx variegatus</i>	negatív	-	-
11.		<i>Pachydactylus rangei</i>	negatív	-	-
12.		<i>Teratoscincus keyserlingii</i>	negatív	-	-
13.		<i>Correlophus ciliatus</i>	negatív	-	-
14.		<i>Correlophus ciliatus</i>	negatív	-	-
15.		<i>Hemidactylus imbricatus</i>	negatív	-	-
16.		<i>Hemidactylus imbricatus</i>	negatív	-	-
17.		<i>Paroedura picta</i>	negatív	-	-
18.		<i>Paroedura picta</i>	negatív	-	-

19.	<i>Paroedura picta</i>	negatív	-	-
20.	<i>Paroedura picta</i>	negatív	-	-
21.	<i>Paroedura picta</i>	negatív	-	-
22.	<i>Paroedura picta</i>	negatív	-	-
23.	<i>Paroedura picta</i>	negatív	-	-
24.	<i>Gekko gecko</i>	negatív	-	-
25.	<i>Varanus acanthurus</i>	negatív	-	-
26.	<i>Diplodactylus galeatus</i>	negatív	-	-
27.	<i>Gonatodes antillensis</i>	negatív	-	-
28.	<i>Eublepharis macularius</i>	negatív	-	-
29.	<i>Eublepharis macularius</i>	negatív	-	-
30.	<i>Eublepharis macularius</i>	negatív	-	-
31.	<i>Eublepharis macularius</i>	gyanús	negatív	-
32.	<i>Eublepharis macularius</i>	gyanús	negatív	-
33.	<i>Physignathus cocincinus</i>	negatív	-	-
34.	<i>Physignathus cocincinus</i>	negatív	-	-
35.	<i>Chamaeleo calypttratus</i>	negatív	-	-
36.	<i>Chamaeleo calypttratus</i>	negatív	-	-
37.	<i>Furcifer pardalis</i>	negatív	-	-
38.	<i>Furcifer pardalis</i>	negatív	-	-
39.	<i>Furcifer pardalis</i>	gyanús	negatív	-

40.		<i>Goniurosaurus luii</i>	negatív	-	-
41.		<i>Goniurosaurus lichtenfelderi</i>	gyanús	negatív	-
42.		<i>Goniurosaurus hainanensis</i>	negatív	-	-
43.		<i>Eublepharis macularius</i>	negatív	-	-
44.		<i>Eublepharis macularius</i>	negatív	-	-
45.		<i>Phelsuma grnadis</i>	gyanús	negatív	-
46.		<i>Correlophus ciliatus</i>	gyanús	negatív	-
47.		<i>Chamaeleo calyptratus</i>	negatív	-	-
48.	Serpentes	<i>Lampropeltis alterna blairi</i>	negatív	-	-
49.		<i>Lampropeltis getula californiae</i>	negatív	-	-
50.		<i>Lampropeltis alterna blairi</i>	negatív	-	-
51.		<i>Pantherophis guttatus</i>	negatív	-	-
52.		<i>Pantherophis guttatus</i>	negatív	-	-
53.		<i>Pantherophis guttatus</i>	negatív	-	-
54.		<i>Pantherophis guttatus</i>	negatív	-	-
55.		<i>Pantherophis guttatus</i>	negatív	-	-
56.		<i>Pantherophis guttatus</i>	negatív	-	-
57.		<i>Naja kaouthia</i>	negatív	-	-
58.		<i>Lacheris muta</i>	negatív	-	-
59.		<i>Crotalus horridus atricaudatus</i>	negatív	-	-
60.		<i>Morelia spilota variegata</i>	negatív	-	-

2. számú táblázat

Csak szelektív tenyésztés eredményei					
61.	<i>Serpentes</i>	<i>Pantherophis guttatus</i>	-	gyanús	<i>S. Matopeni</i>
62.		<i>Pantherophis guttatus</i>	-	gyanús	<i>S. enterica ssp. diarizonae</i> (III.b) 43:r:z53
63.		<i>Pantherophis guttatus</i>	-	negatív	-
64.		<i>Pantherophis guttatus</i>	-	gyanús	<i>S. enterica ssp. enterica</i> 45:b:--
65.		<i>Pantherophis guttatus</i>	-	negatív	-
66.		<i>Pantherophis guttatus</i>	-	negatív	-
67.		<i>Pantherophis guttatus</i>	-	negatív	-
68.		<i>Pantherophis guttatus</i>	-	negatív	-
69.		<i>Pantherophis guttatus</i>	-	negatív	-
70.		<i>Pantherophis guttatus</i>	-	negatív	-
71.		<i>Lampropeltis getula brooksi</i>	-	gyanús	<i>S. enterica ssp. enterica</i> 45:b:--
72.		<i>Lampropeltis getula brooksi</i>	-	negatív	-
73.		<i>Lampropeltis getula brooksi</i>	-	negatív	-
74.		<i>Lampropeltis getula brooksi</i>	-	negatív	-
75.		<i>Lampropeltis triangulum hondurensis</i>	-	negatív	-
76.		<i>Lampropeltis triangulum sinaloae</i>	-	negatív	-
77.		<i>Lampropeltis getula californiae</i>	-	gyanús	<i>S. enterica ssp. enterica</i> 45:b:--
78.		<i>Lampropeltis getula californiae</i>	-	negatív	-

79.	<i>Lampropeltis triangulum nelsoni</i>	-	gyanús	<i>S. enterica ssp. enterica</i> 45:b:--
80.	<i>Lampropeltis triangulum nelsoni</i>	-	negatív	-
81.	<i>Lampropeltis mexicana</i>	-	gyanús	<i>S. enterica ssp. enterica</i> 45:b:--
82.	<i>Lampropeltis mexicana</i>	-	negatív	-
83.	<i>Lampropeltis ruthveni</i>	-	negatív	-
84.	<i>Lampropeltis getula splendida</i>	-	gyanús	<i>S. enterica ssp. enterica</i> 45:b:--
85.	<i>Gongylophis colubrinus loveridgei</i>	-	negatív	-
86.	<i>Hydrodynastes gigas</i>	-	gyanús	nem Salmonella
87.	<i>Elaphe carinata</i>	-	negatív	-
88.	<i>Vipera ammodytes</i>	-	gyanús	<i>S. Oranienburg</i>
89.	<i>Aspidelaps lubricus infuscatus</i>	-	gyanús	<i>S. Oranienburg</i>
90.	<i>Lampropeltis alterna blairi</i>	-	gyanús	nem Salmonella

Konzulensi ellenjegyzés

Alulírott dr. Gal János..... Igazolom, hogy

Kovács Ákos..... (a hallgató neve)

Salmonella szerotípusok kimutatása húllék bélsaraból és
közegészségügyi jelentőségük

című szakdolgozatát ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2018. nov. 23.

dr. Gal János



a témavezető neve és aláírása

Egyetemkórház - és

Vadegészségügyi Tanszék

tanszék

HuVetA
ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: ... Kovács Akos
Elérhetőség (e-mail cím): ... kovacs.akos9216@gmail.com
A feltöltendő mű címe: ... Szakmai munka kiemelt részei hűllők
belső és közértesítésű jelentésük
A mű megjelenési adatai: ... 2017, Budapest
Az átadott fájlok száma: ... 1

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédt PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyeznek, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyag rész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg **(egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel)**:

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címekre) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:



Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénytörtő módon visszaélne.

Budapest, 2017. év11.....hó ...24...nap



aláírás
szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetA Magyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutjra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltatassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*