

**Mycoplasma infections
of ducks and geese**D. Grózner¹
M. Gyuranecz^{1,2*}1. MTA Agrártudományi Kutatóközpont
Állatorvos-tudományi Intézet
H-1143 Budapest, Hungária krt. 21.2. Állatorvostudományi Egyetem
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék
H-1143 Budapest, Hungária krt. 23-25.

*e-mail: m.gyuranecz@gmail.com

Kacsák és ludak *Mycoplasma*-fertőzéseiGrózner Dénes¹, Gyuranecz Miklós^{1,2*}**ÖSSZEFOGLALÁS**

A szerzők összefoglalják a vízibarmfajok mycoplasmosisainak legjelentősebb kórokozóiról: a *Mycoplasma anatis*, *M. anseris*, *M. cloacale* és *M. sp. 1220* fajokról rendelkezésre álló legfontosabb ismereteket. Bemutadják, hogy a fent említett fajok gyakran okoznak megbetegedéseket, amelyek kialakulása és mértéke nagyban függ az állomány állategészségügyi státuszától és tartási körülményeitől. Megállapítják, hogy az oki diagnózis felállítása molekuláris biológiai módszerekkel lehetséges, valamint a fertőzött állományok antibiotikumos gyógykezelésével csökkenthető a *Mycoplasma*-fertőzés okozta gazdasági kár.

SUMMARY

Background: *Mycoplasma anatis*, *M. anseris*, *M. cloacale* and *M. sp. 1220* colonise geese and ducks, and could be associated with diseases of respiratory and nervous systems in waterfowl. The major symptoms are mild to severe inflammation of the cloaca and genital tracts, decreased egg production and embryo lethality.

Objectives: The aim of this review is to summarise the recent knowledge about *M. anatis*, *M. anseris*, *M. cloacale* and *M. sp. 1220* from aspects of veterinary interest.

Materials and Methods: Review of the published literature. References for this review were identified by searches of PubMed, Web of Science and Google Scholar using the terms “Mycoplasma”, “Mycoplasma anatis”, “Mycoplasma anseris”, “Mycoplasma cloacale”, “Mycoplasma sp. 1220”, “duck”, “goose”.

Results and Discussion: The concerned *Mycoplasma* species co-occur in waterfowl frequently and they have a significant role in the economic losses of the goose and duck industry. However, the literature concerning epidemiology or pathogenesis is lacking. The examined species could be isolated from animals without any clinical signs, but the high isolation rate and experimental studies clearly confirm the pathogenicity of the bacteria. *M. anatis* and *M. sp. 1220*, along with *M. anseris* and *M. cloacale* are in close genetic relationship and their biochemical properties are undistinguishable. Therefore, cultivation is unsuitable for the exact diagnosis. Fast and cost-efficient molecular methods are available for the species level identification. Since there is no commercially available vaccine against these *Mycoplasma* species, adequate housing and appropriate antibiotic treatment can be applied for the control of the infections. The different antibiotic resistance profiles of the *M. anseris* and *M. sp. 1220* isolates highlight the importance of the determination of the antibiotics' minimal inhibitory concentrations in each case, in order to prevent the development of multidrug resistance.

A *Mycoplasma anatis*, a *M. anseris*, a *M. cloacale* és a *M. sp. 1220* (*M. anserisalpingitis*) vízibarmfi-patogén baktériumok. Elsősorban a kloáka és nemi szervek gyulladását, valamint idegrendszeri és légzőszervi tüneteket okoznak, továbbá csökkenthetik a tojástermelést és növelhetik az embriómortalitást is. Az okozott gazdasági károk már önmagukban is jelentősek, de bakteriális vagy vírusos társfertőzésekkel együtt igen nagyok lehetnek. Az említett fajok nagyon gyakran együtt fordulnak elő az egyes állományokban.

A vízibarmfi-félék mycoplasmosisai jelentős gazdasági károkat okozhatnak

A vízibarmfi-félék mycoplasmosisairól kevés ismerettel rendelkezünk. A publikációk többsége az 1980-as, '90-es évekből származó esetismertetések, amelyek a fertőzött állományokban megfigyelt klinikai tünetek ismertetéseiről és/vagy az izolált baktériumfajok leírásairól szólnak. Kevés adattal rendelkezünk a fertőzések járványtanáról, kórfejlődésükről pedig nincsenek ismereteink. A tárgyalt *Mycoplasma*-fajok közül elsősorban a legnagyobb gazdasági kárt kiváltó *M. sp. 1220* által okozott tünetekről és elváltozásokról találunk leírásokat. A bemutatott fajokkal szemben kereskedelmi forgalomban kapható vakcina nem áll rendelkezésre, így a védekezés alapját a megfelelő tartási körülmények megteremtése jelentheti. Több helyen autovakcinát is alkalmaznak a védekezésben. A megbetegedett állományokban a kártételt célzott antibiotikum-kezeléssel lehet csökkenteni.

KÓROKTAN

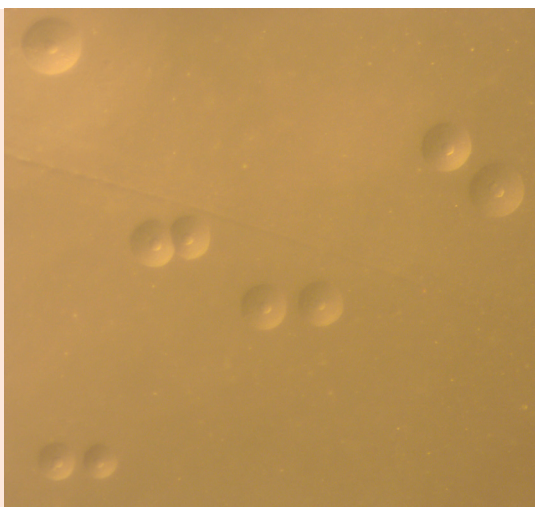
A *M. anatis* főleg kacsákban fordul elő, a *M. sp. 1220* inkább libában

A *Mycoplasma anatis*, *M. anseris*, *M. cloacale* és *M. sp. 1220* fajok a rendszertani besorolás alapján a Mollicutes osztályon belül a Mycoplasmatales rendbe, azon belül is a Mycoplasmataceae családba tartoznak (13). Az egyes fajokat tenyésztési, biokémiai és szerológiai tulajdonságaik, valamint genomszerkezetük alapján különítik el egymástól. Szűk gazdaspektrummal rendelkező, úgynevezett stenoxen kórokozók (23). A *M. anatis* főleg kacsákban fordul elő, lúdból és egyéb vízi szárnyasból ritkábban mutatható ki (1, 3, 18, 42). A *M. sp. 1220* éppen ellenkezőleg, lúdból rendkívül gyakran kimutatható, míg kacsából eddig csak néhány esetben izolálták (18, 42). A *M. anseris* csak a ludakat fertőzi meg, míg a *M. cloacale* egyéb madarakban is előfordul (8, 42). A *M. anseris*, *M. cloacale* és *M. sp. 1220* fajok együttes előfordulása ludakban gyakran megfigyelhető (18, 20, 42). Mivel a beteg állatokból gyakran egy-nél több faj is kimutatható, nehezen határozható meg a tényleges kórokozó baktérium és annak szerepe (12, 40, 43).

A *M. anseris* csak a ludakat fertőzi meg, míg a *M. cloacale* egyéb madarakban is előfordul

A vízibarmfi-patogén fajok közül kettőt Magyarországon izoláltak először. Az 1980-as években a mai MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézetében azonosítottak két, lúdból izolált *Mycoplasma*-törzset, amelyek a biokémiai és szerológiai tulajdonságaik alapján nem hasonlítottak egyik akkoriban ismert fajhoz sem (44). Ezek közül az egyik törzset pár évvel később, mint új fajt írták le, és a *M. anseris* nevet kapta (7). A másik, 1220-assal jelzett törzset egyes publikációkban *M. anserisalpingitis*-nek nevezik, ám ennek a fajnak a hivatalos leírása még várat magára.

A vízibarmfi-patogén fajok a többi *Mycoplasma*-fajhoz képest gyorsan szaporodó baktériumok. A *M. anatis* és a *M. sp. 1220* törzsek folyékony tápközegben már 1–2 nap után színváltozást mutatnak, de a *M. anseris* és a *M. cloacale* törzsek is 2–3 nap alatt elszaporodnak. Táptalajon mind a négy faj 1–3 nap alatt a *Mycoplasma*-fajokra jellemző tükörtojás alakú telepeket képez (1. ábra). A négy kórokozó közül kettő-kettő azonos biokémiai



1. ÁBRA. *Mycoplasma sp. 1220* telepek

FIGURE 1. *Mycoplasma sp. 1220* colonies

tulajdonságokkal és hasonló genomméretekkel rendelkeznek. A *M. anatis* és a *M. sp. 1220* glükózt fermentálnak és kb. 950 000 bp a teljes genomméretük, míg a *M. anseris* és a *M. cloacale* arginint hidrolizáló fajok és 660 000–750 000 bp méretű genommal rendelkeznek (15, 16, 44).

Kacsákból és libákból a tárgyalt négy fajon kívül sporadikusan kimutattak egyéb *Mycoplasma*-fajokat is; *M. gallinarum*-ot (39), *M. glycyphilum*-ot (41), *M. imitans*-t (41), *M. iners*-t (3), *M. lipofaciens*-t (3) és *M. synoviae*-t (4). *M. gallisepticum*-ot is izoláltak már tünetmentes kacsákból (22) és beszámoltak egy esetről, ahol összefüggést találtak a baktérium jelenléte és ludak idült légzőszervi megbetegedése között (26).

JÁRVÁNYTAN

A zsúfoltság és a zárt tartás elősegíti a kórokozó terjedését

A *Mycoplasma*-fajok a nagyüzemi állattartás során jelentős gazdasági károkat képesek okozni akár önállóan, akár társfertőzésekkel együtt (33, 41). A zsúfoltság és a zárt tartás elősegíti a kórokozó terjedését, míg a félintenzív tartás mérsékelheti a fertőzöttség mértékét (41). Az állományok stresszhelyzetben, pl. szállítás során, hideg hónapokban vagy a szexuálisan aktív időszakban érzékenyebbek a fertőzésre (21, 36, 41). A vízibaromfi-félékben megfigyelhető *Mycoplasma*-fertőzések terjedhetnek horizontálisan. Mycoplasmosis okozta kloáka- és phallusgyulladásban szenvedő gúnarak eltávolítását követően az új, korábban *Mycoplasma*-fajoktól mentes és klinikailag tünetmentes hímekben is pár hónapon belül kimutatták a *M. anseris*, *M. cloacale* és *M. sp. 1220* fajok jelenlétét (43). A vertikális *Mycoplasma*-fertőzés kacsákban és ludakban is ismert vagy kísérletesen bizonyított (12, 14, 34, 38, 41). *M. anatis* és *M. cloacale* törzseket izoláltak amerikai vadkacsákból is, ám nem tartják valószínűnek, hogy a haszonállatok vadmadaraktól fertőződhetnének (14).

A *Mycoplasma*-fertőzések terjedhetnek horizontálisan és vertikálisan is

Mycoplasma-fajok jelenlétét kimutatták már vírusos vagy egyéb, bakteriális fertőzések során is, ám a kórokozók tényleges szerepe nem tisztázott a tünetek és a betegség kialakulásában. Ormelléküreg-gyulladásban szenvedő kacsákból *M. anatis* és influenza A vírustörzset izoláltak, majd fertőzési kísérletben próbálták reprodukálni a betegség kialakulását. Ha a *Mycoplasma*- és az influenzatörzssel egyidejűleg, vagy először a vírussal, majd ezt követően a baktériummal fertőzték az egészséges kacsákat, nem észleltek elváltozást a madarakban. Ellenben, ha először a *M. anatis*-szal, majd ezt követően az influenza A vírustörzssel fertőzték az állatokat, légzőszervi tünetek megjelenését figyelték meg és *Mycoplasma*-specifikus ellenanyagot mutattak ki az állatok véréből (33). Továbbá azt is megfigyelték, hogy a *M. anatis*-szal fertőzött kacsák fogékonyabbak *Pasteurella multocida* fertőzésre (46). Phallusgyulladásban szenvedő gúnarakban szintén összefüggést találtak az egyes *Mycoplasma*-fajok (*M. anseris* és *M. cloacale*) és a *P. multocida* jelenléte között (10).

Gyakran mutathatók ki vírusos vagy bakteriális társfertőzésekben

KÓRFEJLŐDÉS

A baromfipatógén *Mycoplasma*-fajok különböző virulenciafaktorokon keresztül fejtik ki fertőző képességüket (5). A tyúk- és pulykaágazatban gazdasági károkat okozó *M. synoviae*-ban és *M. gallisepticum*-ban, továbbá egy hullőpatogén *Mycoplasma*-fajban összefüggést találtak a baktérium neuraminidáz-aktivitása, valamint a fajok invazív tulajdonsága és virulenciája között (5, 9). Azonban ez az enzimaktivitás nem a baktériumfajra, hanem az adott izolátumra jellemző tulajdonság. Az egyes törzsek eltérő értékekkel rendelkezhetnek. A súlyos klinikai tüneteket mutató állatokból kitenyésztett *M. synoviae* és *M. gallisepticum* törzsek neuraminidázaktivitás-értékei sokkal nagyobbak, mint azon törzsekéi, amelyeket enyhébb tüneteket mutató állatokból izoláltak (5, 25,

A törzsek neuraminidáz-aktivitása virulenciafaktorok tekinthető

28, 29, 48). Neuraminidáz-aktivitásukban eltérést mutatnak a vízibaromfi-patogén *Mycoplasma*-törzsek. A *M. anatis* típus törzset klinikai tüneteket mutató kacsból izolálták, a neuraminidáz-enzime azonban nem mutat aktivitást (5, 33). Egy másik, klinikai tüneteket mutató állatból izolált *M. anseris* törzs mérsékelt enzimaktivitást mutat (5, 7). A kórtani jelentőséggel nem rendelkező *M. cloacale* típus törzs gyenge neuraminidáz-aktivitást mutat (5, 6).

TÜNETEK

A *M. anatis* fiatal kacsákban nehézlégzést, hasmenést, lábgyengeséget és idegrendszeri tüneteket okoz

A *M. anatis* fiatal kacsákban nehézlégzést, hasmenést, lábgyengeséget és az állatok leülését okozza. Idegrendszeri tünetek is jellemzőek, úgymint egyensúlyzavarok, retrográd mozgás, ferde nyak- és fejtartás. Mind házikacsa-, mind vadkacsa-állományokban megnövekedhet az elhullás mértéke (14, 21). A tojások *M. anatis*-szal történő kísérletes fertőzését követően a termékeny tojások számának csökkenését, az embriómortalitást emelkedését, a kelési százalék csökkenését, valamint a kikelt egyedek csökkent testtömegét figyelték meg (34, 37).

A *M. anseris*, a *M. cloacale* és a *M. sp. 1220* gúnarokban főleg kloáka- és nemi szerv-gyulladást okoznak

A *M. anseris*, a *M. cloacale* és a *M. sp. 1220* gúnarokban főleg kloáka- és nemi szerv-gyulladást okoznak, ezek közül is a *M. sp. 1220*-t tartják a leginkább patogén fajnak. A phallus vörös, ödémás lesz, később elhal és elüszkösödik (2. ábra), ezzel együtt pedig csökken az állatok szexuális aktivitása. A kloáka fibrines váladékkal telhet meg (2, 7, 41). Kötőhártyagyulladás, könnyezés, levertség és az állatok elhullása is megfigyelhető, amely főleg *M. anseris* és *M. sp. 1220* fertőzéssel hozható összefüggésbe (12). Csökken a tojástermelés, nő a terméketlen tojások száma, nő az embrióelhullás és rendellenesen kinéző tojások is megfigyelhetők *M. anseris*, *M. cloacale* és *M. sp. 1220* fertőzés esetén (12, 41, 43). A fiatal utódoknál orrfolyás, köhögés, nehézlégzés, könnyezés, kötőhártyagyulladás, megnövekedett morbiditás és mortalitás utalhat *M. anseris* és *M. sp. 1220*

A fertőzés nyomán csökken a tojástermelés, nő a terméketlen tojások száma és az embrióelhullás



2. ÁBRA. Phallusgyulladás (THUMA Ákos felvétele) és elhalt phallus

FIGURE 2. Phallus inflammation (photo taken by Ákos THUMA) and necrotized phallus

okozta fertőzésre. Az állatok nehezen mozognak, lábgyengeség, leülés látható. Egyes állatoknál remegést és ferde nyaktarást is megfigyeltek. Étvágytalanság, hasmenés, ebből kifolyólag gyengeség és a testtömeg-gyarapodás elmaradása tapasztalható. Az állatok növekedésben való visszamaradása a későbbiekben is megfigyelhető (40, 41).

Mesterségesen fertőzött tojókból, a fertőzést követő hónapban, a terméketlen tojások számának növekedését figyelték meg. A második hónaptól a tojástermelés is visszaesett. Szignifikáns eltérést tapasztaltak a tojók testtömegében is a kontroll állatokéhoz képest. A fertőzött tojóktól származó kislibák tömege elmaradt a kontroll csoport tagjaihoz viszonyítva és a későbbiekben is szignifikánsan gyengébb volt a testtömeg gyarapodásuk (12, 38). *M. sp. 1220* törzssel végzett *in ovo* fertőzés után az embriók átlagmérete szignifikánsan kisebb volt és a napos kori elhullás is megemelkedett. Napos állatok fertőzését követően náthát figyeltek meg (45).

KÓRBONCTAN

***M. anatis*-szal fertőzött kacsák légcsákjaiban, a hashártyáján és a szívburkán fibrines felrakódás figyelhető meg és idegrendszeri tüneteket okoz**

M. anatis-szal fertőzött kacsák légcsákjaiban, a hashártyáján és a szívburkán fibrines felrakódás figyelhető meg. A tüdő bővérű és ödémás, az orrkagylók nyálkahártyája duzzadt és hurutos váladékkal telt. A belek bővérűek és a máj megnagyobbodhat. Fibrines petevezető-gyulladás is megfigyelhető. Az idegrendszeri tüneteket mutató állatoknál gyulladással járó beszűrődés figyelhető meg az agytörzs, az agykéreg és a kisagy agyhártyájában (21, 37). Intracerebrálisan végzett mesterséges fertőzést követően a *M. anatis* hatására elváltozásokat figyeltek meg a tüdőben, a savóshártyákon, a légcső- és az orrkagyló-nyálkahártyában, továbbá az előbb említett agyi területeken (21).

***M. sp. 1220* fertőzéskor a phallus nyirokerének savós-fibrines gyulladása, majd a szerv elhalása látható**

M. sp. 1220 fertőzéskor a phallus nyirokerének savós-fibrines gyulladása, a mirigyes részek gyulladása, a fityma elváltozása és heresorvadás figyelhető meg. Végül pedig a nemi szerv elhal (2. ábra). Előfordul, hogy a külső vizsgálat során nem lehet elváltozásokat észlelni. Gyakran a fertőzött libákban légcsákgyulladást, hashártyagyulladást és szívburkagyulladást lehet megfigyelni (41, 43). A húgy- és nemi utak több részén gyulladással járó izmalmány, sejtbeszűrődés, szöveti elváltozások, főleg petevezető-gyulladás és degenerált tüszők jelenhetnek meg. Egyes esetekben a máj portális ereinél heterophil granulocytás és lymphocytás beszűrődés látható (12, 38). A fertőzött szülőktől származó utódokban fibrines felrakódás figyelhető meg a légcsákokban és a szívburkokban, a légcső és az orrmelléküregek savós váladékot tartalmaznak, a tüdő ödémás, akár vérzéseket is tartalmazhat. Gyulladással járó beszűrődések figyelhetők meg a szívburkokban, a légcsákokban és a savós hártyák alatt. A kislibák izületei is megduzzadhatnak. Idegrendszeri tüneteket mutató állatok agyveléjében gyulladással járó beszűrődés tapasztalható (40, 41).

Mesterséges fertőzést követően libákban légcsák- és savóshártya-gyulladást, továbbá a hashártyához tapadt tüszőket figyeltek meg. Ezen állatok utódaiban főleg légcsák-, tüdő- és köldökgyulladást tapasztaltak (12, 38). Tojások *M. sp. 1220* törzssel történő mesterséges fertőzését követően a chorioallantois-membrán megvékonyodott, ödémás volt. Több szervben is heterophil granulocytás beszűrődést és bővérűséget figyeltek meg, a máj enyhén duzzadt volt. A parabronchusok és a bronchiolusok savós-fibrines váladékkal telítődtek. A kikelt kislibák savóshártyáin, a főbb légutakban és orrkagylóikban gyulladással járó beszűrődés volt megfigyelhető. A bursa Fabricii és a thymus külső részének tüszői elsorvadtak. Napos madarak fertőzése után az orrnyálkahártya elváltozását és gyulladással járó beszűrődéseket figyeltek meg a légutakban és a mellhártyán (45).

KÓRJELZÉS

A kórokozók kimutatása történhet tenyésztéses, vagy PCR-vizsgálatokkal

A vízibarmfi-patogén *Mycoplasma*-fajok kimutatására és meghatározására főleg a biokémiai tulajdonságokon alapuló tesztek és molekuláris biológiai módszerek állnak rendelkezésre. Irodalmi adatok alapján ezek a kórokozók kitenyésztethetők az állatok kloákájából, nemi szerveiből, spermájából, légzőszerveiből, ritkán agyvelejéből, savóshártyáiról és májából is, továbbá a fertőzött embriókból (4, 12, 14, 18, 20, 21, 22, 37, 40, 41, 43). A szexuálisan aktív időszak előre haladtával nő a *M. sp. 1220* izolálási aránya gúnarak phallusnyirkából (43). Élő állatok esetében a leggyakrabban alkalmazott mintavételi eljárás a kloakatampon, a légsötampon és hím állatok esetében a phallusnyirok- (3. ábra) és spermavétel. A minták mindegyike használható mikrobiológiai tenyésztésre és DNS-kivonásra is. A nevezett *Mycoplasma*-fajok néha izolálhatóak klinikailag egészséges állatokból is, így elképzelhető, hogy a normál flóra részét képező fakultatív patogén baktériumokról van szó (3, 20, 36, 43).

3. ÁBRA. Nyirokvétel a phallusból

FIGURE 3. Phallus lymph sampling

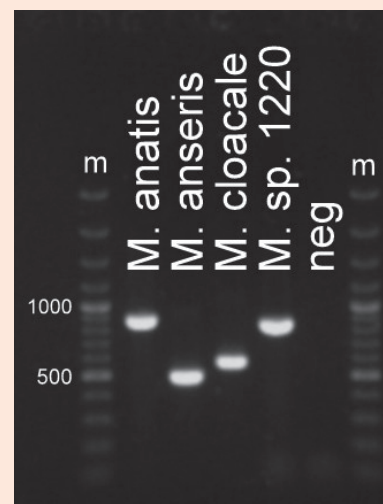


4. ÁBRA. Vízibarmfi-patogén *Mycoplasma*-fajok fajspecifikus PCR-termékei

Rövidítések: m – molekula tömeg marker (GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA); neg – negatív kontrol (18)

FIGURE 4. Sizes of the PCR amplicons of waterfowl pathogen *Mycoplasma* species generated by the species-specific PCR assays

Abbreviations: m – molecular weight marker (GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA); neg – negative control (18)



Szerológiai próbákkal azonosíthatók a vízibarmfi-patogén *Mycoplasma*-fajok (33, 44), ellenben ezek a tesztek kevésbé megbízhatóak, és keresztreakció is előfordulhat az egyes fajok között.

Kacsákból és libákból gyűjtött mintákból a *Mycoplasma*-fajok polimeráz láncreakcióval (PCR) is kimutathatóak. Több genus-specifikus PCR-rendszer is a bak-

teriális genom 16S rRNS génjét vagy a 16S–23S rRNS intergenikus transzkripció szakaszát célozza meg (24, 30, 31, 32). A vízibarmfi-patogén *Mycoplasma*-fajpárokknak (*M. anatis* és *M. sp. 1220*; *M. anseris* és *M. cloacale*) azonban annyira hasonló a DNS-szekvenciájuk, hogy ezek a PCR-rendszerek vagy nem nyújtanak lehetőséget a fajok meghatározására vagy a PCR-termék bázisszortrendjének a meghatározása szükséges a faj szintű azonosításhoz (18, 36, 47). Ennek orvoslására kutatócsoportunk az elmúlt időszakban fajspecifikus PCR-rendszereket fejlesztett ki a *M. anatis*, *M. anseris*, *M. cloacale* és *M. sp. 1220* fajok klinikai mintákból történő kimutatására (4. ábra) (18).

GYÓGYKEZELÉS

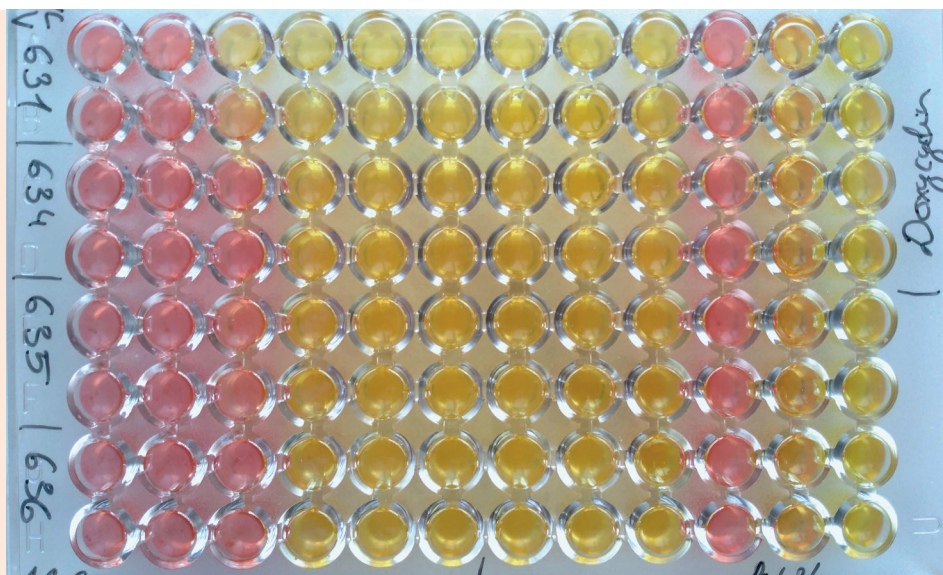
Fertőzés esetén megfelelő antibiotikum-kezeléssel lehet a klinikai tüneteket csökkenteni

Leginkább a kinolonok, a tetraciklinek, a makrolidok és a pleuromutilinek a választandó csoportok

Fertőzés esetén megfelelő antibiotikum-kezeléssel lehet a klinikai tüneteket csökkenteni. A *Mycoplasma*-fajok – mivel sejtfallal nem rendelkeznek – rezisztensek a β -laktám antibiotikumokra, emellett a membránszintézist gátló szerekekkel szemben is ellenállóak. Azok az antibiotikum-csoportok alkalmazhatók sikeresen mycoplasmosis ellen, amelyek gátolják a DNS- vagy a fehérjeszintézist. Ilyen antibiotikumok a kinolonok, a tetraciklinek, a makrolidok és a pleuromutilinek (19, 41). Az antibiotikumérzékenységi vizsgálat során minimális gátló koncentráció (MIC) értéket határozzunk meg mikroleves-hígítás módszerével (5. ábra) (19). Több baktériumtörzs vizsgálata során gyakran feltűntetik a MIC₅₀-értéket, amely általánosságban jellemzi egy szer hatékonyságát vagy a MIC₉₀-et, amelynek nagy értéke az adott antibiotikummal szembeni rezisztencia kialakulására utalhat (27, 35).

5. ÁBRA. A doxiciklin minimális gátló koncentráció értékeinek meghatározása mikroleves-hígításos módszerrel négy *Mycoplasma sp. 1220* törzssel szemben

FIGURE 5. Minimal inhibitory concentration determination of doxycycline with microbroth dilution method against four *Mycoplasma sp. 1220* isolates



Sajnos a vízibarmfifajok mycoplasmosisai elleni gyógykezeléséről és az izolált törzsek MIC-értékeiről rendkívül kevés vizsgálati eredmény áll rendelkezésre. Az egyetlen publikáció, amely *Mycoplasma*-fertőzés részletes gyógykezeléséről szól, az 1980-as évekből származik. A kísérletsorozatban linkomicin-spektinomycin kombinációval, valamint tilozin- és tiamulinkezeléssel érték el a phallusgyulladás és a terméketlen tojások számának csökkenését, ill. a tojástermelés és a kelési arány növekedését (11). Frissebb adat, hogy *M. anseris*, *M. cloacale*, egy újszerű *Mycoplasma*-faj és *P. multocida* fertőzésben szenvedő lúdállományban a tilozin és klórtetraciklin kezelés csökkentette a terméketlen tojások számát (10).

A *M. anatis*, a *M. anseris* és a *M. cloacale* törzsek egyes antibiotikumokkal szembeni MIC-értékeiről is kevés információval rendelkezünk, mindössze egy tanulmányban található erre vonatkozó adatok. A leírt antibiotikumok közül a

A vizsgált hazai törzsek többsége érzékeny volt tiamulin iránt

Javasolt az egyes klinikai izolátumok antibiotikum-érzékenységének meghatározása a megfelelő gyógykezelés kiválasztásához

pleuromutilin típusú tiamulinnal szemben mindhárom *Mycoplasma*-faj nagyon kicsi MIC-értéket mutatott (átlagos MIC 0,34–0,91 µg/ml). Magas értéket (MIC₉₀ 8 µg/ml) mértek *M. anseris* esetében linkomicin és klórtetraciklin tartalmú tápközegben. A tilozinos kezelés során a *M. cloacale* törzsek is ezt az értéket mutatták, míg oxitetraciklinnel szemben az előbb felsorolt két fajon felül a vizsgált *M. anatis* törzsek is magas MIC₉₀ értékeket mutattak (42).

Hazánkban 2017-től gyűjtött *M. anseris* izolátumok (n = 14) nagyon kicsi MIC-értékeket mutattak tiamulinnal szemben (≤0,039 µg/ml), amely összhangban áll az irodalomban leírt antibiotikum-érzékenységgel. Ezen kívül már kis koncentrációjú (≤0,25 µg/ml) tilvalozinnal is gátolható volt a minták növekedése (saját megfigyelés). Bár STIPKOVITS és SZATHMÁRY (2012) a *M. anseris* törzsek esetében doxiciklinnel szemben 2,67 µg/ml átlagos MIC-értékről számolt be (42), saját megfigyeléseink során az utóbbi években izolált törzsek kisebb, ≤0,039–0,312 µg/ml koncentrációval is gátolhatók voltak. A törzsek többsége 0,5–2 µg/ml MIC-értéket mutatott tilmikozinnal szemben, ellenben két törzs növekedését még a 64 µg/ml antibiotikum-koncentráció sem befolyásolta (1. táblázat). Mivel már kis mintaszámnál is nagy különbségeket tapasztalhatunk egy-egy készítmény hatékonyságát illetően, ezért javasolt az egyes klinikai izolátumok antibiotikum-érzékenységének meghatározása a megfelelő gyógykezelés kiválasztásához.

1. TÁBLÁZAT. Magyarországon izolált 14 db *Mycoplasma anseris* törzs minimális gátló koncentráció (MIC) értékei

TABLE 1. Summary of minimal inhibitory concentration (MIC) range of the 14 Hungarian *Mycoplasma anseris* isolates

Antibiotikumcsoport	Antibiotikum	Tartomány (µg/ml)
Tetraciklin	Doxiciklin	≤0,039–0,312
Makrolidok	Tilmikozin Tilvalozin	0,5–>64 ≤0,25
Pleuromutilin	Tiamulin	≤0,039

2. TÁBLÁZAT. Magyarországon izolált 38 db *Mycoplasma sp.* 1220 törzs minimális gátló koncentráció (MIC), MIC₅₀ és MIC₉₀ értékei (17)

TABLE 2. Summary of minimal inhibitory concentration (MIC) range, MIC₅₀ and MIC₉₀ values of the 38 Hungarian *Mycoplasma sp.* 1220 isolates (17)

Antibiotikum-csoport	Antibiotikum	Tartomány (µg/ml)	MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)
Fluorokinolonok	Enrofloxacin	1,25–>10	5	>10
	Difloxacin	1,25–>10	10	>10
Aminoglikozid	Spektinomycin	4–>64	8	32
Linkozamid	Linkomicin	2–>64	4	8
	Linkomicin-spektinomycin (1:2) kombináció	2–32	4	4
Tetraciklinek	Oxitetraciklin	2–>64	64	>64
	Doxiciklin	0,078–>10	5	>10
Makrolidok	Tilozin	≤0,25–>64	8	>64
	Tilmikozin	≤0,25–>64	>64	>64
	Tilvalozin	≤0,25–16	0,5	4
Pleuromutilin	Tiamulin	0,156–5	0,625	1,25
Fenikol	Florfenikol	2–32	8	8

A közelmúltban végzett vizsgálatunk során azt találtuk, hogy a Magyarországon izolált *M. sp.* 1220 törzsekkel szemben a tiamulin (MIC_{50} 0,625 $\mu\text{g/ml}$) és a tilvalozin (MIC_{50} 0,5 $\mu\text{g/ml}$) bizonyultak *in vitro* a leghatékonyabb antibiotikumoknak. A fluorokinolon típusú difloxacin kevésbé alkalmazható *M. sp.* 1220 fertőzés esetén, mivel a legtöbb törzs szaporodását még 10 $\mu\text{g/ml}$ antibiotikum-koncentráció sem gátolta. Oxitetraciklinnel és tilmikozinnal szemben is nagy, 64 $\mu\text{g/ml}$ vagy afeletti MIC_{50} értékeket tapasztaltunk (2. táblázat). Aggasztó, hogy pár izolátum tizennégy antibiotikum közül nyolccal szemben is nagy vagy rendkívül nagy MIC -értékeket mutatott, azaz multirezisztens törzseknek mondhatóak. Ez a megfigyelés is felhívja a figyelmet arra, hogy megfontolt és célzott antibiotikum-kezelést alkalmazzunk az állatoknál, különben az átgondolatlan antibiotikum-használat rezisztens baktériumok kialakulásához vezethet (17).

MEGELŐZÉS, VÉDEKEZÉS

A mycoplasmosisok jelentős károkat okozhatnak a baromfityenyésztés során. Jobb tartási körülmények megteremtésével, pl. az állománysűrűség csökkentésével, a különböző korú állatok külön tartásával és a higiénés állapotok javításával megelőzhető vagy mérsékelhető a fertőzés. Jelenleg egyik vízibaromfi-patogén *Mycoplasma*-faj ellen sem áll rendelkezésre kereskedelmi forgalomban kapható vakcina, így különféle autovakcinákkal próbálkoznak a védekezés során.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A munkát a Magyar Tudományos Akadémia Lendület pályázata (LP2012-22), a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal K_16 (119594) és KKP19 (129751) pályázatai, továbbá az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíja és az Emberi Erőforrások Minisztériuma Új Nemzeti Kiválóság Programjának Bolyai+ Ösztöndíja támogatták.

IRODALOM

- ASTORGA, R. J. – CUBERO, M. J. et al.: Serological survey of infections in waterfowl in the Guadalquivir Marshes (Spain). *Avian Dis.*, 2006. 38. 371.
- BEHR, K. P. – HINZ, K. H. – ROTTMANN, S.: Phallus-inflammation of ganders: Clinical observations and comparative bacteriological examinations of healthy and altered organs. *J. Vet. Med. Ser. B.*, 1990. 37. 774–776.
- BENCINA, D. – DORRER, D. – TADINA, T.: *Mycoplasma* species isolated from six avian species. *Avian Pathol.*, 1987. 16. 653–664.
- BENCINA, D. – TADINA, T. – DORRER, D.: Natural infection of ducks with *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma gallisepticum* and mycoplasma egg transmission. *Avian Pathol.*, 1988. 17. 441–449.
- BERČIČ, R. L. – SLAVEC, B. et al.: A survey of avian *Mycoplasma* species for neuraminidase enzymatic activity. *Vet. Microbiol.*, 2008. 130. 391–397.
- BRADBURY, J. M. – FORREST, M.: *Mycoplasma cloacale*, a new species isolated from a turkey. *Inter. J. Syst. Bacteriol.*, 1984. 34. 389–392.
- BRADBURY, J. M. – JORDAN, F. T. W. et al.: *Mycoplasma anseris* sp. nov. found in geese. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1988. 38. 74–76.
- BRADBURY, J. M. – VUILLAUME, A. et al.: Isolation of *Mycoplasma cloacale* from a number of different avian hosts in great Britain and France. *Avian Pathol.*, 1987. 16. 183–186.
- BROWN, D. R. – ZACHER, L. A. – FARMERIE, W. G.: Spreading factors of *Mycoplasma alligatoris*, a flesh-eating *Mycoplasma*. *J. Bacteriol.*, 2004. 186. 3922–3927.
- CARNACCINI, A. S. – CHIN, R. P. et al.: A novel *Mycoplasma* sp. associated with phallus disease in goose breeders: Pathological and bacteriological findings. *Avian Dis.*, 2016. 60. 437–443.
- CZIFRA, G. – VARGA, Z. – DOBOS-KOVÁCS, M. – STIPKOVITS, L.: Medication of inflammation of the phallus in geese. *Acta Vet. Hung.*, 1986. 34. 211–223.
- DOBOS-KOVÁCS, M. – VARGA, Z. – CZIFRA, G. – STIPKOVITS, L.: Salpingitis in geese associated with *Mycoplasma* sp. strain 1220. *Avian Pathol.*, 2009. 38. 239–243.
- GARRITY, G. M. – BELL, J. A. et al.: Taxonomic outline of the prokaryotes. *Bergey's Man. Syst. Bacteriol.*, 2004. 2. 1–399.
- GOLDBERG, D. R. – SAMUEL, M. D. et al.: The occurrence of mycoplasmas in selected wild North American waterfowl. *J. Wildl. Dis.*, 1995. 31. 364–371.
- GRÓZNER, D. – FORRÓ, B. et al.: Complete genome sequences of three *Mycoplasma* sp. 1220 strains. *Microbiol. Resour. Announc.*, submitted
- GRÓZNER, D. – FORRÓ, B. – SÜLYÖK, K. M. – MARTON, SZ. – KREIZINGER, ZS. – BÁNYAI, K. – GYURANECZ, M.: Complete genome sequences of *Mycoplasma anatis*, *M. anseris*, and *M. cloacale* type strains. *Microbiol. Resour. Announc.*, 2018. 7e00939-18.

17. GRÓZNER, D. – KREIZINGER, Z. – SÜLYOK, K. M. – RÓNAI, Z. – HRIVNÁK, V. – TURCSÁNYI, I. – JÁNOSI, S. – GYURANECZ, M.: Antibiotic susceptibility profiles of *Mycoplasma* sp. 1220 strains isolated from geese in Hungary. *BMC Vet. Res.*, 2016. 12. 170.
18. GRÓZNER, D. – SÜLYOK, K. M. – KREIZINGER, Z. – RÓNAI, Z. – JÁNOSI, S. – TURCSÁNYI, I. – KÁROLYI, H. F. – KOVÁCS, Á. B. – KISS, M. J. – VOLOKHOV, D. – GYURANECZ, M.: Detection of *Mycoplasma anatis*, *M. anseris*, *M. cloacale* and *Mycoplasma* sp. 1220 in waterfowl using species-specific PCR assays. *PLoS One*, 2019.14.e0219071.
19. HANNAN, P. C. T.: Guidelines and recommendations for antimicrobial minimum inhibitory concentration (MIC) testing against veterinary mycoplasma species. *Vet. Res.*, 2000. 31. 373–395.
20. HINZ, K. H. – PFÜTZNER, H. – BEHR, K. P.: Isolation of *Mycoplasmas* from clinically healthy adult breeding geese in Germany. *J. Vet. Med. B.*, 1994. 41. 145–147.
21. IVANICS, E. – GLÁVITIS, R. – TAKÁCS, G. – MOLNÁR, E. – BITAY, Z. – MEDER, M.: An outbreak of *Mycoplasma anatis* infection associated with nervous symptoms in large-scale duck flocks. *Zentralbl. Veterinarmed. B.*, 1988. 35. 368–378.
22. JORDAN, F. T. W. – AMIN, M. M.: A survey of mycoplasma infections in domestic poultry. *Res. Vet. Sci.*, 1980. 28. 96–100.
23. KLEVEN, S. H.: Control of avian *Mycoplasma* infections in commercial poultry. *Avian Dis.*, 2008. 52. 367–374.
24. LAUERMAN, L. H. – CHILINA, A. R. et al.: Avian *Mycoplasma* identification using polymerase chain reaction amplicon and restriction fragment length polymorphism analysis. *Avian Dis.*, 1995. 39. 804–811.
25. LEVISOHN, S. – DYKSTRA, M. J. et al.: Comparison of *in vivo* and *in vitro* methods for pathogenicity evaluation for *Mycoplasma gallisepticum* in respiratory infection. *Avian Pathol.*, 1986. 15. 233–246.
26. LEVISOHN, S. – KLEVEN, S. H.: Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*). *Rev. Sci. Tech.*, 2000. 19. 425–442.
27. LYSNYANSKY, I. – AYLING, R. D.: *Mycoplasma bovis*: Mechanisms of resistance and trends in antimicrobial susceptibility. *Front. Microbiol.*, 2016. 7. 1–7.
28. MAY, M. – KLEVEN, S. H. – BROWN, D. R.: Sialidase activity in *Mycoplasma synoviae*. *Avian Dis.*, 2007. 51. 829–833.
29. MUCH, P. – WINNER, F. et al.: *Mycoplasma gallisepticum*: Influence of cell invasiveness on the outcome of experimental infection in chickens. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2002. 34. 181–186.
30. PISAL, R. V. – KUNKE, D. – FILIP, S.: Detection of *Mycoplasma* contamination directly from culture supernatant using polymerase chain reaction. *Folia Biol.*, 2016. 206. 203–206.
31. RAMÍREZ, A. S. – NAYLOR, C. J. et al.: High inter-species and low intra-species variation in 16S–23S rDNA spacer sequences of pathogenic avian mycoplasmas offers potential use as a diagnostic tool. *Vet. Microbiol.*, 2008. 128. 279–287.
32. RAVIV, Z. – KLEVEN, S. H.: The development of diagnostic real-time Taqman PCRs for the four pathogenic avian *Mycoplasmas*. *Avian Dis.*, 2009. 53. 103–107.
33. ROBERTS, D. H.: The isolation of an influenza A virus and a *Mycoplasma* associated with duck sinusitis. *Vet. Rec.*, 1964. 76. 470–473.
34. SAMUEL, M. D. – GOLDBERG, D. R. et al.: Effects of *Mycoplasma anatis* and cold stress on hatching success and growth of mallard ducklings. *J. Wildl. Dis.*, 1995. 31. 172–178.
35. SCHWARZ, S. – SILLEY, P. et al.: Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2010. 65. 1–4.
36. SPRYGIN, A. V. – VOLOKHOV, D. V. et al.: Detection and genetic identification of *Mycoplasma* sp. 1220 in geese in the Russian Federation and Ukraine. *Agric. Biol.*, 2012. 2. 87–95.
37. STIPKOVITS, L.: The pathogenicity of avian mycoplasmas. *Zbl. Bakt. Hyg.*, 1979. 245. 171–183.
38. STIPKOVITS, L. – BOVE, J. M. et al.: Studies on mycoplasma infection of laying geese. *Avian Pathol.*, 1984. 14. 57–68.
39. STIPKOVITS, L. – EL-EBEEDY, A. A. – KISARY, J. – VARGA, L.: *Mycoplasma* infection of geese I. Incidence of *Mycoplasmas* and *Acholeplasmas* in geese. *Avian Pathol.*, 1975. 4. 35–43.
40. STIPKOVITS, L. – GLAVITS, R. – IVANICS, E. – SZABO, E.: Additional data on *Mycoplasma* disease of goslings. *Avian Pathol.*, 1993. 22. 171–176.
41. STIPKOVITS, L. – KEMPF, I.: Mycoplasmoses in poultry. *Rev. Sci. Tech.*, 1996. 15. 1495–1525.
42. STIPKOVITS, L. – SZATHMÁRY, S.: *Mycoplasma* infection of ducks and geese. *Poult. Sci.*, 2012. 91. 2812–2819.
43. STIPKOVITS, L. – VARGA, Z. – CZIFRA, G. – DOBOS-KOVÁCS, M.: Occurrence of mycoplasmas in geese affected with inflammation of the cloaca and phallus. *Avian Pathol.*, 1986. 15. 289–99.
44. STIPKOVITS, L. – VARGA, Z. – DOBOS-KOVÁCS, M. – SÁNTHA, M.: Biochemical and serological examination of some *Mycoplasma* strains of goose origin. *Acta Vet. Hung.*, 1984. 32. 117–125.
45. STIPKOVITS, L. – VARGA, Z. – GLAVITS, R. – RATZ, F. – MOLNAR, E.: Pathological and immunological studies on goose embryos and one-day-old goslings experimentally infected with a *Mycoplasma* strain of goose origin. *Avian Pathol.*, 1987. 16. 453–468.
46. TIONG, S. K.: *Mycoplasmas* and *Acholeplasmas* isolated from ducks and their possible association with pasteurellas. *Vet. Rec.*, 1990. 127. 64–66.
47. VOLOKHOV, D. V. – SIMONYAN, V. et al.: RNA polymerase beta subunit (rpoB) gene and the 16S–23S rRNA intergenic transcribed spacer region (ITS) as complementary molecular markers in addition to the 16S rRNA gene for phylogenetic analysis and identification of the species of the family *Mycoplasmataceae*. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2012. 62. 515–528.
48. WINNER, F. – ROSENGARTEN, R. – CITTI, C.: *In vitro* cell invasion of *Mycoplasma gallisepticum*. *Infect. Immun.*, 2000. 68. 4238–4244.

Közlésre érkező: 2019. máj. 22.