

Állatorvostudományi Egyetem  
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

**MAGYARORSZÁGI VADON ÉLŐ KÉRŐDZŐK  
MANNHEIMIA HAEMOLYTICA ÉS  
BIBERSTEINIA TREHALOSI HORDOZÁSÁNAK  
VIZSGÁLATA**

**Készítette:** Dani Réka



Témavezető: dr. Tóth Gergely  
Egyetemi tanársegéd  
ÁTE, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

Budapest, 2023

# Tartalomjegyzék

|                                                           |           |
|-----------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....</b>                       | <b>4</b>  |
| <b>2. BEVEZETÉS .....</b>                                 | <b>5</b>  |
| <b>3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS .....</b>                       | <b>6</b>  |
| 3.1. A VIZSGÁLT BAKTÉRIUMFAJOK .....                      | 6         |
| 3.2. PATOGENITÁS.....                                     | 9         |
| 3.3. PASTEURELLÁK OKOZTA KÓRKÉPEK KISKÉRŐDZŐKBEN .....    | 9         |
| 3.4. PASTEURELLÁK OKOZTA KÓRKÉPEK SZARVASMARHÁKBAN .....  | 10        |
| 3.5. VADON ÉLŐ KÉRŐDZŐK PASTEURELLOSISA VILÁGSZERTE ..... | 11        |
| 3.6. PASTEURELLOSIS ALAKULÁSA A VADVILÁGBAN .....         | 11        |
| 3.7. MEGELŐZÉS ÉS KEZELÉS .....                           | 15        |
| 3.8. HASZNÁLT AZONOSÍTÁSI MÓDSZEREK LEÍRÁSA .....         | 17        |
| 3.8.1. Morfológia.....                                    | 17        |
| 3.8.2. Baktériumtenyésztés.....                           | 17        |
| 3.8.3. Gram-festés.....                                   | 18        |
| 3.8.4. Oxidáz teszt.....                                  | 18        |
| 3.8.5. Kataláz teszt.....                                 | 18        |
| 3.8.6. Indol teszt.....                                   | 18        |
| 3.8.7. Cukorbontás.....                                   | 19        |
| 3.8.8. Ornitin dekarboxiláció .....                       | 19        |
| 3.8.9. Szerotipizálás.....                                | 19        |
| <b>4. CÉLKITŰZÉSEK.....</b>                               | <b>20</b> |
| <b>5. ANYAG ÉS MÓDSZER.....</b>                           | <b>21</b> |
| 5.1. MINTÁK EREDETE.....                                  | 21        |
| 5.1.1. Aktív mintavétel .....                             | 21        |
| 5.1.2. Passzív mintavétel.....                            | 22        |
| 5.2. BAKTÉRIUM TENYÉSZTÉS .....                           | 23        |
| 5.3. BIOKÉMIAI TESZTEK .....                              | 24        |
| 5.3.1. Oxidáz teszt.....                                  | 24        |
| 5.3.2. Kataláz teszt.....                                 | 24        |
| 5.3.3. Indol teszt.....                                   | 24        |
| 5.4. PCR.....                                             | 24        |
| 5.4.1. DNS kivonás .....                                  | 24        |
| 5.4.2. PCR folyamata.....                                 | 25        |
| 5.4.3. Elektroforézis.....                                | 27        |
| 5.4.4. Leolvasás .....                                    | 28        |
| 5.5. SZEROTIPIZÁLÁS.....                                  | 28        |

|                                              |           |
|----------------------------------------------|-----------|
| <b>6. EREDMÉNYEK.....</b>                    | <b>29</b> |
| 6.1. TENYÉSZTÉS, KÓRTAN .....                | 29        |
| 6.2. PCR.....                                | 29        |
| 6.3. SZEROTIPIZÁLÁS.....                     | 30        |
| <b>7. MEGBESZÉLÉS, KÖVETKEZTETÉSEK .....</b> | <b>31</b> |
| <b>8. ÖSSZEFOGLALÁS .....</b>                | <b>34</b> |
| <b>9. SUMMARY .....</b>                      | <b>35</b> |
| <b>10. IRODALOMJEGYZÉK.....</b>              | <b>36</b> |
| <b>11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....</b>         | <b>40</b> |

## 1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ÁTKI - Állatorvostudományi Kutatóintézet

*B. trehalosi* - *Bibersteinia trehalosi*

BRDC - Bovine Respiratory Disease Complex, szarvasmarhák légúti betegségkomplexe

BRSV - Bovine Respiratory Syncytial Virus,

BVD - Bovine Viral Diarrhea, szarvasmarhák vírusos hasmenése

DMACA - p-dimetil-amino-fahéjaldehid, indol spot reagens

DMDP - N, N-dimetil-p-feniléndiamin, oxidáz reagens

Gím, szarvas - gímszarvas (*Cervus elaphus*)

HS - hemorrhagias septikaemia

IJM - International Journal of Medical Reviews and Case Reports

KSH - Központi Statisztikai Hivatal

*M. glucosida* - *Mannheimia glucosida*

*M. haemolytica* - *Mannheimia haemolytica*

NB - Nem besorolható

Őz - európai őz (*Capreolus capreolus*)

*P. multocida* - *Pasteurella multocida*

PCR - Polymerase chain reaction, polimeráz láncreakció

SEFAG Zrt. - régen: Somogyi Erdő- és Fafeldolgozó Gazdaság,

jelenleg: Erdészeti és Faipari Zártkörűen Működő Részvénytársaság

vvt - vörösvértet

WDA - Wildlife Disease Association

## 2. BEVEZETÉS

A Kárpát-medence természeti adottságai optimális élőhelyet biztosítanak legtöbb nagyvad fajunknak, köztük a gímszarvasnak, európai őznek, dámvadnak és a muflonnak is. [1] Alapvetően ennek köszönhető, hogy hazánk gímszarvasállománya világhírnévre tett szert, emellett a szarvasállomány folyamatos növekedést mutat. Magyarország évszázadok óta híres gazdag vadállományáról, vadászati értékeiről. A külföldi vadászok bérvadásztatása a mai napig jelentős jövedelmet jelent a vadgazdálkodás számára. A gímszarvas bikák vadászati idénye a dunántúli vadásztársaságok legfőbb bevételi forrása, egy egyed kilövése átlagosan 990-9400 eurót jelenthet, míg a kertben nevelt élő állatok értékesítési ára megközelítőleg 2000-3000 euró (a vadászati árjegyzék 60%-a). Az Alföldön az őzbak vadászatok a legkeresettebbek, egy bak elejtése nagyjából 70-3500 eurós nagyságrendek között alakul. A dámvad elejtési ára hazánkban kb. 300-3000 euró, egy muflonkosé pedig 850-4000 euró. [2] [3]

A vadhús egészen a 17. századig, vagyis a mezőgazdasági tevékenység intenzívebb módszereinek terjeszkedéséig, jelentős szerepet játszott az ember állati eredetű élelmiszer-ellátásában.[4] Ám annak ellenére, hogy a vadászat és a vadhúsfogyasztás Magyarországon jelentős történelmi múlttal rendelkezik, napjainkban a magyar vadhúsfogyasztás éves átlaga alig éri el a 10 dkg/fő mennyiséget.[5] Bár ez az érték igen alacsony, az általunk exportált vadállatokból előállított termékek rendkívül keresettek. Ilyen a gím- és dámszarvas, melynek ára 2300 Ft/kg-tól akár 9000 Ft/kg, az őz és a muflon húsa akár 6000 Ft/kg is lehet. [6]

A kimagasló exportérték elmondható a hazai szarvasmarha- és kiskérődzőállományunkról is. Magyarországon az évi egy személyre jutó juhhús fogyasztás 0,35-0,38 kilogramm, miközben az elmúlt évben 7050 tonnányi élőállat kivitelére került sor.[7] A Központi Statisztikai Hivatal adatai szerint az évi egy főre eső hazai szarvasmarhahús fogyasztása 3,3 kg, míg az exportált mennyisége 16,7 ezer tonna volt 2021-ben.[8]

Értelemszerűen a külföldre előállított húsmennyiség csökkenése erőteljes gazdasági jelentőséggel bír. Fontos tehát megelőznünk az olyan betegségek terjedését, mint a pasteurellosis, melyek az állatok étvágytalanságához, így csökkent testtömeggyarapodásához és vágási súlyához vezetnek. Noha ismert, hogy a *Mannheimia haemolytica* és a *Bibersteinia trehalosi* egyébként egészséges kérődzők felső légutait kolonizálja, súlyos tüdőgyulladást, lesoványodást és elhullást is okozhatnak.[9]

### 3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

#### 3.1. A VIZSGÁLT BAKTÉRIUMFAJOK

A Pasteurellaceae családba számos baktérium nemzetség sorolható, amelyek világszerte elterjedtek. Ezek a *Pasteurella*, *Mannheimia*, *Bibersteinia*, *Haemophilus*, az *Avibacterium*, az *Actinobacillus*, a *Gallibacterium* és a *Histophilus*, [10] Az általunk vizsgált két baktériumfaj, a *Mannheimia haemolytica* és *Bibersteinia trehalosi*, a *M. glucosidával* együtt egy fajba tartoztak, *Pasteurella haemolytica* néven. A *M. haemolytica* régebbi neve *Pasteurella haemolytica A* volt, mely arra utalt, hogy képes lebontani az arabinózt. A *B. trehalosi* hajdani neve *Pasteurella haemolytica T*, jelezve trehalóz bontási képességét (1. táblázat). [11] [12]

|                               | Arabinóz | Trehalóz |
|-------------------------------|----------|----------|
| <i>Mannheimia haemolytica</i> | +        | -        |
| <i>Bibersteinia trehalosi</i> | -        | +        |

1. táblázat: *Mannheimia haemolytica* és *Bibersteinia trehalosi* arabinóz és trehalóz bontásának összehasonlítása.

Felületi poliszacharid antigénjeik alapján a *Mannheimia haemolytica* törzset 12 (A1, A2, A5, A6, A7, A8, A9, A12, A13, A14, A16, A17), a *Bibersteinia trehalosi* 4 (T3, T4, T10, T15), a *M. glucosidát* 1 (A11) szerotípusba sorolták. [13] Az egyes törzsek külső membránján a virulenciájukban nagy jelentőséggel bíró és egymással keresztreakciót mutató felületi fehérjéket is kimutattak. Juhokban Fodor 1999-es tanulmányában a *M. haemolytica* A1-es, A2-es szerotípusai fordultak leginkább elő, a kecskékből származó törzsek túlnyomó része a A2-es szerotípusba tartozott. A *B. trehalosi* törzsek közül mind a négy előfordult, a T10-es és T15-ös volt gyakoribb (2. táblázat). Szalay 2014-es felmérése alapján juhokban az A6-os és A8-as, kecskék esetén A2-es szerotípusok voltak a leggyakoribbak. Azonban Kiss Szonja Petra 2020-as TDK kutatásai szerint juhoknál az A14-es szerotípuson kívül minden szerotípus előfordult, kecskében pedig A2-es, A6-os, T3-as, T4-es és T15-ös szerotípusokat izolált. Leggyakoribbnak *M. haemolytica* esetén az A2-es szerotípus bizonyult, második volt az A1-es, majd az A6-os és A12-es és csak ezt követte az A7-es, A8-as és A9-es. A legtöbbször előfordult *B. trehalosi* szerotípus a T4-es, majd a T3-as és T15-ös volt (3. táblázat). Marhákban Szalay Dóra az A2-es, majd A1-es szerotípust találta legelterjedtebbnek, ezen felül kimutatott A5-ös, A7-es, illetve T15-ös szerotípusokat is (3. táblázat). [14] [15] [16] [17]

|                              |     | Juh        | Kecske    | Marha      |
|------------------------------|-----|------------|-----------|------------|
| <b><i>M. haemolytica</i></b> | A1  | 64 (19,5%) |           | 69 (59,5%) |
|                              | A2  | 51 (15,6%) | 46 (94%)  | 28 (24,1%) |
|                              | A5  | 26 (7,9%)  |           |            |
|                              | A6  | 33 (10,1%) | 1 (2%)    |            |
|                              | A7  | 22 (6,7%)  | 1 (2%)    | 3 (2,6%)   |
|                              | A8  | 31 (9,5%)  | 1 (2%)    | 1 (0,8%)   |
|                              | A9  | 23 (7%)    |           | 1 (0,8%)   |
|                              | A12 | 15 (4,6%)  |           |            |
|                              | A13 | 3 (0,9%)   |           |            |
|                              | A14 |            |           |            |
|                              | A16 | 2 (0,6%)   |           | 4 (3,4%)   |
|                              | A17 | 3 (0,9%)   |           |            |
|                              | NB  | 16 (4,9%)  |           | 9 (7,8%)   |
| <b><i>M. glucosida</i></b>   | A11 | 13 (4%)    |           |            |
| <b><i>B. trehalosi</i></b>   | T3  | 4 (1,2%)   |           |            |
|                              | T4  | 5 (1,5%)   |           |            |
|                              | T10 | 9 (2,7%)   |           | 1 (0,8%)   |
|                              | T15 | 8 (2,4%)   |           |            |
| <b>Összesen<br/>(db)</b>     |     | <b>328</b> | <b>49</b> | <b>116</b> |

2. táblázat: Fodor 1999-es felmérése során vizsgált *M. haemolytica*, *M. glucosida* és *B. trehalosi* törzsek előfordulása juhban, kecskében és marhában [14]

|                          |     | Juh<br>Szalay | Juh<br>Kiss | Kecske<br>Szalay | Kecske<br>Kiss | Marha<br>Szalay |
|--------------------------|-----|---------------|-------------|------------------|----------------|-----------------|
| <i>M. haemolytica</i>    | A1  | 1 (3,7%)      | 20 (11,4%)  |                  |                | 3 (13%)         |
|                          | A2  | 2 (7,4%)      | 48 (27,3%)  | 2 (100%)         | 25 (59,5%)     | 11 (47,8%)      |
|                          | A5  | 1 (3,7)       | 9 (5,1%)    |                  |                | 1 (4,3%)        |
|                          | A6  | 6 (22,2%)     | 12 (6,8%)   |                  | 1 (2,4%)       |                 |
|                          | A7  | 1 (3,7%)      | 10 (5,7%)   |                  |                | 1 (4,3%)        |
|                          | A8  | 6 (22,2%)     | 11 (6,3%)   |                  |                |                 |
|                          | A9  | 1 (3,7%)      | 11 (6,3%)   |                  |                |                 |
|                          | A12 |               | 14 (8%)     |                  |                |                 |
|                          | A13 | 2 (7,4%)      | 2 (1,1%)    |                  |                |                 |
|                          | A14 |               |             |                  |                |                 |
|                          | A16 |               | 3 (1,7%)    |                  |                |                 |
|                          | A17 | 1 (3,7%)      | 2 (1,1%)    |                  |                |                 |
|                          | NB  | 4 (14,8%)     | 17 (1%)     |                  | 11 (26,2%)     | 5 (21,7%)       |
| <i>M. glucosida</i>      | A11 | 2 (7,4%)      | 7 (4%)      |                  |                | 1 (4,3%)        |
| <i>B. trehalosi</i>      | T3  |               | 1 (0,6%)    |                  | 2 (4,8%)       |                 |
|                          | T4  |               | 3 (1,7%)    |                  | 2 (4,8%)       |                 |
|                          | T10 |               | 4 (2,3%)    |                  |                |                 |
|                          | T15 |               | 2 (1,1%)    |                  | 1 (2,4%)       | 1 (4,3%)        |
| <b>Összesen<br/>(db)</b> |     | 27            | 176         | 2                | 42             | 23              |

3.táblázat: Kiss 2020-as és Szalay 2014-es vizsgálatai során izolált *M. haemolytica*, *M. glucosida* és *B. trehalosi* szerotípusok előfordulása juhban, kecskében és szarvasmarhában. [15] [16] [17]



### 3.2. PATOGENITÁS

A pasteurellák virulenciája tág határok között mozog, a virulensebb törzsek heveny pasteurellosist, akár septikaemiát okozhatnak, míg a gyengébb virulenciájú törzsek a felső légutakban megtelepedve tünetmentes fertőzést alakítanak ki. [18] Az állatok aerogén úton, esetleg per os fertőződnek, de egészséges állatok légúti nyálkahártyáján, tonsilláján is előfordulnak. Széles gazdaspektrummal rendelkező fakultatív patogén baktériumok, így hajlamosító tényezők hatására kolonizálják a gazdaszervezetet. Megkülönböztetünk elsődleges pasteurellosist, melyhez nem fertőző hajlamosító tényezők járulnak hozzá. Ilyenek a nem megfelelő tartási viszonyok, a szállítás, a stressz, a zsúfoltság, a drasztikus választás, a huzatos istálló vagy akár a mikotoxinnal szennyezett takarmány. Ezeknek a káros hatásoknak eredményeképpen az állatok immunrendszere gyengülhet, teret adva a kórokozók szaporodásának. Másodlagos pasteurellosis egyes vírusokkal, mycoplasmákkal való fertőződés után alakul ki. Ezek a fertőző ágensek, mint az adeno-, reovírus, PI-3, BHV-1, BVDV károsítják a nyálkahártyát, ami így bementi kapuként szolgál a *Mannheimiának* és *Biebersteiniának*. [19]

Bár az általunk vizsgált két baktériumfaj leginkább juh, kecske és szarvasmarha fajokat betegít meg, feljegyezték számos más háziállat pasteurellosisát. Ilyen az igen nagy gazdasági jelentőséggel bíró sertések torzító orrgyulladása, a baromficholera, vagy a húsevők pasteurellosisa. Emberek esetében kutya és macska vagy akár juh harapásos sebekben sebfertőzést okozhatnak. [20]

### 3.3. PASTEURELLÁK OKOZTA KÓRKÉPEK KISKÉRŐDZŐKBEN

A kiskérődzőknél négy kórformát különítünk el, melyeket a *P. multocida* A és D, a *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* okoz. Míg a *Pasteurella multocida* D burok antigénnel rendelkező törzsei a bőr súlyos elhalását okozó dermonekrotoxint termelnek, a *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* virulenciafaktora a macrophagokat károsító leukotoxin. A légzőszervi pasteurellosist a *P. multocida* és *M. haemolytica* ezen cytotoxintermelése miatt főként kruppos pneumonia, fibrines melhártya- és szívburokgyulladás jellemzi. Azonban a sporadikusan véráramba jutott kórokozók ízületgyulladást, középfülgyulladást és akár meningitist is okozhatnak. Az állatokra jellemző a lázas állapot, levertség, orrfolyás, nehezített légzés, köhögés, akár a fejdaltartás. A septikaemia főként három hónapnál fiatalabb bárányokra, gidákra jellemző. Az ágensek a vérárammal szóródva a szervekben, az ízületekben és az agyhártyán szaporodnak. A fiatal állatok agyhártya-agyvelőgyulladás következtében rövidesen elhullanak. A *Mannheimia haemolytica* által okozott, általában

egyoldali tőgygyulladást a baktériumhordozó bárányok, gidák tartják fenn. A fertőzött anyák a leukotoxin hatására elapasztanak, de tőgyük regenerálódni képes. A heveny szisztémás pasteurellosis kialakulásáért a *Biebersteinia trehalosi* felelős. E kórkép esetén baktérium-embolusok jutnak a keringésbe majd a parenchymás szervekbe. Az állatok nem tudnak felállni, szájukból habos nyál folyik, légszomjuk van, de jellemző, hogy mindezek előtt, hirtelen elpusztulnak. Az endotoxinhatás miatt a szerveken helyi gyulladást, vérzéseket, elhalásokat tapasztalunk.[21] [22][11]

#### 3.4. PASTEURELLÁK OKOZTA KÓRKÉPEK SZARVASMARHÁKBAN

A szarvasmarhák esetében két kórformát különböztetünk meg.

Az egyik kórformát, a bivalyok és a szarvasmarhák vérzéssel vérfertőzését először Délkelet-Ázsiában, a monszunesőzésekhez kapcsolódva írták le. Az időjárás, mint hajlamosító tényező hatására, a *Pasteurella multocida* B2-es típusú és szórványosan *Mannheimia haemolytica* törzsek elsősorban bivalyokat, szarvasmarhákat betegítenek meg, de állapítottak meg tömeges elhullásokat vadon élő kérődzőkben is. A többnyire túlhevenyen, hevenyen jelentkező tünetek után az állatok szinte minden esetben, akár 24 órán belül, elpusztulnak. A baktériumok a tonsillákban való szaporodás után a véráramba kerülnek, ahol az endotoxinhatás az endothel károsodásához, coagulopathiahoz és vérzésekhez vezet. A 2-3 napig is elhúzódó esetekben az állatok lázasak, levertek, orrnyílásukból véres savó folyik és jellemző az oedemáson megduzzadt toroktájék, úgynevezett „szakáll”. A testüregekben vörhenyes savót, a savóshártyák alatt vérzéseket látunk, emellett kruppos tüdő- és fibrines-mellhártya gyulladás is megfigyelhető. [23]

A másik kórkép a szarvasmarhák légzőszervi pasteurellosisa, (másnéven „shipping fever”) mely túlnyomórészt a fiatal, 1-3 hónapos borjakat érinti, az endémiás forma viszont idősebb egyedekben, sőt vadon élő kérődzőkben is előfordul, ez a szarvasmarhák légzőszervi betegségkomplexe. A BRD-ben észlelt tüdőgyulladásához számos vírus és baktériumfaj társul (IBR, adenovírusok, parainfluenza-3, BVD, BRSV, *B. trehalosi*, *Histophilus somni*, *Trueperella pyogenes*) de a *P. multocida* A és a *Mannheimia haemolytica* A1-es, A2-es és A6-os szerotípusai voltak a leggyakrabban izolált baktériumtörzsek. [24][25] [26][27] A betegség kibontakozásában olyan hajlamosító tényezőknek van döntő szerepe, mint a fiatal állatok szállítása, zsúfoltsága, megfázása vagy bizonyos vírusokkal való fertőződése.[28] Ezek a stresszfaktorok hozzájárulnak a borjak védekezőképességének csökkenéséhez, teret adva a baktériumok tüdőbeli megtelepedéséhez. [29] A *Mannheimia haemolytica* cytotoxintermelésével károsítja a macrophagokat és az alveoláris endothelt bronchitist,

tonsillitist, kruppos tüdő- és mellhártyagyulladást, esetleg elhullást okozva. [30] A fertőzött állatokon ennek következtében könnyezést, köhögést, orrfolyást, neheztelt légzést, súlyvesztést tapasztalhatunk. [31]

### 3.5. VADON ÉLŐ KÉRŐDZŐK PASTEURELLOSISA VILÁGSZERTE

A légzőszervi betegségek kitörésében a vadon élő kérődzőkben, különösen a kanadai vadjuhok (*Ovis canadensis*) és más vadon élő juhajok populációiban a *M. haemolytica*-nak és a *B. trehalosi*-nak jelentős szerepe van. Ezek a járványok gyakran a zord időjárás vagy az állatok immunrendszerét gyengítő egyéb környezeti változások esetén lánognak fel. A fertőzött állatok a szarvasmarha légzőszervi pasteurellosisánál leírt tüneteket mutatják, mint az orrváladékozás, köhögés, nehézlégzés vagy bágyadság. Súlyos esetekben a *B. trehalosi* által okozott kruppos pneumonia és a *M. haemolytica* okán kialakult hemorrhagiás septikaemia is magas elhullási arányhoz vezethet, különösen fiatal állatok esetében. [32] [33] [34] [35]

A bivalyok és a szarvasmarhák vérzéses vérfertőzését a vadon élő kérődzőket is megbetegítő képessége végett gyakran „vadvész” néven emlegetik.

### 3.6. PASTEURELLOSIS ALAKULÁSA A VADVILÁGBAN

A magyar szakirodalmi publikációkat átnézve arra figyeltünk fel, hogy a hazánkban előforduló vadon élő kérődzőkben még senki nem publikálta eddig *M. haemolytica* és *B. trehalosi* jelenlétét vagy az általa okozott megbetegedést itthon. Külföldi tanulmányokban azonban számos esetet találtuk, ezeket mutatom be a következőkben.

Bollinger és Kitt voltak, akik 1878-ban először írták le a München szomszédságában élő szarvasok, vaddisznók és szarvasmarhák betegségét, amelyet akkoriban vérzéses vérmérgezésnek neveztek el. [36]

Később, 1887-ben Oreste és Armani jegyezte le az úgynevezett Barbone-t bivalyoknál (*Bubalus bubalis*), amelyet úgy gondolták, egy hasonló organizmus okozott. Azonban a hemorrhagiás septikaemia, mint különálló betegség, világossá csak az 1950-es években, a szerotipizálási módszerek megjelenésével vált. [37]

A *Journal of Wildlife Diseases*-ben egészen az 1950-es évekig visszamenőleg találhatunk beszámolókat a vadon élő kérődzők *P. multocida* és *M. haemolytica* okozta septikaemiás pasteurellosisáról. Powell már 1954-ben villásszarvú antilopokban (*Antilocapra americana*) írta le a szarvasmarha HS-hoz hasonló elváltozásokat. [38] Post 1960-ban a Sziklás-hegységi vapiti (*Cervus canadensis*), 1962-ben pedig a Kanadai vadjuh (*Ovis canadensis*)

pasteurellosiáról számol be. [39] [40] Heddlestone és Gallagher 1969-es feljegyzései alapján az Amerikai bölényeket (*Bison bison*) is megbetegítették ezek a fakultatív patogén kórokozók, hemorrhagiás septikaemiát és elhullásukat okozva az 1960-as évek derekán. [41] Svédországban 1912-től 1959-ig 700 rénszarvas (*Rangifer tarandus*), Norvégiában 1911-től 2010-ig majdnem 300 rénszarvas pusztult el vérzéses vérmérgezésben. [42]

Franson és Smith 1988-ban publikálta 48 jávorszarvas (*Alces alces*) halálát septikaemiás pasteurellosis okán a Wyoming állambeli Jackson közelében (USA) található National Elk Refuge területén 1986 és 1987 folyamán. Míg a klinikai tünetek között bágyadságot, nyálzást vettek észre, a boncolások során a savóshártyákon petechiális, a nyirokcsomókban, rekeszizomban, tüdőben és az endocardiumban ecchymotikus vérzéseket írtak le. [43]

Heddlestone feltételezéseit megerősítve Dyer 1998-ban a Journal Of Veterinary Diagnostic Investigation-be a *M. hemolytica* A6 szerotípussal összefüggő tüdőgyulladásos pasteurellosisát írta le csordában tartott amerikai bölényekben (*Bison bison*) (4.táblázat). [44] [45]

Az Australian Veterinary Journal 1991 októberi kiadásában említ Campbell egy ausztrál pettyes szarvas (*Axis axis*) pasteurellosis okozta vérmérgezését. [46]

Villard 2006-ban kiadott tanulmányában tesztelte azt a hipotézist, miszerint a kórokozók átvitele megtörténhet egyik gazdaszervezetről a másikra, ha mindkét populáció ugyanazon a legelőn osztozik. Ennek okán összehasonlította a francia Alpokban élő háziállatok és vadon élő kérődzők tüdőszövet mintájából izolált *M. haemolytica* és *B. trehalosi* szerotípusokat. A vadon élő zergékben (*Rupicapra rupicapra*) a *M. haemolytica* A2-es, A6-os és A13-as szerotípusait, míg a *B. trehalosi* T4-es, T3-as és T10-es szerotípusait határozta meg. *Mannheimia haemolytica* A2-t őzben és alpesi kőszáli kecskében (*Capra ibex*) is talált, ez utóbbiban a *Biebersteinia trehalosi* T10-es szerotípusával találkozott még. Ugyanakkor a háziállatokban és a vadon élő állatokban eltérő szerotípusok jelentek meg, ennek következtében az átvitel nem tűnt jelentős mértékben kimutathatónak (4.táblázat). [47]

2008-ban az Amerikai Egyesült Államok Minisztériuma is a *Mannheimia*, *Biebersteinia* és *Pasteurella* nemzetségek által okozott pasteurellosis átvitelének kockázatairól jelentetett meg egy tanulmányt a házi- és a vadon élő juhok között. A disszertáció szerint a betegség jelentősen hozzájárult a kanadai vadjuhok populációinak hanyatlásához Észak-Amerika nyugati részén, az őshonos állományok méreteit a 10%-uk alá csökkentve, ezzel veszélybe sodorva azokat. [34] George 2008-ban megjelent cikkében bemutatott megfigyelések

alapján elismerték, hogy a vadjuhok pasteurellosis-járványai, azok őshonos elterjedési területére behatoló szabadon tartott házi juhok révén alakulhatnak ki. Ezáltal a kanadai vadjuhok megőrzésének elve a köztük és a házi juhok közötti érintkezés minimalizálása lett. [48]

Ytrehus cikke, az Ecohealth 2008-as kiadásában egy pasteurellosis-járványt ír le, amely 2006-ban a norvégiai Dovrefjellbe telepített pézsmatulok-populációban (*Ovibos moschatus*) tört ki, és az állatok nagy részének pusztulását okozta. A kitörés egybeesett a rendkívüli meleg és párás időjárással, amely gyakran jár együtt a *M. haemolytica* és a *P. multocida* baktériumfajok túlszaporodásával. [35]

A WDA 2010-ben szintén felhívta a figyelmet az észak-amerikai vadon élő juhajok egészségügyi érdekére, miszerint a szarvasmarhákval való közvetlen érintkezésüket is meg kell akadályozni. A kutatásuk alapja 29 akut fibrines bronchopneumoniás vadjuh tetem volt, melyet egy Colorado állambeli szarvasmarha legelőn, 2007/2008 telén találtak. Köztük nyolcban olyan *Mannheimia haemolytica* biotípusokat izoláltak, melyek 99%-ban, 7 tetemben pedig olyan *Bibersteinia trehalosi* biotípust találtak, melyek 94%-ban egyeztek meg genetikailag az ott élő szarvasmarhákból izoláltakkal. [49]

A däm vadak vérzéses septikaemiájáról hallhattunk Stoike által is, mely okán 67 däm szarvas tetemet találtak 2010-ben. A 2012-es publikáció szerint lehetséges az átfertőződés, miszerint a pasteurellosist okozó fajokat a régió őz állománya is hordozza. [50]

Posautz a JWD-ben publikálta 2014-ben a 2010 tavaszán történt, az osztrák Alpok keleti részén élő zergék pusztulását. Az elhullások oka akut bronchopneumonia volt, melyet a *B. trehalosi* és a *M. glucosida* okozott. [51]

2017-ben a WDA-ban számoltak be egy szintén Colorado államban történt esetről. 2016 januárjában 2 jávorszarvas tehenet és 15 jávorszarvasborjút elhullva találtak vagy elaltattak olyan klinikai tünetek miatt, mint a soványság, nyálzás, bágyadság és az elfekvés. A borjak közül négyet a Wildlife Division of Parks and Wildlife osztályán vizsgáltak. A szövettani leletek között szerepelt szubakut gennyes bronchopneumonia, regionálisan kiterjedt tüdővérzés és ödéma. A négy tüdőszövetből kettőből is izoláltak *Pasteurella multocidát*, egyből *Mannheimia haemolyticát*, illetve egy májszövetben is megtalálható volt a *M. haemolytica* baktériumfaj. [52]

Kock 2018-ban a Science Advances-ban írt cikket a 2015-ben történt tömeges szajga antilop

(*Saiga tatarica*) pusztulásról. Több mint 200 000 saiga antilop pusztult el 3 hét leforgása alatt Kazahsztán középső részén. A halálozás okaként a vérzéses vérmérgezést állapították meg. [53]

Az IJM 2021-ben egy érdekes esetről számol be, mikor egy csupán bágyadtságot, elesettséget mutató dorkászgazella (*Gazella dorcas*) elhullott. A boncoláson a cranio-ventralis tüdőlebeny purulens váladékkal való felgyülemelését és fibrines pericarditist állapították meg. Továbbá a bronchoalveolaris folyadékból bakterológiai vizsgálatokkal *Mannheimia haemolytica* baktériumfajt izolálták. [54]

Mindössze az említett tanulmányokban lehet olvasni az egész vadvilágunk *M.haemolytica* és *B. trehalosi* hordozásáról, és az általuk okozott kórképekről (5.táblázat). Jóllehet, hogy jelentőségteljes a vadon élő kérődzők és a háziállatok közötti kórokozó átvitel, ám vadállatokban kardinális kihívást jelent csupán a klinikai tünetek azonosítása is. Ezek az állatok azonfelül, hogy az emberektől és emberi tevékenységektől távol élnek, megtanulták, hogy a ragadozók elől elrejtsek szenvedéseiket, betegségeiket. A vadak befogása szintén igen körülményes, mi több, a természetben elpusztultak tetemét pusztán elvéve találjuk meg. Ugyanakkor, ezeket csaknem kivitelezhetetlen mintavételre felhasználni.

|                 | <i>Mannheimia haemolytica</i> | <i>Biebersteinia trehalosi</i> |
|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|
|                 | szerotípus                    | szerotípus                     |
| kőszáli kecske  | A2                            | T10                            |
| őz              | A2                            |                                |
| zerge           | A2, A6, A13                   | T3, T4, T10                    |
| amerikai bölény | A6                            |                                |

4.táblázat: A külföldi esetek, melyekben meghatározták az izolált *M. haemolytica* és *B. trehalosi* szerotípusát. (Kőszáli kecskében, őzben, zergében és amerikai bölényben).

|            | Amerika                        | Európa                   | Ázsia             | Afrika         | Ausztrália                     |
|------------|--------------------------------|--------------------------|-------------------|----------------|--------------------------------|
| Állatfajok | amerikai<br>bölény             | rénszarvas               | szajga<br>antilop | dorkászgazella | ausztrál<br>pettyes<br>szarvas |
|            | kanadai<br>vadjuh              | európai őz               |                   |                |                                |
|            | villásszarvú<br>antilop        | zerge                    |                   |                |                                |
|            | sziklás-<br>hegységi<br>vapiti | dámvad                   |                   |                |                                |
|            | jávorszarvas                   | pézsmatulok              |                   |                |                                |
|            |                                | alpesi kőszáli<br>kecske |                   |                |                                |

5.táblázat: A vadállatokban leírt pasteurellosisos esetek kontinensekre bontva, állatfajonként.

### 3.7. MEGELŐZÉS ÉS KEZELÉS

A pasteurellák fakultatív patogén baktériumok és ellenállóképességük kicsi. Nedves környezetben, vagy a fertőzött állatok váladékaiban hetekig életképesek, beszáradva 2-3 napig élnek, de fertőtlenítőszer hatására vagy 60°C-on percek alatt elpusztulnak. [11]

Nincs tehát hatékony megelőzés vagy kezelés a megbetegedés kialakulását hajlamosító tényezők minimalizálása nélkül. Kulcsfontosságú a megfelelő tartási viszonyok kialakítása mellyel az állatokat ért stresszt csökkenteni tudjuk. Kerülni kell az állatok zsúfoltan, huzatos istállóban, szennyezett- nedves almon való tartását vagy a mikotoxin-tartalmú takarmány etetését. Be kell tartani a karanténzási előírásokat és a tüneteket mutató állatokat el kell különíteni. [55]

A betegség megelőzésére léteznek vakcinák is, elsősorban a *P. multocida* és a *M. haemolytica* törzsek ellen. Ezeknek a vakcináknak az alkalmazása a leggazdaságosabb és legvalószínűbb védekezési módszer, de szerotípus-specifikusak, így a hatékony alkalmazásukhoz szükséges a fajok állományban jelen lévő összes szerotípusának ismerete. [56] Magyarországon kizárólag olyan kereskedelmi forgalomban lévő vakcinák vannak, amelyek csak a *Mannheimia haemolytica* A1-et tartalmazzák. Publikáltak azonban tanulmányokat, melyek szerint a csakis A1 szerotípust tartalmazó vakcinák kereszttvédelmet nyújthatnak a többi szerotípus ellen is. Egy 2012-es kísérlet eredményei azt mutatják, hogy

a *M. haemolytica* A1 szerotípust tartalmazó, legyengített élő vakcinával történő vakcinázás megvédheti a borjakat a *M. haemolytica* A6 szerotípussal való fertőzést követő klinikai tünetek kialakulásától. [57] Ugyan a *Bibersteinia trehalosi* ellen nem található hazánkban kereskedelmi forgalomban vakcina, az *American Veterinary Medical Association* folyóiratában publikálták, hogy a *M. haemolytica* A1 leukotoxint tartalmazó multivalens, módosított élő vírusos vakcina hatékonynak bizonyult a *B. trehalosival* fertőzött borjak bronchopneumoniás tüneteivel szembeni védelemben. [58]

Megemlítendő az autovakcinák eredményessége is, melyek révén olyan telepspecifikus oltóanyagokat tudnak készíteni, amelyek az adott állatállományra szabottak, így a lehető legoptimálisabban alkalmazkodnak annak igényeihez, mivel csak azokat az inaktivált kórokozókat tartalmazzák, amelyeket az adott állatállományban megjelenő kórtani esetekből izoláltak. [59]

Számos országban, köztük hazánkban is, vannak forgalomban ilyen autovakcinák, melyek *Pasteurella multocida* toxinjának egy nem toxikus rekombináns származékát és/vagy a *Mannheimia haemolytica* inaktivált, sejtmentes szuszpenzióját tartalmazzák, ez utóbbiak azonban csak az A1-es szerotípus ellen védenek. [60] [61]

A fertőzött állatok kezelésében továbbra is az antimikrobiális szerek a legszélesebb körben elterjedt eszközök, sőt az USA egyes államaiban profilaktikusan is alkalmazhatóak juhok és kecskék esetében. A pasteurellosis kezelésére leginkább választott antibiotikum csoport a makrolidok, melyek hatóanyagai, mint a tulatromicin, tilmicosin, képesek feldúsulni a vizsgált baktériumaink predilekciós helyén, a légzőszervekben. Kifejezetten hatékony továbbá a florfenikol, ám a fluorokinolonok (enrofloxacin), potencírozott szulfonamidok és a cefalosporinok is általában hatásosak a kezelésben. Figyelembe véve, hogy a *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* gyenge ellenállóképességű kórokozók, akár a penicillinek is megoldást jelenthetnek. [62] [63] [64]



### 3.8. HASZNÁLT AZONOSÍTÁSI MÓDSZEREK LEÍRÁSA

#### 3.8.1. Morfológia

Mikroszkóppal keresve mind a két baktériumot közepes méretű, kb. 0,5-2 µm-es, coccoid pálcaként láthatjuk. Önálló mozgásra nem képesek, hiszen csillóik nincsenek, ám vékony poliszacharid burokkal és fimbriával rendelkeznek.[11]

#### 3.8.2. Baktériumtenyésztés

A tápanyagigényes baktériumok közé tartoznak, a környezetben nem szaporodnak. Legtöbbször véresagaron tenyésztik őket, ahol a telepeik alatt és esetleg a telepeik körül keskeny gyűrűben gyenge β-hemolízis figyelhető meg.

Ennek segítségével és azzal a képességükkel, hogy nőnek MacConkey agaron is, a *Pasteurella multocida*tól jól elkülöníthetők. Véresagarra kioltva, szélesztve majd 37°C-on 24 órán át inkubálva 0,5-1,5 mm átmérőjű, kerek, szürkésfehér, sima felületű telepeket képeznek (6.táblázat). [65]

|                                       | <i>Mannheimia</i><br><i>haemolytica</i> | <i>Biebersteinia</i><br><i>trehalosi</i> | <i>Pasteurella</i><br><i>multocida</i> |
|---------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------|
| <b>B-hemolízis</b>                    | +                                       | +                                        | -                                      |
| <b>Növekedés<br/>MacConkey agaron</b> | +                                       | +                                        | -                                      |
| <b>Indol teszt</b>                    | -                                       | -                                        | +                                      |
| <b>Maltóz bontás</b>                  | +                                       | +                                        | -                                      |
| <b>Mannit bontás</b>                  | -                                       | +                                        | +                                      |
| <b>Trehalóz bontás</b>                | -                                       | +                                        | -/+                                    |
| <b>Laktóz bontás</b>                  | +                                       | +                                        | -                                      |
| <b>Ornitin dekarboxilálás</b>         | -                                       | nincs adat                               | +                                      |
| <b>Jellegzetes szag</b>               | -                                       | -                                        | +                                      |

6. táblázat: A *Mannheimia haemolytica*, *Biebersteinia trehalosi* és *Pasteurella multocida* baktériumfaj összehasonlítása véres agaron való hemolízisük, MacConkey agaron való növekedésük, indol tesztjük és cukorbontásuk, ornitin dekarboxilálásuk és szaguk alapján.

### 3.8.3. Gram-festés

A Gram-negatív és a Gram-pozitív baktériumok elkülönítésére szolgáló festési eljárást Hans Christian Gram, dán kutató, 1884-en fedezte fel. A módszer lényege, hogy a mikroorganizmusok sejtjeiben a genciána ibolya molekulái Lugol-oldat hatására nagy méretű, lila színű, jód-pararozanilin komplexekké alakulnak. Ezt a festékkomplexet a tömény alkohol, mint szerves oldószer könnyen kioldja a Gram-negatív baktériumokból, míg a Gram-pozitív baktériumok vastagabb peptidoglikán rétege ezt nem engedi. Ennek következtében a kontrasztfestés során használt safranin, vagy híg vizes fukszin csak a Gram-negatív baktériumokat festi meg. Így a Gram-pozitív baktériumok színe esetén kékes-lila marad a jód-pararozanilin miatt, míg a Gram-negatív baktériumok a fukszinos/safraninos festést követően rózsaszínes, pirosas színűek lesznek. [66] A *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* Gram-negatív baktériumok, így ezek rózsaszínre festődnek.

### 3.8.4. Oxidáz teszt

Ennek a tesztnek a segítségével egy baktériumtörzsből a citokrómoxidáz c enzim jelenlétét igazolhatjuk. A teszt során a reagensben lévő N’N’N’N’-tetrametil-p-feniléndiamin az említett enzim hatására oxidálódik és kék színreakciót mutat. A számunkra fontos kórokozóknak lassú tempóban (1 perc alatt) pozitív reakciót kell mutatniuk. [67]

### 3.8.5. Kataláz teszt

A teszt célja, hogy megállapítsuk a vizsgált baktérium rendelkezik-e kataláz enzimmel. Mindkét baktériumfaj rendelkezik kataláz enzimmel, így gyorsítják a hidrogén-peroxid bontását, amiből oxigén és víz szabadul fel, emiatt pezsgés tapasztalható. Ritka esetben a törzsek nagyon kis hányada akár kataláz negatív is lehet, emiatt a határozás során nem zártuk ki automatikusan a kataláz negatív törzseket. [67]

### 3.8.6. Indol teszt

Ezzel a teszttel az alapján különítünk el baktériumokat, hogy képesek-e p-dimetilamino-fahéjaldehid (DMACA) reagensből a triptofánt indollá, ammóniává és piruváttá hasítani. Pozitív reakció esetén 10 másodpercen belül kékes-zöldes színreakciót látunk, míg negatív reakciónál nincs színváltozás. Az általunk azonosítani kívánt baktériumok indol negatívak, míg a *Pasteurella multocida* indol pozitív mikroorganizmus (6.táblázat). [68] [69]

### 3.8.7. *Cukorbontás*

A cukorbontási tesztek azt mutatják, hogy mely baktérium mely cukrokat képes bontani. Ennek során a cukorlevesbe oltják a vizsgált baktérium egy telepét. Ez csak egyfajta szénforrást, az adott cukrot (laktózt, maltózt, mannitot vagy trehalózt) tartalmaz, valamint egy indikátort, ami rendszerint fenolvörös. Abban az esetben, ha baktérium képes bontani a vizsgált cukrot, savat termel belőle és a fenolvörös sárga színváltozása jelzi a pozitív eredményt. Negatív reakciónál nem látunk színváltozást, marad rózsaszínű a fenolvörös (6.táblázat). [67] [68]

### 3.8.8. *Ornitin dekarboxiláció*

Az ornitin dekarboxilációs teszt segítségével a baktériumokat ornitin dekarboxiláz termelésük alapján különböztetik meg. Ha a vizsgált baktérium rendelkezik ezzel az enzimmal a reakció során lúgosító hatású aminok keletkeznek. A tápközeg megnövekedett pH-értékét a jelenlévő brómkrezollila és krezolvörös pH-indikátorok jelzik, így a közeg narancssárgáról lila színre változik. A *P. multocida*-val ellentétben a *M. haemolytica* negatív reakciót mutat, a *B. trehalosi* ornitin dekarboxilációjáról jelenleg nincs szakirodalmi adat (6.táblázat). [70]

### 3.8.9. *Szerotipizálás*

Az egyes szerotípusok meghatározását a baktériumok felületi poliszacharid antigénjeik alapján, passzív haemagglutinációs próbával végzik. Ennél a technikánál törzstenyészetekből származó antigénekkal szenzibilizálják a már egy kompatibilis állatfajból gyűjtött, átmosott vörösvértesteket. Ez az érzékenyítési folyamat lehetővé teszi, hogy a vvt-kre kapcsolt antigénekhez a mikroorganizmusok ellen termelt antitestek kötődjenek. A baktérium szerotípusának meghatározásához a savót összekeverik a szenzibilizált vörösvértestekkel. Ha az vörösvértestek felszínén lévő antigének megegyeznek a savóban lévő antitestekkel, ezek összekapcsolódnak és agglutináció következik be. Pozitív reakció esetén a polisztirol lemez csöveiben pirosas elszíneződést és esetleg a vörösvértestek összecsapódása miatt szemcséket láthatunk. A negatív eredményt a csövek aljára leülepedett vörösvértestek vörös foltja jelzi. [68]

#### 4. CÉLKITŰZÉSEK

Célunk volt, hogy megvizsgáljuk magyarországi vadon élő, illetve tenyésztett és állatkertekben tartott vadon élő kérődzők orrtampon mintáiból a *Mannheimia haemolytica* és *Bibersteinia trehalosi* hordozását, mind tenyésztéses mind molekuláris biológiai módszerrel.

Célunk volt, hogy az általunk vett orrtampon minták egy részében a *Pasteurella multocida* jelenlétét kimutassuk molekuláris biológiai módszerrel.

Továbbá célul tűztük ki az izolálандó, illetve törzsgyűjteményekből származó törzsek szerotípusának meghatározását.

## 5. ANYAG ÉS MÓDSZER

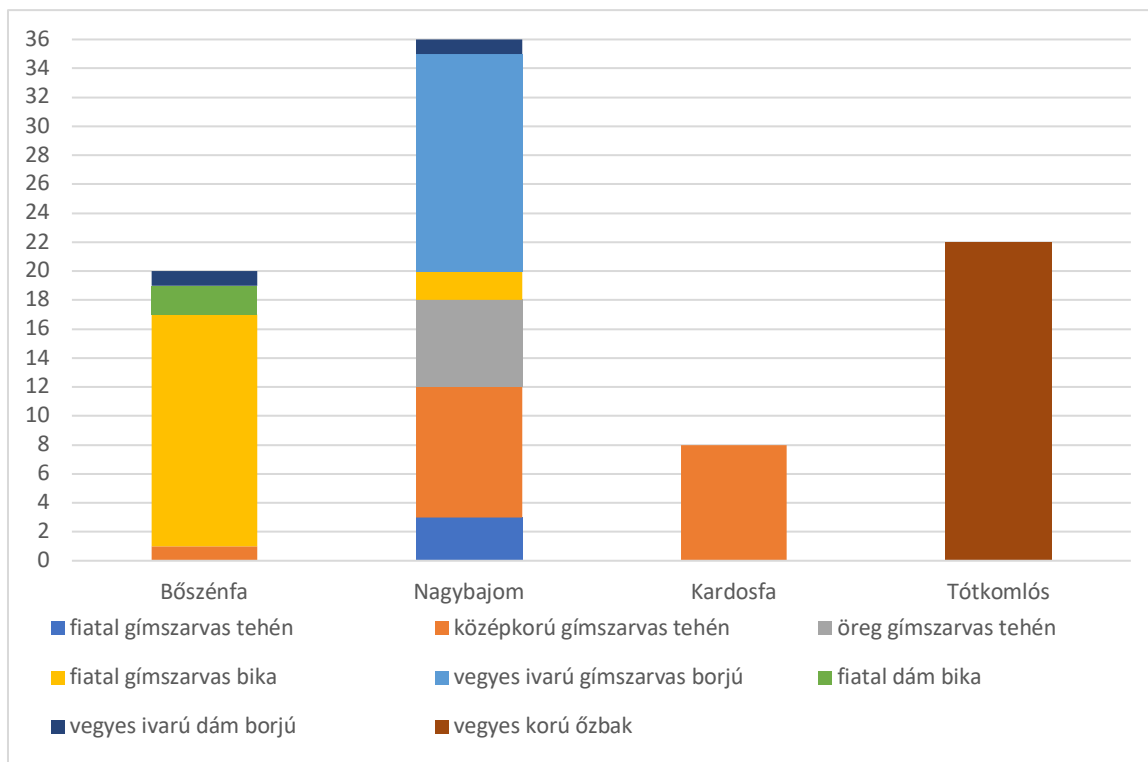
### 5.1. MINTÁK EREDETE

A kutatás során 90 db mintát gyűjtöttünk és vizsgáltunk meg. Bár nagy részét gímszarvasokból (*Cervus elaphus*) és őzekből (*Capreolus capreolus*), aktív módon gyűjtöttük, érkeztek hozzánk dámvadból (*Dama dama*), muflonból (*Ovis aries musimon*), sörényes juhból (*Ammotragus lervia*) és még indiai antilopból (*Antilope cervicapra*) is. A 90 minta tetemes része, azaz 59, gímszarvasból származott. Őzből 23, dámvadból 5, míg indiai antilopból, muflonból és sörényes juhból 1-1 minta származik.

#### 5.1.1. Aktív mintavétel

Az aktív mintavételezést orrtampon minták vételezésével, steril vattapálcákkal végeztük. Az állatok orrüregében kerestünk váladékos, de lehetőleg nem földdel, vérrel szennyezett területeket. Itt a nyálkahártyán a pálcák tamponos végét megforgattuk és 1ml fiziológiás sóoldatot tartalmazó csőbe helyeztük. Ezeket a mintavételtől számított maximum egy héten belülfeldolgoztuk, addig 4°C-on tároltuk.

Az első mintákat 2023. januárjában gyűjtöttük a SEFAG Zrt. Zselici erdészeténél elejtett 8 középkorú gímszarvas tehénből Kardosfán. Ezt követően a Bőszénfai Szarvasfarmon januárban 14 élő, exportra befogott, fiatal gímszarvas bikától tudtunk orrtamponnal mintát venni. Bőszénfáról, vadászatokról még sikerült 2 fiatal gímszarvas bikából, 1 középkorú gím tehénből, 2 fiatal dám bikából és 1 dám borjúból, összesen 6 állat teteméből mintát gyűjteni. Nagybajomban, januártól február közepéig, a Dél-Dunántúli Fauna Vadászati Társaság segítségével 35 gímszarvas és 1 dám borjú tetem mintavételezése zajlott. Ezek 6 öregkorú, 9 középkorú és 3 fiatal gímszarvas tehénből (összesen 18), 2 fiatal bikából és 15 vegyes ivarú borjúból származtak. Április folyamán 22 elejtett vegyes korú őzbakból sikerült orrtampon mintát gyűjtenünk a Száraz- Érmonti Vadásztársaság közreműködésével, Tótkomlóson (1.diagram). Júliusban még egy, a nyíregyházi állatkertben élő sörényes juh tracheájából vett tampon minta, illetve a győri állatkertből, egy dámvad orrnyálkahártyájáról származó minta gazdagította felmérésünk anyagát (7.táblázat).



1.diagram: A vadon élő gímszarvasokból, őzekből és dím vadakból származó minták száma ivar és kor függvényében a mintavétel helyére vonatkoztatva.

### 5.1.2. Passzív mintavétel

A passzív mintavételezés részeként először a NÉBIH ÁDI budapesti intézetének a törzsgyűjteményét tanulmányoztuk át. A törzsgyűjteményt 2005-től gyűjtik, ettől kezdve a napjainkig tartó időszak eseteit néztük át. A vizsgálatunk kezdetén csupán egy 2006-os őz légzőszervi *B. trehalosi* esetről volt tudomásunk. Ehhez érkezett 2023-ban még két eset, egy vadon élő muflon és egy Veszprémi Állatkertből származó indiai antilop eset (7.táblázat).

Az esetekről készült paraffinba ágyazott, hematoxin-eosinnal és Giemsa-val festett szövettani metszeteket összegyűjtöttük és megtekintettük.

|                         | Őz   |                   | Gímszarvas |             | Dámvad |             | Muflon            | Indiai antilop    | Sörényes juh      | Összesen |
|-------------------------|------|-------------------|------------|-------------|--------|-------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------|
|                         | lőtt | kórbonctani minta | lőtt       | tenyésztett | lőtt   | tenyésztett | kórbonctani minta | kórbonctani minta | kórbonctani minta |          |
| Böszénfa                |      |                   | 3          | 14          | 3      |             |                   |                   |                   | 20       |
| Nagybajom               |      |                   | 34         |             | 1      |             |                   |                   |                   | 35       |
| Kardosfa                |      |                   | 8          |             |        |             |                   |                   |                   | 8        |
| Tótkomlós               | 22   |                   |            |             |        |             |                   |                   |                   | 22       |
| Győr (állatkert)        |      |                   |            |             |        | 1           |                   |                   |                   | 1        |
| Nyíregyháza (állatkert) |      |                   |            |             |        |             |                   |                   | 1                 | 1        |
| ÁDI (Győr/Rábapordány)  |      | 1                 |            |             |        |             | 1                 |                   |                   | 2        |
| ÁDI (Veszprém)          |      |                   |            |             |        |             |                   | 1                 |                   | 1        |
| Összesen                |      | 23                |            | 59          |        | 5           | 1                 | 1                 | 1                 | 90       |

7.táblázat: A gyűjtött minták száma a mintavétel helyének és a mintavételezett állat fajának függvényében.

## 5.2. BAKTÉRIUM TENYÉSZTÉS

A minták feldolgozásának első lépése a baktériumtörzsek tenyésztése volt. A tamponok segítségével a mintákat a baktériumok szaporodásához megfelelő táptalajra, friss véresagarra oltottuk. A Petri-csésze területének kb. harmad részét kentük be a tamponokkal direkt módon majd kis fejű fémkacsokkal szélesztettük a maradék háromnegyed részén. Ezután a tenyészeteket 37°C-os, 10% CO<sub>2</sub> -ot tartalmazó termosztátba helyeztük 24 órára. A következő napon, az agaron megjelent baktériumtelepek makroszkópos vizsgálata következett. A primer tenyészeteket ezt követően még egy napig inkubáltuk, és a második napon szintén megvizsgáltuk, lassaban tenyésző baktériumok után kutatva. Valamennyi tenyésztett telepet elbíraltunk mérete, alakja, felszíne, színe, szaga, valamint a hemolizáló képessége alapján. Először leginkább vegyes primer tenyészeteket láttunk, melynek az oka, hogy az általunk izolálni kívánt baktériumtörzsek mellett számos más baktériumfaj is fellelhető volt a mintáinkat alkotó váladékokban. Ha egy agaron volt olyan telep, amit a kritériumoknak megfelelőnek találtunk, azt átoltottuk friss véresagarra. Az átoltott tenyészeteket 37°C-os, 10% CO<sub>2</sub> -ot tartalmazó termosztátba tettük, majd 24 órával később szintén elbíraltuk az immár színtenyészeteket. A tenyésztésből *Mannheimia haemolytica*-nak vagy *Bibersteinia trehalosin*-ak tűnő törzseken a biztosabb eredmények érdekében Gram festést és különféle biokémiai tesztek végeztünk. Terveink szerint amennyiben egyéb, házi kórokozók esetében ismert légúti kórokozók jelenlétét, mint *Pasteurella multocida*, *Trueperella pyogenes*, *Histophilus somni*, észleltük volna a tenyészeteken, azokat is meghatároztuk volna és konzerváltuk volna. Az izolált törzseket kryo csövekben, egy

táptalajnyi 24 órás tenyészetet 700 µl Mueller-Hinton leves és 300 µl glicerín keverékéhez adva homogenizált szuszpenzióban tároltuk -80°C-on.

### 5.3. BIOKÉMIAI TESZTEK

#### 5.3.1. *Oxidáz teszt*

A szűrőpapíros módszert alkalmaztuk, tehát egy darab szűrőpapírt egy petricsészébe tettünk, majd műanyag kacs segítségével az izolált baktériumtörzsekből 4-5 telepet szűrőpapírra kentünk. Ezt követően a reagens 1%-os vizes oldatából öntöttünk a papírra. [67]

#### 5.3.2. *Kataláz teszt*

A kataláz próbához egy leégetett fémkaccsal a vizsgálandó baktérium tenyészetből egy telepet egy tárgylemezre kentünk, majd erre a telepre körülbelül 1 csepp, 3%-os hidrogén-peroxid oldatot cseppentettünk. [71]

#### 5.3.3. *Indol teszt*

A tesztet indol spot módszerrel végeztük, melyhez a reagensből pár cseppet egy szűrőpapírra csepegtettünk, majd egy telepnyi baktériumot egy steril kacs segítségével rákentünk.

### 5.4. PCR

#### 5.4.1. *DNS kivonás*

Ahhoz, hogy a molekuláris vizsgálatot el tudjuk végezni ki kellett vonnunk a mintában lévő számunkra fontos baktériumok genetikai állományát. Ezt a DNS kivonást a GBB 100 Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit-tel a „Biológiai folyadékokhoz” előírt öt lépéses protokoll szerint végeztük.

Először a tamponokat pár percig áztattuk majd alaposan beleforgattuk 1 ml fiziológiás vízbe, melyet egy 1.5 milliliteres mikrocentrifuga csőbe helyeztünk. Ezeket 5 percig 14600xg-vel centrifugáltuk majd a felülúszót leöntöttük. A csövek alján maradt üledékhez adtunk 200µl *GT Buffert*, majd pipettával felkevertük és belemértünk 20µl *Proteináz K*-t (amihez előzőleg ddH<sub>2</sub>O-t adtunk). Vortex segítségével ezt is elkevertük a mintákban majd 10 percen keresztül 60°C-on inkubáltuk termosztátban. Ez idő alatt 3 percenként néhányszor átforgattuk majd a lízissel folytatattuk. Mértünk a mintákba 200 µl *GB Buffert* és az előző módszerrel megegyezően 10 percig, de immár 70°C-on inkubáltuk. A következő lépés már a DNS kötés volt, ekkor 200 µl abszolút etanolt kellett a mintákhoz adnunk és gyors összerázás után egyből gyűjtőcsövekbe helyezett *GD oszlopok*ba pipetázni. A mintákat ismét le kellett centrifugálni és az oszlopokat új gyűjtőcsövekbe helyezni. Negyedik lépésként a mosás következett. Először 400µl *W1 Bufferrel* majd 600 µl *Wash Bufferrel* centrifugáltuk fél-fél



percig. Mindkét pufferrel való. centrifugálás után kiöntöttük a szűrőkön átpréselődött folyadékokat a gyűjtőcsövekből. Az utolsó reagens bemérése előtt szárítás céljából még három perc centrifugálás következett. A kivonáshoz áthelyeztük a mintákat tartalmazó *GD oszlopokat* új, tiszta 1.5 ml-es mikrocentrifuga csövekbe. A szűrőpapír közepére pipetáztunk 100 µl *Elution Buffert* majd pár percig állni hagytuk, hogy az teljesen abszorbeálódni tudjon. Végül, hogy kivonjuk a megtisztított DNS mintákat, még egyszer fél percig centrifugáltuk. A csövek alján megkaptuk a kivont, PCR-hez szükséges DNS mintákat, melyeket -80°C-on tároltunk.

#### 5.4.2. PCR folyamata

A hagyományos polimeráz-láncreakciót a Biometra® – Tpersonal PCR géppel végeztük, melyhez először a minták számához megadott mennyiségű reagenseket kellett összemérni. Egy darab mintához, melyből a reakcióhoz 2 µl-t kellett kimérni, szükség volt 19,375 µl PCR vízre, 2,5 µl pufferre, 0,5 µl Dntp-re, 0,25-0,25 µl primer1-forward-ra és primer2-reverse-re, 0,125 µl Taq polimerázra. Így, mindösszesen 25 µl folyadék került egy mintát tartalmazó mikrocentrifuga csőbe (9.táblázat).

Az alapján, hogy a *Mannheimia haemolytica*hoz vagy a *Biebersteinia trehalosi*hoz mértük be a reagenseket különböző primereket pipetáztunk a mintákba (8.táblázat). A *Bibersteinia trehalosinak* a pozitív kontrollja a *Bibersteinia trehalosi* T4 típus törzs volt, a negatív kontrollja a *Mannheimia hamolytica* A1 típus törzs, míg *Mannheimia hamolyticát* keresve pont fordítva. Fontos megemlítenünk, hogy a primerek fajspecifikusak, *Mannheimia glucosida* negatív mindkét primerrel. A típus törzseket a Czechoslovak Collection of Microorganisms-tól (CCM, Brno) kaptuk. Ez ma Czech Collection of Microorganisms (CCM, Brno) néven működik.

|                                |                |                                  |
|--------------------------------|----------------|----------------------------------|
| <i>Mannheimia haemolytica</i>  | KMT1SP6 primer | 5'- GCTGTAAACGAACTCGCCAC -3'[72] |
| <i>Biebersteinia trehalosi</i> | KMT1T7 primer  | 5'- ATCCGCTATTIACCCAGTGG -3'[73] |

8.táblázat: *M. haemolytica* és *B. trehalosi* azonosításához használt primerek.

|                       | Mennyiség<br>(μl) | <i>Mannheimia haemolytica</i>                                                                                                         | <i>Bibersteinia trehalosi</i>               |
|-----------------------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| PCR víz               | 19,375            | 2x desztillált víz                                                                                                                    |                                             |
| puffer                | 2,5               | thermoscientific Dreamtaq™ Green Buffer                                                                                               |                                             |
| Dntp                  | 0,5               | thermoscientific dNTP set,<br>töménység: 10 mM,<br><br>előállítás: 10-10-10-10 μl 100mM-os dATP/dGTP/dCTP/dTTP oldat + 460 μl PCR víz |                                             |
| primer 1 -<br>forward | 0,25              | Rpt2                                                                                                                                  | LKTBt-1                                     |
|                       |                   | GTTTGTAAGATATCCCATT                                                                                                                   | AGAGGCGAGCGTACTTGTC                         |
| primer 2 -<br>reverse | 0,25              | CGTTTCCACTTGCGTGA                                                                                                                     | ATAGACTCCTCAAGTGGGCTGA                      |
| Taq polimeráz         | 0,125             | thermoscientific Dreamtaq™ Green DNA Polymerase                                                                                       |                                             |
| templát               | 2                 |                                                                                                                                       |                                             |
| Összesen              | 25                |                                                                                                                                       |                                             |
| + kontroll            |                   | <i>Mannheimia haemolytica</i> A1<br>típustörzs                                                                                        | <i>Bibersteinia trehalosi</i> T4 típustörzs |
| - kontroll            |                   | <i>Bibersteinia trehalosi</i> T4<br>típustörzs                                                                                        | <i>Mannheimia haemolytica</i> A1 típustörzs |
| - kontroll            | 25                | templát nélkül a többi összetevő                                                                                                      |                                             |

9.táblázat: PCR reagensek bemérése.

A reagensek bemérése után, a PCR csöveket a gépbe helyezzük és elindítjuk a kiválasztott baktériumra előre összeállított programot. Mind a *Mannheimia haemolytica*, mind a *Bibersteinia trehalosi* programja 5 alaplépésből áll, ezeket a 10. táblázat szemlélteti.

A *P. multocida* PCR programozását Townsend 1998-as, *Journal of Clinical Microbiology*-ban publikált tanulmánya alapján végezték el. [74]

| Lépés        | <i>Mannheimia</i><br><i>haemolytica</i> | <i>Bibersteinia trehalosi</i> |
|--------------|-----------------------------------------|-------------------------------|
| 1            | 95 °C - 3 perc                          | 95 °C - 2 perc                |
| 2            | 95 °C - 1 perc                          | 95 °C - 10 másodperc          |
| 3            | 48 °C - 1 perc                          | 59 °C - 30 másodperc          |
| 4            | 72 °C - 30 másodperc                    | 72 °C - 30 másodperc          |
| ISMÉTLÉS 2-4 | 34x                                     | 39x                           |
| 5            | 72 °C – 5 perc                          | 72 °C – 5 perc                |

10.táblázat: PCR programozása. [74]

#### 5.4.3. Elektroforézis

A PCR programok lejárta után el kellett készíteni az elektroforézishez szükséges gélt. Ehhez összemértünk 120 ml hígított TAE puffert és 1,8 g agaróz port (SeaKem® LE Agarose). Ahhoz, hogy az agaróz megfelelően elolvadjon legalább háromszor fel kellett forralni és elkeverni a kezdetben zavaros majd áttetsző folyadékot. Utoljára 5 µl DNS festéket (thermoscientific - Invitrogen – SYBR<sup>TM</sup> Safe DNA Gel Stain) pipettáztunk bele. Az egészet kiöntöttük egy elektroforézishez való keretbe, majd vártuk a dermedési időt, ami kb. 20 perc. Amikor megdermedt áthelyeztük az elektroforézis gépbe, a gél zsebeibe 10-10 µl PCR terméket és egy zsebbe DNS létrát (thermoscientific GeneRuler 100 bp DNA Ladder) mértünk (11.táblázat). A mintákat a Hoefer Mighty Slim elektroforézis gépben, 110 V-al, 30 percig futtattuk, majd leolvastuk az eredményeket.

|                                   |      |
|-----------------------------------|------|
| <b>DNA ladder (0,5-1µg/ml)</b>    | 1 µl |
| <b>6X TriTrack DNA Loading Ye</b> | 1 µl |
| <b>PCR víz</b>                    | 4 µl |

11.táblázat: DNS létra hígítása agaróz gélhez.

#### 5.4.4. *Leolvasás*

A minták leolvasásához a gélt a GelDoc IT® Imager, Benchtop UV transilluminator UV gépbe helyeztük és a Vision Works programjával értékeltük ki. Egy zsebbe pipettázott minta pozitív, ha az egy sorban helyezkedik el a pozitív kontroll sorával, negatív, ha nem abban a magasságban van. Abban az esetben, ha valamelyik kontroll sora nem tűnik elő a képen, az eredmények nem értékelhetők, hiszen a reakció hibás, így azt meg kell ismételni.

#### 5.5. SZEROTIPIZÁLÁS

A próbához a vizsgált baktériumtörzsek 24 órás tiszta tenyészetére van szükség. Azonban antigén előkészítéséhez először a friss, steril és fibrin mentes juh vér mosását kellett elvégezni. Ehhez 12 ml vért 2500/perc fordulatszámmon 10 percig centrifugáltunk, a felülúszót kiöntöttük, majd 5 ml fiziológiás sóoldatot mértünk a maradék vérre. Újra centrifugáltuk és a felülúszóját ismét leszívtuk, leöntöttük. Ezt a folyamatot négyszer megismételtük, de az utolsó alkalommal nem adtunk a vérhez fiziológiás sóoldatot.

Ezután vizsgált törzsenként egy-egy Wassermann csőbe 5-5 ml fiziológiás sóoldatot mértünk. Ebbe mostuk bele az antigénnek szánt teljes baktériumtenyészetet steril oltókaccsal, melyet vortexszel homogenizáltunk. Az elkészült oldatokat fél-egy órára 56°C-os vízfürdőbe tettük, majd minden csőbe 50 µl mosott vörösvértestet mértünk. Ezt óvatosan rázogatva homogenizáltuk és ismét egy órára, de most 37°C-os vízfürdőbe helyeztük. A vízfürdőből kivéve a csöveket 2500 fordulat/percen 10 percig centrifugáltuk, leöntöttük a felülúszót, a folyamatot kétszer ismételtük. A harmadik ciklus után 10 ml fiziológiás sóoldattal szuszpendáltuk a vért.

A beméréshez tiszta, U alakú, 96 lyukú lemezeket lefedtünk, a lemezt az antigénnek, a sorokat a savóknak megfelelően számoztuk. A polisztirol lemez minden csövébe 50 µl fiziológiás sóoldatot pipettáztunk. A savóból az első oszlop lyukaiba 50-50 µl-t mértünk, majd a másodiktól az utolsó előtti oszlopig felező hígítást végeztünk, az utolsót kihagytuk kontrollként. A kész antigénből minden lyukba 50 µl-t mértünk. [68]

Az eredményeket 2-3 óra szobahőmérsékletű inkubálás után, a lemezeket fehér háttérre téve olvastuk le.

## 6. EREDMÉNYEK

### 6.1. TENYÉSZTÉS, KÓRTAN

Az általunk gyűjtött tampon mintákból a *M. haemolytica* és a *B. trehalosi*. kimutatására irányuló baktériumtenyésztéses vizsgálat valamennyi esetben negatív eredménnyel zárult. *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* vagy *Trueperella pyogenes* szintén nem fordult elő a mintákban. Legnagyobb számban *Staphylococcus* és  $\alpha$ -haemolysáló *Streptococcus* és *Aeromonas spp.* telepeket figyeltünk meg. A gímszarvas minták esetében kifejezetten gyakori volt az *Aeromonas*-fajok jelenléte, melyet legtöbb esetben *Aeromonas hydrophilaként* azonosítottunk.

Az ÁDI Bakteriológiai Osztályának törzsgyűjteményében 2005-től napjainkig terjedő időszakban vadból mindössze 2 vadból származó *Bibersteinia trehalosi* és egy *Mannheimia haemolytica* fordult elő. Ezekben az esetekben a halál oka minden esetben vérfertőzés okozta septicus sokk volt. Az őz esetében emellett heveny hurutos bronchopneumonia, pontszerű vérzések az endocardiumon és lesóványodás volt megfigyelhető. Az indiai antilop esetében enyhefokú heveny hurutos bronchopneumonia volt látható. A muflon esetében heveny hurutos-gennyes bronchopneumoniát, heveny gennyes nyirokcsomó gyulladást és heveny savós májgyulladást lehetett még észlelni (13.táblázat). Ez időszak alatt még 6 vad (3 dámszarvas, 2 gímszarvas, 1 őz) tüdőgyulladásos esetéből származó *Pasteurella multocida* baktériumot izoláltak. 24 esetben *Trueperella pyogenest* is kimutattak vadon élő kérődzőkből, de ezek nem légúti mintából, hanem bőrkaparékokból, illetve tályogokból és letört agancs-csonkokból származtak. *Histophilus somni* nem fordult elő vadon élő kérődző esetében.

### 6.2. PCR

A fajspecifikus PCR vizsgálat egy Tótkomlósról származó őzbak esetében pozitív lett *Mannheimia haemolytica*-ra. Minden más minta PCR vizsgálata *M. haemolytica* és *B. trehalosi* esetében negatív eredménnyel zárult. Az ÁTKI Légzőszervi Bakteriológia témacsoportjában kooperációban végzett *Pasteurella multocida* PCR vizsgálat szintén negatív eredményre vezetett a véletlenszerűen választott 5-5 őz és gímszarvas mintából.

### 6.3. SZEROTIPIZÁLÁS

Az indiai antilop májából származó *B. trehalosi* T4 szerotípusú, a muflon tüdőből származó pedig T3 szerotípusú törzsként határoztunk meg. Az őz tüdőszövetből származó *Mannheimia haemolytica* eredménye szerotipizálással nem besorolható lett (12.táblázat).

|                                | indiai antilop                              | muflon                                                                                                          | őz                                                                                     |
|--------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Biebersteinia trehalosi</i> | T4                                          | T3                                                                                                              |                                                                                        |
| <i>Mannheimia haemolytica</i>  |                                             |                                                                                                                 | nem besorolható                                                                        |
| <b>kórtan</b>                  | septikaemia,<br>hurutos<br>bronchopneumonia | septikaemia,<br>hurutos-gennyes<br>bronchopneumonia,<br>gennyes nyirokcsomó<br>gyulladás,<br>savós májgyulladás | septikaemia,<br>hurutos<br>bronchopneumonia,<br>endocardiumon<br>vérzések,<br>kachexia |

12.táblázat: Az ÁDI-s esetek (indiai antilop, muflon és őz) kórtana és az izolált *M. haemolytica* és *B. trehalosi* szerotípusai.

## 7. MEGBESZÉLÉS, KÖVETKEZTETÉSEK

Kiskérődzők és szarvasmarhák esetében a *Mannheimia haemolytica* és *Bibersteinia trehalosi* okozta pasteurellosis gyakran előforduló és jelentős gazdasági kárt okozó betegség. Azonban kérdés volt számunkra, hogy a vadon élő kérődzők hordozhatják-e ezen baktériumokat, így fenntartva a ridegen tartott állataink pasteurellosisát. Illetőleg arról, hogy okozhatnak-e egyáltalán megbetegedéseket és ezáltal gazdasági károkat a hazánkban is előforduló vadon élő kérődzőkben, tenyésztett szarvasfélékben is az általunk vizsgált fajok, dámszarvason kívül nem volt szakirodalmi publikáció. Jelen vizsgálatainkkal, hazánkban elsőként, ezekre a nemzetgazdasági szemponttól érdekes kérdésekre adunk sokrétű választ.

Annak dacára, hogy dámvadban szakirodalom szerint fordult már elő *Mannheimia haemolytica*, a mi vizsgálatainkban résztvevők negatívak lettek. Ámbár ennél és a többi kis esetszámú állatnál túl kevés minta állt rendelkezésünkre, hogy statisztikailag kizárjuk a lehetőséget.

A kutatásunkban a gímszarvasok, a nagy mintaszám ellenére szintén negatívak lettek *M. haemolytica*-ra és *B. trehalosira* is. A bizonyíték hiánya azonban nem feltétlen a hiány bizonyítéka. Az, hogy egyik gím mintában sem volt kimutatható a két kórokozó jelentheti a nagyfokú ellenállóképességet, de a már publikált dámvad eseteket tekintve továbbra sem kizárható, hogy jelen legyenek a baktériumok. A vadon élő állatok várhatóan azonban genetikailag is rezisztensebbek a kórokozókkal szemben, mint a háziállatok. Továbbá esetükben alacsonyabb a tartástechnológiából akadó stressz, úgy, mint a természetes ragadozók hiánya, a Zselic kisebb állatsűrűsége vagy a szélsőséges időjárási viszonyok ritka előfordulása. Emellett a szabad tartás egyértelműen csökkenti a belélegezhető aeroszolban levő baktériumok mennyiségét. Az itatókból is feltehetően kisebb eséllyel fertőződnek, bizonyosan több természetes forrást, medret tudnak használni az igen kedvező természeti adottságoknak köszönhetően (a *Pasteurella* félék jól túlélnek a vízben, így a közös itatók a fertőzés jelentős forrásai lehetnek).

Ugyanakkor, az ÁTE Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék Bakteriológiai csoportjának megfigyelése szerint klinikailag egészséges állatokból szarvasmarhánál is 10-ből 1, juhnál 3-4-ből 1 esetben lehet orrtamponból kitenyészteni a kórokozókat. Valamennyi általunk gyűjtött gímszarvas és őz minta klinikai tünetektől mentes állatokból származik, így várható volt, hogy ezekből eleve kisebb arányban lehet megtalálni a baktériumokat. Ennek ellenére,

mi a 22 őzmintából 1-ben mégis sikeresen kimutattuk PCR-rel a *Mannheimia haemolytica* jelenlétét!

Jelen dolgozatban először publikáljuk muflon és indiai antilop fajokban, illetve hazánkban őzben a *M. haemolytica* és *B. trehalosi* jelenlétét.

Kétfajta *Bibersteinia trehalosi* szerotípust (T3, T4) is azonosítottunk, ami azt jelzi, hogy a kórokozó jól adaptálódott a vadon élő kérődzőkhöz is. Általánosságban megfigyelhető, hogy juhokban mutatható ki a legtöbbféle szerotípus, míg szarvasmarhákban és kecskéknél sokkal kisebb a változatosság. Így feltételezhető, hogy eredetileg e kórokozók a juhfélektől származtak. Emiatt várható, hogy a vadon élő kiskérődzők is fogékonyabbak lehetnek e kórokozók iránt, mint a szarvasfélék. Ezt támasztja alá az a kisszámú lelet is, ami a rendelkezésünkre állt. Bár muflonból csak kórtani mintánk volt, ezekből sikeresen izolálták *Bibersteinia trehalos*it, valamint a külföldi szakirodalmi adatok is legtöbbször a vadjuhok fertőzöttségét említik. A vizsgálataink alapján úgy véljük a hazai vadon élő kérődzők nagyon csekély hányada hordozza ezen kórokozókat, sporadikus megbetegedések azonban előfordulnak. Érdemes lenne a jövőben a tonsillákból és garattamponból is megkísérteni az izolálást, hiszen ezek is a *B. trehalosi* és a *M. haemolytica* fő előfordulási helyei, illetve a kórtani esetekre kiterjeszteni a kutatást.

Annak, hogy az őzből sikeresen izolált *M. haemolytica* törzs szerotípusa nem besorolható lett számos indoka lehet. Egyrészt eredhet technológiai okból, ha a használt savók kimerültek, vagy az alkalmazott vér nem megfelelő. Jelen esetben ezek kizárhatók az egy tételben ezekkel a törzsekkel együtt elvégzett sikeres szerotipizálásokról. A másik, javarészt előforduló oka, hogy egyes törzsek elvesztik felületi antigénjeiket, így szerológiai próbákban gyengébben, avagy nem reagálnak. Az A2-es szerotípusra sok esetben igaz, hogy sokkal kisebb titerben adja a reakciókat. Ennek a megoldására lehet vérben passzálni az adott törzset, ez után nagy általánosságban megfigyelhető a fokozottabb antigéntermelés. A harmadik eshetőség, hogy új szerotípussal van dolgunk, amit új savótermeléssel és ellenőrzéssel lehet ellenőrizni. Bár ennek megvan az elméleti lehetősége, mégis, több évtizede nem fedeztek fel újabb *M. haemolytica* vagy *B. trehalosi* szerotípust.

A kórtani leletek és az ÁDI esetei alapján kijelenthető, hogy a *B. trehalosi* és a *M. haemolytica* vadon élő kérődzőkben is képes súlyos elváltozások kialakítására, mely a háziállatokban tapasztaltakhoz hasonló lehet, és elhullással is járhat. Ennek különösen tenyésztett vad esetében lehet meghatározó jelentősége, ahol nagyobb az állatsűrűség és a



tartástechnikából adódó stressz. A fertőzés iránya azonban, a feltételezéseinkhez képest, vélhetően sokkal inkább fordított, nem vadállatról a háziállatra, hanem a háziállatokról a vadállományra terjed. Ennek hordereje bizonyára olyan vadállatokat tenyésztő gazdaságoknál van, melyek házi kérődzőket is tartanak ugyanazon a telephelyen. Emellett persze elképzelhető, hogy a vadon élő kérődzőkben észlelt pasteurellosis kitörések nem háziállat eredetűek, hanem a saját populációikban hordozzák a baktériumot, amit a kimutatott egy eset is jelez.

Ha más országhoz hasonlóan tömegessé válnának hazánkban is a megbetegedések, érdemes lehet a tenyésztett vadfajokat vakcinázni, így segítve a házi és vadon élő kérődzők e bakteriális kórokozóinak leküzdését. [58]

## 8. ÖSSZEFOGLALÁS

Az elmúlt tíz évben a hazai gímszarvas-, dámszarvas-, őz- és muflonállomány szinte folyamatos növekedést mutatott. A legelőkön vagy erdőszéleken elkerített területen tartott szarvasmarhák, birkák közvetlen közelében is gyakran vehetünk észre vadon élő kérődzőket.

Juhok, kecskék és szarvasmarhák esetében a *Mannheimia haemolytica* és *Bibersteinia trehalosi* okozta pasteurellosis gyakran előforduló és jelentős gazdasági kárt okozó betegség. Felmerül a kérdés, hogy a szarvasfélék lehetnek-e rezervoárjai ezen baktériumoknak, így fenntartva a ridegen tartott állataink pasteurellosisát. Ám nem találtunk szakirodalmi publikációt, miszerint a hazánkban is előforduló vadon élő kérődzőkben is jelen lennének ezek a kórokozók, illetve okozhatnak-e megbetegedéseket és gazdasági károkat. Azonban tudomásunkra jutott egy korábbi őz pasteurellosis eset a NÉBIH ÁDI-ban.

Passzív mintavétel keretében a NÉBIH ÁDI budapesti intézetének törzsgyűjteményét néztük át és figyeltük az új eseteit. Itt egy-egy őz, muflon és indiai antilop esetet találtunk, ami vizsgálatunk tárgyát képezte. Az aktív mintavétel keretében, elsősorban a Zselic térségből, összesen 87 db orrtampon mintát gyűjtöttünk, melyek 45 vadászaton elejtett és 14 tenyésztett élő gímszarvasból, 4 elejtett dämadvából és 22 elejtett őzből származtak. A győri és a nyíregyházi állatkertekből szintén kaptunk 1-1 dämadvából, illetve sörényes juhból származó mintát. A mintavételbe vont állatokon légzőszervi betegség tünetei nem voltak megfigyelhetők. Az orrtampon mintákból baktérium tenyésztést majd fajspecifikus PCR vizsgálatokat végeztünk. Az ÁDI-ban izolált törzsek szerotípusát meghatároztuk passzív hemagglutinációs módszerrel. Az általunk gyűjtött tampon mintákból a tenyésztéses vizsgálat valamennyi esetben negatív eredménnyel zárult, a PCR vizsgálat egy őz esetében pozitív lett *M. haemolytica*-ra. Az ÁDI-ból kapott törzsek között 2 vadból származó *B. trehalosi* (T4 és T3 szerotípusú) és egy *M. haemolytica* (nem besorolható szerotípusú) fordult elő.

Jelen dolgozatban először publikáljuk őz, muflon és indiai antilop fajokban a *M. haemolytica* és *B. trehalosi* jelenlétét és kórtani szerepét. A vizsgálataink alapján azonban úgy véljük a hazai vadon élő kérődzők nagyon csekély hányada hordozza ezen kórokozókat, sporadikus megbetegedések azonban előfordulnak. Az eredményeinket tekintve azt gondolhatjuk, hogy az erdeinkben élő kérődzőknek nincs különös szerepe a pasteurellosis fenntartásában, ám átfogóbb képet csak további vizsgálatok után kaphatunk.

## 9. SUMMARY

Over the last ten years, the red deer, fallow deer, roe deer and mouflon population has shown an almost continuous increase. Wild ruminants can often be seen in the closer vicinity of cattle and sheep kept in pastures or fenced areas on the edges of forests.

In sheep, goat and cattle livestock pasteurellosis, caused by *Mannheimia haemolytica* and *Bibersteinia trehalosi* is a common disease with significant economic damage. The question arises whether cervids can be a reservoir of these bacteria, thus maintaining the pasteurellosis of our animals. We have not found any literature stating that these pathogens would also be present in the wild ruminants occurring in our country, or whether they can cause disease and economic losses. Although we became aware about one previous pasteurellosis case in roe deer in the Veterinary Diagnostic Directorate, National Food Chain Safety Office (NÉBIH ÁDI).

In the framework of passive sampling, we reviewed the strain collection in Budapest and monitored its new cases. Here we found one case each of roe deer, mouflon, and Indian antelope, which was the subject of our investigation. As part of active sampling, we collected a total of 87 nasal swab samples, mainly from the Zselic area, originating from 45 hunted and 14 bred, living red deer, 4 hunted fallow deer and 22 hunted roe deer. From Győr and Nyíregyháza zoos, we also received one sample each from fallow deer and barbary sheep. No symptoms of respiratory disease were observed in the animals included in the sampling. Bacteria were cultured from the nasal swab samples and species-specific PCR tests were performed. The serotype of the strains isolated in NÉBIH ÁDI was determined using the passive haemagglutination method. From the swab samples we collected, the culture reculture ended with negative results in all cases, the PCR test was positive for *M. haemolytica* in the case of one roe deer. Among the strains we got from NÉBIH ÁDI, 2 *B. trehalosi* (serotypes T4 and T3) and one *M. haemolytica* (non-typeable) from wild living animals were found.

In this thesis, we publish for the first time the presence and pathological role of *M. haemolytica* and *B. trehalosi* in roe deer, mouflon and Indian antelope species. Based on our tests, however, we believe that only a very small proportion of wild ruminants carry these pathogens in Hungary, nonetheless sporadic pathological cases may occur. Looking at our results, we conclude that the ruminants in our forests have no particular role in the maintenance of pasteurellosis, but a more comprehensive picture will only be obtained after further studies.

## 10. IRODALOMJEGYZÉK

1. Szarvasfélék. In: Agrárszektor. <https://www.agrarszektor.hu/fogalomtar/szarvasfelek>. Accessed 26 Sep 2023
2. (2017) Árlista. In: hunor-almamellek.hu. <http://www.hunor-almamellek.hu/hu/arlista>. Accessed 11 Oct 2023
3. ESZAKERDO Zrt. website. [http://www.eszakerdo.hu/magyar/menu/vadinfo\\_uj.htm](http://www.eszakerdo.hu/magyar/menu/vadinfo_uj.htm). Accessed 11 Oct 2023
4. (2023) Szarvasfélék. Wikipédia
5. [magyarmezogazdasag.hu](https://magyarmezogazdasag.hu) (2023) Keresett exportcikk a magyar vadhús. In: Magyar Mezőgazdaság. <https://magyarmezogazdasag.hu/2023/07/18/keresett-exportcikk-magyar-vadhus/>. Accessed 26 Sep 2023
6. Vadhúsaink - MATE Szarvasfarm - MATE. In: MATE Szarvasfarm. [https://szarvasfarm.uni-mate.hu/vadh%C3%BAsaink/-/document\\_library/xvbj/view\\_file/3965770?\\_com\\_liferay\\_document\\_library\\_web\\_portlet\\_DLPortlet\\_INSTANCE\\_xvbj\\_redirect=https%3A%2F%2Fszarvasfarm.uni-mate.hu%2Fvadh%25C3%25BAsaink%3Fp\\_p\\_id%3Dcom\\_liferay\\_document\\_library\\_web\\_portlet\\_DLPortlet\\_INSTANCE\\_xvbj%26p\\_p\\_lifecycle%3D0%26p\\_p\\_state%3Dnormal%26p\\_p\\_mode%3Dview](https://szarvasfarm.uni-mate.hu/vadh%C3%BAsaink/-/document_library/xvbj/view_file/3965770?_com_liferay_document_library_web_portlet_DLPortlet_INSTANCE_xvbj_redirect=https%3A%2F%2Fszarvasfarm.uni-mate.hu%2Fvadh%25C3%25BAsaink%3Fp_p_id%3Dcom_liferay_document_library_web_portlet_DLPortlet_INSTANCE_xvbj%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview). Accessed 11 Oct 2023
7. Alig esznek juhhúst a magyarok: messze az uniós átlag alatt vagyunk. In: Agrárszektor. <https://www.agrarszektor.hu/elelmiszer/20210312/alig-esznek-juhhust-a-magyarok-messze-az-unios-atlag-alatt-vagyunk-28568>. Accessed 26 Sep 2023
8. 19.1.1.48. Marha- és borjúhúsmérleg. [https://www.ksh.hu/stadat\\_files/mez/hu/mez0049.html](https://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0049.html). Accessed 26 Sep 2023
9. Ackermann MR, Brogden KA (2000) Response of the ruminant respiratory tract to Mannheimia (Pasteurella) haemolytica. Microbes and Infection 2:1079–1088. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)01262-4](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)01262-4)
10. de Alwis MCL (1995) Haemorrhagic Septicaemia (Pasteurella Multocida Serotype B:2 and E:2 Infection) in Cattle and Buffaloes. In: Donachie W, Lainson FA, Hodgson JC (eds) Haemophilus, Actinobacillus, and Pasteurella. Springer US, Boston, MA, pp 9–24
11. Varga J, Rusvai M, Fodor L (2018) A háziállatok fertőző betegségei. MÁOK Kft., Budapest
12. Reclassification of [Pasteurella] trehalosi as Bibersteinia trehalosi gen. nov., comb. nov. | Microbiology Society. <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.64521-0>. Accessed 10 Oct 2023
13. Angen Ø, Mitters R, Caugant DA, Olsen JE, Bisgaard M (1999) Taxonomic relationships of the [Pasteurella] haemolytica complex as evaluated by DNA-DNA hybridizations and 16s rRNA sequencing with proposal of Mannheimia haemolytica gen. nov., comb. nov., Mannheimia granulomatis comb. nov., Mannheimia glucosida sp. nov., Mannheimia ruminalis sp. nov. and Mannheimia varigena sp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology 49:67–86. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-1-67>
14. Fodor L, Varga J, Hajtós I, Molnar T (1999) Serotypes of Pasteurella haemolytica and Pasteurella trehalosi isolated from farm animals in Hungary. Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B Journal of veterinary medicine Series B 46:241–7
15. Kiss SP (2020) Kérődzőkből izolált Mannheimia haemolytica és Bibersteinia trehalosi törzsek szerológiai vizsgálata. Állatorvostudományi Egyetem
16. Szalay D (2015) Kérődzőkből izolált Mannheimia haemolytica és Bibersteinia trehalosi törzsek szerotípusai. Állatorvostudományi Egyetem
17. Szalay D (2013) Kérődzőkből izolált Mannheimia haemolytica és Bibersteinia trehalosi törzsek szerotípusai. Állatorvostudományi Egyetem
18. Odugbo MO, Odama LE, Umoh JU, Lombin LH (2004) The comparative pathogenicity of strains of eight serovars and untypable strains of Mannheimia haemolytica in experimental pneumonia of sheep. Vet Res 35:661–669. <https://doi.org/10.1051/vetres:2004044>
19. A juhok és a kecskék pasteurellosisai. In: Autovakcina. <https://www.autovakcina.hu/betegsegek/a->

juhok-es-a-kecskek-pasteurellosisai/. Accessed 3 Oct 2023

20. Human Wound Infection with Mannheimia glucosida following Lamb Bite - PMC. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4572521/>. Accessed 14 Oct 2023
21. Fodor L, Hajtós I, Glávits R (1990) Pasteurella haemolytica okozta megbetegedések hazai kecskeállományokban. Magyar Állatorvosok Lapja
22. Ratalics L, Szabó J (1964) A juh Pasteurella haemolytica okozta megbetegedése. Magyar Állatorvosok Lapja
23. Shivachandra SB, Viswas KN, Kumar AA (2011) A review of hemorrhagic septicemia in cattle and buffalo. Animal Health Research Reviews 12:67–82. <https://doi.org/10.1017/S146625231100003X>
24. Frank GH, Smith PC (1983) Prevalence of Pasteurella haemolytica in transported calves. American Journal of Veterinary Research 44:981–985
25. Katsuda K, Kamiyama M, Kohmoto M, Kawashima K, Tsunemitsu H, Eguchi M (2008) Serotyping of Mannheimia haemolytica isolates from bovine pneumonia: 1987–2006. The Veterinary Journal 178:146–148. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.019>
26. Al-Ghamdi GM, Ames TR, Baker JC, Walker R, Chase CCL, Frank GH, Maheswaran SK (2000) Serotyping of Mannheimia (Pasteurella) haemolytica isolates from the upper Midwest United States. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 12:576–578. <https://doi.org/10.1177/104063870001200617>
27. Purdy CW, Raleigh RH, Collins JK, Watts JL, Straus DC (1997) Serotyping and enzyme characterization of Pasteurella haemolytica and Pasteurella multocida isolates recovered from pneumonic lungs of stressed feeder calves. Current Microbiology 34:244–249. <https://doi.org/10.1007/s002849900177>
28. Rice JA, Carrasco-Medina L, Hodgins DC, Shewen PE (2007) Mannheimia haemolytica and bovine respiratory disease. Animal Health Research Reviews 8:117–128. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001375>
29. Taylor JD, Fulton RW, Lehenbauer TW, Step DL, Confer AW (2010) The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? Can Vet J 51:1095–1102
30. Griffin D, Chengappa MM, Kuszak J, McVey DS (2010) Bacterial Pathogens of the Bovine Respiratory Disease Complex. Veterinary Clinics: Food Animal Practice 26:381–394. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.04.004>
31. Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Gruenberg W (2016) Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Elsevier Health Sciences
32. Tomassini L, Gonzales B, Weiser GC, Sischo W (2009) AN ECOLOGIC STUDY COMPARING DISTRIBUTION OF PASTEURELLA TREHALOSI AND MANNHEIMIA HAEMOLYTICA BETWEEN SIERRA NEVADA BIGHORN SHEEP, WHITE MOUNTAIN BIGHORN SHEEP, AND DOMESTIC SHEEP. Journal of Wildlife Diseases 45:930–940. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.4.930>
33. Shanthalingam S, Goldy A, Bavananthasivam J, Subramaniam R, Batra SA, Kugadas A, Raghavan B, Dassanayake RP, Jennings-Gaines JE, Killion HJ, Edwards WH, Ramsey JM, Anderson NJ, Wolff PL, Mansfield K, Bruning D, Srikumaran S (2014) PCR ASSAY DETECTS MANNHEIMIA HAEMOLYTICA IN CULTURE-NEGATIVE PNEUMONIC LUNG TISSUES OF BIGHORN SHEEP (OVIS CANADENSIS) FROM OUTBREAKS IN THE WESTERN USA, 2009–2010. Journal of Wildlife Diseases 50:1–10. <https://doi.org/10.7589/2012-09-225>
34. Miller MW, Knowles DP, Bulgin MS, Clay BR, Cook WE, Srikumaran S, Scarfe AD, Layfield D Pasteurellosis Transmission Risks between Domestic and Wild Sheep
35. Ytrehus B, Bretten T, Bergsjø B, Isaksen K (2008) Fatal pneumonia epizootic in musk ox (Ovibos moschatus) in a period of extraordinary weather conditions. Ecohealth 5:213–223. <https://doi.org/10.1007/s10393-008-0166-0>
36. Pizey NCD (1953) INFECTION WITH PASTEURELLA SEPTICA IN A CHILD AGED THREE WEEKS. The Lancet 262:324–326. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(53\)91161-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(53)91161-1)
37. De Alwis MCL (1992) Haemorrhagic septicaemia—A general review. British Veterinary Journal 148:99–112. [https://doi.org/10.1016/0007-1935\(92\)90101-6](https://doi.org/10.1016/0007-1935(92)90101-6)
38. Powell LE (1954) Northern Arizona antelope survey. Arizona game surveys and investigation

completion report 1–16

39. Post G (1960) Diagnosis of diseases in mammals and birds. Pittman-Robertson Job Completion Report 1–22
40. Post G (1962) Pasteurellosis of Rocky Mountain bighorn sheep (*Ovis canadensis canadensis*). *Journal of Wildlife Diseases* 1-14.
41. Heddleston KL, Gallagher JE (1969) Septicemic pasteurellosis (hemorrhagic septicemia) in the American bison: A serologic survey. *Bulletin of the Wildlife Disease Association* 206-207.
42. Mørk T, Sunde M, Josefsen TD (2014) Bacterial infections in reindeer. *Norsk Veterinærtidsskrift* 126:222–228
43. Franson JC, Smith BL (1988) Septicemic Pasteurellosis in Elk (*Cervus elaphus*) on the United States National Elk Refuge, Wyoming. *Journal of Wildlife Diseases* 24:715–717. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-24.4.715>
44. Dyer NW, Ward AC (1998) Pneumonic pasteurellosis associated with *Pasteurella hemolytica* serotype A6 in American bison (*Bison bison*). *J Vet Diagn Invest* 10:360–362. <https://doi.org/10.1177/104063879801000409>
45. Robinson S, Milner-Gulland EJ, Grachev Y, Salemgareyev A, Orynbayev M, Lushchekina A, Morgan E, Beauvais W, Singh N, Khomenko S, Cammack R, Kock R (2019) Opportunistic bacteria and mass mortality in ungulates: lessons from an extreme event. *Ecosphere* 10:e02671. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2671>
46. Campbell GW, Saini G (1991) *Pasteurella multocida*-associated septicaemia in a chital deer (*Axis axis*). *Aust Vet J* 68:345. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1991.tb03098.x>
47. Villard L, Gauthier D, Lacheretz A, Abadie G, Game Y, Maurin F, Richard Y, Borges E, Kodjo A (2006) Serological and molecular comparison of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella trehalosi* strains isolated from wild and domestic ruminants in the French Alps. *The Veterinary Journal* 171:545–550. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.02.018>
48. George JL, Martin DJ, Lukacs PM, Miller MW (2008) EPIDEMIC PASTEURELLOSIS IN A BIGHORN SHEEP POPULATION COINCIDING WITH THE APPEARANCE OF A DOMESTIC SHEEP. *Journal of Wildlife Diseases* 44:388–403. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-44.2.388>
49. Wolfe LL, Diamond B, Spraker TR, Sirochman MA, Walsh DP, Machin CM, Bade DJ, Miller MW (2010) A Bighorn Sheep Die-off in Southern Colorado Involving a Pasteurellaceae Strain that May Have Originated from Syntopic Cattle. *Journal of Wildlife Diseases* 46:1262–1268. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.4.1262>
50. Soike D, Schulze C, Kutzer P, Ewert B, van der Grinten E, Schliephake A, Ewers C, Bethe A, Rau J (2012) [Acute pasteurellosis in fallow deer, cattle and pigs in a region of Eastern Germany]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 125:122–128
51. Acute Die-off of Chamois (*Rupicapra rupicapra*) in the Eastern Austrian Alps due to Bacterial Bronchopneumonia with Pasteurellaceae-Web of Science Core Collection. <https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:000338909600022?SID=EUW1ED0A79gvTmaaddqWwTomHDPFE>. Accessed 6 Oct 2023
52. Fox KA, Atwater L, Hoon-Hanks L, Miller M (2017) A Mortality Event in Elk (*Cervus elaphus nelsoni*) Calves Associated with Malnutrition, Pasteurellosis, and Deer Adenovirus in Colorado, USA. *Journal of Wildlife Diseases* 53:674–676. <https://doi.org/10.7589/2016-07-167>
53. Kock RA, Orynbayev M, Robinson S, Zuther S, Singh NJ, Beauvais W, Morgan ER, Kerimbayev A, Khomenko S, Martineau HM, Rystaeva R, Omarova Z, Wolfs S, Hawotte F, Radoux J, Milner-Gulland EJ (2018) Saigas on the brink: Multidisciplinary analysis of the factors influencing mass mortality events. *Sci Adv* 4:eaa02314. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aao2314>
54. Alaka OO, Jarikre TA, Ogunro BN, Dauda I, Ola OO, Ockiya MA, Emikpe BO (2021) Pathology and Immunochemical diagnosis of *Mannheimia haemolytica* infection in an adult Dorcas gazelle- A case Report. *International Journal of Medical Reviews and Case Reports* 5:143–143. <https://doi.org/10.5455/IJMRCR.2020-07-241>
55. Kehrenberg C, Schulze-Tanzil G, Martel J-L, Chaslus-Dancla E, Schwarz S (2001) Antimicrobial resistance in *Pasteurella* and *Mannheimia*: epidemiology and genetic basis. *Veterinary Research* 32:323–339. <https://doi.org/10.1051/vetres:2001128>

56. Abera D, Mossie T (2023) A review on pneumonic pasteurellosis in small ruminants. *Journal of Applied Animal Research* 51:1–10. <https://doi.org/10.1080/09712119.2022.2146123>
57. Crouch CF, LaFleur R, Ramage C, Reddick D, Murray J, Donachie W, Francis MJ (2012) Cross protection of a Mannheimia haemolytica A1 Lkt-/Pasteurella multocida ΔhyaE bovine respiratory disease vaccine against experimental challenge with Mannheimia haemolytica A6 in calves. *Vaccine* 30:2320–2328. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.01.063>
58. Bowersock TL, Sobecki BE, Terrill SJ, Martinon NC, Meinert TR, Leyh RD (2014) Efficacy of a multivalent modified-live virus vaccine containing a Mannheimia haemolytica toxoid in calves challenge exposed with Bibersteinia trehalosi. *American Journal of Veterinary Research* 75:770–776. <https://doi.org/10.2460/ajvr.75.8.770>
59. Bemutakozás. In: Autovakcina. <https://www.autovakcina.hu/bemutakozas/>. Accessed 11 Oct 2023
60. Subramaniam R, Shanthalingam S, Bavananthasivam J, Kugadas A, Potter KA, Foreyt WJ, Hodgins DC, Shewen PE, Barrington GM, Knowles DP, Srikumaran S (2011) A Multivalent Mannheimia-Bibersteinia Vaccine Protects Bighorn Sheep against Mannheimia haemolytica Challenge. *Clinical and Vaccine Immunology* 18:1689–1694. <https://doi.org/10.1128/CVI.05276-11>
61. (2019) A Review of bovine respiratory disease vaccine field efficacy | The Bovine Practitioner
62. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJC, Leonard FC (2002) Veterinary microbiology and microbial disease. *Veterinary microbiology and microbial disease*
63. Tulathromycin - an overview | ScienceDirect Topics. <https://www.sciencedirect.com/topics/veterinary-science-and-veterinary-medicine/tulathromycin>. Accessed 14 Oct 2023
64. Bacterial Pneumonia in Cattle with Bovine Respiratory Disease Complex - Respiratory System. In: MSD Veterinary Manual. <https://www.msdsvetmanual.com/respiratory-system/bovine-respiratory-disease-complex/bacterial-pneumonia-in-cattle-with-bovine-respiratory-disease-complex>. Accessed 14 Oct 2023
65. Gyles CL, Prescott JF, Songer JG, Thoen CO (2004) Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals, Harmadik. Blackwell Publishing, Iowa, USA
66. Hucker GJ, Conn HJ (1923) Methods of Gram Staining. Agricultural Experiment Station, Geneva
67. Markey B, Leonard F, Archambault M, Cullinane A, Maguire D (2013) Clinical Veterinary Microbiology. Elsevier Health Sciences, Edinburgh
68. Blberstein EL (1978) Chapter IX Biotyping and Serotyping of Pasteurella haemolytica. In: Bergan T, Norris JR (eds) *Methods in Microbiology*. Academic Press, pp 253–269
69. Tankeshwar A (2012) Indole Test: Principle, Procedure, Results • Microbe Online. In: Microbe Online. <https://microbeonline.com/indole-test-principle-procedure-results/>. Accessed 14 Oct 2023
70. Aryal S (2018) Amino Acid Decarboxylase Test - Procedure, Uses and Interpretation. In: Microbiology Info.com. <https://microbiologyinfo.com/amino-acid-decarboxylase-test/>. Accessed 14 Oct 2023
71. Klima CL, Alexander TW, Read RR, Gow SP, Booker CW, Hannon S, Sheedy C, McAllister TA, Selinger LB (2011) Genetic characterization and antimicrobial susceptibility of Mannheimia haemolytica isolated from the nasopharynx of feedlot cattle. *Veterinary Microbiology* 149:390–398. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.11.018>
72. Kumar J, Dixit SK, Kumar R (2015) Rapid detection of Mannheimia haemolytica in lung tissues of sheep and from bacterial culture. *Vet World* 8:1073–1077. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.1073-1077>
73. Killion HJ, Edwards W, Jennings-Gaines J, Wood M, Fox K, Sondgeroth K (2018) Development and validation of a real-time PCR specific for the leukotoxin gene of Bibersteinia trehalosi. *J VET Diagn Invest* 30:589–592. <https://doi.org/10.1177/1040638717753497>
74. Townsend KM, Frost AJ, Lee CW, Papadimitriou JM, Dawkins HJS (1998) Development of PCR Assays for Species- and Type-Specific Identification of Pasteurella multocida Isolates. *J Clin Microbiol* 36:1096–1100

## 11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretnék végtelen köszönetet mondani a témavezetőmnek, Dr. Tóth Gergelynek, akihez a kutatás során bármikor bizalommal fordulhattam. Köszönöm a rengeteg tanítást, segédkezést és támogatást mind a mintavételi, laboratóriumi, mind az szakirodalmi feladatokban.

Szeretném megköszönni továbbá a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék munkatársainak, Jutasi Alexandrának, Góbi Jessicának és Tóth Rékának, akik a dolgozatom gyakorlati részének megvalósítását lehetővé tették, segítettek. Köszönöm Dr. Tenk Miklós és Dr. Makrai László támogatását. Hálával tartozom Dr. Fodor Lászlónak, aki tapasztalatával és tanácsaival segítette a munkám.

Köszönettel tartozom a budapesti Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság Bakteriológiai Osztályán dolgozóknak, Dr. Jánosi Szilárd osztályvezetőnek és Szombatiné Boda Ildikónak, Szombati Kittinek és Süle Zsuzsannának, akik segítségével dolgozatom elkészülhetett.

Köszönöm Dr. Pintér Krisztina és Dr. Magyar Tibor segítségét az ÁTKI-ból a *Pasteurella multocida* PCR vizsgálataink megvalósításával.

Szeretném megköszönni Dr. Tóth Alexandrának, aki a Nyíregyházi Állatkertből a sörényes juh mintáját küldte.

Köszönöm Németh Sándornak és a nagybajomi Dél-Dunántúli Fauna Vadászati Társaságnak a Nagybajomból gyűjtött, tetemes mennyiségű mintát.

Czvalinga Andrásnak, Takács Tibornak, Micskó Jánosnak és a tótkomlósi Száraz-Érmenti Vadásztársaságnak hálával tartozom a szintén nagyszámú őz mintáért.

Hálásan köszönöm Nagy Jánosnak, Nagy Máténak és a Bószénfai Szarvasfarm munkatársainak a Bószénfáról származó minták vételezésében nyújtott folyamatos segítségét.

Köszönettel tartozom Halász Tibornak és a SEFAG Zrt. Zselici erdészetének dolgozóinak a kardosfai gímszarvas minták biztosításáért.

Szívből köszönöm édesapukámnak és édesanyukámnak, akik végig kísérték, segítettek a dolgozatom megvalósításában, töretlenül hittek az eredményes munkánkban.