

**Kórtani elváltozásokból és környezeti mintákból származó
Rhodococcus equi törzsek összehasonlító vizsgálata**
című doktori (Ph.D.) értekezés
tézisei

Készítette:
Dr. Makrai László

**Budapest
2003**

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

Témavezető:

Dr. Varga János, egyetemi tanár, az MTA levelező tagja,
Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar,
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

Témabizottsági tagok:

Dr. Vetési Ferenc, egyetemi tanár, az állatorvos-tudomány
kandidátusa, Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar,
Kórbonctani és Igazságügyi-állatorvostani Tanszék

Dr. Fodor László, egyetemi tanár, az állatorvos-tudomány
kandidátusa, Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar,
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

1. BEVEZETÉS

A *Rhodococcus* genus baktériumai a nocardioform *Actinomyces*-ek csoportjába, ezen belül pedig a mikolsavat is tartalmazó baktériumok alcsoportjába tartoznak. A genusban jelenleg 12 faj foglal helyet. Ezen fajok mindegyike szaprofitának tekinthető, a *R. equi* kivételével, amely viszont fakultatív patogén, és mind állatorvosi, mind pedig humán-egészségügyi szempontból fontos (Bell és mtsai., 1998).

A kórokozót először 1923-ban Magnusson írta le, aki gennyes tüdőgyulladásban elhullott csikókból izolálta a baktériumot, és *Corynebacterium equi* névvel illette, később azonban a sejtfalösszetétel, a biokémiai és a genetikai vizsgálatok alapján a *Rhodococcus* nemzetségbe sorolták át (Magnusson, 1923; Bell és mtsai., 1998).

A csikók *R. equi* okozta megbetegedése világszerte előfordul. Elsősorban 1-4 hónapos csikókban okoz tályogképződéssel járó gennyes tüdőgyulladást, fekélyes bélgyulladást, illetve az esetek egy részében, főként a bélfodri nyirokcsomókra kiterjedő elváltozásokat, ízületgyulladást, ritkán vetélést. Csikókban az endémiásan fertőzött állományokban az elhullások 10%-át, a tüdőgyulladások 45%-át a *R. equi* okozza (Zink és mtsai., 1986).

A kórokozó és a megbetegedés Magyarországon is széles körben előfordul, gyakorlatilag minden ménesben, de a kisebb lóállományokban is (Szeredi és mtsai., 1996; Varga és mtsai., 1999).

A *R. equi* okozta kórkép csikókon kívül ritkábban sertésben, szarvasmarhában, juhban és kecskében is előfordul. Ezekben a fajokban a nyirokcsomó-elváltozásokkal járó formával találkozhatunk, de a sertések az áll alatti nyirokcsomóban néhány százalékban tünetmentesen is hordozzák a baktériumot (Barton és Hughes, 1980; Rao és mtsai., 1982; Katsumi és mtsai., 1991; Takai és mtsai., 1996).

Az utóbbi 15 évben a *R. equi* humánkórtani jelentősége is egyre inkább előtérbe került. Emberi megbetegedést a szervezet védekezőképességének jelentős csökkenésekor, így szervtranszplantációt követő immunszuppresszív kezelés után, illetve HIV-fertőzöttséghez társultan idéz elő (Prescott, 1991; Takai és mtsai., 1995).

2. VIZSGÁLATAINK CÉLJAI

- 1./ a *R. equi* előfordulási gyakoriságának a megállapítása lovakból és más fajokból származó klinikai anyagokban és környezeti mintákban,
- 2./ az irodalomban leírt, a *R. equi* izolálására szolgáló szelektív táptalajok összehasonlítása, illetve új, a korábbiaknál jobb szelektív táptalaj összeállítása és kipróbálása,
- 3./ a különböző eredetű *R. equi* törzsek morfológiai, tenyésztési és biokémiai tulajdonságainak vizsgálata és összehasonlítása,
- 4./ a különböző eredetű törzsek anyagcsere-ujjlenyomatának (enzimaktivitás, szénforrás-hasznosítás) és antibiotikum-érzékenységének a vizsgálata,
- 5./ a *R. equi* törzsek szerológiai besorolása,
- 6./ a törzsek plazmidprofiljának jellemzése és a 16S riboszomális RNS gén összehasonlító vizsgálata,
- 7./ a betegség diagnosztikájában felhasználható immun-hisztokémiai módszer kidolgozása, továbbá
- 8./ vakcinázási kísérletek elvégzése a betegség megelőzése érdekében.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

1./ Magyarország különböző területeiről származó kórtani anyagokból (csikó tüdőtályogokból, bélfodri- és gátorközi nyirokcsomókból, orr- és végbéltamponokból, sertés nyirokcsomókból, emberekből), és környezeti mintákból (talajból) különböző szelektív és nem szelektív táptalajokat alkalmazva *R. equi* törzseket izoláltunk.

2./ A szakirodalomban leírt leggyakrabban használt négy szelektív táptalajt (TINSDALE, M3T, NANAT, CAZ-NB), valamint a *R. equi* törzsek antibiotikum-rezisztenciájának alapján általunk összeállított négy kísérleti táptalajt (NC, PNP, TVP, TCP) különböző szempontok szerint összehasonlítottuk. Megvizsgáltuk a különböző táptalajoknak a *R. equi* telepmorfológiájára gyakorolt hatását, a *R. equi* törzsek visszaizolálhatóságát, és a szennyezett mintákban potenciálisan jelenlévő öt Gram-negatív és öt Gram-pozitív baktériumfajra kifejtett gátló hatását. A két csoportból a legjobbnak minősített 1-1 táptalajt újabb kísérletben olyan ló bélsár- és talajminták felhasználásával hasonlítottuk össze, amelyekbe ismert mennyiségű *R. equi* baktérium-szuspenziót kevertünk.

3./ Az összegyűjtött törzsek morfológiai, tenyésztési és biokémiai tulajdonságainak vizsgálatát standard leírásoknak megfelelően végeztük el. A törzseket fajspecifikus DNS primereket használva polimeráz láncreakció segítségével is azonosítottuk.

4./ Reprezentatív számú és eredetű minta esetén API-ZYM (bioMérieux, Franciaország) rendszert (19 konstitutív enzim), BIOLOG (Biolog Inc., Hayward, Kanada) rendszert (95 szénforrás), valamint standard módszereket használva jellemeztük a törzsek enzimaktivitását, szénforrás-hasznosítását, és tíz antibiotikummal (amikacin-szulfát, gentamicin-szulfát, neomicin-szulfát, rifampicin, vankomicin-hidroklorid, eritromicin, amoxicillin, penicillin G, minociklin-hidroklorid, oxitetraciklin-hidroklorid) szembeni érzékenységét (minimális gátló koncentráció).

5./ Valamennyi összegyűjtött törzset a Prescott-féle rendszert alkalmazva agargél-precipitáció (AGP) segítségével szerotipizáltuk. Az ebbe a rendszerbe be nem sorolható 90 törzs közül 30 törzsszel szemben

nyulakban hiperimmun savót termeltünk és ezeket valamennyi be nem sorolható törzsből készített antigénkivonattal AGP-próbában vizsgáltuk.

6./ Valamennyi törzs esetén alkalikus-lízis módszerrel plazmid-izolálást végeztünk, polimeráz-lánreakció segítségével kimutattuk a virulenciagének (vapA- és vapB-gén) jelenlétét, restriktációs endonukleázokkal (*EcoRI*, *EcoT22I*) végzett plazmidtipizálást végeztünk.

Univerzális bakteriális primereket (63f, 1387r) alkalmazva reprezentatív számú törzs esetén megsokszoroztuk a 16S rRNS gént (1338 bp), és ezeket restriktációs endonukleázos (*Tru9I*, *Hin6I*) emésztést követően elektroforetizálás után jellemeztük. Tizenegy törzs esetén az első 440 bp bázissorrendjét is megállapítottuk.

7./ A lovakban leggyakrabban megbetegedést okozó 1-es szerotípusú *R. equi* típus törzssel szemben nyulakban hiperimmun savót termeltünk, amelyikből a *R. equi* specifikus IgG-t ammónium-szulfátos kisózással preparáltuk és affinitás-kromatográfiás eljárással tisztítottuk. A fagyasztott és paraffinba ágyazott metszeteken, valamint a lenyomati készítményeken antigénfeltárást (37°C, 20 perc, proteázos kezelés) követően a specifikus kötődést tormaperoxidázzal jelölt sztreptavidin-biotin készlet alkalmazásával tettük láthatóvá.

8./ A vakcinázási kísérleteket öt magyarországi ménesben végeztük. Három ménesben csak inaktivált *R. equi* baktériumokat tartalmazó vakcinát használtunk, amelyek közül kettőben csak a csikókat, egy ménesben pedig a vemhes kancákat és a csikókat is oltottuk. A használt oltóanyagokat alumínium-foszfát géllal, illetve Freund-féle inkomplett adjuvánssal adjuváltuk. Két ménesben a vakcinázást olyan oltóanyagokkal végeztük, amelyek a *R. equi* mellett inaktivált EHV-2 (equine herpesvirus 2) komponenst is tartalmaztak. Ezen állományokban a vemhes kancákat és csikókat is vakcináztuk, és a kolosztrális immunitást is vizsgáltuk. Az ellenanyagválaszt a kombinált oltóanyagok használata után vírus-neutralizációs (VN) próbával és indirekt haemagglutinációs (IHA) próbával, míg az egykomponensű vakcina alkalmazása után ELISA-val mutattuk ki.

4. EREDMÉNYEK

1./ Magyarország 43 településéről izolált összesen 379 *R. equi* törzs vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy ez a baktérium a lóállományokban széles körben, gyakorlatilag minden ménesben előfordul. A *R. equi* az általunk vizsgált, klinikailag és kórbonctanilag a betegségekre jellemző tüneteket és elváltozásokat mutató, tüdőgyulladásban elhullott csikók mindegyikéből (100%) kitenyészthető volt, míg az endémiásan fertőzött állományokban gyűjtött orrtamponmintákban 14,4%-os, a végbélből vett tamponmintákban 28,4%-os, a talajmintákban 68,6%-os, a klinikailag tünetmentes sertések vágóhídon gyűjtött áll alatti nyirokcsomóiban pedig 14,9%-os gyakorisággal fordult elő.

2./ Az új (cefoperazont, polimixin B-t, trimetoprimet, cikloheximidet és kálium-telluritot is tartalmazó) szelektív táptalaj (TCP) az eddig ismertekhez képest jobb hatásfokkal volt használható a *R. equi* törzsek erősen szennyezett mintákból (talajból, bélsárból) történő izolálására. A háttér baktérium- és gombaflóra növekedését jelentős mértékben volt képes gátolni, ugyanakkor lehetővé tette a talaj- ill. a bélsármintákba bekevert *R. equi* baktériumok legalább 62-91%-ának visszaizolálását. Az új táptalajon a *R. equi* baktériumok jellegzetes, fénylő, nyálkás, szürkésfekete színű, 3-5 mm átmérőjű telepeket képeztek.

3./ A típus törzsek és a hazai izolátumok morfológiai és tenyésztési tulajdonságaik tekintetében azonos módon viselkedtek (Gram-pozitív coccus, obligát aerob, kataláz- és oxidáz pozitív, cukrokból savat nem termelt, pigmentet és ureáz enzimet termelt, nitrátot nitritté redukálta). A tenyésztési és biokémiai tulajdonságok vonatkozásában bár voltak különbségek (hemolízis nyúlveres agaron, sótűrés, H₂S-termelés) a különböző eredetű törzsek között, de egyetlen olyan tulajdonságot sem tudtunk kimutatni, amelyik csak bizonyos eredetű törzsekre lennének jellemzőek.

Az általunk összegyűjtött összes, tenyésztési, morfológiai és biokémiai tulajdonságai alapján *R. equi*-nek meghatározott törzsből kivont DNS-ből polimeráz láncreakció segítségével ki tudtuk mutatni a *R. equi*-re jellemző 450 bp méretű DNS szakaszt.

A klasszikus tenyésztési, morfológiai és biokémiai vizsgálati módszerek együttesen megbízhatóan alkalmasak a *R. equi* fajszintű meghatározására, az azonosítás azonban elvégezhető a 16S rRNS gén 450 bp hosszúságú specifikus DNS szakaszának polimeráz láncreakció segítségével való kimutatásával is.

4./ A különböző eredetű *R. equi* törzsek enzimprofilja meglehetősen homogén volt. Valamennyi törzs rendelkezett alkalikus- és savanyú foszfatáz, leucin-, valin- és cisztin-arilamidáz, α - és β -glükózidáz, valamint naftol-AS-BI-foszfohidroláz aktivitással. A törzsek eredete és enzimaktivitása között lényeges különbséget csak az eszteráz (C4) aktivitása esetén figyeltünk meg, ugyanis az emberekből izolált törzsek ilyen enzimaktivitással nem rendelkeztek, míg a más eredetű törzseknek kb. a fele rendelkezett ezzel az enzimmel.

Az általunk megvizsgált törzsek mindegyike képes volt hat szénforrás (Tween 40, Tween 80, α -D-glükóz, α -hidroxivajsav, L-tejsav, metil-piruvát) hasznosítására, 51-féle szénforrást azonban egyik törzs sem volt képes hasznosítani. A szénforrás-hasznosítás vizsgálata (BIOLOG) alkalmas a törzsek gyors azonosítására, és az eredményekből felállított törzsfaj alapján következtetések vonhatók le a törzsek eredetére vonatkozóan is.

A hazai izolálású *R. equi* törzsek is a rifampicinre (minimális gátló koncentráció: 0,125-0,25 μ g/ml) és az eritromicinre (MIC: 0,125-0,5 μ g/ml) a legérzékenyebbek. A legmagasabb MIC-értékeket pedig az amoxicillin (2-64 μ g/ml), az amikacin (2-64 μ g/ml) és az oxitetraciklin (16-64 μ g/ml) esetén tapasztaltuk.

5./ A Prescott-féle 7 típusú törzsszel (ATCC 33701-7), továbbá 30, a Prescott-féle rendszerbe be nem sorolható *R. equi* törzsszel szemben nyulakban termelt hiperimmun savókat AGP-próbában megvizsgálva a 379 *R. equi* törzs egy kivételével szerotipizálható volt. Az eddig ismert 7 szerotípus mellett, további négy, csak a homológ törzsszel reakció adó, új szerotípus létezését állapítottuk meg. Állatfaj, illetve származási hely szerinti eltérésekkel ugyan, a törzsek 45,6%-a az 1-es, 28,2%-a a 2-es szerotípusba, néhány törzs további szerotípusokba, a törzsek 23,75%-a pedig az általunk megállapított négy új (általunk javasolt „8”-as, „9”-es, „10”-es és „11”-es) szerotípus valamelyikébe tartozott. A lovakból izolált törzsek túlnyomó többsége (74,4%-a) az 1-es szerotípusba volt

besorolható. Az emberekből izolált 8 *R. equi* törzs közül 6, valamint a sertésekből izolált törzsek többsége (56,9%) 2-es szerotípusúnak bizonyult.

6./ A virulenciagének kimutatására szolgáló PCR-t alkalmazva a törzsek 41,5%-ban a vapA gén (virulens törzsek), 13,6%-ban a vapB gén (mérsékelten virulens törzsek) volt kimutatható, míg a többi vizsgált törzs virulenciaplazmidot nem hordozott (avirulens törzsek). A lovakból származó törzsek túlnyomó többsége (88,4%) virulens volt, az emberből származó törzsek többnyire a mérsékelten virulensek közé, a sertésekből származóké pedig az avirulens (71,9%), illetve a mérsékelten virulens (27,5%) törzsek közé tartozott. A virulens törzsek többsége (96,15%) 85 kbp méretű I-es típusú, kisebb részük (3,85%) pedig 87 kbp méretű I-es típusú virulenciaplazmidot tartalmazott. A sertésekből és az emberekből származó mérsékelten virulens törzsek többsége ugyanolyan, egy 95 kbp méretű 5-ös típusú virulenciaplazmiddal rendelkezett, de a sertés eredetű törzsek között hat másik típusú virulenciaplazmiddal is találkoztunk, amelyek közül egy, korábban ismeretlen plazmidtípus volt.

A 16S riboszomális RNS-t kódoló gént PCR-rel megsokszorozva, az amplifikált szakasz restrikciós fragmentum-hosszúság polimorfizmus (RFLP) vizsgálatával, és ugyanezen gén egy szakaszának (440 bp) a szekvencia-analízisével sem tudtunk a különböző eredetű *R. equi* törzsek között különbséget kimutatni.

7./ A kidolgozott immun-hisztokémiai eljárás megkönnyíti és gyorsabbá teszi a *R. equi* okozta megbetegedések diagnosztikáját, mivel különböző kórtani anyagokból, keneteből, szövettani metszetekből néhány óra alatt a bakteriológiai vizsgálattal megegyező, esetenként azt meghaladó érzékenységgel, specifikus reakció segítségével mutatja ki a *R. equi* baktériumokat.

8./ Vakcinázási kísérleteink alapján megállapítható, hogy mind a vemhes kancáknak, mind pedig a 4-6 hetes csikóknak kétszer, intramuscularisan alkalmazott, alumínium-foszfáttal, vagy olajjal adjuvált, inaktivált oltóanyag csak kismértékben volt képes a vérsavó, ill. a colostrum *R. equi*-vel szembeni ellenanyagszintjének a kontrollhoz viszonyított emelésére. Ez a titer-emelkedés azonban nem volt képes

minden esetben a megbetegedés megelőzésére. A *R. equi* vakcinák használatával kapott eddigi eredmények egyelőre nem teszik lehetővé a vakcinák gyakorlati alkalmazását.

5. HAZAI ÉS NEMZETKÖZI SZEMPONTBÓL EGYARÁNT ÚJ EREDMÉNYEK

- Bakteriológiai vizsgálatokkal igazolt eredményeket szolgáltatott a *Rhodococcus equi* törzseknek a csikók tüdőgyulladásos eseteiben, a tünetmentes lovak bélsarában, talajmintákban és a klinikailag egészséges sertések áll alatti nyirokcsomóiban való előfordulásáról. Ezek az adatok kellően reprezentálják a *R. equi* törzsek hazai előfordulását és elterjedtségét.
- Európai vonatkozásban is egyedülálló *R. equi* törzsgyűjteményt hozott létre és ezen törzsek morfológiai, tenyésztési és biokémiai tulajdonságait jellemezte.
- Új, a gyakorlati diagnosztikában használható, az eddigiekhez képest jobb szelektív kapacitással rendelkező táptalajt dolgozott ki a *R. equi* törzsek erősen szennyezett mintákból történő kitenyésztésére.
- A tenyésztési, morfológiai és biokémiai tulajdonságaik alapján *R. equi*-nek meghatározott törzsek mindegyikére vonatkozóan bizonyította egy 450 bp méretű specifikus DNS szakasz jelenlétét, amely egyrészt alátámasztja a klasszikus baktérium-meghatározási módszerek jó eredménnyel való alkalmazhatóságát a *R. equi* identifikálásában, másrészt nagyszámú törzsön való alkalmazásával bizonyította a szakirodalomban leírt specifikus PCR-módszernak a *R. equi* törzsek gyors és specifikus azonosítására való használhatóságát.
- Nagyszámú szénforrás vizsgálata alapján a *R. equi* törzsek egymáshoz való viszonyát mutató törzsfát (dendrogramot) állított fel. Ez alkalmas módszer lehet a különböző eredetű *R. equi* törzsek összehasonlítására.
- A BIOLOG rendszert elsőként alkalmazta nagyszámú, különböző eredetű *R. equi* törzsek meghatározására, így adatokat szolgáltatott a rendszer diagnosztikai munkában való használhatóságához, és rávilágított az anyagcsere-ujjlenyomat járványtani nyomozásban való felhasználhatóságára.
- Agargél-precipitációs próba alapján négy új („8”-as, „9”-es, „10”-es, „11”-es) *R. equi* szerotípust azonosított. Adatokat nyert ezek hazai földrajzi elterjedtségére és állatfajonkénti megoszlására. A négy új

szerotípus közül kettő („10”-es, „11”-es) előfordulását emberben is megállapította.

- Tisztázta a hazai *R. equi* törzsekben a virulenciaplazmidok jelenlétét és típusait. Felhívta a figyelmet a Magyarországon élő emberekből és sertésekből származó *R. equi* törzsek virulenciabeli hasonlóságára, ami járványtani kapcsolatot feltételez a két faj között.

- Rámutatott arra, hogy a hazai izolálású, különböző eredetű *R. equi* törzsek és a típus-törzsek 16S rRNS-génjének variabilitása lényegesen kisebb, mint az a génbankban elérhető adatokból várható lenne.

- Új, specifikus immun-hisztokémiai eljárást dolgozott ki a *R. equi* baktériumok fagyasztott-, paraffinba ágyazott metszetekben, illetve lenyomati készítményekben való kimutatására.

6. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ PUBLIKÁCIÓK ÉS ELŐADÁSOK

SZAKCIKKEK

- 1) Varga J., L. Fodor, M. Rusvai, I. Soós and **L. Makrai** (1997): Prevention of *Rhodococcus equi* pneumonia of foals using two different inactivated vaccines, *Veterinary Microbiology*, **56.**, 205-212.
- 2) **Makrai L.**; L. Fodor, Á. Csivincsik, J. Varga, Zs. Senoner and B. Szabó (2000): Characterisation of *Rhodococcus equi* strains isolated from foals and from immunocompromised human patients, *Acta Veterinaria Hungarica*, **48.**, 253-259.
- 3) Szeredi L., **L. Makrai** and B. Dénes (2001): Rapid immunohistochemical detection of *Rhodococcus equi* in impression smears from affected foals on postmortem examination, *Journal of Veterinary Medicine B.*, **48.**, 751-758.
- 4) **Makrai L.**, S. Takai, M. Tamura, A. Tsukamoto, R. Sekimoto, Y. Sasaki, T. Kakuda, S. Tsubaki, J. Varga, L. Fodor, N. Solymosi and A. Major (2002): Characterization of virulence plasmid types in *Rhodococcus equi* isolates from foals, pigs, humans and soil in Hungary, *Veterinary Microbiology*, **88.**, 377-384.
- 5) **Makrai L.** (2003): A *Rhodococcus equi* morfológiai, tenyésztési és kórtani sajátosságai, *Magyar Állatorvosok Lapja*, közlésre elfogadva.

ELŐADÁSOK

- 1) **Makrai L.**, Fodor L., Varga J., Senoner Zs. és Szabó B.: Lovakból és emberekből izolált *Rhodococcus equi* törzsek jellemzése, Magyar Mikrobiológiai Társaság Nagygyűlése, Miskolc, 1998. augusztus 24-26.
- 2) **Makrai L.**, L. Fodor, J. Varga, Zs. Senoner and B. Szabó: Characterisation of *Rhodococcus equi* strains isolated from humans and horses, First Congress of European Society for Emerging Infections, Budapest, 1998. September 13-16.
- 3) **Makrai L.**, Varga J., Fodor L., Vendég I.: *Rhodococcus equi* szelektív izolálása, *Poszter, Bakteriológus Munkaértekezlet*, 2000 május 8-9.

- 4) Szeredi L., **Makrai L.**, Dénes B.: *Rhodococcus equi* kimutatása elhullott csikók szerveiből készített lenyomatban, paraffinba ágyazott és kriosztát metszetben immun-hisztokémiai módszerrel, Akadémiai Beszámoló, 2000 január 23.
- 5) **Makrai L.**, Varga J., Fodor L., Vendég I., Szigeti G. és Reiczigel J.: *Rhodococcus equi* izolálására használatos szelektív táptalajok összehasonlító vizsgálata, Akadémiai beszámoló, 2001. január 23.
- 6) **Makrai L.**, Dénes B., Varga J., Tekes L., Szalay Sz., Szollár I., Sümeghy L., Soós P., Fodor L.: *Rhodococcus equi*-vel szembeni vakcinázási kísérletek tapasztalatai két magyarországi lóállományban, Magyar Mikrobiológiai Társaság 2001. évi Jubileumi Nagygyűlése, Balatonfüred, 2001. október 10-12.
- 7) **Makrai L.**, Dénes B., Varga J., Tekes L., Major A., Fodor L.: Magyarországon gyűjtött különböző eredetű *Rhodococcus equi* törzsek szerotipizálása, Magyar Mikrobiológiai Társaság 2001. évi Jubileumi Nagygyűlése, Balatonfüred, 2001. október 10-12.
- 8) **Makrai L.**, Takai S., Varga J., Major A., Fodor L.: Különböző eredetű *Rhodococcus equi* törzsek virulenciaplazmidjainak vizsgálata, (poszter) Magyar Mikrobiológiai Társaság 2001. évi Jubileumi Nagygyűlése, Balatonfüred, 2001. október 10-12.
- 9) **Makrai L.**, Márialigeti K., Kovács G., Varga J., Fodor L., Senoner Zs., Bognár Cs., Major A.: Különböző eredetű *Rhodococcus equi* törzsek 16S rDNS-ének vizsgálata, (poszter) Magyar Mikrobiológiai Társaság 2001. évi Jubileumi Nagygyűlése, Balatonfüred, 2001. október 10-12.
- 10) **Makrai L.**, Takai S., Varga J., Major A., Fodor L., Solymosi N.: *Rhodococcus equi* törzsek plazmidprofil vizsgálata, Akadémiai Beszámoló, 2002. január 22.
- 11) **Makrai L.**, Dénes B., Varga J., Tekes L., Major A., Fodor L., Solymosi N.: *Rhodococcus equi* törzsek szerotipizálása, Akadémiai Beszámoló, 2002. január 22.
- 12) **Makrai L.**, Varga J., Major A., Senoner Zs., Bognár Cs., Fodor L.: Emberekből, állatokból és talajból származó *Rhodococcus equi* törzsek antibiotikum-érzékenységének vizsgálata, (poszter), Bakteriológus Munkaértekezlet, Hévíz, 2002. április 18-20.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenek előtt köszönet illeti **Dr. Tuboly Sándor** professzor urat, aki már egyetemi éveim alatt kiváló előadásaival ráirányította figyelmemet az állatorvosi mikrobiológia és járványtan szépségeire és jelentőségére, megszerettette velem ezt a tárgyat, és bizalmával megtisztelt, amikor meghívott a tanszék munkatársának.

Hálásan köszönöm **Dr. Varga János** és **Dr. Fodor László** egyetemi tanárok sokrétű segítségét, akik egyrészt rávilágítottak a csikók *R. equi* okozta megbetegedéseinek jelentőségére, és végigkövetve munkámat folyamatos tanácsaikkal ellátva lehetővé tették számomra a munkában való előrehaladást.

Köszönöm **Dr. Vetési Ferenc** egyetemi tanárnak, hogy témabizottsági tagként segítette munkámat.

Köszönet illeti **Dr. Takai Shinji**-t, a Kitasato Egyetem (Japán) professzorát és munkatársait a virulenciaplazmidokra vonatkozó vizsgálatokban nyújtott segítségükért és együttműködésükért.

Köszönet illeti **Dr. Dénes Bélát** (Országos Állat-egészségügyi Intézet, Immunológiai Osztály), aki a szerológiai vizsgálatokban; **Dr. Szeredi Leventét** (Országos Állat-egészségügyi Intézet, Emlőskórbonctani Osztály), aki az immun-hisztokémiai vizsgálatokban; **Dr. Márialigeti Károlyt** (ELTE, Mikrobiológiai Tanszék), aki a szénforrás-hasznosítási vizsgálatokban és **Dr. Kovács Gábort** (ELTE, Mikrobiológiai Tanszék), aki a 16S rRNS gén vizsgálatokban nyújtott segítséget és ezen szakmai együttműködések révén hozzájárultak ahhoz, hogy e szakterületen a lehetőségekhez képest a legszélesebb körű vizsgálatokat tudjam elvégezni.

Köszönettel tartozom **Dr. J. F. Prescott**-nak a Guelph-i Egyetem (Kanada) professzorának, valamint **Dr. Ch. Lämmler**-nek a Justus Liebig Egyetem (Németország) professzorának a *R. equi* típus törzsek megkülönböztetéséért és a szakmai konzultációkért.

Elengedhetetlenül fontos volt mindazon kollégák segítsége (**Dr. Antal Tibor, Dr. Bakonyi Győző, Dr. Bakonyi Tamás, Dr. Bognár Csaba, Dr. Dán János, Dr. Drótos Attila, Dr. Gippert Róbert, Dr. Hajtós István, Dr. Kovács György, Dr. Kútvölgyi Gabriella, Dr. Lajos Zoltán, Dr. Laukó Tibor, Dr. Nemes Csaba, Dr. Polner Antónia, Dr. Rusvai Miklós, Dr. Senoner Zsuzsanna,**

Dr. Soós István, Dr. Sümeghy László, Dr. Szabó Béla, Dr. Szalay Szabolcs, Dr. Szeredi Levente, Dr. Szollár István, Dr. Tenk Miklós), akik baktériumtörzseket vagy vizsgálati anyagokat bocsátottak rendelkezésünkre, amely révén ilyen nagy számú baktériumtörzs vizsgálatára sor kerülhetett.

A munka valamilyen fázisában nyújtott segítségért a következő kollégáknak vagyok hálás: **Dr. Major Andrea, Dr. Majoros Gábor, Dr. Nagy Miklós, Dr. Reiczigel Jenő, Dr. Solymosi Norbert, Dr. Soós Pál, Dr. Szigeti Gábor és Dr. Tuboly Tamás**.

A precíz, pontos asszisztensi munkáért **Gáspárné Stoll Annamáriát, Halasi Terézt, Juhász Ágnest, Karner Editet, Kottász Tamásné, Lakosi Szilviát, Dr. Mezősi Lászlónét és Nógrádi Ritát** illeti köszönet.

Köszönettel tartozom azon egyetemi hallgatóknak és gyakornokoknak (**Dr. Ganter Mariann, Dr. Hegedús Tamás, Dr. Vendég Ildikó**), akik a munka valamelyik részébe bekapcsolódva járultak hozzá annak elvégzéséhez.

Végül köszönöm **Oláh Edit**-nek, karunk kiváló könyvtára dolgozójának az áldozatos és gyors munkáját, amely révén a szakirodalom beszerzésében volt segítségemre.