



Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar

Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

**Kérődzőkből izolált *Mannheimia haemolytica*
és *Bibersteinia trehalosi* törzsek szerotípusai**

Készítette: Szalay Dóra

Témavezető: Dr. Fodor László

egyetemi tanár

Budapest

2013.

Tartalom:

Összefoglaló	3
Summary	4
Bevezetés	6
Irodalmi áttekintés	12
Anyag és módszer	15
Eredmények	18
Megbeszélés	21
Köszönetnyilvánítás	23
Irodalomjegyzék	24

Összefoglaló:

A *Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*) és a *Bibersteinia trehalosi* (*B. trehalosi*) fajba sorolt baktériumtörzsek különféle, jelentős gazdasági kárral járó megbetegedéseket okoznak kérődzőkben. A *M. haemolytica* törzsek néhány hónapos borjakban, vírus-, vagy Mycoplasma-fertőzést követően tüdőgyulladást idéznek elő, és szerepet játszanak a szarvasmarha légzőszervi betegség komplexének (bovine respiratory disease complex, BRDC) kialakításában. Juh- és kecskeállományokban tüdő-, és tüdőgyulladást, szopós bárányokban és gidákban vérfertőzést okoznak. A *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* törzsek közös antigén szerkezeti rendszert képeznek. A felületi poliszacharid antigének alapján 17 szerotípust különítettek el. Ma a *M. haemolytica* törzseket 12, a *B. trehalosi* törzseket 4 szerotípusba soroljuk, míg egy, az A11-es szerotípusba tartozó törzsek a *Mannheimia glucosida* fajba kerültek át. A szerotípus meghatározása a járványtani követésen túl elengedhetetlenül szükséges a hatékony vakcinák összeállításához, mivel a *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* esetében szerotípus-specifikus védelemre számíthatunk. A klinikai tüneteket mutató állatokból és a kórtani esetekből származó minták vizsgálatát végezték el. Összesen 27 juh, 23 szarvasmarha és 2 kecske vizsgálati mintái kerültek feldolgozásra. A vizsgálni kívánt baktériumtörzseket leggyakrabban orrváladékból, vagy tüdőszövetből tenyésztették ki. Az izolált törzseket tenyésztési, morfológiai és biokémiai tulajdonságainak vizsgálata után, további vizsgálatokig -80 °C-os hűtőben tárolták. A szerotipizáláshoz a *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* típustörzseivel szemben hiperimmun savót termeltek nyulakban, melyek felhasználásával a törzseket passzív hemagglutinációs próba segítségével azonosították. A vizsgálatok célja annak megismerése volt, hogy hazánkban melyek a leggyakoribb *M. haemolytica* és *B. trehalosi* szerotípusok. Tenyésztési, morfológiai és biokémiai tulajdonságai alapján összesen 52, *M. haemolytica*-nak illetve *B. trehalosi*-nak bizonyult törzs került vizsgálatra. A tipizálás során 11 féle szerotípust azonosítottak, 9 esetben a szerotipizálás sikertelen volt. Szarvasmarha esetében a tüdőből tenyésztett törzsek közül három esetben A1-es, öt esetben A2-es, egy esetben T15-ös szerotípust állapítottak meg. A, méhből tenyésztett törzsek közül egy volt tipizálható, ez A5-ös szerotípusba sorolható, orrtamponból tenyésztett törzsekből hat esetben A2-es, egy esetben A7-es szerotípust azonosítottunk, három törzs pedig nem volt tipizálható. Juh tüdőmintákból A1, A2, A5, A6, A7, A8, és A13 szerotípusokat, orrtamponból pedig öt esetben A6-os, öt esetben A8-as, kettő esetben A11-es, és további 1-1 esetben A2, A9, A13 és A17-es szerotípusokat állapítottunk meg, míg 4 törzs nem volt tipizálható. Kecske tüdőből izolált törzsek közül mindkét esetben A2 szerotípust

azonosítottak. Munkánk célja, hogy meghatározzuk a hazai kérődzők megbetegedéseiből izolált *M. haemolytica* és *B. trehalosi* törzsek szerotípusát, melyek további vizsgálata a célzott vakcinázás kidolgozásának lehetőségét adja.

Summary:

Bacterial infection from the *Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*) and *Bibersteinia trehalosi* (*B. trehalosi*) strains lead to severe clinical outcome in ruminants. *M. haemolytica* infection happens in young calves especially after various viral, or *Mycoplasma* infection, and often manifests as pneumonia. *M. haemolytica* pneumonia in cattle is an important part of bovine respiratory disease complex (BRDC). *M. haemolytica* infection manifests as pneumonia in sheep and in goats, but causes bacteraemia and sepsis in lambs and yearlings. On the other hand, infection from *B. trehalosi* bacterium strains leads severe pasteurellosis in lambs and yearlings. *M. haemolytica* and *B. trehalosi* strains share a common antigen system. Earlier both species were thought to be variants of *Pasteurella haemolytica*. According to the polysaccharide antigens, 17 different serotypes were known. Now the *M. haemolytica* species consists of 12, the *B. trehalosi* consists of 4 different serotypes. The serotype A11 is considered to be a different species: *Mannheimia glucosida*. Experimental samples were taken from living infected animals, or acquired through forensic examinations. The samples were taken from 27 sheep, 23 cattle and 2 goats. Bacterium strains were isolated mainly from nasal discharge, or lung tissue samples. After morphologic and biochemical identification, isolated bacteria were stored under -80 °C, until further analysis. Anti-polysaccharide antibodies were produced in rabbits, and were used for the identification of the strains. Serotypes were identified by passive haemagglutination test. We aimed to find the most frequent *M. haemolytica* and *B. trehalosi* serotypes in Hungary. Total 52 samples of *M. haemolytica*, or *B. trehalosi* the tissue samples were identified after morphological and biochemical examinations. A total of 11 serotypes were identified through haemagglutination test. In 9 cases the serotype identification was not successful. The serotypes occurred in cattle lung tissue samples: A1: 3 times, A2: 5 times, T15: 1 time. Only one strain, A5 was identified from a uterus sample. From cattle nasal swab the following serotypes were identified: A2: 6 times, A7: 1 time. In three cases we could not identify the bacterial serotype. The serotypes in sheep lung tissue samples: A1, A2, A5, A6, A7, A8, A13 occurred 1 time each, from nasal swab: A6 and A8: 5 times each, A11: 2 times, A2, A9, A13, A17 in 1 time each, 4 strains were not

identified. Both goat lung tissue samples were infected by bacteria from the A2 serotype. Further sample analysis is needed to validate our results, for vaccine creation, and to determine the role and impact of the less frequent serotypes. The aim of this study is to investigate the occurrence of the different *M. haemolytica* and *B. trehalosi* serotypes in Hungary.

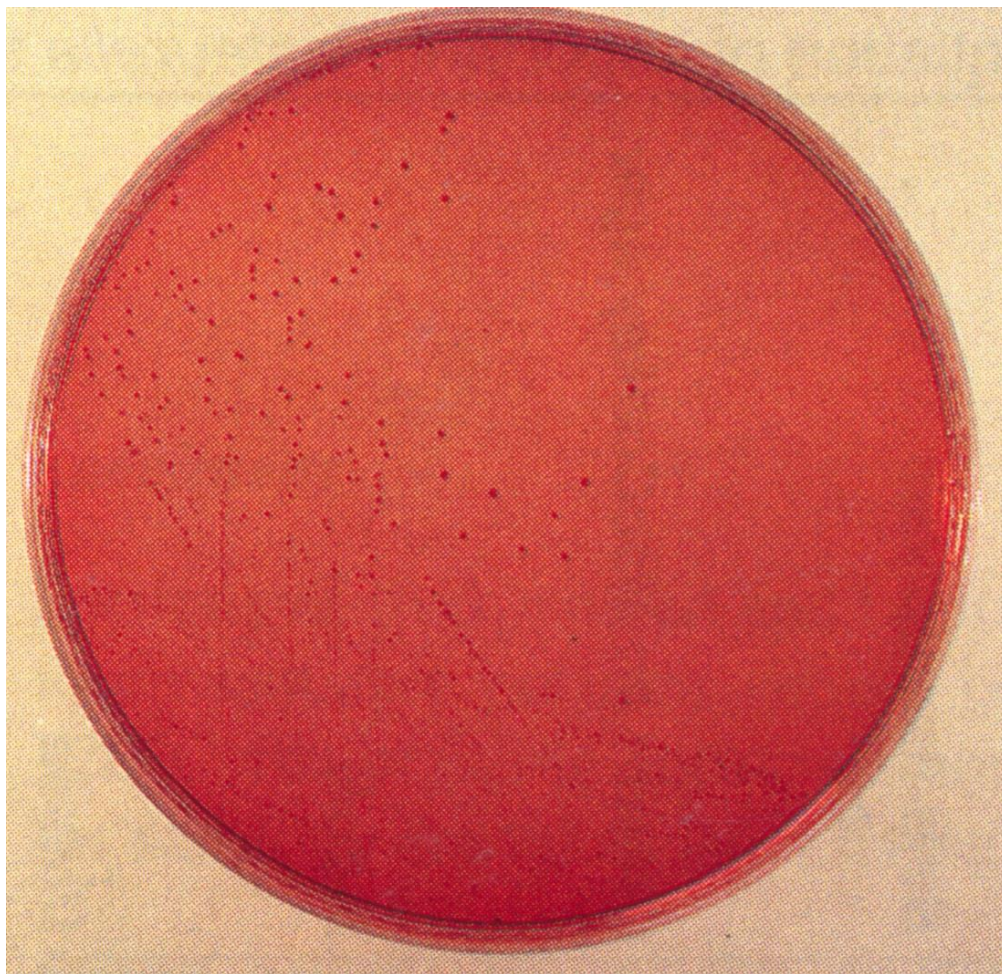
Bevezetés:

1, *Pasteurellaceae*

A Pasteurellaceae családba tartozó kórokozók a nyálkahártyák, főleg a felső légutak és a szájüreg lakói. Gram-negatív festődésű, apró, 0,5-2 μm átmérőjű, coccoid alakú baktériumok vagy rövid pálcák. A virulens törzsek jellemzően poliszacharid burokkal rendelkeznek. Csillóik nincsenek, spórát nem képeznek, és kevésbé ellenállóak a fizikai behatásokkal szemben. Aerob, fakultatív anaerob kórokozók. Tenyésztetőségük szempontjából fontos, hogy élesztőkivonatot és vérsavót is tartalmazó táptalaj az ideális számukra, ezen felül az enyhén lúgos közeget kedvelik. Véres agaron 1-2 mm átmérőjű telepeket alkotnak, keskeny béta-hemolízist mutató zónával.

A Mannheimia elkülöníthető a Pasteurellától az által, hogy rózsaszín-piros telepekben nő MacConkey agaron (TEFERA és SMOLA, 2001) (1. ábra).

Biokémiai tulajdonságaik alapján a különböző Pasteurellaceae fajok egymástól jól megkülönböztethetők, így a légzőszervi megbetegedésekből gyakran izolálható *Pasteurella multocida* és a *Mannheimia haemolytica* is (1. táblázat).



1. ábra - *Mannheimia haemolytica* MacConkey agaron

A ma *M. haemolytica*-nak nevezett fajt először az USA-ban írták le *Pasteurella haemolytica* névvel, ahol tüdőgyulladásban elpusztult juhokból izolálták (NEWSOM és CROSS, 1932). A fajon belül két biotípust különböztettünk meg. Az A biotípusba tartozó törzsek kataláz-pozitívak voltak, az arabinózt és a xilózt elbontották, a trehalózt viszont nem. A T biotípusú törzsek kataláz-negatívak voltak, és elbontották a trehalózt, de az arabinózt és a xilózt nem. A korábban A biotípusú *P. haemolytica* törzseket a *Mannheimia* nemzetségbe sorolták át, többségüket *Mannheimia haemolytica* név alatt, míg a kisebb részük a *Mannheimia glucosida* fajba került. A T biotípusú *P. haemolytica* törzsek a *Pasteurella trehalosi* fajt alkották, majd a Bibersteinia nemzetségbe kerültek át *Bibersteinia trehalosi* névvel (ANGEN és mtsai., 1999; BLACKALL és mtsai., 2007; SNEATH és STEVENS, 1990).

1. táblázat – A *P. multocida* és a *M. haemolytica* fajok biokémiai sajátosságai (TUBOLY, 1998).

Próba	<i>P. multocida</i>	<i>M. haemolytica</i>
Hemolízis	-	+
Indol	+	-
H ₂ S	+	+/-
Ureáz	-	-
NO ₃ → NO ₂	+	+
Szénhidrátbontás	fermentatív	fermentatív
Glükóz	+	+
Laktóz	+	+
Mannit	+	+
Maltóz	-	+

A *M. haemolytica* törzsek különféle virulenciafaktorokat termelnek, ezek közül a legfontosabb a tüdő macrophagjait károsító citotoxin termelése, de a sejtfal lipopoliszacharidjai, a külső membránfehérjék, a különféle adhezinek, a hialuronidáz és a neuraminidáz is szerepet játszik a kórképek kialakításában (NICOLET, 1990).

2, Antigének, szerotípusok

A *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* törzsek közös antigénszerkezeti rendszert képeznek. Passzív haemagglutinációs próbával felületi poliszacharid antigénjeik alapján a *M. haemolytica*-t és a *B. trehalosi*-t összesen 17 szerotípusba sorolják, de nem besorolható törzsek előfordulásával is számolni kell. Ma a *M. haemolytica* törzseket 12 (A1, A2, A5, A6, A7, A8, A9, A12, A13, A14, A16, A17), a *B. trehalosi* törzseket 4 (T3, T4, T10, T15) szerotípusba soroljuk, míg egy, az A11-es szerotípusba tartozó törzsek a *M. glucosida* fajba kerültek át (ANGEN és mtsai., 1999; BIEBERSTEIN, E.L., 1978; FODOR, és mtsai., 1987; YOUNAN és FODOR, 1995).

3, Kórtani jelentőség

A pasteurellák fakultatív patogének. Virulenciájuk változó, különféle, jelentős gazdasági kárral járó megbetegedéseket okoznak kérődzőkben. A *M. haemolytica* törzsek kérődzőkben tüdő-, és mellhártyagyulladást, tőgy-, és ízületgyulladást, alkalmanként septikaemiát okoznak. A *B. trehalosi* törzsek növendék juhok heveny pasteurellosisát okozzák.

Borjúállományokban 1-3 hónapos korban a *M. haemolytica* törzsek különböző vírus-, vagy Mycoplasma-fertőzést követően, annak szövődményeként kruppos tüdőgyulladást idéznek elő. A megbetegedésért zömmel az A1 és A2 szerotípusok felelősek Magyarországon (FODOR, és mtsai., 1988).

A borjak az élet első heteiben fertőződnek az anyaállatoktól vagy társaiktól. A megbetegedés tünetei elsősorban gyenge immunállapotú egyedekben jelentkeznek többnyire fiatal korban. Kezdetben enyhe láz, köhögés, orrfolyás figyelhető meg, de a folyamat egyre súlyosabbá válik, ahogy az orrfolyás gennyessé válik, a tüdőgyulladás miatt pedig nehezített légzés alakul ki. A kezdeti étvágytalan állapot után fogyás, majd egy-két hét alatt elhullás következik be. A tüdőbe jutva, annak elülső lebenyeiben, az alveolaris macrophagokat támadják meg, így azok fagocitáló funkciója csökken. A nyirokerekben a trombusképződés nő, aminek következtében az erek elhalnak és a tüdő szövetébe fibrinogénben dús savó lép ki. A szövettani képen fibrinkiválást, neutrophil granulocytákat, valamint elhalt területeket figyelhetünk meg. Lassú, idült lefolyás esetén az elváltozások gócos jellegűek, a tüdő metszéspapja ilyenkor tarkázott, metszéspapján a májasodás különböző fázisai figyelhetők meg. Gyors, heveny lefolyású megbetegedés esetén az elváltozott területek azonos májasodási szakban vannak. A *M. haemolytica* meghatározó kórtani szerepet játszik a szarvasmarha légzőszervi betegségkomplexe (bovine respiratory disease complex, BRDC) kialakításában is (VARGA és mtsai., 1999).

A *M. haemolytica* törzsek juh- és kecskeállományokban kruppos tüdőgyulladást (2. ábra), savós, fibrines mellhártyagyulladást, tőgygyulladást, szopós bárányokban és gidákban vérfertőzést okoznak. A folyamathoz társfertőzések is csatlakozhatnak. Az utóbbi esetekben *P. multocida*, hemolizáló *Streptococcus*-fajok és *Trueperella pyogenes* tenyésztetők a bakteriológiai vizsgálat során. A tünetek kialakulásához hajlamosító tényezőkre van szükség, melyek közül a vírusfertőzések, a rossz tartási körülmények (hideg, nedves és huzatos istálló),

a helytelen szállítás, több helyről származó állatok azonos légtérbe való elhelyezése az elsődlegesek (FODOR és mtsai., 1990; HAJTÓS és mtsai., 1985; VARGA és mtsai., 1999).



2. ábra – *M. haemolytica* okozta kruppos tüdőgyulladás juhban (a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék gyűjteményéből)

A *B. trehalosi* törzseknek a növendék bárányok és gidák heveny szisztémás pasteurellosisának kialakításában van kórtani szerepük. A tonsillákból a torok szövetein keresztül embólusok formájában a tüdőbe és egyéb szervekbe jutnak a baktériumok, ahol elszaporodnak és lokális gyulladást, elhalást idéznek elő. A bárányok lázasak, étvágytalanok. A betegséghez ízületi gyulladás társulhat. Idősebb állatokban félheveny tüdőgyulladás

formájában zajlik le, láz, köhögés, savós, majd gennyes orrfolyás tüneteivel (VARGA és mtsai., 1999).

Irodalmi áttekintés

Hazánkban először 1964-ben izolálták a *M. haemolytica*-t, de ez a törzs nem került szerotipizálásra (RATALICS és SZABÓ).

Az 1980-as évek első felében juhhullákból származó összesen 156 *M. haemolytica* és 19 *B. trehalosi* törzs vizsgálata alapján az A1-es (43 törzs) és az A2-es (24 törzs) szerotípus bizonyult a leggyakoribbnak. Egy állományban egyidejűleg több szerotípus is előfordult (HAJTÓS és mtsai., 1985). Szarvasmarhából is elsősorban A1-es szerotípusú *M. haemolytica* törzseket izoláltak az A2-es típusúak mellett, míg kecskében A2-es törzsek jelenlétét igazolták (FODOR, és mtsai., 1984).

Tüdőgyulladásban elhullott vagy kényszervágott borjakból, növendék üszőkből, hízómarhákból, két esetben hüvelyváladékból, valamint egy-egy esetben magzataból, magzataburokból és borjúköldökből származó 51 törzs között 31 A1-es, 8 A2-es, és 3 pedig A7-es szerotípusú törzsnek bizonyult (FODOR, és mtsai., 1988).

Hazai kecskeállományok esetében az A2-es szerotípusú *M. haemolytica* törzsek voltak a leggyakoribbnak (FODOR, és mtsai., 1990).

A 90-es évek végén különféle állatfajokból izolált 476 *M. haemolytica* törzs többsége (83,6%) A1-es és A2-es szerotípusúnak bizonyult, ezek mellett az A6-os, A8-as és az A5-ös szerotípus volt gyakori. Kérődzőkon kívül sertésből és pulykából izolált törzsek is tipizálásra kerültek, de ezek nem voltak tipizálhatóak, vagy nem mutattak egységes szerológiai képet. A 31 *B. trehalosi* törzs között a T10-es szerotípus volt a leggyakoribb (FODOR, és mtsai., 1999).

A hazai *M. haemolytica* törzsek szerológiai megoszlását a 2. táblázat mutatja.

2. táblázat – A Magyarországon 1985 és 1999 között leírt leggyakoribb *M. haemolytica* szerotípusok.

	Szarvasmarha	Juh	Kecske
1985	A1, A2	A1, A2	A2
1988	A1, A2	-	-
1990	-	-	A2
1999	A1, A2	A1, A2, A5, A6, A8	A2

A külföldi vizsgálati eredmények szerint is az A1-es és A2-es szerotípusok a leggyakoribbak, de nagy számban fordultak elő A6-os és szerotípusba nem besorolható törzsek is. *B. trehalosi* törzseket nem izoláltak minden országban, Európában főleg T4-es szerotípust azonosítottak (3. táblázat).

3. táblázat – A *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* leggyakrabban előforduló szerotípusai külföldön.

<i>M. haemolytica</i>	<i>B. trehalosi</i>	Ország	Hivatkozás
A1 (60%) A6 (26%)	-	USA	Al-Ghamdi és mtsai, 2000
A1 (67%) nem tipizálható (25%)	-	Dánia	Angen és mtsai, 2002
A2 (36,1%) nem tipizálható (21,3%)	T10 (0,3%)	Nigéria	Odugbo és mtsai, 2003
A2 (42,6%) A6 (6,2%)	T3 (11%) T4 (20,6%)	Franciaország	Villard és mtsai, 2005
A6 (44,2%) A1 (39,7%)	-	Japán	Katsuda és mtsai, 2013
A1 (49,3%) A2 (22,7%)	-	Japán	Katsuda és mtsai, 2008
A2 (59,5%) nem tipizálható (15,5%)	T4-T10 keresztreakció (0,5%)	Franciaország	Abadie és mtsai, 2008

A1 (26,2%) nem tipizálható (65,8%)	-	Mexikó	Jaramillo-Arango és mtsai, 2008
A1 (11,4%) nem tipizálható (13,2%)	-	UK	Angen és mtsai, 1999
A1 (16,6%) A2 (19,6%)	T4 (1,5%) T15 (1,5%)	Törökország	Ilhan és mtsai, 2007
A1 (17,4%) nem tipizálható (23,8%)	-	Mexikó	Samaniego és mtsai, 2012

A szerotípus meghatározása a járványtani követésen túl elengedhetetlenül szükséges a hatékony inaktivált vakcinák összeállításához, mivel a *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* esetében szerotípus-specifikus védelemre számíthatunk.

Munkánk célja az volt, hogy meghatározzuk a hazai kérődzők megbetegedéseiből izolált *M. haemolytica* és *B. trehalosi* törzsek szerotípusát. A vizsgálatok eredményeképp megismerjük, hogy hazánkban melyek a leggyakoribb *M. haemolytica* és *B. trehalosi* szerotípusok. Ezek az eredmények részben további vizsgálatokat alapoznak meg, részben a célzott vakcinázáshoz szükségesek.

Anyag és módszer:

1, A törzsek eredete

A Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék által összegyűjtött *M. haemolytica* és *B. trehalosi* törzsek az ország különböző pontjairól (3. ábra), különféle szarvasmarha, juh és kecskeállományokból származtak. A törzsek egy részét tüdőgyulladás klinikai tüneteit mutató állatok orrváladékából, másik részét pedig tüdőgyulladás következtében elhullott állatok tüdejéből és szarvasmarhából vett méhtamponmintákból tenyésztettük ki. Összesen 27 juhból (20 orrtampon, 7 tüdő), 23 szarvasmarhából (10 orrtampon, 10 tüdő, 3 méhtampon) és 2 kecskéből (2 tüdő) származó minta került feldolgozásra 22 különböző magyarországi állományból. A minták 14 szarvasmarha-, 7 juh- és egy kecskeállományból származtak.



3. ábra - A mintagyűjtések helyszínei

Az izolált törzseket tenyésztési, morfológiai és biokémiai tulajdonságainak vizsgálata után, további vizsgálatokig -80 °C-os fagyasztóban tároltuk.

2, *Típustörzsek*

A *M. haemolytica* (A1-A12) és a *B. trehalosi* (T3, T4, T10) típustörzseit az egykori Czechoslovak Collection of Microorganisms (Brno) törzsgyűjteményéből szereztük be, a *M. haemolytica* A13-as és A14-es, valamint a *B. trehalosi* T15-ös szerotípusának típustörzse a Moredun Research Institute-ből (Edinburgh, Skócia) származott. A *M. haemolytica* A16-os szerotípusának típustörzse a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék saját izolátuma, míg a *M. haemolytica* A17-es szerotípusának típustörzsét Dr. M. Younan (Hohenheim Egyetem, Stuttgart, Németország) bocsátotta rendelkezésünkre.

3, *Hiperimmun savók termelése*

Az izolált *M. haemolytica* and *B. trehalosi* törzsek szerotípusát passzív haemagglutinációs próbával határoztuk meg (BIBERSTEIN, 1978). Ehhez a törzsekkel szemben hiperimmun savót termeltünk nyulakban. A nyulakat 3-4 naponta 0,5; 1; 2; 3; 3 majd 3 ml McFarland 2-es sűrűségű baktériumszuszpenzióval oltottuk, ami $6 \cdot 10^8$ telepformáló egység/ml-nek felelt meg. Az állatokat egy héttel az utolsó oltás után elvégeztettük. A hiperimmun savókat a felhasználásig -24 °C-os fagyasztóban tartottuk.

4, *Passzív hemagglutinációs próba*

A passzív hemagglutinációs próba során a baktérium levestenyészetéből vagy a táptalajon nőtt baktériumtelepekből készült szuszpenzióból 5 ml-t 56 °C-os vízfürdőbe tettünk 30 percre. Az inkubálás után a szuszpenzióhoz 50 µl, előzőleg háromszor foszfát-pufferált fiziológiás sóoldatban (PBS) mosott vörös vértest-szuszpenziót adtunk, és 60 percre 37 °C-os

vízfürdőbe raktuk. Ezt követően a szuszpenziót centrifugáltuk, majd az érzékenyített vörösvértesteket háromszor mostuk PBS-ben. Az utolsó mosás után 10 ml fiziológiás sóoldatba szuszpendáltuk a vörösvértesteket. A passzív hemagglutinációs próbát mikromódszerrel, 96 lyukú műanyag lemezben végeztük. Az egyes hiperimmun típusavókat 50 µl fiziológiás sóoldatban 2-es logaritmus arányában hígítottuk úgy, hogy soronként egy kontrol lyukat hagyunk, majd a savóhígításokhoz 50 µl érzékenyített vörösvértest-szuszpenziót adtunk. A kialakuló reakciót 3 órán át szobahőn tartó inkubálás után olvastuk le. Pozitív esetben a vörösvértestek agglutinálódtak, negatív esetben pedig a vájulat alján gombszerűen leülepedtek.

Eredmények:

A vizsgálatok eredményeit az 5., a 6. és a 7. táblázat tartalmazza.

5. táblázat: *M. haemolytica*, *B. trehalosi* és *M. glucosida* törzsek szerotípusai

Szerotípus	Szarvasmarha	Juh	Kecske	Összesen
A1	3	1	-	4
A2	11	2	2	15
A5	1	1	-	2
A6	-	6	-	6
A7	1	1	-	2
A8	-	6	-	6
A9	-	1	-	1
A11	1	2	-	3
A13	0	2	-	2
T15	1	-	-	1
A17	0	1	-	1
Nem tipizálható	5	4	-	9
Összesen	23	27	2	52

6. táblázat: Szarvasmarhából izolált *M. haemolytica*, *B. trehalosi* és *M. glucosida* törzsek szerotípusai

Szerotípus	Tüdő	Orr	Méh	Összesen
A1	3	-	-	3
A2	5	6	-	11
A5	-	-	1	1
A7	-	1	-	1
A11	1	-	-	1

T15	1	-	-	1
Nem tipizálható	-	3	2	5
Összesen	10	10	3	23

7. táblázat: Juhból izolált *M. haemolytica* és *M. glucosida* törzsek szerotípusai

Szerotípus	Tüdő	Orr	Összesen
A1	1	-	1
A2	1	1	2
A5	1	-	1
A6	1	5	6
A7	1	-	1
A8	1	5	6
A9	-	1	1
A11	-	2	2
A13	1	1	2
A17	-	1	1
Nem tipizálható	-	4	4
Összesen	7	20	27

Hazai kérődzők között a *M. haemolytica*, a *M. glucosida* és a *B. trehalosi* törzsek különféle szerotípusainak előfordulását igazoltuk. Összesen 52 törzs került vizsgálatra, melynek során 11 féle szerotípust azonosítottunk, 9 esetben pedig a tipizálás sikertelen volt (5. táblázat). Szarvasmarhában a legtöbb törzs A2-es szerotípusúnak bizonyult (6. táblázat), míg juhokból származó mintákban inkább A6-os és A8-as szerotípusokat állapítottunk meg (7. táblázat). Kecskéből csak 2 darab A2-es szerotípusú *M. haemolytica* törzset izoláltunk. (5. táblázat).

Szarvasmarha esetében a tüdőből tenyésztett törzsek közül a legtöbb, öt esetben A2-es, három esetben A1-es szerotípusú *M. haemolytica* volt, egy-egy esetben T15-ös szerotípusú *B. trehalosi*-t és A11-es szerotípusú *M. glucosida*-t azonosítottunk. Egy településről három

szarvasmarha méhéből izoláltunk *M. haemolytica*-t, ezek közül kettő nem volt tipizálható, míg egy A5-ös szerotípusúnak bizonyult.

Juhok tüdőmintáiból szinte minden törzs esetében más, A1, A2, A5, A6, A7, A8, és A13 szerotípusokat azonosítottunk, orrtamponból a legtöbb, öt törzs A6-os és öt A8-as szerotípusúnak bizonyult, ezen felül kettő esetben A11-es, és egy-egy esetben A2, A9, A13 és A17-es szerotípusokat is megállapítottunk. Az orrváladékból izoláltak közül összesen 4 törzs nem volt tipizálható. Bárányokból orrtampon minták kerültek vizsgálatra, melyek 91%-a azonos telepről származott. Az ugyanazon állományból származó anyajuhok mintáiban két esetben A6-os, egy esetben A8-as szerotípust azonosítottunk, míg a bárányokból izolált törzsek legtöbbször, 4 törzs nem volt szerotipizálható, három esetben kaptunk A8-as és A6-os szerotípust, valamint egy-két A9-es és A11-es törzs is előfordult. Egyetlen A2-es szerotípust azonosítottunk egy bárány orrváladékából, mely másik telepről származott. Egy-egy juhállományban egyidejűleg több szerotípus is előfordult. Azonos telepről vett orrtampon mintákból két esetben azonosítottuk ugyanazt a szerotípust két állatnál, egyszer A6-ost, egyszer A8-ast.

Kecske tüdőből izolált törzsek közül mindkét esetben A2 szerotípust azonosítottunk.

Megbeszélés:

Vizsgálataink eredményei azt mutatják, hogy a magyarországi szarvasmarha- és juhállományok *M. haemolytica* fertőzöttsége jóval nagyobb mértékű, mint a *B. trehalosi* fertőzöttsége. Ez az arány az elmúlt évtizedekben hasonló volt több ország kutatásai szerint is (ABADIE és THIERY, 2008; ODUGBO és mtsai., 2003). Nagyobb *B. trehalosi* előfordulás Franciaországban volt (VILLARD és mtsai., 2006). Más országokban az A1-es és az A2-es szerotípusok előfordulásáról számoltak be leggyakrabban, harmadik leggyakoribb pedig az A6-os szerotípus volt a szakirodalom szerint (KATSUDA és mtsai., 2008).

A hazai állományokból származó *M. haemolytica* törzsek 82,7 %-a szerotipizálható volt, 28,8%-ban mutattak az A2-es szerotípusba tartozókat. Az A1-es szerotípus a vártnál ritkábban, 7,7%-ban került azonosításra. Második leggyakoribb, más országokéhoz hasonlóan, az A6-os 11,5 %-ban fordult elő Magyarországon, de ugyanilyen arányban izoláltak A8-as szerotípust is. A többi típus előfordulása sporadikus volt.

A korábbi magyarországi vizsgálatok szerint a szarvasmarha-állományokban leggyakrabban az A1-es és az A2-es szerotípusú *M. haemolytica* törzsek kórtani szerepével kellett számolni (FODOR és mtsai., 1988). Más országokban is az A1-es szerotípusú törzsek bizonyultak a leggyakoribbnak (ANGEN és mtsai., 2002), de az A6-os szerotípusú törzsek is gyakran izolálhatók kórtani mintákból (JARAMILLO-ARANGO és mtsai., 2008; KATSUDA és mtsai., 2013). A jelen vizsgálatokban meglepő, hogy tüdőgyulladásos esetekből is jelentős arányban tenyésztettünk ki A2-es szerotípusú *M. haemolytica* törzseket, e szerotípus korábban inkább az orrban volt kimutatható. Az egyéb szerotípusok és a nem tipizálható törzsek előfordulása korábbi hazai és külföldi adatoknak megfelel (FODOR és mtsai., 1999; KATSUDA és mtsai., 2008). Egy szarvasmarha tüdőgyulladása kapcsán *M. glucosida* törzset izoláltunk, amely A11-es szerotípusú volt. A *M. glucosida* törzseket inkább juh orrváladékából lehet kitenyésztetni (ANGEN és mtsai., 1999).

A hazai juhállományokban is sokáig az A1-es szerotípusú törzsek dominanciája volt jellemző. Az 1980-as évek óta az A2-es gyakorisága folyamatosan nőtt, míg mindkettő hasonlóan nagy jelentőségű lett (FODOR és mtsai., 1999). A juhból izolált *M. haemolytica* törzsek a szerotípusok széles spektrumát képviselték. Ez a tény megfelel a nemzetközi adatoknak (ODUGBO és mtsai., 2003; VILLARD és mtsai., 2006).

Kecskék esetében korábban is az A2-es szerotípust írták le, mint leggyakrabban előforduló *M. haemolytica* szerotípust, bár a jelen vizsgálatokban szereplő két kecske-eredetű törzsből messzemenő következtetéseket nem lehet levonni (FODOR és mtsai., 1990).

A *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* törzsek rendszeres szerotipizálása az általuk okozott betegségek megelőzése szempontjából kiemelkedő jelentőségű. A betegségek az általános járványtani elvek betartásával, a hajlamosító tényezők elkerülésével, a tartási körülmények javításával, a pasteurellosisra hajlamosító vírusfertőzések megelőzését célzó vakcinázással, valamint a *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* elleni specifikus védekezéssel előzhetők meg. A specifikus védekezésre a leggyakoribb szerotípusokat tartalmazó inaktivált baktériumokat vagy baktériumkivonatot tartalmazó oltóanyagokat vagy élő, attenuált törzseket tartalmazó vakcinákat használnak. Az inaktivált *M. haemolytica* és a *B. trehalosi* törzseket tartalmazó vakcinák típus-specifikus védelmet nyújtanak, így a hatékony vakcinázás feltétele az adott kórfolyamatban szereplő ágens azonosítása és szerotipizálása.

Köszönetnyilvánítás:

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Fodor Lászlónak, hogy részt vehettem a tanszéken folyó kutatásban, Halasi Teréz technikusnak, hogy gyakorlatot szerezhettem a laboratóriumi munka terén, valamint köszönöm a segítséget, amit munkám során és dolgozatom elkészítése közben kaptam tőlük!

A kutatás részben a TÁMOP 4.2.2/B-10/1-2010-0011 „A tehetséggondozás és kutatóképzés komplex rendszerének fejlesztése a Szent István Egyetemen” c. pályázat támogatásával valósult meg.

Irodalomjegyzék:

ABADIE, G., R. THIERY: Serological characterisation of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella trehalosi* strains from nasal pits of domestic sheep and goats in the Alpes-Maritimes department (France), *Revue de Medecine Veterinaire*, 2008. 159: 101-106.

AL-GHAMDI, G.M., T.R. AMES, J.C. BAKER: Serotyping of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* isolates from the upper Midwest United States, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2000. 12: 576-578.

ANGEN, Ø., R. MUTTERS, D.A. CAUGANT, J.E. OLSEN, M. BISGAARD: Taxonomic relationship 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*, 1999. 49: 67-86.

ANGEN, Ø., M. QUIRIE, W. DONACHIE: Investigations on the species specificity of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* serotyping, *Veterinary Microbiology*, 1999. 65: 253-260.

ANGEN, Ø., P. AHRENS, M. BISGAARD: Phenotypic and genotypic characterization of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*-like strains isolated from diseased animals in Denmark, *Veterinary Microbiology*, 2002. 84: 103-114.

BIBERSTEIN, E.L.: Biotyping and serotyping of *Pasteurella haemolytica*. In: Bergan, T. and J.R. Norris (Eds.): *Methods in microbiology*. Vol. 10. Academic Press, London, 1978. 253-269.

BLACKALL, P.J., A.M. BOJESSEN, H. CHRISTENSEN, M. BISGAARD: Reclassification of *[Pasteurella] trehalosi* as *Bibersteinia trehalosi* gen. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2007. 57: 666-674.

FODOR, L., I. HAJTÓS, R. GLÁVITS: *Pasteurella haemolytica* okozta megbetegedések hazai kecskeállományokban, *Magyar Állatorvosok Lapja*, 1990. 45: 545-548.

FODOR, L., J. VARGA, I. HAJTÓS, G. SZEMERÉDI: Serotypes of *Pasteurella haemolytica* isolated from sheep, goats and calves, *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 1984. 31: 466-469.

FODOR, L., J. VARGA, I. HAJTÓS, W. DONACHIE, N.J.L. GILMOUR: New serotypes of *Pasteurella haemolytica* isolated in Hungary, *Veterinary Record*, 1987. 121: 155.

FODOR, L., J. VARGA, I. HAJTÓS: Serotypes of *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella trehalosi* isolated from farm animals in Hungary, *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 1999. 46: 241-247.

FODOR, L., J. VARGA, I. HAJTÓS: Szarvasmarhából izolált *Pasteurella haemolytica*-törzsek jellemzése, *Magyar Állatorvosok Lapja*, 1988. 43: 567-569.

HAJTÓS, I., L. FODOR, J. VARGA, G. MALIK: *Pasteurella haemolytica*-szerotípusok és az általuk okozott kórképek juhállományokban, *Magyar Állatorvosok Lapja*, 1985. 40: 473-479.

ILHAN, Z., I. KELES: Biotyping and serotyping of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* isolated from lung samples of slaughtered sheep in the van region, *Turkish Journal of Veterinary & Animal*, 2007. 31: 137-141.

JARAMILLO-ARANGO, C.J., R. HERNÁNDEZ-CASTRO, F. SUÁREZ-GÜEMES, J.J. MARTÍNEZ-MAYA, F. AGUILAR-ROMERO, L. JARAMILLO-MEZA, F.J. TRIGO: Characterisation of *Mannheimia spp.* strains isolated from bovine nasal exudate and factors associated to isolates, in dairy farms in the Central Valley of Mexico, *Research in Veterinary Science*, 2008. 84: 7-13.

KATSUDA, K., M. KAMIYAHARA, M. KOHMOTO, K. KAWASHIMA, H. TSUNEMITSU, M. EGUCHI: Serotyping of *Mannheimia haemolytica* isolates from bovine pneumonia: 1987-2006, *The Veterinary Journal*, 2008. 178: 146-148.

KATSUDA, K., M. KOHMOTO, O. MIKAMI: Relationship between serotype and the antimicrobial susceptibility of *Mannheimia haemolytica* isolates collected between 1991 and 2010, *Research in Veterinary Science*, 2013. 94: 205-208.

NEWSOM, I.E., F. CROSS: Some bipolar organisms found in pneumonia in sheep. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1932. 80: 711-719.

- NICOLET, J.: Overview of the virulence attributes of the HAP-group bacteria. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 1990. 54: S12-S15.
- ODUGBO, M.O., L.E. ODAMA, J.U. UMOH, A.A. MAKINDE: Serotypes of *Pasteurella haemolytica* from pneumonic lungs of sheep in northern Nigeria, *Small Ruminant Research*, 2003. 48: 239-243.
- RATALICS L., SZABÓ Z.: A juh *Pasteurella haemolytica* okozta megbetegedése. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 1964. 19: 112-114.
- SAMANIEGO B M.L., J.L. CONTRERAS J, C.J. JARAMILLO-ARANGO: Antimicrobial resistance in *Mannheimia haemolytica* strains isolated from dairy cattle nasal exudate, *Veterinaria Mexico*, 2012. 43: 123-132.
- SNEATH, P.H., M. STEVENS: *Actinobacillus rossii* sp. nov., *Actinobacillus seminis* sp. nov., nom. rev., *Pasteurella bettii* sp. nov., *Pasteurella lymphangitidis* sp. nov., *Pasteurella mairi* sp. nov., and *Pasteurella trehalosi* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1990. 40: 148-153.
- TEFERA, G., J. SMOLA: *Pasteurella haemolytica* complex of *Pasteurella* sensu stricto as new genus *Mannheimia*: changes in taxonomy, *Veterinarni Medicina*, 2001. 46: 119-124.
- TUBOLY S. (Szerk.) : Állatorvosi járványtan I. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 1998. 162-164.
- VARGA J., TUBOLY S., MÉSZÁROS J: A háziállatok fertőző betegségei. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 1999. 155-162.
- VILLARD, L., D. GAUTHIER, A. LACHERETZ, G. ABADIE, Y. GAME, F. MAURIN, Y. RICHARD, E. BORGES, A. KODJO: Serological and molecular comparison of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella trehalosi* strains isolated from wild and domestic ruminants in the French Alps, *The Veterinary Journal*, 2006. 171: 545-550.
- YOUNAN, M., L. FODOR: Characterisation of a new *Pasteurella haemolytica* serotype (A17), *Research in Veterinary Science*, 1995. 58: 98.