

A baromfikolera oktana I-II.

Irodalmi áttekintés

Varga Zsuzsanna

MTA Agrártudományi Kutatóközpont, Állatorvos-tudományi Intézet

Hungária krt. 21., H-1143 Budapest

E-mail: vargazs@vmri.hu; varga.zsuzsanna.iren@gmail.com

Összefoglalás

A baromfikolera kórokozója, a nagy fenó- és genotípusos változatosságot mutató *Pasteurella multocida* baktérium hagyományos és molekuláris biológiai vizsgálata során kapott új eredményeket foglalja össze a közlemény a legújabb nemzetközi és hazai eredmények tükrében, különös tekintettel a virulencia és a baktérium tulajdonságainak, genetikai jellemzőinek összefüggésére, valamint a gazdaállat fertőzés iránti fogékonyságára.

Summary

Brief history of fowl cholera is presented about traditional and molecular biological characterisation of *Pasteurella multocida* bacteria, host susceptibility, difficulties of antimicrobial treatment. Newest epidemiological observations and genetical research are included with special regards to the connection of bacterial characteristics and virulence.

I. A kórokozó fenotípusos jellemzése

A baromfikolera kórokozója, a *Pasteurella multocida* baktérium iránt a madarakon kívül fogékonyak mind a vadon élő, mind a házasított emlősállatok és maga az ember is. Az 1 μm nagyságú, coccoid formájú Gram negatív baktérium minden földrészen megtalálható és több mint 200 éve ismertek az általa okozott betegségek. A széleskörű elterjedtséghez és gazdaspektrumhoz igen változatos baktérium felépítés és megbetegítő képesség tartozik. A madarakban okozott kolerás megbetegedés mellett kérődzőkben vérszés szeptikémiát (régebbi nevén bivalyvészt), sertésekben torzító orrgyulladást, nyulakban „pasztörellóvizist”, emlősökben és madarakban légúti bántalmakat, tüdőgyulladást, ill. egyéb szervekben helyi gyulladásos folyamatokat válthatnak ki. Humán fertőzéseknél többnyire állatoktól származó karmolás, harapás utáni sebfertőzésekből izolálják (1, 2).

A baromfikolerát is okozó *P. multocida* baktérium jellemzése még ma is komoly feladat elé állítja a szakembereket. Egész világon való elterjedtsége, változatos fenó- és genotípusos megjelenése, a fogékony fajok sokasága és az általa okozott eltérő kórképek mind-mind nehezítik az izolátumok csoportosítását, a közös és az egyedi jellemzők elkülönítését, az izolátum patogenitásának „megjósolását”. A baktérium jellemzésére, csoportosítására számos hagyományos és molekuláris biológiai eljárás ismert, amelyben magyar szakemberek is maradandót alkottak (3, 4). A Schneider által kidolgozott biokémiai alapú csoportosítás 8 típusa még az 1960-as években is használatban volt. Az első két csoportot (I. II.) jellemző arabinózbontás jelen tudásunk szerint a gallicida alfajú törzsek sajátossága. Schneider 42 baromfiból származó izolátuma közül 40 bontotta az arabinózt, míg a sertésből izolált 62 *P. multocida* törzs között ugyancsak talált 14 arabinózbontó izolátumot. Ugyanő kis számban (2-2) nyúlból is izolálta a fenti tulajdonságú törzseket, sőt leírta, hogy baromfikolera járvány kitörése után néhány nappal az egy udvarban tartott nyulak között is jelentkezett

pasztórellózis, amelyből a baromfi eredetű törzsekkel megegyező tulajdonságú törzseket izoláltak, s a baromfikolera ellen készített oltóanyag sikerrel védte a nyúlállományt is. Csontos és Derzsy eltérő tájegységekről származó *P. multocida* izolátumok összehasonlításakor az erdélyieket arabinóz negatívnak, míg a más országrészekből izoláltakat arabinózbontónak találta (5). Derzsy később (6) azt találta, hogy a heveny baromfikolerából izolált valamennyi törzs arabinóz- és szorbitbontó tulajdonsággal rendelkezett. Murti és Mészáros (7, 8) 87 madár eredetű Pm izolátum vizsgálatakor 86-ot ugyancsak arabinózbontónak talált. Az további évtizedekből viszonylag kevés magyar tanulmányt találunk, de említeni kell Kucsera (9) és Fodor (10) irodalmi összefoglalóját. A molekuláris biológiai vizsgálatok más baktériumokhoz viszonyítva későn, csak az ezredforduló tájékán idultak meg, így napjainkig széleskörben használtak a hagyományos biokémiai és szerológiai vizsgálatok is.

A *P. multocida* törzsek vizsgálatakor a burkot képező lipopoliszacharidok különbözősége alapján szerológiai vizsgálattal 5 buroktípust (A, B, D, E és F burok szerotípus) különítettek el (11, 12), amelynek genetikai hátterét felismerve polimeráz-lánreakciók (PCR) kidolgozásával vált lehetővé a különbségtétel (13). Madarakban valamennyi buroktípust leírták, de a baromfikolerás eseteknél az A típus előfordulását találták elsődlegesnek (14, 15). Magyarországon az A buroktípus dominanciája és az F típus sporadikus előfordulása megfelel az irodalomban közölt adatoknak (16, 17, 18, 19).

Mutters (20) hibridizációval 3 alfajt különített el, a *P. multocida ssp multocida*-t, *septica*-t és *gallicida*-t, amelyeket későbbi közlemények szénhidrátbontásuk alapján is megkülönböztethetőnek véltek (21, 22, 23, 24). Az alfajok különbözőségük alapján külön fajként is leírhatók lennének, de a szakemberek az általuk okozott klinikai megbetegedés azonossága, ill. a baktériumban található sok hasonlóság folytán (pl. fajspecifikus PCR) nem találták indokoltnak az elkülönítést. A referens törzsek szénhidrátbontása alapján

meghatározott alfaji elkülönítés nem minden esetben felel meg az eredetileg hibridizációval létrehozott csoportosításnak (20, 21). Gerardo (25) szorbit negatív, hibridizációval mégis *multocida* alfajba tartozó *P. multocida* törzseket talált. Petersen megállapította, hogy a cukorbontás alapján *multocida* és a *septica* alfajba tartozó madár eredetű *P. multocida* törzsek HpaII ribotipizálással nem képeznek elkülönülő csoportot, egy ágon helyezkednek el, míg a vizsgált *gallicida* alfajba sorolt törzsek két törzs kivételével ugyancsak egységet képeznek, de más ágon elhelyezkedve jelentősen különböznek az előbbiektől. A filogenetikai rokonság mértékének megállapítására használt 16S rRNS-t kódoló DNS szekvenálása alapján pedig a *multocida* és *gallicida* alfaj nem különül el, közös ágon helyezkednek el, míg a *septica* alfajú izolátumok külön ágon találhatók (26). Az irodalmi adatok alapján állatfajtól függetlenül leggyakoribb a *multocida* alfajú törzsek előfordulása. Ugyanakkor egy ausztrál kutatócsoport által elkülönített un. vietnami vagy VP161 típusú törzsek (27), amelyek rendkívül elterjedtek DK-Ázsiában, ill. a 2005-2006-ban lezajlott nagy antarktisi baromfikolera járvány során izolált *P. multocida* törzsek (28) egyaránt *gallicida* alfajúak, mint ahogy arabinózbontó törzsek izolálhatók a perakut esetek döntő többségéből hazánkban is. Utóbbiak alfaja a *thdF* és *rpoB* háztartásgének vizsgálatával sem volt egyértelműen megállapítható, elsősorban a nukleotid adatbázisokban fellelhető kevés *P. multocida subsp. gallicida* szekvencia miatt, de a szakirodalom adatai szerint ezideig arabinózbontás csak *gallicida* alfajú törzseknél volt megfigyelhető (19). *P. multocida ssp gallicida* törzseket sertésekből is izoláltak (24, 29, 30, 31), s felmerült a sertés baromfival történő keresztfertőzésének lehetősége is (32). Magyarországon is leírásra került egy nyúlból származó izolátum, amely tulajdonságait tekintve megegyezik az L-arabinózbontó perakut kolerás megbetegedést okozó törzsekkel (19). *Septica* alfajú törzsek általában marások okozta sebfertőzésekben kerültek izolálásra (33).

Fegan és Blackall (23, 24) biokémiai vizsgálataik alapján 13 csoportba, ún. biotípusba sorolták a *P. multocida* törzseket. Az irodalomban leggyakoribbként meghatározott 3-as biotípus mellett jelentős számban találtak 1-es biotípusú törzseket (19, 23, 24, 32). További biotípusok leírására is szükség lenne, mert a jelenlegi rendszerbe számos törzs nem sorolható be (Pl. magyar arabinózbontó baromfiizolátumok). A rendszer azonban nem rendelkezik megfelelő differenciáló erővel, mert egyfelől az izolátumok döntő többsége néhány biotípusba tartozik, másfelől a törzsek egy része nem ad egyértelmű szénhidrátbontási reakciót (25). A fentiek alapján inkább más módszerek előtérbe helyezése indokolt.

A sejtalkotó elemekben mutatkozó különbségek híven tükrözik a *P. multocida* baktérium változatos felépítését és szerkezetét. A szomatikus antigének vizsgálatakor a sejtfalban levő hőstabil kivonatantigéneket precipitációs eljárással vizsgálva Heddleston (34) 16 szerocsoportot különített el. A baromfikolera elleni védekezésben döntő jelentősége van ennek az eljárásnak, mert vakcinázással, amely manapság döntően elölt kórokozóval történik, ezideig csak az azonos szerotípusba tartozó törzs ellen lehet protektív immunitást létrehozni. A szerotípus agargél-precipitációs eljárással történő meghatározása nehézkes, gyakoriak a keresztreakciók. Erre mindmáig nem sikerült specifikus, PCR alapú egyszerű módszert kidolgozni, ami nem meglepő, mert még a szerotípusért felelős génszakaszok sem ismertek pontosan. Rimler (35) vizsgálatai szerint az immunitásért felelős fehérje-lipopoliszaharid komplex lipopoliszaharid (LPS) része felelős a specifitásért. Harper és Michael munkatársaikkal az utóbbi időben több, a szerotípust meghatározó lipopoliszaharidot azonosított, így ismert az 1, 2, 3, 5, 9 és 14 szerotípus kialakításáért felelős LPS szerkezet (36, 37,38, 39, 40, 41, 42, 43). Egyedül az 1-es szerotípus meghatározására rendelkezünk PCR eljárással, ez azonban reakciót ad a 14-es szerotípussal is (44). Legújabb kutatások szerint a 14-es szerotípus egy olyan 1-es szerotípusú VP161 típusú törzs, amelynek a LPS felépítésében szerepet játszó *pcgA* génjéből 19 bázis hiányzik és a következményes

szerkezetmódosulás vezetett az eltérő szerológiai sajátosságok megjelenéséhez (45). Madarakban leggyakrabban a 1; 3; 3,4; 4 és 3,4,12 szerotípus mutatható ki, de mind a madár faja, mind az izolálás helye és ideje nagymértékben befolyásolja a kapott eredményt (46). Észak-Amerikában az 1990-es években végzett felmérések szerint Kaliforniában izolált pulyka eredetű törzsek többsége A buroktípusú, valamint 3 és 4 szerotípusú volt (31), vadmadarak esetén a baromfikolerában elhullott 23 különböző fajú állatból Hirst (47) 63 %-ban *P. multocida ssp multocida*-t mutatott ki, s ezek minden esetben A:1 szerotípusúak voltak. Mások vizsgálatai is ezen szerotípus markáns jelenlétét bizonyították (31, 48). Dél-Amerikában Leotta (49) által vizsgált *P. multocida* törzsek 70%-a A buroktípusú és harmada 1-es szerotípusú volt. Ugyanő az Antarktiszon vadmadarak között kialakult nagy veszteséget okozó kolerajárványból változó erőterű gélelektroforézissel (PFGE) és géneken belüli ismétlődő palidrom szekvenciák kimutatására szolgáló un. REP PCR speciális változatával, az enteropatogén baktériumokra tervezett ERIC PCR-rel nagy számban azonos rajzolatú A:1 típusú *P. multocida ssp. gallicida* törzset izolált, bizonyítva az azonos klón által okozott járványt (28).

Ázsiában indonéziai vizsgálatok szerint az A:1 a leggyakoribb szerotípus (16, 50), Indiában az madárizolátumok döntő többsége szintén A:1 típusú (51, 52). Japánban A:1, 3, 3,4 típust mutattak ki, s az A:1 típus bizonyult erős virulenciájúnak (53). Koreában 60 év után jelentkezett ismét baromfikolera, a 2 esetből A:10,11 típusú törzset izoláltak. A fertőzés forrásaként vadmadarakat feltételeztek, de az azokban talált A:1, 12, 14 szerotípusú törzsek alapján nem volt valószínűsíthető a keresztfertőzés (54), inkább emlősállatoktól származó fertőzést gyanítottak a háttérben. Ausztráliában és Vietnamban izolált baromfikolera-törzsek összehasonlításakor szemben az ausztráliai törzsek nagy változatosságával Vietnamban valamennyi törzs azonos A:1 szerotípusú volt és egyforma PFGE profilt mutatott annak ellenére, hogy az ország távoli pontjairól származtak (27). Az Ausztráliában izolált *P.*

multocida törzsek A:1, 3, 4 és 3, 4 típusúak voltak változatos PFGE profil mellett (55, 56), de Townsend (32) vizsgálatai szerint 3 vietnami sertésből és 2 ausztrál csirkéből származó A:1 szerotípusú izolátum tökéletesen azonos REP-PCR mintázatot mutatott. Az un. vietnami típusú törzsek erősen patogénnek bizonyultak (57).

Európában brit törzsek vizsgálatakor az izolátumok mintegy háromnegyede A buroktípusú volt igen változatos külső membránfehérje (omp) kép mellett (58). Lengyelországban (59) és Magyarországon (18) az azonosított madár *P. multocida* törzsek háromnegyede A, ill. 1-s szerotípusú volt. Dániában vadmadarak között jelentkező baromfikolera járványokból nagyszámú elhullott állatból izoláltak azonos PFGE és REA mintázatot mutató törzset, annak ellenére, hogy az egyes járványok között évek teltek el (60, 61, 62), s a törzs felbukkant baromfikolerás házikacsa állományban is (63). Ugyanezt a klónt mutatják ki két évvel később svédországi vadmadarak között kitört baromfikolera járványból. Más baromfifajokból (csirkéből, pulykából, fácánból), valamint vándormadarakból 4-es és 5-ös szerotípus is izolálható (15). A szomatikus szerotípusok Amonsin (64) és Saxena (65) vizsgálatai szerint nem mutattak összefüggést más biokémiai jellemzőkkel és a buroktípussal. Rimler (35, 66) azt találta, hogy eltérő burok és szomatikus szerotípusú törzsek egyaránt képesek voltak baromfikolerát kiváltani. Hazai izolátumaink 1; 3; 3,4; 3,4,5 és 4,5 szerotípusúnak bizonyultak (18, 19). Heveny kolerás megbetegedésekből az A:1 szerotípusú törzsek izolálhatósága megegyezik az irodalmi adatokkal (19, 66).

A külső membránfehérjék (omp), amelyből eddig 60-nál is többet mutattak ki (67), bizonyítottan fontos szerepet játszanak a baktérium integritásának megőrzésében, a tapadásban és a konjugációban, a gazdaszervezet megtámadásában, valamint bizonyított immunogén tulajdonságuk is. A fehérjéhez foszfolipidek és lipopoliszaharidok kapcsolódhatnak, ezzel fokozva a strukturális és funkcionális változatosságot. Davies vizsgálatai alapján a baromfiból izolált törzsek omp mintázata az OmpA és OmpH

összehasonlítása alapján nagy változatosságot mutatott, száz körüli minta vizsgálatokor 19 elkülönülő omp főcsoportot különített el (68). Ugyanő más állatokból izolált *P. multocida* törzsek esetén azonban kimutatta, hogy bizonyos omp mintázatot mutató törzsek virulensebbek, és egy adott kórképből többnyire adott tulajdonságú törzsek izolálhatók (69). A *P. multocida* törzsek egy részét gazdaspecifikusnak vélik, ez utóbbit erősítik meg azok a vizsgálatok, amelyek során bizonyos típusú betegségekből meghatározott omp rajzolatú törzseket lehet izolálni (69, 70). Föltételezhető, hogy e fehérjék változatos funkciójuk folytán és a külső felszínen elhelyezkedve visszatükrözik mind a *P. multocida* törzsek csoport-, mind pedig egyedi sajátosságait. Az OmpH-t kódoló génről kimutatták, hogy a PCR terméket Dra I és Hinf I restrikciós enzimmel vágva képes különbséget tenni a *P. multocida* A:1, A:3 és B:2 szerotípusai között (71). Az OmpH gén vágása során 3 csoportot különítettünk el, a heveny kolerás esetekre az I. vágáskép volt jellemző, amelyet az 1 Heddleston-féle szerotípusú törzsek mutattak (72).

Irodalom:

1. TALAN, D. A. – CITRON, D. M. et al.: Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites. Emergency Medicine Animal Bite Infection Study Group, N Engl J Med., 1999. 340. 85–92. PubMed PMID: 9887159.
2. CHRISTIDOU, A. – MARAK, I S. et al.: Review of *Pasteurella multocida* infections over a twelve-year period in a tertiary care hospital. Am. J. Infect. Dis., 2005. 1. 107–110.
3. MANNINGER, R.: Adatok a baromfikolera elleni aktív immunizálás kérdéséhez. Állatorvosi lapok, 1920. 43. 33–35.

4. SCHNEIDER, L.: Sertés-, baromfi- és nyúlhullákból kitenyésztett *Pasteurella*-törzsek biológiai sajátosságairól „Közlemények” az összehasonlító élet- és kórtan köréből. 1943. 31. 1–10.
5. CSONTOS, J. – DERZSY, D.: *Pasteurella* törzsek immunológiai sajátossága. Állatorvosi Lapok, 1943. 66. 73–78.
6. DERZSY, D.: *Pasteurella* fajok elkülönítése. Magy. Állatorv. Lapja, 1948. 3. 69–71.
7. MURTI, P. S. R. O.: Studies on fowl cholera I. Biochemical investigations of *P. multocida*. Acta Vet. Acad. Sci. Hung., 1971. 21. 313–317.
8. MÉSZÁROS, J. – MURTI, P. S. R. O.: A *Pasteurella* törzsek tulajdonságai. Magy. Állatorv. Lapja, 1971. 93. 560–565.
9. KUCSERA, GY.: A *P. multocida* antigénszerkezete és szerotípusai, Magy. Állatorv. Lapja, 1981. 36. 651–654.
10. FODOR, L. – VARGA, J. – JÁKICS, É.: A *Pasteurella* nemzetség baktériumai, állatorvosi és humánkórtani jelentőségük. Magy. Állatorv. Lapja, 1999. 121. 575–581.
11. CARTER, G. R.: Studies on *P. multocida*. I. A haemagglutination test for the identification of serological types. Am. J. Vet. Res., 1955. 16. 481–484.
12. RIMLER, R. B. – RHOADES, K. R.: Serogroup F, a new capsule serogroup of *P. multocida*. J. Clin. Microbiol., 1987. 25. 615–618.
13. TOWNSEND, K. M. – BOYCE, J. D. et al.: Genetic organization of *P. multocida* cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. J. Clin. Microbiol., 2001. 39. 924–929.
14. RHOADES, K. R. – RIMLER, R. B.: Capsular groups of *P. multocida* isolated from avian hosts. Avian Dis., 1987. 31. 895–898.
15. RHOADES, K. R. – RIMLER, R. B.: Somatic serotypes of *P. multocida* strains isolated from avian hosts (1976–1989). Avian Dis., 1990. 34. 193–195.

16. JONAS, M. – MORISHITA, T. Y. et al.: Characterization of nine *P. multocida* isolates from avian cholera outbreaks in Indonesia. *Avian Dis.*, 2001. 45. 34–42.
17. RIMLER, R. B.: Presumptive identification of *P. multocida* serogroup A, serogroup D and serogroup F by capsule depolymerization with mucopolysaccharides. *Vet. Rec.*, 1994. 134. 191–192.
18. SELLYEI, B. – VARGA, ZS. – IVANICS, E. – MAGYAR, T.: Characterisation and comparison of avian *P. multocida* strains by conventional and ERIC-PCR assays. *Acta Vet. Hung.*, 2008. 54. 429–440.
19. VARGA, ZS. – VOLOKHOV, D. V. – STIPKOVITS, L. – THUMA, Á. – SELLYEI, B. – MAGYAR T.: Characterisation of *P. multocida* strains isolated from geese. *Vet. Microbiol.*, 2013. 63. 149–156.
20. MUTTERS, R. – IHM, P. et al.: Reclassification of the genus *Pasteurella Trevisan* 1887 on the basis of deoxyribonucleic acid homology, with proposals for the new species *Pasteurella dagmatis*, *Pasteurella canis*, *Pasteurella stomatis*, *Pasteurella anatis* and *Pasteurella langaa*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1985. 35. 309–322.
21. BISGAARD, M. –HOUGHTON, S. B. et al.: Reclassification of German, British and Dutch isolates of so-called *P. multocida* obtained from pneumonic calf lungs. *Vet. Microbiol.*, 1991. 26. 115–124.
22. KORBEL, R. – GERLACH, H. et al.: Further investigations on *P. multocida* infections in feral birds injured by cats. *Zentralbl. Veterinarmed. B*, 1992. 39. 10–18.
23. FEGAN, N. – BLACKALL, P. J. et al.: Phenotypic characterisation of *P. multocida* isolates from Australian poultry. *Vet Microbiol.*, 1995. 47. 281–286.
24. BLACKALL, P. J. – PAHOFF, J. L. et al.: Phenotypic characterisation of *P. multocida* isolates from Australian pigs. *Vet. Microbiol.*, 1997. 57. 355–360.

25. GERARDO, S. H. – CITRON, D. M. et al.: *P. multocida ssp. multocida* and *P. multocida ssp. septica* differentiation by PCR fingerprinting and λ -glucosidase activity. *J. Clin. Microbiol.*, 2001. 39. 2558–2564.
26. PETERSEN, K. D. – CHRISTENSEN, J. P. et al.: Genetic diversity of *P. multocida* fowl cholera isolates as demonstrated by ribotyping and 16S rRNA and partial atpD sequence comparisons. *Microbiology*, 2001. 147. 2739–2748.
27. GUNAWARDANA, G. A. – TOWNSEND, K. M. et al.: Molecular characterisation of avian *P. multocida* isolates from Australia and Vietnam by REP-PCR and PFGE. *Vet. Microbiol.*, 2000. 72. 97–109.
28. LEOTTA, G.A. – CHINEN, I. et al.: Outbreaks of avian cholera in Hope Bay, Antarctica. *J. Wildl. Dis.*, 2006a. 42. 259–270.
29. AYE, P. P. – ANGRICK, E. J. et al.: Prevalence and characteristics of *P. multocida* in commercial turkey. *Avian Dis.*, 2001. 45. 182–190.
30. BOWLES, R. E. – PAHOFF, J. L. et al.: Ribotype diversity of porcine *P. multocida* from Australia. *Aust. Vet. J.*, 2000. 78. 630–635.
31. SNIPES, K. P. – HIRSH, D. C. et al.: Homogeneity of characteristics of *P. multocida* isolated from turkeys and wildlife in California, 1985–88. *Avian Dis.*, 1990. 34. 315–320.
32. TOWNSEND, K. M. – O’BOYLE, D. et al.: Acute septicaemic pasteurellosis in Vietnamese pigs. *Vet. Microbiol.*, 1998. 63. 205–215.
33. SNIPES, K. P. – CARPENTER, T. E. et al.: *P. multocida* in wild mammals and birds in California: Prevalence and virulence for turkeys. *Avian Dis.*, 1988. 32. 9–15.
34. HEDDLESTON, K. L. – GALLAGHER, J. E. et al.: Fowl cholera: gel diffusion precipitin test for serotyping *P. multocida* from avian species. *Avian Dis.*, 1972. 4. 925–936.
35. RIMLER, R. B. – RHOADES, K. R.: *P. multocida*. In: Adlam, C., Rutter, J.M. (Eds.), *Pasteurella and Pasteurellosis*. Academic Press, London, 1989. 37–73.

36. MICHAEL, F. S. – VINOGRADOV, E. et al.: Structural analysis of the lipopolysaccharide from *P. multocida* genome strain Pm70 and identification of the putative lipopolysaccharide glycosyltransferases. *Glycobiology*, 2005a. *15*. 323–333.
37. MICHAEL, F. S. – LI, J. – COX, A., D.: Structural analysis of the core oligosaccharide from *P. multocida* strain X73. *Carbohydrate Res.*, 2005b. *340*. 1253–1257.
38. MICHAEL, F. S. – LI, J. et al.: Structural analysis of the lipopolysaccharide of *P. multocida* strain VP161: identification of both Kdo-P and Kdo–Kdo species in the lipopolysaccharide. *Carbohydrate Res.*, 2005c. *340*. 59–68.
39. HARPER, M. – COX, A. et al.: Decoration of *P. multocida* lipopolysaccharide with phosphocholine is important for virulence. *J. Bacteriol.*, 2007a. *189*. 7384–7391.
40. MICHAEL, F. S. – HARPER, M. et al.: Structural and Genetic Basis for the Serological Differentiation of *P. multocida* Heddleston Serotypes 2 and 5. *J. Bacteriol.*, 2009. *191*. 6950–6959.
41. BOYCE, J. D. – HARPER, M. et al.: Identification of novel glycosyltransferases required for assembly of the *P. multocida* A:1 lipopolysaccharide and their involvement in virulence. *Infect. Immun.*, 2009. *77*. 1532–1542.
42. HARPER, M. – COX, A. et al.: *P. multocida* lipopolysaccharide: the long and the short of it. *Vet. Microbiol.*, 2011b. *153*. 109–115.
43. HARPER, M. – MICHAEL, F. S. et al.: Characterization of the lipopolysaccharide from *P. multocida* Heddleston serovar 9; identification of a proposed bi-functional dTDP-3-acetamido-3,6-dideoxy- α -D-glucose biosynthesis enzyme. *Glycobiology*, 2012. *22*. 332–336.
44. ROCKE, T. E. – SMITH, S. R. et al.: A serotype specific polymerase chain reaction for identification of *P. multocida* serotype 1. *Avian Dis.*, 2002. *46*. 370–377.

45. HARPER, M. – MICHAEL, ST. F. et al.: *P. multocida* Heddleston serovars 1 and 14 express different lipopolysaccharide structures but share the same lipopolysaccharide biosynthesis outer core locus. *Vet. Microbiol.*, 2011a. *150*. 289–296.
46. RHOADES, K. R. – RIMLER, R. B. et al.: Fowl cholera epornitic: Antigenic characterization and virulence of selected *P. multocida* isolates. *Avian Dis.*, 1992. *36*. 84–87.
47. HIRSH, D. C. – JESSUP, D. A. et al.: Characteristics of *P. multocida* isolated from waterfowl and associated avian species in California. *J. Wildl. Dis.*, 1990. *26*. 204–209.
48. SAMUEL, M. D. – SHADDUCK, D. J. et al.: Characterisation of *P. multocida* isolates from wetland ecosystems during 1996 to 1999. *J. Wildl. Dis.*, 2003. *39*. 798–807.
49. LEOTTA, G. A. – VIGO, G. B. et al.: Identification, biotypification and characterisation of *P. multocida* strains isolated in Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.*, 2006. *38*. 125–129.
50. MARIANA, S. – HIRST, R.: The immunogenicity and pathogenicity of *P. multocida* isolated from poultry in Indonesia. *Vet. Microbiol.*, 2000. *72*. 27–36.
51. SHIVACHANDRA, S. B. – KUMAR, A. A. et al.: Identification of avian strains of *P. multocida* in India by conventional and PCR assays. *Vet. J.*, 2006. *172*. 561–564.
52. SHIVACHANDRA, S. B. – KUMAR, A. A. et al.: Molecular characterisation of avian strains of *P. multocida* serogroup-A:1 based on amplification of repetitive regions by PCR. *Comp. Immun. Microbiol. & Infect. Dis.*, 2008. *31*. 47–62.
53. SAWADA, T. – BORRATHYBAY, E. et al.: Fowl cholera in Japan: disease occurrence and characteristics of *P. multocida* isolates. *Bulletin of Nippon Veterinary and Animal Science University*, 1999. 21–31.
54. WOO, Y. K. – KIM, J. H.: Fowl cholera outbreak in domestic poultry and epidemiological properties of *P. multocida* isolates. *J. Microbiol.*, 2006. *44*. 344–353.
55. BLACKALL, P. J. – FEGAN, N. et al.: A study of the use of multilocus enzyme electrophoresis as a typing tool in fowl cholera outbreaks. *Avian Path.*, 1999. *28*. 195–198.

56. IRELAND, L. A. – MILNER, A. R. et al.: Serotyping of isolates of *P. multocida* from chickens. *Aust.Vet. J.*, 1989. 66. 119–120.
57. DOUGHTY, S. W. – RUFFOLO, C. G. et al.: The type 4 fimbrial subunit gene of *P. multocida*. *Vet. Microbiol.*, 2000. 72. 79–90.
58. DAVIES, R. L. – MACCORQUODALE, R. et al.: Characterisation of bovine strains of *P. multocida* and comparison with isolates of avian, ovine and porcine origin. *Vet. Microbiol.*, 2004a. 99. 145–158.
59. KUCZKOWSKI, M. – KROL, J. et al.: Prevalence of fowl cholera in poultry and characteristics of isolated *Pasteurella* sp. strains. *Medycina Weterynaryjna*, 2006. 62. 574–578.
60. MUHAIRWA, A. P. – CHRISTENSEN, J. P. et al.: Investigations on the carrier rate of *P. multocida* in healthy commercial poultry flocks and flocks affected by fowl cholera. *Avian Path.*, 2000. 29. 133–142.
61. MUHAIRWA, A. P. – CHRISTENSEN, J. P. et al.: Relationship among *Pasteurellaceae* isolated from free ranging chickens and their animal contacts as determined by quantitative phenotyping, ribotyping and REA-typing. *Vet. Microbiol.*, 2001. 78. 119–137.
62. PEDERSEN, K. – DIETZ, H. H. et al.: *P. multocida* from outbreaks of avian cholera in wild and captive birds in Denmark. *J. Wildlife Dis.*, 2003. 39. 808–816.
63. CHRISTENSEN, J. P. – DIETZ, H. H. – BISGAARD, M.: Phenotypic and genotypic characters of isolates of *P. multocida* obtained from back-yard poultry and from two outbreaks of avian cholera in avifauna in Denmark. *Avian Path.*, 1998. 27. 373–381.
64. AMONSIN, A. – WELLEHAN, F. X. et al.: DNA fingerprinting of *P. multocida* recovered from avian sources. *J. Clin. Microbiol.*, 2002. 40. 3025–3031.
65. SAXENA, M. K. – SING, V. P. et al.: Rep-PCR analysis of *P. multocida* isolates from wild and domestic animals in India. *Vet. Res. Commun.*, 2006. 30. 851–861.

66. RIMLER, R. B. – GLISSON, J. R.: Fowl cholera In: Diseases of poultry Edited: Chalnek, B. W., Barnes, H. J., Beard, C. W., Mc Douglas, L. R., Saif, J. M. 10th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1997. 143–159.
67. HATFALUDI, T. – AL-HASANI, K. et al.: Outer membrane proteins of *P. multocida*. Vet Microbiol., 2010. *144*. 1–17.
68. DAVIES, R. L. – MCCORQUODALE, R. – Reilly, S.: Diversity of avian *P. multocida* strains based on capsular PCR typing and variation of the OmpA and OmpH outer membrane proteins. Vet. Microbiol., 2003. *91*. 169–182.
69. DAVIES, R. L.: Genetic diversity among *P. multocida* strains of avian, bovine, ovine and porcine origin from England and Wales by comparative sequence analysis of the 16S rRNA gene. Microbiology, 2004b. *150*. 4199–4210.
70. WHEELER, R.: Outer membrane proteomics of *P. multocida* isolates to identify putative host-specificity determinants Bioscience Horizons, 2009. *2*. 1–12.
71. ANTONY, P. X. – NAIR, G. K. et al.: Nucleic acid based differentiation of *P. multocida* serotypes, Internet J. Vet. Med., 2007. *2*. (2). DOI: 10.5580/13c6.
72. SELLYEI, B. – IVANICS, É. – MAGYAR, T.: Characterisation of avian *P. multocida* strains with PCR-RFLP analysis of the *ompH* gene. Acta Vet. Hung., 2013. *61*. 1–8.

A baromfikolera oktana II.

A kórokozó molekuláris biológiai módszerekkel történő jellemzése és a gazdafajok fogékonysága

Az ezredforduló tájkán más baktériumokhoz képest kissé megkésve, de megindultak a genetikai szintű *Pasteurella multocida* kutatások is. A heterogén *P. multocida* fajon belül számos elkülönítő eljárást vezettek be. A nemzetközi gyakorlatban a Townsend által kidolgozott fajazonosságot bizonyító PCR eljárás terjedt el (73). A különböző restrikciós enzimekkel hasított DNS szekvenciájától függően eltérő számú és nagyságú fragmentet ad (REA), *P. multocida* esetén a HpaII és HhaI enzim által hasított kép bizonyult legalkalmasabbnak a járványtani nyomozásokhoz (74). Érzékenysége hibridizációval fokozható (75). Ritkán hasító enzim (ApaI) használatával nagyméretű fragmentek keletkeznek, amelyek változó erőterű gélelektroforézissel (PFGE) jól megkülönböztethető mintázatot mutatnak (27, 76). Ribotipizálással az enzimmel hasított fragmentekhez hibridizációval a 16S vagy 23S rRNS szekvenciájával homológ fragmenteket mutatják ki (61, 77). Az eltérő enzimek és az egyes laboratóriumokban tervezett eltérő próba szekvenciák miatt ez a módszer sem ad lehetőséget az izolátumok széleskörű összehasonlítására.

A genetikai elemek közül az ismétlődő repetitív elemek kimutatására szolgáló, de eltérő primereket alkalmazó PCR alapú elkülönítő eljárások (REP, ERIC, BOX) használhatósága túlzott diszkriminációs szintjük miatt további vizsgálatot igényel, valószínűleg elsősorban járványtani vizsgálatokra alkalmasak (64, 65). Ráadásul a különböző eljárások azonos törzseken végzett eredményeinek összehasonlításakor nem sikerült összefüggést megállapítani a genetikai profilok között, amelyet részben megmagyaráz, hogy az egyes módszerek eltérő genetikai régiókat céloznak meg, és elég változatos mintavétel elfedheti a klónok jelenlétét

(52). Ugyanakkor Blackall (55) vizsgálatai ausztrál madaraktól izolált *P. multocida* törzsek esetén klón populáció létezését mutatták ki. A REA-val kapott fragmentek repetitív elemeinek PCR alapú felsokszorozásával (AFLP) még differenciáltabb elkülönítésre van lehetőség (78). Az alapvető életműködésben szerepet játszó un. háztartási gének összehasonlítása alapján kialakított enzimhasításon (MLEE) (79), ill. szekvenáláson (MLST) alapuló elemzések még csak kevés törzsről szolgáltatottak információt, de az adatok a standard módszer miatt összevethetők. Külön rendszer került kidolgozásra az emlős és a madár *P. multocida* törzsek MLST jellemzésére (69, 80, <http://pubmlst.org/pmultocida>).

Ugyancsak vizsgálatok folynak a törzsek virulenciájában bizonyítottan v. feltételezhetően szerepet játszó gének jelenléte v. alléltípusának meghatározására, ill. ezek segítségével kívánunk közelebb jutni a virulencia megértéséhez. Eddig elsősorban az emlős eredetű törzsek esetén sikerült ilyen összefüggéseket felfedezni és határoztak meg „virulenciáért felelős” géneket (81, 82, 83, 84, 85, 86, 87). Kimutatásukra multiplex PCR rendszereket állítottak össze (88, 89). Antibiotikum jelenlétében vizsgálva csaknem 100 virulenciával kapcsolatba hozott gén kifejeződésében különbség mutatkozott elsősorban a burok felépítésében és a burokkomponensek transzportjában, a lipopoliszaharidok szintézisében, a kompetenciában, a tapadásban és a vas szállításában szereplő gének kifejeződésében. Ez a hatás többnyire negatív volt, de például a tapadásban jelentős szerepet játszó *tad* gén esetén kifejezett pozitív hatás mutatkozott (90). Bizonyított, hogy a torzító orrgyulladás kialakításában döntő szerepe van az egyes *P. multocida* törzsek által hordozott *toxA* génnek és az általa termelt toxinnak (91). Ennek a toxingénnek a mutációja a virulencia csökkenését okozza (92). A DNS adeninmetiláz enzimet szabályzó *dam* gén kikapcsolása szintén a virulencia csökkenését okozta (93).

A külső burok felépítésében szerepet játszó gének változásáról bizonyították a következetes patogenitásbeli változást, így a *fis* gén esetén, amely további 30, köztük virulencia gének

kifejeződését is negatívan befolyásolja (94). Más gének a baktérium gazdasejthez kötődésében játszhatnak szerepet (95), tapadó nyúlványt, pilust vagy fimbríát (Flp1, TadD, FimA, PtfA) képeznek (96, 97), vagy éppenséggel lehetővé teszik a gazdaszervezet invázióját (pmHAS, fhaB1, fhaB2) (98). Segítik a baktérium hatékonyabb működését a nélkülözhetetlen enzimek (waaQPM) (99) és az elemi formában toxikus fémek, a cink (ZnuABC), a vas megszerzésében (Fur, AhpA, MesA) (100), szállításában (TbpA, TbpB, HgbA, HgbB, HbpA) (101, 102), a membránokon történő átjutásban (TonB, ExbB, ExbD) (103).

Kulcsfontosságúak a külső membránfehérjék – és így az itt szerepet kapó gének – mind a baktérium támadó és védekező funkciójában, mind pedig a baktérium anyagcseréjében, eltérő voltak döntő hatással lehet a baktérium virulenciájára (OmpA, OmpH, Omp28, Oma87, PlbB) (104, 105, 106, 107). A legtöbb *P. multocida*-ban megtalálható szialidáz enzimek a baktérium életében igen fontos szerepet játszanak, termelésük sejten belül és extracellulárisan is történhet, tápanyagforrás voltak mellett (pm0508, pm0188) (108) szerepük van a baktérium mimikriájában, ill. a megtámadott nyálkahártya felület oldásában (NanB, NanH) (109). A szialsav felvételét szabályzó nanPU gének deléciója az A:3 *P. multocida* törzs virulenciájának nagymértékű csökkenéséhez vezetett (110).

Az eltérő mechanizmusok még nem minden *P. multocida* típusban ismertek, talán épp a leghatékonyabbak, hisz a legvirulensebb VP161 típusú törzsekről csak azt tudjuk, hogy nem az ismert rendszerek működnek bennük (109). Az emlősállatokból származó *P. multocida* törzseknél jelzőértékű virulenciagének vizsgálatával a Magyarországon legvirulensebb un. L-arabinózbontó, madaraktól izolált törzsek esetén nem sikerült összefüggést kimutatni a vizsgált virulenciagének jelenléte és a kórokozó képesség között, a „virulenciáért felelős gént” megtalálni (19), további kutatásokra és gének vizsgálatára van szükség. Ugyanakkor a megoldás kulcsa valószínűleg nem mindig a gének jelenléte, hanem inkább az allélok típusa lehet. A ptfA gén esetén a magyar L-arabinózbontó törzsekből ugyanaz az allél mutatható ki,

amelyet az erősen virulens VP161 típusú törzseknél írtak le, s amelynek kimutatására differenciáló PCR is rendelkezésre áll (19, 111). A szialidáz anyagcserében szerepet játszó nanH gén hiányát mutató PCR-ek valóságtartalma megkérdőjelezhető, mert a madarakból származó L-arabinózbontó törzsek esetén nem az adott gén hiányáról, hanem a használt primerek kötődési helyén található mutációról és következményes negatív eredményről van szó. További érdekesség, hogy pont az egyetlen pasteurellózisként diagnosztizált libából származó L-arabinózbontó izolátumnál fenti gén csonkolódott formája található, a gén megközelítőleg 700 bp-os végső szakasza hiányzik, genetikailag is alátámasztva az izolátum eltérő voltát (19). A virulenciával kapcsolatos összefüggések ellenére valószínűleg nem ismerjük még ezen izolátumok titkát, a nagyfokú virulencia tényleges okát, s talán nem is egy gén jelenléte vagy hiánya okozza azt.

A hatékonyabb, gyorsabb és olcsóbb „következő generációs szekvenálási technológiák” (112) kifejlesztése miatt egyszerűsödött a teljes genom bázissorrendjének megismerése is, amely *P. multocida* esetén megközelítőleg 2,35 millió bázispárt jelent (113). A Pm70 A:3 szerotípusú törzs 2001-ben történt szekvenálása után (114) az új módszerrel elmúlt évben további 5, borjúból (115), csirkéből és kecskéből (116) ill. sertésből származó 2 törzs (117, *P. multocida* 3480 strain (Gillaspy) AN: CP001409), idén pedig 2 madár eredetű referens törzs, az A:1 szerotípusú X-73 és az A:3 szerotípusú P1059 (118) teljes bázissorrendje vált ismertté.

Madarakban több mint 180 faj esetén írtak le természetes *P. multocida* fertőzöttséget, közülük számos fajban képes megbetegedést is előidézni, ill. potenciónalisán nem zárható ki egyetlen faj fogékonysága sem (119). A fertőzés terjesztésében döntő szerepük van a betegséget átvészelt baktériumhordozó egyedeknek, de közvetítők lehetnek a környezetben élő fertőzött vadmadarak, rágcsálók, macskák, s azonos udvarban élő sertéstől is igazolták már a baromfiállomány fertőződését, és megfordítva, madárból izolált *P. multocida* törzsek esetén is feltételezik, hogy patogének lehetnek emlősökre (32). Dániában a háztáji baromfiállományban

talált baromfikolerás esetek 80%-a nyitott telepen jelentkezett, ahol a madaraknak lehetőségük volt vadmadarakkal és más, a ház körül előforduló egyéb állatokkal találkozni (74). A szakirodalom szerint idült megbetegedések a heveny folyamatok lezajlása után túlélő egyedekben, ill. jó ellenálló képességű állományokban alakulnak ki, ahol a tünetmentesen fertőzött madarak sokáig fertőzés forrásai lehetnek. Úgy vélik, hogy korábban kolerás megbetegedést nem mutató állományban is fellelhetők a baktériumhordozó állatok, amelyek képesek a betegség kirobbantására. Mai napig elfogadott szakmai álláspont, hogy a kevésbé patogén törzsek „felpasszálódással” képesek virulenssé alakulni (74). A törzsek nagyfokú fenó- és genotípusos változatossága ellenére kevés ismerettel rendelkezünk azok megbetegítő képességéről, a betegség patomechanizmusáról, nem ismertek azok a hagyományos tenyésztési vagy molekuláris biológiai módszerek, amelyek alapján a heveny baromfikolerát okozó törzseket elkülöníthetnénk kevésbé virulens fajtársaiktól. Ez ideig nem sikerült egyedi virulenciafaktort elkülöníteni, amely kizárólagos kapcsolatba hozható a törzsek virulencia-különbségével. A virulenciát befolyásoló lehetséges faktorok is változatosak: tapadóképeség, burok felépítés, endotoxin, hőshock fehérjék, vasfelhasználás anyagcsere rendszere, neuraminidáz és más termelt enzimek, stb. A baromfikolera enyhébb formáinak diagnosztizálásakor ma is gondot jelent az izolált *P. multocida* törzs kórokozó szerepének bizonyítása. Ezért a diagnosztikai intézetek sok esetben egéroltással vizsgálják e törzsek patogenitását (74).

Az állatfertőzési kísérletek során az izolált törzs gazdafaján, ill. modellállaton vizsgálható az adott izolátum kórokozó képessége. Széleskörben használt modellállat az egér (120, 121), amely Magyarországon is használatos. Amennyiben bizonytalanság merül fel a kitenyésztett *P. multocida* izolátum oktani szerepét illetően, két kifejtett egyed hasüregébe fecskendezve a kérdéses baktériumtenyészetet 24 órán belüli elhullás esetén kap „patogén” minősítést a baktérium és baromfikolera diagnózist az általa kiváltott tünetegyüttes. Az egereken mutatott

patogenitás csak tájékoztató jellegű, mert a madarak, és azon belül is az egyes madárfajok valamint azok egyedei eltérő fogékonysággal rendelkezhetnek (33, 122, 123, 124, 125).

Az antimikróbás kezelés elsősorban a betegség heveny tüneteit mutató állományok esetén nélkülözhetetlen a sokszor igen jelentős elhullás és veszteség csökkentésére. Számos esetben antibiotikum-kezelés mellett történik a baromfikolerában megbetegedett állomány immunizálása is. A diagnosztikai intézetek a kórokozó kitenyésztése után 24 órával képesek megadni az állományból kitenyésztett *P. multocida* törzs antibiotikum érzékenységi mintázatát, amelyet elsősorban a Magyarországon forgalomban és használatban levő készítmények alapján állítanak össze. Az antibakteriális szerek hatékonysága egy idő után csökken (126). A szulfonamid-trimetoprim kombináció szulfonamid rezisztens *P. multocida* fertőzés esetén is hatékonynak bizonyulhat (127). A célzott kezelés fontosságát támasztja alá az a tény is, hogy a gyakoribb antibiotikum használat következtében fokozódó rezisztencia figyelhető meg az izolátumok között (128). Napjainkban a *P. multocida* törzsek többsége legfeljebb mérsékelt antibiotikum rezisztenciát mutat (129). Multirezisztenciát elsősorban sertés és szarvasmarha eredetű törzsek esetén mutattak ki főként a nagyüzemben tartott állatok esetén az ott rendszeresen alkalmazott antibiotikum kezelések folytán (130). A rezisztencia okaként rezisztens mutánsok szelekcióján túlmenően plazmidok hordozta rezisztenciagének baktériumba jutása, multirezisztencia esetén akár több különböző plazmid párhuzamos jelenléte volt detektálható (130). Legújabbban első alkalommal mutattak ki *P. multocidában* kromoszómába beépült többszörös rezisztenciát hordozó elemet (115, 131). Az antibiotikumok közül a mindennapos gyógykezelési gyakorlatban használható készítmények iránt a hazai baromfi eredetű törzsek a nemzetközi irodalomban is tapasztalható érzékenységet, ill. mérsékelt rezisztenciát mutattak. A szulfonamid, a tetraciklin, az első generációs kinolonszármazékok és az aminoglikozidok iránt rezisztencia jelentkezett, kontraindikálttá téve ezek gyakorlati alkalmazását (129).

Miután a baromfikolera a fertőzött embriók elpusztulása következtében tojás útján nem terjed, és a kórokozó a külvilágban csupán limitált ideig képes fennmaradni (66, 132), nagyüzemi tartási körülmények között izolált tartás és a fertőzés behurcolásának megakadályozásával jó lehetőség adódik a védekezésre. Ezt ismerte fel Magyarországon Szécsényi István, aki már 1963-ban baromfikolera mentesítési kísérletei során követelményként határozta meg a madárállományok egész községekre kiterjedő teljes cseréjét, amelynek magában kellett foglalnia az elrejtett madarakat és valamennyi kedvenc és hobbyból tartott madarat is (133). A részben még ma is elfogadott nézetekkel szemben, amely szerint hajlamosító tényezők esetén alacsony virulenciájú törzsek felpasszálódásával is kialakulhat a baromfikolera (74), járványtani megfigyelései alapján Szécsényi azt állította, hogy heveny baromfikolera csak olyan állományban alakulhat ki, ahová a betegség kórokozóját behurcolták, ill. amelyben korábban már előfordult heveny baromfikolera (132). Ezt ő egy bizonyos nagy virulenciájú „kolera klón” jelenlétéhez kötötte és korát messze megelőzve felismerte és hangsúlyozta a „kolera klón” megkülönböztetésének fontosságát és elkülönítését a többi, kevésbé virulens *P. multocida* törzstől (134). Ezeknek az erősen patogén *P. multocida* törzseknek az egyértelmű azonosítása még ma, a korszerű genetikai differenciálás lehetőségének birtokában is megoldatlan és nem ismerjük azt a módszert, amellyel a virulens törzs elkülöníthetővé válik. Szécsényi kitartó és következetes küzdelme a szigorú járványtani rendszabályok bevezetésére, baromfikolera-mentes állományok telepítése és a zárt tartási technológia azt eredményezte, hogy Magyarországon a nagyüzemi csirke- és pulykaállományokban a kolerás megbetegedések gyakorlatilag megszűntek. Az MTA-MÉM Állatorvostudományi Bizottságának állásfoglalása 1989-ben (135) feleslegesnek minősítette a zárttartású állományok baromfikolera elleni vakcinázását és a rövid ideig tartandó nyílt tartású állományok esetén is inkább a kisebb, egymástól jól elkülönített csoportok kialakítását és a járványvédelmi szabályok szigorú betartását javasolta. Háztáji gazdaságokban a

baromfikolera főként olyan állatokban fordul elő, ahol több állatfajt tartanak közös udvarban s az eltérő korú és fajú egyedek között többnyire új állat érkezése után lángol fel a betegség (136). Nagyüzemi keretek közt a vízibaromfi-állományokat az állatokat félzárt rendszerben tartják és napközben szabad kijárásuk van a szabadban található kifutóra, ill. gyakran szabad vízfelület is rendelkezésükre áll. A vándormadarak kapcsolatba kerülhetnek a szabad vagy félzárt tartású madárállományokkal, annál is inkább, mert a ludak számára biztosított szabad vízfelületek vonzerővel bírnak a vadmadarak számára is. Itt a víz közvetítő szerepén túlmenően a vadmadarak is fertőzési forrást jelentenek (137, 138, 139). Újabban – elsősorban a madárinfluenza fertőzés elleni védekezés miatt – a kifutók hálós borításával az esetek többségében megakadályozzák a közvetlen kontaktust a vadmadarak és a baromfiállomány között, ezzel is tovább csökkentve a fertőzés lehetőségét. A világszerte vadmadarakban is megtalálható baktérium azonban természetesen tartás esetén mindenkor fenntartja a baromfiállományok baromfikolera fertőződésének veszélyét, ráadásul a természetes tartás ismételt térnyerése várható az állatjóléti előírások szigorodása és a vásárlói igények módosulása miatt, amely árutermelő baromfiállományok esetén is minél természetesebb körülmények biztosítását tartja kívánatosnak (pl. a szabadtartású „kapirgáló csirke”).

A madárfajok fogékonyságát vizsgálva Szécsényi fertőzési kísérletei a fajok eltérő fogékonyságát és a keresztfertőzések lehetőségét bizonyította. A verebek, a galambok és a foglyok 24 órán belül elpusztultak a virulens törzssel történt fertőzéskor, s így nem lehetnek a fertőzés rezervoárai, csupán a rövid fertőzöttségi időszakban, ill. tetemeikkel terjeszthetik a fertőzést. Ugyanakkor a varjak a fertőzés után a házibaromfihoz hasonlóan csak részben pusztultak el, s mint ilyenek a fertőzés tartós terjesztőivé válhatnak. Későbbi vizsgálatai során fácánok virulens törzssel történt fertőzés utáni túlélését és következményes hordozó státuszának lehetőségét is bizonyította. Szécsényi 2 sertésből és 1 borjúból izolált *Pasteurella* törzssel is típusos baromfikolerát idézett elő, bár fertőzési kísérleteiben az emlősökből

származó izolátumok többsége (5 db. szarvasmarha, 12 db. juh, 27 db. sertés és 9 db. nyúl) baromfiban apatogénnek bizonyult (124).

Miután az A:1 szerotípus és köztük a *gallicida* alfajú törzsek rendszeresen izolálhatók vadmadarak között kitört súlyos baromfikolera járványokból (27, 28, 38), így valószínűleg a baromfiállományok között sem számolható fel teljesen a betegség, nyílt tartás esetén mindig számítani kell a visszafertőződésre (63).

A vadmadarak között jelentkező baromfikolera járványok tekintetében 2 nézet állt szemben egymással a fertőzés forrását illetően, a baktérium túlélése a környezetben a járványok közti időszakban, és a fertőzöttséget tünetmentesen hordozó állatok. A *P. multocida* viszonylag érzékeny a környezeti hatásokra, napsugárzás, kiszáradás, fertőtlenítőszerrel egyaránt könnyen elpusztítják (140). A hőmérséklet változásai iránt érzékeny, 60 °C-on 10 perc alatt elpusztul (66). Ugyanakkor Nobrega (141) azt tapasztalta, hogy lezárt csövekben tárolt levestenyészetben 17,6 °C-on 2 év után is talált virulens baktériumokat, míg 2-4 °C-on tárolva 1 év eltelté után nem találtak élő mikroorganizmust. A környezeti hatásokat tanulmányozva Bredy (142) azt találta, hogy a vízben oldódó fehérjék koncentrációja, a konyhasó koncentráció és a hőmérséklet változása nagyban befolyásolta a *P. multocida* túlélését, míg az agyag és a cukor mennyiségének változtatása kevésbé hatott rá. A baktérium természetes túlélését vizsgálva Blanchong (143) azt találta, hogy 7 hét elteltével a súlyos baromfikolera járványok kitörését követően sem sikerült sem a vizes élőhelyek vizéből, sem az ott található üledékből visszaizolálni a baktériumot, alátámasztva ezzel Botzler (144) következtetéseit, hogy a sokszor robbanásszerű járványkitörések háttérében sokkal inkább tünetmentes hordozóállatok, mint a környezetben való túlélés állhat.

Szécsényi erőfeszítése a járványtani vizsgálatok alapján feltételezett „kolera klón” elkülönítésére sikertelen volt, mert az agglutinációs vizsgálataival kapott eredmények nem korreláltak sem az állatok fertőzöttségével, sem az izolátumok pathogenitásával (134).

Szécsényi és az őt követő kollégák erőfeszítésének következtében – bár jelenleg a legkorszerűbb molekuláris biológiai módszerek alkalmazása mellett sem áll rendelkezésre egyetlen azonosító eljárás – egyértelműen meghatározható tulajdonságokkal és sajátosságokkal jellemezhető az a törzstípus, amelyek megléte esetén nagy valószínűséggel feltételezhető az oktani összefüggés a baromfikolera és a kórképből izolált *P. multocida* törzs között. A:1 szerotípus, L-arabinóz bontás és feltehetően *gallicida* alfaj jellemzi őket s a törzsek azonos omp mintázatot mutatnak. A ptfA gén ugyanazon alléltípusával rendelkeznek, mint az erősen virulens un. VP161 típusú törzsek. Ez a törzstípus több évtizede megtalálható Magyarországon, mert a fellelhető legkorábbi, 20-25 éves izolátumok között is előfordul (19), s a korábbi vizsgálatok tanúsága szerint valószínűleg ugyanez az arabinózbontó törzstípus volt felelős a korábbi évtizedek heveny kolerajárványaiért (4, 5, 6, 7). Ugyanakkor további vizsgálatokra van szükség annak kiderítésére, hogy az irodalmi adatok alapján a Föld távoli pontjain perakut járványokból izolált hasonló tulajdonságú erősen virulens *P. multocida ssp gallicida* törzsek milyen rokonsági fokot mutatnak egymással, ill. a Magyarországon meghatározott törzstípussal. Bár izolátumok nem maradtak fenn, „kolera klónjának” jellemzői és a tünetek alapján joggal feltételezhetjük, hogy Szécsényi István már 50 évvel ezelőtt ezt az erősen virulens törzstípust próbálta elkülöníteni (134). Jelen közlemény egyúttal tisztelgés SZÉCSÉNYI ISTVÁN a hazai baromfikolera kutatásban betöltött úttörő munkássága előtt.

Irodalom:

73. TOWNSEND, K. M. – FROST, A. J. et al.: Development of PCR assays for species- and type-specific identification of *Pasteurella multocida* isolates. J. Clin. Microbiol., 1998a. 36. 1096–1100.
74. CHRISTENSEN, J. P. – BISGAARD, M.: Fowl cholera. Revue scientifique et technique de l'office international des epizooties. 2000. 19. 626–637.

75. DZIVA, F. – MUHAIRWA, A. P. et al.: Diagnostic and typing options for investigating diseases associated with *P. multocida*. *Vet. Microbiol.*, 2008. *128*. 1–22.
76. KARDOS, G. – TURCSÁNYI, I. – BISTYÁK, A. – NAGY, J. – KISS, I.: DNA fingerprinting analysis of breakthrough outbreaks in vaccine-protected poultry stocks. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007. *14*. 1649–1651.
77. DZIVA, F. – CHRISTENSEN, H. et al.: Differentiation of *P. multocida* isolates from cases of atrophic rhinitis in pigs from Zimbabwe by RAPD and ribotyping. *Vet. Microbiol.*, 2004. *102*. 117–122.
78. BLEHERT, D.S. – JEFFERSON, K. L. et al.: Using amplified fragment length polymorphism analysis to differentiate isolates of *P. multocida* serotype 1. *J. Wildl. Dis.*, 2008. *44*. 209–225.
79. BLACKALL, P. J. – FEGAN, N. et al.: Population structure and diversity of avian isolates of *P. multocida* from Australia. *Microbiology*, 1998. *144*. 279–289.
80. SUBAAHARAN, S. – BLACKALL, L. L. et al.: Development of a multi-locus sequence typing scheme for avian isolates of *P. multocida* *Vet. Microbiol.*, 2010. *141*. 354–361.
81. BETHE, A. – LOTHAR, H. et al.: Genetic diversity of porcine *P. multocida* strains from the respiratory tract of healthy and diseased swine. *Vet. Microbiol.*, 2009. *139*. 97–105.
82. EWERS, C. – LÜBKE-BECKER, A. et al.: Virulence genotype of *P. multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. *Vet. Microbiol.*, 2006. *114*. 304–317.
83. FERREIRA T. S. P – FELIZARDO, M. R. et al.: Virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *P. multocida* strains isolated from rabbits in Brazil. *The ScientificWorld J.*, 2012. 6 pages, doi:10.1100/2012/685028.
84. GARCIA, N. – FERNANDEZ-GARAYZABAL, J. F. et al.: Associations between biovar and virulence factor genes in *P. multocida* isolates from pigs in Spain. *Vet. Record*, 2009. *169*. doi:10.1136/vr.d4869.

85. SILVA, G. F. R. – BRANDAO, L. N. S. et al.: Characterisation using multilocus sequence typing and virulence factors of *P. multocida* from pigs with pneumonia in States of Mato Grosso and Mato Grosso do Sul – Brasil. *Vet. Sci. Res.*, 2012. 3. 55–59.
86. TANG, X. – ZHAO, Z. et al.: Isolation, antimicrobial resistance and virulence genes of *P. multocida* strains from swine in China. *J. Clin. Microbiol.*, 2009. 47. 951–958.
87. VERMA, S. – SHARMA, M. et al.: Profiling of virulence associated genes of *P. multocida* isolated from cattle. *Vet. Res. Commun.*, 2012. DOI 10.1007/s11259–012-9539-5.
88. ATASHPAZ, S. – SHAYEGH, J. – HEJAZI, M. S.: Rapid virulence typing of *P. multocida* by multiplex PCR. *Res. Vet. Sci.*, 2009. 87. 355–357.
89. SHAYEGH, J. – SHARAF, J. D. et al.: Pheno- and genotyping of *P. multocida* isolated from goat in Iran. *African J. Biotech.*, 2009. 8. 3707–3710.
90. MELNIKOW, E. – SCHOENFELD, C. et al.: A compendium of antibiotic induced transcription profiles reveals broad regulation of *P. multocida* virulence genes. *Vet. Microbiol.*, 2008. 131. 277–292.
91. LAX, A. J. – CHANTER, N. et al.: Sequence analysis of the potent mitogenic toxin of *P. multocida*. *FEBS Letters*, 1990. 277. 59–64.
92. KIM, T. – SON, C. – et al.: Vaccine potential of an attenuated *P. multocida* that expresses only the N-terminal truncated fragment of *P. multocida* toxin in pigs. *Can. J. Vet. Res.*, 2012. 76. 69–71.
93. CHEN, L. – PAULSEN, D. B. et al.: Alteration of DNA adenine methylase (Dam) activity in *P. multocida* causes increased spontaneous mutation frequency and attenuation in mice. *Microbiology*, 2003. 149. 2283–2290.
94. STEEN, J. A. – STEEN, J. A. et al.: Fis is essential for capsule production in *P. multocida* and regulates expression of other important virulence factors. *PLoS Pathogens*, 2010. 6. Issue 2, e1000750.

95. HARPER, M. – COX, A. et al.: A heptosyltransferase mutant of *P. multocida* produces a truncated lipopolysaccharide structure and is attenuated in virulence. *Infect. Immun.*, 2004. 72. 3436–3443.
96. FULLER, T. E. – KENNEDY, M. J. et al.: Identification of *P. multocida* virulence genes in a septicemic mouse model using signature-tagged mutagenesis. *Microb. Pathog.*, 2000. 29. 25–38.
97. SIJU, J. – KUMAR, A. A. et al.: Cloning and characterization of type 4 fimbrial gene (ptfA) of *P. multocida* serogroup B:2 (strain P52). *Vet. Res. Commun.*, 2007. 31. 397–404.
98. TATUM, F. M. – YERSIN, A. G. et al.: Construction and virulence of a *P. multocida* fhaB2 mutant in turkeys. *Microb. Pathog.*, 2005. 39. 9–17.
99. HARPER, M. – BOYCE, J. D. et al.: *P. multocida* expresses two lipopolysaccharide glycoforms simultaneously, but only a single form is required for virulence: identification of two acceptor-specific heptosyl transferases. *Infect. Immun.*, 2007b. 75. 3885–3893.
100. GARRIDO, M. E. – BOSCH, M. et al.: The high-affinity zinc-uptake system znuABC is under control of the ironuptake regulator (fur) gene in the animal pathogen *P. multocida*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2003. 221. 31–37.
101. COX, A. J. – HUNT, M. L. et al.: Functional characterization of HgbB, a new hemoglobin binding protein of *P. multocida*. *Microb. Pathog.*, 2003. 34. 287–296.
102. OGUNNARIWO, J. A. – SCHRYVERS, A. B.: Characterization of a novel transferrin receptor in bovine strains of *P. multocida*. *J. Bacteriol.*, 2001. 183. 890–896.
103. BOSCH, M. – GARRIDO, M. E. et al.: Characterization of the *P. multocida* hgbA gene encoding a hemoglobin-binding protein. *Infect. Immun.*, 2002. 70. 5955–5964.
104. ALI, H. A. – SAWADA, T. et al.: Protectivity of an immunoaffinity-purified 39kDa capsular protein of avian *P. multocida* in mice. *J. Vet. Med. Sci.*, 2004. 66. 1603–1604.

105. DABO, S. M. – CONFER, R. A. et al.: Molecular and immunological characterization of Pm serotype A:3 OmpA in *P. multocida*: evidence of its interaction with extracellular matrix molecules. *Microbial. Pathog.*, 2003. 35. 147–157.
106. LUO, Y. – ZENG, Q. et al.: Sequence analysis of *P. multocida* major outer membrane protein (OmpH) and application of synthetic peptides in vaccination of chickens against homologous strain challenge. *Vaccine*, 1999. 17. 821–831.
107. RUFFOLO, C. G. – ADLER, B.: Cloning, sequencing, expression and protective capacity of the oma87 gene encoding the *P. multocida* 87-kilodalton outer membrane antigen. *Infect. Immun.*, 1996. 64. 3161–3167.
108. YU, H. – CHOKHAWALA, H. et al.: A multifunctional *P. multocida* sialyltransferase: a powerful tool for the synthesis of sialoside libraries. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005. 127. 17618–17619.
109. MIZAN, S., – HENK, A. et al.: Cloning and Characterization of Sialidases with 2-6' and 2-3' Sialyl Lactose Specificity from *P. multocida*. *J. Bacteriol.*, 2000. 182. 6874–6883.
110. TATUM, F. M. – TABATABAI, L. B. et al.: Sialic acid uptake is necessary for virulence of *P. multocida* in turkeys. *Microb. Pathog.*, 2009. 46. 337–344.
111. SELLYEI, B. – BÁNYAI, K. – MAGYAR, T.: Characterization of the ptfA gene of avian *P. multocida* strains by allele-specific polymerase chain reaction. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2010. 22. 607–610.
112. MIHÁLY, ZS. – GYÖRFFY, B.: Következő generációs szekvenálási technológiák kifejlődése és alkalmazásai. *Orvosi Hetilap*, 2011. 152. 55–62.
113. HUNT, M. L. – RUFFOLO, C. G. et al.: Physical and genetic map of the *Pasteurella* A:1 chromosome. *J. Bacteriology*, 1998. 180. 6054–6058.
114. MAY, B. J. – ZHANG, Q. et al.: Complete genomic sequence of *P. multocida*, Pm70. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001. 98. 3460–3465.

115. MICHAEL, G. B. – KADLEC, K. et al.: ICEP mu1, an integrative conjugative element (ICE) of *P. multocida*: structure and transfer. J. Antimicrob. Chemother., 2012b. 67. 91–100.
116. AHIR, V. B. – ROY, A. et al.: Genome sequence of *P. multocida ssp. gallicida* Anand1 from poultry. J. Bacteriol., 2011. 193. 5604–5605.
117. LIU, W. – YANG, M. et al.: Complete Genome Sequence of *P. multocida* HN06, a toxigenic strain of serogroup D. J. Bacteriol., 2012. 194. 3292–3293.
118. ABRAHANTE, J. E. – JOHNSON, T. J. et al.: Draft genome sequence of two virulent serotype of avian *P. multocida*. Genome Announc., 2013. 1 (1). e00058-12 doi: 10.1128/genomeA00058-12.
119. SAMUEL, M. D. – BOTZLER, R. G. et al.: Avian cholera. In: Infectious Diseases of wild birds. Edited: Thomas N.J., Hunter, D.B., Atkinson C.T., Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, 2007. 239–269.
120. BOYCE, J. D. – HARPER, M. et al.: Identification of novel glycosyltransferases required for assembly of the *P. multocida* A:1 lipopolysaccharide and their involvement in virulence. Infect. Immun., 2009. 77. 1532–1542.
121. PATEL, H. K.: Biochemical characterisation, antimicrobial sensitivity, PCR-based detection and mouse pathogenicity of *P. multocida* field isolates. PhD dissertation 2004. Anand Agricultural University, Anand, India.
122. HARPER, M. – BOYCE, J. D. et al.: Signature-Tagged mutagenesis of *P. multocida* identifies mutants displaying differential virulence characteristics in mice and chickens. Infect. Immun., 2003. 71. 5440–5446.
123. Heddleston, K. L. – Watko, L. P. et al.: Dissociation of a fowl cholera strains of *P. multocida*. Avian Dis., 1964. 8. 649–657.
124. SZÉCSÉNYI, I.: Újabb adatok a baromfikolera oktanához, járványtanához és a bacilusgazda-kérdéshez. Magy. Állatorv. Lapja, 1965. 22. 53–56.

125. SZÉCSÉNYI, I. – KEMENES, F. – DÓZSA, I: A fácán (*Phasianus colchicus torquatus*) *P. tularensis* és *P. multi-(avi)septica* iránti fogékonyságának kísérletes vizsgálata. Magy. Állatorv. Lapja, 1965b. 20. 270–273.
126. SHIVACHANDRA, S. B. – KUMAR, A. A. et al.: Detection of multiple strains of *P. multocida* in fowl cholera outbreaks by polymerase chain reaction-based typing. Avian Pathol., 2005. 34. 456–462.
127. SKÖLD, O.: Resistance to trimethoprim and sulfonamides. Vet. Res., 2001. 32. 261–273.
128. SHIVACHANDRA, S. B. –. KUMAR, A. A. et al.: Antibiotic sensitivity patterns among Indian strains of avian *P. multocida*. Trop. Anim. Health and Prod., 2004. 36. 743–750.
129. SELLYEI, B. – VARGA, ZS. – SZENTESI-SAMU, K. – KASZANYITZKY, É. – MAGYAR, T.: Antimicrobial susceptibility of *P. multocida* isolated from swine and poultry. Acta Vet. Hung., 2009. 57. 357–367.
130. MILLAN, A. S. – ESCUDERO, J. A. et al.: Multiresistance in *P. multocida* is mediated by coexistence of small plasmids. Antimicrob. Agents and Chemother., 2009. 53. 3399–3404.
131. MICHAEL, G. B. – KADLEC, K. et al.: ICEP mu1, an integrative conjugative element (ICE) of *P. multocida*: analysis of the regions that comprise 12 antimicrobial resistance genes. J. Antimicrob. Chemother., 2012a. 67. 84–90.
132. SZÉCSÉNYI, I. : A baromficholera keletkezésének feltételei és a védekezés lehetőségei. Magy. Állatorv. Lapja, 1961. 16. 285–289.
133. SZÉCSÉNYI, I.: A baromficholera elleni védekezés új módszerének gyakorlati tapasztalatai. Magy. Állatorv. Lapja, 1963. 18. 130–137.
134. SZÉCSÉNYI, I.: Agglutinációs vizsgálatok baromficholera-bacillusgazdák felismerésére a gyakorlatban. Magy. Állatorv. Lapja, 1964. 19. 234–237

135. VARGA, J. – MÉSZÁROS, J.: A baromfikolera elleni védekezés tapasztalati és javaslatok a védekezés hatékonyságának a javítására. Az MTA-MÉM Állatorvostudományi Bizottságának állásfoglalása. Magy. Állatorv. Lapja, 1989. 44. 368–372.
136. KOVÁCS, A.: A baromfi-cholera elleni védekezés néhány tapasztalata. Magy. Állatorv. Lapja, 1964. 19. 73–74.
137. BLANCHONG, J. A. –SAMUEL, M. D. et al.: Persistence of *P. multocida* in wetlands following avian cholera outbreaks. J. Wildl. Dis., 2006a. 42. 33–39.
138. BLANCHONG, J. A. –SAMUEL, M.D. et al.: Multi-species patterns of avian cholera mortality in Nebraska's Rainwater Basin. J Wildl. Dis., 2006b. 42. 81–91.
139. LEHR, M. A. – BOTZLER, R. G. et al.: Associations between water quality, *P. multocida*, and avian cholera at Sacramento National Wildlife Refuge. J. Wildl. Dis., 2005. 41. 291–297.
140. GLISSON, J.R. – HOFACRE, C. L. – CHRISTENSEN, J. P.: Fowl cholera, in Saif Y. M., and others, eds., Diseases of poultry (11th ed.) 2003. Ames, Iowa, Iowa State University Press, 658–676.
141. NOBREGA, R. – BUENO, R. C.: The influence of the temperature on the viability and virulence of *P. avicida*. Boll. Soc. Paulista Med. Vet. 1950. 8. 189–194.
142. BREDY, J. P. – BOTZLER, R. G.: The effects of six environmental variables on *P. multocida* populations in water. J. Wildlife Dis., 1989. 25. 232–239.
143. BLANCHONG, J. A. – SAMUEL, M. D. et al.: Wetland Environmental Conditions Associated with the Risk of Avian Cholera Outbreaks and the Abundance of *Pasteurella multocida*. J. Wildlife Manag., 2006c. 70. 54–60.
144. BOTZLER, R. G.: Epizootology of avian cholera in wildfowl. J. Wildlife Dis., 1991. 27. 367–395.