

MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA

Hungarian Veterinary Journal
Vol. 146. No. 6. – Budapest, June 2024
Established by Prof. B. Nádaskay, 1878

Parlagi sas (Aquila heliaca)
(Dr. HORVÁTH MÁRTON felvétele)

SZARVASMARHA

Bayes-i modellezés a gyakorlatban –
tejelő tehénállományok állományon
belüli paratuberkulózis-érintettségének
becslése

BAROMFI

Antimikrobiális rezisztencia
hazai nagylétszámú
házi tyúkállományokban

VADON ÉLŐ ÁLLAT

Mikroszatellita-markerkészlet fejlesztése
parlagi sasok egyedi azonosításához

EGZOTIKUS ÁLLAT

A kedvtelésből tartott nyulak fogászati
megbetegedései

LEVÉL A SZERKESZTŐSÉGHEZ

A kis extracelluláris vesiculák mint
a minimális maradék betegség
(minimal residual disease, MRD)
és a terápiás hatékonyság
monitorozásának eszközei

A fogkő eltávolítását megkönnyítő
egyszerű eszközök alkalmazása kutyáknál

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK

Immunológia, Bakteriológia





MAGYAR NEMZETI
VIDÉKI HÁLÓZAT

EGYÜTT A MAGYAR VIDÉKÉRT!



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió

Európai Mezőgazdasági
Vidékfejlesztési Alap



A VIDÉKI TÉRSÉGEKBE BERUHÁZÓ EURÓPA

SZARVASMARHA / BOVINE

323. Veres K., Lang Zs., Monostori A., Ózsvári L.: Bayes-i modellezés a gyakorlatban – tejelő tehénállományok állományon belüli paratuberkulózis-érintettségének becslése
K. Veres, Zs. Lang, A. Monostori, L. Ózsvári: Bayesian modelling in practice. Estimation of within-herd paratuberculosis prevalence in dairy cattle herds

BAROMFI / POULTRY

339. Barnácz F., Kerek Á., Csirmaz B., Román I. L., Gál Cs., Horváth Á., Hajduk E., Szabó Á., Jerzsele Á., Kovács L.: Antimikrobiális rezisztencia hazai nagylétszámú háziyúkállományokban, hasznosítási irányok alapján 2022-2023 között
F. Barnácz, Á. Kerek, B. Csirmaz, I. L. Román, Cs. Gál, Á. Horváth, E. Hajduk, Á. Szabó, Á. Jerzsele, L. Kovács: The status of antimicrobial resistance in domestic poultry with different breeding purposes in Hungary between 2022-2023

VADON ÉLŐ ÁLLAT / WILD ANIMALS

357. Zsinka B., Vili N., Szabó K., Tisza Á., Csonka V., Pásztory-Kovács Sz.: Mikroszatellita-markerkészlet fejlesztése parlagi sasok (*Aquila heliaca*) egyedi azonosításához rokon fajokban leírt markerek segítségével
B. Zsinka, N. Vili, K. Szabó, Á. Tisza, V. Csonka, Sz. Pásztory-Kovács: Cross-species testing of microsatellite markers for the individual identification of eastern imperial eagles

EGZOTIKUS ÁLLAT / EXOTIC ANIMALS

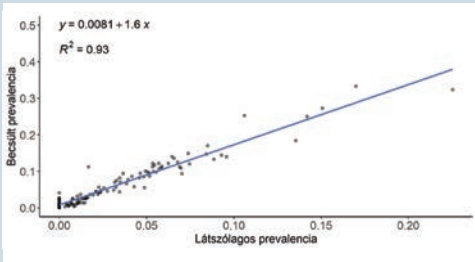
371. Hetényi N., Sátorhelyi T.: A kedvtelésből tartott nyulak fogászati eredetű és egyéb, következményes vagy párhuzamosan fennálló megbetegedéseinek vizsgálata
N. Hetényi, T. Sátorhelyi: Investigation of dental and other consequential or concomitant diseases in pet rabbits

LEVÉL A SZERKESZTŐSÉGHEZ

366. A kis extracelluláris vesiculák mint a minimális maradék betegség (minimal residual disease, MRD) és a terápiás hatékonyság monitorozásának eszközei
368. A fogkő eltávolítását megkönnyítő egyszerű eszközök alkalmazása kutyáknál

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK

379. Immunológia, Bakteriológia



333. Paratuberculosis prevalenciájának becslése



350. Háziyúkból izolált gyógyszerrezisztens baktériumtörzsek



368. Fogkőeltávolítás kutyában



373. A metszőfogak túlnövése nyúlban

A folyóiratot indexeli és referálja/The journal is indexed and abstracted by: CAB Abstracts (CABI), Science Citation Index Expanded, Zoological Record, BIOSIS previews (Thomson Reuters), Scopus (Elsevier).
Tartalom/Contents: Current Contents – Agriculture, Biology & Environmental Sciences (Thomson Reuters)

Ingyenes mutatószám kérésre a főszerkesztőtől/Free sample copies are available from the editor-in-chief: H-1078 Budapest, István utca 2. Hungary
Megrendelhető a fenti címen a szerkesztőségtől/Subscription orders to the Editorial Office (address above)

*** Internet address
(English contents pages, subscription price, etc.)
<http://www.univet.hu/mal>

A természettudományok újabbkori fejlődése és vívmányaiak értékesítése a gyakorlati élet terén, a részletekbe hatoló, komoly vizsgálódásnak és kutatásnak eredménye. A természettudós önzellen fáradságos buvárkodásával, mely közben csak a természeti erőknél és ezek nyilvánulásainak megismerését és értelmezését tartja, mint ideális czélt, szeme előtt, egy-egy új tételt állapít meg, a gyakorlat embere pedig a tételt átvéve, azt a gyakorlati élet czéljaira alkalmazni és értékesíteni iparkodik.

Részlet Hutýra Ferenc 1899. évi tanévnyitó beszédéből

Az Állatorvosi Főiskola születése – 1. rész

125 évvel ezelőtt, 1899 őszén, amikor a Földművelésügyi Minisztérium épp az állatorvosi szolgálat államosításán fáradozott, akadémiánk Állatorvosi Főiskolaként kezdhetette meg új tanévét. Rangjának régóta várt emelkedésével minden korábinál értékesebb oklevelek kiadására törekedett, hogy az állatorvoslást végleg a társadalmilag megbecsült gazdasági-tudományos szakmák közé emelje. Hogy eljusson idáig, több mint tíz év kemény munkájára volt szüksége.

A törvényhozás 1888-ban szavazta meg az állategészségügy rendezéséről szóló VII. törvénycikket. Ugyanebben az évben VARGA FERENC váltotta THANOFFER LAJOST a tanintézet vezetésében. A tanári kar elérkezettnek látta az időt az átalakulásra, mivel az európai országok, különösképp a tudományokban példaképnek tekintett Német Birodalom állatorvosokat oktató intézményei sorban fejlődtek főiskolákká, s félő volt, hogy a miénk idővel ledolgozhatatlan hátránnyal marad el mögöttük. A cél eléréséhez azonban számos hiányosságot kellett legyűrni.

A Rottenbiller utcai telken, ahol 1881 óta működött, a tanintézetnek egyéb tulajdonosokkal is osztozkodnia kellett, ezért kizárólagosan nem rendelkezhetett fölötté. A tanszéknek gyakran nem jutott elegendő pénz, így felszerelésüket nem korszerűsíthették folyamatosan. Ahogy gyarapodtak az elsajátítandó ismeretek, úgy bizonyult egyre szűkösebbnek a képzés három éve. Legsúlyosabb teherként a magasabb előképzettségű hallgatók és az olykor írni-olvasni is alig tudó gyógykovácstanoncok együttes oktatása nehezedett a tanerő vállára, hiszen a két csoport között tátongó műveltségi szakadék akadályozta a tananyag egységes fejlesztését. A helyzet javításáért a szenátus eltörölte a felvételi vizsgát, s középfokú tanulmányokat, de még nem érettségit követelt meg leendő hallgatóitól. Elsőre ez a döntés nehezen érthető, hiszen a vizsgabeszélgetés tűnik a leghatékonyabb módszernek a jelelntkezők megszürése, de akkoriban a magasabb iskolai végzettség kötelezettsége már önmagában kiostalta a kisebb tudású diákok javát.

1890-ben a tanintézet egyelőre akadémiává lépett elő. Legfontosabb változásként a képzési idő három évről négy évre hosszabbodott, így a tanárok alaposabb tan- és vizsgarendet alakíthattak ki, átdolgozhatták a szigorlatok rendszerét, s több időt szánhattak a gyakorlati oktatásra. A lelkiismeretesebb felkészülés érdekében nyilvánossá tették az összes szigorlatot, vagyis azokat annyi állatorvos, szigorló és hallgató tekinthette meg, ahány elfért a vizsgáztatás helyszínén. Az újonnan beiratkozónak évente 30 forint tandíjat kellett fizetniük. Felmentést csak a szegény családból érkezők kaphattak, ha jó tanulmányi eredményeket értek el. Mivel a tanoncok korábban főleg lovak és kutyák kezelését gyakorolhatták, az akadémia a földművelésügyi minisztérium segítségével immáron a gödöllői koronauradalomba küldhette őket egyéb fajok és fajták tanulmányozására. Tervezte továbbá egy poliklinika építését többféle beteg állat gyógyítására, hogy a gyakorlás helyben is lehetséges legyen.

Valamennyi intézkedés a főiskolai váltást készítette elő, ezért mindenki átmenetként tekintett az akadémiai korszakra. A hallgatók, akiknek a szeme előtt bécsi társaik példája lebegett, már 1890-ben szervezkedtek a valóban vágyott rangemelkedés mihamarabbi bekövetkezéséért. HUTÝRA FERENC akkor még kénytelen volt lehúteni kedélyüket, hiszen tisztában volt az alma mater viszonyaival és lehetőségeivel, s tudta, hogy a felettes hatóságok elutasították volna az elcsúsztatott kérelmet.

Bozó Bence Péter

FŐSZERKESZTŐ / EDITOR-IN-CHIEF

Dr. BALKÁ Gyula

SZERKESZTŐBIZOTTSÁG / EDITORIAL BOARD

Dr. Abonyi Tamás
Dr. Balka Gyula (elnök), Dr. Bándy Pál
Dr. Bíró Ferenc, Dr. Bodó Gábor
Dr. Búza László, Dr. Dunay Miklós Pál
Dr. Farkas Róbert, Dr. Fekete Sándor György
Dr. Fodor László, Dr. Gál János
Dr. Gálfi Péter, Dr. Gönczi Gábor
Dr. Jakab Csaba, Dr. Jerzsele Ákos
Dr. Korzenszky Emőd, Dr. Laczay Péter
Dr. Magyar Tibor, Dr. Manczur Ferenc
Dr. Molnár Viktor, Dr. Nagy Béla
Dr. Nemes Imre, Dr. Németh Tibor
Dr. Ózsvári László, †Dr. Sályi Gábor
Dr. Seregi János, Dr. Solti László
Dr. Sótonyi Péter, Dr. Szieberth István
Dr. Tóth Balázs, †Dr. Tuboly Tamás
Dr. Varga János, †Dr. Vetési Ferenc
Dr. Visnyei László, Dr. Vörös Károly

SZERKESZTŐSÉGI TITKÁR

Tóth Zsuzsanna

SZERKESZTŐSÉG / EDITORIAL OFFICE

H-1078 Budapest, István u. 2. Hungary
Levélcím: 1400 Budapest 7. Pf. 2.
Telefon/fax: (36-1) 341-3023
Internet: <http://www.univet.hu/mal>
E-mail: mal@univet.hu

KIADÓ / PUBLISHER

Herman Ottó Intézet Nonprofit Kft.
H-1223 Budapest, Park u. 2.
Telefon: (36-1) 362-8130
Telefax: (36-1) 362-8104
Internet: www.agrarlapok.hu
E-mail: info@agrarlapok.hu
Felelős kiadó: Bozzay Péter ügyvezető

HIRDETÉSEK FELVÉTELE

Telefon: (36-70) 232-4231, (36-1) 362-8130
Telefax: (36-1) 470-0410
E-mail: info@agrarlapok.hu

Minden jog fenntartva. A lapból értesüléseket átvenni csak a Magyar Állatorvosok Lapjára való hivatkozással lehet. A hirdetések és egyéb reklámkiadványok tartalmáért a kiadó felelősséget nem vállal.

LAPTERV

made by zwoelf – www.zwoelf.hu

TERVEZŐSZERKESZTŐ

Kismarosi Réka

NYOMDAI KIVITELEZÉS:

Séd Nyomda, Szekszárd

INDEX: 25531

HU ISSN 0025-004X (Nyomtatott)

HU 3003-9924 ISSN (Online)

A KIADÁST TÁMOGATJA (SPONSORED BY)

Agrárminisztérium

MTA Könyv- és Folyóiratkiadó Bizottsága

LAPTULAJDONOS



KIADÓ



Bayesian modelling in practice. Estimation of within-herd paratuberculosis prevalence in dairy cattle herds

K. Veres^{1*}
Zs. Lang¹
A. Monostori²
L. Ózsvári³

1. Állatorvostudományi Egyetem,
Gazdaságtudományi
és Biostatistikai Intézet,
Biostatistika Tanszék,
H-1078 Budapest, István u. 2

2. Állattenyésztési
Teljesítményvizsgáló Kft., Gödöllő

3. Állatorvostudományi Egyetem,
Gazdaságtudományi
és Biostatistikai Intézet,
Törvényszéki Állatorvostani
és Gazdaságtudományi Tanszék,
Budapest

*e-mail: veres.katalin@
student.univet.hu

Bayes-i modellezés a gyakorlatban – tejelő tehénállományok állományon belüli paratuberkulózis- érintettségének becslése

Veres Katalin^{1*}, Lang Zsolt¹, Monostori Attila², Ózsvári László³

ÖSSZEFOGLALÁS

A Bayes-i módszertan széles körben elterjedt fertőző betegségek prevalenciájának modellezésére az állatorvosi szakirodalomban, hiszen ezzel a megközelítéssel a korábbi ismeretek és az új adatok egyszerre építhetők be a becslésekbe. A szerzők áttekintik a Bayes-i modellezés alapvető fogalmait és működési elveit, továbbá bemutatják, hogyan alkalmazható ez a módszer a gyakorlatban a paratuberkulózis valódi prevalenciájának telepi szintű becslésére tejelő szarvasmarhák esetében (<https://github.com/VeresKatalin/PTBC>). A modell eredményei alapján egyszer ellett tehenek esetében a valódi prevalencia a látszólagos prevalencia 1,6-szorosaként, többször ellett teheneknél pedig 1,5-szöröseként becsülhető.

SUMMARY

Background: Bayesian methodology is widely used in veterinary science to model the prevalence of infectious diseases. The main reason for the rapid spread of this methodology is that the Bayesian approach allows the incorporation of both prior knowledge and new data into the estimates.

Objectives: The objective of this paper is to give an overview of how the Bayesian methodology works and to present its key concepts. We illustrate the concept, the method, and the interpretation of the outcome by modelling the within-herd prevalence of paratuberculosis (PTBC) infection of individual dairy cattle farms.

Materials and Methods: In our study, Bayesian hierarchical modelling was used to estimate the probability of PTBC infection among primi- and multiparous cows. The model incorporates historical priors based on a nationwide voluntary screening data. Linear regression was fitted to the outcome values obtained from the model to provide thumb rules for prevalence estimation. Simulation was used to evaluate the accuracy of the estimates. In addition, based on the results of the model, we proposed fast and straightforward methods for estimating these quantities.

Results and Discussion: Based on the regression fitted to all individual results, a simple multiplication of 1.6 for primiparous and 1.5 for multiparous cows is sufficient to get an approximate estimate of the true PTBC prevalence. The simulation study showed that the true prevalence was covered by the 95% credible interval in approximately 90% of the simulated herds, both for primi- and multiparous cows. Testing only a given proportion of the cows in the herds did not change the coverage level but decreased the precision providing wider credible intervals. Understanding the difference between apparent and true prevalence is essential in the quantitative analysis of infectious diseases. Bayesian methods can be used to estimate the true prevalence, helping the herd management to assess the damage caused by infection and develop appropriate preventive measures.

SZARVASMARHA

A Bayes-i módszertan széles körben elterjedt fertőző betegségek prevalenciájának modellezésére az állatorvosi szakirodalomban. A HANSON és mtsai [1] által javasolt keretrendszer felhasználásával számos, e módszertant alkalmazó tanulmány született az utóbbi évtizedben [2–7]. A módszer gyors terjedésének fő oka az, hogy a Bayes-i megközelítés segítségével a korábbi ismeretek és az új adatok egyszerre építhetők be a becslésekbe. Fertőző betegségek esetén pl. az országos prevalencia vagy a korábbi évek felméréseiből származó adatok egyaránt olyan hasznos információt hordoznak, amelyeket hiba lenne figyelmen kívül hagyni. Sokan mégis félve közelítenek ehhez a módszertanhoz, hiszen hagyományosan az ún. frekventista (p -értékekre támaszkodó) statisztikát alkalmazzuk.

A Bayes-i módszert széles körben használják fertőző betegségek prevalenciájának modellezésére

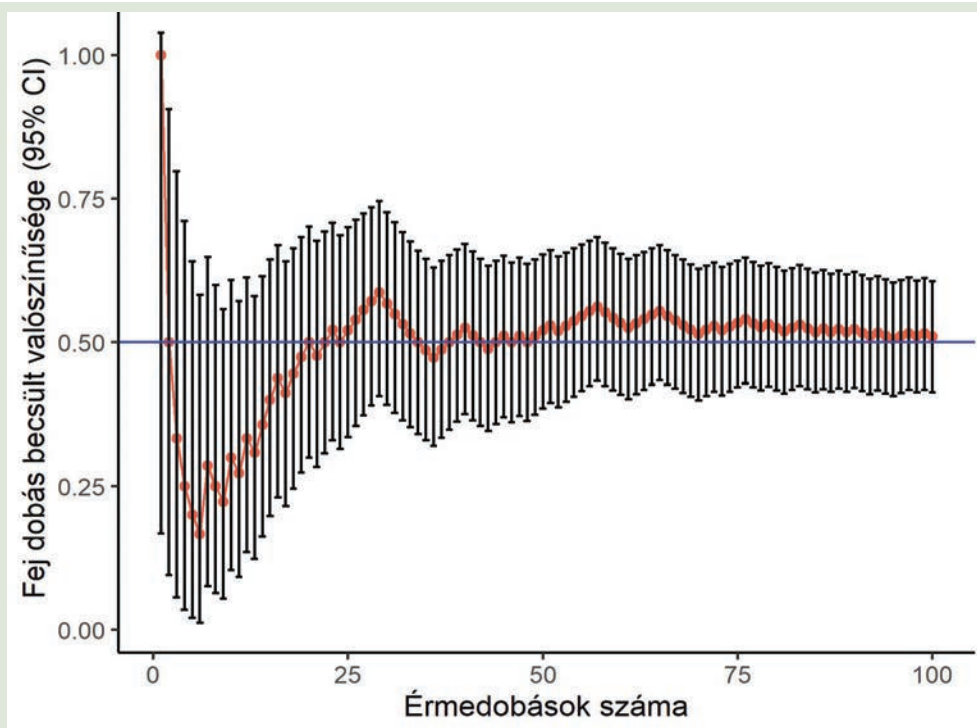
A frekventista statisztika egy esemény valószínűségét relatív gyakoriság alapján határozza meg

A közleményünk célja ezért a Bayes-i módszertan legfontosabb fogalmainak, működésének áttekintése és gyakorlati alkalmazásának illusztrálása tejelő szarvasmarha állományok paratuberkulózis- (PTBC) érintettségének bemutatásával.

A Bayes-i statisztika valószínűségfelfogása alapjaiban különbözik a hagyományosan alkalmazott frekventista statisztikától. A frekventista statisztika egy esemény valószínűségét sok kísérlet alapján kiszámított előfordulási részarány, azaz *relatív gyakoriság* alapján határozza meg. Minél többször végezzük el a kísérletet, annál jobban megközelíti az esemény relatív gyakorisága az elméleti valószínűséget [8]. Pl. minél többször dobunk fel egy szabályos pénzérmét, annál jobban megközelíti a fejek (és az írások) részaránya a várt 50%-ot (1. ábra).

1. ÁBRA. Érmédobás szabályos érmével
Piros: fej dobások aránya, fekete: 95%-os konfidenciaintervallum

FIGURE 1. Coin toss with fair coin
Red: rate of head tosses, black: 95% confidence interval



E keretrendszerben a valószínűség objektív mennyiség, független minden korábbi tapasztalattól. Több egymás utáni fej dobása után továbbra is azt feltételezzük, hogy a következő dobásnál egyaránt 50–50% a fej, ill. az írás dobásának esélye. Egy modell paraméterének frekventista becslésénél ezt a rögzített valószínűséget szeretnénk meghatározni.

A Bayes-i módszertanban a valószínűség megadásakor az adatok mellett az előzetes tapasztalatokat és ismereteket is figyelembe vesszük. Ez a módszer közel áll hétköznapi gondolkodásunkhoz. Az érmefeldobás példájánál maradva,

A Bayes-i módszertanban az előzetes tapasztalatokat és ismereteket is figyelembe vesszük

A Bayes-i modellezéshez három alapvető összetevőre van szükségünk: a modellre, az adatokra és az ún. prior ismeretekre

ha a sokadik dobásra is fejet kapunk, gyanakodni kezdünk, hogy az érme nem szabályos, tapasztalataink alapján „újraszámoljuk” magunkban az esélyeket, és a következő dobásoknál nagyobb eséllyel várunk fejet [9].

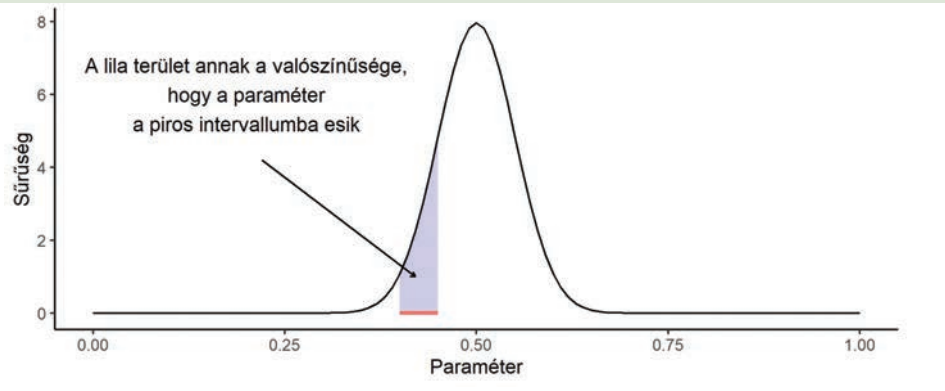
A Bayes-i modellezéshez három alapvető összetevőre van szükségünk: a modellre, az adatokra és az ún. prior ismeretekre. A prior információ sűríti magába a folyamattal kapcsolatos előzetes várakozásokat és ismeretanyagot. A prior három fő típusát különböztetjük meg. Ha nem áll rendelkezésünkre olyan információ, amelyet hasznos lenne beépíteni a modellbe, pl. egy új, eddig ismeretlen tudományterület feltérképezésekor, akkor ún. *nem informatív priort* választunk. Ez a prior nem hordoz információt előzetes várakozásokról, egyedül a rendelkezésre álló adatok alapján becsüljük meg a modell paramétereit. Abban az esetben is választhatunk nem informatív priort, ha nagy mennyiségű adattal rendelkezünk, amelyből további feltételezések nélkül is hatékony becslés várható [10].

A második lehetőség az ún. *gyengén informatív prior* használata. Ennek szerepe csupán a paraméterek tartományának korlátozása, ill. a modell stabilizálása. Egy diagnosztikai eljárás érzékenységről legtöbbször feltehető, hogy 50%-nál nem kisebb. Gyógyíthatatlan betegség modellezésekor kizárhatjuk azokat a paraméterértékeket, amelyek megengednék a gyógyulást. Az adatok heterogenitását jellemző varianciaparaméterek általában nem lehetnek nulla közelében és túl nagyok se, különben instabil és értékelhetetlen lehet az illesztett Bayes-i modell.

A prior eloszlások harmadik típusa az *informatív prior*, amely lehetővé teszi, hogy megbízható, előzetes ismereteket építsünk be a modellbe. Ilyenkor szakértők bevonásával, korábbi tanulmányok eredményei, tapasztalataink, ismereteink, várakozásaink alapján megadjuk, hogy a paraméterek nagy valószínűséggel milyen értéktartományba eshetnek [10]. A paraméterek ún. *prior eloszlását* úgy szerkesztjük meg, hogy annak valószínűsége, hogy a paraméter egy adott intervallumba esik, a prior eloszlás adott intervallum fölé eső görbe alatti területével egyezzen meg. A függvénygörbe értékeit *sűrűségnek* nevezzük; nagy sűrűség a paraméterérték nagy valószínűségét jelzi (2. ábra). A prior eloszlást a Bayes-i

2. ÁBRA. Prior és poszterior eloszlás értelmezése

FIGURE 2. Interpretation of prior and posterior distribution



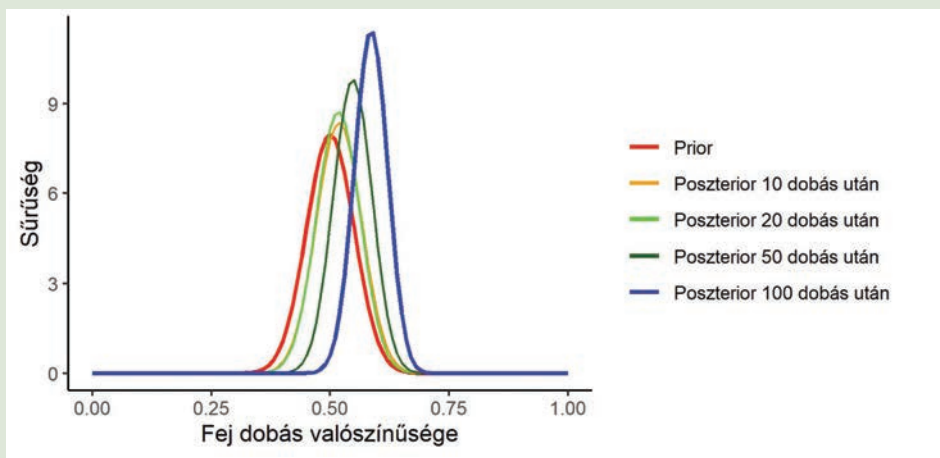
modellben az adatok segítségével pontosítjuk, aktualizáljuk, így jutunk el az ún. *poszterior eloszláshoz*.

Érmefeldobás esetében, ha az az előfeltételezésünk, hogy a pénzérme szabályos, de előfordulhatnak benne apró gyártási hibák, használati kopások, válasszunk priornak egy olyan eloszlást (értéktartományt), amely szerint a fej-írás esélye körülbelül 50–50%, ettől el is térhet némiképp, de a nagyobb eltérés esélye kicsi (3. ábra).

A keresett paramétert a prior eloszlásból kiindulva, az adatokban rejlő többletinformáció felhasználásával becsüljük meg. Becslésünk nem egy konkrét szám,

3. ÁBRA. Fej dobás
valószínűségének Bayes-i
becslése érmédobás során –
szimuláció, cinkelt érme, fej
valószínűsége: 0,6 (60%)

FIGURE 3. Bayesian
estimation of the probability
of head toss in a coin flip
– simulation, unfair coin,
probability of head: 0.6 (60%)



hanem az előbbiekkel összhangban egy ún. *poszterior eloszlás* lesz. Annak a valószínűsége, hogy a valódi paraméter egy adott intervallumba esik, a poszterior eloszlás adott intervallum fölfe eső görbe alatti területének kiszámításával adható meg (2. ábra).

Érmédobás esetében pl. azt mondja meg a poszterior eloszlás, hogy milyen eséllyel szabályos az érme, ill. milyen eséllyel tér el ettől egyik vagy másik irányban adott mértékkel.

A 3. ábrán láthatjuk, hogy az előfeltételezéseinket reprezentáló prior görbéből kiindulva a tapasztalatok felhalmozódásával (dobásszám növelése) egyre keskenyebb lesz a poszterior eloszlásunk, azaz nő a becslésünkbe vetett bizalom. Ezzel párhuzamosan a poszterior görbe a valódi paraméterérték felé tolódik el, azaz a valódi paraméter környékén található értékeknek lesz a legnagyobb a valószínűsége a poszterior eloszlás alapján.

A paraméterek poszterior eloszlását az adatok és a prior felhasználásával számítjuk ki. A könnyebb értelmezhetőség kedvéért a poszterior eloszlást egyetlen számba is sűrítethetjük, kiszámítva pl. az átlagos értékét vagy mediánját és az ehhez tartozó adott lefedettségű *kredibilis intervallumot* (Kri). A *kredibilis intervallum lefedettsége* annak a valószínűsége, hogy a paraméter az adott intervallumba esik (4. ábra).

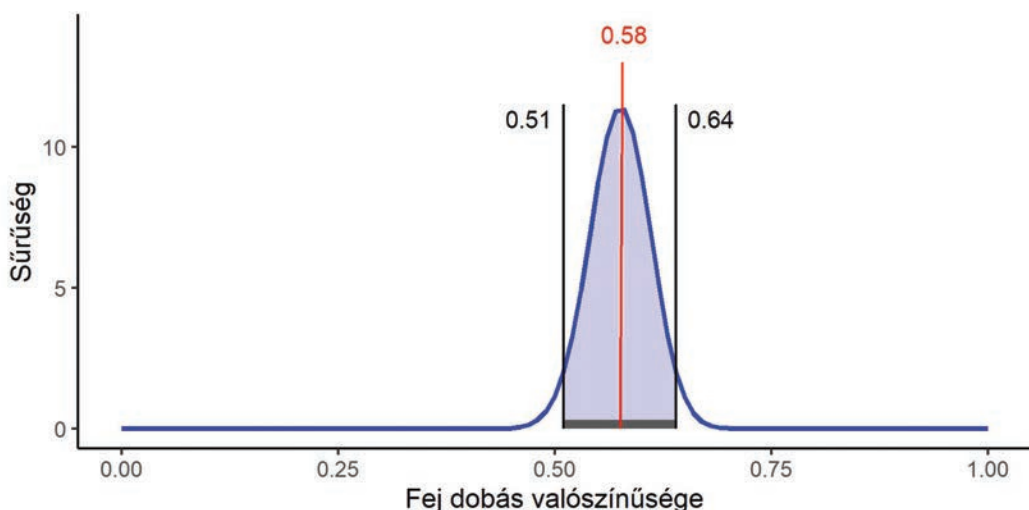
A becslés eredményében megjelenik az adatokban rejlő többletinformáció, ismereteink gyarapodnak. A frissített poszterior ismerethalmaz felhasználható egy következő modell prior eloszlásaként. Ez a munkamódszer jól illeszkedik a tudományos megismerés természetes folyamatába. Előzetes ismereteinkből és az aktuális kutatásban tapasztaltakból születik meg az új elmélet, amelyet az újabb adatok tükrében ismét újra és újra felülvizsgálunk, ezzel finomítva lépésről-lépésre a vizsgált témakörrel alkotott képünket.

Az orvosi diagnosztika gondolkodásmódja is természetes módon Bayes-i szellemű. A diagnosztika fő kérdése, hogy adott tünetegyüttes ismeretében mi a valószínűsége az egyes kiváltó okoknak. Az esélyek latolgatásánál figyelembe vesszük a páciens jellemzőit, adottságait és a környezeti tényezőket is. Attól függően pl., hogy milyen idős, milyen korábbi betegségei voltak, továbbá milyen környezetből származik, más és más lehet egy-egy mögöttes ok valószínűsége [11]. Pl. lázas, hasmenéses, bágyadt és levert, 6 hónapos kölyökkutya esetében, amely egyébként rendszeres állategészségügyi ellátásban és az életkornak megfelelő ajánlott vakcinázásban is részesült, első körben nem parvovírusos fertőzésre gyanakodunk. Azonban ugyanezekkel a tünetekkel egy tenyésztőtől most vásárolt, még semmilyen vakcinázásban nem részesülő, állatorvosnál először járó, 3 hónapos kutya kölyök esetében a parvovírus okozta megbetegedés valószínűségét jóval nagyobbra fogja értékelni a klinikus állatorvos.

Fertőző betegségek populációs részarányának, *prevalenciájának* becslésében a Bayes-i megközelítés használatát többnyire két fő érv motiválja. Egyrészt szeret-

A paraméterek
poszterior eloszlását
az adatok és a prior
felhasználásával
számítjuk ki

Az orvosi
diagnosztika
gondolkodásmódja is
természetes módon
Bayes-i szellemű



4. ÁBRA. Poszterior eloszlás, becsült átlag és 95%-os kredibilis intervallum fej dobás valószínűségére 100 érmedobás után
Prior feltételezés: szabályos érme, valóság: cinkelt érme, fej valószínűsége 0.6 (60%), becsült átlag és kredibilis intervallum: 0.58 (95% Krl: 0.52–0.64)

FIGURE 4. Posterior distribution, estimated mean and 95% credible interval for head toss probability after 100 coin flips
Prior assumption: fair coin, in reality unfair coin, 0.6 (60%) probability of head tosses, mean estimate and 95% credible interval: : 0.58 (95% Krl: 0.52–0.64)

nénk beépíteni a korábbi ismereteinket a becslés pontosításához. Ha ismerjük pl. a legutóbbi szűrésnél becsült prevalenciát, azt feltételezhetjük, hogy újra a korábbihoz hasonló értéket kapunk, de akár nagy változás is előfordulhat, kis eséllyel. Ezeket az ismereteket, várakozásokat építjük be priorként a modellbe. Másrészt a diagnosztikai tesztek jellemzőit, a *szenzitivitást* (érzékenységet) és a *specificitást* (fajlagosságot) is általában bizonytalanság terheli, hiszen azokat is kísérleti adatokból becsülik meg [12, 13]. Egy Bayes-i modell a diagnosztikai paraméterek bizonytalanságát is képes prior eloszlás formájában beépíteni.

TEJELŐ TEHENEK PTBC-ÉRINTETTSÉGÉNEK MODELLEZÉSE

A PTBC világszerte és Magyarországon is széles körben elterjedt szarvasmarha-betegség, amit a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) okoz. Az MAP-fertőzöttség klinikai és szubklinikai stádiumban egyaránt jelentős gazdasági károkat okoz, ám a két stádium közül gazdasági szempontból a szubklinikai a jelentősebb, hiszen ekkor az egyedek szembetűnő tüneteket nem mutatnak, ugyanakkor a termelésre gyakorolt káros hatás már fellép [14]. Az MAP-fertőzöttség, ill. annak különböző stádiumai negatívan befolyásolják a szarvasmarhák vágási súlyát és – a hús minőségének romlásán keresztül is – a vágási értékét [15]. Az MAP-pozitív szarvasmarhák selejtezési és a mortalitási aránya is jelentősen nagyobb a nem fertőzött egyedekhez képest [14, 16–18]. Ezen túlmenően az MAP-fertőzöttség káros hatással van a tejhozamra és jelentősen emeli a szomatikus sejtszámot [14, 18–21]. Az MAP-pozitív szarvasmarhák reprodukciós adatai is számottevően rosszabbak az MAP-negatív társaikhoz képest: jelentősen nő a teheneknek az elléstől termékenyülésig eltelt ideje, a két ellés közötti ideje és számottevően romlik a termékenyítési indexe [14, 18, 22–24]. Hazai nagylétszámú tehenészetben az MAP-pozitív egyedek termékenyítési indexe 2-vel nőtt az MAP-negatív egyedek mutatójához képest, amely eltérés – a megnövekedett felhasznált spermamennyiség következtében – milliós többletköltséget okozott a telepnek éves szinten [14].

A paratuberkulózis világszerte és Magyarországon is széles körben elterjedt szarvasmarha-betegség

Az MAP-fertőzöttség ronjta az állatok termelési és szaporodási mutatóit

Az MAP-fertőzöttség szűrésére nem létezik „gold-standard” eljárás, ezért a fertőzés azonosítása és a telepen belüli fertőzött állatok részarányának meghatározása kihívást jelent. A diagnosztikai tesztek által szolgáltatott eredmények alapján kalkulált *látszólagos prevalencia* (AP – apparent prevalence, a pozitív esetek részaránya) és a *valódi prevalencia* (TP – true prevalence, a valóban fertőzött esetek részaránya) között markáns különbségek lehetnek a téves negatív és téves pozitív teszteredmények miatt. Kizárólag a diagnosztikai tesztekre hagyatkozni félrevezető, és hibás telepi menedzsment döntésekhez vezethet. A fertőzöttségi szint pontosabb meghatározásához a látszólagos prevalenciát korrigálni kell a teszt szenzitivitása, specifitása és egyéb telepi adatok figyelembevételével [25, 26].

Magyarországon az MAP-fertőzés országos elterjedését a tejelő tehenek körében elsőként 2018-ban mérték fel [3]. Az eredményeket 2019-ben a korábbi mérés tapasztalatait beépítve, átfogó, országos adatokon újraértékeltek [27]. Jelen dolgozatban az országos eredmények priorként való felhasználásával egyedi tejelőszarvasmarha-telepek valódi PTBC-prevalencia becslésére szolgáló Bayes-i modellt mutatunk be. A modell eredményeit két, számítógépes eljárással szimulált teleppel illusztráljuk. A kapott eredményekre építve olyan egyszerű módszert is ajánlunk, amely segítségével a fertőzés prevalenciája a modell használata nélkül is könnyen, gyorsan közelíthető. Emellett megvizsgáljuk, hogy hogyan változik a becslés hatékonysága, ha nem szűrjük le az összes tejelő tehenet, csak egy adott százalékokat teszteljük a költségtakarékosság érdekében.

ANYAG ÉS MÓDSZER

FELHASZNÁLT ADATOK

Magyarországon 2018 februárjában országos önkéntes PTBC-felmérő program indult. Az Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. (ÁT Kft.) tejből végezte a PTBC ELISA-vizsgálatokat a Paratuberculosis Screening Antibody Test (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, USA) segítségével a gyártó utasításai szerint. A kapott optikai sűrűség (OD) értékeket S/P hányadossá alakítottuk a következők szerint:

$$\frac{S}{P} = \frac{\text{minta OD értéke} - \text{negatív kontroll OD értéke}}{\text{pozitív kontroll OD értéke} - \text{negatív kontroll OD értéke}}$$

**Magyarországon 2018
februárjában országos
önkéntes PTBC-felmérő
program indult**

A vizsgálat eredményét negatívnak tekintettük azon tejminták esetében, ahol az S/P hányados 0,2-nél kisebb volt, kétesnek, ha 0,2–0,3 közé esett, pozitívnak, ha meghaladta a 0,3-at. A Bayes-i modellezés során csak a 100, vagy annál több tehenet tartó tejelőszarvasmarha-telepek 2019-ben végzett PTBC-vizsgálati eredményeit használtuk fel, így a Bayes-i modell összesen 116 tehenészet 55 594 tehenének egyedi tejmintáján végzett PTBC-vizsgálati eredményein alapul. A kétes teszteredményt adó teheneket ($n = 573$) kizártuk az elemzésből.

A STATISZTIKAI MODELL

Célunk egy konkrét tehenészet adatai és az országos prior tapasztalatok alapján a tejelőszarvasmarha-telep valódi fertőzöttségének becslése. Mivel az országos adatok alapján becsült valódi prevalencia 92%, a továbbiakban azt feltételezzük, hogy fertőzött teleppel dolgozunk. Bayes-i kétlépcsős hierarchikus modellt illesztünk egy fertőzött telep adataira az országos felmérés [27] eredményeit prior eloszlásként használva. A modell eredményeit két szimulált telep elemzésével illusztráljuk.

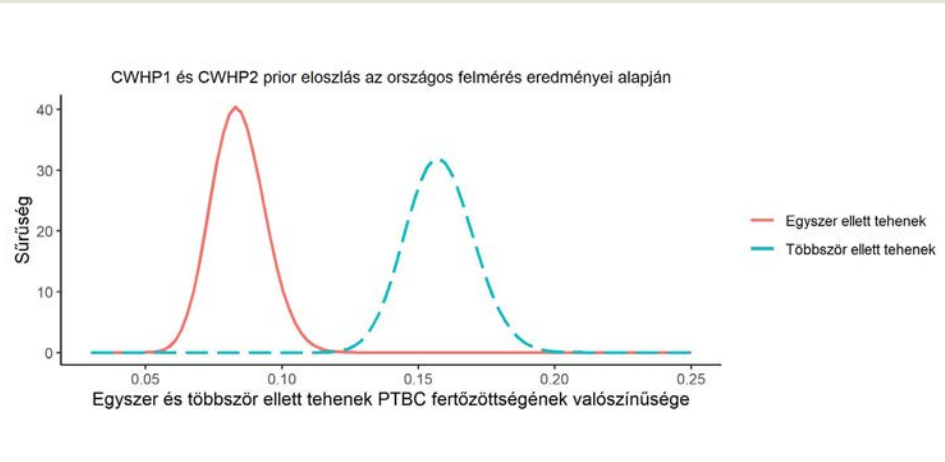
A modellezés során annak a valószínűségét határoztuk meg, hogy egy, a telepről véletlenszerűen kiválasztott egyszer ellett, ill. többször ellett egyed fertőzött-e ($CWHP_1$; *conditional within-herd prevalence*, prevalencia az egyszer ellett tehenek körében, $CWHP_2$; prevalencia a többször ellett tehenek körében). Feltételezzük, hogy az egyes telepek valódi prevalenciáját jól reprezentálják az országos adatok, ezért az

**A szerzők célja
egy konkrét
tehenészet adatai
és az országos prior
tapasztalatok alapján
a tejelőszarvasmarha-
telep valódi
fertőzöttségének
becslése**

országos felmérés tapasztalatai alapján informatív priort konstruáltunk a $CWHP_1$ és $CWHP_2$ paraméterekhez (5. ábra). A priorokat az R 4.1.0 epiR csomagjához tartozó [28, 29] epi.betabuster [30] eljárással határoztuk meg, oly módon, hogy minél jobban illeszkedjenek az országos modellből kapott megfelelő poszterior eloszlásokhoz.

5. ÁBRA. Prior eloszlások az egyszer, ill. többször ellett tehenek valódi PTBC-prevalenciájának Bayes-i becsléséhez az országos adatokból származó poszterior eloszlás alapján

FIGURE 5. Prior distributions for Bayesian estimation of the true prevalence of paratuberculosis in primiparous and multiparous cows based on the posterior distribution from national data



A becsléshez a prior mellett a telepi ELISA-tesztek eredményét, a paritást és a tehenek életkorát használták

A becslés kiszámításához a prior mellett a telepi ELISA-tesztek eredményét, a paritást és a tehenek életkorát használtuk. A nyers adatokból kiszámítható a pozitív esetek előfordulási aránya (AP), azonban a diagnosztikai tesztek téves pozitív és téves negatív eredményei miatt a valódi prevalencia a gyakorlatban rendre eltér ettől. A tanulmányban használt ELISA-teszt érzékenysége, szenzitivitása (Se) – annak valószínűsége, hogy a fertőzött egyedekhez pozitív teszteredmény tartozik – az életkor ismeretében meghatározható MEYER és mtsai képlete alapján [31]. Az összefüggést a PTBC-szűrt állományra alkalmazva az állatok életkorától függően a tesztek 24–67%-a tévesen negatív eredményt adott. A teszt fajlagossága, specifitása (Sp) – annak valószínűsége, hogy a fertőzéstől mentes egyedekhez negatív teszteredmény tartozik – 99,5% [31]. Ezt azt jelenti, hogy csupán az esetek fél százalékában kapunk tévesen pozitív eredményt. Modellünk arra szolgál, hogy a diagnosztikai teszt teljesítmény korlátait figyelembe véve becslést adjon a fertőzés valódi prevalenciájára.

Egy fertőzött telepen egy tehen teszteredménye AP valószínűséggel lesz pozitív. A látszólagos prevalenciát megkaphatjuk a valódi pozitív és a téves pozitív teszteredmények valószínűségeinek összegeként:

$$AP = Se \times CWHP + (1 - Sp) \times (1 - CWHP) \tag{1}$$

A fenti képlet azt írja le, hogy ha a vizsgált paritáscsoportban a fertőzött állatok részaránya $CWHP$, akkor a tehenek $Se \times CWHP$ részére kapunk valódi pozitív teszteredményt, míg a tehenek $(1 - Sp) \times (1 - CWHP)$ része téves pozitív eredményt produkál.

A $CWHP_1$ és $CWHP_2$ poszterior eloszlását a telepi adatokra illesztett Bayes-i modellel számítottuk ki. A $CWHP_1$, ill. a $CWHP_2$ poszterior eloszlás a konkrét telep egyszer ellett, ill. többször ellett tehenekhez tartozó PTBC prevalenciájának Bayes-i becslése.

A Bayes-i modellt az R 4.1.3 statisztikai szoftver rstan csomagjának segítségével állítottuk fel és futtattuk [28, 32] (<https://github.com/VeresKatalin/PTBC>).

KÖZELÍTŐ MÓDSZER A TELEP FERTŐZÖTTSÉGÉNEK BECSLÉSÉRE
A Bayes-i modell mellett egyszerűen használható közelítő módszert is kidolgoztunk a valódi állomány szintű prevalencia becslésére. A modellt lefuttattuk az elemzésünkben használt 116 db, legalább 100 tehenet tartó tejelő szarvasmarha telep

**A Bayes-i modell
pontosságát
számítógépes
szimulációval
vizsgálták**

egyedi PTBC ELISA tejvizsgálati eredményeire, amelyre lineáris regressziót illesztünk. A becsült valódi prevalenciát függő változónak, a nyers adatok alapján számított látszólagos prevalenciát magyarázó változónak tekintettük. A regressziós egyenes egyenlete alapján a nulla közeli tengelymetszet miatt a valódi állomány-szintű prevalencia egyszerű szorzással becsülhető a látszólagos prevalenciából.

SZIMULÁCIÓS VIZSGÁLAT

A Bayes-i modellünk pontosságát számítógépes szimulációval vizsgáltuk. Összesen 500 telep adatait szimuláltuk, azaz számítógéppel véletlen értékeket generáltunk, megtartva a valódi telepek adatainak nagyságrendjeit, arányait, PTBC fertőzési mintázatait. A szimulált adatokra lefuttattuk a modellt és ellésszám szerint megvizsgáltuk, hogy az esetek mekkora hányadában esik a valódi prevalencia a modell által szolgáltatott 95%-os kredibilis intervallumba. Ezt követően megnéztük, hogy hogyan változik a becslés pontossága, ha nem teszünk le minden tehenet, csupán az egyszer ellett, ill. többször ellett tehenek egy adott hányadát.

A szimulációt a következőképpen végeztük. Elsőként a telepi alapadatokat generáltuk. A teleplétszámot 450 átlagú, 500 szórású negatív binominális eloszlásból kaptuk meg. Ehhez hozzáadtunk 50-et, így a minimális létszám 50 tehen és az átlagos létszám 500 tehen lett. Az országos jellemzőket figyelembe véve, minden tehen esetében 40%-os eséllyel választottunk „először ellett” státuszt. A tehenek életkorát gamma eloszlás szerint adtuk meg, a paritáscsoportokhoz tartozó hozzáadott minimum életkort, az átlagos életkort, ill. a szórást az országos adatok alapján állítottuk be.

Ezt követően minden egyes virtuális tehenhez egy diagnosztikai teszteredményt generáltunk a következő módon. Az ellésszám szerinti csoportokhoz (egyszer ellett vs. többször ellett) tartozó valódi prevalenciák között pozitív a korreláció, nem függetlenek egymástól (olyan telepen, ahol az egyszer ellett állatok az átlagnál fertőzöttebbek, általában a többször ellett állatok is fertőzöttebbek az átlagnál), így ezeket az országos adatokra épülő tanulmányban [27] kiszámított együttes poszterior eloszlás szerint, a korrelációt figyelembe véve határoztuk meg. A CWHP és az adott életkorhoz tartozó Se és az Sp ismeretében az (1) képlet alapján kiszámítottuk az AP-t. A tehenek teszteredményét AP valószínűséggel generáltuk pozitívnak.

EREDMÉNYEK**LEÍRÓ STATISZTIKA**

A tanulmányban priorként felhasznált információ 116 magyarországi tejelő tehenészet 55 594 tehenének tejalapú ELISA-teszt eredményéből származik. A medián állományméret 479 tehen (interkvartilis tartomány: 274–602). Az állomány méretének megoszlását a 6. ábra mutatja.

A látszólagos egyedi PTBC-prevalencia 6,01% és az állományok 96,6%-ában található pozitív teszteredményű állat. A látszólagos prevalencia a telepek 92,2%, 78,4%, 53,4%, ill. 19%-ában volt 1%, 2%, 5%, ill. 10%-nál nagyobb (1. táblázat).

A MODELL EREDMÉNYEI

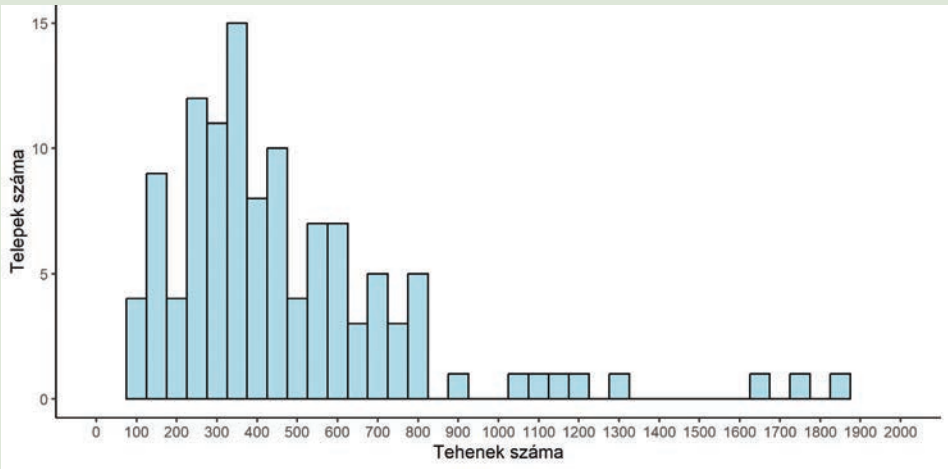
A modell eredményeit két szimulált telep elemzésével illusztráljuk. Az első telepen a fertőzés valódi szintje kicsi, a második telepen nagy (2-3. táblázat).

A két telepre kapott poszterior becslést a 7. és 8. ábrán láthatjuk.

A 7. és 8. ábrán a Bayes-i modell becslését, a poszterior eloszlást láthatjuk. A vízszintes tengelyen a betegség prevalenciája, a függőleges tengelyen az adott paraméterértékhez tartozó sűrűség látható. Annak a valószínűsége, hogy a valódi prevalencia egy adott intervallumba esik, megegyezik az adott intervallumban a görbe alatti területtel. A fekete függőleges vonal jelzi a poszterior eloszlás átlagát, a zöld értéktartomány a hozzá tartozó 95%-os kredibilis intervallum. Az ábrán kékkel jelöltük a látszólagos, pirossal a valódi prevalenciát.

6. ÁBRA. Állományméret megoszlása

FIGURE 6. Herd size distribution



1. Táblázat. Tejelő tehenek ELISA-teszt eredményei és látszólagos paratuberkulózis prevalencia (AP) Magyarországon 2019-ben

TABLE 1. Dairy cow ELISA test results and apparent paratuberculosis (AP) prevalence in Hungary in 2019

Telepméret	Egyszer ellett tehenek			Többször ellett tehenek			Összesen		
	N	+	AP (%)	N	+	AP (%)	N	+	AP (%)
100-300 tehén	2590	138	5,3	4073	444	10,9	6663	582	8,7
301-600 tehén	9361	271	2,9	13 472	1081	8	22 833	1352	5,9
>600 tehén	11 457	357	3,1	14 641	1052	7,2	26 098	1409	5,4
Overall	23 408	766	3,3	32 186	2577	8	55 594	3343	6

ELISA: Paratuberculosis Screening Antibody Test (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, USA), AP: látszólagos prevalencia, N: tesztek száma, +: pozitív tesztek száma
ELISA: Paratuberculosis Screening Antibody Test (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, USA), AP: apparent prevalence, N: number of tests, +: number of positive tests

2. Táblázat. Szimulált telepi adatok – 1. telep

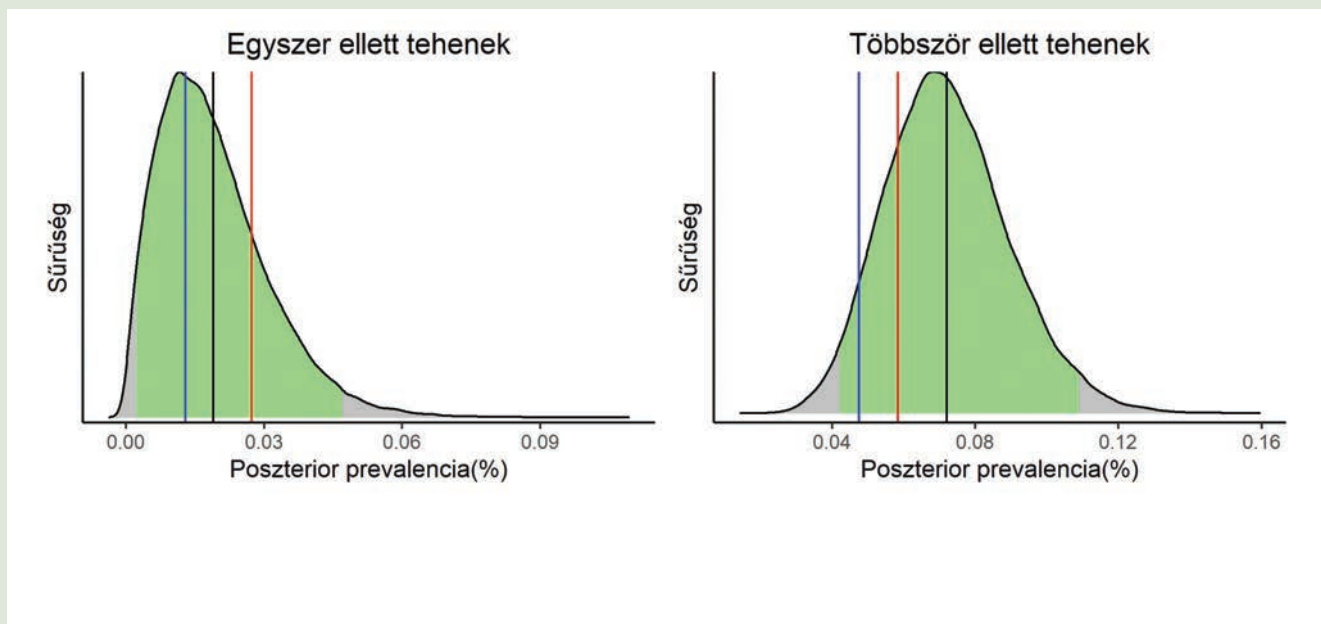
TABLE 2. Simulated herd data – Herd 1

1. telep	Létszám	Részarány (%)	Látszólagos prevalencia (%)	Valódi prevalencia (%)
Egyszer ellett	310	44	1,3	2,7
Többször ellett	400	56	4,8	5,8
Összesen	710	100	3,3	4,4

3. Táblázat. Szimulált telepi adatok – 2. telep

TABLE 3. Simulated herd data – Herd 2

2. telep	Létszám	Részarány (%)	Látszólagos prevalencia (%)	Valódi prevalencia (%)
Egyszer ellett	307	43	8,5	16,9
Többször ellett	475	67	19,6	28,3
Összesen	782	110	15,2	23,8

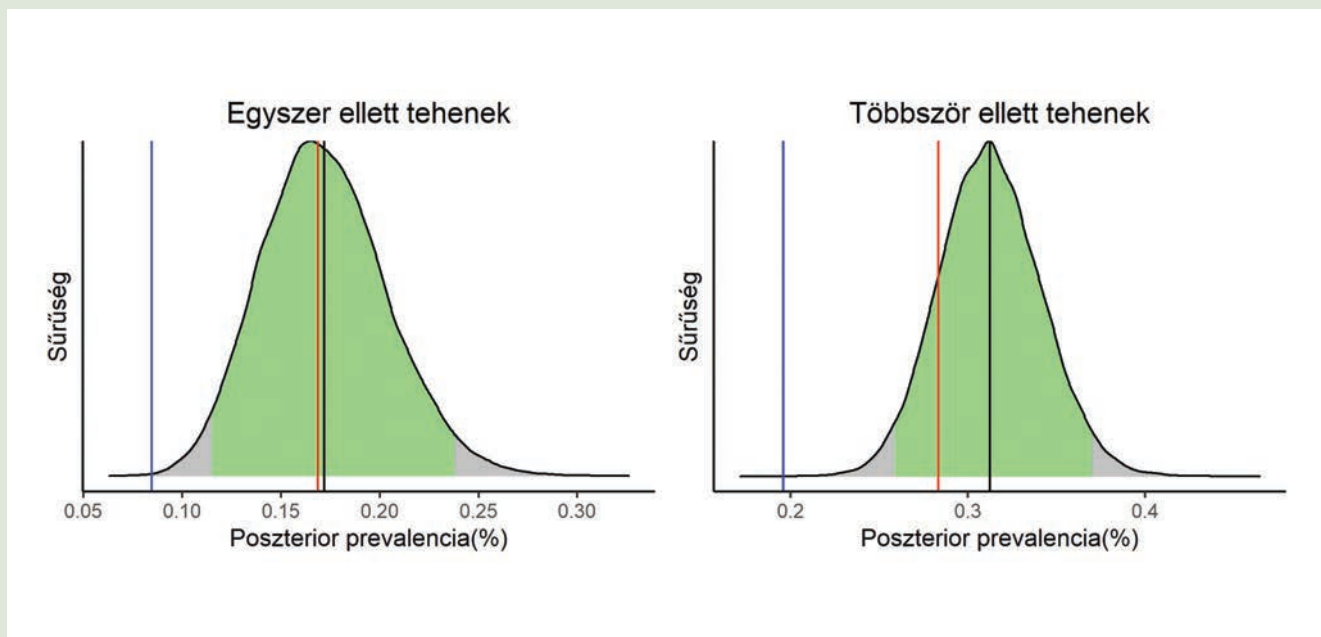


7. ÁBRA. Poszterior prevalencia becslés az 1. telepre

Piros függőleges: valódi prevalencia, fekete függőleges: poszterior átlag, kék függőleges: látszólagos prevalencia, fekete görbe: poszterior eloszlás, zöld értéktartomány: 95% kredibilis intervallum a valódi prevalenciára

FIGURE 7. Posterior prevalence estimation for Herd 1

Red vertical line: true prevalence, black vertical line: posterior mean, blue vertical line: apparent prevalence, black curve: posterior distribution, green range of values: 95% credible interval for true prevalence



8. ÁBRA. Poszterior prevalencia becslés a 2. telepre

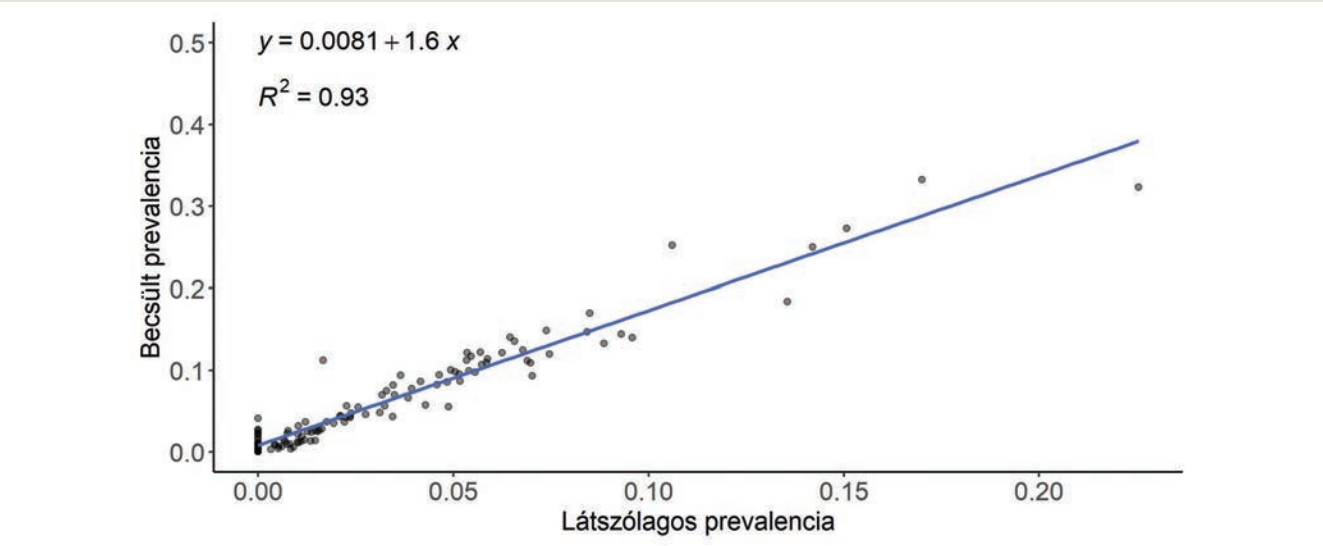
Piros függőleges: valódi prevalencia, fekete függőleges: poszterior átlag, kék függőleges: látszólagos prevalencia, fekete görbe: poszterior eloszlás, zöld értéktartomány: 95% kredibilis intervallum a valódi prevalenciára

FIGURE 8. Posterior prevalence estimate for Herd 2

Red vertical line: true prevalence, black vertical line: posterior mean, blue vertical line: apparent prevalence, black curve: posterior distribution, green range of values: 95% credible interval for true prevalence

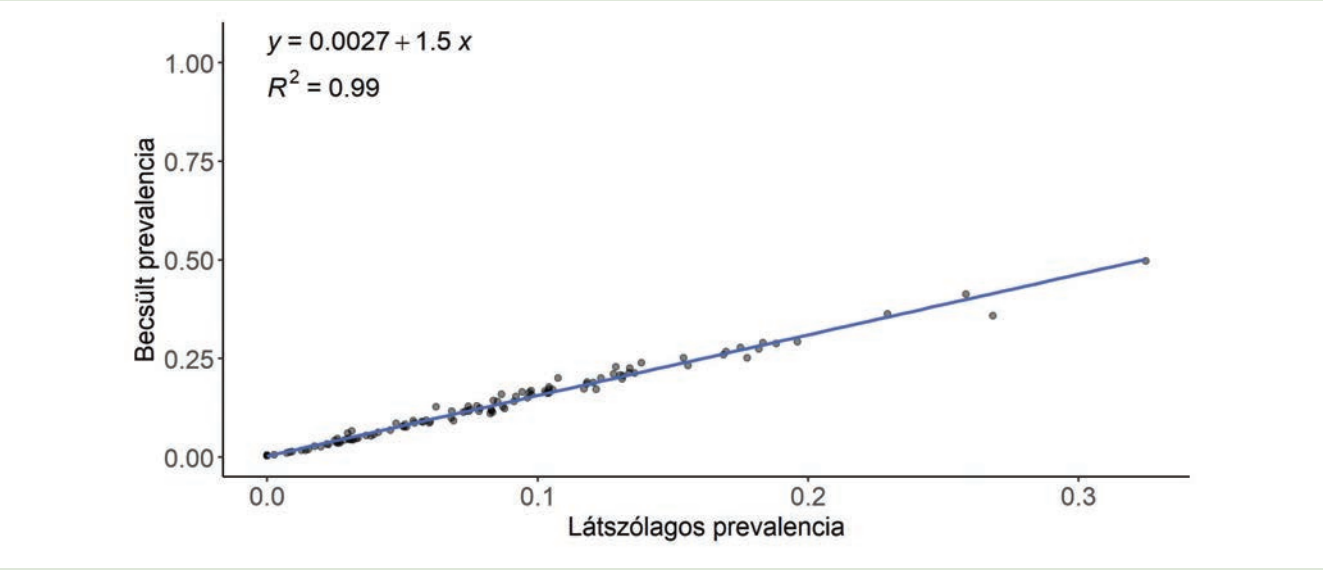
KÖZELÍTŐ MÓDSZER EGY ÁLLOMÁNY FERTŐZÖTTSÉGÉNEK BECSLÉSÉRE

A valódi telepek vizsgálatához a modellt lefuttattuk egyenként az összes tesztelt telepre és az eredményekre lineáris regressziót illesztettünk. A becsült valódi prevalenciát függő változónak, a nyers adatok alapján számított látszólagos prevalenciát magyarázó változónak tekintettük. A látszólagos (tesztek által mért) és a valódi prevalencia összefüggéseit a 9. és 10. ábra szemlélteti:



9. ÁBRA. Lineáris regresszió az egyszer ellett tehenek látszólagos és becsült valódi PTBC prevalenciájára a Bayes-i modell eredményei alapján

FIGURE 9. Linear regression of apparent and estimated true paratuberculosis prevalence of primiparous cows based on the results of the Bayesian model



10. ÁBRA. Lineáris regresszió a többször ellett tehenek látszólagos és becsült valódi PTBC prevalenciájára a Bayes-i modell eredményei alapján

FIGURE 10. Linear regression of apparent and estimated true paratuberculosis prevalence of multiparous cows based on the results of the Bayesian model

Egyszer ellett tehenek esetében a valódi prevalencia becsülhető a látszólagos prevalencia 1,6-szorosával, többször ellett teheneknél pedig 1,5-szörösével

A 9. és 10. ábráról leolvasható a regressziós egyenes egyenlete. A tengelymet-szet mindkét esetben nullához közeli, ezért a látszólagos prevalenciából egyszerű szorzással megkapható a valódi prevalencia becslése. Egyszer ellett tehenek esetében a valódi prevalencia becsülhető a látszólagos prevalencia 1,6-szorosával, többször ellett teheneknél pedig 1,5-szörösével.

SZIMULÁCIÓS VIZSGÁLAT

Az 500 szimulált telepen lefuttatott modell eredmények alapján az először ellett tehenek esetében a 95%-os kredibilis intervallum a telepek 90%-ára, míg többször ellettek esetében a telepek 87%-ára tartalmazta a valódi prevalenciát. A mintavételi százalékos csökkentésének szimulációs vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a csökkentés nem volt hatással arra, hogy a kredibilis intervallum az esetek hány százalékában tartalmazza a valódi paramétert. Ez a hányad mind az egyszer, mind a többször ellett tehenek esetében 90% körül maradt. Azonban a becslés pontossága romlik, a kredibilis intervallum szélessége a 11. ábrának megfelelően jelentősen megnő.



11. ÁBRA. A Bayes-i modell becsléseinek megbízhatósága a mintavételi arány változásával

FIGURE 11. Reliability of Bayesian model estimates at different sampling frequencies

A jobb oldalon feltüntetett százalékok a 95%-os kredibilis intervallum hosszát mutatják
The percentages on the right show the length of the 95% credible interval

A hazai állományokon belül a valódi PTBC-prevalenciát 8,4%-ra, ill. 15,8%-ra becsülték az egyszer és a többször ellett teheneknél

MEGVITÁTÁS

A különböző országok szarvasmarha-állományainak MAP-fertőzöttségét vizsgáló korábbi tanulmányok CWHP-becslései nem mutatnak egységes képet. Az éghajlat, a telepi menedzsment [33], az állomány mérete [34], az egyes fajták genetikai fogékonysága [35] és a vizsgált populáció kormegoszlása [36] mind befolyásolják a fertőzöttség mértékét. A becslések közötti eltérést tovább növelheti a modellezni kívánt állapot (fertőzött, fertőző vagy beteg), a mintavételi stratégiák, a biológiai minta (szövet, szérum, tej vagy környezeti ürülék), és a diagnosztikai teszt (ELISA, AGID, CFT, PCR) megválasztása is.

NIELSEN és TOFT átfogó tanulmánya szerint az állományokon belül a pozitív tesztelő tehenek részaránya 2,7–15% között mozog [37]. Az általunk prior információként használt CWHP-becslések összhangban vannak ezekkel az

eredményekkel. A prior információkat szolgáltató korábbi tanulmányunkban [27] a CWHP átlagát 8,4%-ra (6,6%; 10,4%) becsültük az egyszer ellett és 15,8%-ra (13,5%; 18,4%) a többször tehenek esetében. A medián CWHP 4,7% (3,2; 6,4%) volt az egyszer ellett és 12,4% (10%; 15%) a többször ellett tehenek esetében.

Mind az állatok MAP-fertőzésre való fogékonysága, mind pedig a fertőzés kimutathatósága életkorfüggő [36]. A modellben alcsoportként használt ellésszám az állomány természetes kategorizálása és erősen összefügg az állatok életkorával. Az állomány ellésszám szerinti bontása olyan többé-kevésbé homogén csoportokat eredményez, amelyekben jelentősen különböző fertőzési prevalenciát találunk. A pozitív ELISA-teszteredmény valószínűsége az egyszer ellett tehenek esetében két-háromszor kisebb, mint a többször ellett tehenek esetében [38, 39].

A Bayes-i modellünk látszólagos prevalenciát meghatározó képlete alapján a látszólagos és valódi prevalencia aránya az 1-et majdnem elérő specificitás esetén elsősorban a teszt szenzitivitásától függ [26]. A látszólagos és valódi prevalencia arányának vizsgálatához ezen felül számításba kell vennünk a szenzitivitás Meyer-képlet [31] által leírt életkorfüggését. A prior adatokat szolgáltató tanulmányban [27] az egyszer ellett tehenek túlnyomó többsége 2–3 éves, az életkor szórása kicsi, ezért a szenzitivitás ebben a kategóriában viszonylag stabil. Többször ellett tehenek esetében ugyan nagyobb az életkor szerinti szórás, viszont nagyobb életkor mellett a szenzitivitás a Meyer-képlet [31] alapján kevésbé függ az életkor változásától, heterogenitásától. A fentiekben leírtak szerint a valódi és a látszólagos prevalencia összefüggése lineáris és stabil, ezért jól becsülhető, a lineáris regresszió illesztése elméletileg megalapozott. Az általunk talált 1,5, ill. 1,6-os TP/AP arány nagyon hasonló VERDUGO és mtsai dániai kutatásában publikált egymást követő három évből, 2011, 2012 és 2013-ből származó, az összes tehenre vonatkozó 1,4, 1,5 valamint 1,5-os arányhoz [40].

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A bemutatott Bayes-i modellt az adott telepek adataira illesztve becslés kapható a fertőzés valódi állományon belüli prevalenciájára az egyszer ellett és a többször ellett tehenek körében. Amennyiben a Bayes-i modell alkalmazása nehézségekbe ütközik, a valódi prevalenciák hüvelykujjszabállyal becsülhetőek a látszólagos és a valódi prevalencia lineáris összefüggése és az országos felmérés eredményei alapján. Egyszer ellett tehenek esetében a valódi prevalencia becslése a látszólagos prevalencia 1,6-szorosa, többször ellett teheneknél pedig 1,5-szöröse. A telepi menedzsment számára meglepő és tanulságos lehet, hogy a tesztek által szolgáltatott nyers adathoz képes a valódi fertőzöttség jóval nagyobb. Ennek elsődleges oka a tehenek paratuberkulózisának kimutatására alkalmazott tejalapú ELISA-tesztek gyenge érzékenysége.

A Bayes-i modell által a prevalencia becslésére szolgáltatott alsó és felső értékhatár, az ún. intervallumbecslés abban az esetben is nagy valószínűséggel lefedi a valódi prevalenciát, ha csak a tehenek egy adott százalékát szűrjük, ám pontossága romlik, az intervallum hossza jelentősen nő a mintavételi százalék csökkenésével. A becslés kívánt pontosságának, vagyis az intervallum hosszának előre megadásával meghatározható, hogy a telepről az egyszer, ill. többször ellett tehenek hány százalékából kell mintát venni és diagnosztikailag megvizsgálni.

A fertőző betegségek elleni küzdelemben kulcsfontosságú a látszólagos és a tényleges prevalencia közötti különbség tudatosítása. A Bayes-i módszerek alkalmazása a valódi előfordulás becslésére, segítve a telepi döntéshozókat a fertőzés okozta károk felmérésében és a megfelelő megelőző, ill. védekezési intézkedések kidolgozásában. A szerzők tudomása szerint ez az első magyarországi, egyedi

**A fertőző betegségek
elleni küzdelemben
kulcsfontosságú
a látszólagos és a
tényleges prevalencia
közötti különbség
tudatosítása**

telepekre illeszthető Bayes-i modell az állományon belüli (egyedi szintű) valódi MAP-fertőzés becslésére, amely során hazai, országos PTBC-felmérésen alapuló priorokat használtunk. A modell eredményeire építve a valódi prevalencia becslésére egyszerűen használható módszert adunk azok számára is, akiknek nincs módjukban a modellt futtatni.

IRODALOM

- Hanson TE, Johnson WO, Gardner IA, Georgiadis MP (2003) Determining the infection status of a herd. *JABES* 8:469–485. <https://doi.org/10.1198/1085711032561>
- Sposato A, Fanelli A, Cordisco M, Trotta A, Galgano M, Corrente M, Buonavoglia D (2022) Bayesian estimation of prevalence of Johne's disease in dairy herds in Southern Italy. *Prev Vet Med* 199:105552. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105552>
- Ozsvári L, Lang Zs, Monostori A, Kostoulas P, Fodor I (2020) Bayesian estimation of the true prevalence of paratuberculosis in Hungarian dairy cattle herds. *Prev Vet Med* 183:105124. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105124>
- Verdugo C, Valdes MF, Salgado M (2018) Within-herd prevalence and clinical incidence distributions of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infection on dairy herds in Chile. *Prev Vet Med* 154:113–118. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.03.022>
- McAloon CG, Doherty ML, Whyte P, O'Grady L, More SJ, Messam L, Good M, Mullooney P, Strain S, Green MJ (2016) Bayesian estimation of prevalence of paratuberculosis in dairy herds enrolled in a voluntary Johne's Disease Control Programme in Ireland. *Prev Vet Med* 128:95–100. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.04.014>
- Lombard JE, Gardner IA, Jafarzadeh SR, Fossler CP, Harris B, Capsel RT, Wagner BA, Johnson WO (2013) Herd-level prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis infection in United States dairy herds in 2007. *Prev Vet Med* 108:234–238. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.08.006>
- Pozzato N, Capello K, Comin A, Toft N, Nielsen SS, Vicenzoni G, Arrigoni N (2011) Prevalence of paratuberculosis infection in dairy cattle in Northern Italy. *Prev Vet Med* 102:83–86. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.07.001>
- Rényi A (1989) Valószínűség-számítás, 5. kiad. Tankvk, Budapest
- McElreath R (2020) Statistical rethinking: a Bayesian course with examples in R and Stan, Second edition. CRC Press, Boca Raton
- Gelman A, Vehtari A, Dunson DB, Rubin DB, Stern HS, Carlin JB (2014) Bayesian data analysis, Third edition. CRC Press, Boca Raton
- Gill CJ, Sabin L, Schmid CH (2005) Why clinicians are natural bayesians. *BMJ* 330:1080–1083
- Lang Z, Reiczigel J (2014) Confidence limits for prevalence of disease adjusted for estimated sensitivity and specificity. *Prev Vet Med* 113:13–22. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.09.015>
- Hársfalvi P, Reiczigel J (2023) Profile likelihood confidence interval for the prevalence assessed by an imperfect diagnostic test. *Prev Vet Med* 214:105886. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2023.105886>
- Fodor I, Matyovszky B, Biczó A, Ózsvári L (2014) A paratuberkulózis kártétele és az ellene való védekezés egy hazai nagyüzemi holstein-fríz tehenészetben. *Magy Allatorvosok Lapja* 136:213–222
- Kudahl AB, Nielsen SS (2009) Effect of paratuberculosis on slaughter weight and slaughter value of dairy cows. *J Dairy Sci* 92:4340–4346. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2039>
- Smith RL, Strawderman RL, Schukken YH, Wells SJ, Pradhan AK, Espejo LA, Whitlock RH, Van Kessel JS, Smith JM, Wolfgang DR, Gröhn YT (2010) Effect of Johne's disease status on reproduction and culling in dairy cattle. *J Dairy Sci* 93:3513–3524. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2742>
- Lombard JE, Garry FB, McCluskey BJ, Wagner BA (2005) Risk of removal and effects on milk production associated with paratuberculosis status in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 227:1975–1981. <https://doi.org/10.2460/javma.2005.227.1975>
- Ozsvári L, Harnos A, Lang Z, Monostori A, Strain S, Fodor I (2020) The Impact of Paratuberculosis on Milk Production, Fertility, and Culling in Large Commercial Hungarian Dairy Herds. *Frontiers in Veterinary Science* 7:778. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.565324>
- Martins EG, Oliveira P, Oliveira BM, Mendonça D, Niza-Ribeiro J (2018) Association of paratuberculosis sero-status with milk production and somatic cell counts across 5 lactations, using multilevel mixed models, in dairy cows. *J Dairy Sci* 101:7638–7649. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13746>
- McAloon CG, Whyte P, More SJ, Green MJ, O'Grady L, Garcia A, Doherty ML (2016) The effect of paratuberculosis on milk yield—A systematic review and meta-analysis. *J Dairy Sci* 99:1449–1460. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10156>
- Pritchard TC, Coffey MP, Bond KS, Hutchings MR, Wall E (2017) Phenotypic effects of subclinical paratuberculosis (Johne's disease) in dairy cattle. *J Dairy Sci* 100:679–690. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11323>
- Jurkovich V, Bognár B, Balogh K, Kovács-Weber M, Fornyos K, Szabó RT, Kovács P, Könyves L, Mézes M (2016) Effects of subclinical *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis infection on some physiological parameters, health status and production in dairy cows. *Acta Vet Hung* 64:301–312. <https://doi.org/10.1556/004.2016.029>
- Ansari-Lari M, Haghighi M, Mahmoodi F (2012) Association of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infection with milk production and calving interval in Iranian Holsteins. *Trop Anim Health Prod* 44:1111–1116. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-0047-3>
- Johnson-Ifeorlundu YJ, Kaneene JB, Sprecher DJ, Gardiner JC, Lloyd JW (2000) The effect of subclinical *Mycobacterium paratuberculosis* infection on days open in Michigan, USA, dairy cows. *Prev Vet Med* 46:171–181. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(00\)00145-8](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(00)00145-8)
- Lang Z, Földi J, Ózsvári L, Reiczigel J (2013) Szeropozitivitás és prevalencia összefüggései hazai BHV-I- mentesítés adatainak járványtani elemzése alapján. *Magy Allatorvosok Lapja* 135:525–534
- Rogan WJ, Gladen B (1978) Estimating prevalence from the results of a screening test. *Am J Epidemiol* 107:71–76. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112510>

27. Veres K, Lang Z, Monostori A, Kostoulas P, Ózsvári L (2024) Bayesian latent class modelling of true prevalence in animal subgroups with application to bovine paratuberculosis infection. *Prev Vet Med* 224:106133. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2024.106133>
28. R Core Team (2021) R: A Language and Environment for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
29. Stevenson M, Nunes ES with contributions from T, Heuer C, Marshall J, Sanchez J, Thornton R, Reiczigel J, Robison-Cox J, Sebastiani P, Solymos P, Yoshida K, Jones G, Pirikahu S, Firestone S, Kyle R, Popp J, Jay M, Reynard C, Cheung A, Singanallur N, Szabo A, Rabiee A (2023) epiR: Tools for the Analysis of Epidemiological Data. <https://CRAN.R-project.org/package=epiR>
30. Christensen R, Johnson W, Branscum A, Hanson TE (2010) Bayesian Ideas and Data Analysis: An Introduction for Scientists and Statisticians. CRC Press, Boca Raton
31. Meyer A, Bond K, Van Winden S, Green M, Guitian J (2018) A probabilistic approach to the interpretation of milk antibody results for diagnosis of Johne's disease in dairy cattle. *Prev Vet Med* 150:30–37. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.11.016>
32. Stan Development Team (2023) RStan: the R interface to Stan. <https://mc-stan.org/>
33. Pavlik I, Bartl J, Dvorska L, Svastova P, du Maine R, Machackova M, Yayo Ayele W, Horvathova A (2000) Epidemiology of paratuberculosis in wild ruminants studied by restriction fragment length polymorphism in the Czech Republic during the period 1995–1998. *Vet Microbiol* 77:231–251. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(00\)00309-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(00)00309-6)
34. Whittington R, Donat K, Weber MF, Kelton D, Nielsen SS, Eisenberg S, Arrigoni N, Juste R, Sáez JL, Dhand N, Santi A, Michel A, Barkema H, Kralik P, Kostoulas P, Citer L, Griffin F, Barwell R, Moreira MAS, Slana I, Koehler H, Singh SV, Yoo HS, Chávez-Gris G, Goodridge A, Ocepek M, Garrido J, Stevenson K, Collins M, Alonso B, Cirone K, de Waard JH, et al. (2019) Control of paratuberculosis: who, why and how. A review of 48 countries. *BMC Vet Res* 15:198. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1943-4>
35. Mallikarjunappa S, Brito LF, Pant SD, Schenkel FS, Meade KG, Karrow NA (2021) Johne's Disease in Dairy Cattle: An Immunogenetic Perspective. *Front Vet Sci* 8:. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.718987>
36. Nielsen SS, Toft N, Okura H (2013) Dynamics of Specific Anti-Mycobacterium avium Subsp. paratuberculosis Antibody Response through Age. *PLOS ONE* 8:e63009. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063009>
37. Nielsen SS, Toft N (2009) A review of prevalences of paratuberculosis in farmed animals in Europe. *Prev Vet Med* 88:1–14. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2008.07.003>
38. McAloon CG, O'Grady L, Botaro B, More SJ, Doherty M, Whyte P, Saxmose Nielsen S, Citer L, Kenny K, Graham D, Green M (2020) Individual and herd-level milk ELISA test status for Johne's disease in Ireland after correcting for non-disease-associated variables. *J Dairy Sci* 103:9345–9354. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18018>
39. Nielsen SS, Enevoldsen C, Gröhn YT (2002) The Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis ELISA response by parity and stage of lactation. *Prev Vet Med* 54:1–10. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(02\)00008-9](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(02)00008-9)
40. Verdugo C, Toft N, Nielsen SS (2015) Within- and between-herd prevalence variation of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection among control programme herds in Denmark (2011–2013). *Prev Vet Med* 121:282–287. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.07.012>

Közlésre érkezik: 2024. jan. 31.

Cortotic®

VÁLTOZTASS SZEMLÉLETET AZ OTITIS KEZELÉSSEN!

Bemutatjuk a **Cortoticot**: csak kortikoszteroidot tartalmazó fülspray, kutyák külső hallójárat gyulladásának kezelésére*. Elsőként választható készítmény**, antimikrobiális** összetevők nélkül**.

A Cortotic forradalmian új módja az otitis externa* kezelésének, még mikrobiális túlszaporodás esetén is azért, hogy az elsődleges faktort, a gyulladást célozza**.**



*Heveny erihemato ceraminózus otitis externa kezelésére (SPC).

**Másodlagos baktérium- és élesztőgombaszám csökkenés volt megfigyelhető, antimikrobiális kezelés szükségételen.

Első választású kezelésként javasolt termék (SPC).

Shaping the future
of animal health

Virbac

The status of antimicrobial resistance in domestic poultry with different breeding purposes in Hungary between 2022-2023

F. Barnácz¹
Á. Kerek^{1,2*}
B. Csirmaz¹
I. L. Román¹
Cs. Gál¹
Á. Horváth¹
E. Hajduk¹
Á. Szabó¹
Á. Jerzsele^{1,2}
L. Kovács^{2,3,4}

1. Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, Állatorvostudományi Egyetem, H-1078 Budapest István u. 2.

2. Fertőző Állatbetegségek, Antimikrobiális Rezisztencia, Állatorvosi Közegészségügy és Élelmiszerlánc-biztonság Nemzeti Laboratóriuma, Állatorvostudományi Egyetem, Budapest

3. Állathigiéniai, Állomány-egészségtani Tanszék és Mobilklinika, Állatorvostudományi Egyetem, Budapest

4. Poultry-Care Kft., Újszász

*e-mail: kerek.adam@univet.hu

Antimikrobiális rezisztencia hazai nagylétszámú házityúk-állományokban, hasznosítási irányok alapján 2022-2023 között

Barnácz Franciska¹, Kerek Ádám^{1,2*}, Csirmaz Bence¹, Román István László¹, Gál Csaba¹, Horváth Áron¹, Hajduk Eszter¹, Szabó Ábel¹, Jerzsele Ákos^{1,2}, Kovács László^{2,3,4}

ÖSSZEFOGLALÁS

Az antimikrobiális rezisztencia (AMR) globális terjedése komoly fenyegetést jelent az állat- és közegészségügyre, amely a rendszeres és átfogó AMR-felmérések fontosságát hangsúlyozza. A szerzők jelen kutatásának célja a magyarországi házityúkállományok AMR-helyzetének felmérése volt, különös tekintettel az állategészségügy szempontjából fontos antibiotikumokra. A minimális gátló koncentrációk meghatározása alapján összehasonlítottuk a húshasznú, az árutójás-termelő és a tenyészállományok rezisztenciahelyzetét, ahol a húshasznú állományok mutatták a legmagasabb rezisztenciaszintet. A hasznosítási típusok közötti összehasonlítás szignifikáns különbségeket tárt fel.

SUMMARY

Background: Antimicrobial resistance (AMR) represents a significant contemporary challenge, necessitating national action plans complemented by continuous and targeted monitoring efforts. The critical need for such monitoring is especially pronounced for pathogens that pose a substantial risk to both animal and public health, within varied geographical contexts.

Objectives: This study aimed to evaluate the susceptibility of key pathogenic bacteria – *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Escherichia coli* – to essential antimicrobial agents. These bacteria were selected due to their significant impact on animal health and their potential threat to public health, underscoring the importance of understanding their resistance patterns in large domestic flocks.

Materials and Methods: In several predefined regions in Hungary, we collected fifteen tracheal and fifteen cloacal swab samples from at least three sites per region. This extensive sampling facilitated the isolation of bacterial strains, whose sensitivity was subsequently assessed through minimum inhibitory concentration (MIC) determination. The resultant data were then analyzed to discern any significant variances in resistance patterns in different types of livestock utilization.

Results and Discussion: Our findings revealed marked differences in AMR profiles, particularly between meat-producing herds and others. Notably, vancomycin resistance of *Staphylococcus* from breeding herds reached 19.7%, highlighting a potential health crisis. Resistance to amoxicillin and neomycin was generally low, under 20%. *Enterococcus* showed a drastic 91.6% resistance to spectinomycin in meat flocks, contrasted with 23.3% in breeding flocks. Sulphonamide resistance was significantly varied, peaking in breeding flocks at 83.6%. *Escherichia coli* resistance to several antibiotics was significantly higher in meat herds than in breeding herds, underscoring the need for targeted interventions. The pronounced AMR variances in different types of livestock underline the necessity for tailored surveillance and interventions. Our study sheds light on the AMR scenario within Hungary's agricultural sector, offering insights for developing more nuanced AMR management and control strategies.

BAROMFI

A legóvatosabb becslések szerint 2050-re az antimikrobiális rezisztencia évente 10 millió ember halálát okozhatja. O'NEILL és mtsai 2016-ban kb. 700 000 főre becsülték az ehhez köthető halálesetek számát [1], míg MURRAY és mtsainak a kutatása szerint 2019-ben az antimikrobiális rezisztenciához köthető halálesetek száma már 4 950 000, a közvetlenül ehhez köthető esetszám pedig 1 270 000 volt [2]. Ennek a jelenségnek a növekedése szoros összefüggésben áll a mezőgazdaságban történő széleskörű antibiotikumfelhasználással, ami elősegítette a rezisztens baktériumtörzsek és a velük összefüggő rezisztenciagének terjedését [3]. Kutatásunk célja a baromfiállományokban előforduló, állat- és közegészségügyi szempontból jelentős kommenzalista baktériumtörzsek antimikrobiális rezisztenciaprofiljának felmérése volt, különös tekintettel a baromfiiparban gyakran használt, valamint a közegészségügy szempontjából releváns antibiotikumokra. Habár a kommenzalista törzsek megbetegedést nem okoznak, antibiotikumrezisztencia-géneket képesek átadni kórokozó baktériumoknak, korlátozva ezzel a terápiás lehetőségeinket. Eredményeinkkel hozzá kívánunk járulni az antimikrobiális kezelési protokollok hatékonyabbá tételéhez és az antibiotikumrezisztencia terjedésének megelőzéséhez.

**Becslések szerint
2050-re az
antimikrobiális
rezisztencia évente
10 millió ember
halálát okozhatja**

A HÁZITYÚK GAZDASÁGI JELENTŐSÉGE

**A világ házityúk-
állománya
1990 óta több mint
kétszeresére nőtt**

A baromfiágazat az állattenyésztés egyik leggyorsabban növekvő ágazata. A világ házityúkállománya 1990 óta több mint kétszeresére nőtt. 2022-ben mintegy 26,56 milliárd házityúkot tartottak a világon gazdasági célból [4]. A baromfihús-fogyasztás gyakorlatilag minden országban folyamatos növekedést mutat és jelentős szerepet játszik számos fejlődő ország, köztük Kína és India nemzeti étrendjében. A *Food and Agriculture Organisation* (FAO) adatai szerint 2030-ra várhatóan a baromfihús teszi majd ki az összes állati eredetű fehérjefogyasztási forrás 41%-át [5]. A FAO 2022-es kimutatása szerint a világ hústermelése 2020-ban 337 millió tonna volt, ami 45%-os növekedést jelent a 2000-es évhez viszonyítva, ennek több mint felét a csirkehús tette ki [6]. Az Európai Unió (EU) 2018-ban mintegy 15 millió tonna baromfihúst állított elő. A baromfiágazat 2018-ban az EU teljes mezőgazdasági termelésének 5%-át (432,6 milliárd euró), a tojástermelés pedig a 2,4 %-át tette ki [7].

AZ ANTIMIKROBIÁLIS REZISZTENCIA HELYZETE A HÁZITYÚKBAN

Az állattenyésztésben az ágazatonkénti antibiotikumfelhasználás mennyiségét tekintve a baromfiipar a második helyet foglalja el, egyedül csak a sertéságazat előzi meg [8, 9]. A *Staphylococcus* fajok olyan Gram-pozitív baktériumok, amelyek széles gazdaspektrummal rendelkeznek, és számos különböző helyen képesek megtelepedni, mint pl. az emberek felső légutában, a madarak orrgaratüregeiben, bőrén vagy akár a nyálkahártyáin is [10, 11], bőrfertőzéseket, tályogokat, ételmérgezést, toxikus sokk szindrómát, vérmérgezést, szívbelhártya-gyulladást és tüdőgyulladást okoznak [12–14], továbbá petevezető-gyulladást, gangrénás bőrgyulladást és helyi tályogokat képesek kialakítani, a vérkeringésbe bejutva ízületgyulladást, ill. csontvelőgyulladáshoz társuló porcelhalást okozhatnak [15–17]. Baromfifélékben előfordulnak még a takarmányban és az istállók berendezési tárgyain is. A meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) törzseknek az állatállományokhoz kapcsolódó ún. *livestock-associated* (LA) MRSA törzseinek zoonotikus tulajdonsága globális jelentőségű [18–20]. Az emberek fertőződése elsősorban élelmiszeren keresztül történik, a legfontosabb keresztzennyező-

**MRSA törzsekkel
leginkább nem
megfelelően hőkezelt
baromfihús-
készítménnyel
fertőződnek az emberek**

Az *Enterococcus* fajok oppurtunista, folyamatosan növekvő klinikai jelentőségű Gram-pozitív baktériumok

A colibacillosis a baromfiágazaton belül az egyik legjelentősebb oka a megnövekedett mortalitásnak, a gyógyszerköltségeknek és a vágóhídi kobzásoknak

dési forrás a nyers vagy a nem megfelelően hőkezelt hús fogyasztása [21, 22]. Egy felmérés alapján Tunéziában a nyers csirkehús 1,2%-a volt MRSA-pozitív, Egyiptomban pedig a kiskereskedelmi nyers csirkehúsok 38%-a volt *mecA* gént hordozó MRSA [23] és Algériában is leírták már a nyers élelmiszerek esetén a megjelenését [24].

Az *Enterococcus* fajok az állatok és az emberek bélmikrobiótájának részét képezik, oppurtunista, Gram-pozitív baktériumok, klinikai jelentőségük folyamatos növekedést mutat. Baromfifélékben ízületi gyulladást, porckoronggyulladást, csontvelőgyulladást, a porckorong feloldódását és combcsontfej-elhalást okozhatnak [25–27]. Ezen kívül összefüggésbe hozták szívbelhártya-gyulladással, hasvízkórral és kisvérköri magas vérnyomással, valamint szisztémás amiloidózissal járó ízületi bántalommal [28, 29]. Fiatal csirkékben kimutatták a vérpályából és központi idegrendszeri elváltozásokból is [30]. Az elmúlt 50 évben egyre jelentősebbé váló gyógyszer-rezisztenciájuk világszerte a kórházi fertőzések egyik fő okozójává emelte ki őket [31, 32]. Különösen aggasztó a vankomicinnel szemben rezisztens *Enterococcus* törzsek globális terjedése. Az Európai Antimikrobiális Rezisztencia Felügyeleti Rendszer (EARSS) arról számolt be, hogy a klinikai vankomicinnel szemben rezisztens *Enterococcus faecium* prevalenciája Európában a 2015-ös 10,5%-os szintről 2018-ra 17,3%-ra emelkedett [33].

Az *Enterobacteriaceae* családba tartozó *Escherichia coli* (*E. coli*) egy Gram-negatív baktérium. A csirkék bélcsatornáját kolonizáló törzsek többsége kommenzalista, a normális bélmikrobiom részét képezi. Néhányuk madárpatógén, amelyeket avian pathogenic *E. coli* (APEC) törzseknek neveznek, amely törzseket az extraintesztinális patógén *E. coli* (ExPEC) csoportba sorolnak [34–36]. Az APEC törzsek okozta colibacillosis világszerte a baromfiágazaton belül az egyik legjelentősebb oka a megnövekedett mortalitásnak, a gyógyszerköltségeknek és a vágóhídi kobzásoknak [37]. Globális probléma az úgynevezett Új-Delhi metallo- β -laktamáz-termelő törzsek terjedése, amelyek képesek hidrolízis útján bontani a penicillineket, a cefalosporinokat és a karbapenemeket, azonban a monobaktámokat nem, a β -laktamáz inhibitorok pedig hatékonyak velük szemben [38]. A globális surveillance-program részeként felmért törzsek 19,4%-a bizonyult karbapenemáz-pozitívnak [39], Kínában 31%-os [40], Európában pedig 10,3%-os arányt mutattak ki [41].

Az *Enterococcus* fajok vankomicin-rezisztenciája összefüggésbe hozható a glikopeptid antibiotikumok közé tartozó avoparcin 1975-ös hozamfokozóként történő alkalmazásának bevezetésével [42], amelyet elsősorban brojlercsirkéknél és pulykáknál alkalmaztak széles körben [43, 44]. Ennek használata kereszt-rezisztencia kialakulását eredményezte a vankomicin hatóanyaggal szemben, amely megmutatkozott a vankomicinnel szembeni rezisztens *Enterococcus* (VRE) törzsek arányának folyamatos növekedésében [45]. Azokban az országokban (pl. Egyesült Államok), ahol nem engedélyezték a használatát, egészen 2008-ig nem izoláltak VRE törzset haszonállatból. A VRE törzsek széleskörű terjedésének következtében betiltották az avoparcin hozamfokozóként való felhasználását, ezt követően ugyan a VRE törzsek aránya elkezdett csökkenni, de teljesen nem tűnt el [46]. Fennmaradásuk azzal magyarázható, hogy a leggyakrabban sertésekénél, de baromfinál is alkalmazott tilozin részt vesz mindkét hatóanyaggal szemben a rezisztenciagének szelekciójában, ugyanis gyakran ugyanazon plazmidon találhatók meg [46].

Különösen nagy házityúk esetén az aminoglikozid-rezisztencia mértéke. Kanamicin esetén már 1985-ben 62%-os, sztreptomycin esetén pedig 64%-os rezisztenciát írtak le [47]. Brojlercsirkék esetén kiskereskedelmi csirkehúsmin-tákból kimutatták az MRSA jelenlétét [48], ami a vágóhidakon vett mintákban is jelen volt [49]. Egy 1998–2016-os időszakot felölelő holland, *E. coli* rezisztenciát vizsgáló tanulmány megállapította, hogy a legtöbb vizsgált hatóanyaggal szembeni rezisztencia mértéke 2010-től csökkenni kezdett. Azonban aggasztó,

hogy pl. Hollandiában egészen 2010-ig (*off label*) megelőzés céljából használtak ceftiofur hatóanyagot naposcsibékben, valamint keltető üzemekben tojásba oltva, hiszen a cefalosporin hatóanyagokkal szembeni rezisztencia széleskörű és gyors terjedését eredményezte [50]. Az Európai Unió élelmiszertermelő állatokban történő antimikrobiális rezisztencia monitorozásának törekvései eredményeként 2020-ban kimutatták, hogy a kolisztinnel szemben rezisztens törzsek aránya nagyon kicsi, a fluorokinolonokkal szembeni rezisztencia viszont kritikus mértékű (brojlercsirkéknél ciprofloxacinnra 60,7%, nalidixavra 51,8%), ceftazidim és cefotaxim esetén pedig 0,5%-os és 0,4%-os, rezisztenciát írtak le. Brojlercsirkéknél a kiterjedt spektrumú béta-laktamázt (extended spectrum beta lactamase, ESBL) termelő törzsek aránya 1%-os, a béta-laktamáz túltermelésért felelős *ampC* gén jelenléte pedig 0,3%-os. A multirezisztens (MDR) törzsek brojlercsirkékben 38,7%-os, gyakorisággal fordultak elő [51].

Az antimikrobiális rezisztencia szempontjából a házityúk élettani sajátosságait is fontos kiemelni a szájon keresztül történő antibiotikumadagolás tekintetében. A begy pH-értéke 4,5 körüli, ami savasabb a pulykák (pH 6,0) begyéhez képest [52]. Ez a tetraciklin hatóanyagok esetén előnyös, hiszen megakadályozza kicsapódásukat. A *Lactobacillus* fajok nagyobb arányban való jelenléte azonban megzavarhatja a makrolidok felszívódását, mivel képesek metabolizálni ezeket a hatóanyagokat [53]. A felnőtt csirkék bélmikrobiótájának jelentős részét a *Lactobacillus* fajok teszik ki, ami a makrolidok, linkóزامidok és sztreptograminok fokozott metabolizációját vonja maga után. Ezen kívül az enterocyták is gazdagok citokróm P-450 enzimekben, különösen a CYP3A-ban, ami a makrolidok és a linkóزامidok esetén jelentős *first pass* metabolizmus révén érvényesül, ezáltal csökkentve azok biológiai hasznosulását [54]. A duodenumban, a jejunumban és az ileumban található bélhámsejtek apikális felszínén pedig p-glikoprotein effluxpumpák találhatók, amelyek megzavarhatják a fluorokinolonok, az oxitetraciklin, a doxiciklin és kisebb mértékben a makrolidok emésztőcsatornán keresztüli felszívódását [55].

ANYAG ÉS MÓDSZER

A MINTÁK EREDETE

Vizsgálataink során Magyarország hét régiójából, régióként legalább három nagylétszámú állattartó telepről 2022–2023 között gyűjtöttünk kommenzalista *Staphylococcus*, *Enterococcus* és *E. coli* törzseket. A minták gyűjtése a telepek beleegyezésével, az Állathigiéniai és Állomány-egészségtani Tanszék közreműködésével, a telepet ellátó állatorvosok egyéb diagnosztikai célú mintavétele során a szakma szabályainak megfelelően történt. Az állattartó telepek anonim módon vettek részt a mintaszolgáltatásban. Telepenként 15 db légcső- és 15 db kloákatampon-minta begyűjtése Amies-típusú (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország), szén nélküli, normál alumíniumpálcás mintavevő segítségével történt. A fajok izolálását az Állatorvostudományi Egyetem Gyógyszertani és Méregtani Tanszékének Mikrobiológiai Laboratóriumában végeztük. A *Staphylococcus* törzsek izolálása CHROMagar™ *Staph aureus* (Chebio Fejlesztő Kft., Budapest, Magyarország), az *E. coli* törzsek izolálása ChromoBio® Coliform (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország) és az *Enterococcus* törzsek izolálása m-*Enterococcus* modified Agar (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) táptalajok segítségével történt. Az izolált telepeket tripton-szója agarra (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország) oltottuk át, majd szintenyészetként Microbank™ rendszerben (Pro-Lab Diagnostics, Richmond Hill, Kanada) –80 °C-on fagyasztottuk le felhasználásig. A mintagyűjtés során minden minta egyedi azonosító számot kapott, felje-

A szerzők
Magyarország hét
régiójából, származó
nagylétszámú
állattartó telepről
2022–2023
között gyűjtöttek
kommenzalista
Staphylococcus,
Enterococcus és
E. coli törzseket

gyeztük, hogy milyen szervből (légcső, kloáka), milyen hasznosítási típusból (tenyész, tojó, brojler), milyen életkorból (növendék, felnőtt) és milyen nagyságú állományból származott (5001–50000, 50001–100000, >100000).

**Mikroleves hígítási
módszerrel
határozták meg a
törzsek antibiotikum-
érzékenységét**

A MINIMÁLIS GÁTLÓ KONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁSA

A vizsgált hatóanyagokból (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) a törzsolatok elkészítéséhez a *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) ajánlását követtük [56]. Az amoxicillin és amoxicillin-klavulánsav (2:1 arány) hatóanyagokat (pH 7,2, 0,01 mol/L), valamint az imipenem hatóanyagot (pH 6, 0,1 mol/L) foszfátpuffer-oldatban oldottuk fel. A ceftriaxont, doxiciklint, spektinomocint, neomicint, kolisztint, tiamulint, tilozint, linkomicint és vankomicint desztillált vízben oldottuk fel. A potenciált szulfonamid (trimetoprim és szulfametoxazol 1:19 arányban) elkészítése során a szulfametoxazolt forró vízben néhány csepp 2,5 mol/L NaOH-val oldottuk fel, míg a trimetoprimot 0,05 mol/L HI-lel desztillált vízben oldottuk fel. Az enrofloxacin néhány csepp 1 mol/L NaOH-oldattal desztillált vízben készítettük el. A florfenikolt pár csepp 95%-os etanol és desztillált víz segítségével oldottuk fel. A vizsgálatokhoz 1024 µg/ml koncentrációjú törzsolatot készítettünk, korrigálva az egyes hatóanyagok gyártó által meghatározott tisztaságára.

A törzsek érzékenységvizsgálatát minimális gátló koncentráció (minimal inhibitory concentration, MIC) érték meghatározással, a CLSI módszertana szerint végeztük el, a rezisztencia mértékének megállapításához szükséges határértékeket a CLSI [56] és a *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) irányelvei alapján határoztuk meg [57].

A mikrobankrendszerben tárolt baktériumtörzseket a vizsgálatot megelőző napon 3 ml Müller–Hinton-levesbe (MHB) oltottuk ki, majd 37 °C-on 18–24 órán keresztül inkubáltuk. A vizsgálatokat 96 lyukú mikrotiter lemezek (VWR International Kft., Debrecen, Magyarország) segítségével végeztük. A munkalemezek első oszlopának kivételével a lyukakat 90 µl MHB-vel töltöttük fel. Ezt követően elkészítettük a hatóanyag törzsolatok kettes alapú hígítási sorát MHB-vel, így minden esetben 512 µg/ml koncentrációt kaptunk, amit az első oszlop lyukaiba mértünk 180 µl mennyiségben. Ezt kettes alapon hígítottuk tovább a lemezen, úgy, hogy 90 µl elegyet a második oszlopba mértünk, alaposan elkevertük, majd ebből 90 µl -t tovább mértünk, és így tovább egészen a munkalemez 10. oszlopáig, ahol a szuszpendálást követően a felesleges 90 µl-t a pipettaheggyel együtt eldobtuk, így minden oszlopban 90 µl szuszpenziót kaptunk. A munkalemezek egy sor egy baktériumtörzs vizsgálatára szolgált. Egy segédlemezen elkészítettük a 0,5 McFarland-értékre beállított baktériumszuszenziót. A kettes alapú hígítási sort tartalmazó lemezek 11. oszlopától kezdve haladva visszafelé minden lyukba 10 µl baktériumszuszenziót pipettáztunk a segédlemezről. A 11. oszlop pozitív kontrollként szolgált (csak baktériumszuszenziót és levest tartalmazott), a 12. oszlop pedig negatív kontrollként (csak levest tartalmazott) funkcionált. A munkalemezeket ezt követően 18–24 órán keresztül 37 °C-on inkubáltuk, majd az értékelést SWIN automata MIC-leolvasó (CheBio fejlesztő Kft., Budapest, Magyarország) és VIZION rendszer (CheBio fejlesztő kft., Budapest, Magyarország) segítségével végeztük el.

Az értékelés során meghatároztuk a többszörös gyógyszer-rezisztenciával rendelkező törzsek arányát. Az MDR törzsek minimum három antibiotikumcsoporton belül legalább egy hatóanyaggal szemben rezisztens törzsek; a kiterjedt gyógyszerrezisztens törzsek (*extensively drug-resistant*, XDR) közé soroljuk a maximum egy vagy két antibiotikumcsoportra érzékeny törzseket, amelyek ezen a csoporton belül legalább egy hatóanyagra rezisztensek; a pánrezisztens törzsek (*pandrug-resistant*, PDR) közé pedig az összes vizsgált antibiotikumcsoporttal szemben rezisztens törzsek tartoznak [58].

**Meghatározták
a többszörös
gyógyszer-
rezisztenciával
rendelkező
törzsek arányát**

STATISZTIKA

Az adatok statisztikai elemzését az R program 4.1.0 verziójának segítségével végeztük. A normális eloszlást Shapiro–Wilk-tesztel néztük, a normális eloszlást nem követő adatokat nem parametrikus tesztekkel vizsgáltuk tovább. Az egyes hatóanyagok rezisztenciájának mértékében a hasznosítási irányok szerinti különbségek elemzésére a Kruskal–Wallis-tesztet alkalmaztuk. Ez a teszt nem feltételezi az adatok normális eloszlását, és alkalmas arra, hogy összehasonlítsa több mintaegyüttes mediánját, ami ideális a különböző csoportok (jelen esetben a hasznosítási irányok) közötti különbségek elemzésére. Ezt követően további poszt hoc tesztet alkalmaztunk a csoportok közötti pontos összefüggések meghatározására. Ehhez Mann–Whitney U-tesztet alkalmaztunk, páronként minden egyes hasznosítási típust összehasonlítottunk, majd a Bonferroni-korrekcióval korrigáltuk a többszörös összehasonlításokból adódó inflálódott p-értékeket. A Bonferroni-korrekció alkalmazása előtt szem előtt kell tartani, hogy növelheti a másodfajú hiba esélyét (a valós különbségek észlelésének elmulasztása). Hasznosítási irányonként és hatóanyagonként az adatok átlagát, mediánját, a kvartiliseket és az adatok szórását dobozdiagramon ábrázoltuk. Ez lehetővé tette hasznosítási irányonként az adatok átlagának és mediánjának egyszerű összehasonlítását.

EREDMÉNYEK

Összesen az országból nyolc húshasznú (brojler), nyolc árutojás-termelő és hét tenyésztőtelepről származtak a minták. *Staphylococcus* esetén 227 törzset izoláltunk, amelyek közül 81 törzs húshasznú telepekről, 85 törzs árutojás-termelő telepekről és 61 törzs tenyésztőtelepekről származott. A vizsgálatok során 499 *Enterococcus* törzset izoláltunk, ezek közül 179 törzs húshasznú telepről, 204 törzs árutojás-termelő telepről és 119 törzs tenyészállományból lett izolálva. *E. coli* esetén összesen 410 törzset izoláltunk, amelyek közül 185 törzs húshasznú telepről, 127 törzs árutojás-termelő telepről és 98 törzs tenyészállományból került ki. A mintavételi helyek regionális megoszlását hasznosítási típusonként az 1. ábra szemlélteti.

1. ÁBRA. A mintavételi helyek regionális megoszlása hasznosítási típusonként. Régióként minimum három mintavételi pontról, összesen nyolc húshasznú (brojler), nyolc árutojás-termelő és hét tenyész tyúk telepről történt a minták begyűjtése

FIGURE 1. Regional distribution of sampling sites by land use type. A minimum of three sampling points per region were sampled, for a total of eight meat farms, eight commodity egg farms and seven breeding farms



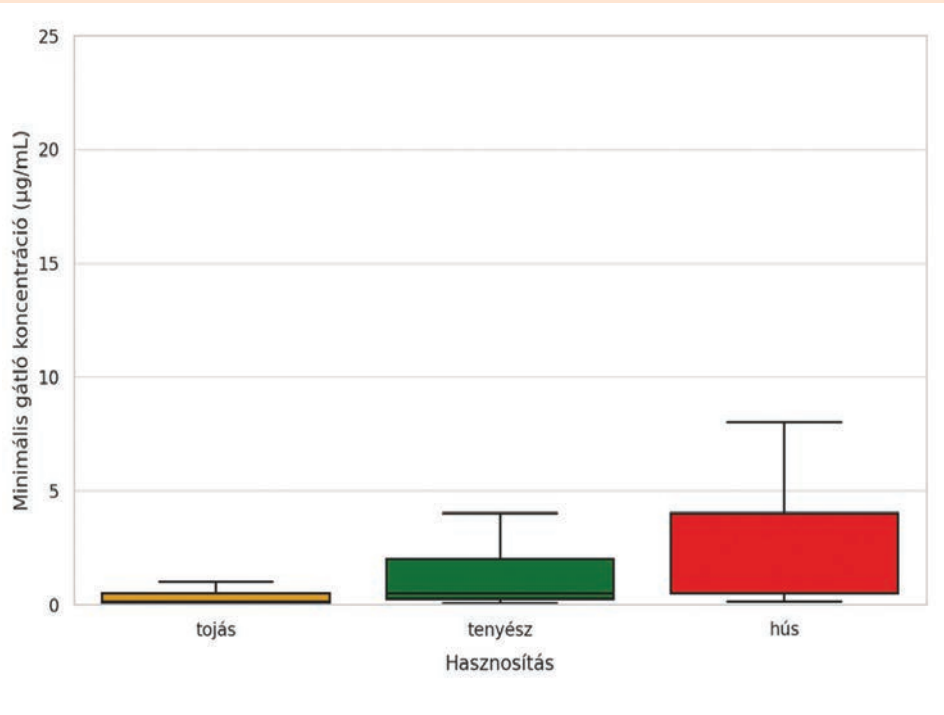
STAPHYLOCOCCUS TÖRZSEK

A *Staphylococcus* törzsek esetén elvégeztük a törzsek MIC-értékének meghatározását, majd első körben eredményeinket dobozdiagramokon ábrázoltuk így könnyen össze tudtuk hasonlítani a szórást. A hatóanyagok közül az amoxicillin dobozdiagramját a 2. ábra szemlélteti. A hatóanyagra nézve a legnagyobb szórást a húshasznú állomány mutatta, általánosságban a tojóállományokban volt a legkisebb a rezisztencia százalékos mértéke. Tiamulin és linkomicin esetén minden

2. ÁBRA. A *Staphylococcus* törzsek amoxicillin hatóanyaggal szemben tapasztalt MIC-értékeinek ábrázolása dobozdiagram segítségével

Az eredmények a húshasznú állományok esetén jóval nagyobb szórást mutatnak, azonban a rezisztencia mértéke a tenyészállományokban volt a legnagyobb

FIGURE 2. Representation of MIC values of *Staphylococcus* strains against amoxicillin using a box plot
The results show a much larger variance in the meat flocks, but the resistance rate was in highest in the breeding flocks



hasznosítási típusban kiugróan nagy volt a rezisztencia mértéke. Vankomicinnel szemben a tenyészállományokban 19,7%-os rezisztenciát figyeltünk meg. Az egyes hatóanyagok hasznosítási típusonként megállapított rezisztenciamértékét a 3. ábra szemlélteti hőképp (heatmap) formájában. Ennek segítségével könnyen összehasonlíthatók a rezisztencia arányok, és azonosíthatók azok a hasznosítási típusok, ahol az antibiotikumrezisztencia kiemelkedően nagy.

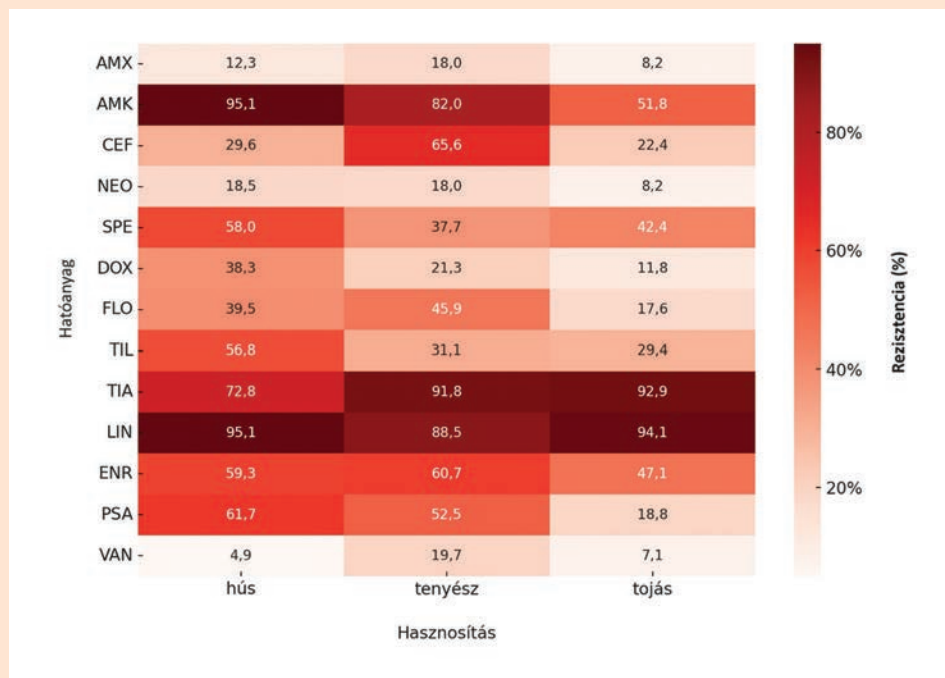
A Shapiro-Wilk-teszt alapján a MIC-értékek nem mutattak normális eloszlást egyik hatóanyag esetében sem. Ez azt jelenti, hogy a vizsgált törzsek MIC-értékei eltérést mutatnak a normál eloszlástól minden antibiotikum esetében. Mivel az adatok nem követnek normális eloszlást, nem parametrikus tesztek alkalmazhatók a különbségek vizsgálatához. A Mann-Whitney U-teszt során kapott p-értékek, minden hatóanyagra nézve és a különböző hasznosítási csoportok összehasonlítását követően azt mutatták, hogy a legtöbb hatóanyag esetén szignifikáns különbség ($p < 0,05$) tapasztalható a hasznosítási típusok között. Nem volt szignifikáns a különbség az enrofloxacin, a linkomicin, a neomicin hatóanyagok között egyik hasznosítási típus között sem.

Random forest modell segítségével vizsgáltuk, hogy a vankomicin-rezisztencia előre jelezhető-e, a modell pontossága 97,1% volt az adatkészlet alapján. Fontosági sorrendben az amoxicillin, a florfenikol és a tilozin hatóanyagokkal szembeni rezisztencia mutatta a legnagyobb összefüggést a vankomicin-rezisztenciával. Ez azt feltételezi, hogy az amoxicillin-, a florfenikol- és a tilozin-rezisztencia esetében nagyobb az esélye a vankomicin-rezisztencia egyidejű kialakulásának.

3. ÁBRA. A vizsgált hatóanyagok esetén hasznosítási irányonként tapasztalt rezisztencia mértéke *Staphylococcus* baktériumfajra a legnagyobb mértékű rezisztenciát az árutojás-termelő állományokban tapasztaltuk. A színek mélysége jelzi a rezisztencia arányát, minél sötétebb a szín, annál nagyobb a rezisztencia mértéke az adott hasznosítási típusban

FIGURE 3. Resistance rates by recovery pathway for the tested active substances

The highest levels of resistance to *Staphylococcus aureus* were found in commodity egg-producing herds. The depth of the colors indicates the level of resistance, the darker the color the higher the level of resistance in the given type of utilization



AMX – amoxicillin; AMK – amoxicillin-klavulánsav; CEF – ceftriaxon; NEO – neomicin; SPE – spektinomycin; DOX – doxiciklin; FLO – florfenikol; TIL – tilozin; TIA – tiamulin; LIN – linkomicin; ENR – enrofloxacin; PSA – potenciált szulfonamid (trimetoprim-szulfametoxazol 1:19 arányban); VAN – vankomicin

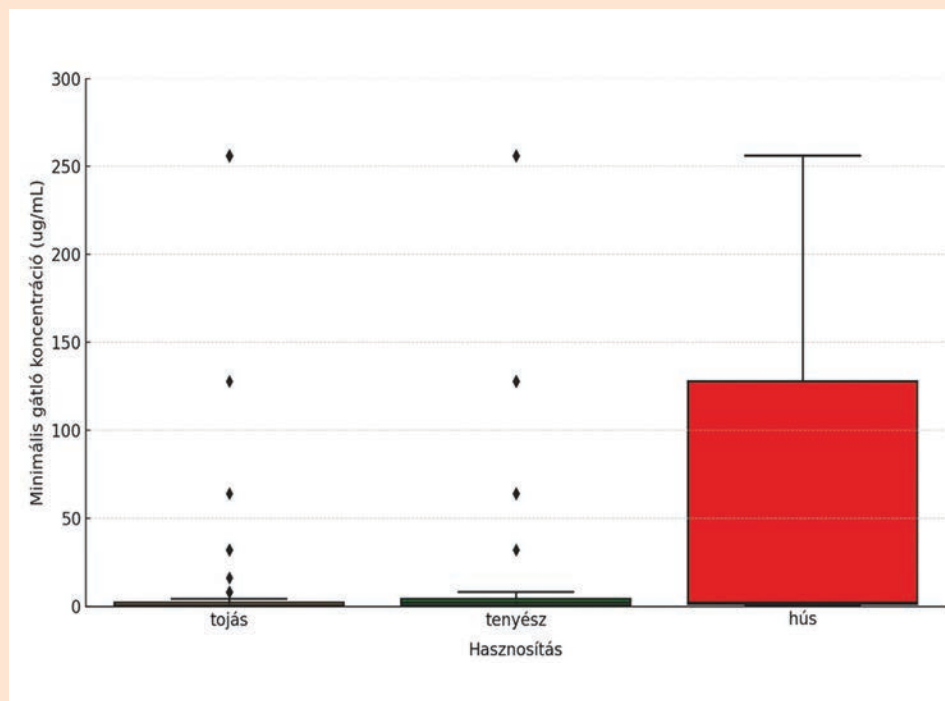
ENTEROCOCCUS TÖRZSEK

Enterococcus törzsek esetén is dobozdiagramok segítségével ábrázoltuk a MIC-értékeket és összehasonlítottuk az egyes hasznosítási típusok szerint. Az amoxicillin hatóanyag esetén a legnagyobb szórás a húshasznú állományok esetén volt megfigyelhető (4. ábra), ugyanakkor a tojáshasznú állományokban volt a hatóanyaggal szemben a legkisebb a rezisztencia százalékos mértéke.

4. ÁBRA. Az *Enterococcus* törzsek amoxicillin hatóanyaggal szemben tapasztalt MIC-érték megoszlások hasznosítási típusonként A húshasznú állatok esetén volt a legnagyobb szórás

FIGURE 4. MIC value distributions of *Enterococcus* strains against amoxicillin by type of recovery

The highest variance was observed for meat animals



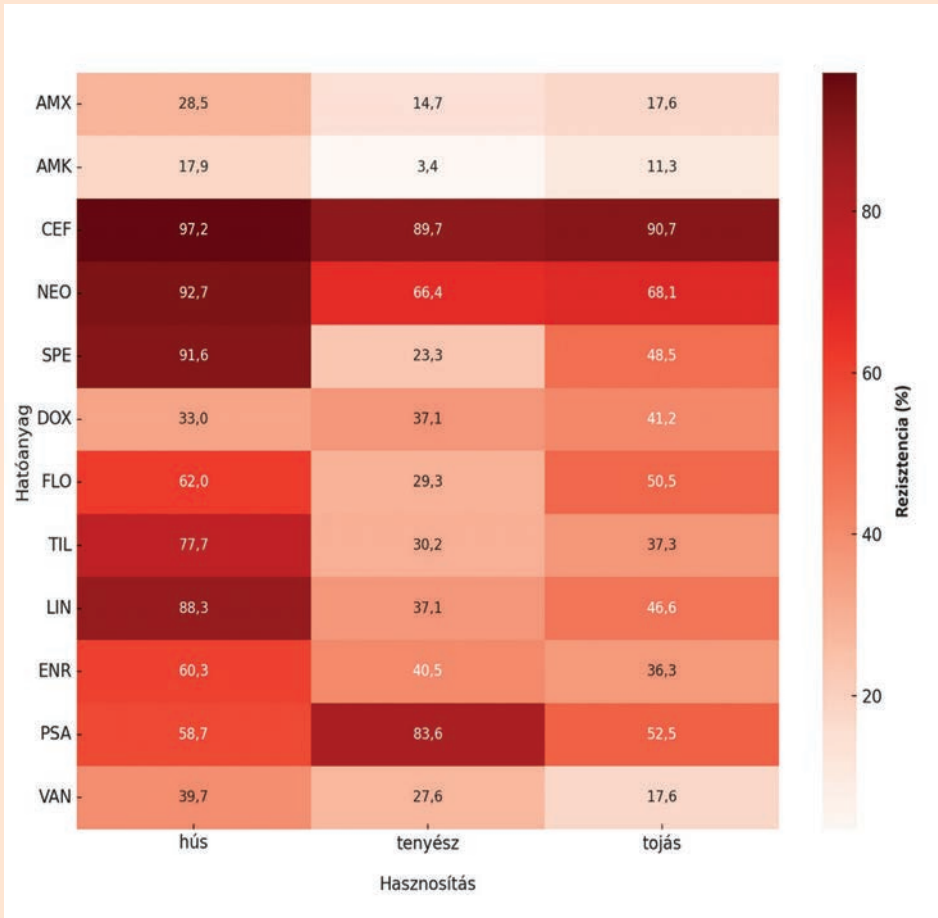
Ezt követően meghatároztuk a rezisztencia százalékos értékét és hőtésképen ábrázoltuk azt (5. ábra). A cefalosporinokkal szemben az *Enterococcus*ok eredendően rezisztensek, doxiciklin esetén nagyon hasonlóan alakult a rezisztencia mértéke minden hasznosítási irányban, potenciált szulfonamid esetén pedig a tenyészállományban volt kiugróan nagy a rezisztencia mértéke. A többi hatóanyag esetén a húshasznosítási irányban kaptunk nagyobb eredményeket. Ki kell emelni a vankomicinnel szembeni kiugró értéket a húshasznú állományokban (39,7%), míg a tojáshasznú állományokban 17,6%-os értéket kaptunk.

5. ÁBRA. Házityúkállományokból izolált *Enterococcus* törzsek antimikrobiális rezisztencia-profilja

A színek mélysége jelzi a rezisztencia arányát, minél sötétebb a szín, annál nagyobb a rezisztencia mértéke az adott hasznosítási típusban

FIGURE 5. Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* strains isolated from domestic flocks

The depth of color indicates the level of resistance, the darker the color, the higher the level of resistance in the given recovery type



AMX – amoxicillin; AMK – amoxicillin-klavulánsav; CEF – ceftriaxon; NEO – neomicin; SPE – spektinomycin; DOX – doxiciklin; FLO – florfenikol; TIL – tilozin; LIN – linkomicin; ENR – enrofloxacin; PSA – potenciált szulfonamid (trimetoprim-szulfametoxazol 1:19 arányban); VAN – vankomicin

A Shapiro–Wilk-teszt alapján a MIC-értékek itt sem mutattak normális eloszlást egyik hatóanyag esetében sem. Tehát a MIC-értékek eltérést mutattak a normál eloszlástól minden antibiotikum esetében. Így nem parametrikus teszteket alkalmaztunk a különbségek vizsgálatához. A Kruskal–Wallis-teszt eredményei alapján a különböző hatóanyagok MIC-értékei és a rezisztencia mértékében szignifikáns különbségek voltak a hasznosítási irányok tekintetében. Kivétel ez alól a doxiciklin ($p = 0,0518$). A Mann–Whitney U teszt során kapott p -értékek szintén a legtöbb hatóanyag esetén hasznosítási típusonként szignifikáns különbséget mutattak. Ez alól kivétel volt a ceftriaxon tojás-tenyésztés ($0,6954$), a doxiciklin tojás-hús ($p = 0,7460$) és a tojás-tenyésztés ($p = 0,1274$), a florfenikol tojás-hús ($p = 0,0793$), a linkomicin tojás-tenyésztés ($p = 0,3787$), az enrofloxacin tojás-tenyésztés ($0,1481$), a potenciált szulfonamid tojás-hús ($p = 0,1493$) és a vankomicin tojás-tenyésztés ($p = 0,7743$) hasznosítási irányok összehasonlítása.

Vankomicin-rezisztenciával leginkább összefüggő hatóanyagok az amoxicillin, a tilozin és a florfenikol hatóanyagok voltak

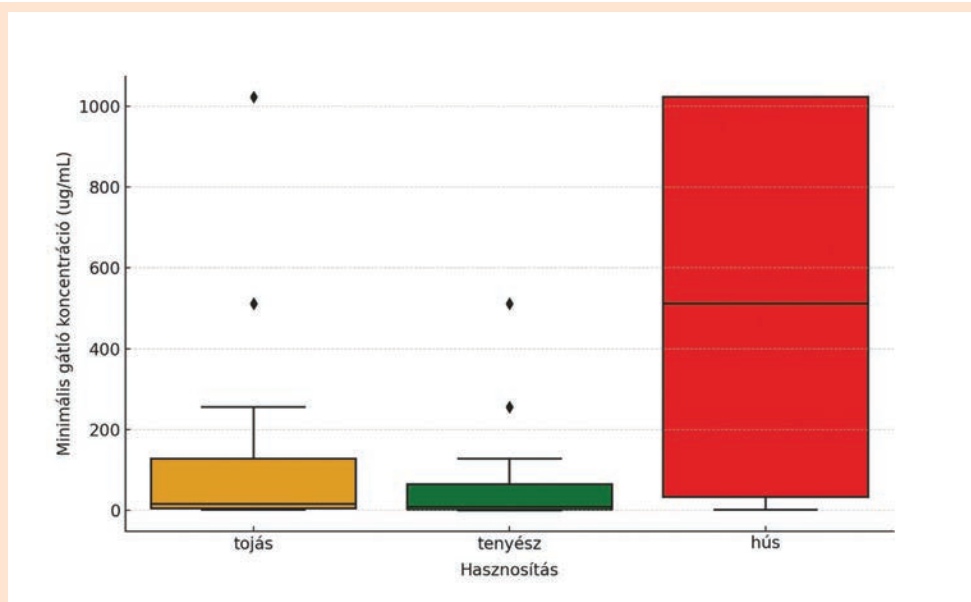
Random forest modell segítségével az egyes törzsek rezisztenciaprofilja alapján megvizsgáltuk a vankomicin-rezisztencia előrejelzés becslését. A modell pontossága 100%, a precizitása, az érzékenység és az F1-score értéke minden esetben 100% volt. A pontosság a helyes előrejelzés arányát jelzi, a precizitás és az érzékenység is az összes pozitív előrejelzés közötti tényleges valós előrejelzése arányát mutatja, az F1-score pedig a pontosság és az érzékenység harmonikus átlaga alapján kerül meghatározásra. Az eredmények azt feltételezik, hogy a modell tökéletesen képes előre jelezni a vankomicin-rezisztenciát az *Enterococcus* törzseknél, figyelembe véve a más antibiotikumokkal szembeni rezisztenciát. A vankomicin-rezisztenciával leginkább összefüggő hatóanyagok az amoxicillin, a tilozin és a florfenikol hatóanyagok voltak. Tehát az ezekkel szembeni rezisztencia jelenléte növelheti a vankomicin-rezisztencia kialakulásának esélyét.

ESCHERICHIA COLI TÖRZSEK

E. coli esetén is elsőnek az egyes hatóanyagok MIC-értékeit hasznosítási irányonként dobozdiagram segítségével vizsgáltuk. Amoxicillin hatóanyag esetén (6. ábra) jól látható a különbség a MIC-értékek eloszlásában az egyes hasznosítási irányok között.

6. ÁBRA. Az amoxicillin MIC-értékmegoszlása hasznosítási irányok szerint. A húshasznosítási irány nagyobb interkvartilis terjedelmet és nagyobb mediánértéket mutatott a másik két hasznosítási irányhoz képest.

FIGURE 6. Distribution of amoxicillin MIC value by utilization route. The meat utilization route showed a larger interquartile range and a higher median value compared to the other two utilization routes.



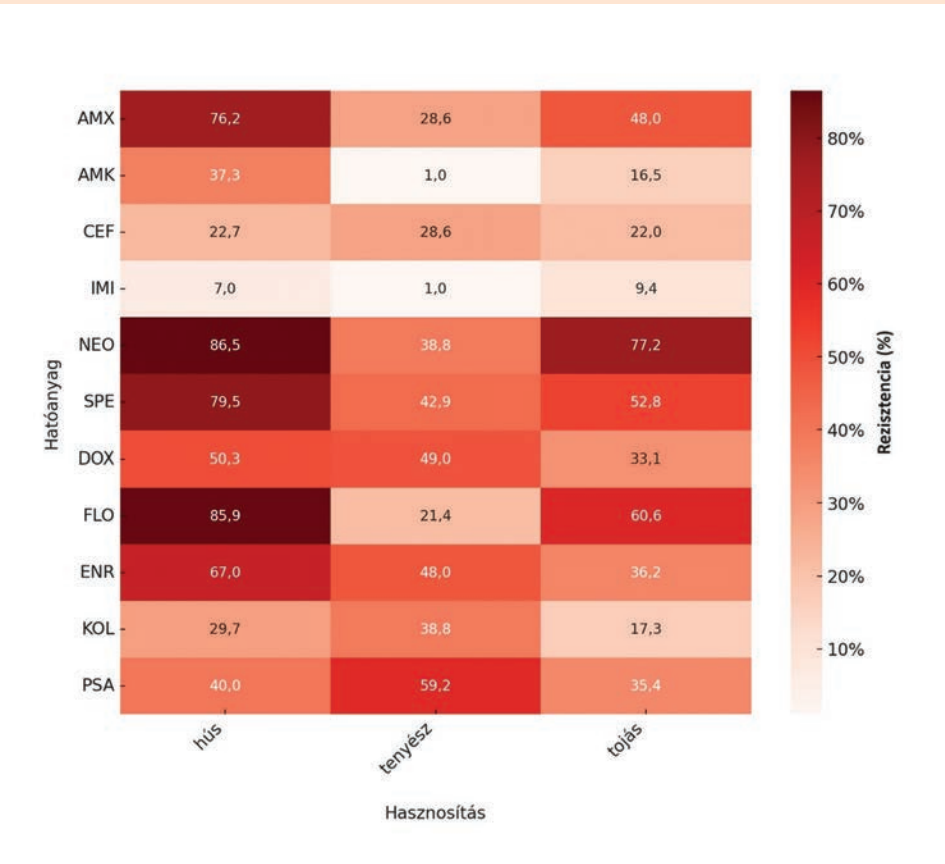
Ezt követően meghatároztuk hatóanyagonként az egyes hasznosítási irányok AMR-százalékértékét. Az eredményeket hőtérképen ábráztuk (7. ábra). Ez alapján látható, hogy a húshasznú állományok esetén jóval nagyobb a rezisztencia mértéke, mint a másik két hasznosítási típusnál. Ez alól kivételt képez a ceftiofur (28,57%), a kolisztin (38,78%) és a potenciált szulfonamid (59,18%) a tenyészállatoknál. A legkritikusabb a helyzet a húshasznú állományok esetében amoxicillinre (76,22%), neomicinre (86,49%), spektinomycinre (79,46%) és florfenikolra (85,95%). A tojástermelő állományoknál a neomicinnel szemben (77,17%) volt a legnagyobb mértékű a rezisztencia. A tenyészállományok esetén pedig a legtöbb hatóanyagra jóval kisebb rezisztenciaértékeket figyeltünk meg a másik két hasznosítási irányhoz képest.

Ezt követően vizsgáltuk, hogy van-e szignifikáns különbség az egyes hasznosítási típusok rezisztenciamértéke között. A Shapiro-Wilk-teszt alapján a MIC-értékek itt sem mutattak normális eloszlást egyik hatóanyag esetében sem. Mivel az adatok

7. ÁBRA. Házityúkállományokból izolált *Escherichia coli* törzsek antimikrobiális rezisztencia-profilja

A színek mélysége jelzi a rezisztencia arányát, minél sötétebb a szín, annál nagyobb a rezisztencia mértéke az adott hasznosítási típusban

FIGURE 7. Antimicrobial resistance profile of *Escherichia coli* strains isolated from domestic flocks. The depth of color indicates the level of resistance, the darker the color, the higher the level of resistance in the given recovery type



AMX – amoxicillin; AMK – amoxicillin-klavulánsav; CEF – ceftriaxon; IMI – imipenem; NEO – neomicin; SPE – spektinomycin; DOX – doxiciklin; FLO – florfenikol; ENR – enrofloxacin; KOL – kolisztin; PSA – potenciált szulfonamid (trimetoprim-szulfametoxazol 1:19 arányban)

nem következtek normális eloszlást, nem parametrikus tesztet alkalmaztunk a különbségek vizsgálatához. Az egyes hatóanyagok rezisztenciájának mértékében a hasznosítási irányok szerinti különbségek elemzésére a Kruskal–Wallis-tesztet alkalmaztuk. A ceftriaxon kivételével ($p = 0,154$) az összes többi hatóanyag esetén a kis p -értékek ($p < 0,05$) azt jelezték, hogy a hasznosítási irányok között szignifikáns különbségek vannak az adott hatóanyagok MIC-értékeiben, amit a MIC-értékek alapján meghatározott rezisztens/érzékeny eredmények statisztikai elemzése is alátámasztott, hasonlóan csak a ceftriaxon képezett kivételt ($p = 0,459$).

Az egyes hasznosítási típusok páronkénti összehasonlítására Mann–Whitney U-tesztet alkalmaztunk, majd a Bonferroni-korrekcióval korrigáltuk a többszörös összehasonlításokból adódó inflálódott p -értékeket. Nem volt különbség egyik hasznosítási típus között sem ceftriaxon, doxiciklin és kolisztin esetén.

MULTI- (MDR), KITERJEDT SPEKTRUMÚ (XDR) ÉS PÁNREZISZTENS (PDR) TÖRZSEK

A *Staphylococcus* törzsek 93,8%-a legalább három vizsgált hatóanyaggal szemben rezisztens volt

A *Staphylococcus* törzsek rezisztenciaprofilját vizsgálva a törzsek közül 213 (93,8%) bizonyult MDR-nek, azaz legalább három vizsgált hatóanyaggal szemben volt rezisztens. Továbbá 12 törzs (5,3%) volt XDR és 1 törzs (0,4%) PDR. Az *Enterococcus* törzsek közül 417 törzs (83,6%) volt MDR, 83 törzs (16,6%) bizonyult XDR-nek és 5 törzs (1%) volt PDR. Az *E. coli* törzsek rezisztenciaprofilját elemezve megállapítottuk, hogy 265 törzs (64,6%) volt MDR, továbbá 7 törzs (1,7%) volt XDR és 2 törzs (0,5%) PDR törzsnek bizonyult. Az XDR (kivéve *Enterococcus* törzsek) és PDR törzsek földrajzi eredetét a 8. ábra szemlélteti.

8. ÁBRA. Házityúk állományokból izolált kiterjedt gyógyszerrezisztens (XDR) és pánrezisztens (PDR) baktériumtörzsek földrajzi eredete
A törzsek az észak-alföldi és a közép-dunántúli régiókban koncentráálódtak

FIGURE 8. Geographical origin of extensively drug-resistant (XDR) and pan-drug resistant (PDR) bacterial strains isolated from domestic flocks
The strains were concentrated in the Észak-Alföld and Közép-Dunántúl regions



MEGVITATÁS

Összesen 227 *Staphylococcus* baktériumtörzset vizsgáltunk. Amoxicillin esetén a tenyészállományokban tapasztaltuk a legnagyobb, 18%-os rezisztenciát, ezt követte a húshasznú állományban tapasztalt 12,3%-os és végül az étkezési tojástermelő állományokban megfigyelt 8,2%-os rezisztencia, KIM és mtsai penicillinekre 51,2%-os rezisztenciát tapasztaltak [59], ami jóval nagyobb az általunk megfigyelt értékekhez képest. Amoxicillin-klavulánsav baromfifélékre nincs engedélyezve, maximális maradékanyag szint (maximum residue level, MRL) hiányában, így összehasonlítási alapunk nem volt *Staphylococcus* fajok esetén, ahogy ceftiaxon és imipenem hatóanyagokat sem használnak. Doxiciklin esetén a rezisztencia húshasznú állományokban 38%, tenyészállományokban 21,3% áru- és tojástermelő állományokban pedig 11,8%. MIRANDA és mtsai doxiciklinre 58,4%-os [60] KIM és mtsai pedig tetraciklinre 38,8%-os rezisztenciát figyeltek meg [59], ez utóbbi egybevág a húshasznú állományokban megfigyelt értékkel. Enrofloxacin esetén a rezisztencia mértéke a tenyészállományban 60,7%-os, húshasznú állományban 59,3%-os és a tenyészállományban 47,1%-os volt, ugyanakkor KIM és mtsai ciprofloxacinnal csak 33,9%-os rezisztenciát találtak [59]. Vankomicin esetén a tenyészállományokban volt a legnagyobb (19,7%) a rezisztencia, amit az áru- és tojástermelő (7,1%) és a húshasznú állományok (4,9%) követtek. MKIZE és mtsai bélsármintákból izolált törzsek esetén 14%-os, ugyanakkor vágóhídi mintákban 61,9%-os rezisztenciát mutattak ki [61].

Összesen 499 *Enterococcus* törzs antimikrobiális érzékenységi vizsgálatát végeztük el. Amoxicillin hatóanyagra a húshasznú állományokban 28,5%-os, áru- és tojástermelő állományokban 17,6%-os és a tenyészállományokban 14,7%-os rezisztenciát figyeltünk meg. BEKELE és mtsai a különböző telepekről vizsgált minták esetén eredményeinkhez képest nagyobb, 43–63% közötti rezisztenciaértékeket írtak le [62], LEMSADDEK és mtsai ugyanakkor a tartástechnológiát figyelembe véve penicillin hatóanyagra szabadtartás esetén csak 6,25%-os, ugyanakkor hagyományos tartás esetén 33,3%-os rezisztenciát figyeltek meg [63]. Az amoxicillin-klavulánsav hatóanyagra húshasznú állományokban 17,9%-os, áru- és tojástermelő állományokban 11,3%-os és tenyészállományokban 3,4%-os rezisztenciát figyeltünk meg.

Florfenikollal szemben rezisztens Enterococcus törzsek aránya a húshasznú állományokban volt a legnagyobb

A húshasznú állományokban az Enterococcus törzsek 60,3%-a volt enrofloxacin-rezisztens

PESAVENTO és mtsai 1,47%-os [64], ugyanakkor AYENI és mtsai 73,3%-os rezisztenciát mutattak ki [65]. Neomicinre a húshasznú állományok esetén tapasztaltuk a legnagyobb mértékű rezisztenciát (92,7%), az árutojás-termelő (68,1%) és tenyészállományokban (66,4%) jóval kisebb volt a rezisztencia mértéke. LANZA és mtsai 83%-os rezisztenciát mutattak ki [66]. Spektinomycin esetén szintén a húshasznú állományokban (91,6%) volt igen nagy arányú a rezisztencia, az árutojás-termelő állományokban 48,5%-os, a tenyészállományokban ugyanakkor csak 23,3%-os rezisztenciát tapasztaltunk. KARUNARATHNA és mtsai 9%-os rezisztenciát írtak le [67]. Doxyciklin hatóanyagra nagyon hasonlóan alakultak hasznosítási típusonként a rezisztencia értékek (33-41,2%). BEKELE és mtsai a vizsgált telepeken 26-41% közötti rezisztenciát tapasztaltak [62], SCHWAIGER és mtsai ökológiai tartásban 39,7%-os, hagyományos tartásban pedig 70,1%-os rezisztenciát figyeltek meg [68], NOH és mtsai pedig 58,2%-ban állapították meg a rezisztens törzsek arányát [69].

A florfenikollal szemben rezisztens törzsek aránya a húshasznú állományokban volt a legnagyobb (62%), ugyanakkor SCHWAIGER és mtsai ökológiai tartásban és hagyományos tartásban sem mutattak ki rezisztens törzset [68], KARUNARATHNA és mtsai is csupán a törzsek 0,4%-nál tudták megállapítani a rezisztenciát [67], KIM és mtsai pedig 14,3-18,7% közötti rezisztencia értékeket találtak [70]. Tilozin vizsgálata során szintén a húshasznú állományok esetén volt kiemelkedő, 77,7%-os a rezisztencia mértéke, KIM és mtsai 53-63,6% közötti értékeket írtak le [70]. Ahogy linkomicin esetén a 88,3%-os rezisztencia is a húshasznú ágazatban volt kiemelkedő, STEPİEN-PYŚNIAK és mtsai szintén nagy, 98,7%-os rezisztenciát tapasztaltak [71].

Az enrofloxacin egy széles körben alkalmazott hatóanyag a baromfiágazatban, a vele szembeni rezisztencia a húshasznú állományban 60,3%-os, a tenyészállományokban 40,5%-os, az árutojás-termelő állományokban pedig 36,3%-os volt. OLIVEIRA és mtsai 83,3%-os [72], azonban KARUNARATHNA és mtsai mindössze 5,1%-os rezisztenciát írtak le [67], ugyanakkor LIU és mtsai 29,6%-os rezisztenciát tapasztaltak [73]. Potenciált szulfonamid (trimetoprim-szulfametoxazol) esetén jóval nagyobb értékeket tapasztaltunk, MAKAROV és mtsai 32,9-36,6% közötti [74], KARUNARATHNA és mtsai viszont csak 7,4%-os rezisztenciát figyeltek meg [67]. Vankomicin hatóanyagra a húshasznú ágazatban tapasztalt 39,7%-os rezisztencia aggasztó, ahogy a tenyészállományokban leírt 27,6%-os és az árutojás-termelő ágazatban megfigyelt 17,6%-os rezisztencia is. SCHWAIGER és mtsai [68], és SEMEDO-LEMSADDEK és mtsai sem mutattak ki rezisztenciát [63], KARUNARATHNA és mtsai 1,9%-os [67], PESAVENTO és mtsai 2,9%-os [64], ROY és mtsai 4,4%-os [75], BEKELE és mtsai a különböző telepeken viszont már 15-66% közötti [62], AYENI és mtsai már 65%-os [65], LIU és mtsai viszont 92% feletti rezisztenciát figyeltek meg [76].

Összesen 411 *E. coli* törzsnek vizsgáltuk meg az érzékenységet. Amoxicillin esetén a húshasznú ágazatban 76,2%-os, az árutojás-termelő ágazatban 48%-os rezisztenciát tapasztaltunk, ugyanakkor a tenyészállományokban ez csak 28,6%-os volt. HASSAN és mtsai ampicillinre 32%-os [77], KAUSHIK és mtsai penicillinre 89,4%-os, ampicillinre 80,4%-os [78], MUCH és mtsai ampicillinre ökológiai tartásban 19%-os, hagyományos tartásban 33,8%-os [79], DE JONG és mtsai ampicillinre 32,7-65,3% közötti [80], RIVERA-GOMIS és mtsai ampicillinre 30,8%-os [81] rezisztenciát állapítottak meg. Amoxicillin-klavulánsav esetén minden esetben sokkal kisebb rezisztenciaértéket kaptunk az amoxicillinhez képest, ami alátámasztja, hogy a törzsek egy része β -laktamáztermelő. A legalacsony szintű (1%) rezisztencia a tenyészállományokban volt megfigyelhető, a legnagyobb mértékű pedig a húshasznú állományokban (37,3%). MAJEWSKI és mtsai ugyanakkor 84,6%-os [82] rezisztenciát mutattak ki. Ceftriaxon esetén hasznosítási típusonként nagyon hasonló, 22-28,6% közötti rezisztencia értékeket kaptunk. KAUSHIK és mtsai hozzánk hasonlóan 28,2%-os [78], MANDAL és mtsai cefotaximra 78,1%-os [83] rezisztenciát írtak le.

Imipenem esetén viszonylag kismértékű (1–9,4% közötti) rezisztenciát tapasztaltunk. SHAIB és mtsai nem mutattak ki rezisztenciát [84], MOFFO és mtsai ugyanakkor kb. 20%-os rezisztenciát írtak le [85]. Neomicinnél a húshasznú állományokban megfigyelt 86,5%-os rezisztenciához hasonló módon MAJEWSKI és mtsai 84,6%-os [82], ugyanakkor KAUSHIK és mtsai gentamicinre 13%-os [78], DE JONG és mtsai gentamicinre 0,9–7% közötti [80], RIVERA-GOMIS és mtsai gentamicinre 12,3%-os [81] rezisztenciát figyeltek meg. Spektinomycin esetén a tenyészállományokban tapasztaltunk hasonló (42,9%) rezisztenciát, mint ADELOWO és mtsai (47%) [86].

Doxiciklinre a húshasznú (50,3%) és a tenyészállományokban (49%) nagyon hasonlóan alakult a rezisztencia, árutojás-termelő állományokban viszont csak 33,1% volt. HASSAN és mtsai 44%-os [77], MAJEWSKI és mtsai 36%-os [82], MANDAL és mtsai 78,1%-os [83], KAUSHIK és mtsai tetraciklinre 17,4%-os [78], MUCH és mtsai tetraciklinre ökológiai tartásban 27,6%-os, hagyományos tartásban 25,9%-os [79], DE JONG és mtsai tetraciklinre 41,3–67,5% között [80], RIVERA-GOMIS és mtsai tetraciklinre 62,1%-os [81] rezisztenciát mutattak ki. Florfenikolra a legnagyobb arányú rezisztencia a húshasznú állományban volt mérhető (85,9%). Ugyanakkor ADELOWO és mtsai nem mutattak ki rezisztenciát [86], WANG és mtsai 0,9%-os rezisztenciát írtak le [87].

**E. coli törzsekben
enrofloxacinna
szemben a húshasznú
állományban
67%-os reziszen-
ciát figyeltek meg**

Enrofloxacin esetében a húshasznú állományban 67%-os, a tenyészállományokban 48%-os, az árutojás-termelő állományokban pedig 36,2%-os rezisztenciát figyeltünk meg. MAJEWSKI és mtsai 34,6%-os [82], HASSAN és mtsai 32%-os [77], KAUSHIK és mtsai ciprofloxacina 6,5%-os [78], MUCH és mtsai ciprofloxacina ökológiai tartásban 33,3%-os, hagyományos tartásban 69,1%-os [79], DE JONG és mtsai ciprofloxacina 7,3–21,3% közötti [80] rezisztenciát mutattak ki. Kolisztin hatóanyagra a tenyészállományokban volt a legnagyobb, 29,7%-os a rezisztencia, ugyanakkor ADELOWO és mtsai nem mutattak ki rezisztens törzset [86], KEMPF és mtsai 0,6%-os rezisztenciát írtak le [88]. Potenciált szulfonamidra szintén a tenyészállományokban tapasztaltuk a legnagyobb mértékű (59,2%) rezisztenciát, ami MAJEWSKI és mtsai által megfigyelt 53,5%-os [82] rezisztenciához hasonló. HASSAN és mtsai 38%-os rezisztenciát írtak le [77], ami egybevág az árutojás-termelő állományokban tapasztalt 35,4%-os rezisztenciával. DE JONG és mtsai 27,5–49,7% közötti rezisztencia értékeket írtak le [80], ami a húshasznú állományokban tapasztalt 40%-os rezisztenciához áll a legközelebb.

**Az antibiotikum-
felhasználás
csökkentése érdekében
szükség van a hasonló
rezisztencia-
vizsgálatokra
a jövőben is**

Eredményeink egyértelműen alátámasztják a rendszeres és nagy mintaelem-számú érzékenységi vizsgálatok elvégzésének kritikus fontosságát. Ezek a vizsgálatok kulcsfontosságú információkkal szolgálnak minden egyes hasznosítási irányra vonatkozóan, különösen a rezisztencia aktuális állapotát illetően. A szakirodalomban leírt eredményektől több esetben tapasztalt eltérés oka lehet az eltérő antibiotikumfelhasználás, ezért a jövőben érdemes az érzékenységi vizsgálatok eredményét a pontos antibiotikumfelhasználás mértékével párhuzamba állítani. Az adatok többsége megerősíti, hogy az elsődlegesen választott hatóanyagok többsége megőrizte hatékonyságát. Ennek ellenére aggodalomra ad okot az a tendencia, hogy a közegészségügy szempontjából kritikusan fontos hatóanyagokkal szembeni rezisztencia növekvő mértéket mutat. Az utóbbi években megfigyelt antibiotikumrezisztencia arányának emelkedése világos jelzést ad arra vonatkozóan, hogy szükség van a multidiszciplináris megközelítésre, különös tekintettel az állat- és közegészségügyi szakemberek közötti szorosabb együttműködésre. Az "Egy Egészség" elvének megvalósítása nem csupán elmélet, hanem gyakorlati lépésekre ösztönöz, amely magában foglalja a megelőző intézkedések kidolgozását, az oktatási programok bevezetését, és az ágazatközi kommunikáció erősítését. Csak így lehet hatékonyan küzdeni a rezisztencia növekedésével, és biztosítani az emberi egészség védelmét hosszú távon.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Az RRF-2.3.1-21-2022-00001 számú projekt a Helyreállítási és Ellenállóképességi Eszköz és Nemzeti Helyreállítási Alapból nyújtott támogatásával, az RRF-2.3.1-21 pályázati program finanszírozásában valósult meg.

IRODALOM

- Giono-Cerezo S, Santos-Preciado JI, Morfín-Otero MDR, Torres-López FJ, Alcántar-Curiel MD (2020) Antimicrobial resistance. Its importance and efforts to control it. *Gac Med Mex* 156:171–178. <https://doi.org/10.24875/GMM.M20000358>
- Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Aguilar GR, Gray A, Han C, Bisignano C, Rao P, Wool E, Johnson SC, Browne AJ, Chipeta MG, Fell F, Hackett S, Haines-Woodhouse G, Hamadani BHK, Kumaran EAP, McManigal B, Achalapong S, Agarwal R, Akech S, Albertson S, Amuasi J, Andrews J, Aravkin A, Ashley E, Babin F-X, Bailey F, Baker S, Basnyat B, Bekker A, Bender R, Berkley JA, Bethou A, Bielicki J, Boonkasidecha S, Bukosia J, Carvalho C, Castañeda-Orjuela C, Chansamouth V, Chaurasia S, Chiurchiù S, Chowdhury F, Donatien RC, Cook AJ, Cooper B, Cressey TR, Criollo-Mora E, Cunningham M, Darboe S, Day NPJ, Luca MD, Dokova K, Dramowski A, Dunachie SJ, Bich TD, Eckmanns T, Eibach D, Emami A, Feasey N, Fisher-Pearson N, Forrest K, Garcia C, Garrett D, Gastmeier P, Giref AZ, Greer RC, Gupta V, Haller S, Haselbeck A, Hay SI, Holm M, Hopkins S, Hsia Y, Iregbu KC, Jacobs J, Jarovsky D, Javanmardi F, Jenney AWJ, Khorana M, Khusuwan S, Kissoon N, Kobeissi E, Kostyanov T, Krapp F, Krumkamp R, Kumar A, Kyu HH, Lim C, Lim K, Limmathurotsakul D, Loftus MJ, Lunn M, Ma J, Manoharan A, Marks F, May J, Mayxay M, Muri N, Munera-Huertas T, Musicha P, Musila LA, Mussi-Pinhata MM, Naidu RN, Nakamura T, Nativati R, Nangia S, Newton P, Ngoun C, Novotney A, Nwakanma D, Obiero CW, Ochoa TJ, Olivas-Martinez A, Oliaro P, Ooko E, Ortiz-Brizuela E, Ounchanum P, Pak GD, Paredes JL, Peleg AY, Perrone C, Phe T, Phommason K, Plakkal N, Ponce-de-Leon A, Raad M, Ramdin T, Rattanavong S, Riddell A, Roberts T, Robotham JV, Roca A, Rosenthal VD, Rudd KE, Russell N, Sader HS, Saengchan W, Schnall J, Scott JAG, Seekaew S, Sharland M, Shivamallappa M, Sifuentes-Osorio J, Simpson AJ, Steenkeste N, Stewardson AJ, Stoeva T, Tasak N, Thairakong A, Thwaites G, Tigoi C, Turner C, Turner P, Doorn HR van, Velaphi S, Vongpradith A, Vongsouvath M, Vu H, Walsh T, Watson JL, Waner S, Wangrangsimakul T, Wannapinij P, Wozniak T, Sharma TEMWY, Yu KC, Zheng P, Sartorius B, Lopez AD, Stergachis A, Moore C, Dolecek C, Naghavi M (2022) Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet* 399:629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Aarestrup FM, Wegener HC, Collignon P (2008) Resistance in bacteria of the food chain: epidemiology and control strategies. *Expert Rev Anti Infect Ther* 6:733–750. <https://doi.org/10.1586/14787210.6.5.733>
- Poultry: number of chickens worldwide 2022. In: Statista. <https://www.statista.com/statistics/263962/number-of-chickens-worldwide-since-1990/>. Accessed 26 Mar 2024
- Michele P (2021) OECD-FAO Agricultural Outlook 2021–2030
- FAO (2022) World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2022. FAO, Rome, Italy
- European Parliament. Directorate General for Parliamentary Research Services. (2019) The EU poultry meat and egg sector: main features, challenges and prospects : in depth analysis. Publications Office, LU
- Agunos A, Léger D, Carson C (2012) Review of antimicrobial therapy of selected bacterial diseases in broiler chickens in Canada. *Can Vet J* 53:1289–1300
- Landoni MF, Albarellos G (2015) The use of antimicrobial agents in broiler chickens. *Vet J* 205:21–27. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.04.016>
- Geenen PL, Graat EAM, Haenen A, Hengeveld PD, Van Hoek AHAM, Huijsdens XW, Kappert CC, Lammers GAC, Van Duikeren E, Van De Giessen AW (2013) Prevalence of livestock-associated MRSA on Dutch broiler farms and in people living and/or working on these farms. *Epidemiology and Infection* 141:1099–1108. <https://doi.org/10.1017/S0950268812001616>
- Ribeiro CM, Stefani LM, Lucheis SB, Okano W, Cruz JCM, Souza GV, Casagrande TAC, Bastos PAS, Pinheiro RR, Arruda MM, Afreixo V (2018) Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Poultry and Poultry Meat: A Meta-Analysis. *J Food Prot* 81:1055–1062. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-445>
- DeLeo FR, Chambers HF (2009) Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. *J Clin Invest* 119:2464–2474. <https://doi.org/10.1172/JCI38226>
- van Belkum A (2006) Staphylococcal colonization and infection: homeostasis versus disbalance of human (innate) immunity and bacterial virulence. *Curr Opin Infect Dis* 19:339–344. <https://doi.org/10.1097/01.qco.0000235159.40184.61>
- Weems JJ (2001) The many faces of *Staphylococcus aureus* infection. Recognizing and managing its life-threatening manifestations. *Postgrad Med* 110:24–26, 29–31, 35–36. <https://doi.org/10.3810/pgm.2001.10.1042>
- Gornatti-Churria CD, Crispo M, Shivaprasad HL, Uzal FA (2018) Gangrenous dermatitis in chickens and turkeys. *J Vet Diagn Invest* 30:188–196. <https://doi.org/10.1177/1040638717742435>
- McNamee PT, Smyth JA (2000) Bacterial chondronecrosis with osteomyelitis ('femoral head necrosis') of broiler chickens: a review. *Avian Pathol* 29:477–495. <https://doi.org/10.1080/030794500750047243>
- Abou-Zahr T, Carrasco DC, Dvm NS, Forbes NA, Dutton TAG, Froehlich F, De Bellis F (2018) Superficial Chronic Ulcerative Dermatitis (SCUD) in Psittacine Birds: Review of 11 Cases (2008–2016). *J Avian Med Surg* 32:25–33. <https://doi.org/10.1647/2017-250>
- Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE (2007) The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection* 13:222–235. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01573.x>
- Neela V, Zafrul AM, Mariana NS, Van Belkum A, Liew YK, Rad EG (2009) Prevalence of ST9 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among pigs and pig handlers in Malaysia. *Journal of Clinical Microbiology* 47:4138–4140. <https://doi.org/10.1128/JCM.01363-09>
- Voss A, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf M Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Pig Farming – Volume 11, Number 12–December 2005 – Emerging Infectious Diseases journal – CDC. <https://doi.org/10.3201/eid1112.050428>

21. Kluytmans JAJW (2010) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food products: cause for concern or case for complacency? *Clinical Microbiology and Infection* 16:11–15. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03110.x>
22. Sergelidis D, Angelidis AS (2017) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-borne pathogen. *Letters in Applied Microbiology* 64:409–418. <https://doi.org/10.1111/lam.12735>
23. Sallam KI, Abd-Elghany SM, Elhadidy M, Tamura T (2015) Molecular Characterization and Antimicrobial Resistance Profile of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Retail Chicken. *J Food Prot* 78:1879–1884. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-150>
24. Chaalal W, Chaalal N, Bourafa N, Kihal M, Diene SM, Rolain J-M (2018) Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Food Products in Western Algeria. *Foodborne Pathog Dis* 15:353–360. <https://doi.org/10.1089/fpd.2017.2339>
25. Jung A, Rautenschlein S (2014) Comprehensive report of an *Enterococcus cecorum* infection in a broiler flock in Northern Germany. *BMC Vet Res* 10:311. <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0311-7>
26. Stalker MJ, Brash ML, Weisz A, Ouckama RM, Slavic D (2010) Arthritis and osteomyelitis associated with *Enterococcus cecorum* infection in broiler and broiler breeder chickens in Ontario, Canada. *J Vet Diagn Invest* 22:643–645. <https://doi.org/10.1177/104063871002200426>
27. Makrai L, Nemes C, Simon A, Ivanics E, Dudás Z, Fodor L, Glávits R (2011) Association of *Enterococcus cecorum* with vertebral osteomyelitis and spondylolisthesis in broiler parent chicks. *Acta Vet Hung* 59:11–21. <https://doi.org/10.1556/AVet.59.2011.1.2>
28. Tankson JD, Thaxton JP, Vizzier-Thaxton Y (2001) Pulmonary Hypertension Syndrome in Broilers Caused by *Enterococcus faecalis*. *Infect Immun* 69:6318–6322. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.10.6318-6322.2001>
29. Steentjes A, Veldman KT, Mevius DJ, Landman WJM (2002) Molecular epidemiology of unilateral amyloid arthropathy in broiler breeders associated with *Enterococcus faecalis*. *Avian Pathol* 31:31–39. <https://doi.org/10.1080/03079450120106606>
30. Abe Y, Nakamura K, Yamada M, Yamamoto Y (2006) Encephalomalacia with *Enterococcus durans* infection in the brain stem and cerebral hemisphere in chicks in Japan. *Avian Dis* 50:139–141. <https://doi.org/10.1637/7419-080805R.1>
31. Prabaker K, Weinstein RA (2011) Trends in antimicrobial resistance in intensive care units in the United States. *Curr Opin Crit Care* 17:472–479. <https://doi.org/10.1097/MCC.0b013e32834a4b03>
32. Werner G, Coque TM, Hammerum AM, Hope R, Hryniewicz W, Johnson A, Klare I, Kristinsson KG, Leclercq R, Lester CH, Lillie M, Novais C, Olsson-Liljequist B, Peixe LV, Sadowy E, Simonsen GS, Top J, Vuopio-Varkila J, Willems RJ, Witte W, Woodford N (2008) Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill* 13:19046
33. Ramos S, Silva V, Dapkevicius M de LE, Igrejas G, Poeta P (2020) Enterococci, from Harmless Bacteria to a Pathogen. *Microorganisms* 8:1118. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081118>
34. Ewers C, Janßen T, Wieler LH (2003) Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 116:381–395
35. Ewers C, Li G, Wilking H, Kießling S, Alt K, Antão E-M, Laturnus C, Diehl I, Glodde S, Homeier T, Böhnke U, Steinrück H, Philipp H-C, Wieler LH (2007) Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: How closely related are they? *Int J Med Microbiol* 297:163–176. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.01.003>
36. Ewers C, Antão E-M, Diehl I, Philipp H-C, Wieler LH (2009) Intestine and environment of the chicken as reservoirs for extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains with zoonotic potential. *Appl Env Microbiol* 75:184–192. <https://doi.org/10.1128/AEM.01324-08>
37. Guabiraba R, Schouler C (2015) Avian colibacillosis: still many black holes. *FEMS Microbiology Letters* 362:fnv118. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv118>
38. Wu W, Feng Y, Tang G, Qiao F, McNally A, Zong Z (2019) NDM Metallo-β-Lactamases and Their Bacterial Producers in Health Care Settings. *Clin Microbiol Rev* 32:e00115-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00115-18>
39. Karlowsky JA, Lob SH, Kazmierczak KM, Badal RE, Young K, Motyl MR, Sahm DF (2017) *In Vitro* Activity of Imipenem against Carbapenemase-Positive Enterobacteriaceae Isolates Collected by the SMART Global Surveillance Program from 2008 to 2014. *J Clin Microbiol* 55:1638–1649. <https://doi.org/10.1128/jcm.02316-16>
40. Zhang R, Liu L, Zhou H, Chan EW, Li J, Fang Y, Li Y, Liao K, Chen S (2017) Nationwide Surveillance of Clinical Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) Strains in China. *EBioMedicine* 19:98–106. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.04.032>
41. Grundmann H, Glasner C, Albiger B, Aanensen DM, Tomlinson CT, Andrasević AT, Cantón R, Carmeli Y, Friedrich AW, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Nordmann P, Poirel L, Rossolini GM, Seifert H, Vatopoulos A, Walsh T, Woodford N, Monnet DL, Koraqi A, Lacey D, Apfalter P, Hartl R, Glupczynski Y, Huang T-D, Strateva T, Marteva-Proevska Y, Andrasevic AT, Butic I, Pieridou-Bagatzouni D, Maikanti-Charalampous P, Hrabak J, Zemlickova H, Hammerum A, Jakobsen L, Ivanova M, Pavelkovich A, Jalava J, Österblad M, Dortet L, Vaux S, Kaase M, Gatermann SG, Vatopoulos A, Tryfinopoulou K, Tóth Á, Jánvári L, Boo TW, McGrath E, Carmeli Y, Adler A, Pantosti A, Monaco M, Raka L, Kurti A, Balode A, Saule M, Miciuleviciene J, Mierauskaitė A, Perin-Weniger M, Reichert P, Nestorova N, Debattista S, Mijovic G, Lopovic M, Samuelsen Ø, Haldorsen B, Zabicka D, Literacka E, Canica M, Manageiro V, Kaftandzieva A, Trajkovska-Dokic E, Damian M, Lixandru B, Jelesic Z, Trudic A, Niks M, Schreterova E, Pirs M, Cerar T, Oteo J, Aracil B, Giske C, Sjöström K, Gür D, Cakar A, Woodford N, Hopkins K, Wiuff C, Brown DJ (2017) Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *The Lancet Infectious Diseases* 17:153–163. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30257-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30257-2)
42. Hammerum AM, Lester CH, Heuer OE (2010) Antimicrobial-resistant enterococci in animals and meat: a human health hazard? *Foodborne Pathog Dis* 7:1137–1146. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0552>
43. Bates J (1997) Epidemiology of vancomycin-resistant enterococci in the community and the relevance of farm animals to human infection. *J Hosp Infect* 37:89–101. [https://doi.org/10.1016/s0195-6701\(97\)90179-1](https://doi.org/10.1016/s0195-6701(97)90179-1)
44. Hammerum AM (2012) Enterococci of animal origin and their significance for public health. *Clin Microbiol Infect* 18:619–625. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03829.x>
45. Bager F, Madsen M, Christensen J, Aarestrup FM (1997) Avoparcin used as a growth promoter is associated with the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms. *Prev Vet Med* 31:95–112. [https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(96\)01119-1](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(96)01119-1)
46. Aarestrup FM (2000) Characterization of glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* (GRE) from broilers and pigs in Denmark: genetic evidence that persistence of GRE in pig herds is associated with coselection by resistance to macrolides. *J Clin Microbiol* 38:2774–2777. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.7.2774-2777.2000>

47. Rollins LD, Lee LN, LeBlanc DJ (1985) Evidence for a disseminated erythromycin resistance determinant mediated by Tn917-like sequences among group D streptococci isolated from pigs, chickens, and humans. *Antimicrob Agents Chemother* 27:439–444. <https://doi.org/10.1128/AAC.27.4.439>
48. Kim YB, Seo KW, Jeon HY, Lim S-K, Lee YJ (2018) Characteristics of the antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat produced by different integrated broiler operations in Korea. *Poult Sci* 97:962–969. <https://doi.org/10.3382/ps/pex357>
49. Moon DC, Tamang MD, Nam H-M, Jeong J-H, Jang G-C, Jung S-C, Park Y-H, Lim S-K (2015) Identification of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Korea and molecular comparison between isolates from animal carcasses and slaughterhouse workers. *Foodborne Pathog Dis* 12:327–334. <https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1868>
50. Hesp A, Veldman K, van der Goot J, Mevius D, van Schaik G (2019) Monitoring antimicrobial resistance trends in commensal *Escherichia coli* from livestock, the Netherlands, 1998 to 2016. *Euro Surveill* 24:1800438. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.25.1800438>
51. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control (2019) The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. *EFSA J* 17:e05598. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5598>
52. Denbow DM (2015) Chapter 14 – Gastrointestinal Anatomy and Physiology. In: Scanes CG (ed) *Sturkie's Avian Physiology* (Sixth Edition). Academic Press, San Diego, pp 337–366
53. Dutta GN, Devriese LA (1981) Degradation of macrolide-lincosamide-streptogramin antibiotics by *Lactobacillus* strains from animals. *Ann Microbiol (Paris)* 132A:51–57
54. Antonovic L, Martinez M (2011) Role of the cytochrome P450 enzyme system in veterinary pharmacokinetics: where are we now? Where are we going? *Future Med Chem* 3:855–879. <https://doi.org/10.4155/fmc.11.37>
55. Haritova AM, Schrickx J, Fink-Gremmels J (2010) Expression of drug efflux transporters in poultry tissues. *Research in Veterinary Science* 89:104–107. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.01.005>
56. Clinical and Laboratory Standards Institute (2018) CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 11. th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
57. EUCAST (2023) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters
58. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL (2012) Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection* 18:268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
59. Kim YB, Seo KW, Jeon HY, Lim S-K, Lee YJ (2018) Characteristics of the antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat produced by different integrated broiler operations in Korea. *Poult Sci* 97:962–969. <https://doi.org/10.3382/ps/pex357>
60. Miranda JM, Vázquez BI, Fente CA, Calo-Mata P, Cepeda A, Franco CM (2008) Comparison of antimicrobial resistance in *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes* strains isolated from organic and conventional poultry meat. *J Food Prot* 71:2537–2542. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-71.12.2537>
61. Mkize N, Zishiri OT, Mukaratirwa S (2017) Genetic characterisation of antimicrobial resistance and virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolated from commercial broiler chickens in the Durban metropolitan area, South Africa. *J S Afr Vet Assoc* 88:e1–e7. <https://doi.org/10.4102/jsava.v88i0.1416>
62. Bekele B, Ashenafi M (2010) Distribution of drug resistance among enterococci and *Salmonella* from poultry and cattle in Ethiopia. *Trop Anim Health Prod* 42:857–864. <https://doi.org/10.1007/s11250-009-9499-0>
63. Semedo-Lemsaddek T, Bettencourt Cota J, Ribeiro T, Pimentel A, Tavares L, Bernardo F, Oliveira M (2021) Resistance and virulence distribution in enterococci isolated from broilers reared in two farming systems. *Ir Vet J* 74:22. <https://doi.org/10.1186/s13620-021-00201-6>
64. Pesavento G, Calónico C, Ducci B, Magnanini A, Lo Nostro A (2014) Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus* spp. isolated from retail cheese, ready-to-eat salads, ham, and raw meat. *Food Microbiol* 41:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.01.008>
65. Ayeni FA, Odumosu BT, Oluseyi AE, Ruppitsch W (2016) Identification and prevalence of tetracycline resistance in enterococci isolated from poultry in Ilishan, Ogun State, Nigeria. *J Pharm Bioallied Sci* 8:69–73. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.171729>
66. Lanza IP, Silva GR, Menezes LDM, Assis DCS, Figueiredo HCP, Lana AMQ, Lara LJC, Figueiredo TC, Souza MR, Cançado SV (2022) Research Note: Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* spp. isolated from the eggshell of laying hens submitted to pharmacological treatment. *Poult Sci* 101:101606. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101606>
67. Karunarathna R, Ahmed KA, Liu M, Yu C, Popowich S, Goonewardene K, Gunawardana T, Kurukulasuriya S, Gupta A, Ayalew LE, Willson P, Ngeleka M, Gomis S (2020) Non-viable chicken embryos: an overlooked niche harbouring a significant source of multidrug resistant bacteria in the poultry production. *Int J Vet Sci Med* 8:9–17. <https://doi.org/10.1080/23144599.2019.1698145>
68. Schwaiger K, Schmied E-MV, Bauer J (2010) Comparative analysis on antibiotic resistance characteristics of *Listeria* spp. and *Enterococcus* spp. isolated from laying hens and eggs in conventional and organic keeping systems in Bavaria, Germany. *Zoonoses Public Health* 57:171–180. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01229.x>
69. Noh EB, Kim YB, Seo KW, Son SH, Ha JS, Lee YJ (2020) Antimicrobial resistance monitoring of commensal *Enterococcus faecalis* in broiler breeders. *Poult Sci* 99:2675–2683. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.01.014>
70. Kim MH, Moon DC, Kim S-J, Mechesso AF, Song H-J, Kang HY, Choi J-H, Yoon S-S, Lim S-K (2021) Nationwide Surveillance on Antimicrobial Resistance Profiles of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* Isolated from Healthy Food Animals in South Korea, 2010 to 2019. *Microorganisms* 9:925. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9050925>
71. Stępień-Pyśniak D, Hauschild T, Dec M, Marek A, Brzeski M, Kosikowska U (2021) Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Enterococcus faecalis* from yolk sac infections in broiler chicks. *Poult Sci* 100:101491. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101491>
72. Oliveira M, Santos V, Fernandes A, Bernardo F, Vilela CL (2010) Antimicrobial resistance and in vitro biofilm-forming ability of enterococci from intensive and extensive farming broilers. *Poult Sci* 89:1065–1069. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00436>
73. Liu Y, Liu K, Lai J, Wu C, Shen J, Wang Y (2013) Prevalence and antimicrobial resistance of *Enterococcus* species of food animal origin from Beijing and Shandong Province, China. *J Appl Microbiol* 114:555–563. <https://doi.org/10.1111/jam.12054>

74. Makarov DA, Ivanova OE, Pomazkova AV, Egoreva MA, Prasolova OV, Lenev SV, Gergel MA, Bukova NK, Karabanov SY (2022) Antimicrobial resistance of commensal *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from food-producing animals in Russia. *Vet World* 15:611–621. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.611-621>
75. Roy K, Islam MS, Paul A, Levy S, Talukder M, Sobur MA, Balah FM, Khan MSR, Rahman MT (2022) Molecular detection and antibiotyping of multi-drug resistant *Enterococcus faecium* from healthy broiler chickens in Bangladesh. *Vet Med Sci* 8:200–210. <https://doi.org/10.1002/vms3.669>
76. Liu Y, Liu K, Lai J, Wu C, Shen J, Wang Y (2013) Prevalence and antimicrobial resistance of *Enterococcus* species of food animal origin from Beijing and Shandong Province, China. *Journal of Applied Microbiology* 114:555–563. <https://doi.org/10.1111/jam.12054>
77. Hassan IZ, Wandrag B, Gouws JJ, Qekwana DN, Naidoo V (2021) Antimicrobial resistance and mcr-1 gene in *Escherichia coli* isolated from poultry samples submitted to a bacteriology laboratory in South Africa. *Vet World* 14:2662–2669. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2662-2669>
78. Kaushik P, Anjay A, Kumari S, Dayal S, Kumar S (2018) Antimicrobial resistance and molecular characterisation of *E. coli* from poultry in Eastern India. *Vet Ital* 54:197–204. <https://doi.org/10.12834/VetIt.330.1382.2>
79. Much P, Sun H, Lassnig H, Koeberl-Jelovcan S, Schliessnig H, Stueger HP (2019) Differences in antimicrobial resistance of commensal *Escherichia coli* isolated from caecal contents of organically and conventionally raised broilers in Austria, 2010–2014 and 2016. *Preventive Veterinary Medicine* 171:104755. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104755>
80. De Jong A, El Garch F, Hocquet D, Prenger-Berninghoff E, Dewulf J, Migura-Garcia L, Perrin-Guyomard A, Veldman KT, Janosi S, Skarzynska M, Simjee S, Moyaert H, Rose M, EASSA Study Group (2022) European-wide antimicrobial resistance monitoring in commensal *Escherichia coli* isolated from healthy food animals between 2004 and 2018. *J Antimicrob Chemother* 77:3301–3311. <https://doi.org/10.1093/jac/dkac318>
81. Rivera-Gomis J, Marín P, Otal J, Galecio JS, Martínez-Conesa C, Cubero MJ (2021) Resistance patterns to C and D antibiotic categories for veterinary use of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. commensal isolates from laying hen farms in Spain during 2018. *Prev Vet Med* 186:105222. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105222>
82. Majewski M, Józefiak A, Kimsa-Furdzik M, Dziubdziela L, Hudak-Nowak M, Wilczyński J, Anusz K (2021) Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. conventionally sampled from factory-farmed chickens – clinical submissions. *Ann Agric Environ Med* 28:271–276. <https://doi.org/10.26444/aaem/120927>
83. Mandal AK, Talukder S, Hasan MdM, Tasmim ST, Parvin MstS, Ali MdY, Islam MdT (2021) Epidemiology and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* in broiler chickens, farmworkers, and farm sewage in Bangladesh. *Vet Med Sci* 8:187–199. <https://doi.org/10.1002/vms3.664>
84. Shaib H, Aoun P, Ghaddar A, Al Labadi H, Obeid Y (2023) Multidrug Resistance and Plasmid Profiles of *Escherichia coli* Isolated from Lebanese Broiler Farms. *Int J Microbiol* 2023:8811675. <https://doi.org/10.1155/2023/8811675>
85. Moffo F, Mouiche MMM, Djomgang HK, Tombe P, Wade A, Kochivi FL, Dongmo JB, Mbah CK, Mapiefofou NP, Mingoas J-PK, Awah-Ndukum J (2022) Associations between antimicrobial use and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry litter under field conditions in Cameroon. *Prev Vet Med* 204:105668. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105668>
86. Adelowo OO, Fagade OE, Agersø Y (2014) Antibiotic resistance and resistance genes in *Escherichia coli* from poultry farms, southwest Nigeria. *J Infect Dev Ctries* 8:1103–1112. <https://doi.org/10.3855/jidc.4222>
87. Wang M, Chen S-Y, Zhang J-X, He X-X, Xiong W-G, Sun Y-X (2018) Variations of antibiotic resistance profiles in chickens during administration of amoxicillin, chlortetracycline and florfenicol. *J Appl Microbiol*. <https://doi.org/10.1111/jam.14065>
88. Kempf I, Jouy E, Chauvin C (2016) Colistin use and colistin resistance in bacteria from animals. *Int J Antimicrob Agents* 48:598–606. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.09.016>

Közlésre érkező: 2024. ápr. 13.

Cross-species testing
of microsatellite markers
for the individual
identification of
eastern imperial eagles
(*Aquila heliaca*)

B. Zsinka^{1*}

N. Vili¹

K. Szabó¹

Á. Tisza²

V. Csonka¹

Sz. Pásztory-Kovács¹

1. Állatorvostudományi Egyetem,
Biológiai Intézet, Zoológiai
Tanszék, H-1077 Budapest,
Rottenbiller utca 50.

2. ELTE Természettudományi Kar,
Állatrendszertani és Ökológiai
Tanszék, Budapest

*e-mail: zsinka.bernadett@univet.hu

Mikroszatellita-markerkészlet fejlesztése parlagi sasok (*Aquila heliaca*) egyedi azonosításához rokon fajokban leírt markerek segítségével

Zsinka Bernadett^{1*}, Vili Nóra¹, Szabó Krisztián¹, Tisza Ádám²,
Csonka Veronika¹, Pásztory-Kovács Szilvia¹

ÖSSZEFOGLALÁS

A hazánkban fokozottan védett parlagi sas (*Aquila heliaca*) ökológiája territoriális viselkedéséből adódóan jól vizsgálható nem-invazív módon gyűjtött minták (vedlett tollak) DNS-profilozásával. A szerzők célja a fajon belüli egyedi azonosításra Magyarországon korábban alkalmazott mikroszatellita-markerkészlet továbbfejlesztése volt, rokon fajokban leírt markerek segítségével. A 26 marker tesztelését követően összeállított 17 markeres készlet felbontóképessége nyolc nagyságrenddel meghaladja a korábban használt készletét (az identitási valószínűség 10^{-6} -ról 10^{-14} -re csökkent), ezzel biztosítva a parlagi sasok növekvő populációjában is a megbízható egyedi azonosítást.

SUMMARY

Background: DNA profiling allows the study of population structure, dispersal and survival of protected species and can play an important role in mitigating wildlife crime. The eastern imperial eagle (*Aquila heliaca*) is a globally vulnerable raptor which has been actively monitored in Hungary for decades, using DNA profiling based on microsatellite markers. However, due to the rapid growth of the population, additional markers are required for reliable individual identification in the future.

Objectives: Our aim was to increase the resolution of the microsatellite marker set currently used for the individual identification of the eastern imperial eagle with cross-species markers described in related species.

Materials and Methods: We tested 26 cross-species microsatellite markers, out of which six were described in the Spanish imperial eagle (*A. adalberti*), 13 in the Japanese golden eagle (*A. chrysaetos japonica*) and seven in the white-tailed eagle (*Haliaeetus albicilla*). First, we tested the markers in monoplex PCR reactions in 4–15 unrelated individuals, using DNA from shed feathers of breeding individuals collected between 2011 and 2022. Then, we created multiplexes of the polymorphic markers where possible to reduce genotyping costs. Lastly, we tested the markers for Hardy-Weinberg equilibrium and the presence of null alleles, and estimated the probabilities of identity for the new marker set.

Results and Discussion: In general, the polymorphism and amplification success of markers were positively correlated with relatedness between the eastern imperial eagle and the source species. We selected 17 markers for the final marker set, seven previously used and ten newly tested markers (two eastern imperial eagle, ten Spanish imperial eagle, three Japanese golden eagle and two white-tailed eagle markers). All markers were in Hardy-Weinberg equilibrium and no null alleles were detected. The probability of identity decreased compared to the old marker set (from 10^{-6} to 10^{-14}), ensuring the reliable individual identification of eastern imperial eagles in the future.

VADON ÉLŐ ÁLLAT

A vadon élő populációk vizsgálatához számos esetben elengedhetetlen az egyedek azonosítása [1]. Ez a módszer lehetővé teszi a túlélési valószínűség becslését, a diszperziós mintázatok tanulmányozását, ill. a párválasztási és utódgondozási stratégiák vizsgálatát is [2–5]. A genetikai alapon történő egyedi azonosítás, az úgynevezett DNS-profilozás, ezen felül lehetőséget biztosít az egyedek rokonsági fokának becslésére, a beltenyésztettség felmérésére, ill. a populációstruktúra feltérképezésére is [6–9]. Mindemellett a vadon élő állatokkal kapcsolatos bűncselekmények (pl. orvvadászat, illegális kereskedelem) esetében is fontos szerepe lehet a helyszínen és a gyanúsítottnál talált állati maradványok összevetésében [10, 11].

Számos esetben szükség lehet vadon élő állatok egyedi azonosítására

Védett fajok esetében különös jelentőségűek az említett vizsgálatok, hiszen a sikeres fajvédelmi stratégiák kidolgozásának fontos elemei a populációk genetikai állapotának feltérképezése, valamint az egyedek túlélésére és szaporodási sikerére ható tényezők feltárása [9, 12–14]. A sok esetben rejtőzködő életmódot folytató, és emiatt nehezen befogható, védett fajok egyedeinek azonosítása gyakran csak DNS-profilozással lehetséges az egyedek által hátrahagyott biológiai maradványokból, mint pl. a vedlett toll, a szőr vagy az ürülék [15, 16]. Az ilyen, nem-invazív módon gyűjtött minták azonban általában kevesebb, rosszabb minőségű (töredezett) és sok esetben szennyezett DNS-t tartalmaznak, amit figyelembe kell venni az egyedi azonosításra szolgáló genetikai markerek megválasztásánál [17].

MIKROSZATELLITA-MARKERKÉSZLET FEJLESZTÉSE EGYEDI AZONOSÍTÁSHOZ

A mikroszatellitákat, más néven STR markereket széles körben használják egyedi azonosításra

A mikroszatellitákat, más néven STR markereket (Short Tandem Repeat, rövid tandem ismétlődés) széles körben használják egyedi azonosításra. Ezek olyan, nagy mutációs gyakoriságot mutató régiók a DNS-ben, amelyekben 2–6 bázispár hosszúságú motívumok ismétlődnek, változó számban. Az így kialakult hosszpolimorfizmus adja az egyedek megkülönböztetéséhez szükséges változatosságot. Kellően nagyszámú és nagymértékben polimorf marker vizsgálatával olyan egyedi DNS-profilok állíthatók fel, amelyek nem csak az egyedek egymástól való megkülönböztetését teszik lehetővé, de a rokonsági viszonyaik vizsgálatát is [18, 19].

Egy adott fajban az egyedi azonosításra alkalmas mikroszatellita-markerkészlet összeállítása két úton történhet: mikroszatellita-markerek keresésével a cél faj genomjában szekvenciameghatározás segítségével (*de novo* módszer), vagy rokon fajokban már korábban leírt markerek alkalmazásával (*cross-species* módszer) [20]. Az utóbbi módszer olcsóbb, azonban a forrás faj és a vizsgálandó cél faj genetikai távolsága nagyban meghatározza a markerek alkalmazhatóságát. Minél közelebbi rokon a forrás- és a cél faj, annál valószínűbb, hogy a forrás faj markere a cél fajban is polimorf lesz, valamint a markerre tervezett primerek a cél faj esetében is alkalmazhatók [21, 22].

A mikroszatellita-markerekben 2–6 bázispár hosszúságú motívumok ismétlődnek, változó számban

A mikroszatellita-markerek kiválasztásánál fontos szempont az ismétlődő motívum jellege is. A hosszabb, négy bázispáros (tetranukleotid) ismétlődésből álló mikroszatelliták alléljai általában egyértelműbben azonosíthatók, mint a rövidebb (di-, és trinukleotid) motívumú markereké, mert utóbbiaknál jellemzően nagyobb mértékű „dadogás” lép fel, azaz a PCR polimeráz enzim hibájából adódóan gyakran keletkeznek a valósnál néhány ismétlődéssel hosszabb vagy rövidebb PCR-termékek is [23]. Az amplifikációs hibára való kisebb hajlam azonban azt is jelenti, hogy a tetranukleotidok a sejtben végbemenő DNS-replikáció során is kevésbé hajlamosak a mutációra, így általában kevesebb alléllal rendelkeznek, mint a di- vagy trinukleotid lókuszok. A polimorfizmus mértékét azonban az ismétlődő motívum szekvenciája is befolyásolja [24, 25].

A markerek alkalmazása előtt azok tesztelése szükséges a vizsgálni kívánt célpopuláción. A tesztelés célja olyan polimorf lókuszok kiválasztása, amelyek-

ről megfelelő mennyiségű és minőségű, műtermékektől mentes PCR-termék keletkezik és ennek megfelelően alléljai megbízhatóan detektálhatók a kapilláris-elektroforézis során. Továbbá az egyedi azonosításhoz olyan markerkészlet összeállítására van szükség, amely a vizsgálat céljának megfelelő felbontóképességgel rendelkezik. A felbontóképesség egyik legfontosabb mutatója az identitási valószínűség (Probability of Identity, PI), amely annak a valószínűsége, hogy a populációból véletlenszerűen kiválasztott két egyed DNS-profilja megegyezik [26]. Ez a valószínűség nagyobb lehet rokonok esetében, így a markerkészlet megbízhatóságáról pontosabb tájékoztatást ad a PI testvérekre korrigált értéke, a PI_{SIB} [26]. A felbontóképességen túl az idő- és költséghatékonyság is fontos szempont egy markerkészlet összeállításánál. Ezt segíti elő a markerek együttes felszaporítását lehetővé tevő, úgynevezett multiplex PCR programok összeállítása [27, 28]. Továbbá a költséghatékonysághoz hozzájárul több lókuszt alléljeinek egyidőben történő detektálása is, amelyhez szükséges, hogy a kapilláris elektroforézis folyamatához az azonos hossztartományba eső lókusztok termékeit eltérő színű fluoreszcens festékkel jelöljük [29].

DNS-ALAPÚ EGYEDI AZONOSÍTÁS A VÉDETT PARLAGI SAS (AQUILA HELIACA) ESETÉBEN

A parlagi sas egy globálisan veszélyeztetett, hazánkban fokozottan védett ragadozó madár

A parlagi sas (*Aquila heliaca*, SAVIGNY 1809) egy globálisan veszélyeztetett, az IUCN (International Union for Conservation of Nature, Természetvédelmi Világszövetség) besorolás alapján sebezhető (Vulnerable, VU) kategóriába tartozó, hazánkban fokozottan védett ragadozó madár. Világszintű állományát maximum 5000 párra becsülik [30]. Nyugati elterjedésének határa a pannoni régió, ahol 2019-ben 356–381 pár fészkel [31], ebből 287 pár Magyarország területén [32]. Európai populációi növekvő tendenciát mutatnak, beleértve a világviszonylatban is jelentős magyarországi állományt [30, 33].

A költő parlagi sasokat nagy testméretükből adódóan nehéz befogni, így egyedi azonosításuk csak nem-invazív mintavétel útján történő DNS-profilozással lehetséges. Territoriális viselkedésének köszönhetően a költő egyedek jól mintázhatók a fészkek környékén gyűjtött vedlett tollaikból. Erre a módszerre alapozva már megvalósult hazánkban a kicserélődési ráta becslése a költő madarakra [34], a szlovákiai állomány populációstruktúrájának vizsgálata [35] valamint a rokonelkerülés, beltenyésztettség, diszperziós viselkedés és szaporodási rendszer vizsgálata is a kazahsztáni populációban [7, 36]. A felsorolt kutatásokban alkalmazott mikroszatellita-markerkészleteket részben parlagi sásra leírt lókusztok alkották [37], de nagy számmal tartalmaztak a parlagi sas testvérfajára, az ibériai sásra (*Aquila adalberti*) leírt markereket is [38].

A korábban használt markerkészletek a PI-értékük alapján alkalmasak voltak az egyedek megbízható elkülönítésére a vizsgált populációk akkori méreteit figyelembe véve, azonban nem vizsgálták az identitási valószínűség testvérek egyezőségére korrigált változatát (PI_{SIB}), amely nagyságrendekkel gyengébb lehet a PI-nél. A parlagi sasnál a PI_{SIB} egy jobb mutatója a markerkészlet megbízhatóságának, mert territóriumhűségük, hosszú élettartamuk és monogám párzási rendszerük miatt sok édestestvér található a populációkban [7, 34].

A szerzők célja egy, a korábban alkalmazottnál nagyobb felbontóképességű mikroszatellita-markerkészlet kifejlesztése volt

Tekintettel a magyarországi populáció jellemzőire (egyre nagyobb egyedszám, sok rokon egyed), a célunk egy olyan mikroszatellita-markerkészlet összeállítása volt, amely az eddig használt markerkészletnél [34] nagyobb felbontóképességgel rendelkezik. Ezáltal a jövőben is biztosítani tudja a parlagi sasok megbízható egyedi azonosítását [26], valamint lehetőséget nyújt a rokonsági viszonyok megbízhatóbb becsléséhez, ill. a populációstruktúra részletesebb vizsgálatához is [39]. Az új markerkészlet összeállításához egyrészt a korábbi publikációkban már sikerrel alkalmazott lókusztokat, másrészt új, rokon fajokban leírt mikroszatellitákat is terveztünk felhasználni.

ANYAG ÉS MÓDSZER

MINTAVÉTEL ÉS DNS-KIVONÁS

A kutatáshoz vedlett
tollakból kivont
DNS-t használtak

A kutatáshoz felhasznált vedlett tollak a 2011 és 2022 között Kelet-Magyarországon költő parlagi sasoktól származtak, amelyeket a Helicon LIFE (2012–2016, LIFE10/NATHU/019) és a PannonEagle LIFE (2017–2023, LIFE15/NATHU/000902) projektek keretében gyűjtöttek a Magyar Madártani Egyesület és az illetékes Nemzeti Parkok munkatársai. A DNS minőségének megőrzése céljából a tollakat feldolgozásukig zárható zacskókban, száraz, sötét helyen tároltuk [40]. A DNS-kivonást a tollak felső köldök (*superior umbilicus*) részén található vérrögéből végeztük [41] kereskedelmi DNS-izoláló kitek (Geneaid™ DNA Isolation Kit Tissue, Omega E.Z.N.A.® Tissue DNA Kit) segítségével, a gyártók protokolljai alapján. A tollakban lévő keratin emésztődését elősegítendő 10 µl DTT-t (1,4-ditio-treitol) is adtunk a mintákhoz [42].

MIKROSZATELLITA-MARKEREK KIVÁLASZTÁSA

Az újonnan tesztelendő mikroszatelliták kiválasztásánál szempontok voltak: (1) a forrásfaj és a parlagi sas közötti rokonság mértéke, (2) korábbi tapasztalataink az adott faj markereivel, ill. (3) a lókuszok forrásfajban mutatott tulajdonságai (ismétlődő szekvencia hossza, polimorfizmus mértéke, felszaporított szakasz hossza).

Parlagi sassal
rokon fajokban leírt
mikroszatellitákat
vizsgáltak

A tesztelésre kiválasztott 26 mikroszatellita közül hatot (Aa26, Aa41, Aa49, Aa53, Aa56, Aa57) a parlagi sas testvérfajában, az ibériai sasban (*A. adalberti*) [38], tizenhármát (AQJ10, AQJ22, AQJ36, AQJ52, AQJ62, AQJ71, AQJ72, AQJ79, AQJ84, AQJ88, AQJ91, AQJ118, AQJ120) a japán szirti sasban (*Aquila chrysaetos japonica*) [43, 44] és hetet (Hal01, Hal03, Hal04, Hal09, Hal10, Hal13, Hal14) a rétisasban (*Haliaeetus albicilla*) [45] írtak le. A tesztelendő ibériai sas markerek bizonyítottan működnek parlagi sasban [7, 34, 36], azonban a magyarországi állományon még nem voltak tesztelve. A japán szirti sas lókuszokra azért esett a választás, mert egyrészt a japán szirti sas a parlagi sashoz hasonlóan az *Aquila* nemzetségbe tartozik, másrészt nagyszámú leírt mikroszatellita állt rendelkezésünkre ebből a fajból. Habár a *Haliaeetus* nemzetségbe tartozó rétisas nem áll közeli rokonságban a parlagi sassal, utóbbi faj markerei korábbi vizsgálatokban jól működtek rétisasban [46, 47], így feltételeztük, hogy a rétisas markerek is hasonlóképpen alkalmazhatóak lesznek parlagi sasban.

A kiválasztott mikroszatelliták közül 18 dinukleotid (Aa26, Aa49, Aa53, Aa56, Aa57, Hal01, Hal03, Hal04, Hal09, Hal10, Hal13, Hal14, AQJ36, AQJ52, AQJ62, AQJ84, AQJ88, AQJ91), öt trinukleotid (AQJ10, AQJ71, AQJ72, AQJ79, AQJ120) és három tetranukleotid (Aa41, AQJ22, AQJ118) ismétlődéssel rendelkezett. Annak érdekében, hogy a rosszabb minőségű, töredezett DNS-t tartalmazó mintákból is felszaporíthatóak legyenek, csak olyan lókuszokat választottunk tesztelésre, amelyeknél 300 bázispárnál rövidebb PCR-terméket vártunk.

A MARKEREK TESZTELÉSE

A tesztelés első lépéseként 4–15, egymástól független, a korábban alkalmazott markerkészlet [34] alapján közeli rokonságban nem álló egyed mintáin kíséreltük meg felszaporítani a lókuszokat az azokhoz publikált PCR-programok alkalmazásával.

Az Aa és Hal markerek esetében az 5' végen fluoreszcens festékkel (6-FAM™, HEX™, NED™ vagy PET™, AppliedBiosystems Waltham, MA, USA) jelölt forward primereket használtunk. A költséghatékonyság érdekében a nagyszámú AQJ lókusz esetében több markernél is úgynevezett „farkazásos” módszert alkalmaztunk a monoplex tesztelési lépésben, egyféle univerzális primerszekvencia (Tail A) használatával [48]. Mivel ez a technika okozhat nehézségeket a PCR-programok optimalizációja során [49, 50], a multiplex reakciók tesztelésekor, valamint a végső markerkészlet optimalizációja során már az AQJ lókuszoknál is a hagyományos fluoreszcens jelölést alkalmaztuk. Az amplifikációs bizonytalanságok („dadogás” és esetleges extra adeniláció) csökkentése érdekében a reverz primerek 5' végére GTTT („pigtail”) szekvencia is került [51].

A jelölt forward primerekkel végzett monoplex reakciók esetében a PCR-elegy a következőket tartalmazta: 2 µl 5 × FIREPol® Master Mix (Solis BioDyne, Tartu, Észtország), 0,5–0,5 µl 10 pmol/µl forward és reverz primer, 5 µl H₂O és 2 µl kb. 50 ng/µl koncentrációjú DNS. A farkazott primerek esetében 0,25 µl forward, 0,25 µl jelölt univerzális primer (Tail A) és 0,5 µl reverz primer került az elegybe. A duplex reakciók esetében minden primerből egyenlő mennyiség (0,5 µl) és 4 µl H₂O került az elegybe.

A PCR-reakciók eredményét első körben agarózgél-elektroforézissel értékeltük ki EcoSafe interkaláló festékkel megfestett, 2%-os agarózgélen, 100 V feszültség és 20 perc futási idő mellett. Amennyiben a reakciók során nem keletkezett termék, az annelációs hőmérséklet csökkentésével, melléktermék képződése esetén pedig „touchdown” ciklusok beépítésével próbáltunk javítani a markerek teljesítményén [52].

A megfelelő terméket adó markerek alléljai kapilláris elektroforézis során kerültek szétválasztásra ABI3130 szekvenátor segítségével (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) a Gene Scan™ -500LIZ™ méret standard alkalmazásával az Eurofins-BIOMI Kft. gödöllői laboratóriumában. Az allélméretek leolvasását OSIRIS v2.16 programban végeztük [53].

Az új markerkészlet összeállításához korábban használt és újonnan tesztelt mikroszatellitákat is felhasználtunk. A kiválasztott markerekkel 15 nem rokon egyed genotipizálását végeztük el a statisztikai elemzésekhez. Az identitási valószínűségek (PI és a testvérek jelenlétére is korrigált PI_{SIB}) számítására a GenAlEx v.6.503 Excel makrót használtuk [54]. A lókuszkok megfigyelt (H_o), és várt heterozigóciáját (H_e), valamint a Hardy-Weinberg-egyensúly teljesülését Genepop v1.2.2. [55] szoftverrel vizsgáltuk. A nullallél előfordulásának valószínűségét a MicroChecker v.2.2.2 programmal becsültük [56].

EREDMÉNYEK

A 26 tesztelt mikroszatellita közül csak egy, a japán szirti sasban leírt lókusznak nem adott PCR-terméket

A 26 tesztelt mikroszatellita közül csak egy, a japán szirti sasban leírt lókusznak (AQJ52) nem adott PCR-terméket. A terméket adó 25 marker közül 19 volt polimorf: az ibériai sasban leírt lókuszkok 100%-a (Aa26, Aa41, Aa49, Aa53, Aa56, Aa57), a japán szirti sasban leírt markerek 75%-a (AQJ10, AQJ22, AQJ36, AQJ71, AQJ79, AQJ84, AQJ88, AQJ91, AQJ120) és a rétisas lókuszkok 57%-a (Hal04, Hal09, Hal10, Hal13). A polimorf markerek allélszámai kettőtől hétig terjedtek, átlagosan 4,2 alléllal az ibériai sas, 3,6 alléllal a japán szirti sas és 3,8 alléllal a rétisas lókuszkok esetében.

Az új markerkészletet 17 mikroszatellitából állítottuk össze, hét korábban alkalmazott (Aa02, Aa35, Aa36, Aa39, Aa43, IEAAAG09, IEAAAG11) és tíz újonnan tesztelt markerből (Aa26, Aa41, Aa49, Aa53, Aa57, AQJ10, AQJ22, AQJ120, Hal04, Hal10) (1. táblázat). A lókuszkok kiválasztása az allélszám és az amplifikációs tulajdonságok (megfelelő mennyiségű termék, egyértelműen detektálható allélek, multiplex PCR lehetősége) figyelembevételével történt. A 17 mikroszatellitából 14 sikerrel felszaporítható volt duplex reakciókban is. A teljes készlet kapilláris elektroforézise megvalósítható mindössze két panelben. A markerek felszaporításához háromféle PCR-program alkalmazása volt szükséges: az Aa és AQJ lókuszkok, valamint az IEAAAG lókuszkok esetében az Aa lókuszkokra publikált PCR-program [38] módosított változatait alkalmaztuk, a Hal lókuszkok esetében pedig az ezekre publikált, 57 °C-os primerkötődési hőmérsékletű program módosított változatát [45] (2. táblázat).

A 17 mikroszatellita átlagos allélszáma 15 egyed genotípusa alapján 4,65 volt. A megfigyelt heterozigócia 0,333 és 0,933 között volt, míg a várt heterozigócia 0,370 és 0,802 között változott. Mindegyik lókusznak esetében fennállt a Hardy-Weinberg egyensúly, és nullallél jelenlétét nem detektáltuk. Az új markerkészlet identitási valószínűsége $PI = 7,6 \times 10^{-14}$, a testvérek jelenlétére korrigált változata $PI_{SIB} = 2,8 \times 10^{-6}$.

A 17 mikroszatellitát tartalmazó markerkészletet, hét korábban alkalmazott és tíz újonnan tesztelt markerből állították össze

1. TÁBLÁZAT. A parlagi sasok (*Aquila heliaca*) egyedi azonosítására kifejlesztett új mikroszatellita-markerkészlet és jellemzői a kelet-magyarországi populáció 15 egyede alapján

TABLE 1. The new microsatellite marker set for the individual identification of the eastern imperial eagle (*Aquila heliaca*) and the attributes of the markers based on 15 individuals from the East Hungarian population: marker name, repeat motif, fluorescent dye, PCR multiplex, range (basepairs), number of alleles

Marker	Típus	Festék	PCR multiplex	Tartomány (bp)	Allélszám	Ho	He
Panel 1							
Aa02	di	6-FAM	–	145–161	6	0,933	0,762
Aa35	di	HEX	Aa35–Aa43	252–278	8	0,800	0,802
Aa36	di	HEX	Aa36–Aa39	114–128	5	0,667	0,758
Aa39	di	6-FAM	Aa36–Aa39	192–206	6	0,667	0,742
Aa43	di	6-FAM	Aa35–Aa43	106–116	4	0,400	0,393
IEAAAG09	tetra	6-FAM	IEAAAG09–IEAAAG11	477–489	4	0,600	0,611
IEAAAG11	tetra	6-FAM	IEAAAG09–IEAAAG11	327–339	4	0,667	0,611
Hal04	di	NED	Hal04–Hal10	152–160	5	0,800	0,709
Hal10	di	NED	Hal0–Hal10	231–245	5	0,867	0,696
Panel 2							
Aa26	di	PET	–	155–157	2	0,467	0,370
Aa41	di	HEX	Aa41–Aa57	156–160	2	0,333	0,480
Aa49	di	6-FAM	Aa49–Aa53	151–159	4	0,467	0,561
Aa53	di	NED	Aa49–Aa53	130–136	4	0,667	0,687
Aa57	di	6-FAM	Aa41–Aa57	114–124	5	0,667	0,687
AQJ10	tri	HEX	AQJ10–AQJ22	182–191	4	0,933	0,743
AQJ22	tetra	PET	AQJ10–AQJ22	189–206	5	0,600	0,756
AQJ120	tri	6-FAM	–	203–218	6	0,800	0,685

megfigyelt heterozigócia; várt heterozigócia

(Ho) observed heterozygosity, (He) expected heterozygosity

MEGVITATÁS

Kutatásunk során sikerrel növeltük a magyarországi parlagi sasok egyedi azonosítására eddig használt mikroszatellita-markerkészlet felbontóképességét tíz új, rokon fajokban leírt lókusz bevonásával. A korábbi markerkészlet identitási valószínűsége $PI = 3,7 \times 10^{-6}$ volt [34], melyhez képest nyolc nagyságrenddel nagyobb felbontású a jelen tanulmányban közölt 17 markeres készlet ($PI = 7,6 \times 10^{-14}$), amely így egyben a legnagyobb felbontóképességgel rendelkező készlet a parlagi sásra eddig publikáltak közül [7, 34, 36]. Ennek köszönhetően a populáció gyors növekedése mellett is alkalmas az egyedek megbízható azonosítására [26], ami egyrészt hozzájárul a populáció demográfiai paramétereinek pontosabb becsléséhez az egyedek genetikai nyomkövetésén keresztül, másrészt bizonyító erejű eszközként szolgálhat a parlagi sasok mérgezése, lelövése vagy illegális kereskedelme esetén. Ezenkívül a rokonsági kapcsolatok megbízhatóbb becslését és a populációstruktúra finomabb felbontású vizsgálatát is lehetővé teszi, amelyek szintén fontos információkat szolgáltatnak a védelmi programok részére [39, 57, 58].

A tíz újonnan tesztelt mikroszatellita közül a legtöbb a parlagi sas legközelebbi rokonából, az ibériai sasból származott. Ennek oka, hogy az ibériai sas lókuszok szinte kivétel nélkül jó amplifikációs képességgel, megbízhatóan detektálható allélekkel és nagy

A tíz újonnan tesztelt mikroszatellita közül a legtöbb a parlagi sas legközelebbi rokonából, az ibériai sasból származott

2. TÁBLÁZAT. PCR programok az új markerkészlet lókuszaihoz

Az Aa, AQJ és IEAAAG markerekhez tartozó programok az Aa lókuszokra publikált program [38] módosított változatai, a Hal lókuszokhoz tartozó program az ezekre publikált program [45] módosított változata

TABLE 2. PCR programs for the loci of the new marker set

The Aa, AQJ and IEAAAG markers were run on the modified versions of the PCR program published for the Aa loci in [38], while the Hal loci were run on the modified version of the program published for Hal loci in [45]

PCR program lépése	Aa és AQJ lókuszok	IEAAAG lókuszok	Hal lókuszok
Kezdeti denaturáció	95 °C (2 perc)		
Denaturáció	95 °C (30 mp)		
Primerkötődés	Touchdown (–1 °C / ciklus) 66–50 °C (30 mp) 17 ciklus 50 °C (30 mp) 21 ciklus	Touchdown (–1 °C / ciklus) 66–60 °C (30 mp) 7 ciklus 60 °C (30 mp) 31 ciklus	57 °C (45 mp) 37 ciklus
Elongáció	72 °C (30 mp)		72 °C (45 mp)
Végső elongáció	72 °C (7 perc)		

Az összeállított
markerkészlettel
megbízható, idő- és
költséghatékony
módon vizsgálható
a parlagi sasok
növekvő állománya

polimorfizmussal rendelkeztek. Ezzel szemben a parlagi sastól legtávolabbi rokon, a *Haliaeetus* nemzetségbe tartozó rétisas markerei esetében volt a legnagyobb a monomorf markerek aránya. Ez az eredmény megfelelt annak a várakozásnak, hogy nagyobb mértékű polimorfizmus lesz megfigyelhető a közelebbi rokon fajok lókuszai esetében [21, 22]. Ennek némileg ellentmondó eredmény, hogy az egyetlen terméket nem adó mikroszatellita a rétisasnál közelebbi rokon, az *Aquila* japán szirti sasból került ki. A termék hiánya a parlagi és a japán szirti sas primerkötő szekvenciáinak jelentős eltérésére vagy a parlagi sasban hiányzó lókuszra utal. Ezen felül több japán szirti sas markernél is gyenge amplifikáció volt megfigyelhető, amely az annealációs hőmérséklet csökkentésével sem mutatott javulást. Az ibériai sas mikroszatellitáihoz képesti gyengébb amplifikáció az új markerkészletbe beválasztott AQJ120 japán szirti sas lókusz esetében is problémát jelentett, amely így csak monoplex reakcióban volt elégséges mértékben felszaporítható. Mindez a primerek csökkent affinitására utal, amelynek hátterében a két faj primerkötő szekvenciáinak eltérései állhatnak, de nem kizárható ok a japán szirti sas markerek tesztelésénél alkalmazott eltérő PCR-technika, vagyis az univerzális primer bevonásával zajló „farkazásos” jelölési módszer sem. Habár ilyen jellegű problémáról ezen módszer kapcsán nem számoltak be korábbi kutatásokban, arra volt példa, hogy a módszer megváltoztatta a primerek működési optimumát [49, 50]. Ez alapján elképzelhető, hogy hibát okozhat a japán szirti sas primer gyenge affinitása és a nagymértékű genotipizálási hiba („dadogás”) a „farkazásos” technika következménye, ami a későbbiekben orvosolható lehet hagyományos jelölési módszer alkalmazásával. Összességében elmondható, hogy az ibériai sas, a japán szirti sas és a rétisas mikroszatellita-markerei jól alkalmazhatóak parlagi sasok egyedi azonosítására. Az újonnan tesztelt lókuszok segítségével olyan markerkészletet állítottunk össze, amelynek nagymértékű felbontóképessége biztosítja, hogy a jövőben is megbízható, idő- és költséghatékony módon vizsgálhassuk a parlagi sasok növekvő állományát.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozunk DR. HORVÁTH MÁRTONNAK, a Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület Parlagisas-védelmi Munkacsoportjának, valamint az illetékes

Nemzeti Parkok munkatársainak a minták gyűjtéséért és részünkre bocsátásáért. A kutatás a Helicon LIFE (2012–2016, LIFE10/NATHU/019) és PannonEagle LIFE (2017–2023, LIFE15/NATHU/000902) projektek keretében, továbbá az Állatorvostudományi Egyetem belső kutatási pályázatának (No. SRF-001), valamint az Állatorvostudományi Doktori Iskola és a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottság (NKB) pályázatának pénzügyi támogatásával valósulhatott meg.

IRODALOM

- Pollard KA, Blumstein DT, Griffin SC (2010) Pre-screening acoustic and other natural signatures for use in noninvasive individual identification. *J Appl Ecol* 47:1103–1109 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01851.x>
- Sandercock BK (2006) Estimation of Demographic Parameters from Live-Encounter Data: a Summary Review. *J Wildl Manage* 70:1504–1520 [https://doi.org/10.2193/0022-541X\(2006\)70\[1504:EODPFL\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2193/0022-541X(2006)70[1504:EODPFL]2.0.CO;2)
- Penttinen I, Nebel C, Stjernberg T, Kvist L, Ponnikas S, Laaksonen T (2024) Large-scale genotypic identification reveals density-dependent natal dispersal patterns in an elusive bird of prey. *Mov Ecol* 12:1–13 <https://doi.org/10.1186/s40462-023-00447-5>
- Carvalho CBV, Macedo RH, Graves JA (2006) Breeding strategies of a socially monogamous neotropical passerine: Extra-pair fertilizations, behavior, and morphology. *Condor* 108:579–590 [https://doi.org/10.1650/0010-5422\(2006\)108\[579:BSOASM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1650/0010-5422(2006)108[579:BSOASM]2.0.CO;2)
- Laubach ZM, Perng W, Lombardo M, Murdock C, Foufopoulos J (2015) Determinants of parental care in Mountain White-crowned Sparrows (*Zonotrichia leucophrys oriantha*). *Auk* 132:893–902 <https://doi.org/10.1642/AUK-15-91>
- Nemesházi E, Szabó K, Horváth Z, Kövér S (2018) The effects of genetic relatedness on mate choice and territorial intrusions in a monogamous raptor. *J Ornithol* 159:233–244 <https://doi.org/10.1007/s10336-017-1494-z>
- Rudnick JA, Katzner TE, Bragin EA, Rhodes OE, Dewoody JA (2005) Using naturally shed feathers for individual identification, genetic parentage analyses, and population monitoring in an endangered Eastern imperial eagle (*Aquila heliaca*) population from Kazakhstan. *Mol Ecol* 14:2959–2967 <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02641.x>
- Forsdick NJ, Cubrinovska I, Massaro M, Hale ML (2021) Microsatellite genotyping detects extra-pair paternity in the Chatham Island Black Robin, a highly inbred, socially monogamous passerine. *Emu* 121:68–74 <https://doi.org/10.1080/01584197.2020.1812406>
- Kunde MN, Martins RF, Premier J, Fickel J, Förster DW (2020) Population and landscape genetic analysis of the Malayan sun bear *Helarctos malayanus*. *Conserv Genet* 21:123–135 <https://doi.org/10.1007/s10592-019-01233-w>
- Alacs EA, Georges A, FitzSimmons NN, Robertson J (2010) DNA detective: A review of molecular approaches to wildlife forensics. *Forensic Sci Med Pathol* 6:180–194 <https://doi.org/10.1007/s12024-009-9131-7>
- Sudhir Y, Dixit AK (2016) Forensic approaches in the solution of wildlife crime. *Int J Multidiscip Res Dev* 3:89–93
- Selwood KE, McGeoch MA, Mac Nally R (2015) The effects of climate change and land-use change on demographic rates and population viability. *Biol Rev* 90:837–853 <https://doi.org/10.1111/brv.12136>
- Hull JM, Anderson R, Bradbury M, Estep JA, Ernest HB (2008) Population structure and genetic diversity in Swainson's Hawks (*Buteo swainsoni*): Implications for conservation. *Conserv Genet* 9:305–316 <https://doi.org/10.1007/s10592-007-9342-y>
- Ludwig SC, Roos S, Rollie CJ, Baines D (2020) Long-term changes in the abundance and breeding success of raptors and ravens in periods of varying management of a scottish grouse moor. *Avian Conserv Ecol* 15:21 <https://doi.org/10.5751/ACE-01568-150121>
- Waits LP, Paetkau D (2005) Noninvasive Genetic Sampling Tools for Wildlife Biologists: a Review of Applications and Recommendations for Accurate Data Collection. *J Wildl Manage* 69:1419–1433 [https://doi.org/10.2193/0022-541X\(2005\)69\[1419:ngstfw\]2.0.co;2](https://doi.org/10.2193/0022-541X(2005)69[1419:ngstfw]2.0.co;2)
- Zemanova MA (2020) Towards more compassionate wildlife research through the 3Rs principles: Moving from invasive to non-invasive methods. *Wildlife Biol* 2020:1–17 <https://doi.org/10.2981/wlb.00607>
- Taberlet P, Waits LP, Luikart G (1999) Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends Ecol Evol* 14:323–327 [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01637-7](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01637-7)
- Wang J (2014) Marker-based estimates of relatedness and inbreeding coefficients: An assessment of current methods. *J Evol Biol* 27:518–530 <https://doi.org/10.1111/jeb.12315>
- Städele V, Vigilant L (2016) Strategies for determining kinship in wild populations using genetic data. *Ecol Evol* 6:6107–6120 <https://doi.org/10.1002/ece3.2346>
- Senan S, Kizhakayil D, Sasikumar B, Sheeja TE (2014) Methods for Development of Microsatellite Markers: An Overview. *Not Sci Biol* 6:1–13 <https://doi.org/10.15835/nsb619199>
- Primmer CR, Painter JN, Koskinen MT, Palo JU, Merilä J (2005) Factors affecting avian cross-species microsatellite amplification. *J Avian Biol* 36:348–360 <https://doi.org/10.1111/j.0908-8857.2005.03465.x>
- Primmer CR, Möller AP, Ellegren H (1996) A wide-range survey of cross-species microsatellite amplification in birds. *Mol Ecol* 5:365–378 <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.1996.00092.x>
- Hoffman JI, Amos W (2005) Microsatellite genotyping errors: Detection approaches, common sources and consequences for paternal exclusion. *Mol Ecol* 14:599–612 <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02419.x>
- Chakraborty R, Kimmel M, Stivers DN, Davison LJ, Deka R (1997) Relative mutation rates at di-, tri-, and tetranucleotide microsatellite loci. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:1041–1046 <https://doi.org/10.1073/pnas.94.3.1041>
- Antão-Sousa S, Pinto N, Rende P, Amorim A, Gusmão L (2023) The sequence of the repetitive motif influences the frequency of multistep mutations in Short Tandem Repeats. *Sci Rep* 13:1–9 <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32137-y>
- Waits LP, Luikart G, Taberlet P (2001) Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: Cautions and guidelines. *Mol Ecol* 10:249–256 <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2001.01185.x>
- Markoulatos P, Siafakas N, Moncany M (2002) Multiplex polymerase chain reaction: A practical approach. *J Clin Lab Anal* 16:47–51. <https://doi.org/10.1002/jcla.2058>

28. Bryda EC, Riley LK (2008) Multiplex microsatellite marker panels for genetic monitoring of common rat strains. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 47:37–41
29. Ziegle JS, Su Y, Corcoran KP, Nie L, Eric Mayrand P, Hoff LB, McBride LJ, Kronick MN, Diehl SR (1992) Application of automated DNA sizing technology for genotyping microsatellite loci. *Genomics* 14:1026–1031. [https://doi.org/10.1016/S0888-7543\(05\)80126-0](https://doi.org/10.1016/S0888-7543(05)80126-0)
30. BirdLife International (2019) *Aquila heliaca* (amended version of 2017 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T22696048A155464885 <https://www.iucnredlist.org/species/22696048/155464885> Accessed 16 Mar 2024.
31. Karyakin IV (2020) Breeding Population Structure of the Eastern Imperial Eagle. *Raptors Conservation* 41:64–332 <https://doi.org/10.19074/1814-8654-2020-41-64-332>
32. Horváth M, Fatér I, Juhász T, Deák G, Bereczky A (2020) A parlagi sas (*Aquila heliaca*) fészkelőállományának alakulása Magyarországon 2017 és 2019 között. *Heliaca* 16:42–45
33. Horváth M (2022) Parlagi sas *Aquila heliaca* Savigny, 1823 (Imperial Eagle *Aquila heliaca* Savigny, 1823). In: Haraszthy L, Bagyura J (eds) Magyarország ragadozómadarai és baglyai, vol 1. Vágómadár-alakúak. Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület, Budapest, pp 310–357.
34. Vili N, Szabó K, Kovács S, Kabai P, Kalmár L, Horváth M (2013) High Turnover Rate Revealed By Non-Invasive Genetic Analyses in an Expanding Eastern Imperial Eagle Population. *Acta zool Acad Sci Hung* 59:279–295.
35. Vili N, Chavko J, Szabó K, Kovács S, Hornung E, Kalmár L, Horváth M (2009) Genetic structure of the Imperial Eagle (*Aquila heliaca*) population in Slovakia. *Slovak Raptor J* 3:21–28. <https://doi.org/10.2478/v10262-012-0029-z>
36. Rudnick JA, Katzner TE, Bragin EA, Dewoody JA (2008) A non-invasive genetic evaluation of population size, natal philopatry, and roosting behavior of non-breeding eastern imperial eagles (*Aquila heliaca*) in central Asia. *Conserv Genet* 9:667–676. <https://doi.org/10.1007/s10592-007-9397-9>
37. Busch JD, Katzner TE, Bragin E, Keim P (2005) Tetranucleotide microsatellites for aquila and haliaeetus eagles. *Mol Ecol Notes* 5:39–41. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00823.x>
38. Martínez-Cruz B, David VA, Godoy JA, Negro JJ, O'Brien SJ, Johnson WE (2002) Eighteen polymorphic microsatellite markers for the highly endangered Spanish imperial eagle (*Aquila adalberti*) and related species. *Mol Ecol Notes* 2:323–326. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2002.00231.x>
39. Wang J (2006) Informativeness of genetic markers for pairwise relationship and relatedness inference. *Theor Popul Biol* 70:300–321. <https://doi.org/10.1016/j.tpb.2005.11.003>
40. Vili N, Nemesházi E, Kovács S, Horváth M, Kalmár L, Szabó K (2013) Factors affecting DNA quality in feathers used for non-invasive sampling. *J Ornithol* 154:587–595. <https://doi.org/10.1007/s10336-013-0932-9>
41. Horváth M, Martínez-Cruz B, Negro JJ, Kalmár L, Godoy JA (2005) An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds. *J Avian Biol* 1:84–88. <https://doi.org/10.1111/j.0908-8857.2005.03370.x>
42. Weigmann H (1968) Reduction of disulfide bonds in keratin with 1,4-dithiothreitol. I. Kinetic investigation. *J Polym Sci Part A-1 Polym Chem* 6:2237–2253. <https://doi.org/10.1002/pol.1968.150060819>
43. Sato Y, Ito H, Onuma M, Maeda T, Ogden R, Inoue-Murayama M (2015) Development of 20 microsatellite markers for the endangered Japanese golden eagle (*Aquila chrysaetos japonica*) using next generation sequencing. *Conserv Genet Resour* 7:917–944. <https://doi.org/10.1007/s12686-015-0493-8>
44. Naito-Liederbach AM, Sato Y, Nakajima N, Maeda T, Inoue T, Yamazaki T, Ogden R, Inoue-Murayama M (2021) Genetic diversity of the endangered Japanese golden eagle at neutral and functional loci. *Ecol Res* 36:815–829. <https://doi.org/10.1111/1440-1703.12246>
45. Hailer F, Gautschi B, Helander B (2005) Development and multiplex PCR amplification of novel microsatellite markers in the White-tailed Sea Eagle, *Haliaeetus albicilla* (Aves: Falconiformes, Accipitridae). *Mol Ecol Notes* 5:938–940. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01122.x>
46. Nemesházi E, Szabó K, Horváth Z, Kövér S (2018) The effects of genetic relatedness on mate choice and territorial intrusions in a monogamous raptor. *J Ornithol* 159:233–244. <https://doi.org/10.1007/s10336-017-1494-z>
47. Nemesházi E, Szabó K, Horváth Z, Kövér S (2018) Genetic structure confirms female-biased natal dispersal in the white-tailed eagle population of the carpathian basin. *Acta Zool Acad Sci Hungaricae* 64:243–257. <https://doi.org/10.17109/AZH.64.3.243.2018>
48. Blacket MJ, Robin C, Good RT, Lee SF, Miller AD (2012) Universal primers for fluorescent labelling of PCR fragments—an efficient and cost-effective approach to genotyping by fluorescence. *Mol Ecol Resour* 12:456–463. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03104.x>
49. Luttmann AM, Komine M, Thaiwong T, Carpenter T, Ewart SL, Kiupel M, Langohr IM, Venta PJ (2022) Development of a 17-Plex of Penta- and Tetra-Nucleotide Microsatellites for DNA Profiling and Paternity Testing in Horses. *Front Vet Sci* 9: 861623. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.861623>
50. Turi O, Wagenhoffer Z, Battay M, Lehotzky P, Zorkóczy O (2023) Mikroszatellita-markerek tesztelése dámszarvasok egyedi azonosítására céljából. *Magy Állatorvosok Lapja* 145:183–192.
51. Brownstein MJ, Carpten JD, Smith JR (1996) Modulation of non-templated nucleotide addition by Taq DNA polymerase: Primer modifications that facilitate genotyping. *Biotechniques* 20:1004–1010. <https://doi.org/10.2144/96206st01>
52. Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS (1991) “Touch-down” PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Res* 19:4008. <https://doi.org/10.1093/nar/19.14.4008>
53. Goor RM, Neall LF, Hoffman D, Sherry ST (2011) A Mathematical Approach to the Analysis of Multiplex DNA Profiles. *Bull Math Biol* 73:1909–1931. <https://doi.org/10.1007/s11538-010-9598-0>
54. Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes* 6:288–295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
55. Rousset F (2008) GENEPOP'007: A complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour* 8:103–106. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
56. Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Notes* 4:535–538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
57. Blanco G, Morinha F (2021) Genetic signatures of population bottlenecks, relatedness, and inbreeding highlight recent and novel conservation concerns in the Egyptian vulture. *PeerJ* 9:e11139. <https://doi.org/10.7717/peerj.11139>
58. Liu G, Li C, Kessler M, Flatz R, Meng D, Wei M, Gong M (2022) Geographic distance, landscape heterogeneity and migratory connectivity influence population genetic structure of farmland-dependent wintering birds and their conservation. *Biol Conserv* 272:109649. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2022.109649>

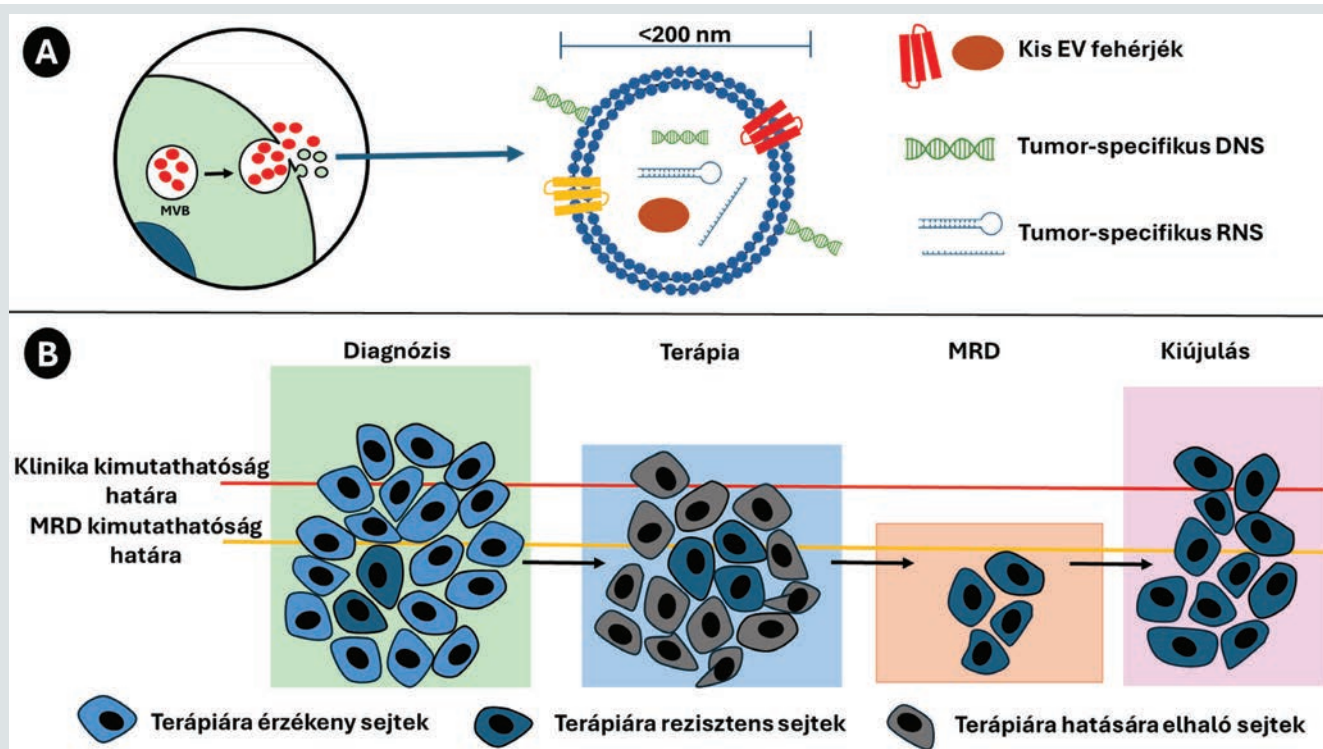
Közlésre érkező: 2024. ápr. 30.

A kis extracellularis vesiculák mint a minimális maradék betegség (minimal residual disease, MRD) és a terápiás hatékonyság monitorozásának eszközei

A daganatokat a gének betegségeként tartjuk számon, amelyek sejtjei az onkogén átalakuláshoz szükséges mutációk sorozatának köszönhetően túlnőnek a mikrokörnyezeti, sejtnövekedési és osztódási gáton. A hagyományos daganatellenes kezelések célja a lehető legtöbb tumorsejt elpusztítása, amely általánosságban átmenetileg tünetmentessé teszi a beteget. Az erős klinikai válasz ellenére az evolúciós szempontból statikus kezelések (protokollban rögzített gyógyszerek, dózisok és ütemezések) ritkán érik el a betegségmentes állapotot. Ennek oka, hogy a darwini evolúció szabályainak megfelelően a daganatsejtek a külső, számukra zavaró hatásokra dinamikus, adaptív stratégiák megjelenésével válaszolnak. A terápia intenzív szelekciós nyomásával szemben megjelenő rezisztenciátulajdonságok kezdetben a túlélő daganatsejtek kis csoportjára (úgynevezett Minimális maradék betegségekre, Minimal residual disease-re, MRD) jellemzőek. A folytatódó kezelés az érzékeny daganatsejtek elpusztításával

hatékonyan eltávolítja a rezisztens sejtek versenytársait, így hozzájárul az ellenálló klón növekedéséhez, majd a daganat klinikai kiújulásához [1].

A minimális maradék betegség relatíve kevés daganatsejtből áll, valamint valószínűsíthetően az intratumoralis heterogenitás a daganat kiújulásának ebben a szakaszában a legkisebb [2]. Azonban, az MRD hatékony kezeléséhez az onkológusoknak valós idejű információkat kell szerezniük egy klinikailag nem észlelhető daganatsejt-populáció jelenlétéről, jellemzőiről és evolúciós változásairól. A *Biochimica et Biophysica Acta – Reviews on Cancer* legutóbbi számában VALCZ és mtsai a kis extracellularis vesiculákat (kis EV-eket) javasolja a minimális maradék betegség és a terápiás hatékonyság monitorozásának eszközeként [3]. A kis EV-k ilyen irányú felhasználhatóságának alapja, hogy a daganatsejtek szignifikánsan nagyobb mennyiségben bocsájtják őket a vérkeringésbe (vagy egyéb testfolyadékokba), mint az egészséges sejtek. Továbbá, a kis EV-k különböző molekulák, pl. fehérjék,



RNS-, DNS-komplexek csomagját szállítják. A kis EV-k ezen multiparametrikus természete nemcsak a kibocsátó sejt eredetét világíthatja meg (pl. daganatsejtben jellemzően túltermelődő onkogén molekulák kimutathatóságával), hanem utalhatnak a maradék betegség terápiás érzékenységére (pl. rezisztenciámutációk feltüntetésével). A kis EV-kből származó

többletinformáció segítségével az onkológus mentőterápiát dolgozhat ki a tumor kiújulásának korai szakaszában. Ezek alapján a folyékonybiopszia-eredetű kis EV-k alkalmasak a tumor evolúciójának longitudinális monitorozására, így vizsgálatuk a közeljövőben az egyedre szabott tumorelles stratégák nélkülözhetetlen részévé válhat.

IRODALOM

1. Enriquez-Navas PM, Wojtkowiak JW, Gatenby RA (2015) Application of Evolutionary Principles to Cancer Therapy. *Cancer Res* 75:4675–4680. <https://doi.org/10.1158%2F0008-5472.CAN-15-1337>

2. Luskin MR, Murakami MA, Manalis SR, Weinstock DM (2018) Targeting minimal residual disease: a path to cure? *Nat Rev Cancer* 18:255–263. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.125>

3. Valcz G, Buzás EI, Gatenby RA, Újvári B, Molnár B (2024) Small extracellular vesicles from surviving cancer cells as multiparametric monitoring tools of measurable residual disease and therapeutic efficiency. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 1879:189088 <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2024.189088>

A fogkő eltávolítását megkönnyítő egyszerű eszközök alkalmazása kutyáknál

Tisztelt Szerkesztőség!

A mindennapok állatorvosi fogászati rendelésének talán egyik leggyakoribb esettípusa a különböző súlyosságú fogkövesség (1. ábra), amelynek eltávolítását a KERESZTY G. által kifejlesztett és HORVÁTH A. által 2016-ban a Hungarovet Fórum oldalain leírt tiletamin + zolazepám (Zoetil, Virbac, Carros, Franciaország) – medetomin (Sedorm, Vetpharma, Barcelona, Spanyolország) – butorfanol (Alvegesicvet., V.M.D.n.v., Arendonk, Belgium) kombináció 0,3 ml. im. alkalmazásával, majd Enroxil 100 mg/ml (KRKA Novo Mesto, Szlovénia) injekciók 0,5 ml im. adagolását követően végzem.

A különböző fogkőeltávolítást elősegítő eszközök (pl. Woodpecker DTE D7 LED fogászati ultrahangos, piezo-elektromos fogkő-eltávolító (Guilin Woodpecker Medical Instrument Co. Ltd., China) és polírozó (pl. ART fogpolírozó (Bonart Co. Ltd., Taiwan)) eszközök használata során jelentősen megkönnyítheti az állatorvos munkáját a szilikonnal fedett végű Doyen-Jansen féle szájgag (Artlab Inc., USA) (2. ábra).

Ez az eszköz 3,5”–5,5”-es méreteken készül, így nagytestű kutyáknál is használható. A fogakon dolgozó állatorvos munkájának minőségi ellenőrzését a fogászati tükör használata segíti, amely az állat kilégzése során rendszeresen bepárásodik. Ennek megelőzésére kiválóan használható a XUX típusú

1. ÁBRA. A jobb felső M1, P4, P3 és P2 fogkövessége kutyán



2. ÁBRA. Szilikonnal fedett végű Doyen-Jansen féle szájgag (Artlab Inc., USA)



3. ÁBRA. XUX típusú, automatikus (és USB-porton újratölthető), microventillátorral ellátott, páramentesítő fogtűkőr



4. ÁBRA. A ventillátorral ellátott tükör nem párasodik kilégzésakor



automatikus (USB-porton újratölthető), microventillátorral és ledekkel ellátott, páramentesítő fogtűkőr (Ninelife, Svájc), amely több „lapáttal” is készül (3. és 4. ábra).

Az említett egyszerű eszközök alkalmazásával precízebb, gyorsabb fogkő-eltávolítás végezhető a nem fogászatra szakosodott állatorvosi rendelőkben, amelyek eredménye látszik a 5. ábrán.

Prof. Dr. Egri Borisz, DSc., MRANH.
SZE AKMÉK, Mosonmagyaróvár



5. ÁBRA. A fogkövességtől megszabadított fogazat

BRAVECTO[®]

injekció



EGY ÉVEN ÁT TARTÓ*

BOLHA ÉS KULLANCS ELLENI VÉDELEM

BEMUTATJUK AZ ELSŐ OLYAN, KIZÁRÓLAG ÁLLATORVOSI HASZNÁLATRA KIFEJLESZTETT, injekciós formában beadható készítményt mellyel egy éven át* megszakítás nélkül tartó bolha- és kullancs elleni védelem biztosítható kutyáknak.

Fedezd fel a **BRAVECTO[®]** injekció erejét úttörő formulánkkal.



Copyright © 2023 Merck & Co., Inc., Rahway, NJ, USA és leányvállalatai.
Minden jog fenntartva. HU-BRV-240300003



Vedd fel a kapcsolatot az MSD Animal Health területi képviselőddel.

FONTOS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK: A hirdetés és a termékleírás nem teljes körű. Kérjük, hogy alkalmazás előtt olvassa el a készítményhez mellékelt használati utasítást! Kizárólag állatgyógyászati alkalmazásra. Kizárólag állatorvosi vényre adható ki.

Investigation of dental and other consequential or concomitant diseases in pet rabbits

N. Hetényi^{1*}
T. Sátorhelyi²

1. Állattenyésztési,
Takarmányozástani és
Laborállat-tudományi Intézet,
Takarmányozástani
és Klinikai Dietetikai Tanszék,
H-1078 Budapest, István u. 2.

2. Exo-Pet Állatgyógyászati
Centrum, Budapest

*e-mail:
Hetenyi.Nikoletta@univet.hu

A kedvtelésből tartott nyulak fogászati eredetű és egyéb, következményes vagy párhuzamosan fennálló megbetegedéseinek vizsgálata

Hetényi Nikoletta^{1*}, Sátorhelyi Tamás²

ÖSSZEFOGLALÁS

Nyulaknál gyakoriak a fogászati rendellenességek. A szerzők célja az volt, hogy adatokat gyűjtsenek a malokklúzióval diagnosztizált nyulakról az Exo-Pet Állatgyógyászati Centrum adatbázisának felhasználásával ($n = 150$). A nyulak többségénél ($n = 114$, 76,0%) kizárólag az őrlőfogakat érintő malokklúziót, 36 egyednél (24%) pedig az őrlő- és metszőfogakat is érintő malokklúziót diagnosztizáltak. A legkevésbé a felső 6-os, a legnagyobb mértékben pedig a jobb alsó és felső 2-es őrlőfogak szorultak korrekcióra. Huszonhat nyúlnál alakult ki fogeredetű tályog. A fogászati problémákon túl a legfontosabb kórképek között volt az elhízás ($n = 19$), az epiphora ($n = 14$) és az emésztőszervi problémák ($n = 10$).

SUMMARY

Background: Rabbits are popular pet animals. Improper nutrition frequently leads to common diseases such as dental diseases, diarrhoea or other gastrointestinal diseases.

Objectives: The study aimed to collect data from rabbits diagnosed with malocclusion or incisor malocclusion.

Materials and Methods: Data were collected at the Exo-Pet Veterinary Clinic in Budapest, Hungary. The selected rabbits visited the clinic between 01.11.2022 and 01.09.2023. Only rabbits diagnosed with caudal malocclusion and/or incisor malocclusion were selected. Recorded data were the age, sex, breed, diagnosis, number of veterinary visits, and affected teeth. Fisher's exact test was used to evaluate the association between age (≤ 4 years old, > 4 years old), gender (male or female), and the number of diagnosed health problems (≤ 2 or more). Lower p-values than 0.05 were significant.

Results and discussion: A total of 150 records were collected. Most of the rabbits were male (61.3%) and more than 90% of the rabbits were dwarf. More rabbits were diagnosed only with malocclusion ($n = 114$, 76.0%) and 36 (24%) had both malocclusion and incisor malocclusion. The least affected teeth were the upper-left (1.7% of the affected teeth) and upper-right (2.1%) cheek teeth no. 6, as well as incisors (3.2%). The most affected teeth were lower-right (6.5%) and upper-right cheek (6.3%) teeth no. 2. Twenty-six rabbits had dental abscesses and ten of them had surgery during the examined period. The most frequent other clinical signs of the rabbits besides dental disease were obesity ($n = 19$), epiphora ($n = 14$), and digestive disorders, such as gastrointestinal stasis syndrome and ileus ($n = 10$). The only significant association was found between age and the number of diagnosed health problems ($p = 0.01735$) as older rabbits had more diseases. As previous studies showed front teeth were less affected by malocclusion than cheek teeth

A nyulak fogazata *elodont* (folyamatosan növvő) és *hypsodont* (magas koronájú). A fog a szájüregben látható szabad vagy klinikai koronából, és a csontos fogmederben található rezerv koronából áll. A nyulak 28 db maradandó foggal rendelkeznek (6 db metsző és 22 db őrlőfog). Felső metszőfoguk dupla, ami az alsó metszőfogak megfelelő kopását szolgálja. Állkapcsuk *anisognath*, azaz felső fogsor szélesebb, mint az alsó, ezért a száj zárt állapotában egyszerre csak az egyik oldali őrlőfogak találkoznak. Az egészséges nyulak esetében a felső őrlőfogaknak a pofa felőli oldala, az alsó őrlőfogaknak pedig a szájüreg felőli oldala magasabb.

A nyulak fogazata folyamatosan növvő, magas koronájú

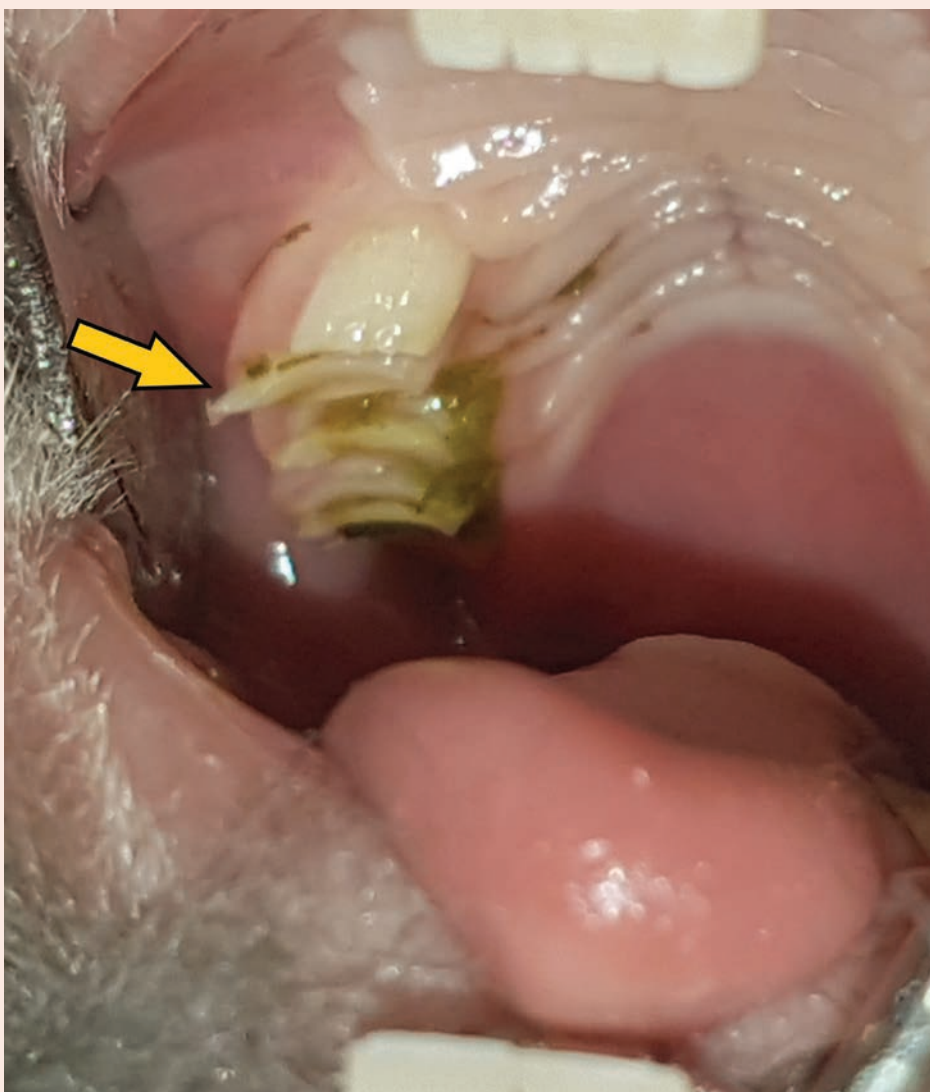
A nem megfelelő fogkopás következtében ezek éles tuskéket képezve túlnőhetnek, ami nyálkahártyasérülések és fekélyek kialakulásához vezethet (1. ábra). További következmény lehet a lépcsőzetes fogkopás, a fogak nem megfelelő illeszkedése (malokklúzió) ami megakadályozza az őrlőfogak záródását [1–3]. A törpe

1. ÁBRA. Rendellenes fogkopás nyúlnál.

A nyíllal jelölt éles tuskét képező túlnőtt fog nyálkahártya-sérülés és fekély kialakulásához vezethet

FIGURE 1. Abnormal dental wear in rabbit.

The overgrown sharp spike of the tooth (arrow) can cause injury to the oral mucosa and ulceration



A kedvtelésből tartott nyulaknál nagyon gyakoriak a fogászati megbetegedések

fajtákra jobban jellemző, mert itt gyakoribb a normálisnál rövidebb állcsont [3]. A felső metszőfogak befelé és az alsó metszőfogak kifelé irányuló túlnövése (*brachygnathia superior*) genetikai okokra vezethető vissza [4] (2. ábra).

A kedvtelésből tartott nyulaknál nagyon gyakoriak a fogászati megbetegedések, mint az őrlő és/vagy metszőfogakat érintő malokklúzió, az éles csipkék képződése

2. ÁBRA. A felső metszőfogak befelé és az alsó metszőfogak kifelé irányuló túlnövése (*brachygnathia superior*) genetikai okokra vezethető vissza

FIGURE 2. The upper incisors are curved inwards, and the lower incisors are curved outwards. The *brachygnathia superior* has a genetic background



**A fogkopási
rendellenességek
kialakulásában nagy
szerepet játszik a
takarmányozás**

vagy a fogeredetű tályogképződés. Szakirodalmi adatok alapján a fogászati betegségek gyakoribbak az idősebb és a bak egyedeknél [5–10]. Az előbbi a folyamat progresszív jellegével, az utóbbi pedig az ösztrogén hormon hiányával, ill. annak a vér kalciumszintjére – ezen keresztül pedig a fogzománc képződésre – gyakorolt hatásával áll összefüggésben. Ebből következően az ivartalanítás elsősorban a nőstények esetében növelheti a fogászati problémák kockázatát [11, 12].

A fogkopási rendellenességek kialakulásában nagy szerepet játszik a takarmányozás, azon belül is a tápfogyasztás aránya a szálas szénához képest, valamint a táp típusa. A rostban gazdag szálas széna rágásakor a vízszintes rágómozgások dominálnak, amelyek jobban koptatják a fogakat. Ezzel szemben a táp fogyasztásakor a függőleges, kisebb intenzitású és a fogakat kevésbé koptató állkapocsmozgások jellemzőek [5, 13–16]. A jó minőségű extrudált tápok legalább 20% rostot tartalmaznak hosszabb rostrészecskékkel. Ezzel szemben a hagyományos pelletált takarmányok vagy a keveréktakarmányok („műzli”) kisebb rosttartalmúak, elfogyasztásuk kisebb intenzitású, a fogakat kevésbé koptató rágómozgásokat igényel [1, 2].

Az adatgyűjtést azzal a céllal végeztük, hogy információt szerezzünk az őrlőfogakat és/vagy a metszőfogakat érintő malokklúzióval diagnosztizált nyulak életkoráról, ivaráról, fajtájáról, általános egészségi állapotáról, valamint az egyes fogak érintettségének gyakoriságáról.

ANYAG ÉS MÓDSZER

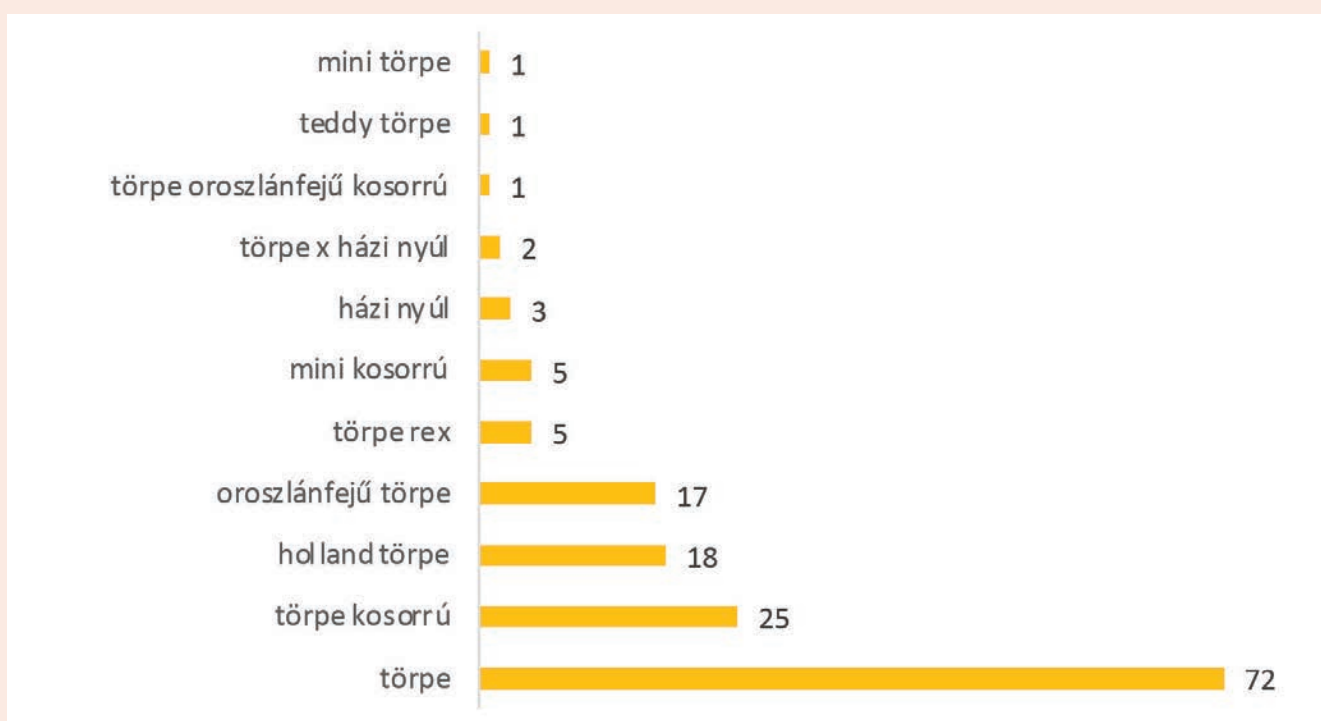
A felméréshez az Exo-Pet Állatgyógyászati Centrum adatbázisából 2022. 11. 01. és 2023. 09. 01. között rögzített adatokat használtuk fel. Kiválasztási kritérium volt, hogy a nyulakat az őrlőfogakat, ill. a metszőfogakat érintő malokklúzióval

**A szerzők
150 fogkopási
rendellenességgel
diagnosztizált nyúl
adatait elemezték**

diagnosztizálták. A rögzített adatok az életkor, ivar, fajta, testsúly, előforduló betegségek/diagnózisok, állatorvosi látogatások száma és az érintett fogak voltak. A leíró statisztikán túlmenően Fisher-féle egzakt próbával vizsgáltuk az összefüggést az életkor (≤ 4 év, > 4 év), az ivar (bak vagy nőstény) és a diagnosztizált megbetegedések száma (≤ 2 vagy több) között. A teszt elvégzéséhez az R 4.3.1 (2023) programot használtuk, a $p < 0,05$ értékeket tekintettük szignifikánsnak.

EREDMÉNYEK

Összesen 150 egyedről gyűjtöttünk adatokat. A nyulak életkora 12–144 hónap között ($76,7 \pm 31,8$ hónap) volt. Az állatok többsége bak volt ($n = 92$, 61,3%) és $\geq 90\%$ -uk a törpe fajták közül került ki ($n = 139$, 92,7%; **3. ábra**). A mini és törpe nyulak átlagos testtömege $1,84 \pm 0,45$ kg volt.



3. ÁBRA. A vizsgált egyedek fajták szerinti megoszlása ($n = 150$)

FIGURE 3. Distribution of examined individuals by breed ($n = 150$)

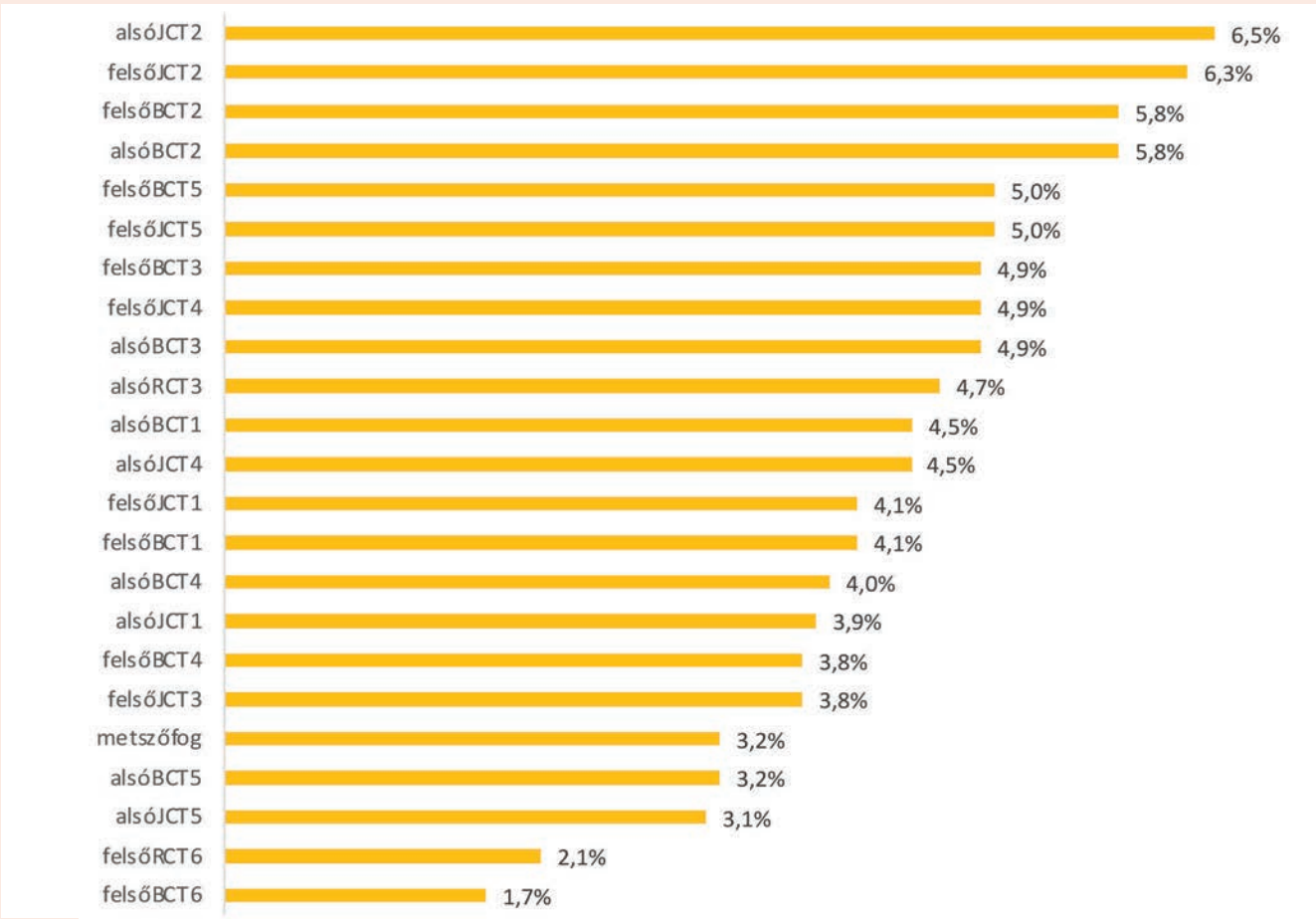
Az összes állatorvosi látogatás száma átlagosan $3,2 \pm 1,4$ volt, ezen belül a kifejezetten fogászati célú felkeresések jelentős hányadot ($2,6 \pm 1,3$) képviseltek. Az egy egyedre jutó állatorvosi diagnózisok száma 1-7 ($2,4 \pm 1,2$) között mozgott. Huszonhat (17,4%) nyúl részesült kórházi kezelésben elsősorban ileus, ill. csökkent bélmotilitás miatt.

Az állatok többségét kizárólag az őrlőfogakat érintő malokklúzióval ($n = 114$, 76,0%), harminchat egyed pedig az őrlő- és metszőfogakat is károsító malokklúzióval diagnosztizálták (24,0%). Az elváltozással legkevésbé érintett fogak a bal felső 6-os őrlőfogak (CT=cheek teeth; $n = 19$, az érintett fogak 1,7%-a) és a jobb felső CT6-os fogak ($n = 23$, 2,1%) voltak. A metszőfog elváltozása szintén ritkább volt ($n = 36$, 3,2%). A legtöbb elváltozás a jobb alsó CT2-es ($n = 72$, 6,5%) és jobb felső CT2-es ($n = 70$, 6,3%) fogaknál alakult ki. Két nyúl esetében – különböző mértékben – minden fogat érintett valamilyen szintű elváltozás. A korrekcióra

**Az állatok
76%-át az őrlőfogakat
érintő malokklúzióval
diagnosztizálták**

A 4 év feletti egyedeknél szignifikánsan gyakoribbak voltak az egészségügyi problémák

szoruló fogakat a 4. ábra ismerteti. Huszonhat nyúlnál alakult ki fogeredetű tályog, ami 10 egyednél igényelt műtéti beavatkozást a vizsgált időszak alatt. Vizsgálataink alapján csak a diagnosztizált megbetegedések száma és az életkor között tudtunk szignifikáns kapcsolatot ($p = 0,01735$) kimutatni. A 4 év feletti egyedeknél szignifikánsan gyakoribbak voltak az egészségügyi problémák.



4. ÁBRA. A nyulak elváltozást mutató fogai az összes érintett fog százalékában kifejezve
J = jobb, B = bal, CT = cheek teeth, őrlőfog

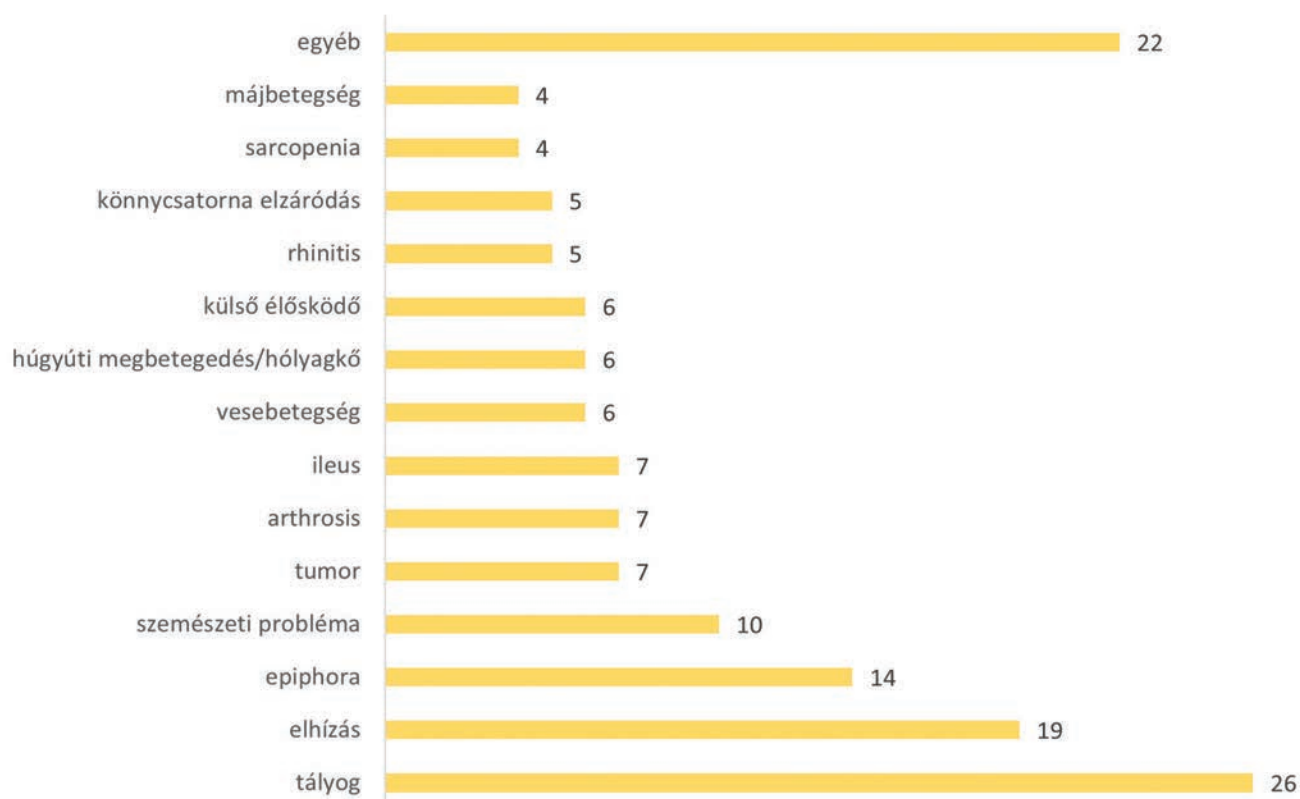
FIGURE 4. The affected teeth of the rabbits in percentage of the total number of affected teeth
alsó = lower, felső = upper, J = right, B = left, CT = heek teeth, metszőfog = incisor

Az érintett állatokban gyakori volt még az elhízás, a könnyezés és a szemészeti kórképek

A fogászati elváltozásokon kívül gyakori volt még az elhízás ($n = 19$), a könnyezés ($n = 14$) és szemészeti kórképek ($n = 10$). Daganatos betegség, arthritis és ileus azonos számban ($n = 7$) fordult elő, csakúgy, mint a vesebetegség, a húgyúti megbetegedés/hólyagkő és a külső élősködő ($n = 6$). Az egyéb betegségek kevés egyedet érintettek (5. ábra).

MEGVITATÁS

Más vizsgálatokhoz hasonlóan a nyulak döntően a törpe fajták közül kerültek ki [17–20]. Ezek a fajták elsősorban a kisebb méret, a jellemzően jó természet és a megjelenés miatt váltak népszerűvé [17]. Ellentétben a legtöbb adatgyűjtéses felméréssel, ahol 50–50%-os volt az ivararány, esetünkben a bakok domináltak [19–21].



5. ÁBRA. További diagnózisok előfordulási gyakorisága

Egyéb: csökkent bélmotilitás ($n = 3$), papilloma ($n = 3$), encephalitozoonosis ($n = 3$), dyspnoe ($n = 3$), lesóványodás ($n = 3$), szívbetegség ($n = 2$), hasmenés ($n = 2$), tüdőbetegség ($n = 1$), anorexia ($n = 1$), kiszáradás ($n = 1$)

FIGURE 5. Prevalence of additional diagnoses

Other: gastrointestinal stasis syndrome ($n = 3$), papilloma ($n = 3$), Encephalitozoonosis ($n = 3$), dyspnoe ($n = 3$), cachexia ($n = 3$), heart disease ($n = 2$), diarrhoea ($n = 2$), pulmonary disease ($n = 1$), anorexia ($n = 1$), dehydration ($n = 1$)

A fogászati problémák a kedvtelésből tartott nyulak leggyakoribb betegségei közé tartoznak, amit ez és a korábbi felmérések is igazolnak [13, 17, 19, 20]. Irodalmi adatok alapján az idősebb nyulaknál gyakoribbak ezek az problémák, mivel progresszív folyamatról van szó. Kialakulásuk és a klinikai tünetek megjelenése – súlyosságtól függően – akár évekbe telhet, de nagyon gyakran már 4 éves egyedeknél megjelenik, ekkor még jellemzően klinikai tünetek nélkül [1, 5–7]. Ezzel szemben PALMA-MEDE és mtsai (2023) fiatal nyulaknál is megállapított fogászati betegségeket [5]. A nyulak folyamatosan növekvő fogazata sok kalciumot igényel. A fejlődésben lévő állatok nem megfelelő kalciumbevitel, a fogzománc károsodásához vezethet [22–24]. Ezen túlmenően, súlyosabb esetben másodlagos takarmányozási eredetű hyperparathyreoidismus is kialakulhat [4]. Fontos megjegyezni, hogy kerülni kell az igényt meghaladó kalciumbevitelt, mert az hajlamosít az üledékes vizelet (sludge) és a hólyagkő kialakulására [1, 4, 23]. Felmérésünkben a malokklúzió mellett gyakori volt a fogeredetű tályog kialakulása, amely kiváltásában elsősorban *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* sp., *Escherichia coli*, *Bacteroides*, *Proteus* és *Fusiformis* fajok játszanak szerepet [16, 25].

A fogászati megbetegedések gyakran okoznak könnyezést

A fogkopási rendellenességek gyakoribbak az őrlőfogak esetében, mint a metszőfogaknál

Az epiphora (könnyezés) előfordulása ARTILES és mtsai (2020), valamint MÄKITAIPAL és mtsai (2015) eredményeihez hasonlóan alakult, ahol jellemzően a fogászati problémákkal összefüggésben állapították meg [6, 19]. Ennek hátterében az áll, hogy a felső metszőfogak kóros mértékben megnyúlt rezerv koronái a könnycsatornák szűkületét, ill. elzáródását okozhatják [3, 14, 16]. A fogászati betegségekhez gyakran társulnak emésztőrendszeri tünetek is, de esetünkben ezek a szakirodalmi adatoknál ritkábban alakultak ki [7, 17, 20, 21, 26]. Az egyéb diagnosztizált kórképek jellemzően a szakirodalmi adatoknál ritkábban alakultak ki [17, 19, 20, 21].

Ahogy azt más tanulmányok is igazolták, a fogkopási rendellenességek gyakoribbak voltak az őrlőfogak esetében, mint a metszőfogaknál [5, 6]. PALMA-MEDEL és mtsai (2023) kimutatták, hogy az esetek ($n = 100$) 55%-ában csak az őrlőfogak, 26%-ában csak a metszőfogak, míg 19%-ban mindkettő érintett volt [5]. A törpe fajtánál gyakrabban megfigyelhető fogászati elváltozások hátterében az áll, hogy sok esetben a felső állkapocs a normálisnál rövidebb, az alsó állkapocs pedig megfelelő hosszúságú [3]. Esetünkben szinte az összes egyed törpe vagy mini fajtájú volt, így erre vonatkozóan nem tudunk a fajták közötti összehasonlítást végezni.

Az adatbázisban rögzített adatok között nem szerepeltek a takarmányozásra vonatkozó információk. Ezért a táplálás és a fogászati elváltozások közötti összefüggések vizsgálata további adatgyűjtést igényel. Az átlagéletkor alapján látható, hogy az idősebb nyulak jobban érintettek. Az irodalmi adatokkal összehangban, az általunk vizsgált esetekben is ritkábban alakult ki elváltozás a metszőfogaknál.

IRODALOM

- Smith VM (ed) (2022) Textbook of Rabbit Medicine. 3rd Ed, Elsevier
- Harcourt-Brown F (2009) Dental disease in pet rabbits 1. Normal dentition, pathogenesis and aetiology. In Pract 31:370. <https://doi.org/10.1136/inpract.31.8.370>
- Verstraete F, Osofsky A (2005) Dentistry in pet rabbits. Compendium 27:671–68
- Jekl V, Redrobe S (2013) Rabbit dental disease and calcium metabolism--the science behind divided opinions. J Small Anim Pract 54:481–490. <https://doi.org/10.1111/jsap.12124>
- Palma-Medel T, Marcone D, Alegría-Morán R (2023) Dental Disease in Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) and Its Risk Factors - A Private Practice Study in the Metropolitan Region of Chile. Animals (Basel) 13:676. <https://doi.org/10.3390/ani13040676>
- Artiles CA, Sanchez-Migallon Guzman D, Beaufrère H, Phillips KL (2020) Computed tomographic findings of dental disease in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): 100 cases (2009–2017). J Am Vet Med Assoc 257:313–327. <https://doi.org/10.2460/javma.257.3.313>
- Mosallanejad B, Moarrabi A, Avizeh R, Ghadiri A (2010) Prevalence of Dental Malocclusion and Root Elongation in Pet Rabbits of Ahvaz, Iran. IJVST 2. <https://doi.org/10.22067/veterinary.v2i2.8375>
- Harcourt-Brown FM (1995) A review of clinical conditions in pet rabbits associated with their teeth. Vet Rec 137:341–346. <https://doi.org/10.1136/vr.137.14.341>
- O'Neill DG, Craven HC, Brodbelt DC, Church DB, Hedley J (2020) Morbidity and mortality of domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) under primary veterinary care in England. Vet Rec 186:451. <https://doi.org/10.1136/vr.105592>
- Eckermann-Ross C (2008) Hormonal Regulation and Calcium Metabolism in the Rabbit. Vet Clin Nh Am Exot Anim Pract 11:139–152. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2007.09.002>
- Donnelly TM, Vella D (2016) Anatomy, Physiology and Non-dental Disorders of the Mouth of Pet Rabbits. Vet Clin Nh Am - Exot Anim Pract 19:737–756. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2016.04.004>
- Wen XX, Xu C, Wang FQ, Feng YF, Zhao X, Yan YB, Lei W (2015) Temporal changes of microarchitectural and mechanical parameters of cancellous bone in the osteoporotic rabbit. Biomed Res Int 2015:263434. <https://doi.org/10.1155/2015/263434>
- Böhmer C, Böhmer E (2017) Shape Variation in the Craniomandibular System and Prevalence of Dental Problems in Domestic Rabbits: A Case Study in Evolutionary Veterinary Science. Vet Sci 4:5. <https://doi.org/10.3390/vetsci4010005>
- Böhmer E (ed) (2015) Dentistry in Rabbits and Rodents. John Wiley & Sons
- Reiter A (2008) Pathophysiology of Dental Disease in the Rabbit, Guinea Pig, and Chinchilla. J Exot Pet Med 17:70–77. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2008.03.003>
- Harcourt-Brown F (2009) Dental disease in pet rabbits 3. Jaw abscesses. In Pract 31:496–505. <https://doi.org/10.1136/inpract.31.10.496>
- Mullan SM, Main DCJ (2006) Survey of the husbandry, health and welfare of 102 pet rabbits. Vet Rec 159:103–109. <https://doi.org/10.1136/vr.159.4.103>
- Edgar JL, Mullan SM (2011) Knowledge and attitudes of 52 UK pet rabbit owners at the point of sale. Vet Rec 168:353. <https://doi.org/10.1136/vr.c6191>

19. Mäkitaipale J, Harcourt-Brown F, Laitinen-Vapaavuori O (2015) Health survey of 167 pet rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in Finland. *Vet Rec* 177:418–418
20. Hetényi N, Sátorhelyi T (2021) Felmérés a kedvtelésből tartott nyulak tartási körülményeiről és táplálásáról *Magy Állatorvosok Lapja* 143:409–417
21. Kristensen AU, Zsinka B, Lang Z, Hetényi N (2023) Survey of the Husbandry, Health, and Welfare of Norwegian Pet Rabbits. *J Adv Vet Res* 13:767–775
22. Harcourt-Brown FM (1996) Calcium deficiency, diet and dental disease in pet rabbits. *Vet Rec* 139:567–571
23. Harcourt-Brown F (ed) (2002) *Textbook of Rabbit Medicine*. Butterworth-Heinemann
24. Korn AK, Brandt HR, Erhardt G (2016) Genetic and environmental factors influencing tooth and jaw malformations in rabbits. *Vet Rec* 178:341. <https://doi.org/10.1136/vr.103293>
25. Benato L (2017) Odontogenic abscesses in pet rabbits. *Vet Rec* 181:536–537. <https://doi.org/10.1136/vr.j5249>
26. Rooney NJ, Blackwell EJ, Mullan SM, Saunders R, Baker PE, Hill JM, Sealey CE, Turner MJ, Held SD (2014) The current state of welfare, housing and husbandry of the English pet rabbit population. *BMC Res Notes* 7:942. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-942>

Közlésre érke.: 2024. márc. 21.

Immunológia

A szekcióban két előadást jelentettek be. A szekció társelnökei FODOR LÁSZLÓ és MAGYAR TIBOR voltak.

ABONYI FLÓRA, ESZTERBAUER EDIT, BASKA FERENC, HARDY TÍMEA és DOSZPOLY ANDOR *önreplikálódó DNS- és RNS-vakcinák alkalmazhatóságának vizsgálatáról számoltak be pontyok tavaszi viraemiája (SVCV) ellen. A pontyok tavaszi viraemiáját okozó vírus (Spring viremia of carp virus, SVCV) a Rhabdoviridae családba tartozó RNS-vírus, amely az egész világon elterjedt, és elsősorban a pontyállományokban (*Cyprinus carpio*) okoz jelentős elhullásokat. Megfelelő nukleinsavalapú (DNS-, RNS-, és önreplikálódó) vakcinák fejlesztésének a járványok elleni védekezési stratégiában fontos szerepe van. Munkájuk célja SAV (Salmonid alphavirus) önreplikálódó prototípus DNS- és RNS-vakcinák tesztelése volt pontyfélékben, ezek hatékonyságának összehasonlítása a korábbi DNS-vakcinakonstrukciókkal *in vivo* állatkísérletes vizsgálatokban. Munkájuk során az SVCV-G génjét expresszáló SAV-replikont terveztek, és hatékonyságát a korábban leírt pcDNA3-SVCV-G konstrukcióval hasonlították össze pontyokban. A SAV-replikont burok nélküli RNS formában (pSAV-RNS-SVCV-G) és DNS-alapú vektorként (pSAV-DNS-SVCV-G) is alkalmazták. A kísérletes fertőzés után 30 nappal a kontroll és a pSAV-RNS-SVCV-G-vel vakcinázott csoportban 44%, a pcDNA3-SVCV-G csoportban 52%, míg a pSAV-DNS-SVCV-G csoportban a mortalitás csak 8% volt. Eredményeik alapján a burok nélküli RNS-ként alkalmazott SAV-replikon és a pcDNA3-alapú vakcina nem váltott ki védelmet az SVCV-vel szemben, a DNS-ként alkalmazott SAV-replikon azonban jelentős védelmet mutatott egyetlen, kis dóziszú im. injekciót követően.*

Eredményeik azt mutatják, hogy a SAV-alapú replikonvakcinák a jövőben potenciális vakcinajelöltként szolgálhatnak a nem lazacfélék akvakultúrájában is, azonban további klinikai és terepi vizsgálatok szükségesek a hatékonyság megerősítéséhez. Kérdésre válaszul elmondták, hogy a DNS-vakcinák jobb tárolhatósága és stabilitása az állatorvosi gyakorlatban előny az RNS-vakcinához képest. Véleményük szerint továbbá a vakcina beadására lazacféléken is használható lehet az ozmotikus sokkal történő bejuttatás.

GULYÁS DOMINIK, JANKOVICS ISTVÁN, DÉNES BÉLA, FÖLDI DÓRA, RHIANNON RODGERS, KATIE COMMINS, ANDÓCS GÁBOR és LŐRINCZ MÁRTA *különböző RIG-I antagonisták daganatellenes hatását vizsgálták vese-adenocarcinoma egérmodelljén. A retinsavval indukálható gén I (RIG-I) jelátviteli útvonal aktiválása a tumoros sejtek*

apoptózisát indukálja, és fokozza az NK-, dendritikus- és effektor T-sejtaktivitást. A vizsgálat célja két RIG-I antagonistá: tisztított influenzavírus RNS-t (IV RNS), valamint 3p-hpRNS-t (5'-trifoszfát hairpin RNS) hatékonyságának vizsgálata volt a vese-adenocarcinoma egérmodelljében Renca-sejtekkel, BALB/c egerekben. A 40 állatot három kezelési csoportba és egy kontrollcsoportba sorolták. A specifikus adjuvánskombinációk intratumorális beadását háromszor ismételték. A napi monitorozás a primer daganat méretének, és az állatok fiziológiás paramétereinek felmérését foglalta magában. Az elhullott egereket felboncolták és kórszövettanilag kiértékeltek. A kezelés hatékonyságát a tumornövekedés, a távoli metasztázisok előfordulása és a különböző citokinszintek változása alapján állapították meg. A 17. napon a csoportok között nem figyeltek meg szignifikáns eltéréseket a daganatok méretében. A 24. és 31. napokon a kezelt csoportokban szignifikánsan kisebb primer daganatokat mértek, mint a kontrollcsoportban. A 38. napon már nem volt szignifikáns különbség a tumorméreteken a csoportok között. A távoli metasztázisok kialakulását a kezelések mindegyike jelentős mértékben csökkentette. Figyelemre méltó, hogy amíg a kezelések hatásai tartottak, kézzelfogható eredményeket tapasztaltak, de az utolsó kezelést követően az egerek életminősége jelentősen romlott. Véleményük szerint a kezelési koktélok összetételének, valamint a kezelések gyakoriságának módosításával lehetőség nyílik az elért eredmények további javítására. Kérdésre válaszul elmondták, hogy a módszereket a későbbiekben szeretnék gyakorlatba is átültetni, mivel más immunterápiákhoz képest költséghatékonyak.

Bakteriológia

A szekcióban tizenegy előadást jelentettek be. A szekció társelnökei FODOR LÁSZLÓ és MAGYAR TIBOR voltak.

BUNI DOMINIKA, WEHMANN ENIKŐ, FÖLDI DOROTTYA, BÁNYAI KRISZTIÁN, BALI KRISZTINA, JANET BRADBURY, MARCO BOTTINELLI, SALVATORE CATANIA, INNA LYSNYANSKY, GYURANECZ MIKLÓS és KREIZINGER ZSUZSA *Mycoplasma iowae* esetében tapasztalt csökkent antibiotikumérzékenység molekuláris biológiai vizsgálatáról számoltak be. A *Mycoplasma iowae* nagy gazdasági jelentőségű, világszerte elterjedt baktérium, amely csökkent keltethetőséget és lábdeformításokat okoz fiatal pulykáknál. Jelenleg nem érhető el ellene vakcina, így a megfelelő antibiotikum terápia az egyetlen módja a gazdasági károk csökkentésének. A kórokozók antibiotikumérzékenységi profiljának gyors és hatékony meghatározása alapvető fontosságú a megfelelő kezelés kiválasztásában. A szerzők célja volt az

emelkedett minimális gátló koncentráció (MIC) értékekkel összefüggésbe hozható pontmutációk segítségével olyan molekuláris biológiai rendszert fejlesszünk, amelyvel gyorsan és hatékonyan meghatározható a *M. iowae* fluorokinolon-, makrolid- és linkozamid-érzékenysége. Ehhez meghatározták 99 ismert antibiotikumérzékenységi profillal rendelkező, változatos eredetű *M. iowae* törzs teljes genomszekvenciáját. E törzsek legalább nyolc országból származtak és az 1960-as évektől a 2010-es évekig gyűjtötték őket. Antibiotikumrezisztencia-kapcsolt génekben kerestek olyan pontmutációkat, amelyek összefüggést mutatnak az emelkedett MIC értékekkel. A *gyrA*, *parC* és 23S rRNS gének egy-egy pontmutációjára mismatch amplification mutation assay-t (MAMA) terveztek. A makrolidokra és linkozamidokra specifikus 23S rRNS-rendszer jelenleg gyenge érzékenysége miatt csak színtenyészetekre alkalmazható, viszont jelentősen gyorsabb, mint a hagyományos antibiotikumérzékenységi vizsgálat. A *gyrA* és *parC* mutációkat célzó MAMA-módszerek hatékony, klinikai mintákon is alkalmazható rendszereknek mutatkoznak az emelkedett MIC-értékkel rendelkező *M. iowae* törzsek azonosítására fluorokinolonok esetén.

FÖLDI DOROTTYA, NAGY ESZTER ZSÓFIA, BELECZ NIKOLETT, TÓTH LILLA, SZEREDI LEVENTE, TENK MIKLÓS, KOLLÁR ANNA és GYURANECZ MIKLÓS *Mycoplasma hyorhinae elleni inaktívált vakcina fejlesztéséről számoltak be. A Mycoplasma hyorhinae fakultatív kórokozó, ami választási malacokban okoz súlyos izület- és savóshártyagyulladásos járó kórképet. Az elmúlt években a baktérium előfordulási gyakorisága megnőtt, védekezni azonban jelenleg csak antibiotikum terápiával lehetséges ellene. A szerzők célja hatékony védelmet nyújtó inaktívált M. hyorhinae vakcina fejlesztése és a vakcinajelöltek hatékonyságának vizsgálata volt állatkísérletben. Az antigén előállításához egy gyorsan növekvő klinikai M. hyorhinae izolátumot kémiaiilag inaktíválták és a kapott antigént háromféle adjuvánssal elegyítették. Az elkészült vakcinajelölteket három hetes malacokba oltották izomba, majd három hét elteltével (hat hetesen) fertőzték őket a korábban felállított fertőzési modellnek megfelelően két egymást követő nap intravénásan egy másik M. hyorhinae törzsszel. A három vakcinázott csoport mellett, egy fertőzési és egy negatív kontroll csoportot is vizsgáltak. A kísérlet során rögzítették a malacok testtömeg-gyarapodását, testhőmérsékletét, oltási reakcióit és klinikai tüneteit. A ráfertőzést követő harmadik héten az állatokat leölték és kórbonctani vizsgálatot végeztek, továbbá mintát gyűjtöttek PCR-vizsgálat és M. hyorhinae tenyésztés céljából. Eredményeik szerint az egyik ásványi olaj tartalmú adjuvánssal készített vakcinajelölt hatékony védelmet biztosít a M. hyorhinae fertőzéssel szemben állatházi körülmények között. Ebben a csoportban szignifikánsan kisebb volt*

a klinikai és kórbonctani elváltozásokat mutató állatok száma, mint a fertőzött csoportban, továbbá e csoport vizsgált szerveiben *M. hyorhinis* jelenléte sem volt kimutatható. A továbbiakban ezzel a készítménnyel terveznek vizsgálatokat végezni nagyobb állatlétszám mellett, valamint telepi körülmények között.

KOVÁCS ÁRON BOTOND, WEHMANN ENIKŐ, BEKŐ KATINKA, GRÓZNER DÉNES, BALI KRISZTINA, HRIVNÁK VERONIKA, CHRIS J. MORROW, BÁNYAI KRISZTIÁN és GYURANECZ MIKLÓS *Mycoplasma anserisalpingitidis* törzseket vizsgáltak genomot célzó asszociációs vizsgálattal (GWAS). A *Mycoplasma anserisalpingitidis* elsősorban ludakban előforduló baktérium, azonban más vízibarmfit is megfertőzhet. A kórokozó főként szaporodásbiológiai problémákat idéz elő, amelyek jelentős gazdasági károkhoz vezethetnek az érintett libatelepeken. Jelenleg nem kapható kereskedelmi forgalomban vakcina, a fertőzések által okozott károk mérséklése érdekében antibiotikus gyógykezelésre van lehetőség. A védekezésben komoly problémát jelent az egyre terjedő antibiotikumrezisztencia, amelynek vizsgálatára csupán az időigényes leves mikrohígítási módszer áll rendelkezésre. A szerzők célja a gyűjteményükben található összesen 110 *M. anserisalpingitidis* törzs érzékenységeinek vizsgálata volt kilenc antibiotikummal szemben, a törzs teljes genomjának meghatározása, valamint a genomszekvenciák és a fenotípusok közötti összefüggések feltérképezése GWAS segítségével. A törzsekkel szemben kilenc antibiotikum minimális gátló koncentrációját (MIC – Minimum Inhibitory Concentration) határozták meg. Genomjaikat a SPAdes szoftverrel illesztették össze, majd k-merekre („k” hosszúságú szakaszok) bontották fel. A fenotípusok (MIC) és a genotípusok (k-mer) összevetését a pyseer szoftverrel végezték. Ezt követően az R szoftver segítségével a CMplot algoritmussal Manhattan-plotokat hoztak létre. Hét antibiotikum esetén sikerült szignifikáns k-mereket találni. E szakaszok gyakran olyan génekben fordultak elő, amelyeket korábban összefüggésbe hoztak antibiotikum-rezisztenciával, mint a különböző tRNS-ligázokat vagy effluxpumpa tagjait kódoló gének. Emellett számos hipotetikus proteint kódoló gén is szignifikáns asszociációt mutatott a csökkent antibiotikum-érzékenységgel. A szignifikáns asszociációkat mutató k-merekre molekuláris biológiai detektáló módszerek tervezhetőek, amelyek jelentősen felgyorsíthatják a baktérium antibiotikum-érzékenységeinek diagnosztikáját. Emellett a k-mereket tartalmazó gének további vizsgálatai új, potenciális rezisztencia mechanizmusokat tárhatnak fel.

KREIZINGER ZSUZSA, NAGY DOROTTYA SÁRA, BUNI DOMINIKÁ, GRÓZNER DÉNES, GYURIS ÉVA, THUMA ÁKOS, MAKRAI LÁSZLÓ, TENK MIKLÓS, WEHMANN ENIKŐ, BÁNYAI KRISZTIÁN,

MARTON SZILVIA, KÖLTŐ KAROLA, SÜLYOK KINGA és GYURANECZ MIKLÓS új élő *Mycoplasma gallisepticum* vakcinajelölt törzs vizsgálatáról számoltak be. A *Mycoplasma gallisepticum* fertőzésekkel szemben a hosszú távú védekezési lehetőség a vakcinázás, ha a mentesítés nem kivitelezhető. A jelenleg forgalomban lévő vakcinák hatékonysága változó, ezek közül az élő, attenuált törzsek bizonyultak a legalkalmasabbnak az állományok immunizálására. A szerzők meghatározták a vakcinajelölt *M. gallisepticum* törzs teljes genomszekvenciáját (Illumina újgenerációs szekvenálási platformon), a háztartási gének vizsgálatán alapuló multi-locus sequence typing (MLST) profilját, valamint összehasonlították a hőmérséklettűrő képességét más törzsekével. Ezek után állatkísérletek során a baktérium tenyészetet szemcsepp formájában juttatták hét hetes Tetra-SL tojócsirkékbe. A vakcinázást követő 14. napon a törzs ártalmatlanságát ellenőrizték vakcinázott és negatív kontroll madarak összehasonlító kórbonctani és kórszövettani vizsgálataival, a légzőszervrendszerre összpontosítva. Emellett tamponmintákat vettek a vakcinajelölt törzs szervezeten belüli megtelepedésének és terjedésének felmérésére PCR- és tenyésztési vizsgálatokkal, és elemezték a vakcinázott madarak szerológiai áthangolódását *M. gallisepticum* specifikus ELISA-teszttel. A vakcinázást követő 21. napon a vakcinázott és pozitív kontroll madarakat fertőzték egy erősen virulens *M. gallisepticum* törzsszel szemcsepp és belélegeztetés útján. A ráfertőzés után két héttel a kísérletet lezárták és a madarakat az ártalmatlansági vizsgálatoknál alkalmazott módszerekkel vizsgálták. Eredményeik alapján potenciálisan alkalmasnak találták a vizsgált *M. gallisepticum* törzset egy új, hatékony vakcina kifejlesztésére. Mutagenezissel tervezik a törzs további legyengítését, valamint a vakcinafejlesztéshez szükséges további vizsgálatok elvégzését.

NAGY ESZTER ZSÓFIA, FÖLDI DOROTTYA, WEHMANN ENIKŐ, TÓTH GERGELY, MAKRAI LÁSZLÓ, GOMBOS LÁSZLÓ, KREIZINGER ZSUZSA és GYURANECZ MIKLÓS *Mycoplasma hyopharyngis* izolálásáról számoltak be ízületgyulladásban szenvedő sertésekből, továbbá a kórokozó kimutatására szolgáló real-time PCR-rendszer fejlesztését ismertették. A *Mycoplasma hyopharyngis* a sertések felső légútjában megtalálható, jelenleg apatogénként ismert baktérium, amely az elmúlt évek során mandulák mellett más szervekből is kimutatásra került. Azonban a kórokozó előfordulási gyakoriságáról, ill. esetleges kóroktani szerepéről kifejezetten kevés ismerettel rendelkezünk. A szerzők egy esetet ismertettek, melynek során gyulladt ízületből *M. hyopharyngis* jelenlétét mutatták ki, céljuk volt továbbá TaqMan-típusú real-time PCR-rendszer fejlesztése. A vizsgált sertésállományban teljes újraterápiát követően két nappal hasmenéssel és septicaemiával járó megbetegedést tapasztaltak. A levett mintákból

Salmonella enterica serovar Typhimurium jelenlétét mutatták ki. Az első fialást követően ízületi gyulladás volt megfigyelhető a 21–25 napos malacok között, ill. nagy mértékű elhullást figyeltek meg. A malacok érintett ízületeiből, bélből, lépéből és mesenterialis nyirokcsomóból mintavétel történt. Egy állat ízületi mintájából *Aerococcus viridans*, *M. hyopharyngis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hyicus*, *Streptococcus agalactiae* és *Trueperella pyogenes* baktériumot sikerült kimutatni. Emellett a béltamponmintából *Escherichia coli* és *Salmonella enterica* került kitenyésztésre, míg a lép és mesenterialis nyirokcsomó bakteriológiai vizsgálata nem vezetett eredményre. A fejlesztett PCR-rendszer érzékenysége és specifitása is megfelelőnek bizonyult. Az ízületi gyulladásból kimutatott fakultatív patogén kórokozók fertőzőképességét valószínűsíthetőleg a szervezet csökkent ellenálló képessége befolyásolta, amelyet a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium fertőzés is kiválthatott. A szerzőké a második olyan tanulmány, amely ízületi gyulladással járó elváltozásból *M. hyopharyngis* jelenlétét írja le, ami felhívja a figyelmet a kórokozó vizsgálatának fontosságára.

NAGY ESZTER ZSÓFIA, KOVÁCS ÁRON BOTOND, WEHMANN ENIKŐ, BEKŐ KATINKA, FÖLDI DOROTTYA, BÁNYAI KRISZTIÁN, KREIZINGER ZSUZSA és GYURANECZ MIKLÓS *Mycoplasma anserisalpingitidis* effluxpumpa-mechanizmusának fenotípusos vizsgálatáról számoltak be. A *Mycoplasma anserisalpingitidis* vízibaromfik körében jelentős, kloáka- és a nemi utak gyulladásáért felelős kórokozó. A nem megfelelő antibiotikumhasználatnak köszönhetően számos esetben tapasztalható csökkent érzékenység, amelynek hátterében a génmutációk mellett az fokozott aktivitású effluxpumpa-mechanizmus is szerepet játszhat. A szerzők célja a *M. anserisalpingitidis* fenotípusos vizsgálata volt három effluxpumpagátló szer jelenlétében, valamint az effluxpumpa-mechanizmus genetikai hátterének felderítése. Három-három *M. anserisalpingitidis* törzset választottak, amelyekkel szemben a vízibaromfi-telepeken leggyakrabban használt antibiotikumok alacsony, vagy emelkedett minimális gátló koncentrációt (minimal inhibitory concentration, MIC) mutattak. Emellett a kis MIC-értékkel rendelkező tenyészetekből is készítették az antibiotikumoknak fokozottan ellenálló változatokat. Ezt követően meghatározták a kiválasztott törzsekkel szembeni MIC-értékeket különböző effluxpumpa-gátlók jelenlétében (carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazine (CCCP), orthovanadate (OV) és reserpine (R)). Meghatározták továbbá a fokozottan ellenállónak nevelt változatok teljes genomszekvenciáját, és összehasonlították azokat a szülői törzsekével. Megvizsgálták az effluxpumpagének kifejeződését szabályozó régiók lehetséges szekvenciáit is *in silico* módszerek alkalmazásával. A CCCP alkalma-

zása szignifikánsan csökkentette a MIC-értékeket az esetek jelentős részében (23/36), míg a gátló koncentrációk OV és R jelenlétében csak minimálisan módosultak. Az összehasonlító teljes genomelemzés során hét, az effluxpumpa-mechanizmusban szerepet játszó fehérjét kódoló génen határoztak meg olyan pontmutációt, amely jellemzően a csökkent érzékenységet mutató törzsekben fordult elő. Emellett az enrofloxacin esetében az emelkedett MIC-érték összefüggést mutatott egy, a DNS-giráz A alegységét kódoló génben (*gyrA*) található pontmutációval. Az *in silico* vizsgálatok során meghatároztak továbbá olyan genom szakaszokat, amelyek feltételezhetően részt vesznek a génkifejeződés szabályozásában. A CCCP hatékonyságát tekintve feltételezhető, hogy a jövőben a különböző effluxpumpagátlók alkalmazása segítheti az antibiotikumrezisztencia kialakulásának megelőzését.

NEMESHÁZI EDINA, WEHMANN ENIKŐ, GRÓZNER DÉNES, NAGY DOROTTYA SÁRA, KOVÁCS ÁRON BOTOND, FÖLDI DOROTTYA, KREIZINGER ZSUZSA és GYURANECZ MIKLÓS *vízibaromfi Mycoplasmák gyors és érzékeny kimutatására szolgáló új molekuláris biológiai rendszerek fejlesztéséről számoltak be*. A vízibaromfikat fertőző *Mycoplasmák* közül a *Mycoplasma anatis* túlnyomórészt kacsákat fertőz, a *M. anseris* és *M. cloacale* pedig libákban és vadmadarakban található meg. A fertőzés során a nemi szervek és kloáka gyulladása figyelhető meg, valamint légzőszervi és neurológiai problémák is jelentkezhetnek, gazdasági jelentőségük pedig az okozott csökkent tojáshozamban és megnövekedett embrióhalálozásban rejlik. Ezen *Mycoplasmák* klinikai és gazdasági jelentősége miatt fontos a fertőzés gyors és pontos kimutatása. A szerzők célja gyorsabb, pontosabb és érzékenyebb, valós-idejű PCR-rendszerek fejlesztése volt. Összesen négy rendszert fejlesztettek és teszteltek, amelyek fajspecifikus géneket céloznak: *M. anseris* (Mans-*dnaN*; DNS polimeráz III béta alegység gén), *M. cloacale* (Mclo-*deoC*; deoxiribóz-foszfát aldoláz gén), valamint *M. anatis* (Mana-*cdd* és Mana-*ylxR*; citidin deamináz and YlxR család protein gének). A tervezett rendszerek megbízhatóságát az adott fajba tartozó 20 törzsön, valamint további, vízibaromfikat fertőző baktériumfajokhoz tartozó 84 törzsön tesztelték. Ezen felül megvizsgáltak 32 klinikai mintából származó DNS-mintát is, amelyek eredményeit összevetették a hagyományos PCR-rendszerek eredményeivel. A kifejlesztett TaqMan PCR-rendszerek 100%-os specifitást és nagy érzékenységet mutattak, ezzel lehetővé téve a kis koncentrációjú, akár 10 vagy 100 kópia/μl DNS jelenlétének kimutatását is. Vizsgálataik során kimutatták azt is, hogy amíg a kifejlesztett TaqMan PCR rendszerek megbízhatóan használhatók a *M. anatis* fajs-specifikus kimutatására, addig a már meglévő hagyományos PCR-rendszer fals pozitív

eredményt adhat. Összességében tehát az új TaqMan PCR-rendszerek megbízhatóak, megfelelő érzékenyséűek és alkalmasak klinikai diagnosztikai használatra.

PINTÉR KRISZTINA, POLLÁK BOGLÁRKA DÓRA, MAKRAI LÁSZLÓ és MAGYAR TIBOR *különböző állatfajokból izolált Pasteurella multocida törzsek fenotípusos antibiotikumérzékenységének vizsgálatáról számoltak be.* Az antibiotikumrezisztencia terjedése korunk legnagyobb kihívásai közé tartozik, amely megnehezíti a bakteriális betegségek gyógykezelését. A *Pasteurella multocida* számos emlős-, és madárfaj megbetegítéséért felelős, világszerte elterjedt baktériumfaj. A kórokozó antibiotikumérzékenységének meghatározására a gyakorlatban legelterjedtebb vizsgálat a korongdiffúzió, de az utóbbi időben egyre nagyobb teret nyer a leveshígítási mikromódszer is, amelynek segítségével megállapítható az antibiotikumok minimális gátló koncentráció (MIC) értéke. Magyarországon eddig csak kevés adat állt rendelkezésre a *P. multocida* törzsek MIC-értékeire vonatkozóan. A szerzők célja volt a MIC-értékek adatbázisának bővítése, és a két módszer eredményeinek összehasonlítása. 143 darab, madarakból és szarvasmarhákból származó, Magyarországon és Franciaországban izolált *P. multocida* törzs fenotípusos érzékenységének meghatározását végezték el az előbb említett két módszer segítségével és különböző antibiotikumosztályokat képviselő antimikrobiális szerek, valamint a CLSI által javasolt referenciatörzsek felhasználásával. Mindkét módszerrel kimutatták, hogy pasteurellosis ellen a leghatékonyabb antibiotikumok közé a ceftiofur, tetraciklin, doxiciklin, és a florfenikol sorolható, míg a vizsgált törzsek 100%-os rezisztenciát mutattak klindamicinnel szemben. Összesen korongdiffúziós módszerrel 11 darab, míg MIC-értékek alapján 9 db multirezisztens (MDR) törzset azonosítottak, 5 törzs átfedéssel, a gazdafajokból közel azonos arányban. Földrajzi eredet tekintetében Magyarországról nagyobb arányban mutattak ki MDR-törzseket. Ennek hátterében valószínűleg az eltérő kezelési protokoll állhat. A két módszer során tapasztalt eltérések okának feltárása különösen fontos; a későbbiekben a szerzők pedig tervezik a rezisztenciáért felelős genetikai háttér felderítését is. Meglátásuk szerint a jól megválasztott antibiotikum nem csak a gyógykezelést tenné sikeresebbé, de a rezisztencia terjedését, valamint az MDR kialakulását is lassíthatná, időt nyerve alternatív védekezési módok kidolgozására.

PINTÉR KRISZTINA, POLLÁK BOGLÁRKA DÓRA, WEHMANN ENIKŐ, MAKRAI LÁSZLÓ, SOLYMOSI NORBERT és MAGYAR TIBOR *Pasteurella multocida törzsek genotípusos jellemzéséről számoltak be.* A *Pasteurella multocida* mind állat-, mind közegészségügyi szempontból jelentős baktériumfaj, amelynek törzsei nagyfokú fenó- és genotípusos válto-

zékonyságot mutatnak. A szerzők célja hazai, ill. francia izolálású törzsek genotípusos jellemzése volt, elsősorban a virulencia-, valamint antibiotikum-rezisztenciagénekre fókuszálva. Munkájuk során összefüggéseket kerestek a virulenciagének jelenléte vagy hiánya alapján felállított virulenciagén profil (VGP), a baktériumtörzsek Multi-host MLST szekvenciátípusa (ST), valamint gazdafaji eredete között. A vizsgálatban összesen 66 olyan törzs teljes genomszekvenciáját határozták meg, amelyek egy korábbi fenotípusos antibiotikum-érzékenységi vizsgálat során vagy multirezisztenciát (MDR, $n = 14$), vagy pedig egyedi rezisztenciaprofil mutattak. A kapott szekvenciák referenciagenomokhoz való illesztését követően a *fimA*, *nanH*, *hgbA*, *hgbB*, *hsf-1*, *hsf-2*, *tbpA*, *pfhA*, *tadD*, *ptfA* virulenciagének, ill. a *catIII*, *tetB*, *tetH*, *strA*, *sul2*, *msrE*, *mphE*, *erm(42)*, *aph(3'')-Ib*, *aph(3')-Ia*, *aph(6)-Id* antibiotikumrezisztencia-gének jelenlétét elemezték. A vizsgált törzsek 100%-a rendelkezett a *fimA*, valamint a *ptfA* génnel. A további virulenciagének eloszlási aránya a következőképpen alakult: *hgbA* (98,5%), *hsf-2* (90,9%), *nanH* (83,3%), *hgbB* (62,1%), *tadD* (54,5%), *pfhA* (51,5%), *tbpA* (37,9%), *hsf-1* (31,8 %). Egyetlen törzs sem rendelkezett *erm(42)* génnel, míg 1 törzsből az *msrE*, *mphE*, *aph(3')-Ia*, 2-ből a *catIII*, *tetB*, 3-ból az *aph(6)-Id*, 5-ből a *strA* és *aph(3'')-Ib*, 6-ból pedig a *tetH* és a *sul2* géneket sikerült azonosítani. Összességében a leírt géneket nagyobb arányban mutatták ki a korábban már MDR-nek bizonyult törzsekből. Megfigyelésük szerint az általuk felállított VGP csoportokba meghatározott ST törzsek kerültek, valamint a törzsek gazdafaji eredete, burok- és szerotípusa közt is összefüggést láttak. További antibiotikum-rezisztenciagének azonosítása céljából a jövőben az MDR törzsek esetleges plazmidjait is megvizsgálják majd.

POLLÁK BOGLÁRKA DÓRA, PINTÉR KRISZTINA, WEHMANN ENIKŐ és MAGYAR TIBOR *hazai Ornithobacterium rhinotracheale izolátumok jellemzéséről és antibiotikum-érzékenységük vizsgálatáról számoltak be.* Az *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) világszerte elterjedt, pulykákban és csirkékben elsősorban légúti tünetekkel járó, fertőző megbetegedést okozó baktérium. Horizontális terjedése főleg aeroszollal és itatóvízzel történik, de a vadmadarak is fertőzési forrást jelenthetnek. Az egyes földrajzi régiókban engedélyezett szerek közül, azok túlzott használatától függően az egyes antibiotikumokkal szembeni érzékenység széles határok között mozog, a multirezisztens izolátumok aránya pedig évről-évre növekszik. A szerzők célja a 90-es évek végétől napjainkig pulykából, csirkéből, galambból és ragadozó madárfajokból izolált ORT-törzsek fenotípusos jellemzőinek (szerotípus, hemolitikus aktivitás, telepmorfológia) vizsgálata és egyes antibiotikumokkal szembeni érzékenység meghatározása volt újonnan kidolgozott leves mikrohígi-

tásos módszerrel, valamint a rezisztencia hátterében álló genetikai tényezők felderítése. Az optimális táp-
ves kiválasztását követően kezdték el a mikrohígítási
módszer tesztelését 4 különböző csoportba tartozó
antibiotikummal, a MIC-értékek meghatározása resazu-
rin-tartalmú festék színreakcióján alapult. A tesztelt 36
törzs közül 6 esetében rendelkeztek teljes genomse-
kvenciával is. A vizsgált törzsek ($n = 36$) között legnagyobb
arányban az alfa hemolízis, a közepes telepméret és
az A szerotípus fordult elő. Tetraciklin MIC-értékekben
gazdafaj szerinti eloszlás volt megfigyelhető (pulyka és
csirke: $16 \pm 4 \mu\text{g/mL}$, vadmadár: $0,125\text{--}0,03 \pm \mu\text{g/mL}$). A
vizsgált törzsekben tetraciklin-rezisztenciával össze-
függő *tetQ* és *tetX* géneket azonosítottak. Az amoxicillin
MIC értékei minden gazdafaj csoportban 2 tartományba
oszlottak ($32\text{--}2$ és $0,250,06 \pm \mu\text{g/mL}$). A béta-laktamáz
kódoló *ORR-1* gén megtalálható volt a $4 \mu\text{g/mL}$ értékkel,
de a $0,06 \pm$ és $32 \mu\text{g/mL}$ MIC-el rendelkező törzsekben
nem, így szerepe kérdéses. Enrofloxacinnál a pulyka- és
csirkeeredetű törzsek a 8 ± 1 , a vadmadár-izolátumok
a $0,06\text{--}0,015 \pm \mu\text{g/mL}$ intervallumokban voltak. A *gyrA*
génben található SNP-k és az enrofloxacin MIC-értékek
között eredményeik szerint lehet kapcsolat, a *gyrB*, *parC*
és *parE* esetében ilyen összefüggést nem mutattak
ki. Kloramfenikol esetében a legtöbb törzsben gazda-
fajtól függetlenül 4 és $2 \mu\text{g/mL}$ MIC értéket mértek.
Összességében a *tet* gének és a tetraciklin-rezisztencia,
valamint a *gyrA* génben található mutációk és az enroflo-
xacin-érzékenység között összefüggés feltételezhető.
A szerzők további tervezett vizsgálatai hozzájárulhat-
nak olyan diagnosztikai módszer kidolgozásához, amely
támogatja az állatorvosokat a célzott antibiotikus
kezelés kiválasztásában.

TÓTH LILLA, FÖLDI DOROTTYA és GYURANECZ MIKÓS egér-
lépsejtekből történő interferon- γ -termelés meghatá-
rozásáról számoltak be. A vakcinázás (immunizálás)
hatására bekövetkező celluláris immunreakciót a

T-sejtek interferon- γ (IFN- γ) termelésének meghatá-
rozásán keresztül értékelhető a legjobban. Egerekben
a sejtes immunválaszt lépsejtekből határozzák meg:
lépből izolált sejtek stimulálását követően lehetőség
van a szekretált IFN- γ mennyiségnek kimutatására
egér-IFN- γ -specifikus ELISA-módszerrel. A szerzők
célja volt meghatározni, hogy az izolált lépsej-
tek aktivációjához szükség van-e az állatok előzetes
immunizálására; valamint, hogy az általuk vizsgált
stimulus (*Mycoplasma hyorhinis* antigén) önmagá-
ban alkalmas-e a sejtek aktivációjára, vagy szükséges
valamilyen előzetes kezelés (pl. detergenssel) ahhoz,
hogy az immunogén részei hozzáférhetőek legyenek
az eredményes lépsejt-aktivációhoz? A rendszer beál-
lításához vakcinázáson át nem esett, tíz hetes BALB/c
nőstény egereken végeztek kísérleteket. Az egerek
lépének eltávolítása után a lépet homogenizálták, a
kinyert sejtekből a vörösvértesteket eltávolították. Ezt
követően a sejteket sejttenyésző lemezen különböző
módon stimulálták: *M. hyorhinis* antigénnel; Concana-
valin A-t pozitív kontrollként kaptak a sejtek, a negatív
kontroll sejtjei nem kaptak semmilyen stimulust. A
M. hyorhinis antigént hat különböző törzs felszaporítá-
sából állították elő, és hőinaktivált, valamint két külön-
böző detergenssel (Tween 20 és Triton X-100) kezelt
M. hyorhinis adtak a sejtekhez. A sejtek stimulálása
 24 , 48 és 72 órán keresztül történt. A termelt IFN- γ
mennyisége a sejtek felülúszójából került meg-
állapításra a már említett egér-IFN- γ -specifikus
ELISA-módszerrel. Eredményeik szerint a leghaté-
konyabb IFN- γ -termelés a hőinaktivált *M. hyorhinis*
aktivációval érhető el 72 órás inkubáció mellett. Meg-
állapították továbbá, hogy a sejtek nagy IFN- γ -terme-
lésnek kiváltásához nem szükséges az állatok előzetes
immunizálása. Véleményük szerint módszer a később-
iekben alkalmas lehet az immunizált egerek sejtes
immunválaszának értékelésére, ezáltal pedig a külön-
böző vakcinajelöltek hatékonyságának tesztelésére.



GRASSLANDHU

Pannon gyepek és kapcsolódó élőhelyek hosszú távú megőrzése a Priorizált Akció Tervben foglalt intézkedések megvalósításával



@ grassland@hoi.hu
facebook.com/grasslandlifeip
insatgram.com/grasslandlifeip



A LIFE IP GRASSLAND-HU
(LIFE17 IPE/HU/000018) projekt
az Európai Unió LIFE programjának
támogatásával valósul meg.



- › VIDÉKFEJLESZTÉS
- › AGRÁRSZAKKÉPZÉS
- › TERMÉSZETMEGŐRZÉS