



SZÉKFOGLALÓ ELŐADÁSOK A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIÁN

Nagy Béla

ENTEROBACTERIÁLIS ZONOSISOK



Terintetes Nagy 97

személyi szabályainak 32. és a leg szót:
újra újran választott tag, a külső kivétel
szabályába tartozó dolgozat felolvasását,
személyes megnevezés esetén beüld
legkelebb egy év alatt széklet foglalt; külsőben meg-
száza megnevezésén."

Lehetetlen esetek, melyekben kivált vidéken la-
gátolhatatlan a határidőt megtartani: de hallgat-
elűzni a szabály meg nem tartatását, amelyet
mint összes szabályzatunkat szőlőseink tekintetén
kivételre emelne figyelemre kellene J. Aladár
szükségtelen.

Indoklásba hozatik tehát, hogy egyelőre az
1861. ig választott székletfoglatás által meg nem emel-
tek ^{rendes} tagok nevei a kivételről kitöröltesse, az 1861-
és 65-ig választott a szabályokra emeltesse, jö-
vőre pedig a titokzatos hivatal oda utasítsa, hogy
evidenciában tartás végett az újban választottakat,
míg széklet nem foglaltak, a sorozatba fel ne vegye."

853
1865

Jan. 26. 1865.
Zollner Mór
Lugany Zsuzsanna
Hollán Ernő

Kemény László
Königsberg László
Jóshörményi
r. tag Jolly János utca
Gyöngyösi utca 3

Nagy Béla

ENTEROBACTERIALIS ZOONÓZISOK

SZÉKFOGLALÓK
A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIAÁN

A 2004. május 3-án megválasztott
akadémikusok székfoglalói

Nagy Béla

ENTEROBACTERIALIS
ZONÓZISOK



Magyar Tudományos Akadémia • 2014

Az előadás elhangzott 2005. február 28-án

Sorozatszerkesztő: Bertók Krisztina

Olvasószerkesztő: Laczkó Krisztina

Borító és tipográfia: Auri Grafika

ISSN 1419-8959

ISBN 978-963-508-775-4

© Nagy Béla

Kiadja a Magyar Tudományos Akadémia
Kiadásért felel: Lovász László, az MTA elnöke
Felelős szerkesztő: Kindert Judit
Nyomdai munkálatok: Kódex Könyvgyártó Kft.

Bevezetés

Az idén 150 éve annak, hogy *Rudolf Virchow*, a cellularis patológiai irányzat megalapítója, a 19. század egyik legjelentősebb orvosa, 1855-ben Würzburgban rájött arra, hogy az általa tanulmányozott fonálféreg (*Trichinella*) képes embert és állatot egyaránt fertőzni. *Virchow* az ilyen kórokozók által előidézett betegségeket egységesen *zoonózisok* névvel illette, és ezt az elnevezést 1982-ben a WHO *mint a gerinces állatról emberre terjedő fertőzéseket definiálta*. Ebből következően a zoonózisok elleni védekezés szoros humán- és állat-egészségügyi együttműködést kíván.

Az EU 1992-ben adta ki első ún. Zoonózis-irányelvét, amely számos, állatról emberre terjedő fertőzés elleni fokozott védekezésre szólította fel a tagországokat, különös súlyt helyezve a baromfiállományok *Salmonella* elleni védelmére. A humánsalmonellosisokat ugyanis a 80-as évek végétől Európa szerte folyamatosan emelkedő *S. Enteritidis*-járványok jellemezték, amelyeket az esetek jelentős részében a fertőzött baromfitermékekre (pl. salmonellás tojásra) vezettek vissza. Jelenleg az EU egy ún. folyamatos vizsgálati kötelezettséget (monitoring) előíró új rendeltében (Directive 23/99/EC) több zoonotikus kórokozót nevezett meg: *Mycobacterium bovis*, *Brucella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria*, verotoxikus *E. coli*, *Trichinella* és *Echinococcus*; a felsorolás két baktériumának (*Salmonella* és verotoxikus *E. coli*) rendszertani helye az Enterobacteriaceae családban van. Így az általuk előidézett fertőződések „**Enterobacterialis Zoonózisok**” névvel illettem.

Az EU új zoonózisrendeletében megnevezett fenti két baktérium (*Salmonella* és verotoxikus *E. coli*) különböző okoknál fogva – többek között az egyre általánosabbá váló tömegétkeztetés, valamint az intenzívebb állattartás és tömeges feldolgozás miatt – (a *Campylobacter*rel és *Listeriával* egyetemben) az állatok között a korábinál jóval nagyobb mértékű fertőzöttséget és ezáltal az emberre nézve folyamatos élelmiszer-biztonsági kockázatot jelent. Ugyancsak élelmiszer-biztonsági szempontból fontos zoonózis a rendeletben felsorolt campylobacteriosis és listeriosis. A hivatkozott rendelet szerint zoonotikus jellegű veszélynek kell tekintenünk – többek között – a cryptosporidiosist, valamint az enterális baktériumokban kialakuló antimikrobiális szerek elleni rezisztenciát (AMR) is.

Előadásom anyagát – az MTA Agrártudományok Osztálya elvárásának megfelelően – a levelező taggá választásom (1998) óta eltelt időszak e téren végzett munkáiból merítem, amelyeket az MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézetének általam vezetett enterális bakteriológiai és élelmiszer-eredetű zoonózis témacsoportjában, fiatal munkatársaimmal, hazai és külföldi biológusokkal, valamint humán- és állat-egészségügyi szakemberekkel való együttműködésben a salmonellosisra és a verotoxikus *E. coli* (VTEC) baktériumokra vonatkozóan 2004 végéig végeztünk.

A salmonellosis elleni védekezés

Idevonatkozó munkáink hazai aktualitását az adta, hogy Magyarországon a *Salmonella*-fertőzöttség az EU átlaghoz képest igen magas volt, amely 1996-ban érte el csúcspontját (100 000 lakosra eső 250 izolálás), ennek 90%-át akkor a – többségében baromfi-eredetű – *S. Enteritidis* tette ki, és ez a dominancia azóta is tart (Epinfo 2003). Ebben az időszakban a baromfi-salmonellosisok csökkentésére egy, a baromfiágazat egészére szóló módszertani (védekezési és ellenőrzési rendszerre vonatkozó) ajánlást adtunk ki, ez utóbbit egy PHARE-program keretében – az EU 1992. évi Zoonózis-rendeletével összhangban – készítettük

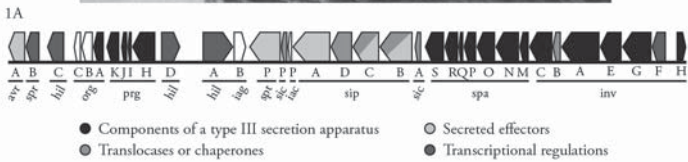
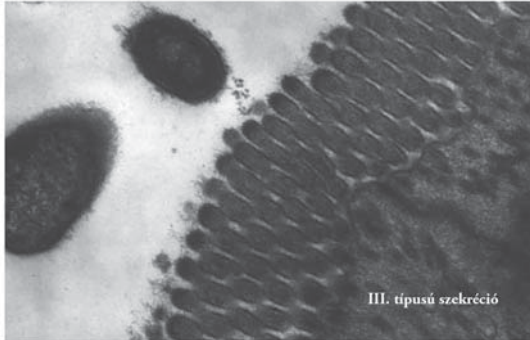
el (1995). Ez alapozta meg az első hazai, baromfi-salmonellosis elleni védekezési rendeletek kiadását (49/2002. FVM, 97/2003. FVM), amelyek szerint a *Salmonella* elleni védekezést a tenyészállományokban, a *Salmonella* Enteritidis és az *S. Typhimurium* (ún. invazív törzsek) elleni védekezéssel kell kezdeni, és ennek része a szülő- és tojóállományok vakcinázása is. A *Salmonella* elleni vakcinákra vonatkozó szakmai és elméleti alapokat EU-munkacsoportunk egy átfogó tanulmányban foglalta össze (Van Immerseel et al. 2005), néhány idevágó hazai megfigyelésünket pedig röviden az alábbiak szerint ismertetem.

A baromfi-salmonellosis kórfejlődésének néhány lépése

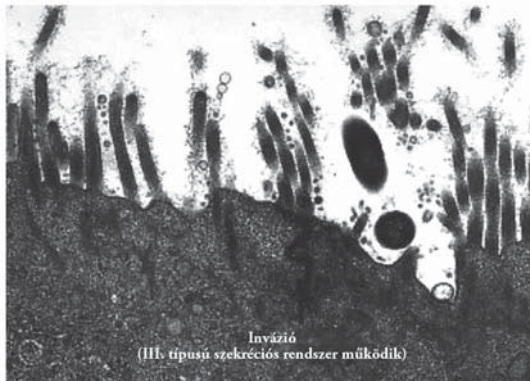
Ahhoz, hogy egy-egy kórokozó ellen sikeres vakcinákat dolgozzunk ki, előbb ismerni kell a kórokozónak a szervezetben belüli viselkedését (patogenetikai tulajdonságait), amelyeket természetesen eddig is számos külföldi csoport vizsgált különböző állatokban (elsősorban egérben), de a naposcsibére vonatkozóan kevés patogenetikai adattal rendelkezünk. Ezért ilyen irányú kísérletekben a *Salmonella* Enteritidis-fertőzés különböző fázisait naposcsibék kísérleti fertőzése kapcsán kísértük figyelemmel.

A bélhámsejtekhez – azok mikrobolyhaihoz – való kötődés első lépése az adhézió, amelynek a *Salmonella* Enteritidis esetében egy ún. SE₁₄-es fimbria az egyik legmeghatározóbb eszköze. Eközben aktiválódik az ún. „I. sz. *Salmonella* patogenitási sziget” (SPI-1), amely egy speciális, mintegy 39 kb méretű – elsősorban az invázióért felelős – géncsoport (1. kép).

Ezt követően a *Salmonella* a sejtmembránnal lép közvetlen kapcsolatba, és az inváziót előkészítő fehérjéket az SPI-1 által kódolt ún. III. típusú szekréciós rendszere révén (ún. molekuláris fecskendők segítségével) juttatja a célsejtekbe. Ennek eredményként a sejtmembrán begyűrődik, majd később a *Salmonella* a sejtbe lép (2. kép).



1. kép. *Salmonella* Enteritidis kezdeti adhézója csirkebélhámsejtek mikrobolyhain, az SPI-1 patogénitási sziget géneinek sematikus ábrázolásával (*Nagy B.* elektronmikroszkópos felvétele) (Marcus et al. 2000)



2. kép. A *Salmonella* Enteritidis csirkebélhámsejt-inváziójának közvetlen előkészítése. A sejtinvázióban szerepet játszik az SPI-1 sziget III. típusú szekréciós rendszere is (*Nagy B.* elektronmikroszkópos felvétele)

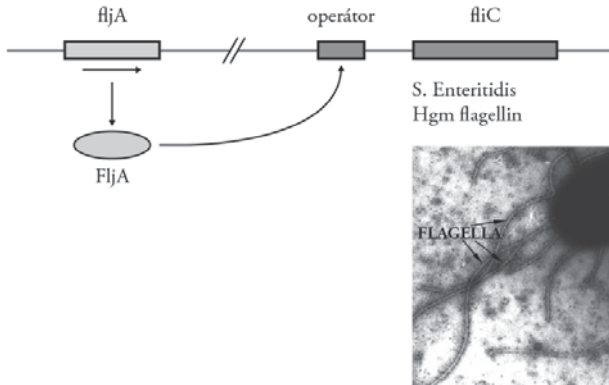
A bekebelezés egyébként a legintenzívebb és legsikeresebb a bél nyiroktüszőit fedő, ún. M- (microfold) sejtjei által, amelynek eredményeként baktériumokkal telt ún. intracellularis vesiculumok jönnek létre, majd a makrofágok segítségével eljutnak a távolabbi szervekbe (lépbe, májba, petefészekbe), és ott megtelepedve fejtik ki további kórokozó hatásukat, amelynek eredménye – a naposcsibék esetében – rendszerint egy átmeneti megbetegedés és baktériumürítés. A baromfi fertőződése az emberre nézve természetesen a hús és a tojás szennyezésén keresztül lehet veszélyes. Itt kell megjegyezni, hogy az S. Enteritidis kórfejlődésében a petefészekben való megtelepedésnek is fontos szerepe van, amely a tojások fertőzöttségét okozhatja, és az ember egészségét ezáltal veszélyezteti.

A fentiekből következően munkánkat a *Salmonella* elleni bélimmunitás kifejlesztésére irányítottuk, remélve, hogy így a baromfihús- és tojásszennyeződést is megelőzhetjük (Nagy 1999, Nagy et al. 2001).

Tenyész- és tojóállományok védelme (S. Enteritidis elleni vakcinajelölt törzs)

A *Salmonella* elleni védekezés egyik hatékony eszköze a naposkori, szájon át történő immunizálás, mivel így a bélben megtelepedett vakcinatörzs a természetes fertőzéshez hasonlóan tudja áthangolni a nyálkahártyát. Fontos tehát, hogy vakcinatörzsek a bélben jól meg tudjanak telepedni, de gyengített inváziós képességgel rendelkezzenek, továbbá hogy a vad törzsektől szerológiai-
lag is jól elkülöníthetők (markerrel rendelkezők) legyenek. Ezért a következő kísérletekben arra törekedtünk, hogy – a már kereskedelmi forgalomban lévő vakcinák mellett – olyan vakcinatörzset állítsunk elő, amely a fenti követelményeknek megfelel, vagyis szerológiai megkülönböztetésre alkalmas markerrel rendelkezik, és a bélben egy időre megtelepedve, ott hatékony immunitást vált ki, ugyanakkor virulenciájában megfelelően gyengített.

Erre a célra kézenfekvőnek látszott az *S. Enteritidis* törzsek csillóinak (flagelláinak) „bénítása”, amelyhez viszont előbb meg kellett ismernünk a *Salmonella* flagellingénrendszer PCR-es feltérképezésének a lehetőségeit. Ezen munkánkból most csak az *S. Enteritidis* ún. monofázisos flagellintermelésének genetikai szabályozását mutatom be. Eszerint az *S. Enteritidis* csak egyfázisú (H₁), ún. „gm” antigénnel jellemzett flagellint termel, mivel a H₂-es fázist termelő *fliB* génje és a salmonellákra jellemző flagellin fázisváltó rendszere hiányzik (Imre 2005). Ezáltal a *fliC* gén és annak operátora szabadon expresszálja a H₁-es flagellint (i. ábra). A továbbiakban az *S. Enteritidis* *fliC* gén célzott bénítását igyekeztünk elérni. E célból – Olasz Ferenc (MBK, Gödöllő) és Imre Ariel munkatársammal – egy olyan irányított transzpozíciós rendszert adaptáltunk, amelyet az MBK-ban jelenleg eukariótákra szabadalmaztatnak. A kiválasztott *S. Enteritidis* törzsből egy olyan plazmidot ültettünk, amelyben az elhelyezett, *fliA* (flagellin repressor, DNS-kötő fehérje) génnel kötött transzpozáz- (*fliA* + *IS30*) gén fúziós fehérjeterméke a bakteriális kromozómában mutációt okozva a *fliC* gén átíródását állítja le. Itt ugyanis ez a fúziós transzpozáz a *fliC* gén



1. ábra. *Salmonella*-flagellintermelés genetikai szabályozásának sematikus ábrázolása. FljA-génnel az *S. enteritidis* nem rendelkezik, de amennyiben a „kívülről bevitt” *FljA*-fehérje a *fliC* gén operátorához kötődik, a Hgm flagellintermelése leáll (Imre et al. 2005)

működését irányító „operátor”-régióhoz kötődik (*i. ábra*). Az így összeállított rendszerrel sikerült a flagellintermelést leállító mutációt végrehajtani, és az előállított mutánsok mozgásképtelenek (nonmotilisak) lettek (*Imre és et al.* 2004). A flagellintermelés hiánya tehát egy potenciális vakcinatörzs ún. negatív markere lehet.

Az itt bemutatott *S. Enteritidis*-markervakcina fejlesztési munkáihoz viszont már ezt megelőzően kidolgoztunk egy olyan modern és tömegesen alkalmazható szerológiai rendszert is, amely a korábban említett vérsavóvizsgálatok révén tudja a vakcinázott, illetve a vad törzsekkel fertőzött állatokat megkülönböztetni. Ezen célból, *Rásky Klára* és *Péterfy F.* doktorokkal (Diagnosticum Rt.) egy olyan monoclonalis – *S. Enteritidis*-flagellin-ellenanyagok (anti-gm) kimutatására alkalmas – (DAS-blokkoló ELISA) rendszert állítottunk össze, amely lehetővé teszi a vad törzsekkel fertőzött állatok specifikus kimutatását (jóval érzékenyebben, mint a klasszikus agglutinációs módszerek), és ezeket várhatóan jól elkülöníti a vakcinázottaktól (*Szmollény et al.* 1999).

A következő feladat a már markerezett – és a baromfi szerológiai válaszában is a vad törzsek okozta választól jól megkülönböztethető – nem mozgó *S. Enteritidis* törzsek virulenciájának további csökkentése volt. A feladat első lépését az ún. *Salmonella* virulenciaplazmid (pSv) csonkolásával kívántuk megoldani, amelyre egy *IS10-IS30* kombinált transzpozíciós rendszert alkalmaztunk. Ennek az *S. Enteritidis*-virulenciaplazmid *spv* régiójába való beépülését követően, az összekapcsolódott *IS30*-eredetű IR-végek aktiválására (egy hordozó plazmidon termelődő) aktív *IS30* transzpozázfehérjét vittünk be, és így további, csonkolt virulenciaregióval rendelkező, illetve a teljes plazmidot elveszített (deléciós) változatokat állítottunk elő (*Imre et al.* 2006).

Ezek után felmerült a kérdés, hogy az elvégzett genetikai változtatások (flagellinbénítás, illetve plazmidűzés) milyen változásokat hoztak létre a vakcinajelölt törzsek virulenciájában (a bélbeni megtelepedés képességében

és a szervi invázióban). A kérdés megválaszolása céljából SPF-minőségű naposcsibéket fertőztünk, és azt tapasztaltuk, hogy a vakcinajelölt mutánsok szerv-inváziós készsége (virulenciája) jelentősen csökkent, míg a bélbeni megtelepedés tekintetében a szülőtörzstől alig különböztek. Ez számunkra tulajdonképpen kedvező eredmény volt, mivel a vakcinatörzsek bélbeni megtelepedése az eredményes immunizálás egyik fontos feltétele, ugyanakkor a szervi invázió lényeges csökkenése a megbetegítő készség csökkenését jelezte.

Az első lépésekben kitűzött célokat tehát elértük: olyan, ún. negatív markerrel rendelkező *S. Enteritidis*-mutánsokat állítottunk elő, amelyeket akár mint vakcinatörzseket, akár az általuk kiváltott szerológiai reakciókat, megbízható módszerekkel ellenőrizhetünk. Mindez – elsősorban tenyész- és tojóállományokban – az *S. Enteritidis*-fertőzöttség csökkentését szolgálhatja, az immunizált állományok szerológiai ellenőrizhetősége – vagyis a mentesítési munkák folytatásának lehetőségére – mellett.

A húscsirkeállományok vakcinás védelmének jövőbeni lehetőségei

A továbbiakban olyan vakcinák előállítására is gondolnunk kell, amelyek a húscsirkék *Salmonella*-fertőzöttségét képesek lényegesen csökkenteni, anélkül, hogy a vakcinatörzsek a csirkékkel a vágóhídra kerülnének, és ott a baromfihúst nagy tömegben szennyeznék. Ezen cél megvalósításához figyelembe kell vennünk, hogy a broilercsirkékben (Magyarországon és – úgy tűnik – más országokban is) elsősorban nem az *S. Enteritidis* és az *S. Typhimurium*, hanem az ún. nem invazív szerocsoportba tartozó törzsek (*S. Hadar*, *S. Infantis* és *S. Virchow*) fordulnak elő leggyakrabban. A vakcinatörzsnek tehát lehetőség szerint ezek ellen is védenie kell. Ez esetben a követelmény tehát, hogy a vakcinás védelem széles spektrumú legyen, és hogy naposkorban mielőbb kialakuljon, de fontos az is, hogy a vakcinatörzs ürítése a vágás idejére (6 hetes kor) megszűnjön. Az ún. broilervakcinák előállítását előkészítendő, olyan kísérleteket végeztünk, amelyek

az *S. Hadar* (valamint *S. Enteritidis* és *S. Typhimurium*) törzsek esetleges korai védelmet nyújtó tulajdonságait vizsgálják. Az ide vonatkozó kísérletsorozataink egy része (*Nógrády Noémivel* és *Imre Ariellel*) arra irányult, hogy a baktériumok ún. „Quorum Sensing” mechanizmusát igyekezzünk kihasználni, amelynek az a lényege, hogy a *Salmonella* (és néhány más baktérium) egy bizonyos populációsűrűséget érzékelni és arra válaszul olyan gátló anyagokat termelni képes, amelyeket elsősorban saját fajú (és szerovarú) törzsek érzékelnek (*Nógrády et al.* 2003a). Eddigi eredményeink arra hívták fel a figyelmet, hogy az *S. Hadar* törzsek ilyen alapon több szerotípus ellen is korai védelmet nyújthatnak (*Nógrády et al.* 2003b). Vizsgálatainkat ezért az *S. Hadar* által kiváltott korai, nem specifikus immunválasz irányába folytatjuk (*Szmolka et al.* 2006a).

Epidemiológiai és diagnosztikai vizsgálatok a *Salmonella* elleni védekezésben

A salmonellosis elleni védekezéshez természetesen hozzátartozik a járványtani helyzet, az uralkodó és az éppen feltörekvő típusok folyamatos figyelemmel kísérése és a diagnosztikai munka folyamatos fejlesztése is. Ezen témakörökben természetes módon adódtak számunkra olyan feladatok, mint például a fokozott antimikrobiális rezisztenciával rendelkező *Salmonella* Typhimurium DT104 fágtípusú törzsek hazai megjelenésének, forrásainak és elterjedtségének, valamint egyes genetikai és fenotípusos tulajdonságainak a vizsgálata. Munkák eredményeként elsőként hívtuk fel a figyelmet ezen széles spektrumú antibiotikumrezisztenciával (ún. pentarezisztenciával) rendelkező törzsek hazai széles körű (házityúk, pulyka, vízibaromfi, sertés és egyéb állatok) elterjedtségére és e törzsek baromfin kimutatható fokozott virulenciájára (*Szmolény et al.* 2000). Retrospektív vizsgálataink alapján a fertőzés forrása a 80-as évek közepén, ún. nyugati importból behozott sertéshús és/vagy húsliszt lehetett. Vizsgálataink komoly szerepet játszottak abban is, hogy az *S. Typhimurium* törzsek hazai humán-egészségügyi járványtanáról teljesebb képet kaphattunk

(Pászti *et al.* 2001), és a humán-, valamint állatizolátumok antibiotikumrezisztencia-génjeinek összehasonlítása alapján egy egységes DT₁₀₄-es klón hazai elterjedtségére, valamint a DT₁₀₄ és ún. nem DT₁₀₄ típusok gyors genetikai megkülönböztetésének lehetőségeire is felhívtuk a figyelmet (Nógrády *et al.* 2003c). A részletesebb genetikai jellemzés előtt azonban szükséges az első *Salmonella*-diagnózis idejének a lerövidítése. E célból olyan, a baromfi- és baromfitermék-előállítás különböző pontjain alkalmazható, PCR- és Real-Time PCR-rendszereket dolgoztunk ki, amelyek segítségével a *Salmonella*-kontamináció diagnózisa 24–30 órán belül felállítható, és a *Salmonella* törzsek célzott, gyors visszakeresésére is lehetőség van (Szmolka *et al.* 2006b).

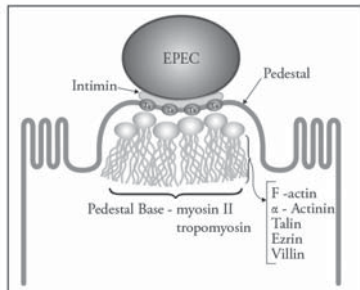
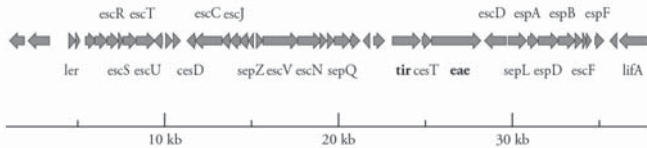
Verotoxikus *Escherichia coli* (VTEC), enterohemorragiás *E. coli* (EHEC) és enteropatogén *E. coli* (EPEC)

Mint tudjuk, az *Escherichia coli* baktériumok az ember és az állatok normál bélflórájának ártalmatlan, sőt sok tekintetben hasznos tagjai. Jellegzetességük azonban, hogy nagyfokú genetikai flexibilitásuknál fogva, a kórokozó bélbaktériumoktól is vehetnek át azok virulenciáját meghatározó géneket, és válhatnak patogén *E. coli* törzsekké, amelyeket felismerni és a normál *E. coli* törzsektől elkülöníteni sok esetben igen nehéz feladat. Egyes esetekben a virulenciagének az embert megbetegítő kórokozótól (pl. *Shigella*) származnak, és az állatokban is honos *E. coli* törzseknek ezáltal állatról emberre terjedő potenciális zoonotikus jelentőséget kölcsönöznek. A ma ismert zoonotikus jelentőségű enterális *E. coli* baktériumokat egy különleges, (fágokkal terjedő) toxincsoport: a „verotoxinok” (VT₁, VT₂) vagy más néven „Shiga-szerű toxinok” (SLT₁, SLT₂) csoportja jellemzi. Kettős nevük magyarázata az, hogy toxikus voltukat egy időben (1978) felfedező két csoport eltérő nevet adott nekik. A következőkben egy-egy esetben verotoxikus *E. coli* (VTEC)-nek nevezett baktériumokról előljáróban annyit kell tudni, hogy emberek és állatok bélcsatornájában előfordulnak, és emberre általában mérsékelten patogének (Nagy *et al.* 2005). Állatok között

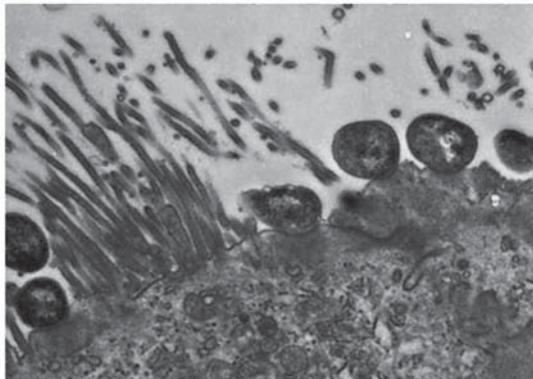
(sertésben) egy régóta ismert, szinte minden esetben elhullással végződő kórt, az ún. ödémabetegséget idézik elő (*Nagy–Fekete 2005, szemle-cikk*). A VT-toxi-nokat termelő *E. coli* törzsek humán-egészségügyi jelentőségét viszont először az ún. hamburgerjárványok kapcsán ismerték fel (*Griffin–Tauxe 1991, szemle-cikk*), amelyek során súlyos vastagbélgyulladás, hemorrhagiás colitis (HC) és következményes haemoliticus uraemiás szindróma (HUS) kialakulását észlelték.

Munkánk során, ezen kórokozókkal párhuzamosan vizsgálnunk kellett egy másik kórokozó *E. coli* csoportot, amely jelenlegi ismereteink szerint nem zoonotikus jelentőségű, de ezek őseként fogható fel, és velük sok tekintetben rokonságot mutat. Ez a csoport az enteropatogén *E. coli* (EPEC) baktériumok csoportja, amelyek csecsemők, kisgyermekek hasmenését okozzák, de megtalálhatók fiatal állatok bélcsatornájában (pl. nyulakban) is, többnyire súlyos hasmenést okozva (*Dow et al. 2005*). Az EPEC baktériumok ugyan nem termelnek jól meghatározható toxint, de a bélhámot jellegzetesen károsítják: a bélmikrobolyhokat elhajlítják (efface), majd elpusztítják, és szorosan tapadnak a bélhámsejtek membránjához, ún. „attaching-effacing” (AE) elváltozást idézve elő a bélbolyhokon (*3. kép*). A fenti jellegzetes AE-elváltozás kialakításában egy közel 40 kb méretű ún. LEE patogenitási sziget (Locus of Enterocyte Effacement) játssza a legfontosabb szerepet (*2. ábra és 3. kép*).

A harmadik csoport a hamburgerjárványok kapcsán említett ún. enterohaemorrhagiás *E. coli* (EHEC), ezen baktériumoknak viszont komoly zoonotikus jelentősége van. Az EHEC baktériumok sajátos filogenetikai folyamatok révén jöttek létre, amelynek során mindkét fenti csoport tulajdonságait egyesítették magukban Ezen törzsek jelentős része állatokból (kérődzők – főként szarvasmarhából) származik, és az embert (elsősorban a gyermekeket és az időseket) betegíti meg. Legjellegzetesebb képviselőik az O157:H7 típusú EHEC törzsek. Az utóbbiak legfontosabb fertőzési forrása a szarvasmarha (hús és tej, illetve a legelő). A hazai tejelő szarvasmarhák fertőzöttségére vonatkozó-



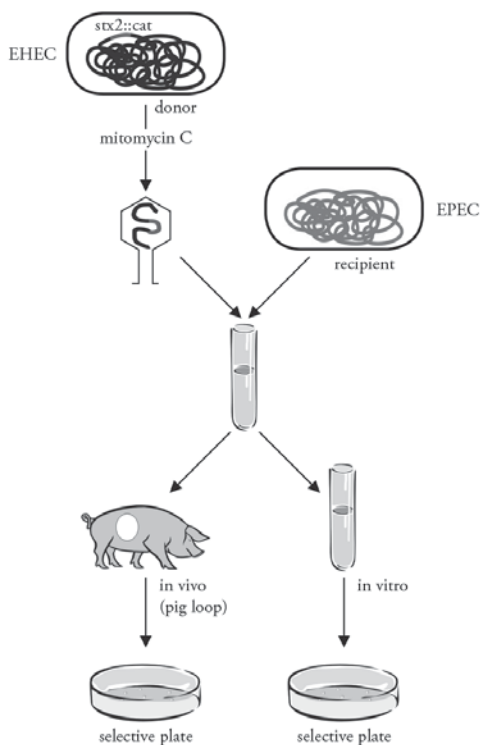
2. ábra. Az EPEC baktérium adhézióját szabályzó LEE (Locus of Enterocyte Effacement) patogénitási sziget (PAI) és ennek hatása a gazdasejtre: a mikrobolyhok elhajlítása, majd elpusztítása és a tapadási zóna alatt a sejtmembrán felemelkedése (pedestalképződés), aktinszálak akkumulációjával. Fölül az LEE-géncsoport főbb géneinek vázlatos sorrendje (Dow; PhD-disszertáció, ELTE TTK, 2006)



3. kép. Enteropathogén *E. coli* (EPEC) a vékonybél mikrobolyhait deformálja és pusztítja, és a hámsejtek membránját maga alatt megemeli. Választott nyíl lekötött bélszegmentjének mesterséges fertőzése alapján készült elektronmikroszkópos felvétel (Dow et al. 2005)

an elsőként végeztünk módszertanilag is hiteles hazai vizsgálatokat (vágóhídi bélminták, bélsarak és tejminták alapján). Mint kiderült, a verotoxin-termelő *E. coli* (VTEC) törzseket az állatok 0,8–4,8%-ban, míg az O157:H7 törzseket 3–7% közötti gyakorisággal lehetett kimutatni, ez nagyjából megegyezik a nemzetközi adatokkal. Elvégeztük ezen törzsek részletes genetikai analizisét is, amelynek eredményei szerint a fenti törzseink közül egyesek eddig nem azonosított (új) szubtípusú *stx2* gént hordoztak. A törzsek további részletes elemzése viszont azt mutatta, hogy a leggyakoribb típus az ún. EPEC volt, amely annak ellenére, hogy O157:H7 (enterohemorragiás főtípussal egyező) szerotípus volt, Shigatoxin gént nem tartalmazott, és így EHEC-nek nem volt nevezhető (Tóth *et al.* 2004). Az ilyen O157:H7 EPEC törzsek viszont a fágokkal átadható *stx* toxingének befogadására és ezáltal EHEC törzsekké alakulásra ún. alaptörzsként is szolgálhatnak.

Az *stx* géneknek fágokkal EPEC törzsekbe való átjutását és ezáltal EHEC törzsekké alakulását *in vivo* körülmények között (választott malacok lekötött csípőbelsőszegmentjeiben) vizsgáltuk. Ezen vizsgálatok során egy humán-patogéntörzsből (mint donorból) igyekeztünk átvinni – mitomicinnel indukált fágok segítségével – sertés-EPEC-be *stx2* „jelzett” géneket hordozó fágokat. Érdekes módon azt tapasztaltuk, hogy míg *in vitro* az átvitel nem sikerült, addig *in vivo* több esetben is sikerrel jártunk, jelezvén, hogy a baktériumok a bélben (*in vivo*) alkalmasabb állapotban vannak az ilyen génátvitelre mint *in vitro* (3. ábra). Ez a megfigyelés az ilyen és ehhez hasonló génátvitelnek vonatkozásában, a koncentrált állattartási körülmények „rásegítő” hatását is jól jelzi. A sertés-EPEC törzseket illetően érdekes volt megfigyelnünk, hogy ezek a választott malacokban viszonylag gyakran (sertések 10–15%-ában) lehetnek jelen, anélkül, hogy klinikai tünetekben megnyilvánuló megbetegedéseket okoznának, bár a kórokozó képességük a bél nyálkahártyán okozott elváltozásokkal igazolható volt (Malik *et al.* 2006a, 2006b). Az, hogy az ilyen sertés-EPEC törzsek *stx* toxingéneket mikor vesznek fel, és válnak veszélyesebb kórokozóvá,



3. ábra. „EHEC” baktériumból mobilizált, jelzett *stx2* toxingént tartalmazó fág sertés-EPEC-baktériumba való átvitelét vizsgáló *in vitro* és *in vivo* (sertés-) kísérleti rendszer szemléltetése (Tóth *et al.* 2003)

előre megmondani nem lehet, de kísérleteinkkel erre a lehetőségre is felhívtuk a figyelmet (Tóth *et al.* 2003).

A fentiek alapján jelenleg úgy látszik, hogy a VTEC/EHEC törzseket hordozó állatok egyelőre tömeges humán-egészségügyi veszélyt hazánkban nem jelentenek, és hogy a hazai szarvasmarhák által hordozott *E. coli* O157:H7-es törzsek zöme „csupán” EPEC-nek tekinthető, amelyek rutin eljárásokkal

való kimutatása élelmiszer-biztonsági szempontból félrevezető eredményekhez vezethet. Ugyanakkor, nem szabad elfelejtenünk, hogy az ilyen EPEC törzsek az *stx* gének felvételével magas virulenciájú EHEC-cé alakulhatnak. Ezen lehetőségre – az O₅₅:H₇ szerotípusú humán-EPEC törzsek vonatkozásában már többen is (pl. Kaper *et al.* 1998) felhívták a figyelmet, és ez a filogenetikai fejlődés a ma leginkább elismert, zoonotikus jelentőségű O₁₅₇:H₇ típusú EHEC törzsek fellépéséhez vezetett.

Saját adataink alapján is úgy véljük, hogy az ilyen irányú evolúciós folyamatok jelenleg is zajlanak, és még további új típusú, zoonotikus jelentőségű *E. coli* törzsek fellépéséhez vezethetnek. Ezért e folyamatok nyomon követését és az esetleges újabb veszélyforrások időben való jelzését szolgáló kutatásokra a jövőben is elkerülhetetlenül szükség van.¹

Összefoglalás

Az *Enterobacterialis zoonózisok* cím alatt a *Salmonella* és enterális kórokozó *E. coli* baktériumokra vonatkozóan, az MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézetében 1998 és 2005 között végzett munkáinkról kívántam röviden számot adni. Ezen munkák a *Salmonella* okozta naposcsibe-fertőződés kórfejlődésére, a *Salmonella* Enteritidis elleni genetikailag módosított vakcinák továbbfejlesztésére, a salmonellák gyorsabb kimutatásának molekuláris módszereire és egyes hazai domináns *Salmonella* törzsek genotípusos és fenotípusos jellemzésére irányultak, beleértve a széles körű antibiotikumrezisztenciával rendelkező *S. Typhimurium* törzseket is.

A kiemelt közegészségügyi jelentőségű enterohaemorrhagiás *E. coli* (EHEC) és ezzel rokon verotoxikus *E. coli* (VTEC) és enteropatogén *E. coli*

¹ Lásd a 2011. évi németországi O104:H4 típusú EHEC/EAEC járványt, amely 2011. július végéig 50 ember halálát és kb. 4000 ember megbetegedését okozta (a szerző utólagos megjegyzése).

(EPEC) baktériumok hazai izolátumainak részletes jellemzése (és idevonatkozó *in vivo* sertéskísérleteink, valamint irodalmi adatok) alapján felhívtuk a figyelmet arra, hogy az O₁₅₇:H7 és egyéb O-típusú, de verotoxint nem termelő, viszonylag gyakran előforduló törzsek – a toxingéneket hordozó fágok felvételével – újabb típusú, járványokat okozó EHEC törzsekké alakulhatnak át.

Köszönetnyilvánítás

E helyen is köszönöm az MTA Agrártudományok Osztályának, valamint ajánlóimnak (Dudits Dénes, Kovács Ferenc és Mészáros János akadémikus uraknak), hogy az MTA rendes tagságára javasolni érdemesnek vélték. Idevonatkozó munkánkat az EU FP5 QLK-2000-00600, az NKFP 4/040/2001 és Bio-076/00 programok, valamint az OTKA T349070 program támogatta. Intézeti és külsős munkatársaimnak, társszerzőimnek köszönöm, hogy e feladatokon velük közösen dolgozhattam. Köszönöm családomnak – különösen feleségemnek, Nórának –, hogy a többletterhek rájuk háruló részét szeretettel és megértéssel vállalták.

Hivatkozott publikációk

- Dow, M. A., Tóth, I., Alexa, P., Davies, M., Malik, A., Oswald, E., Nagy, B. 2005. Predominance of *afz2* and *ral* fimbrial genes related to those encoding the K88 and SC_{31A} fimbrial adhesins in enteropathogenic *Escherichia coli* isolates from rabbits with postweaning diarrhoea in Central Europe. *J. Clin. Microbiol.* 43, 1366–67.
- Epinfo, „*Salmonella* surveillance, 2002”. 2003. 10 (No.44), 567–73.
- Fekete, P. Zs., Gerardin, J., Jacquemin, E., Maimil, J. G., Nagy, B. 2002. Replicon typing of F18 fimbriae encoding plasmids of enterotoxigenic and verotoxigenic *Escherichia coli* strains from porcine postweaning diarrhoea and oedema disease. *Vet. Microbiol.*, 85, 275–84.
- Griffin, P. M., Tauxe, R. V. 1991. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli* and the associated haemolytic uremic syndrome. *Epidemiol. Rev.* 13, 60–98.
- Imre A., Olasz F, Nagy B. 2004. Salmonella Enteritidis flagellinmutánsok előállítására irányított mutagenézissel. Magyar Biokémiai Egyesület Molekuláris Biológiai Szakosztálya 9. Munkaértekezlete, Sopron, GP2.
- Imre. A., Olasz, F, Nagy, B. 2005. Development of a PCR system for characterization of Salmonella flagellin genes. *Acta Vet. Hung.* 53, 163–72.
- Imre, A., Olasz, F, Kiss, J., Nagy, B. 2006. A novel transposon-based method for elimination of bacterial plasmids. *Plasmid* 55, 235–241.
- Kaper, J. B., Elliot, S., Sperandio, V., Perna, N. T., Mayhew, G. F., Blattner, F. R. 1998. Attaching-and-effacing intestinal histopathology and the locus of enterocyte effacement. In: Kaper J. B., O'Brien, A. D.: *Escherichia coli* O157:H7 and Other Shiga Toxin-Producing *E. coli* Strains. ASM Press, Washington, D.C. 163–182.
- Malik, A., Tóth, I., Beutin, L., Schmidt, H., Taminau, H., Dow, M., Morabito, S., Oswald, E., Maimil, J., Nagy, B. 2006a. Serotypes and intimin types of intestinal and faecal strains of *eaec+* *Escherichia coli* from weaned pigs. *Vet. Microbiol.* 114, 82–93.
- Malik A., Tóth I., Fekete P. Zs., Beutin L., Nagy B. 2006b. Bélmikrobaholy károsodást okozó enteropathogén *E. coli* (EPEC) baktériumok választott malacokban. *Magy. Áo. Lapja* 128, 473–85.
- Nagy B. 1999. A keresztvédelem jelentősége a baromfi salmonellosis elleni immunizálásban. *Magy. Áo. Lapja* 121, 179–80.
- Nagy B., Bitay Z., Kovács S., Nógrády N. 2001. A salmonellosis elleni védekezés újabb lehetőségei az állategészségügyben. *Magy. Áo. Lapja.* 123, 670–8.
- Nagy, B., Fekete, P. Zs. 2005. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. *Int. J. Medical Microbiol.* 295, 443–54.
- Nagy, B. Tóth, I., Fekete, P. Zs. 2005. Adhesins and receptors for colonization by different pathotypes of *Escherichia coli* in calves and young pigs. In: Holzapfel, W.–Naughton, P. (eds.): *Microbial Ecology in Growing Animals*. Elsevier Science B.V., Amsterdam, 157–90.

- Nógrády, N., Imre, A., Rychlík, I., Barrow, P. A., Nagy, B. 2003b. Growth and colonization suppression of *Salmonella enterica* serovar Hadar in vitro and in vivo. FEMS Microbiology Letters 218, 127–33.
- Nógrády, N., Imre, A., Rychlík, I., Barrow, P. A., Nagy, B. 2003a. Genes responsible for anaerobic fumarate and arginine metabolism are involved in growth suppression in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in vitro without influencing colonization inhibition in the chicken in vivo. Vet. Microbiol. 97, 191–99.
- Nógrády, N., Gadó, I., Pásztai, J., Király, M. 2003c. Analysis of gene cassettes of streptomycin-spectinomycin resistance of Hungarian *Salmonella enterica* serotype Typhimurium strains. Acta Vet. Hung. 51, 137–51.
- Pásztai, J., László, G. V., Gadó, I., Milch, H., Krisztaovics, K., Király, M., Orbán, J., Kopány, V. 2001. Genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 in Hungary. Acta Microbiol. Immunol. Hung. 48, 95–105.
- Tóth, I., Schmidt, H., Dow, M., Malik, A., Oswald, E., Nagy, B. 2003. Transduction of porcine enteropathogenic *Escherichia coli* with a derivative of a Shiga toxin-2 encoding bacteriophage in porcine ligated ileal loop system. Appl. Environment. Microbiol. 69, 7242–7.
- Tóth, I., Lancz, Zs., Nagy, B. 2004. Bovine O157:H7 strains as a source of emerging concern? Abstracts, COST-920 Meeting, Bertinoro, 3-5. Oct. 2005.
- Szmollény, G., Tóth, I., Rásky, K., Péterfy, F., Dinjus, U., Van Zijderveldt, F., Nagy, B. 1999. Modified monoclonal antibody enzyme-linked immunosorbent assays for detection of specific antibodies to *Salmonella enteritidis* in poultry. Abstr. 13th Int. Congr. Hung. Soc. Microbiol. Budapest, 29. August – 1. Sept, 1999.
- Szmollény, G., Kostyák, A., Kovács, S., Speed, K., Jones, Y., László, V. G., Gadó, I., Pásztai, J., Wray, C., Nagy, B. 2000. Epidemiology and characterization of animal *Salmonella enterica* subspecies enterica serovar typhimurium DT 104 in Hungary. Acta Vet. Hung. 48, 407–20.
- Szmolka, A., Imre, A., Nagy, B. 2006a. Real-time PCR assays on cytokine response to *Salmonella* in vitro and its relation to invasiveness. Acta Microbiol. Immunol. Hung. 53, 349–50.
- Szmolka, A., Kaszanyitzky É., Nagy, B. 2006b. Improved diagnostic and real-time PCR in rapid screening for *Salmonella* in the poultry food chain. Acta Vet. Hung. 54, 297–312.
- Van Immerseel, F., Metbner, U., Rychlík, I., Nagy, B., Velge, P., Martin, G., Foster, N., Ducatelle, R., Barrow, P. A. 2005. Vaccination and early protection against non-host-specific *Salmonella* serotypes in poultry: exploitation of innate immunity and microbial activity. Epidemiol. Infect. 133, 959–78.

Erdy János
Bochtovich Ruffözse

Wenzel Gusztáv

Jábiar Gabon
Nagy János

Terintetes Nagygyűlés! Arany János

Minia felemelő szabályainak 32. §-a egy szót:
Mindem sijnomán választott tag, a külsőből kivétel
lével, osztályába tartozó dolgotat felolvasásával,
vagy személyes meg nem jelenhetés esetén beüldé
sével, legfeljebb egy év alatt sörét foglat; külsőben meg
választása meg nem működően:

Tehetnek esetek, melyekben kivált vidéken la
kolé gátolhatna a határidőt megtartani: de hallga
tag elvérsni e szabály meg nem tartatását, amlyet
tesz, mint örves szabályzatunkat erőlfenev terintese
át söröségteleu.
Judithányba koratir tehát, hogy egyelőre a
határidőt s sörfoglalás által meg nem
határidőket, az 186

