

**DEBRECENI EGYETEM**  
**ÁLLATTENYÉSZTÉSI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

*Doktori Iskola vezető:*

**DR. KOMLÓSI ISTVÁN**  
egyetemi tanár  
az MTA doktora

*Témavezetők:*

**Dr. Peles Ferenc Árpád Ph.D.**  
adjunktus  
**Dr. Béri Béla C.Sc.**  
egyetemi docens

**A TEJ MIKROBIOLÓGIAI MINŐSÉGÉRE HATÓ TÉNYEZŐK  
VIZSGÁLATA ÉS A TEJBŐL IZOLÁLHATÓ *STAPHYLOCOCCUS*  
*AUREUS* TÖRZSEK JELLEMZŐINEK ELEMZÉSE**

*Készítette:*

**SZABÓNÉ PETRÓCZKI FLÓRA MÁRIA**  
doktorjelölt

**Debrecen**

**2021.**

**A TEJ MIKROBIOLÓGIAI MINŐSÉGÉRE HATÓ TÉNYEZŐK  
VIZSGÁLATA ÉS A TEJBŐL IZOLÁLHATÓ *STAPHYLOCOCCUS  
AUREUS* TÖRZSEK JELLEMZŐINEK ELEMZÉSE**

**Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében  
az állattenyésztési tudományok tudományágban**

Írta: SZABÓNÉ PETRÓCZKI FLÓRA MÁRIA  
okleveles élelmiszerbiztonsági és -minőségi mérnök

Készült a Debreceni Egyetem Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola  
(Állatitermék-előállítás programja) keretében

Témavezetők: Dr. Peles Ferenc Árpád Ph.D.  
Dr. Béri Béla C.Sc.

**Az értekezés bírálói:**

	név	fokozat	aláírás
	.....	.....	.....
	.....	.....	.....

**A bírálóbizottság:**

	név	fokozat	aláírás
elnök:	.....	.....	.....
tagok:	.....	.....	.....
	.....	.....	.....
titkár:	.....	.....	.....

Az értekezés védésének időpontja: 20.... ..

# TARTALOMJEGYZÉK

<b>RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE .....</b>	<b>5</b>
<b>1. BEVEZETÉS.....</b>	<b>6</b>
<b>2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS .....</b>	<b>9</b>
2.1. A nyerstej mikrobiológiai minősége .....	9
2.2. A nyerstej mikrobiológiai minőségére ható tényezők.....	10
2.3. Az összcsíraszám jelentősége és a védekezés lehetőségei .....	12
2.4. A szomatikus sejtszám jelentősége .....	14
2.5. A tőgygyulladás jelentősége.....	15
2.6. A kóliform baktériumok jelentősége.....	17
2.7. A <i>Staphylococcus aureus</i> jelentősége és a védekezés lehetőségei .....	17
2.7.1. A <i>Staphylococcus aureus</i> virulencia faktorai .....	21
2.7.2. A <i>Staphylococcus aureus</i> által termelt enterotoxinok .....	23
2.7.3. A <i>Staphylococcus aureus</i> antibiotikum érzékenysége.....	26
<b>3. ANYAG ÉS MÓDSZER .....</b>	<b>29</b>
3.1. A vizsgálatba bevont tehenészetek főbb adatai.....	29
<b>3.2. A vizsgált minták, a mintavétel, a mintaelőkészítés, adatgyűjtés .....</b>	<b>30</b>
<b>3.3. Az elegytej és egyedi tejminták mikrobiológiai vizsgálatainak módszerei .....</b>	<b>33</b>
3.3.1. A mikrobiológiai vizsgálatok elvégzésekor felhasznált táptalajok .....	33
3.3.2. Az összcsíraszám meghatározása.....	35
3.3.3. A kóliform csíraszám meghatározása .....	35
3.3.4. A <i>Staphylococcus aureus</i> szám meghatározása és a megerősítő vizsgálatok.....	35
<b>3.4. A mintákból izolált <i>Staphylococcus aureus</i> törzsek tulajdonságainak vizsgálata..</b>	<b>37</b>
3.4.1. Kataláz teszt és oxidáz próba.....	37
3.4.2. A <i>Staphylococcus aureus</i> izolátumok azonosítása MALDI-TOF tömegspektrométerrel .....	37
3.4.3. A <i>Staphylococcus aureus</i> izolátumok spa típusának meghatározása.....	38
3.4.4. A hemolízis típusának meghatározása .....	39
3.4.5. Antibiotikum érzékenység vizsgálata.....	39
3.4.6. A <i>Staphylococcus enterotoxin</i> kódoló gének vizsgálata PCR-rel .....	40
<b>3.5. Az alkalmazott statisztikai módszerek.....</b>	<b>44</b>
<b>4. EREDMÉNYEK .....</b>	<b>45</b>

<b>4.1. Hajdú-Bihar megyei tejtermelő telepekről származó elegy és egyedi tejminták mikrobiológiai állapotának felmérése .....</b>	<b>45</b>
4.1.1. <i>Az összcsíraszám alakulása a tejtermelő telepekről vett nyerstejben .....</i>	45
4.1.2. <i>A kóliform csíraszám alakulása a tejtermelő telepekről vett nyerstejben .....</i>	47
4.1.3. <i>A Staphylococcus aureus szám alakulása a tejtermelő telepekről vett nyerstejben</i>	48
<b>4.2. A különböző tényezők hatása a nyerstej mikrobiológiai állapotára .....</b>	<b>50</b>
4.2.1. <i>A fajta hatása a napi tejmennyiségre, a nyerstej összetételére és mikrobiológiai paramétereire .....</i>	50
4.2.2. <i>A laktáció számának hatása a nyerstej termelési és mikrobiológiai paramétereire .....</i>	52
4.2.3. <i>A laktáció stádiumainak hatása a nyerstej termelési és mikrobiológiai paramétereire .....</i>	55
4.2.4. <i>Az évszak hatása a nyerstej mikrobiológiai állapotára.....</i>	60
<b>4.3. A mintákból izolált <i>Staphylococcus aureus</i> törzsek főbb tulajdonságai.....</b>	<b>63</b>
4.3.1. <i>A Staphylococcus aureus izolátumok azonosításának eredményei .....</i>	64
4.3.2. <i>A Staphylococcus aureus izolátumok spa típusának meghatározásának eredményei .....</i>	67
4.3.3. <i>A hemolízis típus meghatározásának eredményei.....</i>	68
4.3.4. <i>Antibiotikum érzékenység vizsgálatának eredményei .....</i>	70
4.3.5. <i>Staphylococcus enterotoxint kódoló gének vizsgálatának eredményei .....</i>	73
<b>4.4. <i>Staphylococcus aureus</i> mentesítés hatékonyságának vizsgálati eredményei egy tejtermelő telepen .....</b>	<b>76</b>
<b>5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK .....</b>	<b>78</b>
<b>6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....</b>	<b>82</b>
<b>7. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA .....</b>	<b>83</b>
<b>8. ÖSSZEFOGLALÁS .....</b>	<b>84</b>
<b>9. SUMMARY .....</b>	<b>87</b>
<b>10. IRODALOMJEGYZÉK .....</b>	<b>90</b>
<b>11. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN .....</b>	<b>110</b>
<b>12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....</b>	<b>114</b>
<b>13. MELLÉKLETEK .....</b>	<b>115</b>
<b>14. NYILATKOZATOK.....</b>	<b>118</b>

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

BP: Baird-Parker

CC: clonal complex (klonális komplex)

CLSI: Clinical & Laboratory Standards Institute (Klinikai és Laboratóriumi Szabványügyi Intézet)

DNS: dezoxiribonukleinsav

EK: európai közösség

MALDI-TOF MS: Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometer

(Mátrix-asszisztált lézer deszorpciós, ionizációs, repülési idő mérésén alapuló tömegspektrometria)

MLST: multilocus sequence typing (multilókuszos szekvencia tipizálás)

MRSA: meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus*

*nuc*: termonukleáz gén

PBP2A (PBP2'): módosított penicillin-kötő fehérje

PCR: polymerase chain reaction (polimeráz lánreakció)

RNS: ribonukleinsav

SCCmec: *Staphylococcus* kromoszómális kazetta *mec*

SE: *Staphylococcus* enterotoxin

*se*: *Staphylococcus* enterotoxint kódoló gén

SEI: *Staphylococcus* enterotoxinszerű protein

*spa*: *Staphylococcus* protein A gén

TGÉ: tripton glükóz élesztő

tke: telepkepző egység

TNáz: termonukleáz enzim

TSB: tripton soy broth (tripton szója leves)

TSST-1: toxikus sokk szindróma toxin-1

VRBL: violet red bile lactose (kristályibolya neutrálvörös epe laktóz)

$\alpha$ -HCCA:  $\alpha$ -Cyano-4-hydroxycinnamic acid ( $\alpha$ -ciano-4-hidroxi-fahéjsav)

## 1. BEVEZETÉS

Amióta az ember házasítani kezdte a tejelő állatokat, a tej és a tejtermékek jelentős szerepet töltenek be az étrendünkben (JAKOBSEN és mtsai., 2011). A tejet a nőivarú emlősállatok termelik újszülött utódaik táplálására. Élelmezési szempontból tejnek nevezzük a különféle eredetű (anyatej, tehéntej, bivalytej, kecsketej, stb.) tejféléseget, mely az emberi táplálkozásban is nagy szerepet játszik. A mindennapokban a tej alatt csak a tehéntejet értjük, így a többi esetben, ahol az adott tejfélése más állatfajtól származik, a megnevezésben meg kell jelölni az állatfaj nevét (pl. bivalytej, kecsketej, stb.) (BIRÓ, 2014). A termelői nyerstej fogalmának meghatározását a Magyar Élelmiszerkönyv 2-51 számú irányelv tartalmazza, mely szerint a termelői nyerstejet rendszeresen, különféle tejtermelő állatoktól (tehén, juh, kecske) teljes kifejéssel lehet nyerni. Ezen kívül a tej akkor tartozik ebbe a fogalomba, ha nem kap 40 °C-nál magasabb hőkezelést, s ezzel egyenértékű kezelést sem; továbbá nem vonnak el és nem is adnak hozzá semmit. A termelői nyerstejet közvetlen fogyasztásra, illetve ipari feldolgozásra is fel lehet használni. Míg az előbbi esetében a nyerstejet úgy kínálják fogyasztásra, hogy azt nem hőkezelik, az utóbbi olyan nyerstejet jelöl, melyből hőkezelésen átesett tejet vagy tejterméket gyártanak. Mindkét esetben a jogszabályokban megfogalmazott fizikai-kémiai, higiéniai-mikrobiológiai és érzékszervi előírásoknak megfelelő alapanyag használható fel (LACZAY, 2008).

Manapság a nyerstej iránti érdeklődés növekedett, ugyanis divattá vált, hogy az emberek a természetes élelmiszereket keressék. Jobb táplálkozási minőség, íz, egészségügyi előnyök az indokai, amiért nőtt a nyerstej fogyasztás jelentősége. A nyerstej támogatói szerint a pasztörözetlen tej alkalmas lehet betegségek megelőzésére vagy kezelésére, még akkor is, ha erre nincs tudományos bizonyíték (TREMONTÉ és mtsai., 2014).

A tej az emberi szervezet számára értékes tápanyagokat, pl. fehérjéket, zsírokat, vitaminokat, ásványi anyagokat tartalmaz (HAUG és mtsai., 2007). Ezekre a tápanyagokra a mikroorganizmusoknak is szükségük van, ezért számos mikroba lehet jelen a tejben, köztük akár patogén szervezetek, pl. *Staphylococcus aureus* is (NORMANNO és mtsai., 2007; HUONG és mtsai., 2010). Ezenkívül a tej magas vízaktivitása és semleges pH-ja is biztosítja a mikrobák növekedésének optimális feltételeit (QUIGLEY és mtsai., 2011). Az egészséges tehén teje kis mennyiségű mikrobát tartalmaz, de a fejést követően a tej kezelésekor könnyen szennyeződhet (BIRÓ, 2014). Szennyeződés történhet például a környezetből, az állatok bőréről, vagy a tejkezeléskor felhasznált eszközökről, például a fejőgépekről és tejtároló tartályokból. Legtöbbször hőkezelést alkalmaznak a baktériumok számának csökkentésére. A

tej kezdeti mikrobiológiai állapota az élelmiszerbiztonság szempontjából jelentős fontosságú, továbbá befolyással lehet a tejből készült tejtermékek minőségére (CILLIERS és mtsai., 2014).

A tej szennyeződése mikrobákkal már a tőgyön belül is megtörténhet. A nem megfelelően alkalmazott, helytelenül beállított fejőberendezés ugyanis káros hatással lehet a tőgybimbókra, a tőgybimbó csatornára és a nyálkahártya szövetére. Ha pedig sérül a tőgy elsődleges védelmi vonala, megszűnik a mikroorganizmusok elleni védelem (TÓTH, 2015). A legtöbb tőgygyulladást okozó mikroba a tőgybimbó csatornán keresztül juthat be a tőgybe (JAIN, 1979). Ezen kórokozók tőgybe jutását normál esetben a tőgybimbó csatorna számos védelmi mechanizmusa megakadályozza (PADUCH és mtsai., 2012). ZECCONI és mtsai. (2009) vizsgálataik során viszont arra a következtetésre jutottak, hogy a tőgybimbóban történő, fejőgép indukálta változások hajlamosító tényezők a környezeti kórokozók számára a tőgybimbó csatorna kolonizációjára, mely elősegítheti a tőgygyulladás kialakulását.

Tőgygyulladást okozó kórokozók lehetnek például a kóliform baktériumok, a *S. aureus* és a koaguláz-negatív *Staphylococcusok* (PYÖRÄLÄ és TAPONEN, 2009). A kóliform baktériumok okozta mastitis jelentősége abban rejlik, hogy a tejtermelés jelentősen csökkenhet, amivel gazdasági veszteségeket okozhat a tejtermelőknek (MBUK és mtsai., 2016). Mivel a kóliform baktériumok általánosan jelen vannak a környezetben, az élelmiszerben való jelenlétük környezeti eredetű szennyeződést jelezhet (ALTALHI és HASSAN, 2009; MHONE és mtsai., 2011).

A tej kiváló körülményeket biztosíthat a *Staphylococcusok* növekedéséhez és enterotoxin termeléséhez (KORPYSA-DZIRBA és OSEK, 2011). Az enterotoxin-termelő *S. aureus* törzsek által termelt enterotoxinok ételmérgezést okozhatnak a fertőzött élelmiszert fogyasztó személyeknél (JØRGENSEN és mtsai., 2005b). A *S. aureus* továbbá a tejtermelő tehenészetekben a klinikai, illetve a szubklinikai mastitis egyik okozója (PETON és LOIR, 2014).

Az élelmiszergyártó üzemek szigorú minőségirányítási rendszerek működtetésével igyekeznek kielégíteni a fogyasztók azon elvárásait, hogy biztonságos és kiváló minőségű termékek kerüljenek az asztalukra. Az erőfeszítéseik ellenére azonban problémákat okozhatnak bizonyos mikrobák (például *S. aureus*, *Escherichia coli* stb.) jelenléte (EL-HOFI és mtsai., 2010). A tejtermékek mikrobákkal való szennyeződése megtörténhet magában a tejüzemben vagy a tejtermelő gazdaságokban a nem megfelelő higiéniai gyakorlatok alkalmazása miatt (CAMPOLO és mtsai., 2013). A higiéniai indikátor mikroorganizmusok képet adhatnak az élelmiszerek és környezetük mikrobiológiai állapotáról. Az indikátor mikrobák lehetnek

például a kóliform baktériumok, az *E. coli* és a penészgombák (VASEK és mtsai., 2008; CAMPOLO és mtsai., 2013; MARTIN és mtsai., 2016).

Mivel magyarországi viszonylatban kevés jelenlegi, releváns információ áll rendelkezésre a fajta, a laktáció stádium, a laktáció szám és az évszak mikrobiológiai minőségre gyakorolt hatásáról, valamint a tejtermelő telepeken előforduló *S. aureus* törzsek jellemzőinek feltérképezéséről, a kutatás során a céljaink az alábbiak voltak:

- A különböző tejtermelő telepekről származó nyerstej *S. aureus*-szal, valamint indikátor mikrobákkal (mezofil aerob mikrobákkal, kóliform baktériumokkal) való szennyezettségének a megállapítása.
- Annak meghatározása, hogy van-e különbség az azonos tartástechnológiával tartott és fejt szarvasmarha fajták (holstein-fríz, jersey) tejének mikrobiológiai minősége között.
- Annak felmérésére, hogy hogyan változik a nyers tehéntej mikrobiológiai állapota a laktáció számával (egyszer ellett, többször ellett), illetve a laktáció különböző stádiumaiban (eleje, közepe, vége).
- A nyerstej mikrobiológiai minőségének az évszakokkal való változásának feltérképezése.
- A tejből izolálható *S. aureus* törzsek alaposabb megismerése. A vizsgálatok során a baktérium több virulencia faktorának meghatározása volt a cél; többek között a clumping faktor, a tellurit redukáló képesség, a lecitináz aktivitás, az oxidáz és kataláz aktivitás, a hemolizin termelő képesség, valamint az antibiotikum érzékenység, az enterotoxin termelő képesség és az *spa* típus meghatározása.
- Egy tejtermelő telepen végrehajtott *S. aureus* mentesítési program során az elegytejben előforduló *S. aureus* mennyiségének figyelemmel kísérése.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. A nyerstej mikrobiológiai minősége

A tehéntejnek magas a tápértéke. Tartalmaz lipideket, proteineket, szénhidrátokat, vitaminokat, ásványi anyagokat – azaz mindent, amire a növekedésben lévő borjúnak szüksége lehet (HILL és mtsai., 2012). A tej magas tápértéke és vízáktivitása, továbbá a semleges pH-ja miatt azonban táptalajként szolgálhat különféle mikrobák számára, amelyeknek szaporodása főleg a hőmérséklettől, valamint a többi mikrobával szembeni versengéstől, s azok metabolitjaitól függ. Patogén mikroorganizmus is előfordulhat a nyerstejben, például: *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, patogén *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, stb. (QUIGLEY és mtsai., 2011; CLAEYS és mtsai., 2013). A kórokozók és egyéb romlást okozó mikroszervezetek mellett azonban előfordulhatnak hasznos mikroorganizmusok is. Ezek segítségével bizonyos tejtermékek jellegét alakíthatjuk ki. Élettevékenységük alatt a mikroorganizmusok a tej alkotórészeit felhasználják, különböző anyagcseretermékeket hoznak létre, s ezáltal megváltoztatják a tej- illetve a tejtermék jellegét (CSAPÓ és CSAPÓNÉ, 2002).

A frissen fejt, egészséges tehéntől származó tej alacsony számú mikrobát tartalmaz, mintegy  $10^2$ - $10^3$  tke/ml-t (telepképző egység/ml). A fejtést követően a tej számos forrásból szennyeződhet mikrobával, például az állat kültakarójáról és/vagy a tej kezelésekor a tejjel közvetlen kapcsolatba kerülő különböző eszközökről (CILLIERS és mtsai., 2014). A tej szennyeződhet a további feldolgozás folyamán is, ha a gyártási folyamat során nem megfelelőek a higiéniai körülmények. Egy hat éven át tartó vizsgálat során kereskedelmi forgalomban kapható tej, illetve tejtermékek higiéniai állapotát mérték fel, és megállapították, hogy a vizsgált minták körülbelül 14%-a, bár nem tartalmazott patogéneket, a higiéniai minőség tekintetében nem teljesítette a jogszabályi követelményeket (VARGA, 2007). A tej mikrobiótája főleg pszichrofil baktériumokból (pl. *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* fajokból) áll, de tartalmazhat még *Bacillus*, *Staphylococcus*, stb. fajokat is. A leggyakoribb pszichrofilok a tejben a *Pseudomonas*ok, melyek közül több faj is különféle ízhibát okozhat a tejben. Mivel a pasztörözés során a vegetatív sejtek elpusztulnak, jelenlétük a hőkezelt tejben utószennyeződéssel magyarázható. A pasztörözés sokszor nem inaktíválja a baktériumok által termelt enzimeket, melyek aztán az ultrapasztörözött termékben keserű íz kialakítását eredményezik (DEÁK, 2006). A pszichrotróf baktériumok képesek élettevékenységeiket 7 °C-nál alacsonyabb hőmérsékleten is folytatni, továbbá különböző anyagcseretermékeket

(enzimeket, toxinokat, más metabolitokat) termelni (JAY, 1996; CANIGOVA és mtsai., 2004). Ezen baktériumok belekerülhetnek a tejbe például a vízből, a szerves trágyából, az alomból, vagy akár tőgygyulladásos tehenektől is (CANIGOVA és mtsai., 2004). A patogén mikrobák kétféle módon tudják szennyezni a nyerstejet. Az egyik mód az endogén szennyezés, ahol közvetlenül a vérből történik meg a fertőzés, illetve a tőgygyulladás által is belekerülhet a tejbe patogén mikroba. A másik mód az exogén szennyeződés, ahol a tej szennyeződhet a fejés alatt illetve után a tőgyről, az állat testfelületéről, a környezetből, stb. (VERRAES és mtsai., 2015).

A pasztörözést hagyományosan azért használják, hogy a patogének mennyiségét csökkentsék, s így a feldolgozott termék nem jelent többé egészségügyi veszélyt. Azonban a hőkezelés változásokat eredményez a tej táplálkozási és organoleptikus tulajdonságaiban is. A hőkezelés eredményeképpen előforduló legfontosabb változások a következők: csökken a pH, a kalcium-foszfát részleges kicsapódása, a savfehérjék denaturálódása, és a kazeinnel való interakció, laktóz izomerizáció, stb. A hőkezelés alkalmazásával biztonságossá válik a tej fogyasztása, valamint sokáig eltarthatóvá válik (CILLIERS és mtsai., 2014).

Mivel a tej a baktériumok számára ideális tápközeg, ráadásul könnyen is szennyeződhet, a tejnyerés rendkívüli odafigyelést igényel. Ugyanis a nem megfelelő higiéniai körülmények között termelt és kezelt tej hatalmas veszélyforrást jelenthet a fogyasztók egészségére nézve. A tej megfelelő kezelése amellet, hogy közegészségügyi szempontból fontos, a tejtermelő gazdaságoknak is érdeke, mivel a szennyezett tejet nem bocsáthatják kereskedelmi forgalomba, továbbá rossz alapanyagból jó minőségű terméket nem lehet előállítani (MERÉNYI és SCHNEIDER, 1999).

A 853/2004/EK rendelet III. melléklet IX. szakasz, III. fejezet foglalja össze a nyerstejjel kapcsolatos kritériumokat. A rendelet alapján „a tejtermelő gazdaságokban összegyűjtött nyerstejből véletlenszerű mintavétellel vett reprezentatív számú mintákat ellenőrizni kell”, hogy megfelel-e az összcsíraszámra, szomatius sejtszámra, gátlóanyag tartalomra vonatkozó követelményeknek.

## **2.2. A nyerstej mikrobiológiai minőségére ható tényezők**

A nyers tehéntej mikrobiológiai minőségét számos külső és belső tényező befolyásolhatja. Ezt nagyrészt a tejjel érintkező felületek tisztasága határozza meg (fejőgép, fejőtartály stb.) (ANDERSON és mtsai., 2003). PELES és mtsai. (2008) a tanulmányuk során a különböző üzemméretű, különböző tartási és fejési módszereket alkalmazó tejtermelő

gazdaságok elegyetejét tanulmányozták és megállapították, hogy ezek a tényezők befolyásolták a tej mikrobiológiai minőségét.

A holstein-fríz tehenek nemesítésekor a tejmennyiségre és a gépi fejhetőségre törekedtek, ami egyben kevesebb hasznosanyag-tartalmat is jelent a tejben; a jersey tehenek nemesítésekor pedig a tejtermelés gazdaságossága volt a cél. A kis testtömeg mellett kevesebb mennyiségű, de koncentrált tej alakult ki a fajtánál (HOLLÓ és SZABÓ, 2016). NÓBREGA és LANGONI (2011) szerint eltérések lehetnek az immunválaszokban a jersey és a holstein-fríz fajták között. Vizsgálatuk során a környezeti kórokozókat gyakrabban izolálták az azonos telepen, azonos tartási körülmények között tartott jersey tehenek tejéből, mint a holstein-fríz tehenek tejéből. A szerzők az eredményeiket annak tulajdonították, hogy a jersey tehenek átlagos laktációs száma magasabb volt, mint a holstein-fríz teheneknél megfigyelt átlagos laktációs szám, ami összefüggésben állhat a tőgybimbók károsodásával és a tőgy záróizmáinak csökkenő funkcionalitásával. TESSEMA (2016) szintén foglalkozott a fajta hatásának vizsgálatával a tanulmányában, és szignifikáns különbséget figyelt meg a *S. aureus* tejben való előfordulásában két fajta (keresztezett és helyi) között, ugyanakkor a *S. aureus* előfordulása nagyobb volt a keresztezett fajtákban az idősebb teheneknél. BYTYQI és mtsai. (2013) azonban nem figyelt meg különbséget a telepszámok között a különböző fajták nyerstejében, mely fajtákat különböző telepeken tartottak.

Vitatott a szerzők között, hogy a tej mikrobiológiai minősége változik-e a laktációk számával, illetve a laktáció különböző stádiumaiban. Vizsgálataik során TONA és mtsai. (2016) azt tapasztalták, hogy a vizsgált jersey tehenek laktációjának vége felé megnőtt a mikroorganizmusok telepszáma. A fejőgéppel történő fejés káros hatással lehet a tőgybimbóra, és baktériumokat juttathat a környezetből a tőgybe (HAMANN és mtsai., 1993). TESSEMA (2016) azonban tanulmányában arra a következtetésre jutott, hogy a laktáció különböző stádiumaiban nem volt szignifikáns különbség a *S. aureus* előfordulásában. A kutatásuk során viszont megállapították azt is, hogy különbség tapasztalható a *S. aureus* előfordulásában abból a szempontból, hogy a tehenek hányadik laktációban vannak. A California Mastitis Test-tel pozitív, kettőnél többször ellett tehenek tejében a *S. aureus* prevalenciája nagyobb volt. TENHAGEN és mtsai. (2006) szerint is emelkedik az állatok életkorával a *S. aureus* előfordulásának gyakorisága.

Kevés hazai, de több külföldi szerző vizsgálta már, hogy az évszakok során milyen változások történnek a nyerstej különböző fizikai, kémiai és mikrobiológiai tulajdonságaiban. CZISZTER és mtsai. (2012) Romániában vizsgálták az évszakok hatását a kóliform baktériumok telepszámára és azt tapasztalták, hogy a tavasszal gyűjtött tejmintákban volt a

legtöbb a kóliform baktériumok koncentrációja (0,9 tke/ml) a. A téli minták tartalmazták a legkevesebb kóliform baktériumot (0,75 tke/ml), ami összefüggésben állhat azzal a ténnyel, hogy a mezofilok növekedése 8 °C alatt gátolt. ZEINHOM és mtsai. (2016) az Egyiptomban lezajlott vizsgálataik során azt találták, hogy a nyári időszakban megnövekedett a mintákban a szomatikus sejtszám és a kórokozó mikroorganizmusok mennyisége. A szerzők szerint ez a hőstresszel függ össze. A hőstressz megnöveli a vízfogyasztást, a takarmányfogyasztás csökken, így a tej táplálkozási paraméterei megváltoznak, továbbá a tehenek kevesebb tejet termelnek, illetve tőgyproblémák is előfordulhatnak (BÉRI, 2011). BOURAOUI és mtsai. (2002) Tunéziában a nyár folyamán a tejsír- és fehérjetermés jelentős csökkenését, valamint a laktáló holstein-fríz tehenek tejében a szomatikus sejtszám jelentős növekedését figyelték meg a tavaszi minták eredményeivel összehasonlítva.

### **2.3. Az összcsíraszám jelentősége és a védekezés lehetőségei**

Az összes aerob mezofil mikroba szám a nyerstej higiéniai minőségének legfontosabb indikátora, ezért ennek meghatározása a leggyakoribb mikrobiológiai vizsgálatnak tekinthető (EL-HAMDANI és mtsai., 2016). Az, hogy a tej egy köbcentiméterében hány baktérium található, szoros összefüggésben áll a tej minőségével. Rossz minőségű, magas csíraszámú tejből nem lehet megfelelő minőségű tejterméket előállítani. A mikroorganizmusok többsége a környezetből kerül bele a tejbe, például a tőgyről, a tejbe belejutó porról, alomról, a tejjel közvetlen kapcsolatba kerülő eszközökről (pl. fejtőgépről, tejvezetékekből, tejtároló tartályokból, stb.), illetve a rovarok közvetítésével is belekerülhetnek, ugyanis például a legyek számos mikrobát hordozhatnak a testfelületükön. Fontos tehát a légyirtás, illetve azon módszerek használata, melyekkel csökkenthető annak lehetősége, hogy a rovarok közel kerüljenek a tejhez. A tejtermelés során akkor kaphatnak a tejtermelő gazdaságok alacsony összcsíraszámú tejet, ha igyekeznek a kontamináció lehetőségét minimalizálni, azaz ha a higiéniai előírásokat lelkiismeretesen betartják (CSÁSZÁR és UNGER, 2005). Alacsonyabb összcsíraszámú tej nyerhető a kötetlen tartásmódot és fejtőházi fejést alkalmazó gazdaságokban, mint a hagyományos, kötött tartásmódot használó gazdaságokban, ahol sajtáros, tankos, esetleg tejvezetékes fejési módot alkalmaznak. A gyakorlatban azonban elmondható, hogy bármely típusú tartásmód és fejésmód alkalmazása mellett alacsony csíraszám érhető el, amennyiben megfelelő higiénia, fejési és tejkezelési technológiát alkalmaznak (MERÉNYI és LENGYEL, 1996).

Ahogy a tej a tejmedencébe, illetve a bimbócsatornába jut, kontaminálódhat különböző, környezetből származó mikroorganizmussal. Az első tejsugarak baktériumtartalma ezért rendszerint magas. A fejés kezdetekor ezért az első tejsugarakat el kell szeparálni a továbbiakban termelt tejtől, majd azt meg kell semmisíteni. Fontos, hogy a fejés kezdetekor nyert tej minőségét ellenőrizzék, a benne előforduló esetleges elváltozásokat időben észleljék. A 3.-4. tejsugár kifejésekor már alacsonyabb baktériumtartalom jellemző, ilyenkor a tej már megfelelőbb higiéniai tulajdonságokkal rendelkezik (LACZAY, 2008).

A tőgybimbó bőrén is előfordulhatnak környezeti eredetű mikroorganizmusok, ezért szükség van a fejés megkezdése előtt tőgybimbófürösztésre. A fürösztés során alkalmazott szer megtisztítja a tőgybimbót a szennyeződésektől, elpusztítja a rajta lévő patogéneket, viszont nagyon fontos elvárás az alkalmazott szerrel szemben, hogy ne legyen irritáló hatása, továbbá ne kerüljön be a tejbe maradékanyag belőle. A fejést követően is ajánlott a tőgyet megtisztítani, fertőtleníteni, melyre azért van szükség, hogy a fejéskor tőgyre jutott mikrobákat elpusztítsa, dugót alakítson ki a tőgybimbóban, továbbá filmréteget hozzon létre a bimbó felületén. Ez utóbbira azért van szükség, hogy a két fejés között megóvja a tőgybimbót a mikrobáktól és egyéb szennyeződésektől (PÁSZTOR, 2002).

Jobb minőségű lesz a termelt tej, ha például tiszta és egészséges teheneket tart a gazdaság, tisztán tartják a fejési környezetet, vagy ha a fejő mellőzi a fejést, amennyiben fertőző betegségben (pl. hasmenésben) szenved. Érdeemes továbbá szappannal és tiszta vízzel kezelt mosni fejés előtt, a tőgyet meleg vízzel lemosni, majd száraz tiszta ruhával szárazra törölni, a nyerstej tárolását szolgáló tároló tartályokat pedig tisztán tartani. Ezen kívül a tőgygyulladásban szenvedő teheneket utoljára ajánlott fejni, az általa leadott tejet elkülönítve kell tárolni, a tőgyeket pedig antiszeptikus oldatban kell megmártani (DE SILVA és mtsai., 2016).

Az **1. táblázat** foglalja össze a nyerstej mikrobákkal való szennyeződésének lehetőségeit, illetve hogy honnan, milyen és mennyi mikroba kerülhet a tejbe. Ahogyan az **1. táblázat**ban is megfigyelhető, a legtöbb baktériumot ( $10^3$ - $10^6$  tke/ml) a fejőkészülék és a tejvezeték közvetítheti a nyerstejbe, illetve a szubklinikai tőgygyulladás is megemelheti a csíraszámot. Az egészséges tőgy alacsony számú (100-500 tke/ml) mikroorganizmust tartalmaz, melynek mennyiségét az istálló levegője is növelheti, de nagyságrendekkel kisebb mértékben, mint például a fejőkészülék és a tejvezetékek. A tőgybimbó bőrén  $10^2$ - $10^4$  tke/ml mennyiségű mikroorganizmus lehet jelen, melyek között *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* fajok, tejsavbaktériumok, kóliformok és patogének fordulhatnak elő.

**1. táblázat:** A nyerstej mikroorganizmusokkal való szennyeződésének lehetőségei  
(LACZAY, 2008)

Forrás	Csíraszám/ml	Jellemző mikrobák
Egészséges tőgy	100-500	<i>Micrococcus, Staphylococcus, Streptococcus,</i> tejsavbaktériumok
Szubklinikai mastitis	$10^4$ - $10^5$	<i>Staphylococcus, Streptococcus</i>
Tőgybimbó bőre	$10^2$ - $10^4$	<i>Micrococcus, Staphylococcus, Streptococcus,</i> tejsavbaktériumok, kóliformok, patogének
Istálló levegője	$10^2$	aerob spórák
Fejőkészülék, tejvezeték	$10^3$ - $10^6$	főként gram-negatív baktériumok ( <i>Pseudomonas,</i> enterobaktériumok)

#### 2.4. A szomatikus sejtszám jelentősége

A tehenek esetében a szomatikus sejtszám meghatározása igen hatékony módszer a szubklinikai mastitis felderítésében (OGOLA és mtsai., 2007), ilyenkor ugyanis az állaton, valamint annak tőgyén nincsenek betegségre utaló tünetek, viszont a szomatikus sejtszám jelentősen megnövekedik (LACZAY, 2008). A szomatikus sejtek lehetnek a tőgy belső részéről leváló hámsejtek, illetve fehérvérsejtek (CSÁSZÁR és UNGER, 2005). A nyerstejben előforduló szomatikus sejtek 70%-a a tőgyszövetből származik (BIRÓ, 2014). Az alveolusokból, tejutakból és a tejmedencéből hengerhámsejtek; a bimbócsatornából, valamint a tőgy bőréről köbhám- és laphámsejtek kerülhetnek a tejbe, a vérből pedig granulociták, limfociták és monociták (LACZAY, 2008). Egy egészséges tehéntől származó tej mindig tartalmaz szomatikus sejteket, melyeknek megnövekedett mennyisége azonban utalhat például arra, hogy a tehen szervezetében kóros folyamatok játszódnak le, illetve utalhat még a tőgygyulladás jelenlétére. A szomatikus sejtszám meghatározásával tehát képet kaphatunk a tőgy immunbiológiai állapotáról, illetve a tej higiéniai/mikrobiológiai minőségéről (BIRÓ és KATONA, 1983). A jó tőgyegészség elengedhetetlen feltétele a jó minőségű tej termelésének. A szomatikus sejtszám a világ összes tejtermelő országában széles körben elfogadott kritérium a tőgy egészségének és a tejminőségnek értékelésére (RYSANEK és mtsai., 2007). A tehéntejre vonatkozó minőségi követelményeket az 853/2004/EK rendelet tartalmaz, amelyben az áll, hogy a szomatikus sejtszám határértéke 400.000 sejt/ml.

## 2.5. A tőgygyulladás jelentősége

A tőgygyulladás során a tőgynegyedek gyulladása következik be különböző eredetű behatások (kórokozó mikroorganizmusok, fizikai behatások, kémiai behatások) eredményeképp (TÓTH és BAK, 2001). A tőgygyulladás a leggyakrabban a kórokozó baktériumok jelenléte miatt alakul ki, melyek a bimbócsatornán keresztül bejuthatnak a tőgybe. Itt elszaporodhatnak, mellyel az állatok megbetegíthetők, továbbá megnövelik a szomatikus sejtszámot (CSÁSZÁR és UNGER, 2005). A tőgygyulladásban megkülönböztetünk szubklinikai-, illetve klinikai tőgygyulladást. A kettő között az a különbség, hogy míg a szubklinikai tőgygyulladás esetén az állaton nem mutatkoznak a betegség jelei, a klinikai tőgygyulladás esetén az állat tőgyén a következő elváltozásokat lehet tapasztalni: megnövekedett hőmérséklet, a tőgy érzékeny, piros és duzzadt. A klinikai tőgygyulladásban szenvedő tehének tejében csomók tapasztalhatók (TÓTH és BAK, 2001). A klinikai tőgygyulladás esetén megkülönböztetünk túlheveny, heveny, félheveny és idült tőgygyulladást, aszerint, hogy az időbeli lefolyása hogyan alakul. A túlheveny tőgygyulladás akár már pár órán belül elpusztíthatja az állatot, mely az elhullás előtt endotoxinsok jeleit mutatja. A heveny és félheveny tőgygyulladás során az állaton látszódnak a gyulladás jelei, különösen a tőgy megérintésekor lehet érzékelni a gyulladást. Bizonyos esetekben a betegség jeleit csak az állat által leadott tejen lehet észrevenni. Enyhe tőgygyulladás esetén a tej hígabb és kazeinrögöket tartalmazhat, súlyosabb gyulladás alkalmával a tej elszíneződhet, véres és gennyes részek lehetnek benne, és az állaga is jelentősen megváltozhat. Az idült tőgygyulladásban szenvedő állatra a lecsökkenő tejtermelés jellemző, a tejmedencében pedig előfordulhatnak nagyobb kötőszövetes duzzanatok (LACZAY, 2008).

A tőgygyulladás kialakulását befolyásolhatja például a fejés módja, a tartástechnológia, a takarmányozás, a tehén egészségi állapota, illetve egyes küllemi tulajdonságai (CSÁSZÁR és UNGER, 2005). Például a laza, hosszan lecsüngő tőgy, illetve az átagostól eltérő vastagságú és hosszúságú tőgybimbók elősegíthetik (JÁVOR, 1999). A tőgygyulladást ezen felül kialakíthatja még különféle stresszhelyzet (magas környezeti hőmérséklet, magas nedvességtartalom, stb.), illetve a tőgybimbók sérülése (TÓTH és BAK, 2001), de a helytelenül végrehajtott gépi fejés (pl. vakfejés), valamint a higiéniai szabályok figyelmen kívül hagyása is tőgygyulladáshoz vezethet (JÁVOR, 1999). MERÉNYI és WÁGNER (1989) a tőgygyulladásra irányuló hatását vizsgálták, és arra a megállapításra jutottak, hogy a szomatikus sejtszám növekszik, ha az állatok alacsonyabb (15,5-16,5%) nyersrost tartalmú takarmánnyal táplálkoznak.

A mikroorganizmusok által okozott tőgygyulladást a leggyakrabban baktériumok okozzák, de előfordulhat vírusok, gombák által okozott tőgygyulladás is. Két csoportra lehet osztani a betegséget kialakító mikrobákat. Az egyik csoportot az állatról állatra kerülő kórokozók alkotják. Például amikor a fejökelyhet, fejögumit egymás után helyezi fel a fejő az állatokra, a patogének (pl. *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*) átkerülhetnek az egyik tehénről a másikra. A tőgygyulladást kialakító mikrobák másik csoportját pedig a környezeti kórokozók alkotják, melyek a szennyezett környezetből a tőgybe kerülhetnek. A felhajtóutakról, pihenőtérről a leggyakrabban *Streptococcus* fajok (pl. *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae*), az *E. coli* és a *Klebsiella* fajok kerülhetnek az állatra, a tőgybimbó bőréről *Enterococcus* és egyéb *Staphylococcus* fajok, a tőgykezeléskor használt eszközökről pedig tőgypatogén gombák (LACZAY, 2008).

Magyarországon a tejtermelő telepeken a *S. aureus* által okozott tőgygyulladás volt az egyik legjelentősebb tőgyegészségügyi probléma. Néhány éve a *S. aureus* még a leggyakoribb tőgypatogén mikrobának tekintették (KOVÁCS és mtsai., 2009), azonban KOVÁCS és mtsai. (2015) szerint 2013 után az ötödik leggyakoribb, megelőzi például a *Prototheca zopfii* alga. TENHAGEN és mtsai. (2006) Németországban végzett tanulmányában azt kapták, hogy a leggyakoribb tőgypatogén kórokozó a tehenekben a koaguláz-negatív *Staphylococcus* (KNS) volt (9,1% előfordulás), ezt követte a *Corynebacterium bovis* (7,3%), majd a *S. aureus* (5,7%). MPATSWENUMUGABO és mtsai. (2017) Ruandában végzett tanulmányában a leggyakoribb tőgygyulladást okozó patogének szintén a KNS-ok voltak (51,5%), ezt követte a *S. aureus* (20,6%), majd a *Streptococcus* nemzetség fajai (10,3%). Ellenben ZECCONI és mtsai. (2020) tanulmányában az olvasható, hogy a tejtermelő telepek 42%-ában mutatták ki a *S. aureus*-t, 11%-ában a *Prototheca* nemzetséget, 10%-ában a *Streptococcus agalactiae*-t, mint tőgygyulladást eredményező mikroorganizmust.

HOEKSTRA és mtsai. (2020) a tanulmányukban megállapították, hogy korlátozott számú *S. aureus* klonális komplex (CC) felelős a szarvasmarha-tőgygyulladásért Európában. A CC479 szorosan összefügg a klinikai tőgygyulladással. Bár vizsgálataik azt mutatják, hogy specifikus gének társulnak a tőgygyulladáshoz, ezeknek a géneknek a jelenléte a szubklinikai tőgygyulladáshoz társuló CC-ben azt jelzi, hogy valószínűleg a differenciális génexpresszió és nem a génhordozás befolyásolja az intramammális fertőzések klinikai megjelenését. A *S. aureus* fertőzésének típusa befolyásolja a klinikai eredményt a tejelő szarvasmarhák esetében. Elmondható tehát, hogy a *S. aureus* CC azonosítása segíthet megjósolni a klinikai tőgygyulladás előfordulásának valószínűségét a *S. aureus* intramammális fertőzést követően.

## 2.6. A kóliform baktériumok jelentősége

Körülbelül egy évszázada a kóliform baktériumokat indikátor mikroorganizmusként használják. Ezek a baktériumok gram-negatívak, aerob vagy fakultatív anaerobok, és nem termelnek spórákat. A laktózt 32-35 °C-on fermentálják, miközben savat és gázt termelnek (MARTIN és mtsai., 2016). Korábban négy nemzetséget tekintettek kóliform baktériumnak: az *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* és *Enterobacter* nemzetségeket (BERGEY és mtsai., 1939). Újabban viszont több, mint 20 baktérium nemzetség tartalmaz olyan törzseket, amelyek olyan fenotípusos jellemzőkkel rendelkeznek, amik alapján kóliform baktériumnak tekinthetők (IMHOFF, 2005).

Mivel általánosan jelen vannak a környezetben, az élelmiszerben való jelenlétük környezeti eredetű szennyeződésre utalhat. A kóliform baktériumok közé tartozik az *E. coli*, amely gyakran előfordul a nyers és feldolgozott tejben. Az *E. coli* megtalálható a legtöbb emlős faj bélrendszerében, így jelenléte friss fekális szennyeződésre utalhat. Az *E. coli* jelenléte jelezheti továbbá enteropatogén és/vagy toxigén mikrobák jelenlétét (ALTALHI és HASSAN, 2009; MHONE és mtsai., 2011).

## 2.7. A *Staphylococcus aureus* jelentősége és a védekezés lehetőségei

Jelenleg 53 érvényesen publikált faj és 24 alfaj különböztethető meg a *Staphylococcus* nemzetségen belül (DSMZ, 2020). Közülük a *S. aureus* az egyik leggyakoribb kórokozó, amely a nyerstej és tejtermékek fogyasztásával hozható összefüggésbe (AKINDOLIRE és mtsai., 2015). Mivel a *S. aureus* nem tekinthető jó versenytársnak a nyers élelmiszerekben természetesen előforduló mikroorganizmusokkal szemben, a szennyeződés és a baktériumok szaporodása elsősorban a hőkezelt vagy feldolgozott élelmiszerek nem megfelelő kezelésével vagy a baktériumok fejlődését és az enterotoxin-termelést elősegítő nem megfelelő hőmérsékleten történő tárolással függ össze (ARGUDÍN és mtsai., 2010).

A *S. aureus* ubikviter, az emberekben, állatokban és a környezetben (pl. talajban, vízben, növényeken) is előfordul. Fakultatív patogén, azaz a szervezetben többnyire ártalmatlan, azonban bizonyos körülmények között patogénné válhat. Többféle megbetegedést okozhat, pl. a már említett tüdőgyulladást a tejtermelő állatokban, ezen felül toxikus sokk szindrómát, illetve enterotoxin termelése révén élelmiszer-mérgezést is (DEÁK, 2006; VERRAES és mtsai., 2015). Ezekon felül okozhat még szőrtüszőgyulladást, mandulagyulladást, vérmérgezést, stb. A *S. aureus* nemzetség tagjai Gram-pozitívak, fakultatív anaerobok, gömb alakúak,

sejtsomókat képezhetnek. Ellenálló baktériumok, számos virulenciafaktorral rendelkeznek (DEÁK, 2006). A *S. aureus* szaporodása számára 6-48 °C közötti hőmérséklet megfelelő, a hőmérsékleti optimum 35-37 °C körül alakul. Az enterotoxin termeléshez 10-45 °C szükséges, a hőmérsékleti optimum pedig 35-40 °C körül alakul (LACZAY, 2008). Szaporodásukhoz négy-tíz közötti pH értékű környezet fennállása szükséges, az optimum hat-hét körül alakul. Enterotoxin termelésük pH optimuma hét-nyolc. A szaporodásukhoz, illetve az enterotoxin termelésükhöz az optimális vízaktivitás érték 0,98. A baktériumok akár 15%-os sótartalom esetén is képesek szaporodni (PAULIN és mtsai., 2011; KADARYIA és mtsai., 2014).

A *S. aureus* a tejtermelő tehenészetekben a klinikai és a szubklinikai mastitis egyik okozója (PETON és LOIR, 2014). Ez a betegség az emlőmirigyek gyulladását okozza és a *S. aureus* sejtek sporadikus ürítését a nyerstejbe. Élelmiszer-biztonsági szempontból a *S. aureus* egy enterotoxint termelő patogén mikroba, azonban csak legalább  $10^5$  tke/ml telepszámú baktérium tudna akkora mennyiségű enterotoxint termelni, hogy élelmiszer-mérgezést okozzon a fogyasztónál (HILL és mtsai., 2012). A *S. aureus* tejbe kerülése a klinikai vagy szubklinikai tőgygyulladásban szenvedő tehenek esetében közvetlenül is megtörténhet (primer infekció), de ez a baktérium a környezetből is bejuthat (szekunder kontamináció). Fertőzött tőgyből a *S. aureus* változó mennyiségben választódik ki a tejbe (ASPERGER és ZANGERL, 2003; SCHERRER és mtsai., 2004; JØRGENSEN és mtsai., 2005b; LACZAY, 2008). Terjedésében tehát nagy szerepe lehet a fejőházi környezetnek, a tejbe ugyanis innen is bekerülhet, például magáról a tőgyről, a vízből, illetve a fejés közben használt eszközökről (pl. gépekről, a fejő kezéről, tőgytörő ruháról, stb.) (BERGONIER és mtsai., 2003). Fontos a megelőzés, melybe beletartozik a megfelelő tartási és fejési technológia, a higiénia, a légyirtás, a tőgybimbó elő- és utófertőtlenítése, az egyszer használatos tőgytörő papírok használata, a laborvizsgálatok (CSÁSZÁR és UNGER, 2005). Folyamatos laboratóriumi vizsgálatok szükségesek ugyanis ahhoz, hogy még időben fényt derítsenek a tőgygyulladás jelenlétére és annak mikrobiológiai hátterére (KOVÁCS és mtsai., 2015). Ha a fejési technológiában a tőgyelőkészítést helytelenül kivitelezik, fennállhat a fertőzés veszélye. Ha például több tehennek is ugyanazzal a kendővel törlik át a tőgyét fejés előtt, átadhatják egymásnak a kórokozókat (TÓTH, 2015). A fejést megelőző tőgybimbó tisztításnak kétféle módszerét lehet elkülöníteni. Az egyfázisú előkészítés során a fejő fertőtlenítőszeres papírral törli át a tőgybimbókat, eltávolítja az első tejsugarakat, majd felhelyezi a fejőgépeket. A kétfázisú előkészítés során a tőgybimbókat először fertőtlenítőszerbe merítik körülbelül harminc másodpercig, majd ezt tiszta papírral vagy kendővel letörlik. Ezután következhet a fejőgépek felhelyezése. A fejést követően célszerű végrehajtani a tőgybimbó fűrésztést, mely során a teljes tőgybimbót be kell vonni csíraölő és

filmképző hatású, a tőgybimbó bőrét ápoló anyagokat tartalmazó szerrel. Gondoskodni kell továbbá a fejés után az eszközök és felületek alapos tisztításáról és fertőtlenítéséről. A fejéskor alkalmazott kehelygumik cseréjét érdemes elvégezni a fejőgépes cégek által meghatározott élettartam után, ugyanis bizonyos idő után csökkenhet a gumik rugalmassága, valamint a létrejövő mikrorepedésekbe szennyeződések kerülhetnek, melynek eltávolítására olykor a legjobb szerek sem képesek (MARKUS, 2016). Az egyszer használatos tőgytörlő papírok hasznosságát KOVÁCS és mtsai. (2015) megállapításai is alátámasztják, akik egy *S. aureus* mentesítési program során azt tapasztalták, hogy a korábban egyszer használatos papír kendőket alkalmazó tejelő tehenészetben a kimosható, szövet törlőkendőkre való áttérés a baktérium elterjedését eredményezte. A *S. aureus* az élelmiszerlánc későbbi szakaszaiban, a feldolgozó üzemekben is bejuthat az élelmiszerbe, pl. a dolgozók által, valamint az élelmiszerekkel érintkező felületeken keresztül (CHARLIER és mtsai., 2009; SPANU és mtsai., 2012). A tőgybimbók fejés előtti előkészítésekor a legalkalmasabb módszer az alacsony baktériumszám kialakításához az előzetes fertőtlenítőszerbe mártás. A tőgybimbók fertőtlenítésének leghatékonyabb módszere a jóváhagyott fertőtlenítőszerrel történő előzetes mártás, majd a bimbók egyszer használatos papírtörlővel történő szárítása. Ha csupán vízzel történik a tőgybimbó tisztítása, az megnövekedett mikrobaszámot von maga után. A tőgy és a bimbó felszínéről a baktériumokkal szennyezett víz bejuthat a bimbócsatorna belsejébe, és megnövelheti a tej baktériumos szennyeződését (GALTON és mtsai., 1982).

A *S. aureus* által okozott tőgygyulladás gazdasági jelentősége abban rejlik, hogy mivel a tőgygyulladás miatt csökken a megtermelt tej mennyisége, romlik a minősége (magasabb szomatikus sejtszám), csökken a tejárbevétel. A tejárbevétel amiatt is csökkenhet, hogy a fertőzött teheneket gyógykezelik, ezután pedig be kell tartani az élelmezés-egészségügyi várakozási időt. Ez okozza az elkülönített tejből származó veszteséget. A tőgygyulladás által okozott veszteség komponensei tehát a következők: tejtermelés-kiesés miatti veszteség, elkülönített tejből származó veszteség, gyógyszerköltség, idő előtti selejtezés költsége (ha a fertőzötteket kivonják az állományból). Egy szakirodalmi adat szerint a veszteség évente, tehenenként 20-70 eFt között változhat (ÓZSVÁRI, 2012).

Mivel az állatok gyógyítása igen sokba kerül, ajánlott inkább a betegség megelőzése, oly módon, hogy kizárnak minden betegséget előidéző tényezőt a termelésből. Hatékonyan lehet védekezni a tőgygyulladás ellen, ha a teheneket ellenőrzés alatt tartják, egészségi állapotukat folyamatosan követik, a fejést megfelelően hajtják végre, és a fertőzési láncot megszakítják. Elsőként érdemes inkább a tőgygyulladást kiváltó okot felderíteni, a gyógykezelést ajánlott inkább a legvégső esetben alkalmazni (JÁVOR, 1999; BÉRI, 2001). A *S. aureus* ellen a

legfontosabb védekezési módszer az állomány átvizsgálása, annak érdekében, hogy valamennyi fertőzött egyedet azonosítsanak. A gyanús, azonosított állatok kezelését és fejését elkülönítetten kell végrehajtani (KOVÁCS és mtsai., 2015).

A *S. aureus* nyerstejben való előfordulását már számos szerző (JØRGENSEN és mtsai., 2005a; PELES és mtsai., 2007b; ATEBA és mtsai., 2010; MHONE és mtsai., 2011; GWIDA és EL-GOHARY, 2013; CARFORA és mtsai., 2015; JAMALI és mtsai., 2015; ROLA és mtsai., 2016; TESSEMA, 2016; ASIIMWE és mtsai., 2017; PAPADOPOULOS és mtsai., 2019) vizsgálta (2. táblázat). Ahogyan a 2. táblázatban is megfigyelhető, a Dél-afrikai Köztársaságban a tanulmányban vizsgált nyerstej minták 100%-ában előfordult a baktérium. Ezzel szemben Olaszországban a *S. aureus* viszonylag alacsony nyerstejben való előfordulási arányáról (7,5%) számolnak be a szerzők. Magyarországon egy 2007-ben készült tanulmányban (PELES és mtsai., 2007b) a vizsgált nyerstej minták 55%-a tartalmazott *S. aureust*.

**2. táblázat:** A *Staphylococcus aureus* előfordulása nyerstej mintákon

<b>Ország</b>	<b>Vizsgált minták száma (db)</b>	<b><i>Staphylococcus aureus</i> előfordulása (%)</b>	<b>Évszám</b>	<b>Forrás</b>
<b>Dél-afrikai Köztársaság</b>	28	100	2010	ATEBA és mtsai., 2010
<b>Egyiptom</b>	250	41,2	2013	GWIDA és EL-GOHARY, 2013
<b>Etiópia</b>	140	32,1	2016	TESSEMA, 2016
<b>Görögország</b>	42	40,5	2019	PAPADOPOULOS és mtsai., 2019
<b>Lengyelország</b>	26	46,2	2016	ROLA és mtsai., 2016
<b>Magyarország</b>	80	55	2007	PELES és mtsai., 2007b
<b>Irán</b>	1930	12,4	2015	JAMALI és mtsai., 2015
<b>Norvégia</b>	220	75	2005	JØRGENSEN és mtsai., 2005a
<b>Olaszország</b>	428	7,5	2015	CARFORA és mtsai., 2015
<b>Uganda</b>	148	20,3	2017	ASIIMWE és mtsai., 2017
<b>Zimbabwe</b>	120	75,8	2011	MHONE és mtsai., 2011

### 2.7.1. A *Staphylococcus aureus* virulencia faktorai

A *S. aureus* az egyik leggyakoribb, nyerstej és tejtermékek fogyasztásával összefüggő kórokozó. Az élelmiszerek szennyeződése köszönhető például a gyártási folyamatok nem megfelelő higiéniai körülményeinek, de a szennyeződés bekövetkezhet az élelmiszerek tárolása során is (AKINDOLIRE és mtsai., 2015). Mivel a *S. aureus* nem bizonyul túl jó versenyzőnek a nyers élelmiszerekben természetesen előforduló mikroorganizmusokkal szemben, a szennyeződés főként a hőkezelt vagy feldolgozott élelmiszerek nem megfelelő kezelésével hozható kapcsolatba, valamint a nem megfelelő hőmérsékleten történő tárolással, amely kedvez a baktérium fejlődésének és az enterotoxin termelésének (ARGUDÍN és mtsai., 2010). A *S. aureus* izolátumok többféle virulencia faktort termelhetnek. Ezek a faktorok különböző módon járulnak hozzá a patogenitásukhoz. A különböző *S. aureus* populáción belüli genetikai változatosság ismerete segíthet a tejelő állatoknál előforduló tőgygyulladás elleni hatékony kezelések megtervezésében (OTE és mtsai., 2011). A *S. aureus* által termelt virulencia faktorokat három csoportba lehet elkülöníteni: az első csoportba a sejtfelszíni kötött faktorokat lehet sorolni (protein A, clumping faktor), a második csoportba az extracelluláris enzimek tartoznak (koaguláz, kataláz, lipáz, hőstabil nukleáz, hialuronidáz, proteáz, fibrinolizin). A harmadik csoportot pedig a szekretált toxinok és szuperantigének képezik (hemolizinek, leukocidinek, enterotoxinok, TSST-1, stb.) (KONEMAN és mtsai., 1997; PÁL, 2013).

A *S. aureus*ra jellemző a protein A, illetve egy sejthez kötött koaguláz, a clumping faktor (VAN GRIETHUYSEN és mtsai., 2001). A protein A kódoló gén (*spa*) polimorf X régiójának szekvenálása és elemzése (*spa* tipizálás) a *S. aureus* izolátumok megkülönböztetésének kiváló módszerét jelenti, ha a különböző izolátumok rokonságának meghatározása a cél (KOREEN és mtsai., 2004). A különböző szakirodalomban különböző mértékben okoznak szubklinikai, illetve klinikai tőgygyulladást a különböző *spa* típusú *S. aureus* izolátumok. Összességében azonban elmondható, hogy több szakirodalomban is a t267 *spa* típusú *S. aureus* az, amelyet gyakran izolálnak tőgygyulladásban szenvedő állat (pl. tehén, juh) tejéből (JOHLER és mtsai., 2011; MERZ és mtsai., 2016). LI és mtsai. (2017) tőgygyulladásos tehenekből izoláltak 212 *S. aureus* törzset Kínában. A vizsgálataik alapján a leggyakoribb *spa* típus a t267 volt (40/212; 18,9%), melyet a t9303 (28/212; 13,2%) követett, a t359 *spa* típus pedig a harmadik leggyakoribb (23/212; 10,8%). A 212-ből csak 3 törzs volt t693 *spa* típusú és 1 törzs volt t164 *spa* típusú. KOTZAMANIDIS és mtsai. (2021) Görögországban végzett kísérletében a t267 és a t693 *spa* típusú *S. aureus*-t szarvasmarha és kecske tőgygyulladásos esetekből nem lehetett kimutatni, azonban juhokban a 63 szubklinikai tőgygyulladásos esetből 1-1 esetben ki lehetett

mutatni. A t359 *spa* típusú *S. aureus*-t szintén csak juhoknál, a 34-ből 1 klinikai tőgygyulladásos esetben mutattak ki.

A clumping faktor a fibrinogént fibrinné alakítja és a sejtek agglutinációját, összecsapódását okozza. A protein A és a clumping faktor jelenlétének a kimutatása alkalmas arra, hogy a *S. aureus* megkülönböztessük a többi *Staphylococcus* fajtól (VAN GRIETHUYSEN és mtsai., 2001). A koaguláz-pozitív *Staphylococcus*ok azonosítására a hagyományos, MSZ EN ISO 6888-1 (2008) szabványban leírt módszert, a koaguláz tesztet alkalmazzák, mely során a szabad koaguláz enzim jelenléte kerül kimutatásra. A koaguláz teszt kivitelezése sok időt vesz igénybe (4-24 óra), azonban a mikrobiológiai laboratóriumoknak több esetben szükség van arra, hogy gyors és lehetőleg minél pontosabb eredményeket kapjanak. Ezért fejlesztették ki az alig pár percet igénybe vevő, protein A és clumping faktor kimutatásán alapuló latex agglutinációs teszt kisset, ami hatékony módszert jelent a *S. aureus* megkülönböztetésére a többi *Staphylococcus* fajtól (VAN GRIETHUYSEN és mtsai., 2001). VAN GRIETHUYSEN és mtsai. (2001) vizsgálták több gyártótól vásárolt latex agglutinációs kit specificitását, és statisztikailag jelentős különbséget találtak a kitek között.

Az extracelluláris enzimek közül a kataláz enzim hatékony a baktériumokra káros hatású hidrogén-peroxiddal szemben, ugyanis képes inaktíválni azt. A koaguláz enzim a fibrinogén-fibrin átalakulás által a vérplazmát megalvasztja. A koaguláz enzim jelenlétének vizsgálatával (koaguláz-reakció vagy koaguláz-próba) lehet elkülöníteni a koaguláz-pozitív *Staphylococcus*okat a többi *Staphylococcus* fajtól. Koaguláz-negatív *Staphylococcus*oknak nevezték el a koaguláz enzimet nem termelő fajokat. A többi extracelluláris enzimnek pedig a baktérium szöveti terjedésében van szerepe (KONEMAN és mtsai., 1997; PÁL, 2013).

A *S. aureus* törzsek extracelluláris hőstabil nukleázt [termonukleáz (TNáz)] termelnek, hasonló gyakorisággal, mint amellyel koagulázt termelnek (MADISON és BASELSKI, 1983). A TNáz egy 17.000 Da molekulatömegű fehérje (TUCKER és mtsai., 1978). Ez egy DNS-t és RNS-t lebontani képes endonukleáz enzim. Az enzimatis aktivitása legalább egy órán át ellenáll a 100 °C hőkezelésnek (LACHICA és mtsai., 1972). A TNáz termelésére szolgáló enzimatis vizsgálatot számos laboratóriumban alkalmazzák a *S. aureus* izolátumok azonosítására (BRAKSTAD és mtsai., 1992).

A *Staphylococcus*ok által termelt  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - és  $\delta$ -hemolizinek sejtmembránt károsító citotoxikus fehérjék (VANN és PROCTOR, 1988); állati eredetű vörösvérsejtet feloldó hatással bírnak. Az  $\alpha$ -hemolizin a juh és a nyúl vörösvérsejtjeit, a  $\beta$ -hemolizin a szarvasmarha és a juh vörösvérsejtjeit oldja. Az  $\alpha$ -hemolizin ezen kívül szövetkárosító hatású, a  $\beta$ -hemolizin citotoxikus hatással bír a leukocitákkal és makrofágokkal szemben. A két komponensű  $\gamma$ -

hemolizin is oldja több állatfaj vörösvérsejtjét, a  $\delta$ -hemolizin pedig a sejtek membránját károsítja (MEDVECZKY és mtsai., 1999). A Panton Valentine leukocidin (PVL) nevű erős leukotoxinnak a nekrotizáló bőrfertőzések létrehozásában, illetve a tüdő fertőzéseinek létrehozásában van szerepe (SCHLIEVERT és mtsai., 2010). Az exfoliatív toxin felelős a főleg csecsemőket érintő ún. leforrázott bőr szindrómáért. Ezt a betegséget a külső, felületi bőrrétegek leválása jellemzi, illetve előfordulhat még dehidratáció és egyéb másodlagos fertőzés. Az exfoliatív toxinok szubsztrát specifikus szerin-proteázok. Felismerik és hidrolizálják a bőrben a dezmoszómális kadherineket. A betegség korai tünetei a következők: láz, rosszullet, levertség, szerény táplálkozás. Ezek után erythemás kiütések és nagy, folyadékkal teli hólyagok jelennek meg. A hólyagok mechanikai behatás hatására szakadnak ki, majd a test érintett részeit védőréteg nélkül hagyják. A betegség kezelésekor antibiotikum alkalmazása, a testhőmérséklet fenntartása illetve a felrepedt bőr védelme ajánlott a másodlagos fertőzések elkerülése érdekében (BUKOWSKI és mtsai., 2010).

#### 2.7.2. A *Staphylococcus aureus* által termelt enterotoxinok

A *S. aureus* többféle enterotoxint (SE) (SEA, SEB, SEC<sub>1-2-3</sub>, SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SEK, SER, SES, SET) termelhet, valamint számos *Staphylococcus* enterotoxin-szerű (SEI) proteint (SEIJ, SEIL, SEIM, SEIN, SEIO, SEIP, SEIQ, SEIU, SEIU<sub>2</sub>, SEIV) is (ARGUDÍN és mtsai., 2010; HENNEKINNE és mtsai., 2010). Mivel ezek a toxinok a sejtől választódnak ki, az exotoxinokhoz sorolandók, de mivel a gasztrointesztinális traktusban fejtik ki hatásukat, ezért enterotoxinoknak nevezzük őket (EL-SAID és mtsai., 2013). Az SE-ok jelenlegi nomenklatúrája az „SE” nevet használja, amelyet ábécés karakterek követnek az enterotoxinok felfedezésének sorrendjében. Az első öt SE-t (SEA-SEE) klasszikus enterotoxinoknak nevezzük. Az új SE/SEI-ek jelentős szerkezeti, biológiai és funkcionális hasonlóságot mutatnak a klasszikus enterotoxinokkal, azzal a különbséggel, hogy vagy nincs meg az SE-okra jellemző emetikus aktivitás, vagy ennek meghatározásához további vizsgálatok szükségesek (LINA és mtsai., 2004; BENKERROUM, 2018). A SE-okat kódoló géneket (*se*-ket) mobilis genetikai elemek hordozzák, például fágok, plazmidok és patogenitási szigetek. A *Staphylococcus* enterotoxin gén klaszterek (egk) patogenitási sziget-eredetű struktúrák. Ugyancsak *se* géneket hordoznak, s gyakorta megtalálhatók a klinikai *S. aureus* izolátumok között (VIÇOSA és mtsai., 2010). Az enterotoxinokat kódoló gének (*sea-selu*) előfordulását a *S. aureus* izolátumok között már több szerző (MORANDI és mtsai., 2007; PELES és mtsai., 2007b; CHIANG és mtsai., 2008; RŮŽIČKOVÁ és mtsai., 2008; WANG és mtsai., 2009; OTE és mtsai., 2011;

SONG és mtsai., 2015) is vizsgálta (1. melléklet). Ahogyan az 1. mellékletben is megfigyelhető, a *S. aureus* izolátumok változatos arányban rendelkeznek enterotoxint kódoló génekkel. A *see* gént a szakirodalomban vizsgált törzsek közül egyik sem tartalmazott. A *seg*, *sei* és *sej* gének viszont a legtöbb szakirodalomban magas arányban fordultak elő a vizsgált törzsekben.

Az enterotoxinokat termelő törzsek élelmiszermérgezést képesek okozni. Az élelmiszermérgezést leggyakrabban a klasszikus enterotoxinok, a SEA és a SEB okozzák, az új SE/SEI-ek közül pedig a SEH (ARGUDÍN és mtsai., 2010; HNASKO és mtsai., 2019). A SE-ok száma évről évre növekedni látszik, ahogy egyre több típust fedeznek fel. 2003-ban csak 14 különböző SE-t azonosítottak (LOIR és mtsai., 2003); 2010-ben 21 SE-t jelentettek, a SEA-tól a SEIV-ig (HENNEKINNE és mtsai., 2010); 2011-ben pedig 22-t (HENNEKINNE és mtsai., 2011). BENKERROUM (2018) szerint jelenleg több mint 23 SE és *Staphylococcus* enterotoxin-szerű fehérje (SEI) különböztethető meg.

Az enterotoxinok és az enterotoxin-szerű proteinek globuláris, egyedülálló polipeptidek. Molekulatömegük 22.614 és 28.565 Da között mozognak (HENNEKINNE és mtsai., 2010; SCHELIN és mtsai., 2011). Ezek a toxinok biológiai veszélyt jelentenek, ugyanis hőrezisztensek, stabilak maradnak 100 °C-on, egy óráig (EL-SAID és mtsai., 2013). A *Staphylococcus* enterotoxinok továbbá rezisztensek egyes környezeti körülményekre is, pl. fagyasztásra, szárításra, továbbá rezisztensek proteolitikus enzimekre, pl. pepszinre, tripszinre, valamint az alacsony pH-ra is. Ezek képessé teszik őket, hogy funkciójukat a gasztrointesztinális környezetben is megtartsák. A *Staphylococcus*ok által okozott élelmiszermérgezés mechanizmusa egyelőre nem ismert teljesen, de eddig úgy tudják, hogy a toxinok közvetlenül a bélhámsejtekre vannak hatással (KADARYIA és mtsai., 2014).

A tünetek az elfogyasztás után 0,5-8 órával jelentkeznek, először émelygés formájában, majd hányás, hasmenés, szédülés és hidegrázás következik. A tünetek azonban 24–48 óra elteltével specifikus kezelés nélkül megszűnnek (HENNEKINNE és mtsai., 2011). Hús-száz ng SE egy gramm ételben ételmérgezést okozhat (BANG és mtsai., 2008; SCHELIN és mtsai., 2011). Az élelmiszer által okozott SE-mérgezéseket két okból kifolyólag alul diagnosztizálják. Egyrészt azért, mert csupán a hányás tünete nem teszi indokolttá az orvosi látogatásokat és a hivatalos regisztrációt. Másrészt az SE-ok kimutatása még mindig hiányos: a rutin immunválasz-tesztek csak az SE-ok egy részhalmazára (SEA-SEE) állnak rendelkezésre (DERZELLE és mtsai., 2009; NIA és mtsai., 2016).

Súlyos lehet a megbetegedés viszont a csecsemők, idősek vagy az immunszuppresszált betegek számára. Antibiotikus kezelés nem használatos. A *Staphylococcus* okozta

megbetegedés meggyőző diagnosztikai kritériuma a SE-ok kimutatásán, vagy legalább  $10^5$  tke/g baktérium élelmiszermaradékból való kimutatásán alapul (ARGUDÍN és mtsai., 2010; KADARIYA és mtsai., 2014). A *S. aureus* által okozott élelmiszer-mérgezés a leggyakrabban nyerstej, illetve a nyerstejből készült tejtermékek (pl. nyerstejből készült sajtok), sózással, füstöléssel készült húskészítmények, és a disznósajt elfogyasztásával alakul ki (LACZAY, 2008).

2015-ben 16 Európai Unió tagállam jelentett 434 *Staphylococcus* toxin által okozott, élelmiszer eredetű tömeges megbetegedést. Ennek jelentős részét Franciaország jelentette (EFSA, 2016). Ebben az évben beszámoltak egy olaszországi étteremben kitört tömeges megbetegedésről is, ahol 24 vendég betegedett meg a helytelenül kezelt és tárolt élelmiszer (Chantilly krémdesszert) fertőződése miatt. A desszertből izolált koaguláz-pozitív *Staphylococcus* törzsekben *sea* gén jelenlétét detektálták (ERCOLI és mtsai., 2017). A SEB katonai felhasználásáról is ismert, ugyanis könnyen aeroszolizálható; sokkot és halált okozhat, ha nagy dózisban belélegzik (CRODDY és mtsai., 2002; NIA és mtsai., 2016). A SEC izoelektromos pontjaik alapján C1, C2 és C3 alcsoportokra osztható. Ezenkívül más, szarvasmarha- és juhfélékhez köthető variánsokat is leírtak már (MARR és mtsai., 1993; ROSEC és GIGAUD, 2002). UMEDA és mtsai. (2017) szerint az új típusú SE-ok és SEI-ok is lehetséges okozói lehetnek élelmiszer eredetű megbetegedéseknek. Egy 2016-ban kitört tömeges megbetegedés okainak elemzéséből kiderült, hogy azon *S. aureus* izolátumok, amelyek a *seg*, *sei*, *sem*, *sen*, *seo* és *selu* géneket hordozták anélkül, hogy klasszikus *se* géneket hordoztak volna, ételmérgezést okoztak. Érdeemes ezért nemcsak a klasszikus SE-okat, hanem az új típusú SE-okat és SEI-okat is vizsgálni. 2016-ban kilenc tagállam (Horvátország, Cseh Köztársaság, Magyarország, Olaszország, Portugália, Románia, Szlovákia, Szlovénia és Spanyolország) szolgáltatott adatokat a SE-ok tejben és tejtermékekben való előfordulásáról. Összesen 2061 mintát (tétel mintát és egyedi mintát) elemeztek, melyek közül hét minta (lány, féllány és kemény sajtokból egy tétel minta és hat egyedi minta) bizonyult pozitívnak, három tagállamban (Olaszország, Szlovákia és Spanyolország) (EFSA, 2017). 2018-ban összesen 114 SE által okozott tömeges megbetegedést jelentettek az Európai Unióban, s ezek közül 37 kitörést erősítettek meg. Az összesen 1124 megbetegedés egyike sem vezetett halálhoz (EFSA, 2019).

A *Staphylococcus* okozta megbetegedés megelőzése érdekében a fogyasztók otthon a konyhában is tehetnek; az alapos sütés-főzéssel ugyanis számuk csökken. A termékekben megelőzhetőek a *Staphylococcus*ok elszaporodása az élelmiszerek megfelelő kezelésével és

feldolgozásával, továbbá az eszközök megfelelő tisztítása és fertőtlenítése is szükséges az élelmiszerek feldolgozásakor (KADARIYA és mtsai., 2014).

### 2.7.3. A *Staphylococcus aureus* antibiotikum érzékenysége

Az antibiotikumok használatának szerepe az, hogy a kórokozó mikroorganizmusokat elpusztítsa, a fertőzés gócéban, vagy a hordozás helyén. Fontos annak betartása, hogy a fertőzött szervezet a megfelelő mennyiségben és a megfelelő ideig kapja az antibiotikumot, ugyanis ezzel megelőzhető a rezisztencia kialakulása. Problémát jelent az egyre több antibiotikummal szemben ellenálló, rezisztens baktérium megjelenése és terjedése. Az USA-ban például a meticillin-rezisztens *S. aureus* (MRSA) csupán néhány antibiotikumra érzékeny (BARCS, 2009). Antibiotikum rezisztens mikroorganizmusokat potenciálisan tartalmazó élelmiszerek (pl. tej), ideális eszközök az antibiotikum rezisztens törzsek szervezetbe juttatásához (ANGULO és mtsai., 2004). Az antibiotikum rezisztencia világszerte egy fontos egészségügyi probléma (CARMELI és mtsai., 1999; COSGROVE, 2006). A *S. aureus* képes alkalmazkodni környezeti körülmények széles skálájához, és képes arra, hogy gyorsan rezisztenssé váljon az antibiotikumokra (MCCALLUM és mtsai., 2010). A *S. aureus* többféle rezisztencia mechanizmust fejlesztett ki. Ezek között szerepel az anyag befogása, az antibiotikum célpontjának megváltoztatása, az antibiotikum enzimatis inaktiválása, illetve a transzmembrán szivattyúk aktiválása, melyek kivédik az antimikrobiális anyagok támadását (PANTOSTI és mtsai., 2007). Az MRSA-t először 1961-ben írták le, röviddel a meticillin antibiotikumként történő alkalmazásának megkezdését követően (JEVONS, 1961). A meticillin rezisztencia a *mecA* génnek köszönhető, ami a béta-laktám antibiotikumokkal szemben alacsony affinitást mutató, módosított penicillin-kötő fehérje (PBP2A vagy PBP2') termelődését kódolja. A *mecA* gént egy nagy mobil genetikai elem, a *Staphylococcus* kromoszómális kazetta *mec* (SCC*mec*) hordozza, mely a *mec* gén komplexet és a *ccr* gén komplexet tartalmazza. Ez utóbbi kódolja az SCC*mec* mobilitásáért felelős helyspecifikus rekombinázoikat (KWON és mtsai., 2006).

Korábbi tanulmányok szerint a tehéntejből származó izolátumok között az MRSA előfordulása csekély. Egy Michigan-ben végzett vizsgálatban 846 *S. aureus* izolátum 0,6%-a volt MRSA (ERSKINE és mtsai., 2002). Egy 2006-ban végzett vizsgálatban (PELES és mtsai., 2007b) 20 tejtermelő telepről vett nyerstej mintákból nem volt izolálható MRSA. AHANGARI és mtsai. (2017) is alacsony MRSA előfordulásról számoltak be. Hetvenöt izolátumból csupán

egy bizonyult MRSA-nak. DAN és mtsai. (2019) Kínában végzett vizsgálatának eredményeképp viszont azt tapasztalták, hogy 98 *S. aureus* törzsből 16 (16.3%) volt MRSA.

VISCIANO és mtsai. (2014) szerint hatékony módszer a tőgygyulladás szabályozására a fejési higiénia fejlesztése, illetve antimikrobiális szerek alkalmazása. A *Staphylococcusok* azonban rezisztenciát mutatnak egyes antibiotikumra, amelynek azonban két hátránya van. Az egyik az, hogy az ilyen kezelések után a gyógyulási arányok csökkennek, a másik pedig az, hogy a rezisztens baktériumok az élelmiszerláncon keresztül a fogyasztókhoz is eljuthatnak.

TÓTH és mtsai. (2020) vizsgálták az antibiotikum rezisztencia gének előfordulását a nyerstej metagenomjában. A vizsgálatokhoz nyerstej mintákat vettek. Az A minta egy nagyüzemi (250 tehénél többet tartó), a B minta egy kisüzemi (50 tehénél kevesebbet tartó) tejtermelő telepről származott. A vizsgálatok alapján kiderült, hogy a két minta különbözött mind a mikrobióta összetételében, mind az antibiotikum rezisztencia gének előfordulásában. Az A mintában a Gram-pozitív baktériumok domináltak. Ezen túlmenően az antibiotikum rezisztencia géneket hordozó mikroorganizmusok többségét taxonómiaiilag a Gram-pozitív baktériumok közé sorolták. A B mintában a Gram-negatív baktériumok voltak többségben. A szerzők szerint a B minta alacsonyabb antibiotikum rezisztencia gén tartalma a Gram-pozitív baktériumok alacsonyabb arányából származhatott. Az antibiotikum rezisztencia gének A és B minta közötti különbségének egyik lehetséges oka abból eredhet, hogy az egészségügyi problémák (pl. tőgygyulladás) viszonylag gyakoribbak a nagyüzemi tejtermelő telepeken. Mivel az antibiotikumok használata az állatorvosi gyakorlatban - az emberi orvosláshoz képest - megengedőbb a bakteriális fertőzések kezelésében, szelektív nyomást gyakorol az állomány baktériumaira, ami növelheti az antibiotikum rezisztencia gének gyakoriságát és sokféleségét. Eredményeik tehát azt mutatják, hogy az antibiotikum rezisztencia gének valóban jelen lehetnek a nyerstejben (TÓTH és mtsai., 2020).

Számos tanulmány (GÜNDOGAN és mtsai., 2006; PELES és mtsai., 2007a; PELES és mtsai., 2007b; ANDRÉ és mtsai., 2008; PEREIRA és mtsai., 2009; ABERA és mtsai., 2010; ROSENGREN és mtsai., 2010; THAKER és mtsai., 2013; ABO-SHAMA, 2014; VISCIANO és mtsai., 2014; ANUEYIAGU és ISIYAKU, 2015; JAMALI és mtsai., 2015; FENG és mtsai., 2016; MEHLI és mtsai., 2017) született már különböző tejelő állatok tejből, illetve tejtermékekből izolált *S. aureus* törzsek antibiotikum rezisztenciájának vizsgálatáról. A **2. melléklet** tartalmazza a *S. aureus* bizonyos antibiotikumokkal szembeni érzékenységét, amelyet a szerzők a vizsgálataik során a tejből és tejtermékekből izolált törzsek esetében vizsgáltak. A **2. mellékletben** megfigyelhető, hogy a különböző tanulmányokban az izolátumok antibiotikum érzékenysége eltérően alakul. Például, JAMALI és mtsai. (2015) azt kapták a

vizsgálataik során, hogy a cefoxitinre a vizsgált izolátumok 4,9%-a rezisztens, míg ABO-SHAMA (2014) azt tapasztalta, hogy valamennyi izolátum érzékeny volt az antibiotikumra. Azonban, míg a vizsgált törzsek 20,5%-a volt rezisztens eritromicinre, addig JAMALI és mtsai. (2015) tanulmányában csak a törzsek 6,2%-a.

### 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

#### 3.1. A vizsgálatba bevont tehenészetek főbb adatai

A mikrobiológiai vizsgálatok céljából a kutatásba hét Hajdú-Bihar megyében található tejtermelő telepet (T1–T7) vontunk be. A telepek fontosabb adatait (3. táblázat) személyes felkeresés során gyűjtöttük össze. A telepek pontos azonosítását elősegítő információk (pl. név, kód, stb.) nem kerültek publikálásra, eleget téve a telepek kérésének. A telepek kiválasztása során törekedtünk arra, hogy a magyarországi viszonyokat hűen tükröző telepeket válasszunk ki.

**3. táblázat:** A vizsgálatba bevont Hajdú-Bihar megyei tejtermelő telepek fontosabb adatai

Telep	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
<b>Átlagos tehenlétszám [db]</b>	2000	110	400	550	850	622	200
<b>Tartott fajta</b>	holstein-fríz, magyar tarka	holstein-fríz	holstein-fríz	holstein-fríz	holstein-fríz, jersey	holstein-fríz	magyar tarka
<b>Tartás-mód</b>	mély-almos	mély-almos	mély-almos	mély-almos	pihenő-box	pihenőbox	mély-almos
<b>Fejési mód</b>	karusszel	halszálkás fejőállás	halszálkás fejőállás	karusszel	karusszel	párhuzamos fejőállás	halszálkás fejőállás
<b>Tőgyelőkészítés</b>	bemártás, papírtörölő	bemártás, papírtörölő	bemártás, papírtörölő	bemártás, papírtörölő	bemártás, papírtörölő	vízzel mosás	bemártás, papírtörölő
<b>Előfertőtlenítés</b>	van	van	van	van	van	nincs	van
<b>Utófertőtlenítés</b>	van	van	van	nincs	van	van	van
<b>Elegytej minták számra (db)</b>	22	23	38	27	11	4	1
<b>Egyedi tejminták száma (db)</b>	-	-	-	62	63	-	-

A T2, T3, T4, T6 telepeken holstein-fríz fajtát, a T7 telepen magyar tarkát, a T1 telepen a holstein-fríz mellett magyar tarkát, a T5 telepen pedig a holstein-fríz mellett jersey fajtát fejnek. A T5 és T6 telepen pihenőboxos, a többi telepen pedig mélyalmos tartásmód jellemző. Valamennyi telepen fejőházi fejest alkalmaznak. A T6 telepen vízzel történik a tőgyelőkészítés, a többi telepen pedig a tőgyet fejes előtt fertőtlenítőszerbe mártják, majd papírtörölővel szárazra törlik. Utófertőtlenítést a T4 telepen kívül valamennyi telepen végeznek.

### **3.2. A vizsgált minták, a mintavétel, a mintaelőkészítés, adatgyűjtés**

#### **Elegy és egyedi tejminták vételének módszere és a mintaelőkészítés:**

Az elegytej mintákat 50 cm<sup>3</sup> űrtartalmú, steril, visszazárható mintavételi edénybe gyűjtöttük steril körülmények között a fejest követően, a tejtároló tartályokból, a tej alapos keverése után. A tejmintákat a mikrobiológiai laboratóriumba szállítását követően hűtőszekrényben tároltuk (4 °C-on) a vizsgálat megkezdéséig, majd rázogatóval homogénizáltuk a decimális hígítások elkészítése előtt. A hét tejtermelő gazdaságból összesen 126 elegytej minta vételére került sor ( $n_{T1}=22$ ,  $n_{T2}=23$ ,  $n_{T3}=38$ ,  $n_{T4}=27$ ,  $n_{T5}=11$ ,  $n_{T6}=4$ ,  $n_{T7}=1$ ).

A T4 telep esetén, ahol holstein-fríz fajtájú egyedeket fejnek, illetve a T5 telep esetén, ahol holstein-fríz és jersey fajta szarvasmarhákat is fejnek, egyedi tejmintákat is vettünk. A mintavételt megelőzően a tőgybimbókat tőgyfertőtlenítő oldatba mártottuk, majd tiszta, száraz törőpapírral letöröltük. A mintavétel során 50 cm<sup>3</sup> űrtartalmú, steril, visszazárható mintavételi edénybe gyűjtöttük az előzetesen kiválasztott, klinikai tőgygyulladás tüneteit nem mutató egyedek tejét, miután a magas mikroba számmal rendelkező első tejsugarakat kifejtük.

A törzsoldatot és a decimális hígítási sort az MSZ EN ISO 6887-1 (2017) szabvány előírásai szerint készítettük elő. A tejmintákat a decimális hígítási sor elkészítése előtt homogénizáltuk. A decimális hígítási sorhoz steril peptonvizet használtunk, melynek készítése során 1000 ml hígítófolyadékhoz 8,5 g nátrium-kloridot (VWR International Kft., Magyarország) és 1,0 g peptont (Merck Kft., Magyarország) összekevertünk 1000 ml desztillált vízben.

#### **Adatgyűjtés és egyedi tejminták vétele a T5 telepen:**

Az Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. által havonta vett tejminták vizsgálati eredményeiből, az úgynevezett a befejesi eredményekből származtak a T5 telep egyedeinek napi tejmenyiségére, tejük zsír- és fehérjetartalmára, szomatikus sejtszámára vonatkozó

adatok. A zsír- és fehérjetartalmat Fourier transzformációs elven működő közép infravörös tartományban dolgozó spektrofotométerekkel, Bentley FTS FTIR műszerekkel mérték. A szomatikus sejtszám adatokat pedig áramlásos citometria elven határozták meg Bentley FCM műszerekkel az Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft.-ben. A számításokba 30 első laktációs holstein-fríz és jersey egyed 2017. szeptember és 2020. január között keletkezett adatait vontuk be. A számítások során összegeztük az ezen időintervallum alatt a két fajta egyedeire vonatkozó, valamint az egyedek laktációjának korai stádiuma (100 nap alatt; n=135) során keletkezett, közép stádiuma (100-200 nap; n=121) során keletkezett és a késői stádiuma (200 nap felett; n=150) során keletkezett adatokat (**4. táblázat**).

A T5 telepen a fajta és a laktáció stádium mikrobiológiai minőségére gyakorolt hatásának vizsgálatára összesen 63 egyedi tejmintát vettünk a 30 (16 holstein-fríz és 14 jersey) termelésben lévő egyedtől. Az összesen 63 egyedi tejmintából 32 minta holstein-fríz egyedtől, 31 minta pedig jersey egyedtől származott. A laktáció stádium hatásának vizsgálatához a mintavételek során törekedtünk arra, hogy ugyanazon tehentől vegyük a mintákat a laktáció stádiumaiban, azonban néhány esetben a tehének termelésből való kiemelése miatt erre nem kerülhetett sor. A minták azon egyedektől származtak, amelyek első laktációjuk korai stádiumában ( $n_{\text{holstein-fríz}}=12$  minta;  $n_{\text{jersey}}=11$  minta), közepén ( $n_{\text{holstein-fríz}}=12$  minta;  $n_{\text{jersey}}=11$  minta), illetve késői stádiumában ( $n_{\text{holstein-fríz}}=8$  minta;  $n_{\text{jersey}}=9$  minta) voltak (**4. táblázat**).

**4. táblázat:** A termelési paraméterek összehasonlításához az egyedek adatainak száma, valamint a mikrobiológiai paraméterek összehasonlításához az egyedi tejminták mennyisége (T5 telep)

Laktáció stádium	A termelési paraméterek összehasonlításához az egyedek adatainak száma (db)		Mikrobiológiai paraméterek összehasonlításához az egyedi tejminták száma (db)	
	holstein-fríz	jersey	holstein-fríz	jersey
<b>100 nap alatt</b>	75	60	12	11
<b>Össz.</b>	135		23	
<b>100-200 nap</b>	60	61	12	11
<b>Össz.</b>	121		23	
<b>200 nap felett</b>	64	86	8	9
<b>Össz.</b>	150		17	
<b>Összesen</b>	406		<b>63</b>	

### Adatgyűjtés és egyedi tejminták vétele a T4 telepen:

Az Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. által havonta közzétett befejeési eredményekből származnak a T4 telep egyedeinek napi tejmenységére, tejük zsír- és fehérjetartalmára, szomatikus sejtszámára vonatkozó adatok. A számításokba 38 egyed 2015. május és 2020. január között keletkezett adatait vontuk be. A számítások során összegeztük az ezen időintervallum alatt a tehének első laktációjuk során keletkezett adatait (n=387), a tehének 2-5. laktációjuk során keletkezett adatait (n=446), valamint a tehének laktációjuk korai stádiuma (100 nap alatt; n=275) során keletkezett, közép stádiuma (100-200 nap; n=249) során keletkezett és a késői stádiuma (200 nap felett; n=309) során keletkezett adatokat (5. táblázat).

**5. táblázat:** A termelési paraméterek összehasonlításához az egyedek adatainak száma, valamint a mikrobiológiai paraméterek összehasonlításához az egyedi tejminták mennyisége (T4 telep)

Laktáció stádium, szám	A napi tejmenység és a tej összetételének összehasonlításához az egyedek adatainak száma (db)	Mikrobiológiai paraméterek összehasonlításához az egyedi tejminták száma (db)
100 nap alatt	275	23
100-200 nap	249	21
200 nap felett	309	18
<b>Összesen</b>	<b>833</b>	<b>62</b>
<b>Első laktáció</b>	<b>387</b>	<b>26</b>
<b>2-5. ellés</b>	<b>446</b>	<b>36</b>
<b>Összesen</b>	<b>833</b>	<b>62</b>

A T4 telepen a laktáció stádium és a laktáció szám mikrobiológiai minőségére gyakorolt hatásának vizsgálatára összesen 62 egyedi tejmintát vettünk a 38 termelésben lévő egyedtől. A laktáció stádium hatásának vizsgálatához a mintavételek során törekedtünk arra, hogy ugyanazon tehéneltől vegyük a mintákat a laktáció stádiumaiban, azonban néhány esetben a tehének termelésből való kiemelése miatt erre nem kerülhetett sor. Az alábbi csoportokba soroltuk a mintákat az alapján, hogy a mintavételek alatt az egyedek laktációjuk melyik stádiumában voltak, illetve hányadik laktációjukban tartottak: 23 mintát vettünk a laktációjuk korai stádiumában (100 nap alatt), 21 mintát a laktációjuk közepén (100-200 nap), 18 mintát

pedig a laktációjuk végén (200 nap felett) járó tehenektől. A 62 egyedi tejmintából 26 származott első laktációs egyedtől (15 egyed), 36 minta többször ellett (2-5. ellés) egyedtől (23 egyed) (5. táblázat).

### **Elegytej minták vétele az évszak mikrobiológiai minőségre gyakorolt hatásának vizsgálatához:**

Az évszakok nyerstejre gyakorolt hatásának elemzésére irányuló vizsgálatok során évszakonként három-tizenkettő elegytej mintát gyűjtöttünk a T1-T5 telepekről ( $n_{\text{tél}}=28$ ;  $n_{\text{tavasz}}=27$ ;  $n_{\text{nyár}}=29$ ;  $n_{\text{ősz}}=26$ ). Összesen 110 tejmintát vizsgáltunk.

### **Elegytej minták vétele a *S. aureus* mentesítési program hatékonyságának ellenőrzéséhez:**

A T3 telepen *S. aureus* mentesítési programot végeztek, amely során a hatékonyság felmérése céljából lehetőségünk volt elegytej mintákat venni 2019. február és 2019. december között. A mentesítési program során az istállókat és a fejőházat gyakrabban tisztították és fertőtlenítették, a fertőzött teheneket izolálták a többi állattól, külön fejték őket, a tejüket pedig megsemmisítették. A mikrobiológiai vizsgálatainkhoz összesen 35 elegytej mintát gyűjtöttünk ugyanabból a tejtároló tartályból, ami tartalmazza a gazdaságban fejt valamennyi tehen tejtét. Összesen hat mintavétel során gyűjtöttük a mintákat. A mintavételek között 42-84 nap telt el.

### **3.3. Az elegytej és egyedi tejminták mikrobiológiai vizsgálatainak módszerei**

A mikrobiológiai vizsgálatokat a Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Élelmiszertudományi Intézetének mikrobiológiai laboratóriumában, a Debreceni Egyetem Orvosi Mikrobiológiai Intézetében, a WESSLING Hungary Kft. laboratóriumában, illetve a Nemzeti Népegészségügyi Központ, Bakteriológiai, Mikológiai és Parazitológiai Laboratóriumi Osztálya közreműködésével végeztük el.

#### *3.3.1. A mikrobiológiai vizsgálatok elvégzésekor felhasznált táptalajok*

- **Baird-Parker (BP) agar táptalaj** (Biolab Zrt., Magyarország): Dehidratált táptalaj. Összetétele: kazeinpepton 10 g/l, húskivonat 5 g/l, élesztőkivonat 1 g/l, L-Glicin 12 g/l, nátrium-piruvát 10 g/l, lítium-klorid 5 g/l, agar 17 g/l. A táptalaj készítésekor az

analitikai mérlegen kimért 60 g port feloldottuk 950 ml ionmentes vízben, majd az így elkészített elegyet felforraltuk. A kuktában történő 20 perces sterilizést követően 50 °C-ra hűtöttük, majd aseptikusan hozzáadtunk 50 ml steril tojássárga tellurit emulziót (Biolab Zrt., Magyarország és LAB-KA Kft., Magyarország). A táptalajt alaposan megkevertük, aseptikus körülmények között steril Petri-csészékbe öntöttük, majd 30 percig szikkasztottuk.

- **Columbia véres agar** (Biolab Zrt., Magyarország): 90 mm-es Petri-csészében értékesített, készen vett táptalaj. Összetétele: kazeinpepton 10 g/l, húspepton 5 g/l, szív kivonat 3 g/l, élesztő kivonat 5 g/l, oldható keményítő 1 g/l, nátrium-klorid 5 g/l, agar 13 g/l.
- **Kristályibolya neutrálvörös epe laktóz (VRBL)** (Biolab Zrt., Magyarország): Dehidratált táptalaj. Összetétele: peptonok 10 g/l, epe sók 1,5 g/l, laktóz 10 g/l, nátrium-klorid 5 g/l, neutrálvörös 0,03 g/l, kristályibolya 0,002 g/l, agar 15 g/l. A táptalaj készítésekor az analitikai mérlegen kimért 41,5 g port feloldottuk 1000 ml ionmentes vízben. Az így elkészített elegyet felforraltuk. A kuktában történő sterilizés 20 percig tartott.
- **Mueller-Hinton agar** (Biolab Zrt., Magyarország): Dehidratált táptalaj. Összetétele: savval hidrolizált kazein 17,5 g/l, marhahús kivonat 2 g/l, keményítő vízoldható 1,5 g/l, agar 17 g/l. A táptalaj készítésekor az analitikai mérlegen kimért 38 g port 1000 ml ionmentes vízben feloldottuk, majd felforraltuk. A kuktában történő sterilizés 20 percig tartott. A táptalajt alaposan megkevertük, aseptikus körülmények között steril Petri-csészékbe öntöttük, majd 30 percig szikkasztottuk.
- **Tripton glükóz élesztő (TGÉ) agar táptalaj** (Biolab Zrt., Magyarország): Dehidratált táptalaj. Összetétele: tripton 5 g/l, élesztőkivonat 2,5 g/l, glükóz 1 g/l, agar 15 g/l. A táptalaj készítésekor az analitikai mérlegen kimért 23,5 g port feloldottuk 1000 ml ionmentes vízben. A tejminták összcsíraszámának meghatározásakor 1000 ml táptalajhoz 1 g sovány tejpport adtunk. Az így elkészített elegyet felforraltuk. A kuktában történő sterilizés 20 percig tartott.
- **Tripton szója leves (TSB)** (Biolab Zrt., Magyarország): Dehidratált táptalaj. Összetétele: kazeinpepton 17 g/l, szója pepton 3 g/l, glükóz × 1 H<sub>2</sub>O 2,5 g/l, nátrium-klorid 5 g/l, dikálium-hidrogén-foszfát 2,5 g/l. A tápleves készítésekor az analitikai mérlegen kimért 30 g port feloldottuk 1000 ml ionmentes vízben. A kuktában történő sterilizés 20 percig tartott.

### 3.3.2. Az összcsíraszám meghatározása

Az összcsíraszám meghatározását az MSZ EN ISO 4833-1 (2014) szabvány előírásai szerint végeztük. A tejminták esetében sovány tejjel kiegészített TGÉ táptalajt alkalmaztunk és a meghatározás során lemezöntéses módszerrel jártunk el. A lemezöntéses módszer elvégzésekor a hígításokból 1 ml-t pipettáztunk steril műanyag Petri-csészékbe, ráöntöttük a táptalajt, óvatosan összekevertük, majd hagytuk megszilárdulni. Az inkubálás 30 °C-on történt, 72 órán keresztül. Az elegytej esetében az összcsíraszámra vonatkozó határértéket a 853/2004 EK rendelet határozza meg. A határérték:  $M=1,0 \times 10^5$  (5,00 log<sub>10</sub>) tke/ml.

### 3.3.3. A kóliform csíraszám meghatározása

A nyerstej mintákban a kóliform baktériumok csíraszámának meghatározása az ISO 4832 (2006) szabvány alapján történt. Ez alapján steril VRBL táptalajt használtunk, és a vizsgálatot lemezöntéses módszerrel hajtottuk végre. Az inkubálás 24 órán át tartott, 30 °C-on. Az elegytej esetében a kóliform csíraszámra vonatkozó határértékeket a 4/1998. (XI. 11.) EüM rendelet tartalmazza, mely előírja a megfelelőségi („m”) határértéket [ $m=1,0 \times 10^1$  (1,00 log<sub>10</sub>) tke/ml] és a visszautasítási („M”) határértéket [ $M=1,0 \times 10^2$  (2,00 log<sub>10</sub>) tke/ml].

### 3.3.4. A Staphylococcus aureus szám meghatározása és a megerősítő vizsgálatok

A *S. aureus* számot az MSZ EN ISO 6888-1 (2008) szabványnak megfelelően felületi szélesztéses módszerrel határoztuk meg. Tojássárga tellurit emulzióval kiegészített BP agart használtunk fel. A felületi szélesztéses módszer végrehajtása során a hígításokból 0,1 ml-t pipettázzuk az előzetesen elkészített, szikkasztott felületű táptalajra, majd a szuszpenziót steril szélesztőbottal szélesztettük a táptalaj felületére. A táptalajokat 37 °C-on 48 órán keresztül inkubáltuk. Az inkubálást követően a táptalajok kiértékelése következett: Megszámoltuk a jellemző *S. aureus* telepeket, a telepmorfológiát, a tellurit redukáló képességet és a lecitináz aktivitást figyeltünk. A jellemző telepek fényesek, feketék, domborúak, opalizáló zónával körülöttek. Ezután 5-5 kiválasztott telepen elvégeztük az azonosítás céljára szolgáló vizsgálatokat.

**Koaguláz próba:** A szabad koaguláz enzim jelenlétének meghatározására fagyasztva szárított nyúlplazmát (Bio-Rad Magyarország Kft., Magyarország) alkalmaztunk, melyet a gyártó utasításának megfelelően készítettük elő.

A vizsgálat menete:

1. Steril pipettával 10 ml-t mértünk ki a nyúlplazmához mellékelt nátrium-oxalátos hígító oldatból, majd a liofilizált nyúlplazmához adtuk.
2. Ezután óvatosan, lehetőleg buborékmentesen felráztuk a nyúlplazma megfelelő feloldódásáig.
3. A kiválasztott telepeket TSB táplevesbe oltottuk és 37 °C-on 24 óráig inkubáltuk.
4. Ezt követően 0,5 ml tenyészetet és 0,5 ml nyúlplazmát homogenizáltunk egy steril eppendorf csőben.
5. Az inkubálás 37 °C-on 24 órán át tartott.
6. A kiértékelés során a nyúlplazma megalvadása, megszilárdulása jelezte a pozitív eredményt.

**Latex agglutinációs teszt:** ESSERS és RADEBOLD (1980) szerint a latex agglutinációs teszt hatékony és gyors módszernek tekinthető a *S. aureus* azonosítására. Ezért a vizsgálataink során a *S. aureus* elkülönítése a többi *Staphylococcus* fajtól latex agglutinációs teszttel (Prolex™ Staph Xtra Kit, Biolab Zrt., Magyarország) történt, mely azon az elven alapul, hogy ha a törzs termel clumping faktort, protein A-t, és/vagy 5-ös vagy 8-as tok antigént, a törzset a latex reagenssel elkeverve a latex részecskék agglutinációja figyelhető meg.

Az elegyej esetében a *S. aureus* számára vonatkozó határértéket [ $m=1,0 \times 10^2$  (2,00 log<sub>10</sub>) tke/ml,  $M=5,0 \times 10^2$  (2,70 log<sub>10</sub>) tke/ml] a 4/1998. (XI. 11.) EüM rendelet határoz meg.

A tejmintákból izolált *S. aureus* törzseket kriocsövekben tároltuk -80 °C-on a további vizsgálatok elvégzéséig. A Baird-Parker agarról kiválasztott törzseket steril oltókaccsal TSB táplevesbe oltottuk, 37 °C-on 24 órán át inkubáltuk, majd a kriocsőben hozzáadtunk 30% v/v glicerint (PEREIRA és mtsai., 2009). A vizsgálatok megkezdése előtt a tárolt törzseket közvetlenül TGÉ agarra vagy TSB táplevesbe oltottuk, majd 37 °C-on 24 órán át inkubáltuk.

### 3.4. A mintákból izolált *Staphylococcus aureus* törzsek tulajdonságainak vizsgálata

Valamennyi törzs esetében genetikai szintű azonosítást is végeztünk. A fajspecifikus termonukleáz gén (*nuc*) prevalenciáját PCR módszerrel vizsgáltuk a 3.4.6. fejezetben leírtak szerint. A vizsgálatokhoz használt primereket (**11. táblázat**) a szakirodalomban igazolták, hogy specifikusak a *S. aureus nuc* génre (BRAKSTAD és mtsai., 1992).

#### 3.4.1. Kataláz teszt és oxidáz próba

A kataláz tesztet és oxidáz próbát a JAVID és mtsai. (2018) tanulmányában leírtaknak megfelelően hajtottuk végre.

**Kataláz teszt:** A kataláz tesztet 3%-os hidrogén-peroxid oldattal (Biolab Zrt., Magyarország) végeztük: Egy csepp hidrogén-peroxid oldatba mostuk bele a vizsgálandó törzset egy steril műanyag oltókacs segítségével. Fém oltókacst nem alkalmaztunk, mert az katalizálná a folyamatot, fals pozitív eredményt adva. A kiértékelés során figyeltük, hogy történik-e pozitív reakcióra utaló buborékképződés. Az esetlegesen termelt kataláz enzim a hidrogén-peroxidot vízzé és oxigénné bontja.

**Oxidáz próba:** A citokróm-c-oxidáz enzim termelődésének kimutatását célzó oxidáz próba elvégzéséhez OXI tesztcsíkokat (Biolab Zrt., Magyarország) használtunk. Amennyiben a vizsgált baktérium termelte az enzimet, a tesztcsík reagens zónájában kék szín jelent meg. A vizsgálat során műanyag oltókaccsal egy kacsnyit vittünk fel a tesztcsík reagens zónájára, majd figyeltük a színváltozást. A kataláz teszthez hasonlóan itt sem alkalmaztunk fém oltókacst.

#### 3.4.2. A *Staphylococcus aureus* izolátumok azonosítása MALDI-TOF tömegspektrométerrel

További megerősítésként a tejmintákból gyűjtött 49 *S. aureus* törzset MALDI-TOF tömegspektrométerrel is azonosítottuk. 46 törzs vizsgálatára volt lehetőség a budapesti WESSLING Hungary Kft. mikrobiológiai laboratóriumában, három törzs (SA57A, SA57B, SA57C) vizsgálatát a Nemzeti Népegészségügyi Központ, Mikrobiológiai Referencia Laboratóriumi Főosztály, Bakteriológiai, Mikológiai és Parazitológiai Laboratóriumi Osztályán végezték el a részünkre, ugyanis a három törzs izolálása később történt meg, mint a többi törzs vizsgálata. A WESSLING Hungary Kft. laboratóriumában történő vizsgálatokhoz a

*S. aureus* izolátumokat Columbia véres agar táptalajra (Biolab Kft., Magyarország) vittük fel. Közvetlen mintafelvitelt alkalmaztunk, hangyasav hozzáadásával.

#### A vizsgálat menete:

1. A módszernek az elvégzéséhez egyetlen telepet választottunk ki az agaron, melyet steril oltókaccsal közvetlenül a target plate-re vittünk fel. Hat párhuzamos mintát használtunk.
2. A target plate-en lévő mintákhoz hozzáadtunk 1 µl hangyasavat (70%) és hagytuk lamináris bokszt alatt megszáradni.
3. Végül 1 µl α-HCCA (10 mg/ml) mátrixoldatot cseppentettünk a mintákhoz.
4. Az izolátumok azonosításához a MALDI BioTyper 3.1. Bruker szoftvert használt a WESSLING Hungary Kft.. A szoftver a tömegspektrométerrel kapott tömegspektrumokat a könyvtárban elmentett referencia spektrumokkal hasonlítja össze. Az összehasonlítás során egy 0,000 és 3,000 közötti log score értéket kapunk, mely egy számszerűsített információ az azonosítás minőségére vonatkozóan. Ha a log score érték nagyobb, mint 2,300, akkor a faji szintű azonosítás nagy valószínűségű. Ha 2,000 és 2,299 közötti a legjobb pontszám, a vizsgált és a referencia spektrumkönyvtárban található mikroorganizmus azonossága kisebb. Ez esetben csupán a nemzetségét tekintjük azonosítottnak. Nem tekinthető biztosnak a nemzetség azonosítása sem, ha a log score érték 1,700 és 1,999 közötti, illetve sikertelen az azonosítás, ha 1,699 alatti (LOVÁSZ, 2014).

#### 3.4.3. A *Staphylococcus aureus* izolátumok *spa* típusának meghatározása

A tejmintákból izolált törzsek *spa* típusának meghatározását a Nemzeti Népegészségügyi Központ, Mikrobiológiai Referencia Laboratóriumi Főosztály, Bakteriológiai, Mikológiai és Parazitológiai Laboratóriumi Osztálya végezte el. A laboratórium által alkalmazott módszer az European Network of Laboratories for Sequence Based Typing of Microbial Pathogens (SeqNet) (2004) által leírt módszer 1.1 verziója („DNA Sequencing of the *spa* Gene”). Az *spa* típusok BURP („based upon repeat patterns”) klaszterezését alapértelmezett paraméterekkel a Ridom Staphtype szoftverrel (Ridom GmbH, Németország) hajtották végre, MELLMANN és mtsai. (2008) tanulmánya alapján.

#### 3.4.4. A hemolízis típusának meghatározása

A mintákból gyűjtött *S. aureus* törzsek hemolízis típusának meghatározását PEREIRA és mtsai. (2009) tanulmánya alapján Columbia véres agar felhasználásával végeztük. A táptalajt annak beoltása után 24–48 órán át 37 °C-on inkubáltuk. A telepek körüli tisztulási zónák jelenlétét vagy hiányát vizsgáltuk. Ha a telepek körül zöldes színű zóna jelent meg,  $\alpha$ -hemolízisként értelmeztük, a világos színű feltisztult zónát pedig  $\beta$ -hemolízisként.

#### 3.4.5. Antibiotikum érzékenység vizsgálata

Az izolált törzsek antibiotikum rezisztencia vizsgálata agar diffúziós módszerrel történt, a CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017) előírásai szerint. A vizsgálatokat a Debreceni Egyetem Orvosi Mikrobiológiai Intézet mikrobiológiai laboratóriumában és a Debreceni Egyetem Élelmiszertudományi Intézetének mikrobiológiai laboratóriumában végeztük.

Az ATCC 25923 referencia törzset használtuk pozitív kontrollként. A vizsgálathoz a következő antibiotikumkorongokat használtuk:

- cefoxitin (30  $\mu$ g/korong)
- klóramfenikol (30  $\mu$ g/korong)
- klindamicin (2  $\mu$ g/korong)
- eritromicin (15  $\mu$ g/korong)
- gentamicin (10  $\mu$ g/korong)
- penicillin G (10U)
- tetraciklin (30  $\mu$ g/korong)
- trimetoprim/sulfametoxazol (1,25+23,75  $\mu$ g/korong) (Biolab Zrt., Magyarország).

#### A vizsgálat menete:

1. A vizsgálat során a 0,5 McFarland-ra beállított baktérium szuszpenziót steril vattatamponnal a Mueller-Hinton agarra szélesztettük.
2. Az antibiotikummal átitatott papírkorongokat a beoltott táptalaj felületére helyeztük.
3. Az inkubálás 35 °C-on 18 órán át tartott.

4. Az egyes antibiotikumok esetén a gátlási zóna átmérők alapján történt a törzsek antibiotikum rezisztenciájának meghatározása, a CLSI (2017) előírásaiban meghatározott határértékeknek (6. táblázat) megfelelően.

**6. táblázat:** A vizsgálatok során alkalmazott antibiotikumokra vonatkozó rezisztencia kategóriák a gátlási zóna átmérők alapján (CLSI, 2017)

Antibiotikumok	Koncentráció	Kiértékelés a gátlási zóna átmérők alapján (mm)		
		Érzékeny	Közepes	Rezisztens
<b>Cefoxitin</b>	30 µg/korong	≥22	-	≤21
<b>Klóramfenikol</b>	30 µg/korong	≥18	13-17	≤12
<b>Klindamicin</b>	2 µg/korong	≥21	15-20	≤14
<b>Eritromicin</b>	15 µg/korong	≥23	14-22	≤13
<b>Gentamicin</b>	10 µg/korong	≥15	13-14	≤12
<b>Penicillin</b>	10 unit/korong	≥29	-	≤28
<b>Tetraciklin</b>	30 µg/korong	≥19	15-18	≤14
<b>Trimetoprim/ szulfametoxazol</b>	1,25+23,75 µg/korong	≥16	11-15	≤10

### 3.4.6. A *Staphylococcus enterotoxin* kódoló gének vizsgálata PCR-rel

A PCR vizsgálatok a BIANCHI és mtsai. (2014) tanulmányának megfelelően történtek, a protokoll néhány módosításával.

Az ATCC 29213 (*sea*; *seg*; *sei*), ATCC 14458 (*seb*), ATCC 19095 (*sec*; *seg*; *seh*; *sei*), ATCC 23235 (*sed*; *seg*; *sei*; *sej*), ATCC 27664 (*see*) kódú referencia törzseket használtuk kontrollként. Elegegyéből izolált saját törzseket alkalmaztunk referenciatörzsként a *selm*, *seln*, *selo* enterotoxint kódoló gének teszteléséhez.

A genomi DNS kivonását a *S. aureus* törzsekből PrepMan™ Ultra Sample Preparation Reagent (Biocenter Kft., Magyarország) felhasználásával hajtottuk végre, a gyártói utasításoknak megfelelően.

#### DNS izolálás menete:

1. A Baird-Parker agar táptalajra oltott izolátumok egy oltókacsnyi mennyiségét 100 µl PrepMan lízis oldatban szuszpendáltuk.
2. A mintát vortex kémcsőrázó segítségével 10-30 másodpercig homogenizáltuk.
3. A mintákat 10 percen keresztül 100 °C-ra beállított termoblokkban melegítettük.

4. A mintákat hagytuk szobahőmérsékletre lehűlni.
5. Az Eppendorf csöveket két percig 11.000 g-vel centrifugáltuk.
6. Ezután 50 µl felülúszót pipettáztunk át megfelelően feliratozott Eppendorf csövekbe (ezeket használtuk fel a PCR-amplifikációhoz).
7. A templát DNS koncentrációját a Thermo Scientific NanoDrop 2000 spektrofotométerrel ellenőriztük.
8. A végső koncentrációt nukleázmentes vízzel 10 ng/µl-re állítottuk be.

A PCR-vizsgálatokhoz hét primer készletet készítettünk. Azért volt szükség különálló reakcióként futtatni a primereket, hogy elkerülhető legyen a hasonló méretű PCR termékek átfedése a gélelektroforézis során. Az 1. PCR-t úgy terveztük, hogy amplifikálja a *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* enterotoxint kódoló géneket. A 2. PCR-t a *seg*, *sei* amplifikálására terveztük. A 4. PCR-t a *selm*, a *selo* amplifikálására terveztük. A 6. PCR-t a *seh* és a *ser* amplifikálására terveztük. Simplex PCR-t használtunk a *sej* (3. PCR) és a *seln* (5. PCR) enterotoxinok és a *nuc* gén (7. PCR) kimutatására. A primer szekvenciákat és az ampikon méreteket a **7 – 11. táblázat** tartalmazza.

**7. táblázat:** A *sea*, *seb*, *sec*, *sed* és *see* enterotoxint kódoló gének amplifikációjának primerei

Enterotoxin gének	Primerek	Nukleotid szekvenciák (5' - 3')	Ampikon mérete (bp)	Referencia
<i>sea</i>	GSEAR-1	GGTTATCAATGTGCGGGTGG	102	MEHROTRA és mtsai., 2000
	GSEAR-2	CGGCACTTTTTTCTCTTCGG		
<i>seb</i>	GSEBR-1	GTATGGTGGTGTAACTGAGC	164	MEHROTRA és mtsai., 2000
	GSEBR-2	CCAAATAGTGACGAGTTAGG		
<i>sec</i>	GSECR-1	AGATGAAGTAGTTGATGTGTATGG	451	MEHROTRA és mtsai., 2000
	GSECR-2	CACACTTTTAGAATCAACCG		
<i>sed</i>	GSEDR-1	CCAATAATAGGAGAAAATAAAAG	278	MEHROTRA és mtsai., 2000
	GSEDR-2	ATTGGTATTTTTTTTCGTTTC		
<i>see</i>	SA-U	TGTATGTATGGAGGTGTAAC	213	SHARMA és mtsai., 2000
	SA-E rev	GCCAAAGCTGTCTGAG		

**8. táblázat:** A *seg*, *sei* enterotoxint kódoló gének amplifikációjának primerei

Enterotoxin gének	Primerek	Nukleotid szekvenciák (5' - 3')	Amplikon mérete (bp)	Referencia
<i>seg</i>	SEG-F	GTTAGAGGAGGTTTTATG	198	BANIA és mtsai., 2006
	SEG-R	TTCCTTCAACAGGTGGAGA		
<i>sei</i>	SEI-F	GGCCACTTTATCAGGACA	328	BANIA és mtsai., 2006
	SEI-R	AACTTACAGGCAGTCCA		

**9. táblázat:** A *selm*, *selo* enterotoxint kódoló gének amplifikációjának primerei

Enterotoxin gének	Primerek	Nukleotid szekvenciák (5' - 3')	Amplikon mérete (bp)	Referencia
<i>selm</i>	SEM-F	CATATCGCAACCGCTGA	148	BANIA és mtsai., 2006
	SEM-R	TCAGCTGTTACTGTCTGA		
<i>selo</i>	SEO-F	GTCAAGTGTAGACCCTA	288	BANIA és mtsai., 2006
	SEO-R	TGTACAGGCAGTATCCA		

**10. táblázat:** A *seh*, *ser* enterotoxint kódoló gének amplifikációjának primerei

Enterotoxin gének	Primerek	Nukleotid szekvenciák (5' - 3')	Amplikon mérete (bp)	Referencia
<i>seh</i>	SEH-F	CAACTGCTGATTTAGCTCAG	173	BANIA és mtsai., 2006
	SEH-R	CCCAAACATTAGCACCA		
<i>ser</i>	SER1-F	AGATGTGTTTGAATACCCTAT	123	CHIANG és mtsai., 2008
	SER2-R	CTATCAGCTGTGGAGTGCAT		

**11. táblázat:** A *sej*, *seln* enterotoxin és a *nuc* termonukleáz enzim kódoló gének amplifikációjának primerei

Enterotoxin gének	Primerek	Nukleotid szekvenciák (5' - 3')	Amplikon mérete (bp)	Referencia
<i>sej</i>	SEJ-F	GTTCTGGTGGTAAACCA	131	BANIA és mtsai., 2006
	SEJ-R	GCGGAACAACAGTTCTGA		
<i>seln</i>	SEN-F	GGCAATTAGACGAGTCA	237	BANIA és mtsai., 2006
	SEN-R	ATCGTAACTCCTCCGTA		
<i>nuc</i>	NUC-F	GCGATTGATGGTGATACGGTT	270	BRAKSTAD és mtsai., 1992
	NUC-R	AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC		

A DNS-amplifikációt T100™ Thermal Cycler (Bio-Rad Hungary Kft., Magyarország) segítségével végeztük. A PCR reakciókat 12 µl végtérfogatban mértük össze a **12. táblázat** alapján és a **13. táblázat**ban bemutatott PCR hőprofilal.

**12. táblázat:** A *Staphylococcus aureus* enterotoxint kódoló génszakasz felszaporításához használt PCR-összetétel

Bemért anyag	Mennyiség/reakció
2x PCRBIO HS Taq Mix Red	6 µl
F mix (10-10 µM)	0,6 µl
R mix (10-10 µM)	0,6 µl
Nukleázmentes víz	3 µl
DNS templát (10 ng/µl)	2 µl

**13. táblázat:** Az enterotoxinokat kódoló gének felszaporításához alkalmazott hőprofil

Folyamat	Hőfok	Időtartam
Denaturáció	95 °C	5 perc
Amplifikáció (35 ciklus)	95 °C (denaturálás)	0,5 perc
	52 °C (anelláció) (56 °C a <i>nuc</i> gén esetében)	0,5 perc
	72 °C (extenzió)	1 perc
Extenzió	72 °C	10 perc
Tárolás	4 °C-on	

Az amplifikált mintákat 120 V feszültségen 40 percig elektroforézissel elemeztük PowerPac Basic tápegységgel (Bio-Rad Hungary Kft., Magyarország). Egy százalékos agarózgél (Lab Mark Kft., Csehország) használtunk a gél elektroforézis során és 5 µl/1000 ml Midori Green Advance festéket (Nucleotest Bio Kft., Magyarország) adtunk a gélhez, valamint 1xTBE puffert alkalmaztunk. 100 bp létrát (GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder, Biocenter Kft., Magyarország) alkalmaztunk molekulatömeg-markerként. A gélképet FluorChem M rendszerrel (Bio-Science Kft., Magyarország) tettük láthatóvá.

### **3.5. Az alkalmazott statisztikai módszerek**

A statisztikai próbák elvégezhetősége, valamint a könnyebb ábrázolhatóság érdekében a tke értékeket tízes alapú logaritmus értékekké alakítottuk. A vizsgálatok során kapott eredményekből átlagértéket és szórást számoltunk.

Az SPSS v.22.0 (2013) programot használtuk a leíró statisztikához, a mikroorganizmus telepszámok logaritmikus transzformációjához, valamint a t-próba és a varianciaanalízis elvégzéséhez. A mikrobiológiai paraméterek és a tényezők közötti összefüggések statisztikai elemzésekor két változó esetén t-próbát és nem paraméteres Mann-Whitney próbát, három változó esetén pedig varianciaanalízist és Tukey-tesztet, illetve nem paraméteres Kruskal-Wallis próbát és Dunn-féle összehasonlító tesztet végeztünk el. A próbákat 5%-os P-érték alatt tekintettük szignifikánsnak.

## 4. EREDMÉNYEK

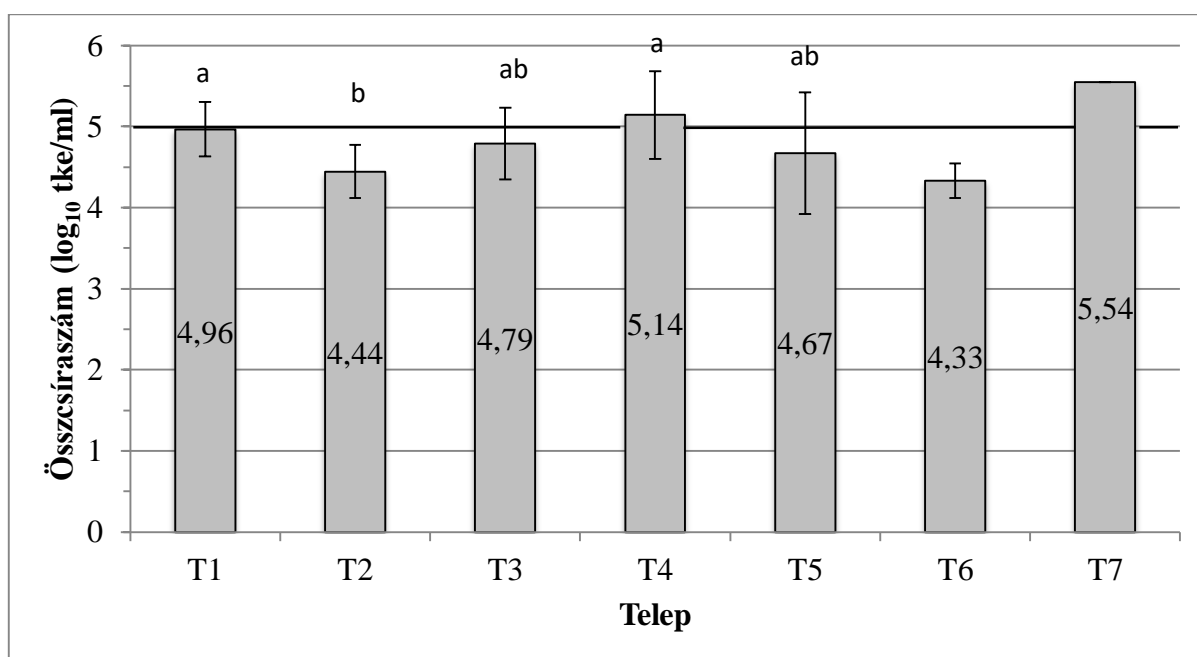
### 4.1. Hajdú-Bihar megyei tejtermelő telepekről származó elegy és egyedi tejminták mikrobiológiai állapotának felmérése

A tej kezdeti mikrobiológiai minősége nemcsak élelmiszer-biztonsági szempontból fontos, hanem mert befolyásolhatja a tejből készült termékek minőségét. Az elegytej mikrobiológiai állapotának vizsgálata továbbá képet adhat a tejtermelő gazdaságban alkalmazott higiéniai gyakorlatok eredményességéről.

#### 4.1.1. Az összcsíraszám alakulása a tejtermelő telepekről vett nyerstejben

A hét tejtermelő telepről vett elegytej mintákban az összcsíraszám vizsgálatának eredményeképp kapott átlag összcsíraszám  $2,3 \times 10^4$  és  $3,5 \times 10^5$  ( $4,33$  és  $5,54 \log_{10}$ ) tke/ml között alakult. A szórásértékek nem haladták meg a  $0,75 \log_{10}$  tke/ml-t. A legalacsonyabb átlag összcsíraszámot ( $4,33 \pm 0,21 \log_{10}$  tke/ml) a T6 telepen mértük, a legmagasabbat ( $5,54 \log_{10}$  TKE/ml) a T7 telepen (**1. ábra**). Az eredmények alapján elmondható, hogy a hét tejtermelő telep közül öt telepről (T1, T2, T3, T5, T6) vett elegytej mintákban az átlag összcsíraszám a 853/2004 EK rendelet által meghatározott határértéket nem haladja meg. Ez alapján ezekben a gazdaságokban a fejéskor alkalmazott higiénia megfelelőnek mondható. Az eredmények azt mutatták továbbá, hogy a T2 telepen [ $3,6 \times 10^4$  ( $4,44 \pm 0,33 \log_{10}$ ) tke/ml] statisztikai szempontból kevesebb ( $P < 0,05$ ) volt az átlag összcsíraszám, mint a T1 és T4 telepeken [ $1,2 \times 10^5$  és  $3,0 \times 10^5$  ( $4,96 \pm 0,34 \log_{10}$  és  $5,14 \pm 0,54$ ) tke/ml]. A T6 és T7 telepeken az alacsony mintaszám miatt nem volt lehetőség szignifikancia számítására.

A hét, többségében nagyüzemi tejtermelő telepről vett elegytej mintákban az átlag összcsíraszám  $4,81 \pm 0,52 \log_{10}$  tke/ml volt. MHONE és mtsai. (2011) viszont nagyobb átlag összcsíraszámot ( $6,4 \pm 5,6 \log_{10}$  tke/ml) detektáltak kisüzemi telep nyerstejének vizsgálatakor. Ugyancsak magasabb átlag összcsíraszámot kapott CHYE és mtsai. (2004) is, az általuk detektált átlag összcsíraszám ugyanis  $7,08 \log_{10}$  tke/ml volt a tejtermelő telepek nyerstejében. A szerzők szerint a nagy telepszámok tejből való kialakulásához vezethettek a tehének fertőzőes megbetegedései, a nem megfelelő fejési higiénia, a fejéskor használt eszközök nem megfelelő tisztasága, az állatok tisztításához használt víz gyengébb mikrobiológiai minősége, illetve a tej helytelen tárolási körülményei.



**1. ábra:** A tejtermelő telepek elegytejének átlagos összcsíraszama

A különböző betűkkel (a, b) jelölt középértékek szignifikánsan különböznek egymástól ( $P < 0,05$ )

A T4 és T5 telepekről vett egyedi tejminták összcsíraszám meghatározására irányuló vizsgálatot kiértékelve azt tapasztaltuk, hogy a T4 telepen, ahol a fejést követően utófertőtlenítést nem végeznek, szignifikánsan több ( $P < 0,05$ ) volt az átlag összcsíraszám [ $4,9 \times 10^3$  ( $3,35 \pm 0,57 \log_{10}$ ) tke/ml], mint a T5 telepen vett egyedi tejmintákban [ $2,7 \times 10^3$  ( $3,13 \pm 0,53 \log_{10}$ ) tke/ml] (**14. táblázat**). A T4 és T5 telepeken az elegy és egyedi tejminták átlag összcsíraszámát összevetve statisztikai szempontból szintén különbséget tapasztaltunk. Mind a két telepen az elegytejben nagyobb ( $P < 0,05$ ) volt az átlag összcsíraszám, mint az egyedi tejmintákban.

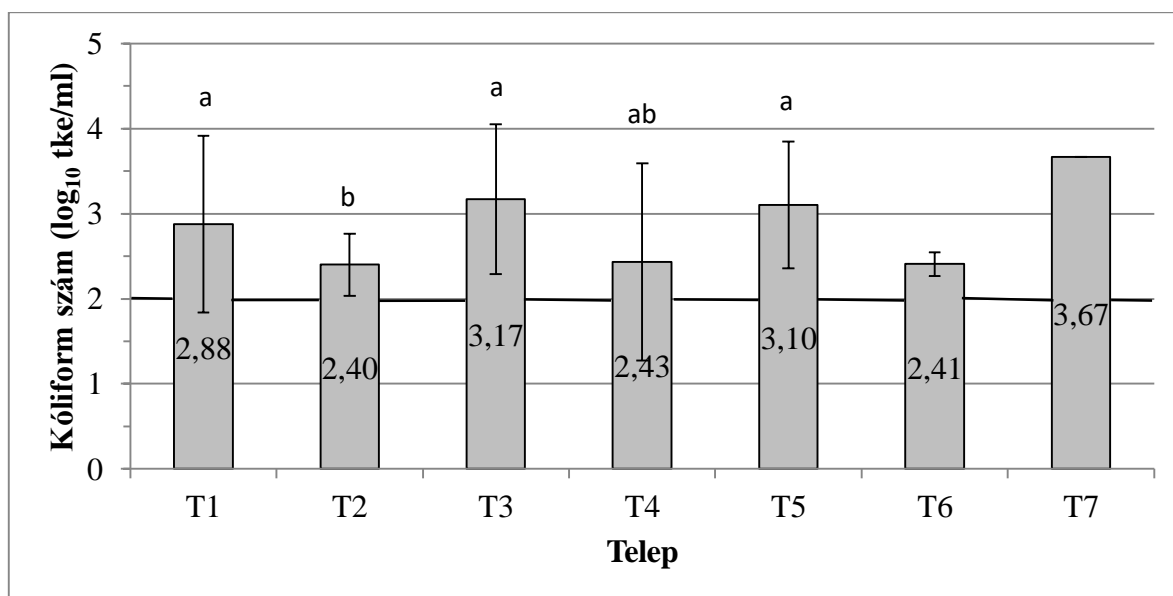
**14. táblázat:** A tejtermelő telepekről származó egyedi tejminták átlagos összcsíraszama

Telep (mintaszám)	Átlag tke/ml	Átlag $\pm$ szórás $\log_{10}$ tke/ml	Min $\log_{10}$ tke/ml	Max $\log_{10}$ tke/ml
<b>T4 (62)</b>	$4,9 \times 10^3$	$3,35 \pm 0,57^a$	2,03	4,51
<b>T5 (63)</b>	$2,7 \times 10^3$	$3,13 \pm 0,53^b$	2,00	4,38

A különböző betűkkel (a, b) jelölt középértékek szignifikánsan különböznek egymástól ( $P < 0,05$ )

#### 4.1.2. A kóliform csíraszám alakulása a tejtermelő telepekről vett nyerstejben

Az elegytej mintákban a kóliform baktériumok mennyiségének vizsgálatakor azt az eredményt kaptuk, hogy az átlag kóliform csíraszám  $3,0 \times 10^2$  és  $4,7 \times 10^3$  ( $2,40$  és  $3,67 \log_{10}$ ) tke/ml között alakult. A szórásértékek nem haladták meg a  $1,16 \log_{10}$  tke/ml-t. A legkevesebb átlag kóliform csíraszámot ( $2,40 \pm 0,37 \log_{10}$  tke/ml) a T2 telepen mértük, a legnagyobbat ( $3,67 \log_{10}$  tke/ml) a T7 telepen (**2. ábra**). Az eredmények alapján elmondható, hogy mind a hét tejtermelő telepről vett elegytej mintákban az átlag kóliform csíraszám a 4/1998. (XI. 11.) EüM rendelet által meghatározott visszautasítási „M” határértéket meghaladta. A kóliform baktériumok higiéniai indikátor mikrobáknak tekinthetők, jelenlétük az elegytejben környezeti eredetű szennyeződésre, azon belül bélsár kontaminációra utalhat. A fejéskor alkalmazandó higiéniai szabályok helyes betartásával (megfelelő tőgy-előfertőtlenítés, tiszta tőgytörlő papírok használata, a fejőkelyhek gyakoribb tisztítása) csökkenthető annak előfordulása, hogy az elegytejbe kóliform baktériumok kerüljenek.



**2. ábra:** A tejtermelő telepek elegytejének átlagos kóliform csíraszám

A különböző betűkkel (a, b) jelölt középértékek szignifikánsan különböznek egymástól ( $P < 0,05$ )

A hét többségében nagyüzemi tejtermelő telepről vett elegytej mintákban az átlag kóliform csíraszám  $2,80 \pm 0,95 \log_{10}$  tke/ml volt. PELES és mtsai. (2008) is tanulmányozták publikációjukban az elegytejben található kóliform baktériumok mennyiségét. Megállapították, hogy a középgazdaságokból vett elegytej átlagos kóliform csíraszám  $1,77 \pm 1,18 \log_{10}$  tke/ml

volt, ami kevesebb, mint az általunk kapott érték. EL-HAMDANI és mtsai. (2016) a szarvasmarhák nyerstejének tavasszal végzett vizsgálatokor azt az eredményt kapták, hogy a kóliform csíraszám  $3,48 \log_{10}$  tke/ml volt, amely magasabb, mint az általunk detektált átlag kóliform csíraszám. Ugyancsak magasabb átlag kóliform csíraszámot kapott CHYE és mtsai. (2004) is, az általunk detektált átlag kóliform csíraszám ugyanis  $5,23 \log_{10}$  tke/ml volt a tejtermelő telepek nyerstejében.

A T4 és T5 telepekről vett egyedi tejminták kóliform csíraszám meghatározására irányuló vizsgálatot kiértékelve azt tapasztaltuk az összcsíraszámhoz hasonlóan, hogy a T4 telepen szignifikánsan több ( $P < 0,05$ ) volt az átlag kóliform csíraszám [ $5,7 \times 10^2$  ( $1,10 \pm 1,01 \log_{10}$ ) tke/ml], mint a T5 telepen vett egyedi tejmintákban [ $1,1 \times 10^1$  ( $0,62 \pm 0,56 \log_{10}$ ) tke/ml] (**15. táblázat**). A T4 telepen a 62 db, egyedektől vett tejmintából 53-ban (85%) fordult elő kóliform baktérium kimutatható mennyiségben. A T5 telepen pedig a 63 egyedi tejmintából 55-ben (87%) mutattunk ki kóliform baktériumok jelenlétét. A T4 és T5 telepeken az elegy és egyedi tejminták átlag kóliform csíraszámát összevetve statisztikai szempontból szintén különbséget tapasztaltunk. Mind a két telep esetében az elegytejben több ( $P < 0,05$ ) volt az átlag kóliform csíraszám, mint az egyedi tejmintákban. Ennek az lehet a magyarázata, hogy az egyedi tejminták esetében kevesebb a kontamináció lehetősége, például az állatból, esetleg a tőgybimbóról kerülhetett mikroorganizmus a tejbe. Az elegytej pedig számos más forrásból is szennyeződhetett kóliform baktériumokkal, például a tejjel közvetlen kapcsolatba kerülő eszközökről (pl. fejőgépről, tejvezetékekből, tejtároló tartályokból). Továbbá az elegytejbe bekerülhet olyan állat teje is, amely esetlegesen hordozhatták ezeket a baktériumokat.

**15. táblázat:** A tejtermelő telepekről származó egyedi tejminták átlagos kóliform csíraszám

Telep (mintaszám)	Átlag tke/ml	Átlag±szórás $\log_{10}$ tke/ml	Min $\log_{10}$ tke/ml	Max $\log_{10}$ tke/ml
T4 (62)	$5,7 \times 10^2$	$1,10 \pm 1,01^a$	<1,00	4,23
T5 (63)	$1,1 \times 10^1$	$0,62 \pm 0,56^b$	<1,00	2,25

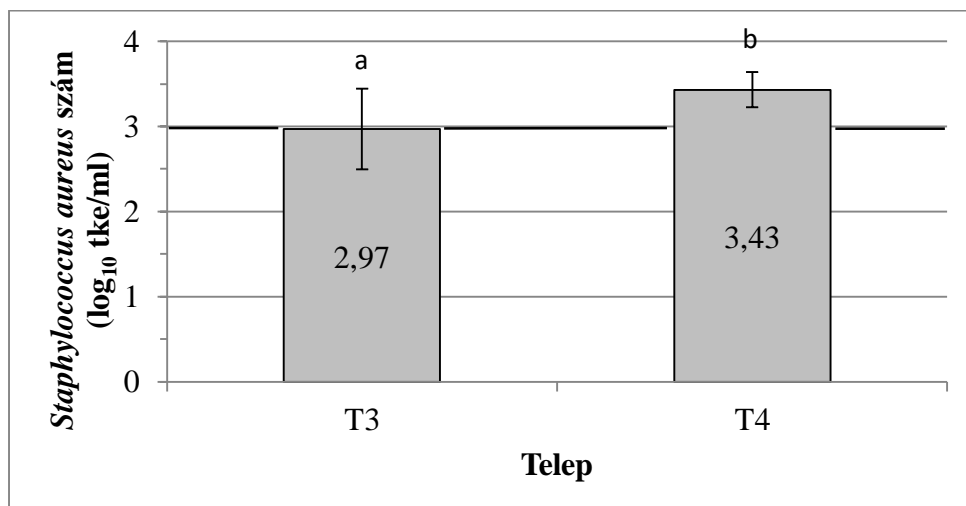
A különböző betűkkel (a, b) jelölt középértékek szignifikánsan különböznek egymástól ( $P < 0,05$ )

#### 4.1.3. A *Staphylococcus aureus* szám alakulása a tejtermelő telepekről vett nyerstejben

*S. aureus* két tejtermelő telep (T3, T4) elegytejében fordult elő nagyobb, mint  $1,0 \times 10^1$  ( $1,00 \log_{10}$ ) tke/ml mennyiségben. Az ezen telepekről vett elegytej mintákban a *S. aureus*

számának vizsgálatakor azt az eredményt kaptuk, hogy az átlagos *S. aureus* szám  $1,4 \times 10^3$  ( $2,97 \pm 0,48 \log_{10}$ ) tke/ml volt a T3 és  $3,0 \times 10^3$  ( $3,43 \pm 0,21 \log_{10}$ ) tke/ml volt a T4 telepen (**3. ábra**). Az összcsíraszámhoz hasonlóan a T4 telepen mértünk nagyobb ( $P < 0,05$ ) *S. aureus* számot az elegytejben a T5 telephez képest. Az eredmények alapján elmondható továbbá, hogy a két telepről származó elegytej mintákban az átlag *S. aureus* szám a rendelet által meghatározott „M” határértéket meghaladta. A *S. aureus* jelentős tőgypatogén kórokozó, mely a környezetből juthat a tőgyre és a tőgybimbón keresztül akár a tőgybe is bekerülhet, ahol tőgygyulladás kialakulását eredményezheti. A T3 és T4 telepen ezért ajánlott a fejési higiénia fokozott betartása, illetve ajánlott továbbá, hogy kiszűrjék azon klinikai vagy szubklinikai tőgygyulladásban teheneket, amelyek tejében magas számban fordul elő a baktérium. Ajánlott továbbá, hogy ezen teheneket elkülönített módon fejjék, a lefejt tejet megsemmisítsék.

Az elegytej minták mikrobiológiai vizsgálatai során az kaptuk, hogy az átlag *S. aureus* szám a két tejtermelő telep esetében átlagosan  $2,1 \times 10^3$  ( $3,16 \pm 0,45 \log_{10}$ ) tke/ml volt. Hasonló értékeket kapott PELES és mtsai. (2007b), akik szintén tanulmányozták a *S. aureus* előfordulását és a vizsgálatok eredményeképpen azt kapták, hogy az egyik gazdaságban  $3,15 \log_{10}$  tke/ml a másikban  $2,41 \log_{10}$  tke/ml volt az átlagos *S. aureus* szám. MHONE és mtsai. (2011) viszont nagyobb átlag *S. aureus* számot ( $5,4 \pm 5,1 \log_{10}$  tke/ml) detektáltak kisüzemi telep nyerstejének vizsgálatakor.



**3. ábra:** A tejtermelő telepek elegytejének átlagos *Staphylococcus aureus* száma  
A különböző betűkkel (a, b) jelölt középértékek szignifikánsan különböznek egymástól ( $P < 0,05$ )

Elmondható továbbá, hogy a *S. aureus* az összesen vett elegytej minták 51,6%-ában, az egyedi tejminták 5,6%-ában fordult elő. Az elegy és egyedi tejmintákat összesítve pedig a minták 28,7%-ában fordult elő a baktérium. A különböző szakirodalmakban az eredményeinkhez hasonló és eltérő adatokat is közöltek már más szerzők (**2. táblázat**). Egy 2007-ben kiadott, Magyarországon végzett tanulmányban a nyerstej minták 55%-a tartalmazott *S. aureus*-t (PELES és mtsai., 2007b). Magas *S. aureus* előfordulásról számoltak be nyerstej mintákban például egy Dél-afrikai Köztársaságban (ATEBA és mtsai., 2010), egy Zimbabwében (MHONE és mtsai., 2011) és egy Norvégiában (JØRGENSEN és mtsai., 2005a) végzett kutatás során. Ezekben a tanulmányokban a *S. aureus* előfordulása 100%, 75,8% és 75% volt a tejmintákban. CARFORA és mtsai. (2015) ellenben azt kapták, hogy a nyerstej minták csupán 7,5%-a tartalmazott *S. aureus*-t; JAMALI és mtsai. (2015) pedig 12,4%-os előfordulásról számoltak be.

A dolgozatban a vizsgált hét tejtermelő telep közül a T5 és T6 telepeken volt jellemző a pihenőboxos, a többi telepen a mélyalmos tartásmód. Az összcsíraszámot illetően nem volt különbség a pihenőboxos és mélyalmos tartásmódú telepekről gyűjtött elegytej minták között. Ami az egyedi tejmintákat illeti, a mélyalmos tartásmódot alkalmazó T4 telepen gyűjtött mintákban több volt az átlag összcsíraszám, mint a pihenőboxos tartásmódot alkalmazó T5 telep mintáiban. A kóliform csíraszámot illetően szintén nem volt különbség a pihenőboxos és mélyalmos tartásmódot alkalmazó telepek elegytej mintái között. A T4 telepen gyűjtött egyedi tejmintákban az összcsíraszámhoz hasonlóan a kóliform szám is több volt a T5 telep mintáihoz képest. Megjegyzendő, hogy a T4 telepen nem végeznek utófertőtlenítést, amely szintén okozhatta a magas összcsíraszámot és kóliform számot. PELES és mtsai. (2008) tanulmányában a tartástechnológia hatását vizsgálták a tej mikrobiológiai állapotára. A vizsgálataik során megállapították, hogy az összcsíraszám szempontjából a nagygazdaságok esetén a pihenőboxos tartásmód a kedvezőbb.

## **4.2. A különböző tényezők hatása a nyerstej mikrobiológiai állapotára**

### *4.2.1. A fajta hatása a napi tejmennyiségre, a nyerstej összetételére és mikrobiológiai paramétereire*

A T5 telepen hasonlítottuk össze két fajta (holstein-fríz és jersey) napi tejmennyiségének és a termelt tej zsír- és fehérjetartalmának, szomatikus sejtszámának, összcsíraszámának,

kóliform és *S. aureus* számának átlag és szórásértékeit (**16. táblázat**). A holstein-fríz egyedek napi tejmenyiségének átlag és szórásértéke  $27,61 \pm 4,78$  kg/nap volt, azaz több ( $P < 0,05$ ), mint a jersey egyedek napi átlagos tejmenyisége ( $17,71 \pm 2,68$  kg/nap).

A szakirodalom szerint a holstein-fríz tehenek tejének zsírtartalma 3,5-4,0%, fehérjetartalma 2,8-3,4% körül alakul, míg a jersey tehenek esetében a tejszírtartalom 5,0-7,0%, a fehérjetartalom 4,0-4,5% (HOLLÓ ÉS SZABÓ, 2016). A kutatásunk során a beféjési adatokból a szakirodalomban összefoglaltakkal egybehangzó eredményeket kaptunk. A holstein-fríz egyedek tejének átlag zsír- és fehérjetartalma ( $4,20 \pm 0,50\%$  és  $3,45 \pm 0,20\%$ ) kevesebbnek ( $P < 0,05$ ) bizonyult, mint a jersey egyedek tejének átlag zsír- és fehérjetartalma ( $5,89 \pm 0,65\%$  és  $4,39 \pm 0,34\%$ ). Az eredményeink azonban többnek bizonyulnak, mint amiket GEARY és mtsai. (2010) foglaltak össze a tanulmányukban. A szerzők azt publikálták, hogy a vizsgált holstein-fríz tehenek tejének zsírtartalma 3,86%, fehérjetartalma 3,34%; a jersey tehenek tejének zsírtartalma 5,33%, fehérjetartalma 4,06% volt.

A jersey tehenektől vett tej átlag szomatikus sejszáma  $186,9 \times 10^3$  ( $5,21 \pm 0,24 \log_{10}$ ) sejt/ml volt, a holstein-fríz tehenek tejjében pedig  $185,1 \times 10^3$  ( $5,17 \pm 0,32 \log_{10}$ ) sejt/ml. Nem tapasztaltunk különbséget ( $P > 0,05$ ) a szomatikus sejszámot illetően a két fajta esetében a beféjési eredmények alapján. Ezzel ellentétben IVANOV és mtsai. (2017) azt az eredményt kapták, hogy a jersey tehenektől vett tejben a szomatikus sejszám több ( $P < 0,05$ ) volt, mint a többi általa vizsgált fajta (holstein-fríz, szimentáli) tejjében. BENDELJA és mtsai. (2011) a tanulmányukban azt publikálták, hogy a szomatikus sejszám több ( $P < 0,001$ ) volt a holstein-fríz tehenektől vett tejmintákban ( $130,6 \times 10^3$  sejt/ml), mint a szimentáli egyedekében ( $90,7 \times 10^3$  sejt/ml).

A holstein-fríz egyedektől vett mintákban az átlag összcsíraszám  $3,2 \times 10^3$  ( $3,26 \pm 0,47 \log_{10}$ ) tke/ml, a jersey tehenektől vett tejmintákban  $2,1 \times 10^3$  ( $3,01 \pm 0,55 \log_{10}$ ) tke/ml volt. A kapott átlag összcsíraszámok között nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget ( $P > 0,05$ ).

A holstein-fríz és a jersey tehenektől vett mintákban az átlag kóliform csíraszámok [ $1,5 \times 10^1$  ( $0,73 \pm 0,60 \log_{10}$ ) tke/ml és  $6,9 \times 10^0$  ( $0,50 \pm 0,50 \log_{10}$ ) tke/ml] között az összcsíraszámhoz hasonlóan nem tapasztalunk különbséget ( $P > 0,05$ ).

BYTYQI és mtsai. (2013) a tanulmányukban szintén nem állapítottak meg jelentős különbséget a különböző fajták (brown swiss, busha, holstein, keresztezett busha és szimentáli fajták) tejjében kapott telepszámok között, azonban a holstein-fríz tehenek tejének jersey tehenek tejjével való összehasonlítását nem végezték el.

A T5 telepen *S. aureus* nem volt detektálható mennyiségben jelen a tehenektől vett tejmintákban.

**16. táblázat:** A holstein-fríz és a jersey fajta egyedektől származó tej termelési paramétereit és mikrobiológiai állapotát (T5 telep)

		Holstein-fríz ( $\bar{x} \pm \sigma$ )	Jersey ( $\bar{x} \pm \sigma$ )
Termelési paraméter	Napi tejmennyiség (kg/nap)	27,61±4,78 <sup>a</sup>	17,71±2,68 <sup>b</sup>
	Zsír tartalom (%)	4,20±0,50 <sup>a</sup>	5,89±0,65 <sup>b</sup>
	Fehérjeteralom (%)	3,45±0,20 <sup>a</sup>	4,39±0,34 <sup>b</sup>
Mikrobiológiai paraméter	Szomatikus sejtszám (log <sub>10</sub> sejt/ml)	5,17±0,32 <sup>a</sup>	5,21±0,24 <sup>a</sup>
	Összcsíraszám (log <sub>10</sub> tke/ml)	3,26±0,47 <sup>a</sup>	3,01±0,55 <sup>a</sup>
	Kóliform csíraszám (log <sub>10</sub> tke/ml)	0,73±0,60 <sup>a</sup>	0,50±0,50 <sup>a</sup>
	<i>Staphylococcus aureus</i> szám (log <sub>10</sub> tke/ml)	<1,00	<1,00

<sup>a, b</sup> A táblázat azonos soraiban a különböző betűkkel jelölt értékek szignifikánsan különböznek (P<0,05)

#### 4.2.2. A laktáció számának hatása a nyerstej termelési és mikrobiológiai paramétereire

A T4 telepen az egyszer és többször ellett tehenek napi tejmennyiségének és a termelt tej zsír- és fehérjeteralmának, szomatikus sejtszámának, összcsíraszámának, kóliform és *S. aureus* számának átlag és szórásértékeit az **17. táblázat** foglalja össze. Az egyszer ellett tehenek átlagos tejmennyisége 25,67 kg/nap volt, míg a többször ellett teheneké 31,04 kg/nap. Szignifikáns különbséget tapasztaltunk (P<0,05), amely megerősíti a BONDAN és mtsai. (2018) és a YANG és mtsai. (2013) által kapott eredményeket, azaz hogy az egyszer ellett tehenek által leadott napi tejmennyiség kevesebb a többször ellett tehenekéhez képest. Ezzel ellentétben GURMESSA és MELAKU (2012) nem tapasztalt különbséget az egyszer és többször ellett keresztezett holstein-fríz tehenek napi tejmennyisége között. PRATAP és mtsai. (2014) szintén nem tapasztaltak különbséget az egyszer és többször ellett tehenek napi átlag tejmennyisége (6,43±1,39 és 5,89±2,37 l/nap) között.

**17. táblázat:** A laktáció szám hatása a nyerstej termelési és mikrobiológiai paramétereire (T4 telep)

		Egyszer ellett ( $\bar{x}\pm\sigma$ )	Többször ellett ( $\bar{x}\pm\sigma$ )
Termelési paraméter	Napi tejmennyiség (kg/nap)	25,67±4,42 <sup>a</sup>	31,04±5,08 <sup>b</sup>
	Zsirtartalom (%)	3,74±0,40 <sup>a</sup>	3,75±0,36 <sup>a</sup>
	Fehérjetartalom (%)	3,24±0,19 <sup>a</sup>	3,31±0,16 <sup>a</sup>
Mikrobiológiai paraméter	Szomatikus sejtszám (log <sub>10</sub> sejt/ml)	5,12±0,42 <sup>a</sup>	5,39±0,39 <sup>b</sup>
	Összcsíraszám (log <sub>10</sub> tke/ml)	3,36±0,58 <sup>a</sup>	3,30±0,59 <sup>a</sup>
	Kóliform csíraszám (log <sub>10</sub> tke/ml)	0,65±0,61 <sup>a</sup>	1,35±1,20 <sup>b</sup>
	<i>Staphylococcus aureus</i> szám (log <sub>10</sub> tke/ml)	<1,00	1,92±0,56

<sup>a, b</sup> A táblázat azonos soraiban a különböző betűkkel jelölt értékek szignifikánsan különböznek (P<0,05)

A vizsgált tehenek első laktációja alatt a tej átlag zsirtartalma 3,74±0,40% volt, mely nem különbözik jelentősen (P>0,05) a többször ellett tehenektől vett tejmintákban realizált átlag zsirtartalomtól, mely 3,75±0,36% volt. Ehhez hasonlóan GURMESSA és MELAKU (2012), továbbá PRATAP és mtsai. (2014) sem állapítottak meg különbséget az egyszer, illetve többször ellett, keresztezett holstein-fríz tehenektől vett tejminták átlag zsirtartalma között. BONDAN és mtsai. (2018) ellenben azt állapították meg, hogy míg az első laktációs tehenektől vett tejben a zsirtartalom 3,47±0,67% volt, a 2-3. laktációs tehenek tejében, valamint a legalább négyszer ellett tehenek tejében 3,43±0,68% és 3,41±0,67% volt, azaz a laktáció szám befolyásoló hatással bírt a tej zsirtartalmára. SHUIEP és mtsai. (2016) Szudánban vizsgálták a helyi és a keresztezett tehenektől vett tej zsirtartalmának változását a laktáció számmal. A helyi teheneket vizsgálva a negyedik laktációs, azaz a többször ellett tehenek esetében volt alacsonyabb a tej zsirtartalma (4,82±0,55%), összehasonlítva a kevesebbszer ellett (1: 5,16±0,32; 2: 5,22±0,34; 3: 5,14±0,34) tehenek tejének zsirtartalmával. Nem tapasztaltak különbséget azonban a keresztezett teheneket vizsgálva. Ellenben YANG és mtsai. (2013) azt tapasztalták, hogy az első laktációs holstein-fríz tehenek esetében volt kevesebb a tej zsirtartalma (3,88%). Arra a következtetésre jutottunk a tanulmányunk, illetve a más külföldi szakirodalmak változatos eredményeit összegezve, hogy a laktáció szám hatásán kívül más egyéb tényező is befolyással lehet a tej zsirtartalmára.

Nem tapasztaltunk jelentős különbséget ( $P>0,05$ ) a kutatómunka során a T4 telepen fejt holstein-fríz tehenek első laktációja alatt vett tejminták átlagos fehérjetartalma ( $3,24\pm 0,19\%$ ), illetve a kettő, vagy annál több laktációjuk alatt vett tejminták átlag fehérjetartalma ( $3,31\pm 0,16\%$ ) között. GURMESSA és MELAKU (2012), továbbá PRATAP és mtsai. (2014) is azt állapították meg a tanulmányukban, hogy nincs különbség az egyszer, illetve a többször ellett tehenek tejének átlag fehérjetartalma között. BONDAN és mtsai. (2018) szerint azonban a laktáció szám befolyással volt a tej fehérjetartalmára az általuk vizsgált holstein-fríz tehenekben. Míg az első laktációs tehenek esetében  $3,24\pm 0,37\%$  volt, a 2-3. laktációs tehenek esetében és a legalább négyszer ellett tehenek esetében  $3,23\pm 0,38\%$  és  $3,19\pm 0,37\%$ . SHUIEP és mtsai. (2016) vizsgálati eredményei azt mutatták, hogy a helyi teheneknél a negyedik laktációs (többször ellett) állatok esetében volt alacsonyabb a tejfehérje tartalom ( $3,67\pm 0,19\%$ ), összehasonlítva a kevesebbszer ellett (1:  $4,01\pm 0,11\%$ ; 2:  $3,82\pm 0,12\%$ ; 3:  $3,84\pm 0,12\%$ ) tehenekkel. A keresztezett fajta esetében azonban nem tapasztaltak különbséget.

Az egyszer ellett tehenek esetében kevesebb ( $P<0,05$ ) volt a tejben az átlag szomatikus sejtszám [ $242,2\times 10^3$  ( $5,12\pm 0,42 \log_{10}$ ) sejt/ml], mint a többször ellett tehenek által leadott tejben [ $356,3\times 10^3$  ( $5,39\pm 0,39 \log_{10}$ ) sejt/ml], de az átlagértékek egyik esetben sem haladták meg a 853/2004/EK rendeletben meghatározott határértéket [ $M=400,0\times 10^3$  ( $5,60 \log_{10}$ ) tke/ml]. Az általunk kapott eredmények alátámasztják a szakirodalmakat. MIKÓ és mtsai. (2015) szerint a tej szomatikus sejtszáma növekedhet a laktációk számával és ezt az megfigyelést YANG és mtsai. (2013) is publikálták a közleményükben. SHELDRAKE és mtsai. (1983) is összefüggést figyeltek meg az ellésszám és a szomatikus sejtszám között. Megállapították, hogy az ellésszám növekedésével az egészséges állatok tőgynegyedei esetében kisebb mértékű változás volt megfigyelhető, azonban a *S. aureus*-szal fertőzött tőgynegyedek esetében jelentősen több lett a szomatikus sejtszám. BONDAN és mtsai. (2018) a tanulmányukban megfigyelték, hogy a holstein tehenek laktáció számának növekedésével a szomatikus sejtszám is több lett. Az egyszer ellett állatok tejében az átlag szomatikus sejtszám  $4,83\pm 1,73 \log_{10}$  sejt/ml, a két-háromszor, valamint a négy, vagy annál többször ellett tehenek esetében  $5,31\pm 1,72 \log_{10}$  sejt/ml és  $5,84\pm 1,62 \log_{10}$  sejt/ml volt.

Az első laktációs holstein-fríz tehenek tejmintáiban az átlag összcsíraszám  $5,1\times 10^3$  ( $3,36\pm 0,58 \log_{10}$ ) tke/ml volt, a kettő, vagy annál több laktációjukban lévő tehenektől vett tejmintákban pedig  $4,6\times 10^3$  ( $3,30\pm 0,59 \log_{10}$ ) tke/ml; a különbség nem volt szignifikáns ( $P>0,05$ ).

Az átlag kóliform csíraszám [ $1,1\times 10^3$  ( $1,35\pm 1,20 \log_{10}$ ) tke/ml] azonban több ( $P<0,05$ ) volt a többször ellett tehenek tejében, mint az egyszer ellett tehenek tejében [ $1,1\times 10^1$

( $0,65 \pm 0,61$ )  $\log_{10}$  tke/ml]. TENHAGEN és mtsai. (2006) a tanulmányukba klinikailag egészséges, egyszer és többször ellett teheneket vontak be és megállapították, hogy bár nagyobb arányban fordultak elő a kóliform baktériumok a többször ellett tehenek tejében, nem volt tapasztalható jelentős különbség. Összcsíraszámot nem vizsgáltak a tanulmányukban, ezért az erre vonatkozó eredményeink egyedülállóak.

*S. aureus* a 26 közül egy egyszer ellett egyedtől származó tejmintában sem fordult elő, a 36 többször ellett egyedtől vett minta közül pedig hét tejmintában (19%). A hét tejmintában az átlag *S. aureus* szám  $1,6 \times 10^2$  ( $1,92 \pm 0,60 \log_{10}$ ) tke/ml volt. Mivel az egyszer ellett tehenek esetében nem fordult elő *S. aureus* pozitív minta, nem volt lehetőség szignifikancia számítására. Az értékek a 4/1998. (XI. 11.) EüM rendeletben meghatározott határértéket [ $M=5,0 \times 10^2$  ( $2,70 \log_{10}$ ) tke/ml] nem haladták meg. TESSEMA (2016) a publikációjában szintén megfogalmazta, hogy a *S. aureus* előfordulása nagyobb a több mint kétszer ellett tehenek (amelyek a California Mastitis Testtel pozitívak voltak) esetében. TENHAGEN és mtsai. (2006) szerint a *S. aureus* előfordulása az állatok életkorával és a laktáció stádiumával növekedést mutat.

#### 4.2.3. A laktáció stádiumainak hatása a nyerstej termelési és mikrobiológiai paramétereire

A **18. táblázat** foglalja össze a korai, közép és késői laktációs stádiumban lévő, T4 telepen fejt tehenek napi tejmennyiségének és az általuk termelt tej zsír- és fehérjetartalmának, a szomatikus sejtszámának, az összcsíraszámának, a kóliform és *S. aureus* számának átlag és szórásértékeit. A napi tejmennyiségnek a laktáció stádiumával való változásának vizsgálata során azt az eredményt kaptuk, hogy a laktáció előrehaladtával a napi termelt tej mennyisége csökken. A T4 telepen igazolódott tehát ez a szakirodalomban is megtalálható megállapítás. A laktációjuk első stádiumában lévő tehenek átlagos napi tejmennyisége  $32,10 \pm 4,73$  kg/nap volt, a laktáció középső stádiumában tartó teheneké  $29,08 \pm 5,09$  kg/nap, a laktáció végén lévő teheneké pedig  $23,36 \pm 3,63$  kg/nap. Az átlagértékek között szignifikáns ( $P < 0,05$ ) differencia volt tapasztalható. BONDAN és mtsai. (2018) hasonló eredményeket realizáltak a tanulmányukban. A vizsgálatuk tárgyát képező holstein-fríz egyedek laktációjának 6. és 60. napja között a napi tejmennyiség átlagosan  $29,4 \pm 8,72$  l/tehen/nap volt. A laktáció 61-120. napján tartó teheneknek  $29,2 \pm 8,66$  l/tehen/nap, a laktáció 121-220. napján tartó teheneknek pedig  $26,2 \pm 8,01$  l/tehen/nap volt, a laktáció utolsó stádiumában ( $>220$  nap) pedig  $22,0 \pm 7,49$  l/tehen/nap. GURMESSA és MELAKU (2012) és PRATAP és mtsai. (2014) is hasonló következtetést vontak le a tanulmányukban. A vizsgált egyedek laktációjának elején több volt

a napi tejmenyiség ( $6,81 \pm 1,45$  l/nap), mint a laktációjuk végén ( $5,48 \pm 0,05$  l/nap). A kutatásaik alatt a laktáció középső stádiumában tartó keresztezett holstein-fríz tehének napi tejmenyisége ( $7,17 \pm 0,05$  l/nap) volt a legtöbb. AULDIST és mtsai. (1998) közleményében az olvasható, hogy a laktáció stádium tejmenyiségre gyakorolt hatása abból eredhet, hogy az emlőmirigyeken belül a szekréciós sejtek mennyisége és aktivitása fiziológiai okokból változhatnak.

**18. táblázat:** A laktáció stádiumok hatása a nyerstej termelési és mikrobiológiai paramétereire (T4 telep)

		Laktáció stádiuma		
		Eleje ( $\bar{x} \pm \sigma$ )	Középe ( $\bar{x} \pm \sigma$ )	Vége ( $\bar{x} \pm \sigma$ )
Termelési paraméter	Napi tejmenyiség (kg/nap)	$32,10 \pm 4,73^a$	$29,08 \pm 5,09^b$	$23,36 \pm 3,63^c$
	Zsírtartalom (%)	$3,65 \pm 0,43^a$	$3,59 \pm 0,41^a$	$3,99 \pm 0,47^b$
	Fehérjetartalom (%)	$3,08 \pm 0,15^a$	$3,20 \pm 0,19^b$	$3,56 \pm 0,20^c$
Mikrobiológiai paraméter	Szomatikus sejttség ( $\log_{10}$ sejt/ml)	$5,07 \pm 0,43^a$	$5,28 \pm 0,50^{a,b}$	$5,33 \pm 0,41^b$
	Összcsíraszám ( $\log_{10}$ tke/ml)	$3,42 \pm 0,67^a$	$3,39 \pm 0,46^a$	$3,13 \pm 0,56^a$
	Kóliform csíraszám ( $\log_{10}$ tke/ml)	$1,30 \pm 1,23^a$	$0,76 \pm 0,79^a$	$0,90 \pm 0,94^a$
	<i>Staphylococcus aureus</i> szám ( $\log_{10}$ tke/ml)	$1,81 \pm 0,56$	1,91	$2,15 \pm 0,70$

<sup>a, b, c</sup> A táblázat azonos soraiban a különböző betűkkel jelölt értékek szignifikánsan különböznek ( $P < 0,05$ )

A T4 telepen a vizsgálatokhoz kiválasztott tehének tejének zsírtartalma a laktáció vége felé haladva változott. A laktáció első, illetve középső stádiumában járó tehének tejének zsírtartalma átlagosan  $3,65 \pm 0,43\%$  és  $3,59 \pm 0,41\%$  volt, amelyek kevesebbnek ( $P < 0,05$ ) bizonyultak, mint a laktáció késői stádiumában lévő tehének tejében mért zsírtartalom ( $3,99 \pm 0,47\%$ ). Az, hogy a tejszír koncentrációja megnő a tejben a laktáció későbbi stádiumaiban, összefügghet a laktáció előrehaladásakor tapasztalható tejhozam csökkenéssel, ugyanis a tej csökkenő mennyiségének koncentráló hatása lehet a tej összetételét tekintve.

GURMESSA és MELAKU (2012) szerzők szerint is különbség figyelhető meg az állatok laktációjának különböző stádiumaiban a zsírtartalommal illetően. A laktációjuk első és végső szakaszaiban járó tehenek esetében a tej átlagos zsírtartalma ( $4,46 \pm 1,44\%$  és  $4,46 \pm 1,44\%$ ) jelentősen többnek bizonyult azon egyedek tejéhez ( $3,70 \pm 0,89\%$ ) képest, amelyek a laktációjuk közepén tartanak. BONDAN és mtsai. (2018) is azt tapasztalták a kutatásaik során, hogy a laktáció végén (>200 nap) több a tej zsírtartalma ( $3,55 \pm 0,67\%$ ), mint a laktáció korábbi szakaszaiban. Azonban azt is megállapították, hogy az állatok laktációjának 61. és 120. napja közötti időszakban volt a legkevesebb az átlagos zsírtartalom ( $3,30 \pm 0,66\%$ ), a laktáció 6. és 60., valamint a 121. és 220. napok közötti időszakban  $3,40 \pm 0,65\%$  és  $3,40 \pm 0,66\%$  volt az átlag zsírtartalom. SHUIEP és mtsai. (2016) Szudánban a helyi és keresztezett tehenek esetében kutatták a tejzsírtartalommal előforduló változásokat a laktáció stádiummal. A helyi fajta esetében nem tapasztaltak különbséget a zsírtartalommal a laktáció elején ( $5,31 \pm 0,51\%$ ), közepén ( $4,67 \pm 1,56\%$ ) és végén ( $5,28 \pm 0,75\%$ ). A keresztezett tehenek esetében viszont a laktáció kései stádiumában több volt a zsírtartalom ( $4,45 \pm 1,43\%$ ), mint az állatok laktációjának elején ( $3,41 \pm 1,09\%$ ) és közepén ( $3,33 \pm 1,05\%$ ).

A zsírtartalomhoz hasonlóan a fehérjetartalommal kapcsolatban is elmondható a T4 telep esetében, hogy változás figyelhető meg a laktáció előrehaladtával. A tehenek laktációjának elején mért fehérjetartalom értékek átlaga  $3,08 \pm 0,15\%$  volt, a laktáció középső stádiumában  $3,20 \pm 0,19\%$ , a laktáció végén pedig  $3,56 \pm 0,20\%$ . A különbség szignifikáns ( $P < 0,05$ ). BONDAN és mtsai. (2018) hasonló eredményeket kaptak: a laktáció késői stádiumában (>200 nap) nagyobb fehérjetartalmat ( $3,41 \pm 0,36\%$ ) kaptak, mint a laktáció korábbi szakaszaiban. Azt is megfigyelték továbbá, hogy a tehenek laktációjának 61. és 120. napja közötti időszakban volt a legkevesebb az átlag fehérjetartalom ( $3,03 \pm 0,31\%$ ), a laktáció 6. és 60., illetve a 121. és 220. napok közötti időszakban  $3,05 \pm 0,36\%$  és  $3,18 \pm 0,32\%$  átlag fehérjetartalmat kaptak. GURMESSA és MELAKU (2012), valamint PRATAP és mtsai. (2014) nem tapasztaltak különbséget a laktáció elején ( $3,55 \pm 1,43\%$ ), közepén ( $3,17 \pm 0,15\%$ ) és végén ( $3,33 \pm 0,16\%$ ) lévő tehenek tejének fehérjetartalmát illetően. SHUIEP és mtsai. (2016) Szudánban a helyi és keresztezett tehenek esetében vizsgálták a tej fehérjetartalmának laktáció stádiumaival való változását. A helyi fajta esetében a laktáció elején ( $3,87 \pm 0,52\%$ ) és közepén ( $3,91 \pm 0,18\%$ ) több volt a tehenek tejének fehérjetartalma, mint a laktációjuk végén ( $3,67 \pm 0,17\%$ ). A keresztezett tehenek esetében nem volt különbség a laktáció elején ( $3,67 \pm 0,17\%$ ), közepén ( $3,69 \pm 0,16\%$ ) és végén ( $3,63 \pm 0,22\%$ ) a fehérjetartalommal illetően.

A T4 telepen kiválasztott tehenek laktációjának elején a szomatikus sejt szám átlaga  $195,1 \times 10^3$  ( $5,07 \pm 0,43 \log_{10}$ ) sejt/ml, a laktáció középső stádiumában  $370,6 \times 10^3$  ( $5,28 \pm 0,50$

$\log_{10}$ ) sejt/ml, a késői stádiumban  $336,4 \times 10^3$  ( $5,33 \pm 0,41 \log_{10}$ ) sejt/ml volt. A laktációjuk végén lévő egyedek tejében több ( $P < 0,05$ ) volt a szomatikus sejtszám, mint a laktáció korai stádiumában lévő tehenek tejében. BONDAN és mtsai. (2018) véleménye is az, hogy a laktáció előrehaladtával a szomatikus sejtszám is növekszik a tejben. Míg azon holstein-fríz tehenek tejében, melyek laktációjuk 6. és 60. napja között jártak, az átlag szomatikus sejtszám  $4,79 \pm 1,90 \log_{10}$  sejt/ml volt, a laktációjuk 61. és 120. napja között  $4,89 \pm 1,90 \log_{10}$  sejt/ml, a laktáció 121. és 220. napja között pedig  $5,21 \pm 1,75 \log_{10}$  sejt/ml. A 220. napnál tovább tartó laktáció esetében pedig a tejben az átlag szomatikus sejtszám  $5,53 \pm 1,53 \log_{10}$  sejt/ml volt.

Összevetettük a T4 telepen tartott holstein-fríz tehenek laktációjának különböző stádiumaiban vett tej összecsíraszámát is. A laktáció korai stádiumában az átlag összecsíraszám  $6,8 \times 10^3$  ( $3,42 \pm 0,67 \log_{10}$ ) tke/ml volt, a laktáció közepén  $4,4 \times 10^3$  ( $3,39 \pm 0,46 \log_{10}$ ) tke/ml, a laktáció végén  $2,7 \times 10^3$  ( $3,13 \pm 0,56 \log_{10}$ ) tke/ml. A kapott átlagértékek között nincs statisztikailag igazolt különbség ( $P > 0,05$ ).

A legnagyobb átlag kóliform baktérium telepszámot [ $1,3 \times 10^3$  ( $1,30 \pm 1,23 \log_{10}$ ) tke/ml] a T4 telepen tartott tehenek laktációjának elején gyűjtött mintákban detektáltuk, a legkevesebbet [ $2,2 \times 10^1$  ( $0,76 \pm 0,79 \log_{10}$ ) tke/ml] pedig a laktáció közepén gyűjtött mintákból. A laktáció késői stádiumában gyűjtött mintákban az átlagos kóliform csíraszám  $1,50 \times 10^2$  ( $0,90 \pm 0,94 \log_{10}$ ) tke/ml volt. Nem tapasztaltunk jelentős különbséget ( $P > 0,05$ ) az értékek között.

*S. aureus* a 62 darab egyedtől vett tejmintából összesen kilenc (14,52%) tejmintában fordult elő, az átlag telepszám  $1,4 \times 10^2$  ( $1,89 \pm 0,53 \log_{10}$ ) tke/ml volt. A 23-ból hat (26,09%) laktáció elején vett egyedi tejben az átlag *S. aureus* szám  $1,2 \times 10^2$  ( $1,81 \pm 0,56 \log_{10}$ ) tke/ml volt, a tehenek laktációjának közepén vett 21 mintából egy (4,76%) minta esetében a *S. aureus* szám  $8,2 \times 10^1$  ( $1,91 \log_{10}$ ) tke/ml volt, a laktáció végén vett 18 tejmintából kettő (11,11%) minta esetében pedig  $2,4 \times 10^2$  ( $2,15 \pm 0,70 \log_{10}$ ) tke/ml. A pozitív minták kevés száma miatt nem volt lehetőség szignifikancia számítására.

A T5 telepen a holstein-fríz tehenek esetében is vizsgáltuk a laktáció stádium tejmenyiségre, a tej összetételére és mikrobiológiai paramétereire gyakorolt hatását (**19. táblázat**). A napi tejmenyiségnek a laktáció stádiumával való változásának vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a laktáció vége felé haladva a napi termelt tej mennyisége csökken. A hazai nagyüzemi T5 telepen is igazolódott tehát ez a szakirodalomban is megtalálható megállapítás. A laktációjuk első stádiumában a tehenek átlagos napi tejmenyisége  $31,74 \pm 5,48$  kg/nap volt, a laktáció középső stádiumában  $27,46 \pm 5,09$  kg/nap, a laktáció végén pedig  $20,41 \pm 3,84$  kg/nap. A laktáció végén jelentősen kevesebb ( $P < 0,05$ ) volt az átlagos napi tejmenyiség, mint a laktáció elején és közepén.

**19. táblázat:** A laktáció stádiumok hatása a nyerstej termelési és mikrobiológiai paramétereire (T5 telep)

		Laktáció stádiuma		
		Eleje ( $\bar{x}\pm\sigma$ )	Közepe ( $\bar{x}\pm\sigma$ )	Vége ( $\bar{x}\pm\sigma$ )
Termelési paraméter	Napi tejmennyiség (kg/nap)	31,74±5,48 <sup>a</sup>	27,46±5,09 <sup>a</sup>	20,41±3,84 <sup>b</sup>
	Zsírtartalom (%)	4,07±0,50 <sup>a</sup>	4,18±0,61 <sup>a</sup>	4,49±0,73 <sup>a</sup>
	Fehérjetartalom (%)	3,32±0,22 <sup>a</sup>	3,47±0,22 <sup>a</sup>	3,64±0,27 <sup>b</sup>
Mikrobiológiai paraméter	Szomatikus sejtszám (log <sub>10</sub> sejt/ml)	5,12±0,39 <sup>a</sup>	5,06±0,29 <sup>a</sup>	5,15±0,45 <sup>a</sup>
	Összcsíraszám (log <sub>10</sub> tke/ml)	3,08±0,50 <sup>a</sup>	3,42±0,35 <sup>a</sup>	3,53±0,65 <sup>a</sup>
	Kóliform csíraszám (log <sub>10</sub> tke/ml)	0,63±0,47 <sup>a</sup>	0,75±0,75 <sup>a</sup>	0,80±0,57 <sup>a</sup>
	<i>Staphylococcus aureus</i> szám (log <sub>10</sub> tke/ml)	<1,00	<1,00	<1,00

<sup>a, b</sup> A táblázat azonos soraiban a különböző betűkkel jelölt értékek szignifikánsan különböznek (P<0,05)

A T5 telepen a vizsgált egyedek tejének zsírtartalma a laktációk vége felé haladva növekedést mutat, de nincs jelentős különbség (P<0,05) az átlagértékek között. A laktáció elején a tej zsírtartalma 4,07±0,50%, a közepén átlagosan 4,18±0,61%, a végén 4,49±0,73% volt.

A T5 telepen fejt egyedek tejének fehérjetartalma esetében elmondható, hogy változás figyelhető meg a laktáció végén az átlagértéket tekintve. A laktáció elején mért átlag fehérjetartalom 3,32±0,22%, a laktáció közepén 3,47±0,22%, a laktáció végén 3,64±0,27% volt, mely szignifikánsan több (P<0,05), mint a laktáció elején és közepén kapott átlagérték. Az, hogy a laktáció végén a fehérje koncentrációja megnőtt a tejben, összefüggésbe hozható azzal, hogy a laktáció végén a tejhozam jelentősen lecsökkent, aminek koncentráló hatása lett a tej összetételére nézve.

A T5 telepen kiválasztott egyedek laktációjának korai stádiumában az átlag szomatikus sejtszám  $180,7 \times 10^3$  (5,12±0,39 log<sub>10</sub>) sejt/ml, a laktáció közepén  $142,8 \times 10^3$  (5,06±0,29 log<sub>10</sub>)

sejt/ml, a késői laktációs stádiumban  $226,7 \times 10^3$  ( $5,15 \pm 0,45 \log_{10}$ ) sejt/ml volt. Nem tapasztaltunk jelentős különbséget ( $P > 0,05$ ) az átlag szomatikus sejtszám értékek között.

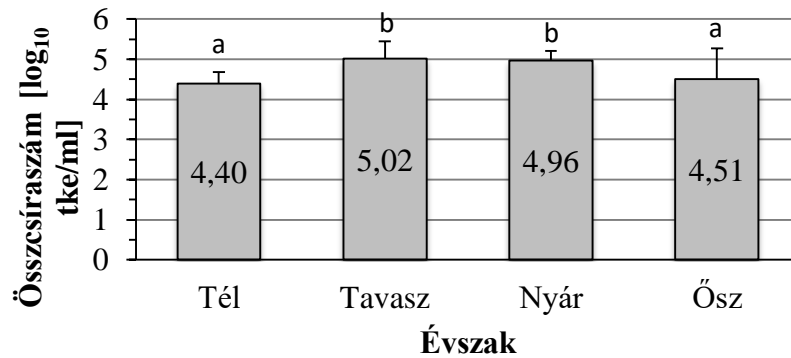
A T4 telephez hasonlóan a T5 telep esetében is azt tapasztaltuk, hogy a laktáció stádiumaiban nem változott jelentősen ( $P > 0,05$ ) az összcsíraszám átlagértéke. A laktáció elején tartó tehenek tejében az átlag összcsíraszám  $2,0 \times 10^3$  ( $3,08 \pm 0,50 \log_{10}$ ) tke/ml volt, a laktáció közepén  $3,5 \times 10^3$  ( $3,42 \pm 0,35 \log_{10}$ ) tke/ml, a laktáció végén pedig  $8,2 \times 10^3$  ( $3,53 \pm 0,65 \log_{10}$ ) tke/ml.

A T4 telephez, valamint az összcsíraszámhoz hasonlóan a T5 telepen sem tapasztaltunk különbséget a kólifform csíraszámot illetően az átlag telepszámok között. A laktáció elején tartó tehenek tejében az átlag kólifform csíraszám  $6,7 \times 10^0$  ( $0,63 \pm 0,47 \log_{10}$ ) tke/ml, a laktáció közepén  $2,4 \times 10^1$  ( $0,75 \pm 0,75 \log_{10}$ ) tke/ml, a laktáció végén pedig  $1,1 \times 10^1$  ( $0,80 \pm 0,57 \log_{10}$ ) tke/ml volt.

*S. aureus* nem fordult elő a T5 telepről vett egyedi tejmintákban.

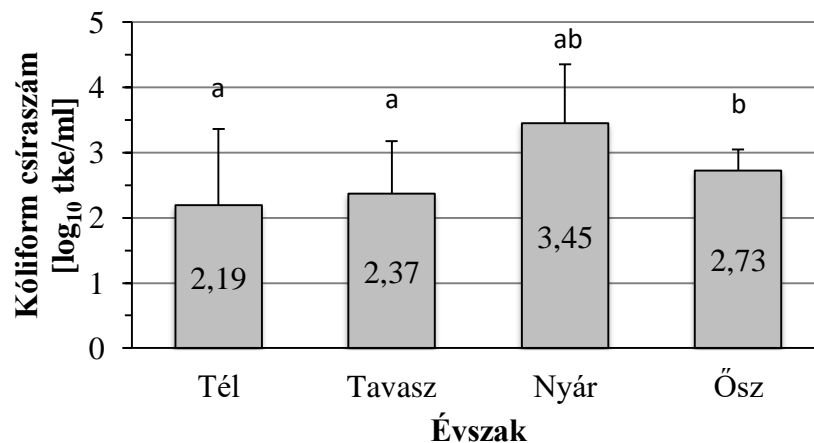
#### 4.2.4. Az évszak hatása a nyerstej mikrobiológiai állapotára

A télen gyűjtött elegytej mintákban az átlag összcsíraszám  $3,3 \times 10^4$  ( $4,40 \pm 0,29 \log_{10}$ ) tke/ml volt, az ősszel összegyűjtött mintákban  $1,9 \times 10^5$  ( $4,51 \pm 0,76 \log_{10}$ ) tke/ml (**4. ábra**). Szignifikáns különbség nem volt tapasztalható ( $P > 0,05$ ). Az átlag összcsíraszám azonban kevesebb ( $P < 0,05$ ) volt a télen és ősszel gyűjtött mintákban, mint a tavasszal és nyáron gyűjtött tejmintákban. A tavasszal és nyáron gyűjtött mintákban az átlag összcsíraszám  $1,6 \times 10^5$  ( $5,02 \pm 0,43 \log_{10}$ ) tke/ml, illetve  $1,1 \times 10^5$  ( $4,96 \pm 0,25 \log_{10}$ ) tke/ml volt. Összesen 39 (35%) mintában az átlag összcsíraszám több volt, mint a rendeletben meghatározott visszautasítási határérték. Az átlag összcsíraszám azonban meghaladta a határértéket a tavaszi minták 59%-ában, a nyári minták 52%-ában, az őszi minták 19% -ában és a téli minták 11%-ában (**20. táblázat**).



**4. ábra:** Az elegytej összcsíraszámának alakulása a különböző évszakokban (T1-T5)  
 a, b: A különböző jelzéssel ellátott átlagok különböznek egymástól (P<0,05)

A legnagyobb átlag kóliform baktérium csíraszám [ $1,4 \times 10^4$  ( $3,45 \pm 0,90 \log_{10}$ ) tke/ml] a nyáron vett tejmintákban fordult elő. Jelentős különbséget (P<0,05) tapasztaltunk a télen [ $1,8 \times 10^3$  ( $2,19 \pm 1,17 \log_{10}$ ) tke/ml] és nyáron gyűjtött mintákban kapott értékek között. Az ősszel gyűjtött mintákban az átlag kóliform csíraszám  $6,8 \times 10^2$  ( $2,73 \pm 0,32 \log_{10}$ ) tke/ml volt, a tavasszal gyűjtött mintákban  $5,6 \times 10^2$  ( $2,37 \pm 0,81 \log_{10}$ ) tke/ml volt (**5. ábra**). A télen gyűjtött minták felénél a telepszám az „M” értéknél kevesebb volt. A tavaszi minták 81%-ában, valamint a nyáron és ősszel gyűjtött minták mindegyikében az átlag kóliform csíraszám meghaladta az „M” értéket. Összességében a minták 83%-ában határérték feletti mennyiségben volt kimutatható a kóliform baktérium (**20. táblázat**).



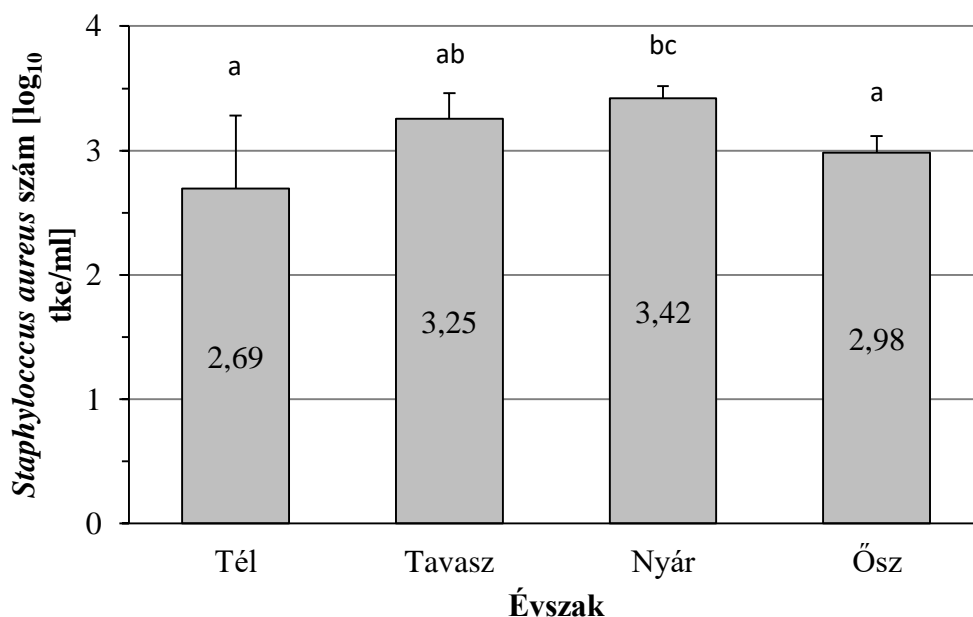
**5. ábra:** Az elegytej kóliform csíraszámának alakulása a különböző évszakokban (T1-T5)  
 a, b: A különböző jelzéssel ellátott átlagok különböznek egymástól (P<0,05)

**20. táblázat:** A tejtermelő telepekről (T1-T5) gyűjtött elegytej minták száma és százalékos aránya, amelyekben a telepszámok meghaladták a rendeletben meghatározott határértékeket

Mikrobiológiai paraméter	A nem megfelelő elegytej minták száma és százalékos aránya				„M” érték (log <sub>10</sub> tke/ml)	Szabályozás
	Tél	Tavaszi	Nyár	Ősz		
Összcsíraszám	3 (14)	16 (59)	15 (52)	5 (19)	5,00	853/2004/EK
Kóliform csíraszám	8 (36)	22 (81)	29 (100)	26 (100)	2,00	4/1998. (XI.11.) EüM rendelet
<i>Staphylococcus aureus</i> szám	22 (100)	27 (100)	29 (100)	26 (100)	2,07	4/1998. (XI.11.) EüM rendelet

A kóliform baktériumok elsődleges forrása a bélsár, az alom, illetve a nem megfelelően megtisztított tejgyűjtő és -tároló eszközök felülete (MURPHY és mtsai., 2001: cit. MOHAMED és EL ZUBEIR, 2007). A kutatómunkánk során a kóliform baktériumok nagy mennyisége az elegytejben tehát azt feltételezi, hogy a tejtermelő telepek nem megfelelő tejgyűjtési és kezelési gyakorlatai a tej kóliform baktériumokkal való szennyeződését okozhatták. CZISZTER és mtsai. (2012) az évszakok többek között a kóliform csíraszámra gyakorolt hatását tanulmányozták és megállapították, hogy a kóliform baktériumok a tavasszal gyűjtött mintákban fordultak elő a legnagyobb koncentrációban (0,9 tke/ml), a téli mintákban pedig a legkisebb koncentrációban (0,75 tke/ml).

Három tejtermelő telepről (T1, T2, T5) vett elegytej mintákban a *S. aureus* kevesebb, mint 1,00 log<sub>10</sub> tke/ml mennyiségben fordult elő. A további két tejtermelő telep (T3, T4) esetében a legnagyobb átlag *S. aureus* számot [ $2,7 \times 10^3$  (3,42±0,10 log<sub>10</sub>) tke/ml] a nyáron vett mintákban, a legkevesebb átlag telepszámot a télen [ $9,3 \times 10^2$  (2,69±0,59 log<sub>10</sub>) tke/ml] és az ősszel [ $1,0 \times 10^3$  (2,98±0,13 log<sub>10</sub>) tke/ml] vett mintákban kaptuk (**6. ábra**). Különbséget tapasztaltunk (P<0,05) az ezen hónapokban gyűjtött mintákban kapott értékek között. Mind a két telep esetében valamennyi elegytej mintában az átlag *S. aureus* szám meghaladta a rendeletben meghatározott „M” értéket (**20. táblázat**).



**6. ábra:** Az elegytej *Staphylococcus aureus* számának alakulása a különböző évszakokban (T1-T5)

a, b, c: A különböző jelzéssel ellátott átlagok különböznek egymástól (P<0,05)

ZEINHOM és mtsai. (2016) megállapították a tanulmányukban, hogy a szomatikus sejtszám és a kórokozó mikroorganizmusok mennyisége a nyáron vett tejmintákban növekedést mutattak, miközben a tejmennyiség csökkent. A szerzők szerint ez a jelenség összefüggésben volt a hőstresszel. A hőstressz egyik következménye lehet a tőgy fertőzőes megbetegedése, például a *S. aureus* által okozott fertőzés. A legmagasabb *S. aureus* telepszámot a nyár folyamán detektáltuk a vizsgálataink során, amely összefüggésben állhat a tehenek nyáron előforduló hőstresszével a kedvezőtlen időjárási viszonyok (magas hőmérséklet és páratartalom) miatt.

#### 4.3. A mintákból izolált *Staphylococcus aureus* törzsek főbb tulajdonságai

A vizsgálataink során a vizsgált, *S. aureus* jelenlétére pozitív mintákból 49 *S. aureus* törzset választottunk ki további vizsgálatok céljára, melyek közül 42 elegytejből, 7 egyedi tejből származott. Valamennyi általunk vizsgált törzs esetében a latex agglutinációs teszt pozitívnak bizonyult, továbbá a termonukleáz enzim termelődésére utaló *nuc* gén jelenlétét is kimutattuk a PCR vizsgálatok során (**3. melléklet**). A T3 telepen vett tejmintákból 18 törzset, a T4 telepen vett mintákból 31 törzset izoláltunk.

A T3 telepről vett tejmintákból izolált 18 törzs közül 15 törzs (83%) sötétszürke, három törzs (17%) fekete volt a BP táptalajon, és a telepek körül feltisztult zónák voltak. Ezek az eredmények összhangban vannak a PELES és mtsai. (2007b) tanulmányában kapott eredményekkel, ugyanis a szerzők által ugyanabból a gazdaságból (LF5) gyűjtött hat *S. aureus* izolátum hasonló tulajdonságokkal rendelkezett. A T3 telepről gyűjtött törzsek mindegyike esetében a kataláz teszt pozitív volt, az oxidáz teszt negatív.

A T4 telepről gyűjtött 31 közül huszonhárom *S. aureus* izolátum (74%) fekete, nyolc izolátum (26%) sötétszürke volt a BP agaron. Ezenkívül a telepek körül feltisztult zónákat is megfigyeltünk. Ezek az eredmények összhangban vannak PELES és mtsai. (2007b) eredményeivel, ugyanis az azonos telepről (LF3) gyűjtött négy *S. aureus* izolátum hasonló tulajdonságokkal rendelkezett. Vizsgálatunk során a T4 telep nyerstejéből izolált összes *S. aureus* törzs kataláz pozitív és oxidáz negatív volt.

#### 4.3.1. A *Staphylococcus aureus* izolátumok azonosításának eredményei

A MALDI-TOF tömegspektrométerrel végzett vizsgálatok eredményei (a legjobb pontszám és a legjobban illeszkedő izolátum) alapján az összes T3 telepről származó törzset *S. aureus*-ként azonosítottuk, és az izolátumok (az SA57A, SA57B és SA57C kivételével) három *S. aureus* referencia törzs (1: *S. aureus* subsp. *aureus* DSM 20231T; 2: *S. aureus* subsp. *aureus* DSM 799; 3: *S. aureus* ATCC 33862 THL) spektrumával egyeztek meg a Bruker MALDI Biotyper adatbázisban. Valamennyi izolátum (az SA57B kivételével) esetében az MS legjobb pontszám 2,300-nál több volt, azaz a faji szintű azonosítás megbízhatónak tekinthető (**21. táblázat**). Az SA57B esetében az MS legjobb pontszám 2,270 volt, tehát a nemzetség szintű azonosítás megvalósult, de a faji szintű azonosítás csak valószínű eredményt adott.

A T4 telepről gyűjtött izolátumokat a MALDI-TOF tömegspektrométerrel történő vizsgálat során szintén *S. aureus*-ként azonosítottuk a legjobb pontszám és a legjobban illeszkedő izolátum alapján. A törzsek négy *S. aureus* referencia törzs (1: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* DSM 20231T; 2: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* DSM 799; 3: *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 THL; 4: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* DSM 3463 DSM) spektrumával egyeztek meg a Bruker MALDI Biotyper adatbázisban (**22. táblázat**).

**21. táblázat:** *Staphylococcus aureus* törzsek azonosításának és *spa* tipizálásának eredményei (T3 telep)

#	Törzs azonosító kód	Legjobb pontszám	Ref. törzs (legjobb egyezés)*	<i>spa</i> típus	<i>spa</i> ismétlések
1.	SA7	2,414	1	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
2.	SA33	2.361	1	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
3.	SA34	2.374	1	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
4.	SA35A	2.369	1	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
5.	SA35B	2.374	2	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
6.	SA39A	2.342	1	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
7.	SA39B	2.312	3	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
8.	SA44	2.419	2	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
9.	SA45	2.359	1	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
10.	SA53A	2.318	1	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
11.	SA53B	2.410	1	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
12.	SA53D	2.305	2	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
13.	SA54A	2.302	2	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
14.	SA54B	2.371	2	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
15.	SA54C	2.500	1	t1987	r07r06r17r21r34
16.	SA57A	2.333	-	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
17.	SA57B	2.270	-	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34
18.	SA57C	2.417	-	t164	r07r06r17r21r34r34r22r34

\*1: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* DSM 20231T; 2: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* DSM 799; 3: *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 THL.

**22. táblázat:** *Staphylococcus aureus* törzsek azonosításának és *spa* tipizálásának eredményei  
(T4 telep)

#	Törzs azonosító kód	Minta típus	Legjobb pontszám	Ref. törzs (legjobb egyezés)*	<i>spa</i> típus	<i>spa</i> ismétlések
1.	SA4	Elegytej	2,445	4	t693	r07
2.	SA5	Elegytej	2,473	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
3.	SA26A	Elegytej	2,400	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
4.	SA26B	Elegytej	2,451	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
5.	SA27A	Elegytej	2,390	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
6.	SA27B	Elegytej	2,402	1	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
7.	SA27C	Elegytej	2,434	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
8.	SA28	Elegytej	2,371	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
9.	SA29	Elegytej	2,387	1	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
10.	SA30A	Elegytej	2,427	1	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
11.	SA30B	Elegytej	2,396	1	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
12.	SA31A	Elegytej	2,409	1	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
13.	SA31B	Elegytej	2,403	3	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
14.	SA32A	Elegytej	2,506	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
15.	SA32B	Elegytej	2,459	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
16.	SA38A	Elegytej	2,325	3	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
17.	SA38B	Elegytej	2,328	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
18.	SA40A	Elegytej	2,356	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
19.	SA41A	Elegytej	2,382	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
20.	SA41B	Elegytej	2,425	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
21.	SA41C	Elegytej	2,396	1	t693	r07
22.	SA48A	Elegytej	2,432	1	t359	r07r23r12r21r17r34r34r33r34
23.	SA48B	Elegytej	2,399	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
24.	SA56A	Elegytej	2,474	1	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
25.	SA9503a	Egyedi tej	2,358	3	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
26.	SA9325a	Egyedi tej	2,445	1	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
27.	SA8582a	Egyedi tej	2,469	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
28.	SA9736a	Egyedi tej	2,480	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
29.	SA9979a	Egyedi tej	2,350	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
30.	SA8834a	Egyedi tej	2,372	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34
31.	SA9736.2	Egyedi tej	2,361	2	t267	r07r23r12r21r17r34r34r34r33r34

\*1: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* DSM 20231T; 2: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* DSM 799; 3: *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 THL; 4: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* DSM 3463 DSM

#### 4.3.2. A *Staphylococcus aureus* izolátumok *spa* típusának meghatározásának eredményei

A T3 telepről vett elegytej mintákból származó 18 izolátum között két *spa* típust (t164 és t1987) azonosítottunk. A t164 *spa* típusnak nyolc, a t1987 *spa* típusnak pedig öt *spa* ismétlése volt (**21. táblázat**). A vizsgálatok során kimutatott *spa* típusok a Ridom Staphtype szoftver BURP algoritmus szerint nem tartoztak azonos klaszterbe. A leggyakoribb *spa* típus a t164 volt; 17/18 törzs (94%) tartozott ebbe a típusba. Az SA54C törzs *spa* típusa t1987 volt, amely csak három *spa* ismétlésben (r34r22r34) különbözött a t164 törzstől. Kutatásaik során HWANG és mtsai. (2010) a hasonló *spa* típusokat (t164 és t1987) egy klaszterbe sorolták és kijelentették, hogy minden egyes klaszterben az izolátumok között evolúciós összefüggés mutatható ki. Vizsgálataikkal ellentétben továbbá azt tapasztaltuk, hogy egyetlen tejtermelő telepen egynél több *spa* típust lehetett detektálni.

A T4 telepről vett elegytej mintákból gyűjtött 24 *S. aureus* törzs esetében három *spa* típust (t267, t359, t693) azonosítottunk (**22. táblázat**). Az egyedi tejmintákból izolált mind a hét *S. aureus* törzs a t267 *spa* típusba tartozott, amely a leggyakoribb (21/24; 88%) volt az elegytejből izolált törzsek között is. Két törzs (SA4, SA41C; 8%) volt t693 és egy törzs (SA48A; 4%) volt t359 *spa* típusú.

LI és mtsai. (2017) tőgygyulladásos tehenekből izoláltak 212 *S. aureus* törzset Kínában. A vizsgálataik alapján szintén a leggyakoribb *spa* típus a t267 volt (40/212; 18,9%), melyet a t9303 (28/212; 13,2%) követett, a t359 *spa* típus pedig a harmadik leggyakoribb (23/212; 10,8%). A 212-ből csak 3 törzs volt t693 *spa* típusú és 1 törzs volt t164 *spa* típusú. HASMAN és mtsai. (2010) sertések, szarvasmarhák és baromfik fertőzéseiből és kolonizációjából származó 296 epidemiológiailag független *S. aureus* izolátumot vizsgáltak. Ezeket *spa* és multilokus szekvencia tipizálással (MLST) vizsgálták és hasonlították össze. A sertésizolátumok többsége t034, t1333 és t337 *spa* típusúak voltak, míg a szarvasmarhaizolátumok főleg t518, t524 és t529 *spa* típusúak.

A kutatómunkánk során a t267 *spa* típus 10 ismétlést, a t359 *spa* típus 9 ismétlést, a t693 *spa* típus pedig egy ismétlést mutatott. Hasonló ismétlési mintákat kaptunk a t267 és t359 *spa* típusok esetében. MITRA és mtsai. (2013) tanulmányukban t267, t359 és további 11 *spa* típust ugyanazon klaszterbe csoportosítottak (az általunk használtaktól eltérő módszer alkalmazásával). Mindegyik klaszterben (amelyeket filogenetikai elemzések alapján izoláltak) evolúciós kapcsolatot feltételeztek a *S. aureus* törzsek között. Tanulmányukban továbbá megemlítették, hogy a vizsgálati régiójukban (India déli része) a t267 *spa* típusú *S. aureus* a szubklinikai tőgygyulladás egyik lehetséges oka.

A vizsgálataink során a t267 és t359 *spa* típusok egy klaszterbe kerültek a BURP algoritmus segítségével.

#### 4.3.3. A hemolízis típus meghatározásának eredményei

A 18 T3 telep elegytejéből izolált törzsből 15 (83%)  $\beta$ -hemolízist mutatott a Columbia véres agaron, kettő (11%) hiányos hemolitikus fenotípussal (expresszált kettős zóna) rendelkezett, egy törzs (6%) pedig gyenge  $\beta$ -hemolízist mutatott (**23. táblázat**). PELES és mtsai. (2007b) tanulmányában az ugyanazon telepről (LF5 kódú telep) vett elegytejéből izolált három törzs közül mind a három gyenge hemolízist mutatott, két tőgynegyed tejből izolált törzs szintén gyenge hemolízist mutatott, egy tőgynegyed tejből izolált törzs pedig  $\alpha$ -hemolízist mutatott a Columbia véres agaron. Ezek az eredmények eltérnek a dolgozatom során kapott eredményektől. MORANDI és mtsai. (2009) tanulmányában a tehéntejből készült tejtermékekből izolált 81 *S. aureus* törzsből 50 (62%)  $\beta$ -hemolízist mutatott, 29 törzs (36%) esetében kettős ( $\alpha+\beta$ ) hemolízis volt jellemző, míg  $\alpha$ -hemolízis csak két (2%) izolátumnál fordult elő. PEREIRA és mtsai. (2009) tanulmányában a különféle élelmiszer-termékekből izolált 148 *S. aureus* törzs közül 81%  $\beta$ -hemolízist, 11%  $\gamma$ -hemolízist és 8%  $\alpha$ -hemolízist mutatott a Columbia véres agaron.

A T4 telepről vett elegy és egyedi tejből izolált 31 izolátum közül 25-re (81%) hiányos hemolitikus fenotípus (expresszált kettős zóna) volt jellemző, négy izolátumra (13%)  $\beta$  és gyenge  $\alpha$ -hemolízis, két izolátumra (6%)  $\beta$ -hemolízis. Az egyedi tejmintákból izolált hét törzs közül öt törzs esetén kettős zóna, két törzsnél pedig  $\beta$  és gyenge  $\alpha$ -hemolízis volt jellemző (**24. táblázat**). PELES és mtsai. (2007b) tanulmányában mind a négy izolátum, amely az LF3 kódú telep elegytejéből származott, gyenge hemolízist mutatott, ezért ebben a jellemzőben különbségek adódtak a saját vizsgálataink során kapott eredményekhez képest. PEREIRA és mtsai. (2009) szintén más eredményekről számoltak be. Vizsgálataik során azt találták, hogy a különféle élelmiszerekből gyűjtött összesen 148 *S. aureus* izolátum 81%-a mutatott véres agaron  $\beta$ -hemolízist, 11%-a  $\gamma$ -hemolízist, 8%-a pedig  $\alpha$ -hemolízist. YOUNIS és mtsai. (2017) a vizsgálataik során megfigyelték, hogy a tőgygyulladásban szenvedő tehenek tejéből izolált 55 *S. aureus* törzs 91%-ára volt jellemző  $\alpha$ -hemolízis, 85%-ára pedig  $\beta$ -hemolízis az általuk alkalmazott juh és szarvasmarha vért tartalmazó agaron. Öt izolátumról (9%) viszont megállapították, hogy nem hemolitikusak. GRABER és mtsai. (2013) szintén azt tapasztalták, hogy a tőgybetegségben szenvedő tehenek tejében alacsony a nem hemolitikus *S. aureus*

törzsek előfordulása. Nem hemolitikus *S. aureus* törzset nem izoláltunk se a T3-as, se a T4-es telep elegytej mintából.

**23. táblázat:** A nyerstejből izolált *Staphylococcus aureus* törzsek karakterisztikája (T3 telep)

#	Törzs azonosító kód	Hemolízis típusa	Antibiotikum rezisztencia*	Enterotoxin gének (multiplex PCR)
1.	SA7	$\beta$	R (P)	<i>seg, sei, selm, seln, selo</i>
2.	SA33	$\beta$	R (P)	<i>sei</i>
3.	SA34	$\beta$	R (P)	<i>seg, sei, selm, seln, selo</i>
4.	SA35A	$\beta$	R (P)	<i>seg, sei, selm, seln, selo</i>
5.	SA35B	$\beta$	R (P)	<i>seg, sei, selm, seln, selo</i>
6.	SA39A	$\beta$	R (P)	<i>sei, selm, seln, selo</i>
7.	SA39B	$\beta$	R (P)	<i>sei, selm, seln, selo</i>
8.	SA44	$\beta$	R (P)	<i>seg, sei, selm, seln, selo</i>
9.	SA45	$\beta$	R (P)	<i>seg, sei, selm, seln, selo</i>
10.	SA53A	$\beta$	R (P)	<i>seg, sei, selm, seln, selo</i>
11.	SA53B	$\beta$	R (P)	<i>seg, sei, selm, seln, selo</i>
12.	SA53D	$\beta$	R (P)	<i>seg, sei, selm, seln, selo</i>
13.	SA54A	$\alpha + \beta$	R (P)	<i>seg, sei, selm, seln, selo</i>
14.	SA54B	$\alpha + \beta$	R (P)	<i>sei, selm, seln, selo</i>
15.	SA54C	gyenge $\beta$	R (P)	<i>sei</i>
16.	SA57A	$\beta$	R (P)	<i>seg, sei, selm, seln, selo</i>
17.	SA57B	$\beta$	R (P)	<i>sei, selm, seln, selo</i>
18.	SA57C	$\beta$	R (P)	<i>seg, sei, selm, seln, selo</i>

\*R: rezisztens; P: penicillin G

A két tejtermelő telepről vett tejmintákból izolált *S. aureus* törzsek hemolízis típusát összehasonlítva azt mondhatjuk, hogy ezen tulajdonságot tekintve különbség van az izolátumok között. Míg a T3 telepről származó izolátumok többségére leginkább a  $\beta$ -hemolízis volt jellemző, a T4 telep izolátumok többségére a dupla hemolízis.

#### 4.3.4. Antibiotikum érzékenység vizsgálatának eredményei

Az antibiotikum-rezisztencia vizsgálat eredményei alapján elmondható, hogy mind a 18 T3 telep elegytejéből gyűjtött *S. aureus* izolátum érzékeny volt a vizsgált antibiotikumokra, a penicillin G kivételével. A penicillin rezisztencia tesztek alapján megállapítottuk, hogy a törzsek 100%-a termelt  $\beta$ -laktamáz enzimet, ugyanis az antibiotikumot tartalmazó korongok körüli gátlási zónák élesek voltak, ami a CLSI (2017) előírásai szerint  $\beta$ -laktamáz enzim termelődésére utal. Ez alapján tehát valamennyi törzs rezisztens volt a penicillin G-vel szemben **(23. táblázat)**.

Mivel minden T3 telepről származó törzs érzékeny volt a cefoxitinre, megállapítható, hogy az összes izolátum érzékeny a meticillinre is. Továbbá, a CLSI (2017) követelményei szerint a cefoxitin rezisztencia teszt eredményei utalhatnak az izolátumok *mecA* által közvetített oxacillin rezisztenciájára, így elmondható, hogy a vizsgálataink során az elegytejéből izolált *S. aureus* törzsek érzékenyek az oxacillinre.

PELES és mtsai. (2007b) szintén azt tapasztalták kutatásuk során, hogy a T3 teleppel megegyező LF5 kódú telepről gyűjtött összes *S. aureus* izolátum rezisztens volt a penicillin G-re, de érzékeny volt a többi vizsgált antibiotikumra (meticillin; cefoxitin; lincomycin; tetracycline, erythromycin, trimethoprim/sulfamethoxazole). Hasonló eredményeket korábban is publikáltak már más szerzők **(2. melléklet)**: az ABO-SHAMA (2014) által vizsgált, nyerstejből származó izolátumok érzékenyek voltak a cefoxitinre, a VISCIANO és mtsai. (2014) által publikált törzsek érzékenyek voltak a gentamicinre. MORANDI és mtsai. (2009) tanulmányában a tejtermékekből izolált 81 törzs egyike sem mutatott rezisztenciát a meticillinnel szemben. PEREIRA és mtsai. (2009) azt az eredményt kapta, hogy a szarvasmarha tőgygyulladásából és a nyers tehéntejből gyűjtött izolátumok bizonyultak a leginkább érzékenyek a vizsgált antibiotikumokra (eritromicin, gentamicin, tetraciklin, klóramfenikol, ciprofloxacín, rifampicin, ampicillin, penicillin, oxacillin, vankomicin, nitrofurantoin). ANDRÉ és mtsai. (2008) vizsgálatai alapján a nyerstejből izolált *S. aureus* törzsek közül 71% rezisztens volt a penicillinnel, 33% pedig a tetraciklinnel szemben.

A T4 telepen mind a 31 izolátum érzékeny volt a vizsgált antibiotikumokra. PELES és mtsai. (2007b) is beszámoltak arról a tanulmányukban, hogy a T4 teleppel azonos LF3 telepről származó *S. aureus* törzsek érzékenyek voltak az összes általuk tesztelt antibiotikumokra (penicillin G, meticillin; cefoxitin; linkomicin; tetraciklin; eritromicin; trimetoprim/szulfametoxazol). Antibiotikum-rezisztencia tehát a vizsgálatuk óra nem jelent meg a telepen.

**24. táblázat:** A nyerstejből izolált *Staphylococcus aureus* törzsek karakterisztikája (T4 telep)

#	Törzs azonosító kód	Minta típusa	Hemolízis típusa	Antibiotikum rezisztencia*	Enterotoxin gének (multiplex PCR)
1.	SA4	Elegytej	$\beta$	É	<i>seh</i>
2.	SA5	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
3.	SA26A	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
4.	SA26B	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	<i>seh</i>
5.	SA27A	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
6.	SA27B	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
7.	SA27C	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
8.	SA28	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
9.	SA29	Elegytej	$\beta +$ gyenge $\alpha$	É	-
10.	SA30A	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
11.	SA30B	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
12.	SA31A	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
13.	SA31B	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
14.	SA32A	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
15.	SA32B	Elegytej	$\beta +$ gyenge $\alpha$	É	-
16.	SA38A	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
17.	SA38B	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
18.	SA40A	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
19.	SA41A	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
20.	SA41B	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
21.	SA41C	Elegytej	$\beta$	É	<i>seh</i>
22.	SA48A	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
23.	SA48B	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
24.	SA56A	Elegytej	$\alpha + \beta$	É	-
25.	SA9503a	Egyedi tej	$\beta +$ gyenge $\alpha$	É	-
26.	SA9325a	Egyedi tej	$\alpha + \beta$	É	-
27.	SA8582a	Egyedi tej	$\beta +$ gyenge $\alpha$	É	-
28.	SA9736a	Egyedi tej	$\alpha + \beta$	É	-
29.	SA9979a	Egyedi tej	$\alpha + \beta$	É	-
30.	SA8834a	Egyedi tej	$\alpha + \beta$	É	-
31.	SA9736.2	Egyedi tej	$\alpha + \beta$	É	-

É: érzékeny

Hasonló, de eltérő eredményekről is beszámoltak már más szerzők (2. melléklet). PEREIRA és mtsai. (2009) szerint a nyers tehéntejből gyűjtött *S. aureus* törzsek rezisztensek voltak a tesztelt antimikrobiális szerek többségére (eritromicin, gentamicin, tetraciklin, klóramfenikol, ciprofloxacín, rifampicin, ampicillin, penicillin, oxacillin, vankomicin, nitrofurantoin). Ezzel szemben a VISCIANO és mtsai. (2014) által az olasz tejtermelő tehenészetek elegytej mintáiból gyűjtött izolátumok (n=17) a gentamicinre és a trimetoprim/szulfametoxazolra érzékenyek voltak. ANDRÉ és mtsai. (2008) a tanulmányukban azt kapták, hogy egy brazíliai kis tejüzem nyerstej mintáiból izolált 24 *S. aureus* törzsek közül az izolátumok 71%-a rezisztens volt a penicillinnel, 33%-a rezisztens a tetraciklinnel, 4%-a pedig az eritromicinnel szemben. A Kínában tőgygyulladásban szenvedő tehenekből izolált 44 *S. aureus* törzs közül 37 törzs (84%) mutatott penicillin rezisztenciát, 9 törzs (20%) eritromicin rezisztenciát; 7 törzs (16%) pedig rezisztens volt a tetraciklinnel szemben (FENG és mtsai., 2016). THAKER és mtsai. (2013) megállapították, hogy a tejből és a tejtermékekből származó *S. aureus* törzsek érzékenyek voltak a cefalotinra, a co-trimoxazolra, a cefalexinre és a gentamicinre; 90%-uk érzékeny volt a gentamicinre, 80%-uk a ciprofloxacínra, 70%-uk az oxacillinre, 60%-uk a sztreptomycinre és ampicillinre. Az izolátumok 100%-a rezisztens volt a penicillin G-re. Összegzésképpen elmondható, hogy a vizsgált T4 telepen a rezisztencia helyzet kedvezőbb, mint amiket a szakirodalmakba publikáltak.

ANDRÉ és mtsai. (2008) a tanulmányukban sajtból is izoláltak *S. aureus* törzseket, melyek antibiotikum rezisztenciáját vizsgálva azt kapták, hogy az izolátumok 60%-a a penicillinnel, 25%-a a tetraciklinnel, 5%-a az eritromicinnel szemben volt rezisztens. Gentamicinnel és vankomicinnel szemben a törzsek érzékenyek bizonyultak. JAMALI és mtsai. (2015) hasonlóképpen magas antibiotikum rezisztenciát tapasztalt sajtból izolált *S. aureus* törzseknél. Az izolátumok 51-51%-a volt rezisztens penicillinre és tetraciklinre, 16,3%-a eritromicinre. Klóramfenikolra és trimetoprim/szulfametoxazolra érzékenyek voltak a törzsek. A szerzők juhtejből is izoláltak *S. aureus* törzseket és azt az eredményt kapták az antibiotikum érzékenység vizsgálatra, hogy a törzsek 58,1%-a volt rezisztens tetraciklinre, 51,2%-a penicillinre. A törzsek mindössze 4,7-4,7%-a volt rezisztens klóramfenikolra, klindamicinre és eritromicinre. ABO-SHAMA (2014) a tanulmányában a tehéntől eltérő tejelő állatok tejéből izolált *S. aureus* törzsek esetében alacsonyabb antibiotikum rezisztenciát tapasztalt. A bölénytejéből származó izolátumok 44,6%-a, a juhtejből gyűjtött izolátumok 8,4%-a, a kecsketejből vett izolátumok 6,7%-a volt rezisztens penicillinre. Eritromicinre a bölénytejéből gyűjtött izolátumok 9,2%-a, a juhtejből származó izolátumok 16,7%-a, a kecsketejből gyűjtött izolátumok 26,7%-a volt rezisztens. Cefoxitinre, tetraciklinre és

vankomicinre valamennyi tejből izolált törzs érzékeny volt. Humán izolátumokat vizsgáltak LOZANO és mtsai. (2011). A vizsgálatukba 278 egészséges önkéntest vontak be, akiknél orrnyálkahártyáról vettek mintákat. A minták 19%-ában, azaz 53 mintában fordult elő *S. aureus*. Az 53-ból egy mintából izolált *S. aureus* MRSA volt. Az izolátumok 92,5%-a (49/53) mutatott penicillin rezisztenciát. Eritromicin és indukálható klindamicin rezisztencia 11 törzsre (20,8%) volt jellemző.

#### 4.3.5. *Staphylococcus enterotoxint kódoló gének vizsgálatának eredményei*

Mind a 18 T3 telepről származó törzs pozitív volt egy vagy több enterotoxint kódoló génre. Az új típusú SE-okat és SEI-eket kódoló gének közül öt különböző gént azonosítottunk az izolátumokban. A 18 izolátum közül 12 (67%) esetében azonosítottunk *seg*, *sei*, *selm*, *seln*, *selo* géneket; négy törzs (22%) tartalmazott *sei*, *selm*, *seln*, *selo* (**4. melléklet**) géneket, két törzs (11%) pedig a *sei* gént (**23. táblázat**).

Az élelmiszermérgezést leggyakrabban a klasszikus enterotoxinok közül a SEA és a SEB okozzák, valamint az új típusú enterotoxinok közül a SEH (ARGUDÍN és mtsai., 2010; HNASKO és mtsai., 2019). A vizsgálataink során a törzsek egyike sem tartalmazta ezeket az enterotoxinokat kódoló géneket. UMEDA és mtsai. (2017) szerint az új típusú SE-ok és SEI-ek (pl. *seg*, *sei*, *selm*, *seln*, *selo* és *selu* gének által termelt toxinok) szintén élelmiszer közvetítésével okozott járványok lehetséges okai lehetnek. A kutatásaink során valamennyi T3 telepről származó törzs esetében kiderült, hogy ezen gének közül legalább az egyiket hordozzák, ezért a tejtermelő telepen elengedhetetlen a *S. aureus* előfordulásának csökkentése és alacsony szinten tartása, tehát indokolt volt a *S. aureus* ellenőrzési program megvalósítása. Érdeemes azonban megjegyezni, hogy a tejben legalább  $10^5$  tke/ml mennyiségű *S. aureus* tudna annyi enterotoxint termelni, amennyi az élelmiszermérgezés kialakításához szükséges lenne (KADARYIA és mtsai., 2014), de ez a baktériummennyiség nem volt jelen a T3 telepről gyűjtött tejmintákban. PELES és mtsai. (2007b) tanulmányában az elegytejből izolált három *S. aureus* törzs közül kettő *seb* enterotoxint kódoló gént hordozott. A tőgynegyed tejből izolált három törzs egyike a *seg* és *sei* géneket hordozta. Az elegytejből izolált harmadik törzs és a tőgynegyed tejből izolált két másik törzs nem hordozta a vizsgált enterotoxint kódoló gének egyikét sem (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *sej*). MORANDI és mtsai. (2009) kijelentették, hogy a tehéntejből készült tejtermékekből izolált 81 *S. aureus* törzsből 58 (72%) volt pozitív valamely enterotoxint kódoló génre. A *see*, a *sed* és a *sej* gének fordultak elő a leggyakrabban a törzsekben. Csak két tejből és sajtból izolált törzs (2%) hordozott *sec* gént, két törzs (2%)

pedig a *seg* és *sei* géneket. PEREIRA és mtsai. (2009) a vizsgálataik során azt tapasztalták, hogy a nyers tehéntejből izolált 20 *S. aureus* törzsből hét (35%) hordozott valamely enterotoxint kódoló gént. Három törzs (43%) hordozta a *seg* és *sei* géneket, két törzs (29%) a *sec* gént, két törzs (28%) a *sec* és *seg* géneket. KARAHAN és mtsai. (2009) tőgygyulladásban szenvedő szarvasmarhákból izolált *S. aureus* törzsekben kutattak *se* géneket (klasszikus, valamint *seg*, *seh*, *sej* és *sei* géneket) multiplex PCR módszerrel és megállapították, hogy 27 törzs (29%) hordozott egy vagy több *se* gént. A leggyakrabban a *sei* gént mutatták ki. KORPUSA-DZIRBA és OSEK (2011) tanulmányában a 66 nyers tehéntejből izolált *S. aureus* törzsből öt (7,6%) hordozott klasszikus SE-okat kódoló géneket. A DAI és mtsai. (2019) által vizsgált 20 virulencia gén közül a *seg*, *sei* és *sem* géneket mutatták ki a leggyakrabban a pasztörözött tejből izolált *S. aureus* törzsekben. A prevalencia 41,7% volt. A *sea*, *seb*, *sed*, *see*, *seu*, *seq*, *sej*, *ser*, *sek* és *pvl* gének nem voltak kimutathatók, de a *sen*, *sec*, *sel*, *seo*, *sep*, *seh* és *tsst* gének jelenlétét kimutatták az izolátumokban.

SONG és mtsai. (2015) kutatásuk alatt 607 élelmiszermintát (nyersej, friss hús, fagyasztott élelmiszerek, friss zöldségek és gyümölcsök, feldolgozott szójatermékek) gyűjtöttek, melyekben *S. aureus* jelenlétét, majd azok tulajdonságait vizsgálták. A mintákból izolált 142 törzs 43,7%-a *sep* gént, 9,9%-a *sec* gént, 2,8%-a *sed* gént, 5,6%-a *sea* gént, 3,5%-a *seb* gént hordozott. Más tejtermelő állatok esetében is vizsgálták már a *S. aureus* jelenlétét és azok enterotoxinokat termelő képességét. BASANISI és mtsai. (2016) tanulmányának célja a juh és kecske tejtermékekből származó *S. aureus* izolátumok előfordulásának és virulencia faktorainak vizsgálata volt. Összesen 90 mintát elemeztek, melyből 37 (41,1%) volt pozitív a *S. aureus*-ra. Enterotoxint termelő géneket 37 izolátum közül 7-ben (18,9%) detektáltak: a *sec* volt a leggyakoribb gén (42,8%), ezt követte a *seh* (28,6%), a *sea* (14,3%) és a *see* (14,3%) gének. Ehhez hasonlóan tapasztaltak OBAIDAT és mtsai. (2018) is, akik Jordániában a 44 tehenészetén kívül 47 juh- és 26 kecskefarmról gyűjtöttek elegyetejet, a *S. aureus* prevalenciájának, valamint azok antibiotikum-rezisztenciájának és az enterotoxint termelő képességnek a meghatározása céljából. *S. aureus* (n=169) a tehenészetek 65,9%-ban, a juhtelepek 8,1%-ában és a kecsketenyésztő telepek 76,9%-ában mutattak ki. Harminchárom (19,5%) izolátum tartalmazott enterotoxin géneket, és az előző szakirodalomhoz hasonlóan a *sec* gén volt a legelterjedtebb (75,8%). Humán izolátumokat vizsgáltak CHIANG és mtsai. (2008), akik *S. aureus* által okozott élelmiszer-mérgezésben szenvedő betegtől vettek mintákat. Az összesen izolált 147 törzsből 135 (91,8%) bizonyult pozitívnak egy vagy több enterotoxint kódoló génre. A klasszikus enterotoxint termelő gén típusok közül a leggyakoribb a *sea* (29,2%) volt, amelyet a *seb* (19,7%), a *sec* (6,8%) és a *sed* (2,0%) gén követett. Az új típusú SEI-ek

esetében a leggyakoribb a *sei* (29,9%) és a *sep* (27,9%) volt, melyeket a *sek* (16,3%), a *seo* (14,3%), a *seu* (14,2%), a *sem* (11,6%), a *sen* (10,9%), a *seq* (10,9%), a *seh* (8,2%), a *sel* (6,8%) és a *ser* (5,4%) gének követték.

HWANG és mtsai. (2010) tanulmányukban azt tapasztalták, hogy a t164 *spa* típusú izolátumok zöme (nyolcból hét izolátum) és a hét t1987 *spa* típusú izolátum közül három tartalmaz *seg*, *sei*, *selm*, *seln* és *selo* géneket. Ehhez hasonlóan tanulmányunkban a 17 t164 *spa* típusú izolátum közül 12 hordozta ezeket a géneket anélkül, hogy klasszikus enterotoxin géneket hordozna. A t1987 *spa* típusú izolátum csak *sei* gént hordozott.

A T4 telepről gyűjtött elegy- és egyedi tejből izolált 31 törzs közül három (10%) (SA4, SA26B, SA41C) pozitív volt a *seh* génre, de klasszikus enterotoxint és más új típusú SE-t és SEI-t kódoló gént nem azonosítottunk (**4. melléklet, 24. táblázat**). Csak az elegytej minták tartalmaztak enterotoxint hordozó *S. aureus* törzseket; az egyedi tejmintákból izolált törzsek nem hordozták azokat a toxin géneket, amelyeket kutatásunk során vizsgáltunk. Ennek az lehet a magyarázata, hogy az egyedi tejmintákban előforduló *S. aureus* izolátumok csak magukból az állatokból, esetleg az állatok tögybimbójáról kerülhettek be a tejbe. Az elegytejbe ezzel szemben több forrásból bekerülhettek esetlegesen enterotoxinogén *S. aureus* izolátumok, például a fejés művelete során szennyeződhet a tej humán eredetű enterotoxin gént hordozó izolátumokkal. Továbbá elmondható, hogy az elegytej tartalmazta valamennyi, az adott tejtermelő telepen fejt tehén tejét, amelyek között előfordulhattak *S. aureus*-t hordozó, szubklinikai tögygyulladásban szenvedő állatok is, amelyek különböző mértékben hordozhatnak enterotoxin termelő törzseket.

Bár a vegetatív baktériumok a hőkezelés során elpusztíthatók, a hőstabil enterotoxinok megmaradhatnak a tejben (TESSEMA, 2016), ezért a T4 telepen különösen fontos a *S. aureus* tejben való előfordulásának csökkentése.

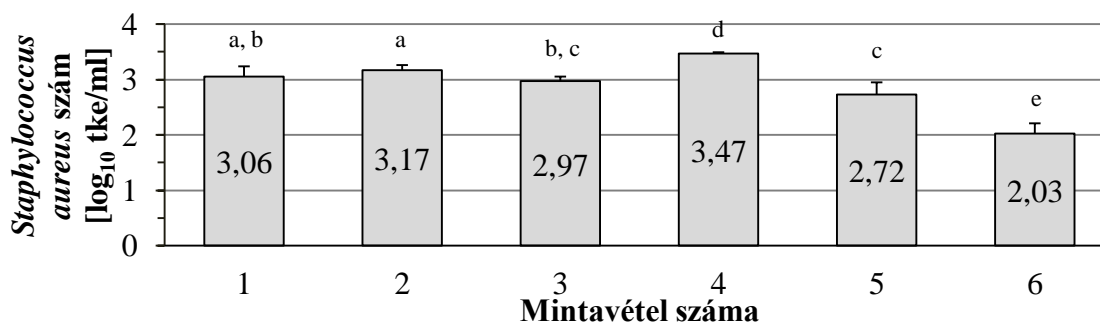
PELES és mtsai. (2007b) tanulmányában a T4 teleppel azonos telepről gyűjtött mind a négy elegytejből izolált *S. aureus* törzs hordozta a *sea* gént. A törzsek nem tartalmazzák a többi vizsgált toxin gént (*seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *sej*, *tsst*). LONCAREVIC és mtsai. (2005) a szarvasmarha tejből származó 100 izolátum közül 22 (22%) termelt enterotoxint kódoló géneket a multiplex PCR tesztjeik eredménye alapján, tehát az izolátumok többsége a kutatásunkban tapasztaltakhoz hasonlóan nem hordozott toxin géneket.

A T3 és T4 telepről gyűjtött *S. aureus* izolátumok fenotípusos és genotípusos vizsgálatának eredményeiben különbségek figyelhetők meg az *spa* típusokat, a hemolízis típusát, az antibiotikum rezisztenciát és az enterotoxin termelő képességet illetően is. A különbségek adódhatnak az eltérő környezeti adottságok miatt, illetve a két telepen a higiénai

előírások eltérő megvalósítása miatt. A T3 telep törzsei esetén tapasztalt penicillin rezisztencia visszavezethető lenne a telepen alkalmazott antibiotikumok használatára, azonban erre vonatkozó információt a telepek vezetőinek nem állt módjában megosztani. Egy telepen belül is megfigyelhető változatosság, de mindkét telepen a törzsek nagy része azonos tulajdonsággal rendelkezik. A T3 telepen a 18-ból 11 törzsre (61%) t164 *spa* típus,  $\beta$ -hemolízis, penicillin G rezisztencia és öt *se* és *sel* gén (*seg*, *sei*, *selm*, *seln*, *selo*) hordozása jellemző. A T4 telepen a 31-ből 23 törzsre (74%) jellemzően a t267 *spa* típus, az  $\alpha$  és  $\beta$ -hemolízis jellemző, továbbá érzékenyek az általunk vizsgált antibiotikumokra és nem termelnek klasszikus enterotoxint kódoló géneket, illetve *seg*, *seh*, *sei*, *sej*, *selm*, *seln*, *selo*, *ser* géneket.

#### 4.4. *Staphylococcus aureus* mentesítés hatékonyságának vizsgálati eredményei egy tejtermelő telepen

A *S. aureus* mentesítési program hatékonyságát elemző vizsgálatok eredményei alapján a T3 telepről gyűjtött összes elegytej mintában előfordult *S. aureus*. Az átlagértékek  $1,1 \times 10^2$  és  $3,0 \times 10^3$  (2,03 és 3,47  $\log_{10}$  tke/ml között mozogtak (7. ábra). PELES és mtsai. (2007b) tanulmányában az átlag *S. aureus* szám kevesebb, mint 2,7  $\log_{10}$  tke/ml volt ugyanabban a gazdaságban (LF5), amely a vizsgálatunk tárgyát is képezte. A kutatómunkánk során a *S. aureus* szám a kísérleteink végén [decemberben;  $1,1 \times 10^2$  (2,03  $\log_{10}$ ) tke/ml] gyűjtött mintákban alacsonyabb volt ( $P < 0,05$ ), mint az összes többi mintavétel során, beleértve az első mintavételt, amelyre szintén télen (február) került sor. A kutatásunk elején történt mintavétel alatt gyűjtött mintákban az *S. aureus* szám átlagértéke  $1,2 \times 10^3$  (3,06  $\log_{10}$ ) tke/ml volt.



7. ábra: A *Staphylococcus aureus* mennyiségének alakulása az elegytejben az ellenőrzési program alatt

Az azonos betűkkel (a, b, c, d, e) jelölt középértékek nem különböznek szignifikánsan egymástól ( $P > 0,05$ ). A mintavételek ideje: 1: 2019. február; 2: 2019. április; 3: 2019. május; 4: 2019. július; 5: 2019. szeptember; 6: 2019. december

Az eredmények azt mutatják, hogy az elegytejben az átlag *S. aureus* szám a mintavételi periódusok végére lecsökkent. Az átlag telepszámok az utolsó két mintavétel esetében már nem haladták meg a 4/1998. (XI.11). EüM rendeletben rögzített visszautasítási határértéket [ $M=5,0 \times 10^2$  ( $2,70 \log_{10}$ ) tke/ml]. Szakirodalmak alapján télen kevesebb kórokozó baktérium mutatható ki a tejben (HILL és mtsai., 2012; PETRÓCZKI és mtsai., 2020). A vizsgálatunk során az utolsó mintavétel télen volt, hasonlóan az első mintavételhez, mégis a két mintavételkor vett tejminták eredményei szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) különböznek. A csökkenő átlag *S. aureus* szám tehát a mentesítési program eredményességének tulajdonítható.

ZEINHOM és mtsai. (2016) szerint a nyáron vett tejmintákban megnőhet a szomatikus sejtszám és a kórokozó mikroorganizmusok mennyisége, és ez összefüggésben állhat a tehenek hőstresszával. A kedvezőtlen időjárási viszonyok okozta hőstressz miatt a tőgyfertőzések, például a *S. aureus* fertőzések előfordulási gyakorisága fokozódhat. Kutatásunk során a negyedik mintavétel nyáron volt, ez magyarázhatja a megnövekedett *S. aureus* számot [ $3,03 \times 10^3$  ( $3,47 \log_{10}$ ) tke/ml] az elegytejben.

## 5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

A holstein-fríz és a jersey tehenek napi tejmenyiségét, a termelt tej zsír- és fehérjetartalmát összehasonlítottuk és a szakirodalmakkal egybehangzó megállapításra jutottunk. A holstein-fríz tehenek esetében a fajtára jellemzően a magasabb napi tejmenyiség mellé alacsonyabb tejzsír- és fehérjetartalom párosult, míg a jersey tehenek esetében az alacsony tejmenyiség mellett nagy zsír- és fehérjetartalmat lehetett mérni a tejben. Ennek a magyarázata a fajták különböző céllal történő nemesítésében keresendő. Továbbá, a vizsgálataink során kapott eredmények alapján a fajta hatás nincs befolyással a tej mikrobiológiai minőségére, ugyanis az összcsíraszámot, a kóliform baktériumok mennyiségét és a szomatikus sejtszámot illetően nem volt jelentős különbség a vizsgált fajták teje között.

A kutatómunkánk során igazolódott a hazai telepen, nagyüzemi tartási körülmények között, hogy az egyszer ellett tehenek esetében az átlag napi tejmenyiség jelentősen kevesebb ( $P < 0,05$ ), mint a többször ellett egyedek esetében. A tej zsír- és fehérjetartalmát nézve nem tapasztaltunk különbséget az egyszer és a többször ellett tehenek között. A kutatásunk során kapott eredményekkel megegyező, illetve eltérő megállapításokat is összefoglaltak már különböző szakirodalmakban. Ez alapján feltételezhető, hogy más tényező is befolyásolja a tej zsír- és fehérjetartalmát, azonban ezeknek a tényezőknek a feltérképezése nem képezte célját a kutatómunkánknak.

Az eredmények alapján az is megerősítésre került, hogy a többször ellett tehenektől vett tejmintákban több ( $P < 0,05$ ) volt a szomatikus sejtszám és a kóliform csíraszám, illetve a *S. aureus* is nagyobb arányban fordult elő. Ennek egyik lehetséges oka az lehetett, hogy a tőgybimbók a laktációk során sérülhettek (például a fejőgép nem megfelelő alkalmazása miatt), amely elősegíthette a mikroorganizmusok tőgybe kerülését. Másik oka abban keresendő, hogy a kor előrehaladtával, valamint a laktációk számának emelkedésével a tejelő állatok kondíciója lecsökkenhetett. Ennek negatív hatása lehet, például a tej szomatikus sejtszámára.

Igazolódott továbbá, hogy a napi leadott tejmenyiség esetén csökkenő tendenciát lehet megfigyelni a laktáció stádiumaiban, viszont a zsír- és fehérjetartalom növekedést mutat. Ez feltételezhetően a csökkenő tejmenyiség koncentráló hatásának tudható be.

A tanulmányunkban a laktáció egymást követő stádiumaiból gyűjtött tejmintákban nem volt különbség az összcsíraszám és a kóliform baktériumok telepszámai között, azonban a szomatikus sejtszám növekedett a laktáció késői stádiumában.

A télen vett mintákban az átlag összcsíraszám, kóliform és *S. aureus* szám kevesebb ( $P < 0,05$ ) volt, mint a nyáron vett mintákban. Az eredményeink alapján a kóliform baktériumok

száma a tavasszal vett minták 81%-ában, valamint az összes télen és ősszel vett tejben meghaladta a rendeletben megállapított határértéket. Mivel ezek a baktériumok az ürülékben, az alomban vagy a nem megfelelően megtisztított tejgyűjtő és -tároló eszközök felületén fordulnak elő a leggyakrabban, a T1-T5 telepeken a fent említett évszakokban szigorúbban kell ellenőrizni a higiéniai előírások teljesülését.

Két telep elegytejében egész évben határértéket meghaladó mennyiségben mutattuk ki a *S. aureus*-t. Ennek oka mindkét telepen abban keresendő, hogy szubklinikai (vagy esetleg már klinikai) tőgygyulladásban szenvedő állatokból származó tej kerülhetett bele az elegytejbe. Ezeket az állatokat érdemes kiszűrni az állományból és ajánlatos kivonni a tejtermelésből.

Az eredményeink alapján a két telepen (T3 és T4) izolált *S. aureus* törzsek alacsony diverzitását mutattuk ki. A T3 telepen izolált 18 törzs között két különböző *spa* típust (t164 és t1987) azonosítottunk, habár a t1987 *spa* típust csak egy izolátum esetén. A törzsek közötti különbségek tükröződtek a hemolízistípusok változatosságában, bár az antibiotikum-érzékenység tekintetében nem volt különbség a törzsek között. Valamennyi törzs érzékeny volt a vizsgált antibiotikumok többségére, de rezisztens volt a penicillin G-re. Egyik izolátum sem tartalmazta a klasszikus enterotoxin géneket, de az összes törzsről kiderült, hogy a *seg*, *sei*, *selm*, *seln* és *selo* gének legalább egyikét hordozza. Mivel az új típusú SE-ok/SEI-ek is élelmiszer-eredetű tömeges megbetegedések lehetséges okai lehetnek, a T3 tejtermelő telepen elengedhetetlen a *S. aureus* előfordulásának csökkentése és alacsony szinten tartása. Ez mentesítési program végrehajtásával valósulhat meg, amelyet a telep végzett is, a vizsgálati eredményeink pedig alátámasztották annak hatékonyságát.

Mind a 31 T4 telepről származó, elegytejből és egyedi tejből izolált törzs kataláz pozitív és oxidáz negatív. A fajspecifikus *nuc* gén minden *S. aureus* izolátumban megtalálható volt. A törzseket nemzetség és faji szinten a MALDI-TOF MS megbízhatóan azonosította. Az elegytej mintákból származó 24 *S. aureus* törzs esetében három *spa* típust (t267, t359, t693) azonosítottunk. Az egyedi tejmintákból izolált mind a hét *S. aureus* törzs a t267 *spa* típusba tartozott, amely a leggyakoribb (21/24) volt az elegytejből izolált törzsek között is. A vizsgálataink során a t267 és t359 *spa* típusokat egy klaszterbe csoportosítottuk a BURP algoritmus segítségével. A T4 telepről vett elegy és egyedi tejből izolált 31 izolátum közül 25-re (81%) hiányos hemolitikus fenotípus (expresszált kettős zóna) volt jellemző, négyre (13%)  $\beta$  és gyenge  $\alpha$ -hemolízis, két izolátumra (6%)  $\beta$ -hemolízis a birkavéres agaron. Az egyedi tejmintákból izolált hét törzs közül öt törzs esetén kettős zóna, két törzsnél pedig  $\beta$  és gyenge  $\alpha$ -hemolízis volt jellemző. Valamennyi *S. aureus* izolátum érzékeny volt minden, a kutatómunkánk alatt tesztelt antimikrobiális szerre, ami jobb, mint ami a többi idézett

szakirodalomban szerepel. Csak három törzs (10%) volt pozitív a *seh* enterotoxint kódoló génre, a további izolátumok nem termelték a tesztelt enterotoxint kódoló gének egyikét sem. Mivel azonban olyan *S. aureus* törzsek lehetnek jelen a tejben, amelyek olyan hőstabil enterotoxint kódoló gént tartalmaznak, amelyek ételmérgezést okozhatnak, javasolt, hogy a tejtermelő telepek csökkentsék a *S. aureus* előfordulását, és gyakrabban ellenőrizzék a baktériumok előfordulását és jellemzőit.

A saját eredmények alapján nem találtunk egyértelmű összefüggést a *S. aureus* törzsek *spa* típusa és az egyéb vizsgált tulajdonságok között. Bizonyos esetekben fellelhető volt összefüggés. A T3 telepen gyűjtött 18 közül egy törzs (SA54C) *spa* típusa (t1987) különbözött a többi törzsetől (t164). Ez a törzs a hemolízis típusát és az enterotoxin termelő képességet illetően is különbözött a többi törzstől, ugyanis míg gyenge  $\beta$ -hemolízis volt rá jellemző, addig a többire  $\beta$ -hemolízis. Illetve, csupán *sei* gént detektáltunk az enterotoxin kódoló gének vizsgálatakor. A T4 telepen gyűjtött 31 törzs közül három törzs (SA4, SA41C, SA48A) *spa* típusa különbözött a többiétől, amelyeknek t267 volt az *spa* típusa. Ebből a háromból két törzs (SA4, SA41C) t693 *spa* típusú volt és ezek a törzsek a hemolízis típust és enterotoxin termelő képességet illetően is különböztek a többi törzstől. Egy törzs (SA48A) pedig t359 *spa* típusú volt, ez azonban az egyéb tulajdonságokat illetően nem különbözött a többi 28 törzstől. Illetve, több törzs esetében is előfordult, hogy különböző karakterisztikával rendelkeztek, mégis ugyanabba az *spa* típusba tartoztak.

A *S. aureus* mentesítési program alatt végzett kutatómunkánk eredményei alapján elmondható, hogy a T3 telepen az elegytejben az átlag *S. aureus* szám a mintavételi periódusok végére lecsökkent. Az átlag telepszámok az utolsó két mintavétel esetében már nem haladták meg a 4/1998. (XI.11). EüM rendeletben rögzített visszautasítási határértéket. A kutatómunka során az utolsó mintavétel télen volt, hasonlóan az első mintavételhez, mégis a két mintavételkor vett tejminták eredményei szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) különböznek. A csökkenő átlag *S. aureus* szám tehát a mentesítési program eredményességének tulajdonítható.

A vizsgálataink eredményei a fentiek alapján tehát alátámasztják a *S. aureus* előfordulásának és jellemzőinek a folyamatos monitoringozásának fontosságát, annak érdekében, hogy még időben megelőzhető legyen a szélesebb foyasztói körben esetlegesen előforduló élelmiszer eredetű megbetegedés.

PELES és mtsai. (2007b) kutatómunkájában többek között azon tejtermelő telepek elegytejéből is vettek mintákat, amelyek esetén a vizsgálataink során *S. aureus* jelenlétét mutattuk ki. A szerzők ugyancsak izoláltak *S. aureus* törzseket az elegytej mintákból, majd meghatározták az izolátumok jellemzőit is (tellurit-redukáló képesség, lecitináz enzimaktivitás,

hemolízis típus, antibiotikum-rezisztencia, enterotoxint kódoló gén előfordulása). Eredményeinket összehasonlítva az övékkel azt találtuk, hogy az izolált törzsek a hemolízis típusa tekintetében különböznek egymástól, és a törzsek különböző enterotoxint kódoló géneket hordoznak. Ezen különbségek a törzsek lecserélődését sugallják a két vizsgálati időszak között. Az ezen kutatómunka alatt izolált *S. aureus* törzsek azonban hasonlóképpen érzékenyek voltak a vizsgált antibiotikumokra, mint a szerzők vizsgálataiban.

## 6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A különböző szarvasmarha fajták (holstein-fríz, jersey) fajtajellegéből adódóan eltérő tejszír és tejfehérje tartalom nem vonja maga után a tej mikrobiológiai állapotának változását azonos tartási körülmények esetén. Az összcsíraszámot (holstein-fríz:  $3,2 \times 10^3$  tke/ml; jersey:  $2,1 \times 10^3$  tke/ml), a kóliform baktériumok csíraszámát (holstein-fríz:  $1,5 \times 10^1$  tke/ml; jersey:  $6,9 \times 10^0$  tke/ml) és a szomatikus sejtszámot (holstein-fríz:  $185,1 \times 10^3$  sejt/ml; jersey:  $186,9 \times 10^3$  sejt/ml) illetően nem volt statisztikailag igazolható különbség a vizsgált fajták teje között.
2. Egy hazai nagyüzemi tejtermelő telepen végzett vizsgálatok eredményei alapján nem mutatkozott különbség az összcsíraszámokban az első laktációs tehenektől vett tejminták ( $5,1 \times 10^3$  tke/ml) és a többször ellett tehenektől vett tejminták ( $4,6 \times 10^3$  tke/ml) között.
3. A kutatómunkánkban a tejtermelő tehenek laktációjának különböző stádiumaiból vett tejmintákban nem detektáltunk különbséget az összcsíraszám és a kóliform baktériumok telepszámait illetően két tejtermelő telep egyikében sem. A T4 és a T5 telepen a laktáció korai stádiumában az átlag összcsíraszám  $6,8 \times 10^3$  tke/ml és  $2,0 \times 10^3$  tke/ml volt, a laktáció közepén  $4,4 \times 10^3$  tke/ml és  $3,5 \times 10^3$  tke/ml, a laktáció végén  $2,7 \times 10^3$  tke/ml és  $8,2 \times 10^3$  tke/ml. A T4 és a T5 telepen a laktáció korai stádiumában az átlag kóliform csíraszám  $1,3 \times 10^3$  tke/ml és  $6,7 \times 10^0$  tke/ml volt, a laktáció közepén  $2,2 \times 10^1$  tke/ml és  $2,4 \times 10^1$  tke/ml, a laktáció végén  $1,50 \times 10^2$  tke/ml és  $1,1 \times 10^1$  tke/ml.
4. A T3 telep esetében a *Staphylococcus aureus* törzsek 83%-ára  $\beta$ -hemolízis és penicillin G rezisztencia jellemző. A T4 telep esetében a törzsek 81%-ára  $\alpha$  és  $\beta$ -hemolízis jellemző, továbbá valamennyi törzs érzékeny volt az általunk vizsgált antibiotikumokra (cefoxitin, klóramfenikol, klindamicin, eritromicin, gentamicin, penicillin G, tetraciklin, trimetoprim/szulfametoxazol).
5. A T3 telep esetében a *Staphylococcus aureus* törzsek 67%-ára t164 *spa* típus és a *seg*, *sei*, *selm*, *seln*, *selo* enterotoxint kódoló gének hordozása volt jellemző. A T4 telep esetében a törzsek 87%-ára t267 *spa* típus volt jellemző és egyik törzs sem hordozott klasszikus enterotoxint kódoló géneket, illetve *seg*, *seh*, *sei*, *sej*, *selm*, *seln*, *selo*, *ser* géneket.

## 7. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA

1. A kutatómunkánk során megállapítottuk, hogy a holstein-fríz és jersey fajták teje között nincs különbség mikrobiológiai szempontból, a tehének laktációjának különböző stádiumában sem változott a mikroorganizmusok mennyisége jelentős mértékben. Az egyszer ellett tehének tejehez képest a többször ellett tehének teje azonban mikrobiológiai szempontból gyengébb minőségűnek bizonyult, ugyanis nagyobb volt a szomatikus sejtszám ( $356,3 \times 10^3$  sejt/ml), a kóliform baktérium csíraszám ( $1,1 \times 10^3$  tke/ml), illetve a *S. aureus* is nagyobb arányban fordult elő, a többször ellett egyedektől vett tejminták mintegy 19%-ában. Az évszakok hatásának vizsgálatokor a magyarországi telepeken a télen vett tej mikrobiológiai minősége jobb a nyáron vett tejhez képest. A télen gyűjtött elegytejben az átlag összcsíraszám  $3,3 \times 10^4$  tke/ml, a nyáron gyűjtöttekben pedig  $1,1 \times 10^5$  tke/ml volt. A télen gyűjtött elegytejben az átlag kóliform csíraszám  $1,8 \times 10^3$  tke/ml, a nyáron gyűjtöttekben pedig  $1,4 \times 10^4$  tke/ml volt. A télen gyűjtött elegytejben az átlag *S. aureus* szám  $9,3 \times 10^2$  tke/ml, a nyáron gyűjtöttekben pedig  $2,7 \times 10^3$  tke/ml volt. A megállapításaink segítséget nyújthatnak a tejtermelő telepeknek, hogy ezen információk birtokában minél hatékonyabb megoldásokat dolgozzanak ki a megfelelő mikrobiológiai minőségű tej előállítására érdekében.
2. A kutatómunkánk során egy hazai nagyüzemi tejtermelő telepen folytatott *S. aureus* mentesítési program hatékonyságát elegytej minták vételével és a mintákból *S. aureus* szám meghatározásával igazolni tudtuk, ugyanis az eredmények alapján az elegytejben az átlag *S. aureus* szám a mintavételi periódusok végére lecsökkent,  $1,2 \times 10^3$  tke/ml-ről  $1,1 \times 10^2$  tke/ml-re. A csökkenést az istállók és a fejőházak gyakoribb tisztítása és fertőtlenítése, a fertőzött tehének felderítése és a többi állattól való izolálása, külön fejése és a tejük minél előbbi megsemmisítése eredményezte.
3. A *S. aureus* fakultatív patogén mikroorganizmus, mely a környezetben széleskörűen előfordul. A *S. aureus* a tejtermelő tehenészetekben problémát okozhat, ugyanis a tejelő állatok tőgygyulladásának egyik manapság is jelentős okozója. A vizsgálataink eredményeiből az következtethető, hogy a *S. aureus* számának MSZ EN ISO 6888-1:2008 számú szabvánnyal és a latex agglutinációs teszttel való meghatározásán és megerősítésén kívül erősen javasolt a tejből izolálható törzsek fenotípusos és genotípusos vizsgálatát is elvégezni. A törzsek antibiotikum rezisztencia profiljának folyamatos monitoringozásából származó adatok szükségesek a fertőzött állatok esetleges antibiotikumos terápiájának hatékony és célzott végrehajtásához. Az enterotoxin termelő képesség felmérése pedig azért szükséges, mert habár a *S. aureus* vegetatív formái a tej hőkezelése alatt elpusztulnak, az élelmiszermérgezés okozni képes, hőstabil enterotoxinok benne maradhatnak a tejben és a fogyasztók megbetegedését okozhatják. Multiplex PCR vizsgálattal az enterotoxin termelő képesség rövid határidővel megállapítható.

## 8. ÖSSZEFOGLALÁS

Számos külső és belső tényező befolyásolhatja a nyers tehéntej mikrobiológiai minőségét. Ezekre a tényezőkre az élelmiszer-biztonság szempontjából megfelelő minőségű tej előállítása érdekében kiemelt figyelmet kell fordítani. A szakirodalomban a különböző tejtermelő szarvasmarha fajták tejének mikrobiológiai minőségét illetően egymással eltérő véleményeket foglaltak össze. Vitatott a szerzők között, hogy a tej mikrobiológiai állapota változik-e a laktáció különböző stádiumaiban, illetve a laktációk számával. Ezeken felül minimális mennyiségű magyar szakirodalom foglalkozik azzal, hogy az évszakok során milyen változások történnek a nyerstej különböző mikrobiológiai tulajdonságaiban. Az utóbbival kapcsolatban több külföldi tanulmány is született már, azonban ezek a helyi sajátosságokra korlátozódnak, a magyarországi viszonyokat nem tükrözik.

A *S. aureus* a tejtermelő tehenészetekben a mastitis egyik okozója. Élelmiszer-biztonsági szempontból egy enterotoxint termelő patogén mikroba. A *S. aureus* tejbe kerülése közvetlenül is megtörténhet, a szubklinikai- vagy klinikai tőgygyulladásban lévő tehenek esetében, de a környezetből is bejuthat a tejbe.

Mivel hazai viszonylatban kevés jelenlegi, releváns információ áll rendelkezésre a fajta, a laktáció stádium, a laktáció szám és az évszak mikrobiológiai minőségre gyakorolt hatásáról, valamint a tejtermelő telepeken előforduló *S. aureus* törzsek jellemzőinek feltérképezéséről, a kutatómunkánk során célunk volt az alábbiak meghatározása:

- A különböző tejtermelő telepekről származó nyerstej *S. aureus*-szal, valamint indikátor mikrobákkal való szennyezettségének a megállapítása.
- Annak meghatározása, hogy van-e különbség az azonos tartástechnológiával tartott és fejt szarvasmarha fajták (holstein-fríz, jersey) tejének mikrobiológiai minősége között.
- Annak felmérésére, hogy hogyan változik a nyers tehéntej mikrobiológiai állapota a laktáció számával (egyszer ellett, többször ellett), illetve a laktáció különböző stádiumaiban (eleje, közepe, vége).
- A nyerstej mikrobiológiai minőségének az évszakokkal való változásának feltérképezése.
- A tejből izolálható *S. aureus* törzsek alaposabb megismerése. A vizsgálatok során a baktérium több virulencia faktorának meghatározása volt a cél.
- Egy tejtermelő telepen végrehajtott *S. aureus* mentesítési program során az elegytejben előforduló *S. aureus* mennyiségének figyelemmel kísérése.

A mikrobiológiai vizsgálatok céljából a kutatásba hét Hajdú-Bihar megyében található tejtermelő telepet (T1–T7) vontunk be. A telepek kiválasztása során törekedtünk arra, hogy a magyarországi viszonyokat hűen tükröző telepeket válasszunk ki. A T3 telepen *S. aureus* mentesítési programot végeztek, amely során a hatékonyság felmérése céljából lehetőségünk volt elegytej mintákat venni.

A T4 és T5 telep egyedeinek napi tejmenyiségére, tejük zsír- és fehérjetartalmára, szomatikus sejtszámára vonatkozó adatokat az Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. által kiadott befejeési eredményekből gyűjtöttük. A T4 telepen a laktáció stádium és a laktáció szám a tej mikrobiológiai minőségére gyakorolt hatásának vizsgálatára összesen 62 egyedi tejmintát vettünk a 38 termelésben lévő egyedtől. A T5 telepen a fajta és a laktáció stádium a tej mikrobiológiai minőségére gyakorolt hatásának vizsgálatára összesen 63 egyedi tejmintát vettünk a 30 (16 holstein-fríz és 14 jersey) termelésben lévő egyedtől. Az évszakok nyerstejre gyakorolt hatásának elemzésére irányuló vizsgálatok során évszakonként három-hét elegytej mintát gyűjtöttünk a telepekről. Összesen 110 tejmintát vizsgáltunk.

A holstein-fríz és a jersey tehének napi tejmenyiségét, a termelt tej zsír- és fehérjetartalmát összehasonlítottuk és a szakirodalmakkal egybehangzó eredményeket kaptunk. Továbbá, a mikrobiológiai jellegű vizsgálatok eredményei arra engednek következtetni, hogy a fajta hatás nem befolyásolja a tej mikrobiológiai minőségét.

Igazolódott továbbá, hogy a napi leadott tejmenyiség esetén csökkenő tendenciát lehet megfigyelni a laktáció stádiumaiban, viszont a zsír- és fehérjetartalom növekedést mutat. Ez feltételezhetően a csökkenő tejmenyiség koncentráció hatásának tudható be. A laktáció különböző stádiumaiból vett tejmintákban nem volt tapasztalható különbség az összcsíraszám és a kóliform baktériumok telepszámait illetően, azonban a szomatikus sejtszám növekedést mutatott a laktáció késői stádiumában.

A kutatómunkánk során igazolódott a hazai telepen, nagyüzemi tartási körülmények között, hogy az egyszer ellett tehének esetében az átlag napi tejmenyiség kevesebb ( $P < 0,05$ ), mint a többször ellett tehének esetében. A tej zsír- és fehérjetartalmát illetően nem volt különbség az egyszer és a többször ellett tehének között. Az eredmények alapján az is megerősítésre került, hogy több ( $P < 0,05$ ) volt a szomatikus sejtszám, illetve a kóliform baktérium szám a többször ellett tehének tejében az első laktációs tehénektől vett tejhez képest, illetve a *S. aureus* is nagyobb arányban fordult elő.

Az átlag összcsíraszám, kóliform és *S. aureus* szám kevesebbnek bizonyult a télen gyűjtött mintákban, mint a nyáron. A kóliform baktériumok csíraszám a tavasszal gyűjtött minták 81%-ában, valamint a télen és ősszel gyűjtött összes tejmintában meghaladta a

határértéket. Két telep elegytejében egész évben határérték fölötti mennyiségben fordult elő *S. aureus*.

Eredményeink alapján egyetlen tejtermelő telepről vett tejből *S. aureus* törzsek alacsony diverzitását lehetett kimutatni. A telepen izolált 18 törzs között két különböző *spa* típust (t164 és t1987) azonosítottunk. A törzsek közötti különbségek tükröződtek a hemolízistípusok többféleségében is, bár az antibiotikum-érzékenység szempontjából nem volt különbség a törzsek között. Valamennyi törzs érzékeny volt a tesztelt antibiotikumok többségére, de rezisztensek voltak a penicillin G-re. Egyik izolátum sem tartalmazta a klasszikus enterotoxin géneket, de az összes törzsről kiderült, hogy a *seg*, *sei*, *selm*, *seln* és *selo* gének legalább egyikét hordozza.

A T4 telepről gyűjtött 31 *S. aureus* törzs közül 24 elegytejből, 7 egyedi tejből származott. Valamennyi törzsre jellemző volt, hogy a telluritot tellúrra redukálják, lecitináz enzimet termelnek, kataláz pozitívak és oxidáz negatívak. A t267 *spa* típus fordult elő a leggyakrabban (21/24; 88%) a T4 telep elegytejéből izolált törzsek között, valamint valamennyi egyedi tejmintából izolált *S. aureus* törzs a t267 *spa* típusba tartozott. Két törzs (2/24; 8%) volt t693, egy törzs (1/24; 4%) pedig t359 *spa* típusú. A legtöbb izolátum (25/31; 81%) kettős zónát, négy izolátum (13%)  $\beta$  és gyenge  $\alpha$ -hemolízist, két törzs (6%) pedig  $\beta$ -hemolízist mutatott a véres agaron. Valamennyi T4 telepről származó *S. aureus* izolátum érzékeny volt a vizsgált antimikrobiális szerekre. A 31 törzsből három törzs (10%) volt pozitív a *seh* enterotoxint kódoló génre.

A *S. aureus* mentesítési program alatt végzett kutatásaink eredményei alapján elmondható, hogy az elegytejben az átlag *S. aureus* szám a mintavételi periódusok végére lecsökkent.

A vizsgálataink eredményei a fentiek alapján tehát alátámasztják a *S. aureus* előfordulásának és jellemzőinek a folyamatos monitoringozásának fontosságát, annak érdekében, hogy még időben megelőzhető legyen a szélesebb folyasztói körben esetlegesen előforduló élelmiszer eredetű megbetegedés.

## 9. SUMMARY

Several external and internal factors can affect the microbiological quality of raw milk. These factors need to be given special attention in order to produce safe and good quality milk. Different opinions on the microbiological quality of milk from different cow breeds have been summarized in the literature. It is disputed among the authors whether the microbiological quality of milk changes at different stages of lactation and with the number of lactations. In addition, a minimal amount of Hungarian literature deals with the changes in the microbiological properties of raw milk during the seasons. Several foreign studies have been made in connection with the effects of the seasons on the microbiological quality of raw milk, but these are limited to local specificities and do not reflect Hungarian relations.

*S. aureus* can cause mastitis in dairy farms and is an enterotoxin-producing pathogenic microorganism in a food safety point of view. *S. aureus* can enter milk directly, in the case of cows with subclinical or clinical mastitis, but it can also enter milk from the environment.

As there is few current, relevant information available in Hungary on the effect of breed, lactation stage, lactation number and season on microbiological quality and on the monitoring of the characteristics of *S. aureus* strains in dairy farms, we aimed to determine the following:

- Determination of contamination of raw milk from different dairy farms with *S. aureus* and indicator microbes.
- Determining whether there is a difference between the microbiological quality of milk from different cattle breeds (Holstein Friesian, Jersey) kept and milked with the same housing technology.
- To assess whether the microbiological quality of raw cow milk changes with the number of lactations (primiparous, multiparous) and at different stages of lactation (early, mid, late).
- Determining the changes in the microbiological quality of raw milk with the seasons.
- A better understanding of *S. aureus* strains that can be isolated from milk. The aim of these studies was to determine several virulence factors of the bacterium.
- Monitoring the amount of *S. aureus* in bulk milk during a *S. aureus* control program in a dairy farm.

Seven dairy farms (T1 – T7) in Hajdú-Bihar county were included in the research. During the selection, we tried to select farms that faithfully reflected the conditions in Hungary. A *S.*

*aureus* control program was conducted at the T3 farm, during which we had the opportunity to collect bulk milk samples to assess efficacy.

Data on the daily milk yield, milk fat and protein content, and somatic cell count of the individual cows in T4 and T5 farms were collected from the results published by the Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Ltd. A total of 62 individual milk samples were collected from 38 lactating cows, to investigate the effect of lactation stage and lactation number on the microbiological quality of milk in T4 farm. A total of 63 individual milk samples were collected from 30 lactating cows (16 Holstein Friesian and 14 Jersey cows), to investigate the effect of breed and lactation stage on the microbiological quality of milk in T5 farm. To analyze the effect of seasons on raw milk, three-seven bulk milk samples were collected from the farms per season; a total of 110 milk samples were tested.

We compared the daily milk yield, the fat and protein content of milk produced by the Holstein Friesian and Jersey cows, and obtained results consistent with the literature. Furthermore, the results of the microbiological studies suggested that the breed does not affect the microbiological quality of milk.

It has also been shown that the milk yield decreased in the later stages of lactation, but the fat and protein content showed an increasing trend. This is presumably due to the concentrating effect of the decreasing amount of milk. There was no difference in milk samples from different stages of lactation in terms of total plate count and coliform count, however, the somatic cell count showed an increase in the late stage of lactation.

In our research, it was proved at a Hungarian farm, under large-scale keeping conditions, that the average daily milk yield is less ( $P < 0.05$ ) in the case of primiparous cows than in the case of multiparous cows. Regarding the fat and protein content of the milk, there was no difference between the primiparous and multiparous cows. Based on the results, it was also confirmed that the somatic cell count and the coliform count were higher ( $P < 0.05$ ) in the milk of multiparous cows compared to the milk of the first lactating cows, and the occurrence of *S. aureus* was also higher.

The mean total plate count, coliform and *S. aureus* counts were found to be lower in the samples collected in winter than in the samples collected in summer. The coliform count exceeded the limit in 81% of the samples collected in spring and in all milk samples collected in winter and autumn. In the bulk milk samples of two farms the *S. aureus* counts were exceeded the limit throughout the year.

Based on the results, diversity of *S. aureus* strains isolated from milk of a single dairy farm could be detected. Among the 18 strains isolated from the T3 farm, two different *spa* types

(t164 and t1987) were identified. Differences between strains were also reflected in the diversity of hemolysis types, although there was no difference between strains in term of antibiotic susceptibility. All strains were susceptible to most of the antibiotics tested, but were resistant to penicillin G. None of the isolates contained the classical enterotoxin genes, but all strains were found to carry at least one of the *seg*, *sei*, *selm*, *seln*, and *selo* enterotoxin-encoding genes.

Of the 31 *S. aureus* strains originated from the T4 farm, 24 strains were isolated from bulk milk and seven strains were isolated from individual milk samples. All strains were reduced tellurite to tellurium, produced lecithinase enzyme, were catalase positive, and oxidase negative. The t267 *spa* type occurred most frequently (21/24; 88%) among strains isolated from bulk milk, and all strains isolated from individual milk samples belonged to the t267 *spa* type. Two strains (2/24; 8%) were t693 and one strain (1/24; 4%) was t359 *spa* type. Most isolates (25/31; 81%) showed double zones, four isolates (13%) showed  $\beta$  and weak  $\alpha$ -hemolysis, and two strains (6%) showed  $\beta$ -hemolysis on blood agar. All *S. aureus* isolates from T4 farm were susceptible to the antimicrobial agents tested. Of the 31 strains, three strains (10%) were positive for the *seh* enterotoxin-encoding gene.

Based on the results of our research conducted under the *S. aureus* control program in a dairy farm, it can be said that the mean *S. aureus* count in bulk milk decreased by the end of the sampling periods.

In conclusion, the results of our studies therefore support the importance of continuous monitoring of the occurrence and characteristics of *S. aureus* in order to prevent foodborne illness.

## 10. IRODALOMJEGYZÉK

1. 4/1998. (XI. 11.) EüM rendelet az élelmiszerekben előforduló mikrobiológiai szennyeződések megengedhető mértékéről
2. 853/2004/EK: Az Európai Parlament és a Tanács 853/2004/EK rendelete az állati eredetű élelmiszerek különleges higiéniai szabályainak megállapításáról.
3. ABERA, M. – DEMIE, B. – ARAGAW, K. – REGASSA, F. – REGASSA, A. (2010): Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitic milk and their drug resistance patterns in Adama town, Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*. 2 (3), 29-34.
4. ABO-SHAMA, U. H. (2014): Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from cattle, buffalo, sheep and goat`s raws milk in Sohag governorate, Egypt. *Assiut Veterinary Medical Journal*. 60 (141), 63-72.
5. AHANGARI, Z. – GHORBANPOOR, M. – SHAPOURI, M. R. S. – GHARIBI, D. – GHAZVINI, K. (2017): Methicillin resistance and selective genetic determinants of *Staphylococcus aureus* isolates with bovine mastitis milk origin. *Iranian Journal of Microbiology*. 9 (3), 152-159.
6. AKINDOLIRE, M. A. – BABALOLA, O. O. – ATEBA, C. N. (2015): Detection of Antibiotic Resistant *Staphylococcus aureus* from Milk: A Public Health Implication. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 12, 10254-10275.
7. ALTALHI, A. D. – HASSAN, S. A. (2009): Bacterial quality of raw milk investigated by *Escherichia coli* and isolates analysis for specific virulence-gene markers. *Food Control*. 20, 913-917.
8. ANDERSON, D. – DULMAGE, D. – MCDUGALL, M. – SÉGUIN, G. (2003): General guidelines for effective dairy equipment cleaning. *Dairy Farmers of Ontario*. 2.
9. ANDRÉ, M. C. D. P. B. – CAMPOS, M. R. H. – BORGES, L. J. – KIPNIS, A. – PIMENTA, F.C. – SERAFINI, Á. B. (2008): Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following SmaI digestion. *Food Control*. 19 (2), 200–207.

10. ANGULO, F. J. – NARGUND, V. N. – CHILLER, T. C. (2004): Evidence of an Association between Use of Anti-microbial Agents in Food Animals and Anti-Microbial Resistance among Bacteria Isolated from Humans and the Human Health Consequences of Such Resistance. *Journal of Veterinary Medicine Series B*. 51 (8-9), 374–379.
11. ANUEYIAGU, K. N. – ISIIYAKU, A. W. (2015): Isolation, identification of *Staphylococcus aureus* from bovine milk and its antibiotics susceptibility. *International Journal of Livestock Production*. 6 (6), 74-77.
12. ARGUDÍN, M. Á. – MENDOZA, M. C. – RODICIO, M. R. (2010): Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. *Toxins*. 2 (7), 1751-1773.
13. ASIIMWE, B. B. – BALDAN, R. – TROVATO, A. – CIRILLO, D. M. (2017): Prevalence and molecular characteristics of *Staphylococcus aureus*, including methicillin resistant strains, isolated from bulk can milk and raw milk products in pastoral communities of South-West Uganda. *BMC Infectious Diseases*. 17 (422), 1-8.
14. ASPERGER, H. – ZANGERL, P. (2003): *Staphylococcus aureus*. In: Roginski, H., Fuquay, J. W., Fox, P. F. (szerk) *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 4. Academic Press and Elsevier Science, Amsterdam, Boston, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. 2563– 2569.
15. ATEBA, C. N. – MBEWE, M. – MONEOANG, M. S. – BEZUIDENHOUT, C. C. (2010): Antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from milk in the Mafikeng Area, North West province, South Africa. *South African Journal of Science*. 106, 1-6.
16. AULDIST, M. J. – WALSH, B. J. – THOMSON, N. A. (1998): Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *Journal of Dairy Research*. 65 (3), 401-411.
17. BANG, W – HANSON, D. J. – DRAKE, M. A. (2008): Effect of Salt and Sodium Nitrite on Growth and Enterotoxin Production of *Staphylococcus aureus* during the Production of Air-Dried Fresh Pork Sausage. *Journal of Food Protection*. 71 (1), 191-195.
18. BANIA, J. – DABROWSKA, A. – BYSTRON, J. – KORZEKWA, K. – CHRZANOWSKA, J. – MOLENDNA, J. (2006): Distribution of newly described enterotoxin-like genes in *Staphylococcus aureus* from food. *International Journal of Food Microbiology*. 108 (1), 36-41.

19. BARCS I. (2009): Az antibiotikum-érzékenység és –rezisztencia. In: Barcs I. (szerk.) A Semmelweis Egyetem Egészségtudományi Kar Népegészségügyi Intézetének kiadványa. Budapest, 40.
20. BASANISI, M. G. – NOBILI, G. – LA BELLA, G. – RUSSO, R. – SPANO, G. – NORMANNO, G. – LA SALANDRA, G. (2016): Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from sheep and goat cheeses in southern Italy. *Small Ruminant Research*. 135, 17-19.
21. BENDELJA, D. – PRPIĆ, Z. – MIKULEC, N. (2011): Milk urea concentration in Holstein and Simmental cows. *Mljekarstvo*. 61, 45-55.
22. BENKERROUM, N. (2018): Staphylococcal enterotoxins and enterotoxin-like toxins with special reference to dairy products: An overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 58 (12), 1943-1970.
23. BERGEY, D. H. – BREED, R. S. – MURRAY, E. G. D. – HITCHENS, A. P. (1939): *Enterobacteriaceae*. Pages 587–959 in Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 5th ed. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, MD.
24. BERGONIER, D. – DE CRÉMOUX, R. – RUPP, R. – LAGRIFFOUL, G. – BERTHELOT, X. (2003): Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Research*. 34 (5), 689–716.
25. BÉRI B. (2001): A minőségi tejtermelés lehetősége kisüzemben. *Őstermelő. Gazdálkodók lapja*. 5 (1), 85-87.
26. BÉRI B. (2011): A hőstressz hatása a tejelő tehenek termelésére. In: Béri B. Tartástechnológia. Debreceni Egyetem, Nyugat-Magyarországi Egyetem, Pannon Egyetem. 100.
27. BIANCHI, D. M. – GALLINA, S. – BELLIO, A. – CHIESA, F. – CIVERA, T. – DECASTELLI, L. (2014): Enterotoxin gene profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products in Italy. *Letters in Applied Microbiology*. 58 (2), 190-196.
28. BIRÓ G. – KATONA F. (1983): Tejtermelési higiénia. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 230 p.
29. BIRÓ G. (2014): Élelmiszer-higiénia. Agroinform Kiadó, Budapest. 662 p.
30. BONDAN, C. – FOLCHINI, J. A. – NORO, M. – QUADROS, D. L. – MACHADO, K. M. – GONZÁLEZ, F. H. D. (2018): Milk composition of Holstein cows: a retrospective study. *Ciência Rural* 48 (12), 1-8.

31. BOURAOUI, R. – LAHMAR, M. – MAJDOUB, A. – DJEMALI, M. – BELYEA, R. (2002): The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Animal Research*. 51, 479-491.
32. BRAKSTAD, O. G. – AASBAKK, K. – MAELAND, J. A. (1992): Detection of *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction Amplification of the nuc Gene. *Journal of Clinical Microbiology*. 30 (7), 1654-1660.
33. BUKOWSKI, M. – WLADYKA, B. – DUBIN, G. (2010): Exfoliative Toxins of *Staphylococcus aureus*. *Toxins*. 2 (5), 1148-1165.
34. BYTYQI, H. – VEHAPI, I. – REXHEPI, S. – THAQI, M. – SALLAHI, D. – MEHMETI, I. (2013): Impact of Bacterial and Somatic Cells Content on Quality Fresh Milk in Small-Scale Dairy Farms in Kosovo. *Food and Nutrition Sciences*. 4, 1014-1020.
35. CAMPOLO, O. – ROMEO, F. V. – ATTINÀ, A. – ZAPPALÀ, L. – PALMERI, V. (2013): Hygienic and physicochemical quality characterisation of artisanal and industrial Pecorino Calabrese cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 66 (4), 595-603.
36. CANIGOVA, M. – HEGEDŰSOVA, A. – DUCKOVÁ, V. (2004): A fertőtlenítőszeres hatékonyságának vizsgálata a tejből izolált pszichotróf baktériumokra. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 12, 761-764.
37. CARFORA, V. – CAPRIOLI, A. – MARRI, N. – SAGRAFOLI, D. – BOSELLI, C. – GIACINTI, G. – GIANGOLINI, G. – SORBARA, L. – DOTTARELLI, D. – BATTISTI, A. – AMATISTE, S. (2015): Enterotoxin genes, enterotoxin production, and methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products in Central Italy. *International Dairy Journal*. 42, 12-15.
38. CARMELI, Y. – TROILLET, N. – KARCHMER, A. W. – SAMORE, M. H. (1999): Health and economic outcomes of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives of Internal Medicine*. 159, 1127–1132.
39. CHARLIER, C. – CRETENET, M. – EVEN, S. – LOIR, Y. L. (2009): Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: an old story with new perspectives. *International Journal of Food Microbiology*. 131 (1), 30–39.
40. CHIANG, Y-C. – LIAO, W-W. – FAN, C-M. – PAI, W-Y. – CHIOU, C-S. – TSEN, H-Y. (2008): PCR detection of Staphylococcal enterotoxins (SEs) N, O, P, Q, R, U, and survey of SE types in *Staphylococcus aureus* isolates from food-poisoning cases in Taiwan. *International Journal of Food Microbiology*. 121 (1), 66-73.

41. CHYE, F. Y. – ABDULLAH, A. – AYOB, M. K. (2004): Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiology*. 21, 535-541.
42. CILLIERS, F. P. – GOUWS, P. A. – KOUTCHMA, T. – ENGELBRECHT, Y. – ADRIAANSE, C. – SWART, P. (2014): A microbiological, biochemical, and sensory characterisation of bovine milk treated by heat and ultraviolet (UV) light for manufacturing Cheddar cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 23, 94-106.
43. CLAEYS, W. I. – CARDOEN, S. – DAUBE, G. – BLOCK, J. D. – DEWETTINCK, K. – DIERICK, K. – ZUTTER, L. D. – HUYGHEBAERT, A. – IMBERECHTS, H. – THIANGE, P. – VANDENPLAS, Y. – HERMAN, L. (2013): Raw or heated cow milk composition: Review of risks and benefits. *Food Control*. 31, 251-262.
44. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI) (2017): Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100, 27th Edition. January 2017. Replaces M100-S26. 282 p.
45. COSGROVE, S. E. (2006): The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: Mortality, length of hospital stay, and health care costs. *Clinical Infectious Diseases*. 42 (2), S82–S89.
46. CRODDY, E. C. – PEREZ-ARMENDARIZ, C. – HART, J. (2002): Chemical and Biological Warfare: A Comprehensive Survey for the Concerned Citizen; Springer-Verlag: New York, NY, USA, 30–31.
47. CZISZTER, L. T. – ACATINCĂI, S. – NECIU, F. C. – NEAMȚ, R. I. – ILIE, D. E. – COSTIN, L. I. – GAVOJDIAN, D. – TRIPON, I. (2012): The influence of season on the cow milk quantity, quality and hygiene. *Animal Science and Biotechnologies*. 45 (2), 305-312.
48. CSAPÓ J. – CSAPÓNÉ K. ZS. (2002): Tej és tejtermékek a táplálkozásban. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 464 p.
49. CSÁSZÁR G. – UNGER A. (2005): A minőségi tejtermelés alapjai. Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet. Mosonmagyaróvár, 46 p.
50. DAN, M. – YEHUI, W. – QINGLING, M. – JUN, Q. – XINGXING, Z. – SHUAI, M. – CUOJUN, C. – JINSHENG, Z. – ZIBING, C. – ZAICHAO, Z. – XUEPENG, C. (2019): Antimicrobial resistance, virulence gene profile and molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cows in Xinjiang Province, northwest China. *Journal of Global Antibiotic Resistance*. 16, 98-104.

51. DAI, J. – WU, S. – HUANG, J. – WU, Q. – ZHANG, F. – ZHANG, J. – WANG, J. – DING, Y. – ZHANG, S. – YANG, X. – LEI, T. – XUE, L. – WU, H. (2019): Prevalence and Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated From Pasteurized Milk in China. *Frontiers in Microbiology*. 10, 1-10.
52. DE SILVA, S. A. S. D. – KANUGALA, K. A. N. P. – WEERAKKODY, N. S. (2016): Microbiological quality of raw milk and effect on quality by implementing good management practices. *Procedia Food Science*. 6, 92-96.
53. DEÁK T. (2006): Élelmiszer-mikrobiológia. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 382 p.
54. DERZELLE, S. – DILASSER, F. – DUQUENNE, M. – DEPERROIS, V. (2009): Differential temporal expression of the staphylococcal enterotoxins genes during cell growth. *Food Microbiology*. 26 (8), 896–904.
55. DSMZ (GERMAN COLLECTION OF MICROORGANISMS AND CELL CULTURES) (2020): Genus *Staphylococcus*. <https://www.bacterio.net/genus/staphylococcus>. Accessed 12 May 2020
56. EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY) (2016): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2015. EFSA Journal published by John Wiley and Sons Ltd 14 (12), 4634
57. EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY) (2017): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2016. EFSA Journal published by John Wiley and Sons Ltd 15 (12), 5077
58. EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY) (2019): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2018. EFSA Journal published by John Wiley and Sons Ltd 17 (12), 5926
59. EL-HAMDANI, M. – MOUHADDACH, A. – EL HOUSNI, A. – BENDAOU, M. – DOUAÏK, A. – OUNINE, K. – BOUKSAÏM, M. (2016): Hygienic quality of bovine raw milk samples from Oulmes local breeds in Morocco. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*. 10 (7), 56-59.
60. EL-HOFI, M. – EL-TANBOLY, E. – ISMAIL, A. (2010): Implementation of the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) system to UF white cheese

- production line. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*. 9 (3), 331-342.
61. EL-SAID, W. A. G. – MORGAN, S. D. – EL-SHABRAWY, M. – ABUELNAGA, A. S. M. – ELGABRY, E. A. – MANSOUR, A. S. M. (2013): Advanced Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins in Milk. *Global Veterinaria*. 11 (4), 403-405.
  62. ERCOLI, L. – GALLINA, S. – NIA, Y. – AUVRAY, F. – PRIMAVILLA, S. – GUIDI, F. – PIERUCCI, B. – GRAZIOTTI, C. – DECASTELLI, L. – SCUOTA, S. (2017): Investigation of a Staphylococcal Food Poisoning Outbreak from a Chantilly Cream Dessert, in Umbria (Italy). *Foodborne Pathogens and Disease*. 14 (7), 407-413.
  63. ERSKINE, R. J. – WALKER, R. D. – BOLIN, C. A. – BARTLETT, P. C. – WHITE, D. G. (2002): Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. *Journal of Dairy Science*. 85, 1111-1118.
  64. ESSERS, L. – RADEBOLD, K. (1980): Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* by a latex agglutination test. *Journal of Clinical Microbiology*. 12, 641-3.
  65. FENG, Y. – QI, W. – XU-RONG, W. – LING, W. – XIN-PU, L. – JIN-YIN, L. – SHI-DONG, Z. – HONG-SHENG, L. (2016): Genetic characterization of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis cases in Northwest China. *Journal of Integrative Agriculture*. 15 (12), 2842–2847.
  66. GALTON, D. M. – ADKINSON, R. W. – THOMAS, C. V. – SMITH, T. W. (1982): Effects of premilking udder preparation on environmental bacterial contamination of milk. *Journal of Dairy Sciences*. 65, 1540–1543.
  67. GEARY, U. – LOPEZ-VILLALOBOS, N. – GARRICK, D. J. – SHALLOO, L. (2010): Development and application of a processing model for the Irish dairy industry. *Journal of Dairy Sciences*. 93, 5091-5100.
  68. GRABER, H. U. – PFISTER, S. – BURGNER, P. – BOSS, R. – MEYLAN, M. – HUMMERJOHANN, J. (2013): “Bovine *Staphylococcus aureus*: Diagnostic properties of specific media”. *Research in Veterinary Science*. 95, 38-44.
  69. GURMESSA, J. – MELAKU A. (2012): Effect of Lactation Stage, Pregnancy, Parity and Age on Yield and Major Components of Raw Milk in Bred Cross Holstein Friesian Cows. *World Journal of Dairy & Food Sciences*. 7 (2), 146-149.

70. GÜNDOĞAN, N. – CITAK, S. – TURAN, E. (2006): Slime production, DNase activity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk, pasteurised milk and ice cream samples. *Food Control*. 17, 389-392.
71. GWIDA, M. M. – EL-GOHARY, F. A. (2013): Zoonotic Bacterial Pathogens Isolated from Raw Milk with Special Reference to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in Dakahlia Governorate. *Egyptian Scientefic Reports*. 2, 1-4.
72. HAMANN, J. – MEIN, G. A. – WETZEL, S. (1993): Teat tissue reactions to milking: effects of vacuum level. *Journal of Dairy Science*. 76, 1040-1046.
73. HASMAN, H. – MOODLEY, A. – GUARDABASSI, L. – STEGGER, M. – SKOV, L. R. – AARESTRUP, F. M. (2010): *spa* type distribution in *Staphylococcus aureus* originating from pigs, cattle and poultry. *Veterinary Microbiology*. 14, 326-331.
74. HAUG, A. – HØSTMARK, A. T. – HARSTAD, O. M. (2007): Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids in Health and Disease*. 6, 25.
75. HENNEKINNE, J. – DE BUYSER, M. – DRAGACCI, S. (2011): *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*. 36 (4), 815-836.
76. HENNEKINNE, J. – OSTYN, A. – GUILLIER, F. – HERBIN, S. – PRUFER, A. – DRAGACCI, S. (2010): How Should Staphylococcal Food Poisoning Outbreaks Be Characterized? *Toxins*. 2 (8), 2106-2116.
77. HILL, B. – SMYTHE, B. – LINDSAY, D. – SHEPHERD, J. (2012): Microbiology of raw milk in New Zealand. *International Journal of Food Microbiology*. 157, 305-308.
78. HNASKO, R. – LIN, A. V. – MCGARVEY, J. A. (2019): Rapid Detection of Staphylococcal Enterotoxin-B by Lateral Flow Assay. *Monoclonal Antibodies in Immunodiagnosis and Immunotherapy*. 38 (5), 209-212.
79. HOEKSTRA, J. – ZOMER, A. L. – RUTTEN, V. P. M. G. – BENEDICTUS, L. – STEGEMAN, A. – SPANINKS, M. P. – BENNEDSGAARD, T. W. – BIGGS, A. – DE VliegHER, S. – MATEO, D. H. – HUBER-SCHLENSEDT, R. – KATHOLM, J. – KOVÁCS P. – KRÖMKER, V. – LEQUEUX, G. – MORONI, P. – PINHO, L. – SMULSKI, S. – SUPRÉ, K. – SWINKELS, J. M. – HOLMES, M. A. – LAM, T. J. G. M. – KOOP, G. (2020): Genomic analysis os European bovine

- Staphylococcus aureus* from clinical versus subclinical mastitis. *Scientific Reports*. 10, 18172.
80. HOLLÓ I. – SZABÓ F. (2016): Szarvasmarha-tenyésztés. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 257.
  81. HUONG, B. T. M. – MAHMUD, Z. H. – NEOGI, S. B. – KASSU, A. – NHIEN, N. V. – MOHAMMAD, A. – YAMATO, M. – OTA, F. – LAM, N.T. – DAO, H. T. A. – KHAN, N. C. (2010): Toxigenicity and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* isolated from Vietnamese ready-to-eat foods. *Food Control*. 21, 166–171.
  82. HWANG, S. Y. – PARK, Y. K. – KOO, H. C. – PARK, Y. H. (2010): *spa* typing and enterotoxin gene profile of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine raw milk in Korea. *Journal of Veterinary Science*. 11 (2), 125-131.
  83. IMHOFF, J. (2005): *Enterobacteriales*. In: Brenner, D.; Krieg, N.; Staley, J.; Garrity, G.; Boone, D.; De Vos, P.; Goodfellow, M.; Rainey, F.; Schleifer K. H. (szerk). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer, New York, NY. 587–850 p.
  84. ISO 4832 (2006): Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony-count technique.
  85. IVANOV, G. Y. – BILGUCU, E. – BALABANOVA, T. B. – IVANOVA, I. V. – UZATICI, A. (2017): Effect of animal breed, season and milk production scale on somatic cell count and composition of cow milk. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 23, 1047-1052.
  86. JAIN, N. C. (1979): Common mammary pathogens and factors in infection and mastitis. *Journal of Dairy Science*. 62, 128-134.
  87. JAKOBSEN, R. A. – HEGGEBØ, R. – SUNDE, E. B. – SKJERVHEIM, M. (2011): *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Norwegian raw milk cheese production. *Food Microbiology*. 28, 492-496.
  88. JAMALI, H. – PAYDAR, M. – RADMEHR, B. – ISMAIL, S. – DADRASNIA, A. (2015): Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. *Food Control*. 54, 383-388.
  89. JAVID, F. – TAKU, A. – BHAT, M. A. – BADROO, G. A. – MUDASIR, M. – SOFI, T. A. (2018): Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on coagulase gene. *Veterinary World*. 11 (4), 423-430.
  90. JÁVOR A. (1999): Higiénikus tejtermelés a kisgazdaságokban. Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest. 54 .

91. JAY, J. M. (1996): Modern food microbiology (5th ed.). Chapman & Hall, New York. 661.
92. JEVONS, M. P. (1961): Celbenin-resistant staphylococci. *British Medical Journal*. 1, 124–125.
93. JOHLER, S. – LAYER, F. – STEPHAN, R. (2011): Comparison of virulence and antibiotic resistance genes of food poisoning outbreak isolates of *Staphylococcus aureus* with isolates obtained from bovine mastitis milk and pig carcasses. *Journal of Food Protection*. 74, 1852–1859.
94. JØRGENSEN, H. J. – MØRK, T. – HØGÅSEN, H. R. – RØRVIK, L. M. (2005a): Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in bulk milk in Norway. *Journal of Applied Microbiology*. 99, 158-166.
95. JØRGENSEN, H. J. – MØRK, T. – RØRVIK, L. M. (2005b): The occurrence of *Staphylococcus aureus* on a farm with small-scale production of raw milk cheese. *Journal of Dairy Science*. 88, 3810–3817.
96. KADARYIA, J. – SMITH, T. C. – THAPALYIA, D. (2014): *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. *BioMed Research International*. 2014, 1-9.
97. KARAHAN, M. – AÇIK, M. N. – CETINKAYA, B. (2009): Investigation of toxin genes by polymerase chain reaction in *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis in Turkey. *Foodborne Pathogens and Disease*. 6 (8), 1029-1035.
98. KONEMAN, E. W. – WINN, W. – ALLEN, S. – JANDA, W. – PROCOP, G. – SCHRECKENBERGER, P. – WOODS, G. (1997): Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th edn. Philadelphia: J.B. Lippincott.
99. KORPYSA-DZIRBA, W. – OSEK, J. (2011): Identification of genes encoding classical staphylococcal enterotoxins in *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk. *Bulletin- Veterinary Institute in Pulawy*. 55 (1), 55-58.
100. KOREEN, L. – RAMASWAMY, S. V. – GRAVISS, E. A. – NAIDICH, S. – MUSSER, J. M. – KREISWIRTH, B. N. (2004): *Spa* typing method for discriminating among *Staphylococcus aureus* isolates: Implications for use of a single marker to detect genetic micro- and macrovariation. *Journal of Clinical Microbiology*. 42, 792–799.
101. KOTZAMANIDIS, C. – VAFEAS, G. – GIANTZI, V. – ANASTASIADOU, S. – MYGDALIAS, S. – MALOUSI, A. – LOUKIA, E. – DANIEL, S. – ZDRAGAS, A. (2021): *Staphylococcus aureus* isolated from ruminants with mastitis in northern

- Greece dairy herds: Genetic relatedness and phenotypic and genotypic characterization. *Toxins*. 13 (176), 1-16.
102. KOVÁCS P. – SZITA G. – BRYDL, E. – JURKOVICH, V. – KÖNYVES L. (2009): The occurrence of mastitis pathogens in Hungarian dairy herds. *Folia Veterinaria*. Suppl 1, 184.
  103. KOVÁCS P. – TIBOLD J. – ÓZSVÁRI L. (2015): A *Staphylococcus aureus* tüdőgyulladás elleni védekezés egy nagyüzemi holstein-fríz állományban és a fertőzés gazdasági hatásai. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 137, 707-718.
  104. KWON, N. H. – PARK, K. T. – JUNG, W. K. – YOUN, H. Y. – LEE, Y. – KIM, S. H. – BAE, W. – LIM, J. Y. – KIM, J. Y. – KIM, J. M. – HONG, S. K. – PARK, Y. H. (2006): Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness. *Veterinary Microbiology*. 117, 304-312.
  105. LACHICA, R. V. F. – HOEPRICH, P. D. – RIEMANN, H. P. (1972): Tolerance of staphylococcal thermonuclease to stress. *Applied Microbiology*. 23, 994-997.
  106. LACZAY, P. (2008): Tejtermelési higiénia. In: Laczay, P. (szerk.), Élelmiszerhigiénia, Élelmiszerlánc-biztonság. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 239–307.
  107. LI, T. – LU, H. – WANG, X. – GAO, Q. – DAI, Y. – SHANG, J. – LI, M. (2017): Molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis between 2014 and 2015. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 7, 127.
  108. LINA, G. – BOHACH, G. A. – NAIR, S. P. – HIRAMATSU, K. – JOUVIN-MARCHE, E. – MARIUZZA, R. (2004): Standard nomenclature for the superantigens expressed by *Staphylococcus*. *The Journal of Infectious Diseases*. 189 (12), 2334–2336.
  109. LOIR, Y. L. – BARON, F. – GAUTIER, M. (2003): *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*. 2 (1), 63-76.
  110. LONCAREVIC, S. – JØRGENSEN, H. J. – LØVSETH, A. – MATHISEN, T. – RØRVIK, L. M. (2005): Diversity of *Staphylococcus aureus* enterotoxin types within single samples of raw milk and raw milk products. *Journal of Applied Microbiology*. 98, 344-350.
  111. LOVÁSZ, CS. (2014): A kémiai Nobel-díj és a *Staphylococcus aureus*. A modern tömegspektrometria szerepe a mikroorganizmusok azonosításában. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*. 60 (4), 326-343.

112. LOZANO, C. – GÓMEZ-SANZ, E. – BENITO, D. – ASPIROZ, C. – ZARAZAGA, M. – TORRES, C. (2011): *Staphylococcus aureus* nasal carriage, virulence traits, antibiotic resistance mechanisms, and genetic lineages in healthy humans in Spain, with detection of CC398 and CC97 strains. *International Journal of Medical Microbiology*. 301, 500-505.
113. MADISON, B. M. – V. S. BASELSKI. (1983): Rapid identification of *Staphylococcus aureus* in blood cultures by thermonuclease testing. *Journal of Clinical Microbiology*. 18, 722-724.
114. Magyar Élelmiszerkönyv 2-51 számú irányelv (2004). Tej és tejtermékek. Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság.
115. MARKUS G. (2016): Tejminőség és fejőházi higiénia. *Agro Napló*. 5, 113-114.
116. MARR, J. C. – LYON, J. D. – ROBERSON, J. R. – LUPHER, M. – DAVIS, W. C. – BOHACH, G. A. (1993): Characterization of novel type C staphylococcal enterotoxins: biological and evolutionary implications. *Infection and Immunity*. 61 (10), 4254–4262.
117. MARTIN, N. H. – TRMČIĆ, A. – HSIEH, T. – BOOR, K. J. – WIEDMANN, M. (2016): The Evolving Role of Coliforms As Indicators of Unhygienic Processing Conditions in Dairy Foods. *Frontiers in Microbiology*. 7 1549, 1-8.
118. MBUK, E. U. – KWAGA, J. K. P. – BALE, J. O. O. – BORO, L. A. – UMOH, J. U. (2016): Coliform organisms associated with milk of cows with mastitis and their sensitivity to commonly available antibiotics in Kaduna State, Nigeria. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*. 8 (12), 228-236.
119. MCCALLUM, N. – BERGER-BACHI, B. – SENN, M. M. (2010): Regulation of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*. 300 (2-3), 118-129.
120. MEDVECZKY I. – RUSVAI M. – VARGA J. – TUBOLY S. (1999): Állatorvosi járványtan I. - Állatorvosi mikrobiológia, bakteriológia, virológia, immunológia. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 612.p.
121. MEHLI, L. – HOEL, S. – THOMASSEN, G. M. B. – JAKOBSEN, A. N. – KARLSEN, H. (2017): The prevalence, genetic diversity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* in milk, whey, and cheese from artisan farm dairies. *International Dairy Journal*. 65, 20-27.
122. MEHROTRA, M. – WANG, G. – JOHNSON, W. M. (2000): Multiplex PCR for Detection of Genes for *Staphylococcus aureus* Enterotoxins, Exfoliative Toxins,

- Toxic Shock Syndrome Toxin 1, and Methicillin Resistance. *Journal of Clinical Microbiology*. 38 (3), 1032-1035.
123. MELLMANN, A. – WENIGER, T. – BERSSENBRÜGGE, C. – KECKEVOET, U. – FRIEDRICH, A. W. – HARMSSEN, D. – GRUNDMANN, H. (2008): Characterization of clonal relatedness among the natural population of *Staphylococcus aureus* strains by using *spa* sequence typing and the BURP (based upon repeat patterns) algorithm. *Journal of Clinical Microbiology*. 46 (8), 2805-2808.
  124. MERÉNYI I. – LENGYEL Z. (1996): Tejgazdasági kézikönyv. Gazda Kistermelői Lap- és Könyvkiadó Kft., Budapest. 365.p.
  125. MERÉNYI I. – SCHNEIDER F. (1999): A tej termelése. Gazda Kiadó, Budapest, 234 p.
  126. MERÉNYI I. – WÁGNER A. (1989): Vizsgálatok a termelői nyerstej szomatikus sejt tartalmának alakulása. *Állattenyésztés és takarmányozás*. 38 (1), 31-45.
  127. MERZ, A. – STEPHAN, R. – JOHLER, S. (2016): *Staphylococcus aureus* isolates from goat and sheep milk seem to be closely related and differ from isolates detected from bovine milk. *Frontiers in Microbiology*. 7, 319.
  128. MHONE, T. A. – MATOPE, G. – SAIDI, P. T. (2011): Aerobic bacterial, coliform, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* counts of raw and processed milk from selected smallholder dairy farms of Zimbabwe. *International Journal of Food Microbiology*. 151, 223-228.
  129. MIKÓ E. – BARANYI A. – GRÁFF M. (2015): Analysis of somatic cells in cow's milk. *Lucrări Științifice*. 17 (1), 290-293.
  130. MITRA, S. D. – VELU, D. – BHUVANA, M. – KRITHIGA, N. – BANERJEE, A. – SHOME, R. – RAHMAN, H. – GHOSH, S. K. – SHOME, B. R. (2013): *Staphylococcus aureus spa* type t267, clonal ancestor of bovine subclinical mastitis in India. *Journal of Applied Microbiology*. 114, 1604-1615.
  131. MOHAMED, N. N. I. – EL ZUBEIR, I. E. M. (2007): Evaluation of the hygienic quality of market milk of Khartoum State (Sudan). *International Journal of Dairy Science*. 2, 33-41.
  132. MORANDI, S. – BRASCA, M. – ANDRIGHETTO, C. – LOMBARDI, A. – LODI, R. (2009): Phenotypic and genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* strains from Italian dairy products. *International Journal of Microbiology*. 2009, 1-7.

133. MORANDI, S. – BRASCA, M. – LODI, R. – CREMONESI, P. – CASTIGLIONI, B. (2007): Detection of classical enterotoxins and identification of enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* from milk and dairy products. *Veterinary Microbiology*. 124 (1-2), 66-72.
134. MPATSWENUMUGABO, J. P. – BEBORA, L. C. – GITAO, G. C. – MOBEGI, V. A. – IRAGUHA, B. – KAMANA, O. – SHUMBUSHO, B. (2017): Prevalence of Subclinical Mastitis and Distribution of Pathogens in Dairy Farms of Rubavu and Nyabihu Districts, Rwanda. *Journal of Veterinary Medicine*. 2017, 1-8.
135. MSZ EN ISO 4833-1:2014. Élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a mikroorganizmusok számlálására. 1. rész: Telepszámlálás 30 °C-on lemezöntés módszerrel.
136. MSZ EN ISO 6887-1:2017. Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. A vizsgálati minták, az alapsuszpenzió és a decimális hígítások elkészítése mikrobiológiai vizsgálathoz. 1. rész: Az alapsuszpenzió és a decimális hígítások elkészítésének általános szabályai.
137. MSZ EN ISO 6888-1:2008. Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. Horizontális módszer a koagulázpozitív sztafilokokkuszok (*Staphylococcus aureus* és más fajok) számának meghatározása. 1. rész: Baird-Parker-agar táptalajos eljárás.
138. NIA, Y. – RODRIGUEZ, M. – ZELENY, R. – HERBIN, S. – AUVERAY, F. – FIEBIG, U. – AVONDET, M. A. – MUNOZ, A. – HENNEKINNE, J. (2016): Organization and ELISA-Based Results of the First Proficiency Testing to Evaluate the Ability of European Union Laboratories to Detect Staphylococcal Enterotoxin Type B (SEB) in Buffer and Milk. *Toxins*. 8 (9), 268.
139. NÓBREGA, D. B. – LANGONI, H. (2011): Breed and season influence on milk quality parameters and in mastitis occurrence. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 31 (12), 1045-1052.
140. NORMANNO, G. – LA SALANDRA, G. – DAMBROSIO, A. – QUAGLIA, N. C. – CORRENTE, M. – PARISI, A. – SANTAGADA, G. – FIRINU, A. – CRISSETTI, E. – CELANO, G. V. (2007): Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *International Journal of Food Microbiology*. 115, 290–296.

141. OBAIDAT, M. M. – ROESS, A. A. – MAHASNEH, A. A. – AL-HAKIMI, R. A. (2018): Antibiotic-resistance, enterotoxin gene profiles and farm-level prevalence of *Staphylococcus aureus* in cow, sheep and goat bulk tank milk in Jordan. *International Dairy Journal*. 81, 28-34.
142. OGOLA, H. – SHITANDI, A. – NANUA, J. (2007): Effect of mastitis on raw milk compositional quality. *Journal of Veterinary Science*. 8 (3), 237-242.
143. OTE, I. – TAMINIAU, B. – DUPREZ, J. – DIZIER, I. – MAINIL, J. G. (2011): Genotypic characterization by polymerase chain reaction of *Staphylococcus aureus* isolates associated with bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*. 153, 285-292.
144. ÓZSVÁRI L. (2012): A tögygyulladás és a szaporasági zavarok által okozott veszteségek nagysága a hazai termelés-ellenőrzött tejhasznosítású tehénállományokban. *Holstein magazin*. 20 (2), 26-32.
145. PADUCH, J. – MOHR, E. – KRÖMKER, V. (2012): The association between teat end hyperkeratosis and teat canal microbial load in lactating dairy cattle. *Veterinary Microbiology*. 158, 353-359.
146. PÁL T. (2013): Az orvosi mikrobiológia tankönyve. Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest. 544 p.
147. PANTOSTI, A. – SANCHINI, A. – MONACO, M. (2007): Mechanisms of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Future Microbiology*. 2, 323–334.
148. PAPADOPOULOS, P. – ANGELIDIS, A. S. – PAPADOPOULOS, T. – KOTZAMANIDIS, C. – ZDRAGAS, A. – PAPA, A. – FILIOUSSIS, G. – SERGELIDIS, D. (2019): *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) in bulk tank milk, livestock and dairy-farm personnel in north-central and north-eastern Greece: Prevalence, characterization and genetic relatedness. *Food Microbiology*. 84, 103249.
149. PÁSZTOR A. (2002): Higiénia a szarvasmarha-telepen. *Magyar Mezőgazdaság*. 57 (11), 14-15.
150. PAULIN, S. – HORN, B. – HUDSON, J. A. (2011): Factors influencing staphylococcal enterotoxin production in dairy products. Ministry for Primary Industries, Wellington. 79 p.
151. PELES F. – MÁTHÉNÉ SZ. ZS. – BÉRI B. – SZABÓ A. (2008): A tartástechnológia hatása a nyers tej mikrobiológiai állapotára. *Agrártudományi Közlemények*. 31, 67-75.

152. PELES F. – WAGNER, M. – KERESZTÚRI P. – BÉRI B. – SZABÓ A. (2007a): *Staphylococcus aureus* törzsek összehasonlító elemzése molekuláris mikrobiológiai módszerekkel. *Agrártudományi Közlemények*. 26, 34-39.
153. PELES F. – WAGNER, M. – VARGA L. – HEIN, I. – RIECK, P. – GUTSER, K. – KERESZTÚRI P. – KARDOS G. – TURCSÁNYI I. – BÉRI B. – SZABÓ A. (2007b): Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *International Journal of Food Microbiology*. 118, 186-193.
154. PEREIRA, V. – LOPES, C. – CASTRO, A. – SILVA, J. – GIBBS, P. – TEIXEIRA, P. (2009) Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. *Food Microbiology*. 26 (3), 278-282.
155. PETON, V. – LOIR, Y. L. (2014): *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. *Infection, Genetics and Evolution*. 21, 602-615.
156. PETRÓCZKI F. M. – BÉRI B. – PELES F. (2020): The effect of season on the microbiological status of raw milk. *Agrártudományi Közlemények*. 1, 95-99.
157. PRATAP, A. – VERMA, D. K. – KUMAR, P. – SINGH, A. (2014): Effect of Pregnancy, Lactation Stage, Parity and Age on Yield and Components of Raw Milk in Holstein Friesian Cows in organized Dairy form in Allahabad. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)* 7 (2), 112-115.
158. PYÖRÄLÄ, S. – TAPONEN, S. (2009): Coagulase-negative staphylococci – Emerging mastitis pathogens. *Veterinary Microbiology*. 134, 3-8.
159. QUIGLEY, L. – O’SULLIVAN, O. – BERESFORD, T. P. – ROSS, R. P. – FITZGERALD, G. F. – COTTER, P. D. (2011): Molecular approaches to analysing the microbial composition of raw milk and raw milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*. 150, 81-94.
160. ROLA, J. G. – CZUBKOWSKA, A. – KORPYSA-DZIRBA, W. – OSEK, J. (2016): Occurrence of *Staphylococcus aureus* on Farms with Small Scale Production of Raw Milk Cheeses in Poland. *Toxins*. 8 (62), 1-9.
161. ROSEC, J. P. – GIGAUD, O. (2002): Staphylococcal enterotoxin genes of classical and new types detected by PCR in France. *International Journal of Food Microbiology*. 77 (1-2), 61-70.
162. ROSENGREN, Å. – FABRICIUS, A. – GUSS, B. – SYLVÉN, S. – LINDQVIST, R. (2010): Occurrence of foodborne pathogens and characterization of

- Staphylococcus aureus* in cheese produced on farm-dairies. *International Journal of Food Microbiology*. 144, 263-269.
163. RŮŽIČKOVÁ, V. – KARPÍŠKOVÁ, R. – PANTŮČEK, R. – POSPÍŠILOVÁ, M. – ČERNÍKOVÁ, P. – DOŠKAŘ, J. (2008): Genotype analysis of enterotoxin H-positive *Staphylococcus aureus* strains isolated from food samples in the Czech Republic. *International Journal of Food Microbiology*. 121, 60-65.
164. RYSANEK, D. – BABAK, V. – ZOUHAROVA, M. (2007): Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw milk contamination with mastitis pathogens. *Veterinarni Medicina*. 52 (6), 223-230.
165. SCHELIN, J. – WALLIN-CARLQUIST, N. – COHN, M. T. – LINDQVIST, R. – BARKER, G. C. (2011): The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence*. 2 (6), 580-592.
166. SCHERRER, D. – CORTI, S. – MUEHLHERR, J. E. – ZWEIFEL, C. – STEPHAN, R. (2004): Phenotypic and genotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from raw bulk-tank milk samples of goats and sheep. *Veterinary Microbiology*. 101, 101–107.
167. SCHLIEVERT, P. M. – STRANDBERG, K. L. – LIN, Y. – PETERSON, M. L. – LEUNG, D. Y. M. (2010): Secreted Virulence Factor Comparison Between Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus*, and its Relevance to Atopic Dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 125, 1-24.
168. SEQNET (EUROPEAN NETWORK OF LABORATORIES FOR SEQUENCE BASED TYPING OF MICROBIAL PATHOGENS): 2004. DNA Sequencing of the spa Gene. Available online: <https://www.seqnet.org/downloads.html> (accessed on 01 Oct 2020)
169. SHARMA, N. K. – REES, C. E. D. – DODD, C. E. R. (2000): Development of a single-reaction multiplex PCR toxin typing assay for *Staphylococcus aureus* strains. *Applied and Environmental Microbiology*. 66 (4), 1347-1353.
170. SHELDRAKE, R. F. – HOARE, R. J. T. – MCGREGOR, G. D. (1983): Lactation stage, parity, and infection affecting somatic cells, electrical conductivity, and serum albumin in milk. *Journal of Dairy Science*. 66, 542-547.
171. SHUIEP, E. S. – ELTAHER, H. A. – EL ZUBEIR, I. E. M. (2016): Effect of stage of lactation and order of parity on milk composition and daily milk yield among

- local and crossbred cows in South Darfur State, Sudan. *SUST Journal of Agricultural and Veterinary Sciences (SJAVS)* 17 (2), 86-99.
172. SONG, M. – BAI, Y. – XU, J. – CARTER, M. Q. – SHI, C. – SHI, X. (2015): Genetic diversity and virulence potential of *Staphylococcus aureus* isolates from raw and processed food commodities in Shanghai. *International Journal of Food Microbiology*. 195, 1-8.
173. SPANU, V. – SPANU, C. – VIRDIS, S. – COSSU, F. – SCARANO, C. – DE SANTIS, E. P. L. (2012): Virulence factors and genetic variability of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw sheep's milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*. 153 (1-2), 53–57.
174. SPSS (2013) SPSS 22.0 for Windows. SPSS Inc., Chicago, IL, USA. Copyright © SPSS Inc., 1989-2013.
175. TENHAGEN, B. A. – KÖSTER, G. – WALLMANN, J. – HEUWIESER, W. (2006): Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *Journal of Dairy Science*. 89 (7), 2542-2551.
176. TESSEMA, F. (2016): Prevalence and drug resistance patterns of *Staphylococcus aureus* in lactating dairy cow's milk in Wolayta Sodo, Ethiopia. *EC Veterinary Science*. 2, 226-230.
177. THAKER, H. C. – BRAHMBHATT, M. N. – NAYAK, J. B. (2013): Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from milk and milk products and their drug resistance patterns in Anand, Gujarat. *Veterinary World*. 2013, 10-13.
178. TONA, G. O. – OLADIPO, I. C. – OSENI, S. O. (2016): Assessment of physicochemical and microbiological quality of Jersey cattle raw milk at different stages of lactation. *International Journal of Science and Research*. 5 (6), 2610-2613.
179. TÓTH A. G. – CSABAI I. – KRIKÓ E. – TŐZSÉR D. – MARÓTI G. – PATAI Á. V. – MAKRAI L. – SZITA G. – SOLYMOSI N. (2020): Antimicrobial resistance genes in raw milk for human consumption. *Scientific Reports*. 10, 7464.
180. TÓTH L. – BAK J. (2001): A minőségi tejtermelés technikája. Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest. 217 p.
181. TÓTH T. (2015): A fejőberendezés és a tögygyulladás kapcsolata. *Holstein magazin*. 23 (1), 60.

182. TREMONTE, T. – TIPALDI, L. – SUCCI, M. – PANELLA, G. – FALASCA, L. – CAPILONGO, V. – COPPOLA, R. – SORRENTINO, E. (2014): Raw milk from vending machines: Effects of boiling, microwave treatment, and refrigeration on microbiology quality. *Journal of Dairy Science*. 97 (6), 3314-3320.
183. TUCKER, P. W. – HAZEN, E. E. – COTTON, F. A. (1978): Staphylococcal nuclease reviewed: a prototypic study in contemporary enzymology. I. Isolation, physical and enzymatic properties. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 22, 67-77.
184. UMEDA, K. – NAKAMURA, H. – YAMAMOTO, K. – NISHINA, N. – YASUFUKU, K. – HIRAI, Y. – HIRAYAMA, T. – GOTO, K. – HASE, A. – OGASAWARA, J. (2017): Molecular and epidemiological characterization of staphylococcal foodborne outbreak of *Staphylococcus aureus* harboring *seg*, *sei*, *sem*, *sen*, *seo*, and *selu* genes without production of classical enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology*. 256, 30-35.
185. VAN GRIETHUYSEN, A. – BES, M. – ETIENNE, J. – ZBINDEN, R. – KLUYTMANS, J. (2001): International multicenter evaluation of latex agglutination tests for identification of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*. 39 (1), 86-89.
186. VANN, J. M. – PROCTOR, R. A. (1988): Cytotoxic effects of ingested *Staphylococcus aureus* on bovine endothelial cells: Role of *S. aureus*  $\alpha$ -hemolysin. *Microbial Pathogenesis*. 4, 443-453.
187. VARGA L. (2007): Microbiological quality of commercial dairy products. In: Méndez-Vilas A.: *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. Formatex Microbiology Series (1). Formatex, Badajoz. 487-494.
188. VASEK, O. M. – LEBLANC, J. G. – FUSCO, A. – GIORI, G. S. (2008): Chemical composition and microbial evaluation of Argentinean Corrientes cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 61 (3), 222-228.
189. VERRAES, C. – VLAEMYNCK, G. – WEYENBERG, S. V. – ZUTTER, L. D. – DAUBE, G. – SINDIC, M. – UYTENDAELE, M. – HERMAN, L. (2015): A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk. *International Dairy Journal*. 50, 32-44.
190. VIÇOSA, G. N. – MORAES, P. M. – YAMAZI, A. K. – NERO, L. A. (2010): Enumeration of coagulase and thermonuclease-positive *Staphylococcus* spp. in raw

- milk and fresh soft cheese: An evaluation of Baird-Parker agar, Rabbit Plasma Fibrinogen agar and the Petrifilm™ Staph Express count system. *Food Microbiology*. 27: 447-452.
191. VISCIANO, P. – POMILIO, F. – TOFALO, R. – SACCHINI, L. – SALETTI, M. A. – TIERI, E. – SCHIRONE, M. – SUZZI, G. (2014): Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy cow farms. *Food Control*. 46, 532-538.
  192. WANG, S.-C. – WU, C.-M. – XIA, S.-C. – QI, Y.-H. – XIA, L.-N. – SHEN, J.-Z. (2009): Distribution of superantigenic toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates from milk samples of bovine subclinical mastitis cases in two major dairy production regions of China. *Veterinary Microbiology*. 137, 276-281.
  193. YANG, L. – YANG, Q. – YI, M. – PANG, Z. H. – XIONG, B. H. (2013): Effects of seasonal change and parity on raw milk composition and related indices in Chinese Holstein cows in northern China. *Journal of Dairy Science*. 96 (11), 6863-6869.
  194. YOUNIS, G. – AWAD, A. – SHABANA, B. (2017): Phenotypic and molecular characterization hemolysins of *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic cow's milk in Egypt. *International Journal of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine*. 5 (4), 83-93.
  195. ZECCONI, A. – DELL'ORCO, F. – RIZZI, N. – VAIRANI, D. – CIPPOLA, M. – POZZI, P. – ZANINI, L. (2020): Cross-sectional study on the prevalence of contagious pathogens in bulk tank milk and their effects on somatic cell counts and milk yield. *Italian Journal of Animal Science*. 19 (1), 66-74.
  196. ZECCONI, A. – HAMANN, J. – BRONZO, V. – RUFFO, G. (2009): Machine-induced teat tissue reactions and infection risk in a dairy herd free from contagious mastitis pathogens. *Journal of Dairy Research*. 59 (3), 265-271.
  197. ZEINHOM, M. M. A. – AZIZ, R. A. L. – MOHAMMED, A. N. – BERNABUCCI, U. (2016): Impact of seasonal conditions on quality and pathogens content of milk in Friesian cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences (AJAS)*. 29 (8), 1207-1213.

## 11. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN



**DEBRECENI  
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM  
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400  
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/380/2021.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Szabóné Petróczi Flóra Mária  
Doktori Iskola: Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola  
MTMT azonosító: 10058490

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

#### Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

1. **Petróczi, F. M.**, Béri, B., Peles, F.: A laktációs szám és a laktáció stádium hatása a tejmennyiségre, a nyers tehéntej összetételére és mikrobiológiai tulajdonságaira egy hazai tehenészeti telepen.  
*Élelmiszervizsgálati Közlemények*. 67 (2), 3421-3430, 2021. ISSN: 0422-9576.  
DOI: <https://doi.org/10.52091/EVIK-2021/2-3-HUN>

#### Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (3)

2. **Petróczi, F. M.**, Béri, B., Peles, F.: The effect of season on the microbiological status of raw milk.  
*Agrártud. Közl.* 1 (1), 95-99, 2020. ISSN: 1587-1282.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.34101/actaagrar/1/3774>
3. **Petróczi, F. M.**, Tonamo, A., Béri, B., Peles, F.: The effect of breed and stage of lactation on the microbiological status of raw milk.  
*Agrártud. Közl.* 1, 37-45, 2019. ISSN: 1587-1282.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.34101/actaagrar/1/2367>
4. **Petróczi, F. M.**, Kojo Woode, B., Törös, G., Nagy, N. M., Béri, B., Peles, F.: Microbiological status of bulk tank milk and different flavored gomolya cheeses produced by a milk producing and processing plant.  
*Agrártud. Közl.* 75, 73-78, 2018. ISSN: 1587-1282.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.34101/actaagrar/75/1649>

#### Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (1)

5. **Petróczi, F. M.**, Pásztor, Á., Szűcs, K. D., Pál, K., Kardos, G., Albert, E., Horváth, B., Ungvári, E., Béri, B., Peles, F.: Occurrence and Characteristics of *Staphylococcus aureus* in a Hungarian Dairy Farm during a Control Program.  
*Pathogens*. 10 (2), 1-12, 2021. EISSN: 2076-0817.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens10020104>  
IF: 3.492 (2020)



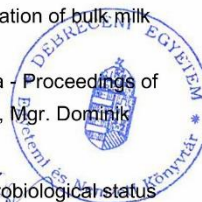


Idegen nyelvű konferencia közlemények (1)

6. **Petróczki, F. M.**, Veres, V., Kardos, G., Béri, B., Peles, F.: Characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk from vending machines in Hajdú-Bihar County, Hungary.  
In: Scientific researches in food production - 3rd meeting of young researchers from V4 countries - Conference Proceedings. Eds.: University of Debrecen, University of Debrecen, Debrecen, 50-54, 2018.

Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (7)

7. **Petróczki, F. M.**, Kardos, G., Béri, B., Peles, F.: Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bulk milk from two dairy farms in Hajdú-Bihar County, Hungary.  
*Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 66 (Suppl1), 179-180, 2019. ISSN: 1217-8950.
8. **Petróczki, F. M.**, Béri, B., Peles, F.: The effect of breed and number of lactation on the microbiological quality of raw milk = a fajta és a laktáció számának hatása a nyerstej mikrobiológiai minőségére.  
In: Innovation challenges in the 21st century : LXI. Georgikon Napok International Scientific Conference : abstract volume. Eds.: Gábor Pintér, Szilvia Csányi, Henrik Zsiborács, University of Pannonia Georgikon Faculty, Keszthely, 85, 2019. ISBN: 9789633961292
9. **Petróczki, F. M.**, Veres, V., Kardos, G., Béri, B., Peles, F.: Characterisation of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk from vending machines.  
In: One Health & Food Safety International Congress : Conference Proceedings, Universität Bonn, Bonn, 93, 2018.
10. **Petróczki, F. M.**, Woode, B. K., Törös, G., Nagy, N. S., Kardos, G., Béri, B., Peles, F.: Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cheeses in Hungary.  
In: Scientific researches in food production, University of Debrecen - Proceedings of abstracts. Eds.: University of Debrecen, University of Debrecen, Debrecen, 26, 2018.
11. **Petróczki, F. M.**, Woode, B. K., Törös, G., Nagy, N. S., Béri, B., Peles, F.: Microbiological status of gomolya cheeses produced by small-scale dairies.  
In: Abstract Book : FSD 2018 3rd Food Structure & Design Conference. Eds.: University of Debrecen, University of Debrecen, Debrecen, 36-37, 2018.
12. **Petróczki, F. M.**, Woode, B. K., Törös, G., Nagy, N. S.: Microbiological examination of bulk milk and gomolya cheeses produced by a milk producing and processing plant.  
In: Scientific Conference of PhD. Students of FAFR and FBFS SUA in Nitra - Proceedings of abstracts / org. by Assoc. Prof. Ing. Janette Musilová, Ing. Monika Tóthová, Mgr. Dominik Holly, Slovak University of Agriculture, Nitra, 53, 2017.
13. **Petróczki, F. M.**, Woode, B. K., Törös, G., Nagy, N. S., Béri, B., Peles, F.: Microbiological status of smoked parenica cheeses produced in industrial and in small-scale conditions.  
In: Scientific researches in food production, FBFS, SUA in Nitra - Proceeding of abstracts, Slovak University of Agriculture, Nitra, 36-37, 2017.





### További közlemények

#### Idegen nyelvű, hazai könyvek (2)

14. Szerk. Kovács, B., Czipa, N., Peles, F., Bódi, É., Kántor, A., **Petróczki, F. M.**, Alexa, L.: Scientific researches in food production, University of Debrecen: Proceedings of abstracts. University of Debrecen, Debrecen, 30 p., 2018. ISBN: 9789634900412
15. Szerk. Kovács, B., Czipa, N.; Peles, F., szerk. Bódi, É., Kántor, A., **Petróczki, F. M.**, Alexa, L.: Scientific researches in food production - 3rd meeting of young researchers from V4 countries. University of Debrecen, Debrecen, 58 p., 2018. ISBN: 9789634900320

#### Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

16. Horváth, B., Peles, F., Gasparik, J., Pocklán, E., Sipos, R., Erős, Á., **Petróczki, F. M.**, Szűcs, K. D., Albert, E., Micsinai, A.: Élelmiszerekből izolált Staphylococcus fajok antibiotikum rezisztencia vizsgálata.  
*Élelmiszervizsgáló Közlemények*. 67 (2), 3360-3382, 2021. ISSN: 0422-9576.

#### Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (2)

17. Tonamo, A., Komlósi, I., **Petróczki, F. M.**, Peles, F.: Coagulase-negative staphylococci in ewe udder surface and raw milk samples.  
*Agrártud. Közl.* 1, 221-225, 2021. ISSN: 1587-1282.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.34101/actaagrar/1/8503>
18. Kojo Woode, B., **Petróczki, F. M.**, Béri, B., Peles, F.: Microbiological quality of bulk tank raw milk from two dairy farms in Hajdú-Bihar County, Hungary.  
*Agrártud. Közl.* 75, 105-112, 2018. ISSN: 1587-1282.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.34101/actaagrar/75/1655>

#### Idegen nyelvű konferencia közlemények (1)

19. Tonamo, A., Komlósi, I., **Petróczki, F. M.**, Orosz, É., Aamir, M., Peles, F.: Microbiological quality of raw milk and udder surface samples from Dorper, Merino and Cigaja sheep breeds.  
In: Scientific researches in food production : 3rd meeting of young researchers from V4 countries /d. Béla Kovács, Nikolett Czipa, Ferenc Peles, Éva Bacskainé Bódi, Andrea Kántor Flóra Mária Szabóné Petróczki, Loránd Alexa, University of Debrecen, Debrecen, 55-58, 2018. ISBN: 9789634900320





Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (1)

20. Woode, B. K., **Petróczki, F. M.**, Törös, G., Nagy, N. S., Béri, B., Peles, F.: Microbiological quality of bulk tank raw milk in Hajdú-Bihar County, Hungary.

In: Scientific researches in food production, FBFS, SUA in Nitra - Proceeding of abstracts / org. by Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak University of Agriculture, Nitra, 42-43, 2017.

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 3,492**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 3,492**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2021.07.09.



## 12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton köszönöm a témavezetőim, Dr. Peles Ferenc Árpád adjunktus és Dr. Béri Béla egyetemi docens kitartó munkáját, hogy irányították a szakmai munkámat és értékes tanácsokkal láttak el a kutatómunkám alatt. Köszönöm a disszertáció összeállításához nyújtott segítségüket, építő jellegű kritikáikat.

Köszönetemet szeretném kifejezni a Debreceni Egyetem Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskolának, külön kiemelve vezetőjének, Prof. Dr. Komlósi Istvánnak, illetve a Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar Élelmiszertudományi Intézet intézetvezetőjének, Prof. Dr. Kovács Bélának, hogy kutatásom alatt végig támogattak. Köszönöm a Doktori Iskola tanárainak a színvonalas képzést, valamint a Doktori Iskola és az Élelmiszertudományi Intézet dolgozóinak a segítőkész, gördülékeny ügyintézésüket.

Köszönettel tartozom a vizsgálatokba bevont tejtermelő telepek vezetőinek és dolgozóinak a lehetőségért a kutatásra, a segítségükért és a türelmükért, amelyeket a kutatásom alatt tanúsítottak.

Köszönöm Dr. Pál Károly tudományos főmunkatársnak, Dr. Kardos Gábor egyetemi docensnek, Dr. Albert Ervin egyetemi tanársegédnek és Szakadát Gyula Zsolt szakmai szolgáltatónak a közreműködést a vizsgálati módszerek elsajátításában, továbbá Horváth Brigittának, Ungvári Erikának és a WESSLING Hungary Kft. munkatársainak a vizsgálatok kivitelezésében való segítségnyújtásukat.

Végül, de nem utolsósorban hálával és köszönettel tartozom családomnak, hogy támogattak és kiegyensúlyozott családi háttérrel biztosítottak, ezáltal lehetővé téve munkámat és előrehaladásomat.

## 13. MELLÉKLETEK

### 1. melléklet: Enterotoxint kódoló gének előfordulása a *Staphylococcus aureus* izolátumokban

Minta típusa	<i>sea</i> (%)	<i>seb</i> (%)	<i>sec</i> (%)	<i>sed</i> (%)	<i>see</i> (%)	<i>seg</i> (%)	<i>seh</i> (%)	<i>sei</i> (%)	<i>selj</i> (%)	<i>sell</i> (%)	<i>selk</i> (%)	<i>selm</i> (%)	<i>seln</i> (%)	<i>selo</i> (%)	<i>selp</i> (%)	<i>selq</i> (%)	<i>ser</i> (%)	<i>ses</i> (%)	<i>set</i> (%)	<i>selu</i> (%)	Referencia
Nyers tehéntej	6,8	8,5	6,8	3,4	0,0	+	0,0	+	0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	PELES és mtsai., 2007
Tej tőgygyulladásos tehéntől	36,0	2,1	18,7	23,0	0,0	31,4	3,2	31,8	24,4	8,8	0,0	26,9	17,3	0,0	-	-	-	-	-	-	WANG és mtsai., 2009
Vegyes élelmiszer	5,6	3,5	9,9	2,8	0,0	15,0	8,0	16,0	26,0	17,0	5,0	14,0	14,0	16,0	43,7	6,0	12,0	0,0	0,0	12,0	SONG és mtsai., 2015
Vegyes élelmiszer	5,0	12,0	23,0	3,0	-	52,0	21,0	53,0	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	RŮŽIČKOVÁ és mtsai., 2008
Tej tőgygyulladásos tehéntől	5,2	0,4	19,7	5,2	0,0	38,0	1,7	36,2	45,0	14,4	-	34,9	35,8	73,4	-	-	-	-	-	-	OTE és mtsai., 2011
Ételmérgező betegből	29,2	19,7	6,8	2,0	-	2,0	8,2	29,9	2,0	6,8	16,3	11,6	10,9	14,3	27,9	10,9	5,4	-	-	14,2	CHIANG és mtsai., 2008
Tejtermékek	48,0	-	20,0	49,3	-	13,3	5,3	9,3	41,3	20,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MORANDI és mtsai., 2007

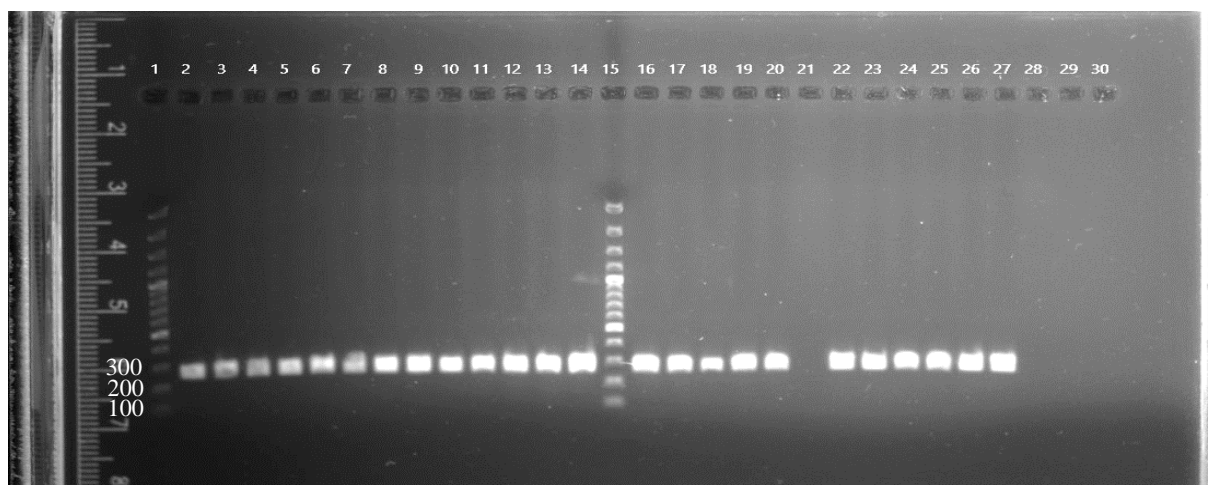
**2. melléklet:** Tej és tejtermékekből izolált *Staphylococcus aureus* antibiotikum rezisztenciájának mértéke a különböző szakirodalmakban

Minta típusa	Ország	P (10 U/disk)	FOX (30 µg/disk)	C (30 µg/disk)	DA (2 µg/disk)	E (15 µg/disk)	CN (10 µg/disk)	TE (30 µg/disk)	SXT (23.75/1.25 µg/disk)	VA (30 µg/disk)	Referencia
nyerstej	Magyarország	R (30,5%)	É	-	-	É	-	É	É	-	PELES és mtsai., 2007a; PELES és mtsai., 2007b
tej és tejtermékek	Portugália	R (73%)	-	R (1,4%)	-	R (5%)	R (2%)	R (0,7%)	-	K (10%)	PEREIRA és mtsai., 2009
nyerstej	Brazília	R (70,8%)	-	-	-	R (4,2%)	É	R (33,3%)	-	É	ANDRÉ és mtsai., 2008
sajt	Brazília	R (60%)	-	-	-	R (5%)	É	R (25%)	-	É	ANDRÉ és mtsai., 2008
elegytej	Olaszország	R (41%)	-	-	R (24%)	R (18%)	É	R (12%)	É	É	VISCIANO és mtsai., 2014
mastitis	Kína	R (84,1%)	-	-	-	R (20,5%)	R (9,1%)	R (15,9%)	-	É	FENG és mtsai., 2016
mastitis	Etiópia	R (94,4%)	-	É	-	-	É	-	R (58,3%)	-	ABERA és mtsai., 2010
tej és tejtermékek	India	R (100%)	-	-	-	-	R (10%)	K (60%)	É	-	THAKER és mtsai., 2013
tej	Nigéria	-	-	R (14,3%)	-	R (85,7%)	R (42,9%)	-	R (85,7%)	-	ANUEYIAGU és Isiyaku, 2015
tej és tejtermékek	Svédország	CsÉ (39%)	-	É	É	É	CsÉ (1%)	É	-	-	ROSENGREN és mtsai., 2010
tehéntej	Irán	R (44,4%)	R (4,9%)	R (4,9%)	R (13,6%)	R (6,2%)	R (1,9%)	R (56,2%)	É	-	JAMALI és mtsai., 2015
juhtej	Irán	R (51,2%)	R (3,5%)	R (4,7%)	R (4,7%)	R (4,7%)	R (1,2%)	R (58,1%)	É	-	JAMALI és mtsai., 2015
sajt	Irán	R (51%)	R (8,2%)	É	R (14,3%)	R (16,3%)	R (4,1%)	R (51%)	É	-	JAMALI és mtsai., 2015
nyers tehéntej	Egyiptom	R (54,5%)	É	R (6,7%)	-	R (20,5%)	-	É	-	É	ABO-SHAMA, 2014
tej és tejtermékek	Törökország	R (96,3%)	-	-	-	R (7,2%)	-	-	-	É	GÜNDOGAN és mtsai., 2006
tej és tejtermékek	Norvégia	-	É	-	É	É	É	É	É	-	MEHLI és mtsai., 2017

P: penicillin G; FOX: cefoxitin; C: klóramfenikol; DA: klindamicin; E: eritromicin; CN: gentamicin; TE: tetraciklin; SXT: trimetoprim/

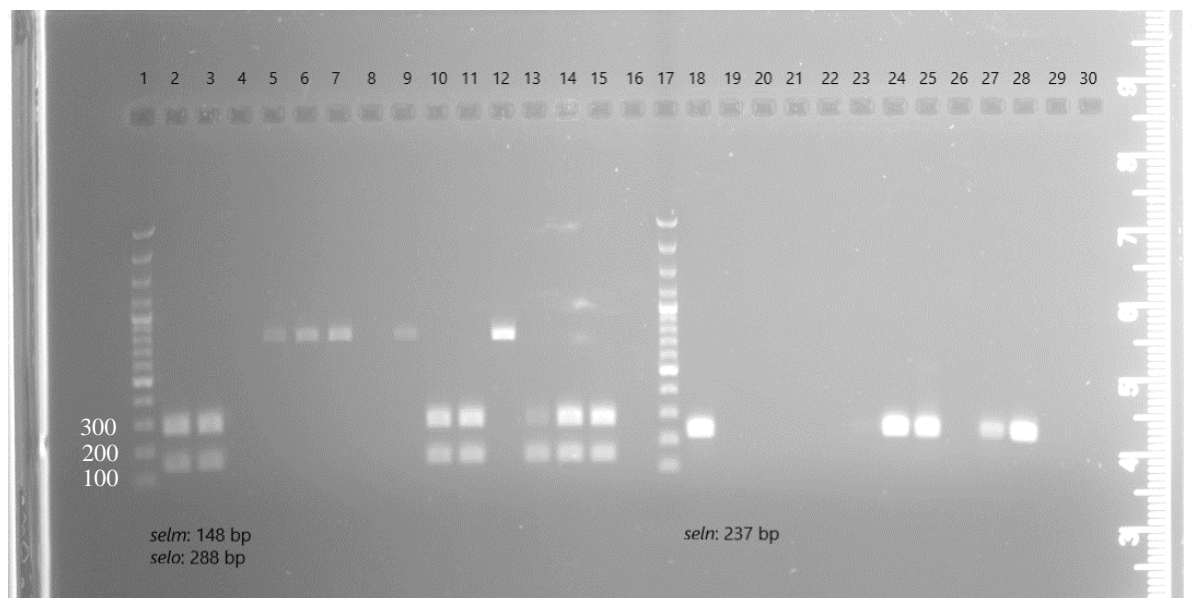
szulfametoxazol; VA: vankomicin; R: rezisztens; É: érzékeny; K: közepesen rezisztens; CsÉ: csökkent érzékenység

**3. melléklet:** PCR-amplifikáció a T3 telepen gyűjtött tejmintákból izolált *Staphylococcus aureus* törzsek esetében *nuc* gének kimutatására



**1:** Marker; **2:** ATCC29213 (*nuc*, 270 bp); **3:** SA33; **4:** SA34; **5:** SA35A; **6:** SA35B; **7:** SA39A; **8:** SA39B; **9:** SA44; **10:** SA45; **11:** SA53A; **12:** SA53B; **13:** SA53D; **14:** SA54A; **15:** Marker; **16:** SA54B; **17:** SA54C; **18:** SA57A; **19:** SA57B; **20:** SA57C; **21:** negatív kontroll; **22:** ATCC29213; **23:** ATCC 14458; **24:** ATCC19095; **25:** ATCC23235; **26:** ATCC 27664; **27:** ATCC 25923

**4. melléklet:** PCR-amplifikáció a T3 és T4 telepen gyűjtött tejmintákból izolált *Staphylococcus aureus* törzsek esetében a *selm*, *seln* és *selo* gének kimutatására



**1:** Marker; **2:** SA53A; **3:** SA53D; **4:** SA26A; **5:** SA26B; **6:** SA27A; **7:** SA27B; **8:** SA27C; **9:** SA28; **10:** SA35B; **11:** SA39B; **12:** SA29; **13:** SA57B; **14:** SA57C; **15:** SA34; **16:** negatív kontroll; **17:** Marker; **18:** SA53D; **19:** SA26A; **20:** SA26B; **21:** SA27A; **22:** SA27B; **23:** SA27C; **24:** SA35B; **25:** SA39B; **26:** SA29; **27:** SA57B; **28:** SA57C; **29:** negatív kontroll

## 14. NYILATKOZATOK

### NYILATKOZAT

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola keretében készítettem, a Debreceni Egyetem doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2021. ....

.....

a jelölt aláírása

### NYILATKOZAT

Tanúsítom, hogy Szabóné Petróczki Flóra Mária doktorjelölt 2017-2021 között a fent megnevezett Doktori Iskola keretében irányításunkkal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult, az értekezés a jelölt önálló munkája. Az értekezés elfogadását javasoljuk.

Debrecen, 2021. ....

.....

a témavezető aláírása

.....

a társtémavezető aláírása