

MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA

Hungarian Veterinary Journal
Vol. 142. No. 10. – Budapest, Oktober 2020.
Established by Prof. B. Nádaskay, 1878

*Paratuberculosis szarvasmarhában:
Ziehl-Neelsen-festéssel látható MAP-alakok
(DR. KALLA HÉDI anyaga)*

SZARVASMARHA

A paratuberculosis diagnosztizálásának lehetőségei szarvasmarhában

A *Coxiella burnetii* előfordulásának aránya a magzatburok-visszatartásban, tejlő szarvasmarha-állományokban

Embrióbeültetéssel, ill. szexált és hagyományos spermával termékenyített üszők vemhesülési eredményeinek retrospektív értékelése egy amerikai holstein-fríz tehenészetben

VADON ÉLŐ ÁLLAT

Szemnyomásmérés, könnytermelés-mérés és a szemréshossz megállapítása oroszlánokban

IGAZGATÁS

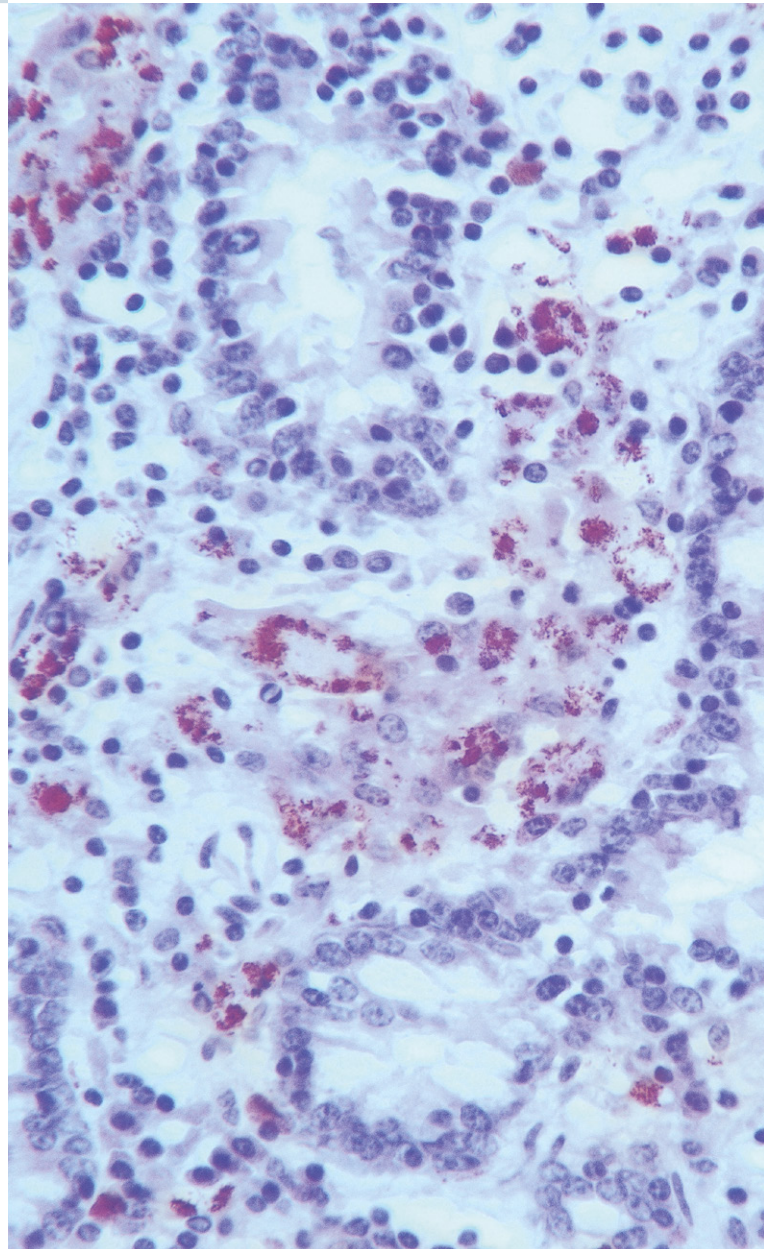
Az állatvédelem társadalmi, jogi és közegészségügyi vonatkozásai

ÁLLATTENYÉSZTÉS

A magzati ivar anyai vérplazmából való meghatározásának jelentősége és módszerei emlősállatokban

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK

Mikológia, Virologia-Immunológia



FELELŐSEN AZ ÁLLATOKÉRT, AZ ÉLETÉRT.



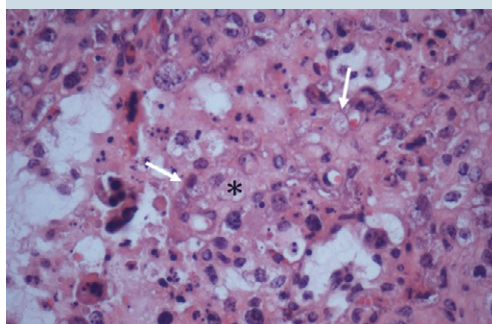
Az Elanco üdvözli a Bayer Állategészségügyet.

Felelősen az állatokért, az életért számunkra azt is jelenti, hogy kedvenceinket biztonságban és egészségben tudjuk. Ezért csatlakozik hozzánk a Bayer Állategészségügy, hogy egy még nagyszerűbb Elanco vállalatot hozzunk létre. Mindannyian elkötelezettek vagyunk abban, hogy egy szélesebb termékportfólióval, egyedülálló szolgáltatással és támogatással tegyünk közösen az állatok egészségéért, az emberek jobb életéért és a bolygónkért.



SZARVASMARHA / BOVINE

- 579.** Vass-Bognár B., Jánosi Sz., W. Baumgartner, J. L. Khol, Jurkovich V.: A paratuberculosis diagnosztizálásának lehetőségei szarvasmarhában
B. Vass-Bognár, Sz. Jánosi, W. Baumgartner, J. L. Khol, V. Jurkovich: Diagnostic possibilities of paratuberculosis in cattle
- 593.** Dobos A., Gyuranecz M., Albert M.: A *Coxiella burnetii* előfordulásának aránya a magzatburok-visszatartásban, tejelő szarvasmarha-állományokban
A. Dobos, M. Gyuranecz, M. Albert: Incidence rate of *Coxiella burnetii* in the retention of fetal membranes in dairy herds
- 599.** Ujvári V., Niles D., Dinnyés A., Nagy K., Szenci O.: Embrióbeültetéssel, ill. szexált és hagyományos spermával termékenyített üszők vemhesülési eredményeinek retrospektív értékelése egy amerikai holstein-fríz tehenészetben
V. Ujvári, D. Niles, A. Dinnyés, K. Nagy, O. Szenci: Retrospective evaluation of the results of embryo transfer, or insemination with sexed and traditional semen in heifers at an American Holstein-Friesian dairy farm

**582.** Paratuberculosis szarvasmarhában**596.** *Coxiella burnetii* okozta méhgyulladás

VADON ÉLŐ ÁLLAT / WILD ANIMALS

- 611.** Nógrádi A. L., Biácsi A., Kertész P.: Szemnyomásmérés, könnytermelésmérés és a szemréshossz megállapítása oroszlánokban
A. L. Nógrádi, A. Biácsi, P. Kertész: The measurement of intraocular pressure, tear production and palpebral fissure length in lions

IGAZGATÁS / MANAGEMENT

- 619.** Kiss A., Lorászkió G., Fodor K.: Az állatvédelem társadalmi, jogi és közegészségügyi vonatkozásai
A. Kiss, G. Lorászkió, K. Fodor: The social, legal and public health aspects of animal protection

ÁLLATTENYÉSZTÉS / ANIMAL BREEDING

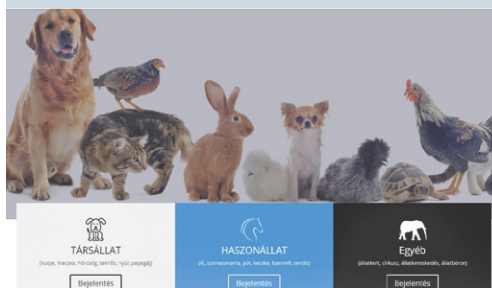
- 625.** Kőszegi H., Bóka G., Vincze B., Gáspárdy A., Zenke P.: A magzati ivar anyai vérplazmából való meghatározásának jelentősége és módszerei emlősállatokban
Irodalmi összefoglaló
H. Kőszegi, G. Bóka, B. Vincze, A. Gáspárdy, P. Zenke: Genetic based methods of fetal sexing from maternal plasma and their importance in various mammal species
Literature review

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK

- 634.** Mikológia, Vírológia-Immunológia

HIRDETÉS

- 606.**
618.
624.

**614.** Szemnyomásmérés oroszlánban**621.** <https://allatbantalmazasbejelentu.hu>

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

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

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



Mócsy János lovat vizsgál

Lehet, hogy Mócsy János (1895–1976) életének az egyetlen hirtelen jött ötlettől vezérelt cselekedete az volt, amikor a Műegyetemre akart beiratkozni, ám – mint önéletrajzában írja – „a questurán akkora toladás volt, hogy fogtam magamat, s fél óra múlva... az Állatorvosi Főiskolára iratkoztam be (1913). Ma sem tudom, hogy miért éppen oda...”. Három év múlva, még diákként, a fronton találjuk. Micsoda kihívás és kudarc lehetett számára, hogy a gondjaira bízott lovak nagy része egyszerűen éhen halt, ami ellen nem tehetett semmit. „Amikor a harctéren nyugalom volt – folytatja – ... a hazuról küldött szakkönyveket olvastam, úgyhogy tanulmányaimban nem maradtam el.” Ekkor már az jellemezte, ami egész életén át: a szakmai odaadás, a tervszerű, lankadatlan munka és a folyamatos tanulás. Ez az élmény alapozhatta meg gyakorlatorientált, az új helyzetekben különösen jól érvényesülő problémamegoldó képességét. A történelem pedig gondoskodott az új helyzetekről.

A háborúból visszatérve a bakteriológiai intézetbe, majd a húszas években a belgyógyászati tanszékre került (amelynek archívumából ké-pünk származik). Erről így vall: „Marek intézetében sokat dolgoztam... átvettem annak kérlelhetetlen munkatempóját.” Egy évtized elteltével a tanszék vezetését is átvette a nyugalomba vonuló MAREK JÓZSEFTŐL, aki az állatorvosi belgyógyászatot nemzetközileg elismert szintre emelte. Mócsy méltó utódként az ő iskolateremtő munkásságát fejlesztette tovább a HUTYRA-MAREK-féle alapmű későbbi kiadásainak társszerzőjeként is.

Amint a *Klinikai diagnosztika* 1944-es kiadásának előszavában megfogalmazza: „A körmeghatározás elsősorban szellemi munka, amelyhez nemcsak sok részlettudás és következtetési képesség, hanem meglátás és megérzés is szükséges, ezt semmiféle technikai vizsgálat eszköz vagy eljárás sem tudja pótolni.” Talán éppen ez a hármasság segítette abban, hogy MANNINGER REZSÓVAL együtt elemezze a második világháború tapasztalatait az állatorvosi belgyógyászat szempontjából, vagy felfedezze a szocialista mezőgazdasági nagyüzemekben jelentkező problémák okát és ezek állomány szintű kezelésének fontosságát.

Az íróasztala fölött egy kissé barátságatlannak tűnő tábla lógott: „Nem érek rá, csak röviden”, és – tanítványainak visszaemlékezése szerint – néha bántó iróniával viseltetett a nem megfelelően teljesítőkkel szemben. Egyenesen és a tekintélyektől nem tartva mutatott rá a szakmai hibákra is. Ajtaja ugyanakkor nyitva állt mindenki előtt, aki szakmai vagy magán nehézségekkel küzdött. Amikor pedig úgy érezte, hogy teljesítő-képessége csökken, ezzel is szembenézett, és önként vonult nyugdíjba.

Orbán Éva

FŐSZERKESZTŐ / EDITOR-IN-CHIEF

Dr. BALKÁ Gyula

SZERKESZTŐBIZOTTSÁG / EDITORIAL BOARD

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

SZERKESZTŐSÉGI TITKÁR

Tóth Zsuzsanna

SZERKESZTŐSÉG / EDITORIAL OFFICE

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

KIADÓ / PUBLISHER

Herman Ottó Intézet Nonprofit Kft.
 H-1223 Budapest, Park u. 2.
 Telefon: (36-1) 362-8100
 Telefax: (36-1) 362-8104
 Internet: www.agrarlapok.hu
 E-mail: info@agrarlapok.hu
 Felelős kiadó: Bozzay Péter ügyvezető

HIRDETÉSEK FELVÉTELE

Telefon: (36-70) 232-4231, (36-1) 362-8100
 Telefax: (36-1) 470-0410
 E-mail: info@agrarlapok.hu

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

LAPTERV

made by zwoelf – www.zwoelf.hu

TERVEZŐSZERKESZTŐ

Pintéerné Tóth Viktória

NYOMÁS

Hivatalos Biztonsági Okmány- és Jegnyomda Kft.
 Felelős vezető: Kratochwill Balázs vezérigazgató

INDEX: 25531
 HU ISSN 0025-004X

LAPTULAJDONOS



KIADÓ



Diagnostic possibilities of paratuberculosis in cattle

B. Vass-Bognár^{1*}
 Sz. Jánosi²
 W. Baumgartner³
 J. L. Khol³
 V. Jurkovich¹

A paratuberculosis diagnosztizálásának lehetőségei szarvasmarhában

Vass-Bognár Barbara^{1*}, Jánosi Szilárd², Walter Baumgartner³, Johannes Lorenz Khol³, Jurkovich Viktor¹

1. Állatorvostudományi Egyetem,
 Állathigiéniai és Állomány-egészségtani
 Tanszék és Mobilklinika
 H-1078 Budapest, István u. 2.

*e-mail: bognar.barbara@univet.hu

2. NÉBIH, ÁDI, Budapest

3. Állatorvostudományi Egyetem,
 Kérődzőklinika, Bécs, Ausztria

SZARVASMARHA**ÖSSZEFOGLALÁS**

A paratuberculosis a kérődzők egyik komoly gazdasági kárt okozó betegsége. A betegség elleni védekezés a gazdaságos termelés egyik elengedhetetlen feltétele, amihez megfelelő diagnosztikai módszerek szükségesek. A betegség hosszú lappangási ideje (2-10 év) miatt az esetek kevesebb, mint 5%-ában alakulnak ki a klinikai tünetek. A jellegzetes kórfejlődés és immunválasz miatt a legtöbb diagnosztikai módszer alacsony érzékenységű. Jelen összefoglalóban a szerzők bemutatják a paratuberculosis ismert diagnosztikai módszereit.

SUMMARY

Paratuberculosis is a chronic inflammatory bowel disease in ruminants caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Paratuberculosis is one of the most economically damaging diseases of ruminants; its control is essential for economic production. Due to the long incubation period of the disease (2-10 years), less than 5% of cases develop characteristic clinical symptoms. Eradication of paratuberculosis is challenging due to the long incubation period, late onset of clinical signs, and low-sensitivity diagnostic tests due to specific disease progression and immune response. The authors present the diagnostic methods of paratuberculosis in details, discussing their pros and cons. Bacterium detection in faeces and antibody testing in serum or milk are the most commonly used diagnostic methods for detecting the disease. With the quick and cost-effective ELISA method, the MAP occurrence can be detected in the herd, but false-negative results may show up. The bacterial detection is the best method to find the animals in the early stage of the disease, but intermittent shedding should be taken into account. The bacterial culture is also a good method to estimate the rate of shedding. The authors' opinion is that a combination of different diagnostic tests can be the basis for the eradication programs.

A paratuberculosis a szarvasmarha és egyéb háziállatok és vadon élő kérődzők idült, testtömeg-vesztéssel és hasmenéssel járó fertőző betegsége, amelyet a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) okoz (31). A betegséget elsőként JOHNE és FROTHINGHAM írta le 1895-ben (47), ezért az angol és a német nyelvű szakirodalomban Johne-betegségnek is hívják. A nagyüzemi állományok elterjedésével és az élőállat-kereskedelem következtében a betegség egyre gyakoribb lett, mára az egész világon jelen van (2, 95) és tejelő állományok egyik legnagyobb gazdasági kárt okozó betegsége lett (32, 33, 40, 73). A fertőzés mértéke országonként változó, Svédországban 0%, míg Franciaországban 68%, átlagosan mintegy 35% az állományszintű látszólagos prevalencia (2, 28, 35, 73). Az egyedi szintű látszólagos prevalencia 0–24% (74). Hazai adatok szerint a fertőzöttség mértéke 2,4–14,1% Magyarországon (79), azonban országos reprezentatív felmérés ezidáig nem készült.

**A baktérium
rendkívül ellenálló a
környezeti behatásokra**

A baktérium rendkívül ellenálló, megfelelő körülmények között a környezetben akár egy évig is életképes marad, továbbá túléli a pasztőrözés hőmérsékletét is (38). Mivel egyelőre nem zárhatjuk ki az MAP jelentős szerepét a Crohn-betegség és egyéb humán megbetegedések kialakulásában, a fertőződés lehetőségét érdemes a minimálisra szorítani (11). A paratuberculosis megelőzésében és leküzdésében számos akadály áll előttünk, ezek közül talán az egyik legfontosabb, hogy a diagnosztikai lehetőségeink korlátozottak (5).

Jelen összefoglalónkban amellet, hogy röviden bemutatjuk a paratuberculosis jellegzetességeit, áttekintjük a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* kimutatására használt diagnosztikai lehetőségeket, ezek előnyeit és hátrányait, elsősorban a gyakorlati alkalmazhatóság függvényében.

A PARATUBERCULOSIS RÖVID BEMUTATÁSA

FERTŐZŐDÉS

A napos borjak a legérzékenyebbek a fertőzésre, a fertőződés esélye az életkor előrehaladásával csökken (63, 97). A magyarázat feltehetően abban rejlik, hogy a bélnyálkahártya átteresztőképessége az immunglobulinok felszívódása kapcsán borjúkorban sokkal nagyobb, így az MAP is könnyebben átjuthat, majd a kórokozót a még fejletlen immunrendszer képtelen eliminálni (89). A legtöbb szarvasmarha még borjúkorában szájon át fertőződik a baktériumot ürítő állat bélsarával vagy főcstejjel, de méhen belüli fertőződés is lehetséges. A szeropozitív anyától született borjak 6,6-szor nagyobb eséllyel lettek fertőzöttek, a szeronegatív anyától született borjakhoz képest (3). A szubklinikai fertőzött tehéntől születő borjak 9%-a, a klinikailag beteg állatoktól született borjak 39%-a fertőződik méhen belül (96). Az MAP-t fertőzött állatok méhváladékából is izolálták már, és *in vitro* vizsgálatban kimutatták, hogy az embriókhoz képes kötődni (78). A fertőzött bikáktól származó sperma is tartalmazhat MAP-t (4, 54). Szájon át történő fertőződés esetén már 10^3 mennyiségű baktérium, 10^6 – 10^8 CFU/g bélsár-koncentrációban elegendő a fertőzés megeredéséhez (31).

A BETEGSÉG KÓRFEJLŐDÉSE

A szájon át történő felvétel után a csípőbél a baktérium fő bejutási kapuja. A béltraktusba került baktériumok a Peyer-plakkok M-sejtjei segítségével jutnak be a bélhámba, ahol a macrophagok bekebelezik őket (72), majd innen eljutnak a legközelebbi nyirokcsomóba (98). Ettől a ponttól a szervezet immunválaszán múlik, hogy a macrophagoknak sikerül-e eliminálni a bekebelezett MAP-t vagy nem. A baktérium ugyanakkor mindent megtesz azért, hogy a szervezet immunválaszát és a macrophagok működését a saját igényei szerint módosítsa. Többek között

**A paratuberculosis
a szarvasmarha és
egyéb kérődzők idült,
testtömeg-vesztéssel
és hasmenéssel járó
fertőző betegsége**

**Kórokozója a
Mycobacterium avium
subsp. *paratuberculosis***

**A napos borjak
a legérzékenyebbek
a fertőzésre, aminek
az esélye az életkor
előrehaladásával
csökken**

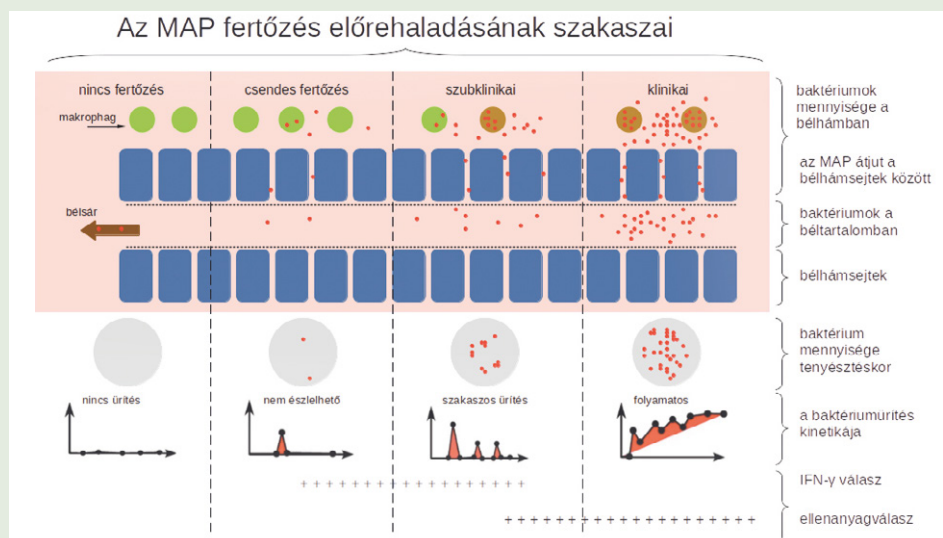
**A szájon át történő
felvétel után a csípőbél
a baktérium fő
bejutási kapuja**

befolyásolja a macrophagok zsíryanycseréjét, ezzel a fagoszómákban koleszterol-felhalmozásra kényszerítve azokat (46). A felhalmozódott koleszterol egyrészt tápanyagul szolgál az MAP számára, másrészt megakadályozza a macrophagok érését és a fagoszómák savanyítását. Az ilyen módon befolyásolt fagoszómák egyrészt nem tudnak a lizoszómákkal egyesülni, hogy elpusztítsák a bekebelezett baktériumot, másrészt szétesnek, így az MAP kiszabadul (24). Az MAP a macrophagok Ca-anyagcseréjét is módosítja, ami szintén hozzájárul a fagoszóma-lizoszóma működés blokkolásához (76). Ilyen módon az MAP életben marad a macrophagokban, az állat fertőzött marad, és kezdetét veszi a hosszú lappangási szakasz (42).

A betegséget klinikai szempontból 4 szakaszba sorolhatjuk (19, 31, 68; 1. ábra).

1. ÁBRA. AZ MAP-fertőzés szakaszai, a baktérium ürítés és az immunrendszer válasza (31, 68 nyomán)

FIGURE 1. The different stages of MAP infection, bacterium shedding and immune response (after 31, 68)



Az első szakaszban baktérium lassan szaporodni kezd az éhbél és a csípőbél nyálkahártyarétegében

Az első szakasz, a csendes fertőzés:

A baktérium lassan szaporodni kezd az éhbél és a csípőbél nyálkahártyarétegében, így a bélszövetből esetenként már kitenyészthető (85), valamint lassan terjed a regionális nyirokcsomók felé (98). Az állatok kismértékben és rendszertelenül üríthetik a baktériumot, de ezt sem tenyésztéssel, sem pedig polimeráz láncreakcióval (PCR) sem lehet kimutatni, az immunrendszer korai reakciója, IFN-γ-tesztel esetleg mérhető (68). Ez a szakasz 1–2 évig tart, a betegség további kórfejlődése nagyban függ az MAP állományon belüli prevalenciájától és általános immunológiai állapotától (19).

A második szakaszban már lehet MAP-ürítés, de klinikai tünetek még nem jelentkeznek

A második szakasz, a fertőzés előrehaladása:

Az állatok ugyan már ürítik a baktériumot, de klinikai tüneteket még mindig nem tapasztalunk. Kórszövettani vizsgálattal a nyálkahártya granulomatosus gyulladása állapítható meg. Az érzékenyített T-sejtek emelkedett IFN-γ-választ választ adnak a fertőzésre, majd később megjelenik az ellenanyagválasz is, amellyel párhuzamosan az IFN-γ-válasz eltűnhet (6, 68). A betegség előrehaladása ebben a szakaszban az MAP és a szervezet kölcsönhatásától, a szervezet ellenállóképességétől függ (67). A baktériumürítés szakaszos, mértéke nagyon változó, ugyanakkor a környezetet baktériumterheltségét már növeli (68, 86). A betegséggel már összefüggésbe hozható a szignifikáns mértékű tejtermelés-csökkenés, ill. egyéb betegségekre való nagyobb fogékonyság is, valamint egye biokémiai mutatók változása (33, 48, 61). Ebben a szakaszban az állatok főleg szaporodásbiológiai zavarok, csökkent tejtermelés miatt kerülhetnek selejtezésre, így a klinikai tünetek az állományon belül gyakran nem jelennek meg (37).

Jelentős lehet a tejtermelés csökkenése

A harmadik szakaszban az állatok folyamatosan fogynak, ürítik a kórokozót

A negyedik szakaszra súlyos, vízszerű hasmenés jellemző



2. ÁBRA. Jellemző vizenyő az áll alatt

FIGURE 2. Oedema at the predilection site

A betegség előrehaladásával és a klinikai tünetek kialakulásával az ellenanyag-termeléssel járó Th2-immunválasz kerül előtérbe

A harmadik szakasz, a klinikai tünetek kezdete:

Az állatok folyamatosan fogynak, a hígabb bélsár mellett azonban étvágyuk normális. Az élettani alapértékek (szívverés- és légzésszám, testhőmérséklet) nem mutatnak eltérést (93). Ebben a szakaszban az MAP mennyisége a bélnyálkahártyában számottevő, tejtermelésben és szaporodásbiológiai mutatókban jelentős visszaesés tapasztalható (33). A harmadik szakaszban jelentősen nagyobb a méhen belüli fertőződés veszélye, ill. a fertőzött állatok nagyobb eséllyel ürítik a baktériumot a tejbe (88, 96). Majdnem minden állat bélsarában kimutatható már baktériumtenyésztéssel és PCR-módszerrel is, és magasabb ellenanyagszinteket lehet kimutatni ELISA- vagy agargél immundiffúziós (AGID) módszerrel (68, 89).

A negyedik szakasz, a klinikai stádium:

A betegség előrehaladott szakaszában lévő állatok gyengék, idült vízszerű hasmenésük van. A fehérjevesztés miatt kialakuló áll alatti vizenyő a betegség másik jellegzetes tünete (2. ábra). Az állatok akár hetek alatt is átléphetnek a kettes szakaszból a negyedikbe, azonban inkább a lassabb kórfejlődés a jellemző, és a szakaszos baktériumürítés akár évekig folytatódhat (89). A beteg állatok a fertőző dózis sokszorosát ürítik bélsárral, a legnagyobb kockázati tényezőt jelentik a fertőzés továbbvitelére. Gyakorlatilag minden, a baktériumok vagy az ellenanyagok kimutatására alkalmas rendelkezésre álló diagnosztikai módszerrel kimutatható a betegség (68). Az állatok általában egy héten belül a kiszáradás és a nem megfelelő tápanyag-felszívódás miatt bekövetkező eléhezés miatt elpusztulnak (89). Az állományban jelentkező klinikai tüneteket mutató állatok száma jó közelítő becsléssel bírhat az állomány fertőzöttségét illetően. Minden klinikai tüneteket mutató állatra általánosan 15–25 szubklinikai fertőzött állat jut egy nagylétszámú állományban (94).

AZ MAP ELLENI IMMUNVÁLASZ

Az MAP-fertőzéssel kapcsolatos immunválasz meglehetősen összetett és nem teljesen ismert. A fertőzés kezdetén a bejutott MAP a T-helper sejteket aktiválja és a Th1 típusú (IFN- γ , IL-1 α , IL-2, IL-12, TNF- β) citokinek termelését serkenti (43). Ezek, főképpen a Mycobacterium-specifikus IFN- γ és IL-2 a macrophagok aktiválása révén az intracelluláris baktériumok elleni védekezésben játszanak jelentős szerepet (83), és a fertőzést kordában tartják (67). A betegség előrehaladásával és a klinikai tünetek kialakulásával a Th2-sejtek által történő citokintermelés (IL-4, IL-5, TGF- β és IL-10), ill. az ellenanyag-termeléssel (IgG1) járó immunválasz kerül előtérbe (43). Az IL-10 egy fontos citokin, amely a túlzott sejtmediált immunválasz ellen védi a szervezetet, ezen kívül a fagoszómák érését is lassítja. Az MAP serkenti az IL-10 termelését, valamint közvetlenül, ill. az IL-10-termelésen keresztül a TNF- α termelődését is, amely a programozott sejthalál ellen hat, így életben tartja az MAP-t bekebelezett macrophagokat (43).

Néhány állatnak, amely a betegség klinikai tüneteit mutathatja, mind Th1/IFN- γ , mind Th2-mediált immunválasza is lehet (ELISA-antitestek), míg más klinikai tüneteket mutató állatnál úgy tűnik, hogy elveszítik a Th1-mediált immunitást (10). A sejtes és a humorális immunválasz egyensúlya összefüggésben van a baktériumürítéssel. Azokban az állatokban, amelyekben a Th1-mediált immunválasz jellemző, kisebb a baktériumürítés mértéke, amelyekben Th2-mediált immunválasz figyelhető meg, jobban ürítik a baktériumot (67). Azt egyelőre nem tudjuk, hogy mi váltja ki az áttérést a betegséget kordában tartó Th1-válaszról a nem hatékony

Th2-válaszra. Lehet, hogy az MAP egyre növekvő száma, vagy az IL-10-vezérelt Th1-válasz csökkenése, vagy a T-sejtek különböző mértékű osztódása, differenciálódása (67). Egy újabb elmélet szerint a paratuberculosisban szenvedő tehének bélgyulladásának fenntartásában az Th17-válasznak, az IL-23 és IL-17 citokineknek is nagy szerepe van. Az MAP-sejtek közvetlenül is tudják serkenteni az IL-23-termelést (26), de ugyanakkor blokkolják az IL-23-termelés nyomán megjelenő, az a gyulladáshoz vezető folyamatokban inkább védő funkciójú IL-17 termelését (26, 76).

A PARATUBERCULOSIS DIAGNOSZTIKAI LEHETŐSÉGEI

A betegség diagnosztikája a korai szakaszokban rendkívül nehéz

A leírtakból következően a betegség diagnosztikája, különösen a fertőzés korai szakaszában nehéz. A fiatal állatokban a klinikai tünetek még nem alakulnak ki, a lappangási idő 2–10 évig is terjedhet (6, 93). A betegség szubklinikai formájának felderítését a rendelkezésre álló diagnosztikai módszerek nem kellő mértékű pontossága nehezíti, egyelőre lehetetlen felderíteni az összes fertőzött állatot, előfordulhatnak fals negatív és fals pozitív eredmények is (17).

Klinikai tünetek 2–10 év lappangási időt követően a fertőzött állatok 10–15%-ában alakulnak ki

A diagnosztikai módszerek a klinikai tünetek megfigyelése és a kórbonctani vizsgálaton kívül alapvetően 2 típusra oszthatók: a kórokozó (a baktérium vagy csak a DNS) kimutatására, ill. a szervezet immunválaszának kimutatására irányuló diagnosztikai tesztek. Számos diagnosztikai módszer áll rendelkezésre az MAP-fertőzés kimutatására, ám mindegyiknek megvannak az alkalmazási területei és a korlátai. Általánosságban elmondható, hogy nagyobb állomány szintű prevalencia a pozitív állatok nagyobb mértékű baktériumürítésével és a lappangási időszak lerövidülésével jár együtt (66). A diagnosztikai nehézségek a betegség kórfejlődéséből és mindeközül idáig nem teljesen tisztázott immunológiai jellegzetességeiből következnek (68).

KLINIKAI TÜNETEK

Az MAP idült, vízszerű hasmenést okoz a fertőzött állatokban, ami folyamatos testtömegvesztéssel és testszerte vizenyő kialakulásával jár. A klinikai tünetek általában az állat 2 éves kora felett jelentkeznek, de a fertőzött egyedek mindössze 10–15%-ában alakulnak ki (31). Nagyüzemi körülmények között az állatok általában a betegség klinikai tüneteinek megjelenése előtt selejtezésre kerülnek tejtermelés-csökkenés, szaporodásbiológiai és egyéb állategészségügyi problémák miatt (33).

Előnyök és hátrányok

Részletes klinikai vizsgálat után, ha az állat a paratuberculosis jellegzetes tüneteit mutatja, a betegség valószínűsíthető. A kórelőzmény, és az állomány adatai megerősíthetik a gyanút. Egy állományban a jellegzetes klinikai tünetet mutató állat jelenléte még legalább 15–25 szubklinikailag fertőzött állat jelenlétét feltételezi, tehát a klinikai tüneteket mutató állatok megjelenése csupán a jéghegy csúcsát jelenti (31, 94). A fertőzés korai szakaszában járó állatok nem mutatnak klinikai tüneteket, de a baktériumot üríthetik bélsárral vagy tejjel, így fertőzési források lehetnek.

KÓRBONCTAN

A jellegzetes kórbonctani kép a fertőzött állatok jelentős százalékában nem alakul ki és nem mindig van szoros kapcsolat a klinikai tünetek súlyossága és a bélbeli elváltozások mértéke között (19).

A patológiai képet a csípőbél nyálkahártyájának megvastagodása és ráncosodása, a bélfodri nyirokcsomók megnagyobbodása és a nyirokerek kitérülése jellemzi (16). Kórszövettani vizsgálattal granulomatosus gyulladás mutatható ki a csípőbélben, de gyakran a vastagbelekben is (14). Bár a kórszövettani vizsgálat a legtöbb esetben post mortem történik, lehetőség van ante mortem bélbopszia-vételre is (20).

Egy állományban minden klinikailag beteg állatra 15–25 szubklinikai fertőzött jut

Boncolással a csípőbél nyálkahártyájának megvastagodása és ráncosodása, a bélfodri nyirokcsomók megnagyobbodása és a nyirokerek kitérülése látható

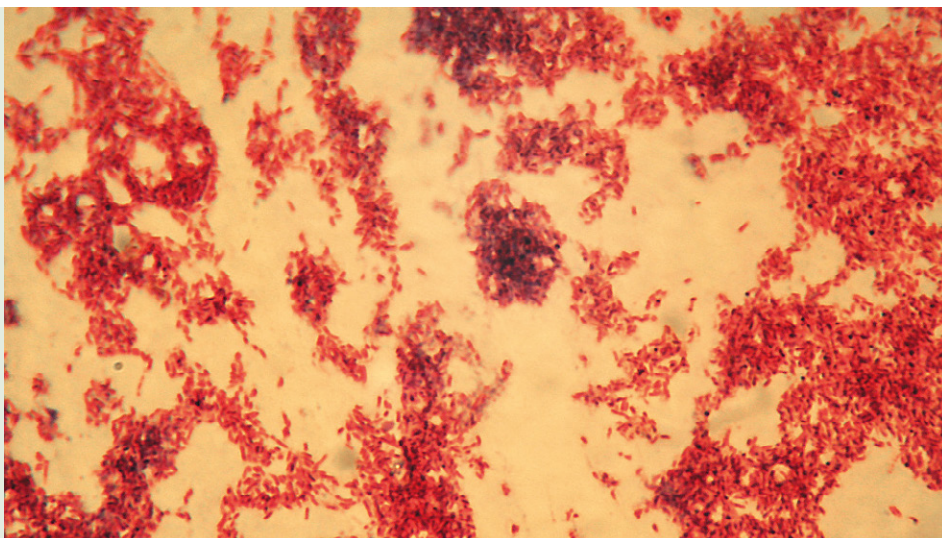
A legtöbb esetben az MAP-t tartalmazó epitheloid sejtek betörnek az ileum nyálkahártyájába, a lamina propriában és a submucosában felhalmozódnak, ami a nyálkahártya súlyos megvastagodásához vezet. A szerv minták Ziehl-Neelsen-festéssel történő vizsgálata egy gyors és olcsó diagnosztikai módszer (3. ábra). A klinikai tünetekkel együtt biztossá teszi a diagnózist (1).

3. ÁBRA. *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* Ziehl-Neelsen festéssel (1000x nagyítás)

Fotó: Bécsi Állatorvostudományi Egyetem, Kérődzőklinika

FIGURE 3. Ziehl-Neelsen stained *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* (1000x scale)

Photo: Vetmeduni Vienna, University Clinic for Ruminants



**A jellegzetes boncletet
önmagában is biztossá
teszi a diagnózist**

**A kórokozó
tenyésztéssel és
PCR-vizsgálattal
mutatható ki**

Előnyök, hátrányok

A jellegzetes kórbonctani kép biztossá teszi a betegség diagnózist más kiegészítő tesztek nélkül is. A jellegzetes klinikai tünetek és kórbonctani kép azonban nem mindig figyelhető meg, ezek hiányában nem tudjuk kizárni az MAP-fertőzés lehetőségét, így kiegészítő diagnosztikai vizsgálatok szükségesek paratuberculosis gyanúja esetén.

A KÓROKOZÓ KIMUTATÁSÁRA IRÁNYULÓ DIAGNOSZTIKAI VIZSGÁLATOK

A kórokozót tenyésztéssel és PCR-vizsgálattal mutathatjuk ki. A kórokozó kimutatására irányuló diagnosztikai vizsgálatok egyik legnagyobb előnye, hogy a subklinikailag fertőzött állatok korábban, még a kimutatható mértékű ellenanyagválasz megjelenése előtt jobban eséllyel diagnosztizálhatók. A tenyésztéssel és PCR-vizsgálattal átfogó képet kaphatunk a telep fertőzöttségi nyomásáról, az egyedek ürítésének mértékéről. A minták egyedileg és poolban is vizsgálhatók, valamint környezeti minták vizsgálatára is alkalmasak a módszerek (31).

Az MAP-val súlyosan fertőzött állományban mind a PCR, mind pedig a tenyésztés eredményeivel körültekintően kell bánni, amennyiben azok eredménye kismértékű ürítést feltételez, mivel ezekben az állományokban a környezetből felvett, a béltraktuson csupán áthaladó baktériumokat is kimutathatjuk (86). KRALIK és mtsai vizsgálata alapján ha a bélsárban qPCR-vizsgálattal $< 10^3$ sejt/g MAP található, akkor ez nem jelenti automatikusan, hogy az állat fertőzött (62). A PCR-vizsgálatot 2–4 hónappal később megismételve könnyebben kiemelhetjük az állományból a baktériumot nagy mennyiségben ($> 10^4$ sejt/g) ürítő állatokat. Három egymás után végzett PCR-vizsgálat egyértelműen azonosítja a fertőzött állatot, amelyet érdemes selejtezni. Ha az ismételt PCR-vizsgálatok eredménye inkább enyhe fokú ürítést mutat, az állat jó eséllyel „időszakosan fertőzött”, vagyis csak passzívan ürít, és nem szükséges selejtezni (62).

Baktériumkimutatás tenyésztéssel

Az MAP egy sav- és alkoholálló, intracelluláris baktérium. Növekedéséhez vasat igényel, és képes túlélni a macrophagokban. A mycobacteriumok általában lassan

Az MAP tenyésztése rendkívül hosszadalmas folyamat

növő mikroorganizmusok, különleges táptalajt igényelnek mikobaktin hozzáadásával. A tenyésztés szilárd táptalajon (a leggyakrabban Herrold's Egg Yolk [HEYM], Löwenstein–Jensen vagy Middlebrook 7H11 táptalaj) hónapokig is eltarthat (15). Folyékony táptalajon (pl. Middlebrook 7H9) a tenyésztés ideje akár 4 hétre rövidíthető (80), ráadásul a folyékony táptalajokon való tenyésztés alkalmas automatizált módszerek kifejlesztésére, ami a baktérium szaporodását nem specifikusan jelzi (15). A tenyésztés körülményei minden esetben fontosak, és az egyes lépésekben vagy összetevőkben történő változások is komoly különbségeket eredményeznek (13). A tenyésztés érzékenysége klinikai tüneteket mutató állatoknál mintegy 70%, míg szubklinikai fertőzésnél 23–29%, mivel ezek az állatok szakaszosan vagy kis számban ürítik az MAP-t (74). A béltraktusból, főleg a csípőbélből származó szövetből történő tenyésztés sokkal érzékenyebb, mivel így a fertőzött, de a baktériumot még nem ürítő állatok is azonosíthatók. McKENNA és mtsai kísérletében 994 vágó tehénből származó mintából 16,1% volt pozitív a csípőbélből és a csípőbél környéki nyirokcsomókból történő tenyésztésből, míg bélsárból mindösszesen 3,6% (70). A tenyésztéssel való MAP-kimutatás majdnem 100%-ban specifikus, fals pozitív eredményt egyedül környezetből felvett, a béltraktuson éppen áthaladó, ugyanakkor megbetegedést nem okozó MAP jelenléte okozhat (93). Az MAP ürülése a klinikai tünetek megjelenése előtt a legtöbb esetben szakaszos. Becslések szerint baktériumtenyésztéssel a kórokozó baktériumot ténylegesen ürítő állatok 50%-át lehet megtalálni (84).

Előnyök és hátrányok

A tenyésztés legfontosabb előnye, hogy élő baktériumot mutat ki, nem csak DNS-t. Napjainkban világszerte a tenyésztést tartják a paratuberculosis „gold standard” diagnosztikai eszközének. Hátránya, hogy meglehetősen lassú (folyékony táptalajon történő tenyésztés esetében legalább 4 hét, szilárd táptalaj estében több, mint 16 hét lehet a szükséges tenyésztési idő), ezért egyedi, ill. állományszűrésre kevésbé gyakorlatias. Azonkívül a tenyésztés sok és szakszerű munkát igényel, a minta szennyezettsége gondot okozhat, és az MAP-t könnyen túl nőhetnek egyéb szennyező baktériumok/gombák. Paratuberculosis-kutatásokban továbbra is, mint megerősítő diagnosztika, a leggyakrabban használt módszer.

Polimeráz láncreakció (PCR)

A specifikus, DNS-szekvenciák meghatározásán alapuló vizsgálatok lehetővé tették az olyan érzékeny mikroorganizmusok, mint például az MAP, gyorsabb azonosítást.

A PCR-technika gyors és költséghatékony vizsgálatot tesz lehetővé nagyszámú és különféle minták esetében (szövet, bélsár, tej). A bélsarat általában problémás mintának tartják molekuláris biológiai módszerekkel történő baktériumkimutatásra a benne levő PCR-inhibitorok miatt (23).

Nukleotidszinten az MAP >98%-ban megegyezik a *Mycobacterium avium* subsp. *avium* baktériummal. Az MAP esetében leginkább az IS900 génszakaszt használják a PCR-vizsgálatok során (15), amely 17 másolatban van jelen, és így kimutatása sokkal érzékenyebb, mint az egyszeres kópiában jelen levő egyéb szekvenciák (pl. f57, locus 251 vagy hspX). Az IS900 szekvenciát más mycobacteriumok is hordozhatják, így az erre alapuló PCR-vizsgálat sem mondható 100%-ban specifikusnak (29). Bélsár PCR-vizsgálatakor az érzékenység 70,2%, a specificitás 85,3% volt tenyésztéssel összehasonlítva (18). Egyéb, többszörös másolatban levő szekvenciák (például az IS_MAP02 hatszoros másolatban, IS_MAP04 négyszeres másolatban) is potenciálisan jól használhatók PCR-vizsgálatra, de az ezeket használó módszerek még nem terjedtek el (25). A hagyományos PCR-eljárás ritkán használt a paratuberculosis diagnosztikában a bélsárban jelen levő, a reakciót lassító faktorok miatt. A nested (fészkes) PCR sokkal érzékenyebb, mert két reakciót futtat egymás után, két primerpárral, de ugyanakkor idő és munkaigényesebb is (30).

Specificitása ellenére a tenyésztés hátránya, hogy lassú és munkaigényes módszer

A PCR a fertőzés korai szakaszában jelenleg a legbiztosabb diagnosztikai eljárás

A valós idejű vagy kvantitatív PCR (qPCR) esetében a műszer minden ciklus esetében vizsgálja a reakciót a DNS-hez kapcsolódó fluoreszcens anyag fénykibocsátásának mérésével. A Ct-érték (a ciklusok száma, ami a fluoreszcencia mértékének egy meghatározott határérték eléréséhez szükséges) segítségével a minta DNS-tartalmát számszerűsíthetjük.

Előnyök és hátrányok

A qPCR gyors, azonban viszonylag drága vizsgálati módszer. A fertőzés korai stádiumának meghatározására jelenleg a legbiztosabb eljárás, ám bár néhány vizsgálatban a tenyésztés érzékenyebbnek bizonyult. Nem szabad elfelejteni, hogy a baktérium a szubklinikai stádiumban még szakaszosan ürül, így megbízható diagnózis felállítására folyamatos vizsgálatokra van szükség, amely a költségeket jelentősen növeli.

A qPCR eredménye szemikvantitatív, lehetővé teszi baktérium-ürítés mértékének hozzátevéleges meghatározását, ill. jelenleg a legjobb módszernek tartják a betegség progressziójának meghatározásához (68). A minták poolozása lehetővé teszi a költségek csökkentését (31, 71). A környezeti minták (pl. hígtrágya, gumicsizma talpáról vett tampon) vizsgálatára, az állomány MAP-érintettségének gyors felderítésére kiválóan alkalmas (39, 53, 81). Korábbi vizsgálatok alapján a nyirok PCR-vizsgálatával kimutatható a nyirokerekben keringő macrophagokban levő MAP. A nyirok így ígéretes vizsgálati médium az MAP-fertőzés korai megállapítására (55, 59). Nyirokmintát legegyszerűbben a tőgy hátsó részén felületesen futó nyirokérből nyerhetünk (55).

A PCR-vizsgálat egy nagyon fontos hátránya, hogy a DNS-t kimutatja, de azt nem, hogy élő-e, vagyis nem eldönthető, hogy a kimutatott baktérium fertőzőképes-e.

Mágneses szeparálás

Mind a tenyésztés, mind a PCR-vizsgálatok esetén az egyik legnagyobb kihívás a minta megfelelő tisztítása, a baktériumok vagy a DNS kinyerése. A minta előkészítésekor a mágneses (fehérje- vagy immunomágneses) elválasztás javíthatja a módszerek érzékenységét azáltal, hogy tisztább mintával lehet dolgozni (45).

AZ IMMUNVÁLASZ KIMUTATÁSÁRA IRÁNYULÓ DIAGNOSZTIKAI MÓDSZEREK

Interferon-gamma (IFN- γ) teszt

Az IFN- γ -vizsgálat a sejtmediált immunválasz kimutatására alkalmas. A módszer az MAP-ra adott korai immunválaszt vizsgálja, amikor az MAP-fertőzés még csak a IFN- γ -termelést indukálja. A fertőzött állatoktól származó fehérvérsejtek MAP antigének hatására történő IFN- γ termelése mérhető.

Az IFN- γ -szint emelkedése a fertőzés során talán a baktérium-ürítés kezdetét is jelezheti (83). Egy dán kutatásban az IFN- γ -pozitív állatok átlagéletkora 27 hónap volt, míg a baktériumtenyésztés átlagosan 37 hónapra adott pozitív eredményt (44). Az IFN- γ szenzitivitására és specifitására vonatkozó adatok nagyon változók (74), nagymértékben befolyásolja továbbá az életkor, a környezet mycobacteriumokkal való terheltsége, valamint maga a tisztított fehérjeszármarék (PPD), amit a kimutatás során immunstimulánsként használnak (27, 44, 50).

Előnyök és hátrányok

A módszer a gyakorlatban jelenleg nem alkalmazható megbízhatóan, azonban további kutatásokkal és finomításával talán a betegség korábbi diagnosztizálását tenné lehetővé. Az IFN- γ mennyiségi kimutatása 1–2 éves állatoknál alkalmazható, korábban, mint egyéb a gyakorlatban jelenleg használt tesztek, azonban a környezetben található egyéb mycobacteriumokra adott keresztreakció miatt inkább előszűrőként alkalmazható. A jelentős költségek, a kényes mintafeldolgozás és a gyenge specifitás miatt jelenleg a gyakorlatban kevésbé elterjedt vizsgálati módszer (15, 82).

A PCR-vizsgálat hátránya, hogy elhalt kórokozók esetén is pozitív reakciót ad

Az IFN- γ -vizsgálat a korai, sejtmediált immunválaszt ismeri fel

Az ELISA a leggyakrabban használt immunológiai teszt a paratuberculosis diagnosztikájában

ELISA-vizsgálatok

Az ELISA a leggyakrabban használt immunológiai teszt a paratuberculosis diagnosztikájában, amit a kórokozó ellen termelődött ellenanyagok kimutatására használunk szérumból vagy tejből.

Az ELISA-módszerek közepes-gyenge, átlagosan mintegy 30% érzékenységgűek (20, 64; 1. táblázat) a betegség különböző szakaszaira adott eltérő immunválasz miatt. Az ELISA-vizsgálat eredménye ritkán pozitív 2 évnél fiatalabb, ill. a fertőzés korai szakaszában lévő állatokban (7).

1. TÁBLÁZAT. A paratuberculosis kimutatására alkalmazott PCR és ELISA diagnosztikai tesztek szenzitivitása és specifitása

TABLE 1. Sensitivity and specificity of PCR and ELISA diagnostic tests for paratuberculosis

Teszt	Referenciateszt	Szenzitivitás (%)	Specifitás (%)	Hivatkozás
Szérum ELISA	bélsártenyésztés	73,6 (61,9–83,3)	87,5	41
		16,7 (4,5–28,8)	97,1 (96,0–98,1)	70
		13,9 (2,6–25,2)	95,9 (94,6–97,2)	
		27,8 (13,1–42,4)	90,1 (88,2–92,0)	
Szérum ELISA	bélszövetből történő tenyésztés	8,8 (4,4–13,1)	97,6 (96,6–98,6)	70
		6,9 (3,0–10,8)	96,0 (94,7–97,4)	
		16,9 (11,0–22,7)	90,8 (88,8–92,7)	
Tej ELISA	bélsártenyésztés	61,1 (48,9–72,4)	94,7	41
		28,9	99,7	
Bélsártenyésztés	ismételt bélsár-tenyésztés	38	100	93
Bélsár PCR	bélsártenyésztés	70,2 (57,7–80,7)	85,3 (79,3–90,1)	18
		85,3 (79,3–90,1)		

A savóból végzett ELISA-vizsgálatok érzékenysége kicsi

A hátrányok ellenére mégis az ELISA-vizsgálat az alapja a legtöbb járványtani és állomány szintű vizsgálatnak az alacsony költségek és gyors eredmények miatt (8, 12, 36, 57, 58, 60). Az ellenanyagválasz megjelenése nagyban összefügg a betegség előrehaladásával, a fertőzőképesség előrehaladásával és a kórszöveti elváltozásokkal (64, 68, 87). A szérumból végzett ELISA-vizsgálatok érzékenysége klinikai tüneteket mutató állatok esetében 50–87%, klinikai tüneteket nem mutató, ugyanakkor a baktériumot már ürítő állatoknál 24–94% és mindössze 7–22% a fertőzött, de a baktériumot még nem ürítő, ill. klinikai tünetet sem mutatóknál (74). A tej vizsgálata esetén az ELISA érzékenysége 21–60% fertőzött állatokban (74). Az ELISA-vizsgálat specifitása azonban jelentős (90–99%, [87]). Az érzékenység nagyban függ a környezet mycobacteriumokkal való terheltségétől, az esetleges egyidejű *Mycobacterium bovis* fertőzöttségtől, az intradermalis tuberculin próba időpontjától, ill. egy esetleges MAP ellen történő vakcinázástól. (75). Az ELISA specifitása 90–100% szérum, 83–100% tej esetében (74). Az ELISA-eredmények mennyiségi értelmezése (OD, SP arány) sokkal inkább javasolható, mint a minőségi (pozitív/negatív), mivel az előző jobb összefüggést mutat a fertőzés stádiuma és a baktériumürítés mértéke között (21, 22).

Előnyök és hátrányok

Az ELISA-vizsgálat a legelterjedtebb vizsgálati módszer állomány szintű prevalencia meghatározására. Gyors, nagy mintaszámok esetén a piacon elérhető egyik legolcsóbb módszer. A betegség előrehaladásával megbízhatósága egyre nő,

*Szubklinikai
fertőzöttek esetében
érzékenysége
igen gyenge*

*Számos új
diagnosztikai módszer
fejlesztése zajlik*

a kórokozót nagy mennyiségben ürítők felderítésére viszonylag jó érzékenységgel működik. Szubklinikai fertőzöttek esetében érzékenysége igen gyenge, egyedi célú diagnosztikai vizsgálat során ismételt tesztelés a javasolható, mind az esetleges fals pozitív eredmény, mind pedig a teszt megbízhatóságának javítása céljából.

EGYÉB, ÚJABB TÍPUSÚ VIZSGÁLATOK

A kutatók folyamatosan dolgoznak új, az MAP diagnosztikai lehetőségeit javító, pontosabb és érzékenyebb módszereken. Ezek legtöbbje kísérleti fázisban van, vagy inkább a kutatásban használható, mivel komoly laboratóriumi munkát vagy felszerelést igényel, ill. túl drága. Az új módszerekből mutatunk be néhányat az alábbiakban.

Istállópróbák

A fejlesztések logikus iránya, hogy gyors, akár az istállóban is alkalmazható tesztek használhassanak azok, akiknek erre igénye van. Egy, a proteinG kimutatáson alapuló gyors szerológiai próba fejlesztését és validálását végezték el indiai kutatók, és nagyon jó, 91%-os szenzitivitást, 98,9%-os specificitást mértek ismert MAP-státuszú állatokon, tenyésztéssel és PCR-vizsgálattal összehasonlítva (77). A módszer további validálása szükséges telepi körülmények között, ill. egyéb hasonló gyors módszerek fejlesztése indokolt.

Bakteriófág-vizsgálat

A módszer lényege, hogy a mintához fágokat (olyan vírust, amely baktériumokat fertőz és azokban szaporodik) adnak. A leggyakrabban használt fág a D29, amely mycobacteriumokra specifikus. A fágok kötődnek a gazda (MAP) sejthez és abban szaporodnak. A szabad, nem kötődő fágokat virucid készítménnyel elölik. Ezek után egy másik, gyorsabban növekvő baktériumot (pl. *Mycobacterium smegmatis*) adnak a rendszerbe, amely szintén érzékeny az adott fagra. Az elpusztuló MAP-ból kiszabaduló fágok a szenzorbaktériumot is elpusztítják, és ezt a plakk képződést lehet érzékelni, majd PCR-technikával az MAP-t azonosítani (90). A fáganalízissel élő MAP-t lehet kimutatni, hasonlóan a tenyésztéshez, csak annál sokkal gyorsabban (akár 2 nap alatt), és érzékenyebben, akár fiatal állatokból is. Fals pozitív eredmények előfordulhatnak, amennyiben más mycobactériumok is előfordulnak a mintában. Az is előfordulhat, hogy a célbaktérium rezisztens a fágokkal szemben (15). A fáganalízis módszer is fejlődik, újabban egyszerűbb és gyorsabb módszerek is forgalomba kerültek (91, 92). Szerzők véleménye szerint a fágmódszer nagyon ígéretes az MAP diagnosztikájában.

Új, MAP-specifikus antigének keresése

Új MAP-specifikus antigének alkalmazása, esetleg egy tesztben több antigén kombinálása (pl. három vagy 7 új fehérje) javíthatja az ELISA-vizsgálatok érzékenységét. Ezek közül van már piacon levő ELISA-teszt, de a legtöbb még nagyobb mintaszámon történő validálásra vár (15). Li és mtsai új, rekombináns MAP-antigéneket vizsgáltak multiplex-bead based assay (multiplex-gyöngy alapú vizsgálat) módszerrel, és úgy vélték, hogy további vizsgálatok után ez a módszer alkalmas lesz diagnosztikai munkára azokban az állatokban is, amelyeknél ELISA-vizsgálattal még nem mutatható ki a fertőzés (65).

A gazdaszervezet fehérjéinek vizsgálata

Az MAP-fertőzés hatására bizonyos fehérjék koncentrációja megváltozhat a vérben (pl. a transferrin, a gelsolin izoform α és β , a komplement szubkomponens C1r és C3, a réztartalmú aminosav 3 (AOC3) és a thrombin koncentrációja növekszik, a koagulációs faktor XIII-B polipeptid (COAFXIII) és a fibrinogén γ lánc (FGG) koncentrációja csökken; [99]). Kérdés, hogy ez, vagy hasonló változások mennyire specifikusak szarvasmarha paratuberculosisában. A módszer mindenképpen validálásra szorul.

Mikrobiom-vizsgálat

A gyomor-bélrendszeri gyulladásos folyamatok esetében a bélcsatornában a mikrobiom összetétele változik, sokfélesége csökken, bár nem tudható, hogy ez a fertőzés oka, vagy következménye (51). Az MAP esetében is megfigyelhető különbség a bélsár mikrobiom-összetételében a fertőzött és nem fertőzött állatok között (49). A módszer ígéretes, bár hátrányaként kell említeni, hogy mikrobiom vizsgálat drága és eszközigényes, a mikrobiom összetétele más lehet a bélcsatorna egyes szakaszaiban, ill. egyelőre nem tudni, hogy a változások iránya mennyire specifikus MAP esetén.

Mikro RNS vizsgálata

A mikro RNS-ek stabil, rövid (19–25 nukleotid), nem kódoló RNS-darabok, amelyek a testfolyadékokban megtalálhatók, szerepük a génexpresszió transzkripció utáni szabályozása. Több kutatás támasztja alá, hogy bizonyos betegségek, így paratuberculosis esetén diagnosztizálásra alkalmas biomarkerek lehetnek (15, 69).

KÖVETKEZTETÉSEK

A paratuberculosis állományszintű diagnosztikája a baktériumtenyésztésen, a PCR- és ELISA-vizsgálatokon alapul

A legnagyobb nehézséget a szubklinikailag fertőzött állatok diagnosztizálása okozza

A számos, potenciálisan megfelelő új diagnosztikai módszer ellenére a paratuberculosis állományszintű diagnosztikája a baktériumtenyésztésen, a PCR- és ELISA-vizsgálatokon alapul (2. táblázat). A különböző típusú vizsgálatok kombinálása a legjobb módszer arra, hogy javítsuk a diagnosztikai munka hatékonyságát. A különböző szenzitivitású és specifitású módszerek kombinálása lehetővé teszi az állatok és állományok kategóriákba sorolását az MAP-fertőzöttség függvényében (12), és ennek megfelelő védekezési terv kialakítását. A legnagyobb nehézséget a szubklinikailag fertőzött állatok diagnosztizálása okozza, mivel ezek az állatok a legtöbb esetben még kis mértékben és szakaszosan ürítik a kórokozót, ill. még nem termelnek kimutatható mennyiségű ellenanyagot az MAP ellen. A baktériumürítés mértékének meghatározása jelentős információt szolgáltat a betegség előrehaladását illetően (34, 68).

A paratuberculosis elleni védekezés alapja mindenképpen a pontos diagnózis felállítása, ehhez pedig a diagnosztikai lehetőségeink fejlesztése és az állományok folyamatos monitorozása szükséges (5, 9, 52, 56, 95).

2. TÁBLÁZAT. Tejelő tehénállományok tesztelésére ajánlott módszerek (31)**TABLE 2. Recommended diagnostic tests for dairy herds (31)**

Kontrollprogram nagyobb mértékű (> 5%) fertőzöttség esetén	ELISA (tej vagy szérum)
Kontrollprogram kisebb mértékű (< 5%) fertőzöttség esetén	Poolozott vagy egyedi bélsár PCR
Felderítés	Környezeti vagy poolozott bélsártenyésztés
Mentesítés	Poolozott bélsártenyésztés vagy PCR
Klinikai diagnózis olyan telepen, ahol korábban nem volt bizonyítva az MAP előfordulása	Az érintett állatok boncolása, bélsártenyésztés vagy PCR
Klinikai diagnózis megerősítése MAP-pozitív állományban	ELISA, bélsártenyésztés vagy PCR

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósult meg (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.1-16-2016-00024, projekt címe: Intelligens szakosodást szolgáló fejlesztések az Állatorvostudományi Egyetem és a Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának együttműködésében).

IRODALOM

- ACHARYA, T.: Ziehl-Neelsen technique (AFB staining): principle, procedure and reporting. *Microbe Online*, 2013. <http://microbeonline.com/ziehl-neelsen-technique-principle-procedure-reporting/>.
- AGRAWAL, A. – VARSHNEY, R. et al.: Global scenario of paratuberculosis: a threat to livestock sector. *Biol. Rhythm Res.*, 2019. DOI: 10.1080/09291016.2019.1610858
- ALY, S. S. – THURMOND, M. C.: Evaluation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection of dairy cows attributable to infection status of the dam. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2005. 227. 450–454.
- AYELE, W. Y. – BARTOS, et al.: Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in organs of naturally infected bull-calves and breeding bulls. *Vet. Microbiol.*, 2004. 103. 209–217.
- BARKEMA, H. W. – ORSEL, K. et al.: Knowledge gaps that hamper prevention and control of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2018. 65. (Suppl. 1). 125–148.
- BASSEY, E. O. – COLLINS, M. T.: Study of T-lymphocyte subsets of healthy and *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*-infected cattle. *Infect. Immun.*, 1997. 65. 4869–4872.
- BASTIDA, F. – JUSTE, R. A.: Paratuberculosis control: a review with a focus on vaccination. *J. Immune Based Ther. Vaccines.*, 2011. 9. 8.
- BAUMGARTNER, W. – DAMOSER, J. – KHOL, J.: Vergleich zweier serologischer Untersuchungen der österreichischen Rinderpopulation zur Verbreitung der bovinen Paratuberkulose (Johne'sche Krankheit) in den Jahren 1995/97 und 2002/03 und Vorstellung geplanter Bekämpfungsmaßnahmen. *Wien. Tierärztl. Wschr.*, 2005. 92. 274–277.
- BAUMGARTNER, W. – KHOL, J. L.: Paratuberculosis – potentials and limits of surveillance programs. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2008. 130. 7–10.
- BEGG, D. J.: Does a Th1 over Th2 dominance really exist in the early stages of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infections? *Immunobiol.*, 2011. 216. 840–846.
- BOGNÁR B. – FARKAS K. – FORNYOS K. – ZRUFKÓ R. – BAUMGARTNER, W. – KHOL, J. L. – JURKOVICH V.: A szarvasmarhák paratuberculosisa és az ember Crohn-betegsége közötti lehetséges kapcsolat. Irodalmi összefoglaló. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2019. 141. 659–675.
- BÖTTCHER, J. – GANGL, A.: *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* – combined serological testing and classification of individual animals and herds. *J. Vet. Med.*, 2004. 51. 443–448.
- BRADNER, L. – ROBBE-AUSTERMAN, S. et al.: Optimization of hexadecylpyridinium chloride decontamination for culture of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from milk. *J. Clin. Microbiol.*, 2013. 51. 1575–1577.
- BRADY, C. – O'GRADY, D. et al.: Relationships between clinical signs, pathological changes and tissue distribution of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in 21 cows from herds affected by Johne's disease. *Vet Rec.*, 2008. 162. 147–152.
- BRITTON, L. E. – CASSIDY, J. P. et al.: Potential application of emerging diagnostic techniques to the diagnosis of bovine Johne's disease (paratuberculosis). *Vet. J.*, 2016. 209. 32–39.
- BUERGELT, C. D. – HALL, C. et al.: Pathological evaluation of paratuberculosis in naturally infected cattle. *Vet. Pathol.*, 1978. 15. 196–207.
- CHIODINI, R. J. – KRUIJNINGEN, J. H. et al.: Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): the current status and future prospects. *Cornell Vet.*, 1984. 74. 218–262.
- CLARK, D. L. – KOZICZKOWSKI, J. J. et al.: Detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*: Comparing fecal culture versus serum enzyme-linked immunosorbent assay and direct fecal polymerase chain reaction. *J. Dairy Sci.*, 2008. 91. 2620–2627.
- CLARKE, C. J.: The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species. *J. Comp. Pathol.*, 1997. 116. 217–261.
- COLLINS, M. T. – GARDNER, I. A. et al.: Consensus recommendations on diagnostic testing for the detection of paratuberculosis in cattle in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2006. 229. 1912–1919.
- COLLINS, M. T.: Diagnosis of paratuberculosis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 2011. 27. 581–591.
- COLLINS, M. T.: Interpretation of a commercial bovine paratuberculosis enzyme-linked immunosorbent assay by using likelihood ratios. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2002. 9. 1367–1371.
- COLLINS, M. – STEPHENS, M. et al.: Comparison of polymerase chain reaction tests and faecal culture for detecting *Mycobacterium paratuberculosis* in bovine faeces. *Vet. Microbiol.*, 1993. 36. 289–299.
- DE CHASTELLIER, C. – THILO, L.: Cholesterol depletion in *Mycobacterium avium*-infected macrophages overcomes the block in phagosome maturation and leads to the reversible sequestration of viable mycobacteria in phagolysosome-derived autophagic vacuoles. *Cell. Microbiol.*, 2006. 8. 242–256.
- DE KRUIJF, M. – GOVENDER, R. et al.: A comparative study evaluating the efficacy of IS_{MAP04} with IS900 and IS_{MAP02} as a new diagnostic target for the detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* from bovine faeces. *Vet. Microbiol.*, 2017. 204. 104–109.
- DEKUIPER, J. L. – COOPERIDER, H. E. et al.: *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* drives an innate Th17-like T cell response regardless of the presence of antigen-presenting cells. *Front. Vet. Sci.* 2020. 7. 108.
- DERNOVOIX, K. – ROUPIE, V. et al.: Field performance of six *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* antigens in a 20 h interferon gamma release assay in Belgium. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2017. 189. 17–27.
- DREIER, S. – KHOL, J. L. et al.: Serological, bacteriological and molecularbiological survey of paratuberculosis (Johne's disease) in Austrian cattle. *J. Vet. Med. B.*, 2006. 53. 477–481.

29. ENGLUND, S. – BÖLSKE, G. – JOHANSSON, K.: An IS900-like sequence found in a *Mycobacterium* sp. other than *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *FEMS Microbiol. Letters*, 2002. 209. 267–271.
30. ENGLUND, S. – BÖLSKE, M. et al.: Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in tissue samples by single, fluorescent and nested PCR based on the IS900 gene. *Vet. Microbiol.*, 2001. 81. 257–271.
31. FECTEAU, M. E.: Paratuberculosis in cattle. *Vet. Clin. Food Anim.*, 2018. 34. 209–222.
32. FODOR I. – MATYOVSKY B. – BICZÓ A. – ÓZSVÁRI L.: A paratuberkulózis kártétele és az ellene való védekezés egy hazai nagyüzemi holsztein-fríz tehenészetben. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2015. 136. 213–222.
33. GARCIA, A. B. – SHALLO, L.: The economic impact and control of paratuberculosis in cattle. *J. Dairy Sci.*, 2015. 98. 5019–5039.
34. GARDNER, I. A. – NIELSEN, S. S. et al. Consensus-based reporting standards for diagnostic test accuracy studies for paratuberculosis in ruminants. *Prev. Vet. Med.*, 2011. 101. 18–34.
35. GASTEINER, J. – WENZL, H. et al.: Serological cross-sectional study of paratuberculosis in cattle in Austria. *J. Vet. Med. B.*, 1999. 46. 457–466.
36. GEISBAUER, E. – KHOL, J. L. et al.: Longterm investigation in an Austrian dairy herd with low prevalence of paratuberculosis – detection of antibodies in blood and milk. *Vet. Quart.*, 2007. 29. 138–148.
37. GONDA, M. G. – CHANG, Y. M. et al.: Effect of *Mycobacterium paratuberculosis* infection on production, reproduction, and health traits in US Holstein. *Prev. Vet. Med.*, 2007. 80. 103–109.
38. GRANT, I. R. – HITCHINGS, E. I. et al.: Effect of commercial-scale high temperature, short-time pasteurization on the viability of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in naturally infected cow's milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002. 68. 602–607.
39. HAHN, N. – FAILING, K. et al.: Evaluation of different diagnostic methods for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in boot swabs and liquid manure samples. *BMC Vet. Res.*, 2017. 13. 259.
40. HASANOVA, L. – PAVLIK, I.: Economic impact of paratuberculosis in dairy cattle herds: a review. *Vet. Med.*, 2006. 51. 193–211.
41. HENDRICK, S. – DUFFIELD, T. et al.: Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays performed on milk and serum samples for detection of paratuberculosis in lactating dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2005. 226. 424–428.
42. HOSTETTER, J. – STEADHAM, E. et al.: Phagosomal maturation and intracellular survival of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in J774 cells. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2003. 26. 269–283.
43. HOUSSAIN, T. – SHAH, S. Z. A. et al.: The role of IL-10 in *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection. *Cell Comm. Signal.*, 2016. 14. 29.
44. HUDA, A. – JUNGENSEN, G. et al.: Diagnosis of bovine paratuberculosis by interferon-gamma (IFN γ) test. *Acta Vet. Scand.*, 2003. 44. 281.
45. HUSAKOVA, M. – DZIEDZINSKA, R. – SLANA, I.: Magnetic separation methods for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in various types of matrices: A review. *BioMed Res. Internat.*, 2017. Article ID 5869854.
46. JOHANSEN, M. D. – DE SILVA, K. et al.: *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* is able to manipulate host lipid metabolism and accumulate cholesterol within macrophages. *Microb. Pathog.*, 2019. 130. 44–53.
47. JOHNE, H. A. – FROTHINGHAM, L.: Ein eigenthümlicher Fall von Tuberkulose beim Rind [A peculiar case of tuberculosis in a cow]. *Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin und vergleichende Pathologie*, 1895. 21. 438–455.
48. JURKOVICH, V. – BOGNÁR, B. – BALOGH, K. – KOVÁCS-WEBER, M. – FORNYOS, K. – SZABÓ, R. T. – KOVÁCS, P. – KÖNYVES, L. – MÉZES, M.: Effects of sub-clinical *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* infection on some physiological parameters, health status and production in dairy cows. *Acta Vet. Hung.*, 2016. 64. 301–312.
49. KAEVSKA, M. – VIDENSKA, P. et al.: Faecal bacterial composition in dairy cows shedding *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in faeces in comparison with nonshedding cows. *Can. J. Microbiol.*, 2016. 62. 538–541.
50. KALIS, C. H. – COLLINS, M. T. et al.: Specificity of two tests for the early diagnosis of bovine paratuberculosis based on cell-mediated immunity: the Johnin skin test and the gamma interferon assay. *Vet. Microbiol.*, 2003. 97. 73–86.
51. KHANNA, S. – RAFFALS, L. E.: The microbiome in Crohn's disease. role in pathogenesis and role of microbiome. Replacement therapies. *Gastroenterol. Clin. N. Am.*, 2017. 46. 481–492.
52. KHOL, J. L. – DAMOSER, J. et al.: Paratuberculosis a notifiable disease in Austria – current status, compulsory measures and first experiences. *Prev. Vet. Med.*, 2007. 82. 302–307.
53. KHOL, J. L. – VILL, M. et al.: Environmental faecal sampling, a new approach in diagnosis and surveillance of paratuberculosis in Austrian cattle herds. *Wien. Tierärztl. Mschr.*, 2009. 96. 279–285.
54. KHOL, J. L. – KRÁLIK, P. et al.: Consecutive excretion of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in semen of a breeding bull compared to the distribution in faeces, tissue and blood by IS900 and F57 quantitative real time PCR and culture examinations. *J. Vet. Med. Sci.*, 2010. 72. 1283–1288.
55. KHOL, J. L. – PINEDO, P. J. et al.: The collection of lymphatic fluid from the bovine udder and its use for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in the cow. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2012. 24. 23–31.
56. KHOL, J. L. – BAUMGARTNER, W.: Examples and suggestions for the control of paratuberculosis in European cattle. *Jap. J. Vet. Res.*, 2012. 60, Suppl. S1–7.
57. KHOL, J. L. – GEISBAUER, E. et al.: Outcome of three commercial serum ELISAs and faecal detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in consecutive samples from a cattle herd with low prevalence of paratuberculosis (John's disease). *Transbound. Emerg. Dis.*, 2012. 59. 197–207.
58. KHOL, J. L. – WASSERTHEURER, M. et al.: Long-term detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in individual and bulk tank milk from a dairy herd with a low prevalence of John's disease. *J. Dairy Sci.*, 2013. 96. 3517–3524.
59. KHOL, J. L. – PINEDO, P. J. et al.: Lymphatic fluid for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cows by PCR, compared to fecal sampling and detection of antibodies in blood and milk. *Vet. Microbiol.*, 2014. 172. 301–308.
60. KLAWONN, W. – DRÄGER, K. et al.: Zur Eignung verschiedener kommerziell erhältlicher ELISA-Systeme für den Antikörpernachweis bei *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*-ausscheidenden Tieren. *Tierärztl. Umschau*, 2001. 56. 648–654.
61. KÖRMENDY, B. – SZILÁGYI, M. – TUBOLY, S. – NAGY, GY.: Some diagnostic features of the pathogenesis of bovine paratuberculosis (John's disease) and serum biochemical changes after oral reinfection. *J. Vet. Med. B*, 1990. 37. 229–235.
62. KRÁLIK, P. – PRIBYLOVA-DZIEDZINSKA, R. et al.: Evidence of passive faecal shedding of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in a Limousin cattle herd. *Vet. J.*, 2014. 201. 91–94.

63. LARSEN, A. B. – MERKAL, R. S. et al.: Age of cattle as related to resistance to infection with *Mycobacterium paratuberculosis*. *Am. J. Vet. Res.*, 1975. 36. 255–257.
64. LAURIN, E. L. – SANCHEZ, J. et al.: Assessment of the relative sensitivity of milk ELISA for detection of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* infectious dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2017. 100. 598–607.
65. LI, L. – WAGNER, B. et al.: Early detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in cattle with multiplex-bead based immunoassays. *PLOS One*, 2017. 12. e0189783.
66. LOMBARD, J.E.: Epidemiology and economics of paratuberculosis. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.*, 2011. 27. 525–535.
67. MAGOMBEDZE, G. – EDA, S. – KOETS, A.: Can immune response mechanisms explain the fecal shedding patterns of cattle infected with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*? *PLOS One*, 2016. 11. e0146844
68. MAGOMBEDZE, G. – SHIRI, T. et al.: Inferring biomarkers for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection and disease progression in cattle using experimental data. *Sci. Rep.*, 2017. 7. 44675.
69. MALVISI, M. – PALAZZO, F. et al.: Responses of bovine innate immunity to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection revealed by changes in gene expression and levels of microRNA. *PLOS One*, 2016. 11. e0164461.
70. MCKENNA, S. L. B. – KEEFE, G. P. et al.: Evaluation of three ELISAs for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* using tissue and fecal culture as comparison standards. *Vet. Microbiol.*, 2005. 110. 105–111.
71. MCKENNA, S. L. B. – RITTER, C. et al.: Comparison of fecal pooling strategies for detection of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in cattle. *J. Dairy Sci.*, 2018. 101. 7463–7470.
72. MOMOTANI, E. – WHIPPLE, D. L. et al.: Role of M cells and macrophages in the entrance of *Mycobacterium paratuberculosis* into domes of ileal Peyer's patches in calves. *Vet. Pathol.* 1988. 25. 131–137.
73. NIELSEN, S. S. – TOFT, N.: A review of prevalences of paratuberculosis in farmed animals in Europe. *Prev. Vet. Med.*, 2009. 88. 1–14.
74. NIELSEN, S. S. – TOFT, N.: Ante mortem diagnosis of paratuberculosis: A review of accuracies of ELISA, interferon- γ assay and faecal culture techniques. *Vet. Microbiol.*, 2008. 129. 217–235.
75. NIELSEN, S. S.: Use of diagnostics for risk-based control of paratuberculosis in dairy herds. *Farm Anim. Pract.*, 2009. 31. 150–154.
76. PARK, H. E. – PARK, H. T. et al.: Gene expression profiles of immune-regulatory genes in whole blood of cattle with a sub-clinical infection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *PLOS One*, 2018. 13. e0196502.
77. PUNATI, R. D. – MALLEPADDI, P. C. et al.: Development and validation of rapid, sensitive and inexpensive protein G-based point of care diagnostic assay for serodiagnosis of paratuberculosis at resource-limited areas. *Curr. Trend. Biotechnol. Pharm.*, 2019. 13. 232–242.
78. RHODE, R. F. – SHULAW, W. P.: Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from the uterine flush fluids of cows with clinical paratuberculosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1990. 197. 1482–1483.
79. RÓNAI Zs. – CSIVINCSIK Á. – SZŐGYÉNYI Zs. – BACSADI Á. – DÁN Á. – JÁNOSI Sz.: Adatok a paratuberculosis hazai előfordulásáról – diagnosztikai fejlesztések és vizsgálati eredmények, 2006–2012. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2015. 137. 211–218.
80. SCHWALM, A. K. – METZGER-BODDIEN, C. et al.: Field study on bovine paratuberculosis using real-time PCR and liquid culture for testing environmental and individual fecal samples implemented in dairy cow management. *J. Dairy Sci.*, 2019. 102. 11260–11267.
81. SCHWALM, A. K. – OBIÉGALA, A. et al.: Enhanced sensitivity and fast turnaround time in laboratory diagnosis for bovine paratuberculosis in fecal samples. *J. Microbiol. Methods*, 2018. 152. 39–47.
82. STABEL, J. R.: Production of gamma-interferon by peripheral blood mononuclear cells: an important diagnostic tool for detection of subclinical paratuberculosis. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1996. 8. 345–350.
83. STABEL, J. R.: Transitions in immune responses to *Mycobacterium paratuberculosis*. *Vet. Microbiol.*, 2000. 77. 465–473.
84. STABEL, J. R.: An improved method for cultivation of *Mycobacterium paratuberculosis* from bovine fecal samples and comparison to three other methods. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1997. 9. 375–80.
85. SWEENEY, R. W. – UZONNA, J. et al.: Tissue predilection sites and effect of dose on *Mycobacterium avium* subs. *paratuberculosis* organism recovery in a short-term bovine experimental oral infection model. *Res. Vet. Sci.*, 2006. 80. 253–259.
86. SWEENEY, R. W. – WHITLOCK, R. H. et al.: Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* after oral inoculation in infected cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 1992. 53. 1312–1314.
87. SWEENEY, R. W. – WHITLOCK, R. H. et al.: Longitudinal study of ELISA seroreactivity to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in infected cattle and culture-negative herd mates. *J. Vet. Diagn.*, 2006. 18. 2–6.
88. SWEENEY, R. W. – WHITLOCK, R. H. et al.: *Mycobacterium paratuberculosis* cultured from milk and supramammary lymph nodes of infected asymptomatic cattle. *J. Clin. Microbiol.*, 1992. 30. 166–171.
89. SWEENEY, R. W.: Pathogenesis of paratuberculosis. *Vet. Clin. Food. Anim.*, 2011. 27. 537–546.
90. SWIFT, B. M. C. – DENTON, E. J. et al.: Development of a rapid phage-based method for the detection of viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in blood within 48 h. *J. Microbiol. Methods.*, 2013. 94. 175–179.
91. SWIFT, B. M. C. – MEADE, N. et al.: The development and use of Actiphage to detect viable mycobacteria from bovine tuberculosis and Johne's disease-infected animals. *Micobial. Biotechnol.*, 2019. 13. 738–746.
92. SWIFT, B. M. C. – REES, C. E. D.: The specificity of phage testing for MAP – where might it fit into the diagnostic armoury? *Livestock*, 2019. 24. 176–179.
93. WHITLOCK, R. H. – WELLS, S. J. et al.: ELISA and fecal culture for paratuberculosis (Johne's disease): Sensitivity and specificity of each method. *Vet. Microbiol.*, 2000. 77. 387–398.
94. WHITLOCK, R. H.: Johne's disease. In: Smith B. P. (ed.) Large animal internal medicine. 4th ed., St Louis (MO), Elsevier. 2009. 881–887.
95. WHITTINGTON, R. J. – DONAT, K. et al.: Control of paratuberculosis: who, why and how. A review of 48 countries. *BMC Vet. Res.*, 2019. 15. 198.
96. WHITTINGTON, R. J. – WINDSOR, P. A.: In utero infection of cattle with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: a critical review and meta-analysis. *Vet. J.*, 2009. 179. 60–69.
97. WINDSOR, P. A. – WHITTINGTON, R. J.: Evidence for age susceptibility of cattle to Johne's disease. *Vet. J.*, 2010. 184. 37–44.
98. WU, C. W. – LIVESY, M. et al.: Invasion and persistence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* during early stages of Johne's disease in calves. *Infect. Immun.*, 2007. 75. 2110–2119.
99. YOU, Q. – VERSCHOOR, C. P. et al.: Proteomic analysis of plasma from Holstein cows testing positive for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2012. 148. 243–251.

Közlésre érck.: 2020. máj. 25.

**Incidence rate of
Coxiella burnetii in
the retention of foetal
membranes in dairy herds**

A. Dobos^{1*}
M. Gyuranecz^{2,3}
M. Albert¹

1. Ceva-Phylaxia Zrt.,
H-1107 Budapest, Szállás u. 5.

*e-mail: attila.dobos@ceva.com

2. Agrártudományi Kutatóközpont,
Állatorvos-tudományi Intézet,
Budapest

3. Állatorvostudományi Egyetem,
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék,
Budapest

A *Coxiella burnetii* előfordulásának aránya a magzatburok-visszatartásban, tejelő szarvasmarha-állományokban

Dobos Attila^{1*}, Gyuranecz Miklós^{2,3}, Albert Mihály¹

ÖSSZEFOGLALÁS

A nyugat-európai adatokkal összehasonlítva, a *Coxiella burnetii* okozta fertőzöttség jelentősebb mértékű a tejelőszarvasmarha-telepeken a közép-kelet európai térségben, a nagyobb telepméret és a folyamatos állománykoncentráció következtében. A szerzők a *C. burnetii* előfordulásának arányát vizsgálták a magzatburok-visszatartásban, 15 tejelő tehenészetben. Magzatburok-visszatartásos állatok placentáiból 72 cotyledon-minta PCR-vizsgálata során 47 esetben (65,2%) lehetett a *C. burnetii* DNS-ét kimutatni. Immunhisztokémiai (IH) vizsgálat 21 PCR-pozitív cotyledonból történt. A kórokozót 12 mintában (57,1%) mutatták ki. Az IH-pozitív cotyledonokban körülírt elváltozások is voltak. A vizsgált mintákban a nagyarányú *C. burnetii* pozitivitás felveti a kórokozó oktani szerepét, de a folyamat kórfejlődésének megértése további vizsgálatokat igényel még.

SUMMARY

Background: Q-fever is zoonotic disease with worldwide distribution. Recent studies found that *Coxiella burnetii* infection is higher in dairy farms of Central and Eastern European countries than in Western European countries, due to the growing number of animals in dairies and farm structures moving towards concentration. Retention of foetal membranes in cattle can lead to adverse health effects that affect reproductive performance and cause economic losses in dairy farms.

Objectives: The aims of the study were to reveal the importance of *C. burnetii* in retention of foetal membranes in dairy cattle and to discover the possible sources of human *C. burnetii* infections in dairy farms.

Materials and methods: Cotyledons were collected between June and December 2019 from 13 Hungarian and 2 Slovakian dairy herds. Real-time polymerase chain reaction assay specific for the IS1111 element was used to detect the presence of *C. burnetii*.

Formalin-fixed, paraffin-embedded cotyledons were stained with haematoxylin and eosin, and pathological changes were detected with light microscopy. Immunohistochemistry (IHC) was used to determine if trophoblast cells were infected in the placenta by *C. burnetii*.

Results and Discussion: *C. burnetii* positivity was found by PCR in 65.2% and by IHC in 57.1% in 72 tested placenta samples, respectively. Necrotic area and foamy trophoblast cells at the edge of the lesion of the cotyledon were detected in the *C. burnetii* infected cells by histopathology and IHC.

The high prevalence and shedding of *C. burnetii* in dairy farms is maybe one of the risk factor which is related to retention of foetal membranes and human infections. Monitoring the herds' infection status and implementations of bio-safety control measures such as systematically collecting and destroying placenta and aborted foetuses can be adopted in a dairy farms in order to prevent the disease, to reduce the spreading of the pathogen and to reduce the environmental and human contamination.

SZARVASMARHA

A Q-láz világszerte előforduló zoonózis, amit 1937-ben írtak le először Ausztráliában vágóhídi munkások között (7). Az ismeretlen oktanú, magas lázzal, influenzaszerű tünetekkel járó járványos megbetegedés kórokozójaként egy Gram-negatív, intracelluláris baktériumot, a *Coxiella burnetii*-t, azonosították. A kórokozó gazdaspektruma széles, számos emlősfaj mellett hüllők, madarak is fogékonyak a kórokozóra, és kullancsokban is megtelepszik (20). A szarvasmarha, a juh és a kecske az elsődleges és legfontosabb rezervoárjai a baktériumnak (3). A kérődzők vízelettel, bélsárral, tejjel és magzatburokkal üríthetik a kórokozót (9). A fertőzött állatok gyakran tünetmentesek, azonban számos szaporodásbiológiai problémát, úgymint a vetélés, a magzatburok-retenció, a méhgyulladás, a korai magzatvesztés is összefüggésbe hozták a *C. burnetii* jelenlétével tejelőszarvasmarha-állományokban (1, 17). A közép-kelet európai térségben sok esetben beszámoltak fertőzött kérődzőhöz, elsősorban kiskérődzőhöz köthető járványos emberi megbetegedésekről (8, 21). Magyarországon, legutóbb 2013-ban, Baranya megyében fordult elő több mint 70 embert érintő Q-lázjárvány (10), sporadikus megbetegedések formájában azonban folyamatosan jelen van, mind humán, mind állati fertőzés formájában. Közép-kelet európai tejelő szarvasmarha-állományokból 2019-ben gyűjtött tanktejminták ELISA- és PCR-vizsgálata során 94,0%, míg Magyarországon 97,62% *C. burnetii* prevalenciát mutattunk ki. A kutatás eredményei alapján az 500 tejelő tehénél több állatot tartó állományokban a *C. burnetii* fertőzöttség 100%-os (6).

A Q-láz világszerte előforduló, magas lázzal, influenzaszerű tünetekkel járó zoonotikus megbetegedés

A betegséget okozó *Coxiella burnetii*-nek a szarvasmarha, a juh és a kecske a legfontosabb rezervoárjai

Vemhes állatok allantochorionjának a trophoblastsejtjei az elsődleges célpontjai a baktériumnak

Felmerül a baktérium szerepe a magzaburok-visszatartásban

A szerzők 13 hazai és 2 szlovákiai állományból gyűjtöttek magzaburokmintákat

Hazánkban, az utóbbi évtizedben megfigyelhető a tejhasznosítású szarvasmarha-állományok nagymértékű koncentrációja. A megnövekedett tehénlétszámmal egy időben, a szaporodásbiológiai problémák előfordulásának gyakorisága is jelentősen emelkedett, amelyek nagymértékben rontják a telepek gazdasági teljesítményét. A magzaburok-visszatartás az egyik vezető ok, amely hátrányosan befolyásolja a későbbi szaporodásbiológiai eredményeket. Abban az esetben beszélünk magzaburok-retencióról, ha a placenta az ellést követően 12–24 órán belül sem távozott el a méhből (18, 19). Kockázati tényezői között számos ok szerepel, de az ellés körüli immunszuppresszív állapot mindenképpen növelheti a magzaburok-visszatartás kockázatát (5). A *C. burnetii* fertőzés nem csak immunszuppresszív hatást gyakorol a szervezetre, hanem a vemhes állatok allantochorionjának a trophoblastsejtjei az elsődleges célpontjai a baktériumnak. A kiskérődzők vetelésének vizsgálata során bebizonyosodott, hogy a *C. burnetii*-vel fertőzött, károsodott trophoblastsejtek szerepet játszhatnak a placenta cotyledonbolyhainak károsodásában. (3). Mivel nem minden esetben jár a fertőzöttség vetéléssel és számos kutatás beszámol arról, hogy PCR-vizsgálattal a *C. burnetii* nem csak a vetélt magzataból, hanem a placentából is kimutatható (11, 15, 17), így érdemesnek tartottuk vizsgálatra azokat a placentákat, amelyek magzaburok-visszatartásból származtak, főként, hogy ennek körfejlődése még nem teljesen ismert. A magzaburok-visszatartás előfordulási aránya az ellések számához viszonyítva nemzetközi viszonylatban 5–10% (16), míg Magyarországon 13,28% a legfrissebb adatok alapján (12).

A magzaburok-visszatartás következtében a méhinvolúció hosszabb ideig tarthat, ezáltal az első termékenyítés eredménye is csökkenhet (2). Ametritis és az endometritis kialakulásának a kockázata is szorosan összefügg a magzaburok-retencióval (4).

ANYAG ÉS MÓDSZER

A magzaburokmintákat 2019 júniusa és decembere között gyűjtöttük 13 magyarországi és 2 szlovákiai nagyüzemi tejelő szarvasmarha-állományból. A 15 telepen a tehénlétszám 700–1200 között volt, a magzaburok-retenció pedig 8–18% közötti előfordulást mutatott. Olyan állatokból származó magzaburokokat vizsgáltunk, ahol az ellés után még 12–24 órával sem távozott el a magzaburok.

**Az ellést követő
12–24 órát
követően távozó
magzatburokmintákon
kórszövettani és PCR-
vizsgálatokat végeztek**

**A kevésbé autolysált,
PCR-pozitív mintákon
immunhisztokémiai
festést is végeztek**

**72 vizsgált
cotyledon-mintából
47-ben *C. burnetii*-t
mutattak ki PCR-rel**

**Kórszövettani
vizsgálattal elhalást,
a trophoblastsejtekben
vakuolizációt, sejt-
leválást, ill. enyhe
gyulladást figyeltek meg**

**IH-vizsgálattal
a baktériumot
12 mintában mutatták ki**

**A *C. burnetii* a
magzatburok-
visszatartásos esetek
jelentős százalékából
kimutatható**

A placentából egy véletlenszerűen kiválasztott cotyledont kimetszettünk és megvizsgáltuk. A minta egyik feléből PCR-, másik feléből pedig kórszövettani vizsgálat történt.

A PCR-vizsgálatokhoz a cotyledonokat 10 ml foszfáttal pufferolt sóoldatban (PBS) homogenizáltuk, majd centrifugálást követően az üledékből a DNS-t a Qiagen DNA Mini kittel (Qiagen Inc., Valencia, USA) vontuk ki a gyártó utasításai szerint. A kórokozó kimutatása céljából a *C. burnetii* genomjának IS1111 régióján alapuló PCR-vizsgálatot végeztünk (13, 14).

Kórszövettani feldolgozást 47 PCR-pozitív cotyledonmintából végeztük. A kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálatokhoz a 8%-os pufferolt formalinban fixált cotyledonmintákat víztelenítést követően paraffinba ágyaztuk. A 4 µm-es metszeteket hematoxilinnal és eozinnel (HE) festettük meg.

Immunhisztokémiai (IH) vizsgálat 21 cotyledonból történt. A PCR-pozitív mintákból azok kerültek IH-vizsgálatra, amelyekben az autolysis legfeljebb csak mérsékelt fokú volt.

IH-vizsgálathoz a metszetek deparaffinálása és rehidrálása után a szöveti peroxidáz blokkolást 3%-os hidrogén-peroxiddal végeztük. Az antigénfeltárás pH 6-os citrátpufferben, hőkezelés mellett történt (Antigen Unmasking Solution, Citric Acid Based / Vector Laboratories Burlingame, CA, USA). A nem specifikus fehérjekötés blokkolása 2,5%-os normál lószérummal (Vector Laboratories, Burlingame) történt. Az anti-*Coxiella burnetii* primer antitesttel (klón: CB2C9; IHU – Méditerranée Infection Marseille; Franciaország) 1 : 1 000 hígításban 2 órán keresztül inkubáltuk a metszeteket szobahőmérsékleten. A peroxidázzal jelölt másodlagos antitesttel kezelt metszeteken (ImmPRESS HRP Reagent Kit; Vector Laboratories), az immunhisztokémiai reakció detektálásához 3-Amino-9-etilkarbazolt használtunk a gyártó utasításai szerint (ImmPact AEC; Vector Laboratories). Negatív kontrollként PCR-vizsgálattal negatívnak bizonyult cotyledonból vett minták szolgáltak. A pozitív kontroll *Coxiella burnetii*-vel fertőzött csirkeembriókból nyert minta volt.

EREDMÉNYEK

A 15 szarvasmarhatelepről 72 cotyledon-minta PCR-vizsgálatára került sor, amelyekből 47 cotyledonban mutattuk ki a *C. burnetii* DNS-t (65,2%). (Táblázat).

A kórszövettani vizsgálatra került méhpogácsák közül 12-ben enyhe, körülírt elhalást, a trophoblastsejtekben kifejezett vakuolizációt, a sejtek leválását, valamint enyhe gyulladást (neutrophil granulocytás infiltrációt) figyeltünk meg (1. ábra). A cotyledonok többsége (30 minta) különböző fokú autolysist, ill. baktériumokkal történt szennyeződést mutatott. Ezeknek a mintáknak a kórszövettani értékelése nem volt lehetséges.

IH-vizsgálattal a cotyledonok elhalt területein, valamint a vakuolizált trophoblastok citoplazmájában a *C. burnetii* kisebb-nagyobb csoportokban kimutatható volt. (2. ábra) A *C. burnetii* baktériumot 12 mintában mutattuk ki (57,1%). Négy minta megítélhetősége bizonytalan volt, mivel az autolysis következtében szétesett sejtek és a környezeti baktériumos szennyeződés miatt a *C. burnetii* jelenlétét nem lehetett egyértelműen elbírálni. Ezekben a mintákban aspecifikus festődés mutatkozott, emiatt ezeket negatívnak minősítettük. A PCR-pozitív cotyledonok közül IH-val további 5 minta negatív volt.

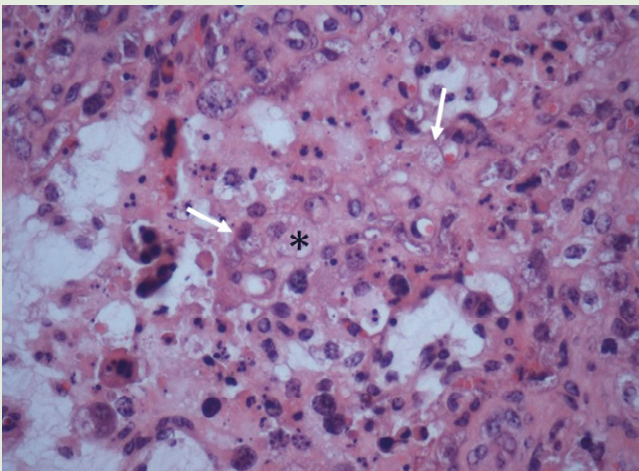
MEGVITATÁS

A *C. burnetii* fertőzöttség és a magzatburok-retenció közötti lehetséges kapcsolatról napjainkig vizsgálatokról még nem számoltak be. A PCR- és IH-vizsgálataink alátámasztották azt, hogy a *C. burnetii* a magzatburok-visszatartásos esetek jelentős százalékából kimutatható. Mivel a nagylétszámú, koncentrált tejelő állományokban a kórokozó folyamatosan jelen van, nagy a valószínűsége annak, hogy *C. burnetii* távozzon a méhvuladékkal kontaminálva nemcsak a környezetet, hanem azokat a dolgozókat (állatorvos, inszeminátor, állatgondozó) is, akik közvetlenül érintkezhetnek

TÁBLÁZAT. Cotyledon-minták real-time PCR-vizsgálatának eredménye

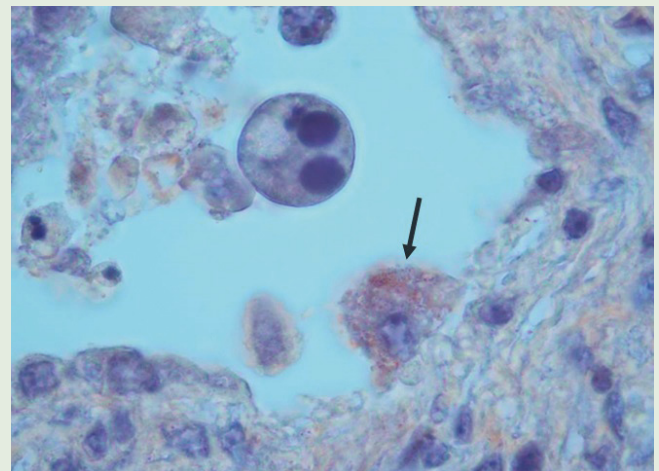
TABLE. Real-time PCR results of cotyledon samples

Farm	Cotyledon-minta szám (db)	PCR-pozitív minta (db)	PCR-negatív minta (db)
1	2	1	1
2	10	9	1
3	13	6	7
4	3	2	1
5	1	1	0
6	9	8	1
7	2	2	0
8	2	2	0
9	5	3	2
10	6	4	2
11	1	1	0
12	1	1	0
13	3	2	1
14	6	2	4
15	8	3	5
Összesen	72	47	25



1. ÁBRA. Körülírt sejtd degeneráció a cotyledonban (csillag)
Az elváltozás széli részén habos citoplazmájú (*Coxiella burnetii*-t tartalmazó) trophoblastok (nyilak)
H.-E., 450×

FIGURE 1. Circumscribe cellular degeneration in the cotyledon (star)
Foamy trophoblast cells at the edge of the lesion (*Coxiella burnetii* infected cells) (arrows)



2. ÁBRA. Immunhisztokémiai vizsgálattal kimutatott *Coxiella burnetii* baktériumok a trophoblastsejtek citoplazmájában (nyilak)
IH, 450×

FIGURE 2. *Coxiella burnetii* infected trophoblast in the cotyledon (arrows)

**A kórokozó
esetleges szerepének
tisztázásához további
kutatásokra van
szükség**

a magzatburokkal, ezáltal kiteve őket a Q-láz fertőzés kockázatának. A talált nagymértékű (65,2%) *C. burnetii* PCR-pozitivitás a magzatburok-visszatartás során, ill. az IH-vizsgálatok alapján talált baktériumjelenlét a cotyledonokban felveti a kórokozó szerepét a magzatburok-retenció kialakulásában, de a folyamat teljes megértéséhez további kutatásokra van szükség. A szarvasmarhatelepeken a magzatburok kezelésére, megsemmisítésére fokozott hangsúlyt kell fektetni. A coxiella-fertőzött telepeken a cotyledonok PCR-vizsgálatával monitorozni kell az állatokból eltávozott magzatburokokat a fertőzöttség alakulásának nyomon követése céljából. A telepen előforduló vetélések során a vetélt magzatokból és magzatburokukból *C. burnetii*-re vonatkozó vizsgálatokat is kell kérni. Az Európai Élelmiszer-biztonsági Hatóság ajánlásának megfelelően, a kórokozó őrítésének csökkentése céljából javasolt az állományok évenkénti teljes körű vakcinázása Phase 1 típusú vakcinával (21).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kórszövetteni minták technikai feldolgozásáért KOLONICSNÉ TIRBUSZ TIMEÁNAK szeretnének köszönetet mondani a szerzők. GYURANECZ MIKLÓST az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíja és az Innovációs és Technológiai Minisztériuma Új Nemzeti Kiválóság Programjának Bolyai+ Felsőoktatási Fiatal Oktatói, Kutatói Ösztöndíja (ÚNKP-19-4-ÁTE-1) támogatták.

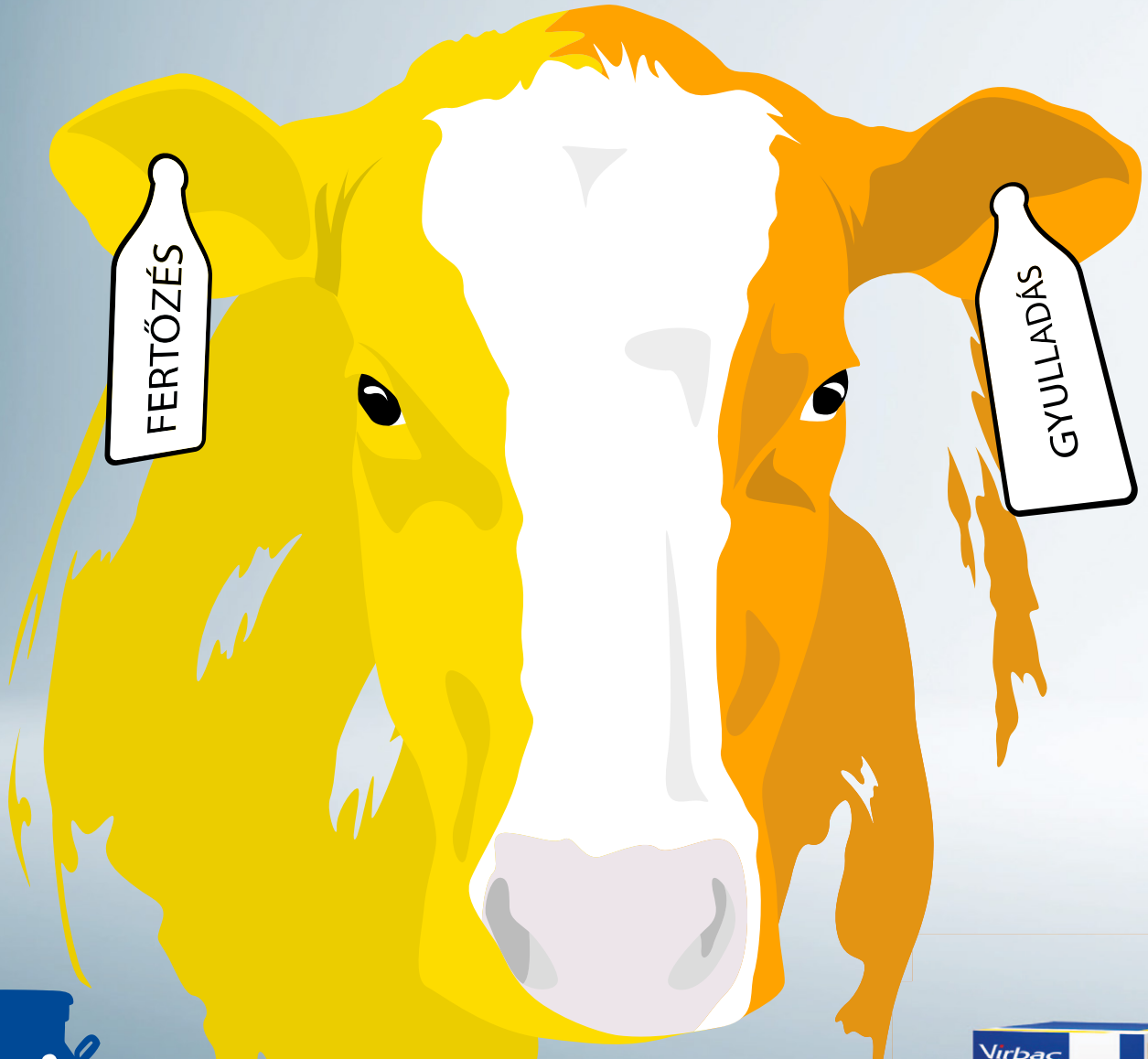
IRODALOM

1. AGERHOLM, J. S.: *Coxiella burnetii* associated reproductive disorders in domestic animals- critical review. *A cta Vet. Scand.*, 2013. 55. 13.
2. BEAGLEY, J. – WHITMAN, K. et al.: Physiology and Treatment of Retained Fetal Membranes in Cattle. *J. Vet. Intern. Med.*, 2010. 24. 261–268.
3. BROM, R. – VAN DEN ENGELN, E. et al.: *Coxiella burnetii* infections in sheep or goats: an opinionated review. *Vet. Microbiol.*, 2015. 181. 119–129.
4. BRUUN, A. – ERSBLL, J. – ALBAN, L.: Risk factors for metritis in Danish dairy cows. *Prev. Vet. Med.*, 2002. 54. 179–190.
5. COOPER, R. L.: Retained foetal membranes in cattle: The knowns and unknowns. *Cattle Pract.*, 2014. 22. 17–25.
6. DOBOS, A. – GYURANECZ, M. – KOVÁCS, Á. B. – KREIZINGER, Zs.: Prevalence of *Coxiella burnetii* in Central and Eastern European dairy herds. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2020. 72. 101489.
7. ELDIN, C. – MÉLENOTTE, C. et al.: From Q fever to *Coxiella burnetii* infection: a paradigm change. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2017. 30. 115–190.
8. GRILC, E. – SOCAN, M. et al.: Outbreak of Q fever among a group of high school students in Slovenia, March–April, 2007. *Euro Surveill.*, 2007. 12(7):E0707191.
9. GUATTEO, R. – SEEGER, H. et al.: Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants: a critical review. *Vet. Microbiol.*, 2011. 149. 1–16.
10. GYURANECZ, M. – SÜLYOK, K. M. – BALLA, E. – MAG, T. – BALAZS, A. – SIMOR, Z. – DENES, B. – HORNOK, S. – BAJNOCZI, P. – HORNSTRA, H. M. – PEARSON, T. – KEIM, P. – DAN, A.: Q fever epidemic in Hungary, April to July 2013. *Euro Surveill.*, 2014. 19. 20863.
11. JONES, R. M. – TWOMEY, D. F. et al.: Detection of *Coxiella burnetii* in placenta and abortion samples from British ruminants using real-time PCR. *Vet. Rec.*, 2010. 167. 956–967.
12. KERN L. – FODOR I. – BALOGH G. – ÓZSVÁRI L. – GÁBOR Gy.: A magzatburok-visszamaradás és a méhgyulladások hatása egyes szaporodási mutatókra, és az általuk okozott gazdasági veszteség hazai nagy létszámú tejelő tehenészetekben. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2018. 140. 717–726.
13. KREIZINGER, Zs. – SZEREDI, L. – BACSADI, Á. – NEMES, Cs. – SUGÁR, L. – VARGA, T. – SÜLYOK, K. M. – SZIGETI, A. – ÁCS, K. – TÓBIÁS, E. – BOREL, N. – GYURANECZ, M.: Occurrence of *Coxiella burnetii* and *Chlamydiales* species in abortions of domestic ruminants and in wild ruminants in Hungary, Central Europe. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2015. 27. 206–221.
14. LOFTIS, A. D. – REEVES, W. K. et al.: Rickettsial agents in Egyptian ticks collected from domestic animals. *Exp. Appl. A carol.*, 2006. 40. 67–81.
15. MYERS, E. – EHRHART, E. J. et al.: A poxvirus in normal and *Coxiella burnetii*-infected placentas from a laskan northern fur seals. *Vet. Pathol.*, 2013. 50. 622–625.
16. PATEL, R. V. – PARMAR, S. C.: Retention of Fetal Membranes and its Clinical Perspective in Bovines. *Sch. J. Agric. Vet. Sci.*, 2016. 3. 111–116.
17. RAHAL, M. – TAHIR, D. et al.: Genotyping of *Coxiella burnetii* Detected in placental tissues from aborted dairy cattle in the north of Algeria. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2018. 57. 50–54.
18. STEVENS, R. D. – DINSMORE, R. P.: Treatment of dairy cows at parturition with prostaglandin F₂ or oxytocin for prevention of retained fetal membranes. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1997. 21. 1280–1284.
19. WERVEN, VAN T. – SCHUKKEN, Y. H. et al.: The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate. *Theriogenology*, 1992. 37. 1191–1203.
20. WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE): Manual of Diagnostic, Q fever 2010.
21. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, Scientific Opinion on Q fever, *EFSA Journal*, 2010. 8. 1595.

Közlésre érke.: 2020. jún. 17.

Curacef® DUO

CEFTIOFUR 50 mg/ml + KETOPROFEN 150 mg/ml



Ahol van fertőzés, ott van gyulladás is.

*MINDKETTŐT KEZELI
& FENNTARTJA A TERMELÉST*

Egyedülálló antibiotikum és nem szteroid gyulladáscsökkentő kombináció tejelő tehenek és tehenészetek számára.

- ☉ Az állatok számára: gyorsabb gyógyulás, kevesebb fájdalom, magasabb szintű állati jólét.
- ☉ Az állatorvos számára: magasabb biológiai hasznosulás a fenntarthatóbb antibiotikum gyógykezeléshez.
- ☉ Az állattartók számára: gyors gyógykezelés és a termelés mielőbbi visszaállítása.



Virbac

Shaping the future of animal health

www.virbac.hu Telefon: 06-70-3387178,-79,-77

Retrospective evaluation of the results of embryo transfer, or insemination with sexed and traditional semen in heifers at an American Holstein-Friesian dairy farm

V. Ujvári¹
D. Niles²
A. Dinnyés³
K. Nagy⁴
O. Szenci^{4,5*}

1. NAIK ÁTHK Haszonállat Embriológiai és Génmegőrzési Kutatócsoport H-2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.

2. Dairy Dreams, LLC, Casco, WI, USA

3. Szent István Egyetem, Molekuláris Állatbiotechnológiai Laboratórium, Gödöllő

4. MTA-SZIE Nagyállatklinikai Kutatócsoport, Üllő

*e-mail: Szenci.Otto@univet.hu

5. Állatorvostudományi Egyetem, Haszonállat-gyógyászati Klinika, Üllő

SZARVASMARHA

Embrióbeültetéssel, ill. szexált és hagyományos spermával termékenyített üszők vemhesülési eredményeinek retrospektív értékelése egy amerikai holstein-fríz tehenészetben

Ujvári Vera¹, Niles Donald², Dinnyés András³, Nagy Krisztina⁴, Szenci Ottó^{4,5*}

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők retrospektív felmérésüket egy wisconsin-i nagyüzemi holstein-fríz tehenészetben 2017-ben megellett 1475 üsző bevonásával végezték, amelyből 406 egyed normál fagyasztott spermával, 416-ot szexált spermával és 653-at embrióbeültetéssel vemhesítettek. Elemezték az üszők vemhességének időtartamát, borjajaik születéskori testtömegét, választási tömegét, a szülészeti segélynyújtások arányát, a borjak ivarát, a vetéléseket, a halvaszületéseket, és a választott borjak számát. A kapott eredmények bizonyítják, hogy mindhárom technológia szakszerű felhasználásával, valamint megfelelő kombinációjukkal kiemelkedő eredmények érhetők el.

SUMMARY

Background: Assisted reproduction techniques (ART) like using frozen or sexed semen for artificial insemination and embryo transfer are getting to be widespread.

Objectives: The objective of our study was to evaluate the practical results of embryo transfer and artificial insemination with normal frozen and sexed semen.

Materials and methods: A retrospective survey was conducted at a large-scale Holstein-Friesian dairy farm in Wisconsin in 2017 involving 1,475 heifer calvings, of which inseminated with normal frozen (CON-MT) and sexed semen (SEX-MT), and mated with embryo transfer (EMB). Gestation length, birth weight, weaning weight, calving difficulty, sex ratios, abortion, stillbirth, and neonatal death rates were compared.

Results and discussion: Gestation length was 276.5 days in the CON-MT, 275.3 days in the EMB, and 273.8 days in the SEX-MT group. Male calves had one day longer gestation length than female ones. Sexed semen yielded 88.1% heifers, compared with 51.8% for embryo transfer and 47.3% for conventional semen. Dystocia was 17.6% in the EMB, 9.4% in the CON-MT, and only 4.3% in the SEX-MT group. Stillbirth rate was low in all cases: 4.8% in the EMB, 1.0% in the CON-MT, and 0.7% in the SEX-MT group. Birth weight was higher with 2.3 kg in the EMB than that in the CON-MT group, and 3.3 kg heavier than that in the SEX-MT group. Male calves were on average heavier with 2.8 kg than female calves, but there were no significant differences between them. Female calves in the EMB group were heavier with 1.7 kg than those in the CON-MT group and heavier with 2.1 kg than in the SEX-MT group. The abortion rate was the highest (4.4%) in EMB, and it was only 1% in CON-MT and 0.7% in the SEX-MT group.

These results show that using assisted reproductive techniques in combination on the dairy farm can be an effective way to reach outstanding breeding efficiency. However, the relatively high abortion rate, stillbirth rate, birth weight, and calving difficulties require further studies to evaluate factors influencing these parameters and the means for additional improvements.

A termékenyülés létrejöttét elősegítő asszisztált reprodukciós technikák (ART) a szarvasmarha-tenyésztésben különösen nagy fejlődésen estek át az elmúlt fél évszázadban (5). A mesterséges termékenyítés kiegészült a sperma mélyhűtésével és szexálásával, széles körben elterjedtek a különböző hormonok adására alapozott ivarzás- és ovulációsinkronizálási módszerek, valamint az embrióátültetési technológiák (vértelen embriógyűjtés, embrióbeültetés, embriómélyhűtés) gyakorlati felhasználása. Ezek az eljárások növelték a hatékonyságot, csökkentették a költségeket, és mind a tej-, mind a húshasznú állományokban elterjedtté váltak (6).

A különböző ART-módszerek jelentős fejlődésen estek át a szarvasmarha-tenyésztésben

A szerzők az embrió-beültetés, a szexált sperma és a normál fagyasztott sperma használatát hasonlították össze

A retrospektív felmérést egy wisconsin-i nagyüzemi, 2800 egyedtel számláló tejelő tehenészetben végezték

Az *in vitro* embrió-előállítás technológiája azonban számos előnye mellett kérődzők esetében napjainkban is magában hordozza a Large Offspring Syndrome (LOS) kialakulásának lehetőségét, amely többek között nagyobb születéskori testtömeget, nagyobb arányú embrionális és perinatális mortalitást, valamint nehézellést eredményez (7, 16, 24). Ezáltal az *in vitro* embrió-előállítási módszer hatékonysága csökken, ugyanakkor az említett, preimplantációs fejlődés során kialakuló epigenetikai rendellenesség a mai tenyésztőmédiumok használatával minimalizálható (23).

Vizsgálatunk célja az ART-módszerek, elsősorban az embrióbeültetés gyakorlati eredményeinek értékelése volt, összehasonlítva a normál fagyasztott spermával és a szexált spermával történő mesterséges termékenyítés eredményeivel.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A retrospektív felmérésünket egy wisconsin-i nagyüzemi, 2800 egyedtel számláló tejelő tehenészetben 2017-ben megellett holstein-fríz üszők bevonásával végeztük ($n = 1475$). Az állományból 416 egyedtel szexált spermával (SEX-MT: Alta Genetics Inc., Watertown, WI, USA) termékenyítették, 653-nál embrióbeültetést végeztek (EMB: IVF-embrió, Alta Genetics Inc.), míg azokat az állatokat ($n = 406$), amelyek harmadik termékenyítés után sem vemhesültek normál, fagyasztott spermával (CON-MT: Alta Genetics Inc.) inszeminálták. Az üszőket a következő protokoll segítségével 13 hónapos koruktól kezdték tenyésztésbe venni és az első és két alkalommal többségében embrióbeültetést és szexált spermával való termékenyítést végeztek (1. táblázat).

1. TÁBLÁZAT. Üszők asszisztált reprodukciós protokollja az amerikai tehenészetben

TABLE 1. Protocols for assisted reproductive techniques of heifers in the American dairy farm

EMB	0. nap (day)		5. nap (day)		11. nap (day)		
	CIDR behelyezése		CIDR eltávolítása		Embrió beültetése, ha sárgatest jelen volt / Embryo transfer if there was a corpus luteum		
			+PGF _{2α}		+ 2000 NE hCG		
SEX-MT és KON-MT	0. nap	Ivarzók keresése / Detection of oestrus	14. nap	Ivarzók keresése / Detection of oestrus	28. nap	33. nap	36. nap
	PGF _{2α}	MT	PGF _{2α}	MT	CIDR behelyezése (0. nap)	CIDR eltávolítása (5. nap)	Fix idejű MT / Fixed time AI (8. nap)
					+GnRH	+PGF _{2α}	

EMB: embrióbeültetés / embryo transfer, SEX-MT: szexált sperma / AI with sexed semen, KON-MT: kontroll csoport MT / Control group: AI with frozen semen

CIDR (Crestar), hCG (Chorulon), GnRH (Fertagyl), PGF_{2α} (Estrumate): Merck Animal Health, Madison, NY, USA.

A telepi menedzsmentből adódóan a vemhesüléskori életkor az EMB (13,5 hónap) és a SEX-MT (13,1 hónap) csoportokban közel azonos, míg a CON-MT csoportban 16,4 hónap volt. A vemhesülések aránya is ebből adódóan alakult (2. táblázat).

2. TÁBLÁZAT. Vemhesülési százalékok a termékenyítések száma szerinti megoszlása

TABLE 2. Distribution of pregnancy rates by inseminations (I)

Vemhesítés módja / Method of pregnancy	1. termékenyítés / I	2. termékenyítés / I	3. termékenyítés / I	≥4. termékenyítés / I
EMB	58,7%	30,6%	10,7%	-
SEX-MT	61,8%	28,8%	9,4%	-
CON-MT	4,2%	9,6%	24,4%	61,8%

Mindhárom csoportban vizsgálták:

- az üszők vemhesülési életkorát,
- a vemhesség időtartamát,
- a vemhesség alatti kieséseket,
- a borjak születéskori, ill. választáskori testtömegét,
- a szülészeti segélynyújtások arányát,
- a borjak ivarát,
- a halvaszületéseket és
- a borjak elhullásának arányát

A kapott adatokat statisztikai próbákkal elemezték

Elsőként az üszők vemhesülési életkorát, a vemhesség időtartamát, a vemhesség alatti kieséseket, a borjak születéskori, ill. választáskori testtömegét elemeztük normál fagyasztott spermával, szexált spermával és embrióbeültetéssel vemhesített üszőcsoportok esetén.

Vizsgáltuk továbbá a szülészeti segélynyújtások arányát, a borjak ivarát, a halvaszületéseket, a borjak elhullásának arányát, és figyelembe vettük azt is, hogy a született borjakat a gazdaság megtartotta vagy eladta.

A segélynyújtásokat a következők szerint osztályoztuk: 1: segélynyújtás nélküli ellés, 2: ellési segélynyújtással (egy személy), 3: ellési segélynyújtással (több személy); 4: császármetszés.

A kísérlet során kapott adatok elemzéséhez az R 3.4.3 statisztikai szoftvert használtuk (R Development Core Team, Vienna, Austria), $p < 0,05$ szignifikancia szinttel. Diagramon történő megjelenítésük a Microsoft Excel 2006 program (Microsoft Corporation, Washington, USA) segítségével történt.

Folytonos változók esetén (pl. vemhesüléskori életkor, vemhesség időtartama, a borjú születéskori testtömege és választáskori testtömege) a csoportok közötti különbségek teszteléséhez általános lineáris modellt használtunk. A magyarázó változók a termékenyítés módjai (CON-MT: normál fagyasztott spermával, SEX-MT: szexált spermával, emb: embrióbeültetéssel), ill. a született borjú ivara (üsző, bika) volt; a kimeneti változók pedig a vemhesüléskori életkor, a vemhesség időtartama, a borjú születési és választáskori testtömege voltak. Többszörös összehasonlításhoz a Tukey–Kramer-féle korrekciót alkalmaztuk.

Kategoriális skálán mért változók esetén (pl. hányadik termékenyítésre vemhesül, ellés nehézsége, a borjú ivara, halvaszületés, a borjú elhullása, a borjú megtartása vagy eladása) a csoportok közötti különbségek értékeléséhez relatív esélyhányados módszert használtuk (az R epitools csomag segítségével). Az esély (odds) egy esemény (pl. üszőborjú születése) bekövetkezésének valószínűsége, ill. a be nem következés (pl. nem üszőborjú, hanem bikaborjú születik) valószínűségének hányadosa. Az esélyhányados (odds ratio) két esély aránya (pl. EMB és CON-MT csoportokban előforduló üszőborjú-születés esélyének összehasonlítása bikaborjú születéséhez képest).

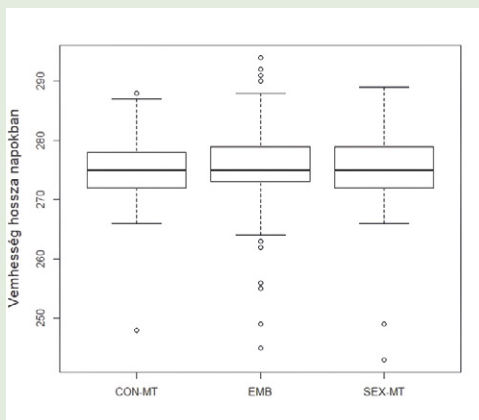
Az adatok közül $n = 107$ egyed törlésre került, mivel vásárlás miatt a termékenyítés módja nem volt ismeretes ($n = 99$), ill. nyolc ikerellés miatt.

Az eredmények statisztikai értékelése során tehát 1475 egyedet vizsgáltunk; a CON-MT, az EMB és a SEX-MT csoportokba 406, 653 és 416 üsző került.

A vemhesség időtartama mindhárom csoport esetében szignifikáns különbséget mutatott

EREDMÉNYEK

A vemhesség időtartama mindhárom csoport esetében szignifikáns ($p < 0,001$) különbséget mutatott: a SEX-MT csoportban 273,8 nap, az EMB csoportban 275,3 nap, míg a CON-MT csoportban 276,5 nap volt (1. ábra), bár a különbségek nem voltak számottevőek. Bikaborjak esetében átlagosan 1 nappal volt hosszabb a vemhesség időtartama.



1. ÁBRA. A vemhesség időtartama a vizsgált csoportokban

FIGURE 1. Gestation length in the studied groups

3. TÁBLÁZAT. Ellések lefolyása a vizsgált csoportokban

TABLE 3. Calving difficulties in the studied groups

Vemhesítés módja/ Method of pregnancy	Segélynyújtás nélküli ellés/Eutocia (Kategória/Category 1)	Nehézellés/Dystocia (Kategória/Category >1)	Halvaszületés/Stillbirth (%)
EMB	82,4%	17,6%	4,8
SEX-MT	95,7%	4,3%	0,7
CON-MT	90,6%	9,4%	1,0

A nehézellések aránya az EMB-csoportban 17,6%, a CON-MT csoportban 9,4%, míg a SEX-MT csoportban 4,3% volt

A nehézellések aránya szintén szignifikáns ($p = 0,05$) különbséget mutatott a vizsgált csoportokban: az EMB-csoportban 17,6%, a CON-MT csoportban 9,4%, míg a SEX-MT csoportban 4,3% volt (3. táblázat). A nehézellés esélye az EMB csoportban 4,7-szer gyakoribb volt, mint a SEX-MT csoportban és 2,1-szer gyakoribb volt, mint a CON-MT csoportban ($p < 0,001$ mindkét esetben).

A halvaszületések aránya az EMB csoportban 4,8%, a CON-MT csoportban 1,0%, a SEX-MT csoportban pedig 0,7% volt (3. táblázat). Az EMB csoportban ennek megfelelően 4,9-szer volt nagyobb a halvaszületés esélye, mint a CON-MT, és 6,6-szor, mint a SEX-MT csoportban (a relatív esélyhányados $p < 0,001$ volt mindkét esetben).

Az 1475 vemhességből 1439 borjú született meg (97,6%). Az üszőborjak aránya a CON-MT csoport esetében 47,3%, az EMB csoportban 51,8%, míg a SEX-MT csoportban 88,1% volt. A szexált spermával vemhesített állatok 8,3-szor nagyobb eséllyel ellettek üsző borjakat, mint a normál, fagyasztott spermával termékenyítettek és 6,9-szer nagyobb eséllyel, mint az embrióbeültetéssel termékenyítettek (relatív esélyhányados: $p < 0,01$).

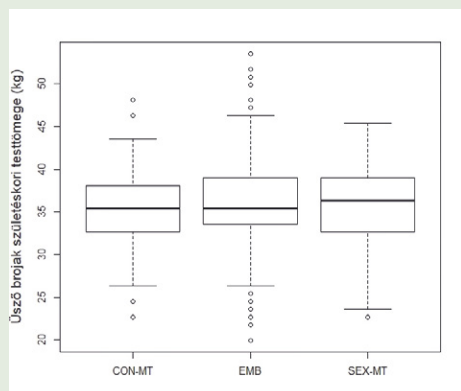
A születéskori testtömeg, a megtartott állatok esetében ($n = 1163$) az EMB csoportban szignifikánsan, 2,3 kg-mal volt nagyobb, mint a CON-MT, és 3,3 kg-mal, mint a SEX-MT csoport borjainál ($p < 0,001$ mindkét esetben). A bikaborjak átlagosan 2,8 kg-mal nagyobb testtömeggel születtek, mint az üszőborjak ($p = 0,001$), de a bikaborjak születéskori testtömege az egyes csoportok között nem mutatott jelentős különbséget ($p = 0,065$). Az EMB csoport üszőborjai 1,7 kg-mal születtek nagyobb testtömeggel, mint a CON-MT, és 2,1 kg-mal, mint a SEX-MT csoport nőivarú utódai ($p < 0,001$ mindkét esetben) (2. ábra).

Az EMB csoportban a születéskori testtömeg szignifikánsan nagyobb volt a többi csoporthoz képest

A vetélések aránya az EMB csoportban (4,4%) volt a legnagyobb

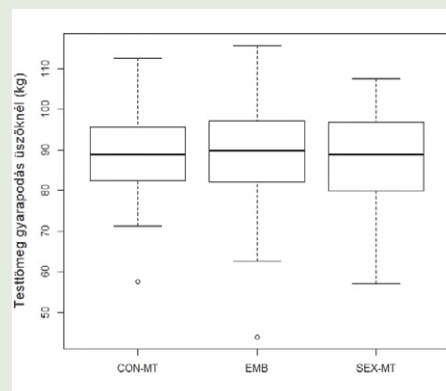
A vetélések aránya az EMB csoportban (4,4%) volt a legnagyobb. A CON-MT csoportban 1%, míg a SEX-MT csoportban 0,7% volt (4. táblázat). Az embrióbeültetéssel termékenyített üszők borjai 13,9-szer nagyobb eséllyel nem élték meg a választási kort, mint a CON-MT csoport, és 16,7-szer nagyobb eséllyel, mint a SEX-MT csoport borjai (a relatív esélyhányados $p < 0,001$ volt mindkét esetben). Az EMB csoportban a választásig történt borjúelhullások érdekessége, hogy közülük 86 bika- és csak 1 üszőborjú volt.

A vizsgált csoportok születés kori testtömegében (2. ábra) mért különbség a választás kori testtömeg esetén már nem volt szignifikáns (3. ábra).



2. ÁBRA. Üszőborjak születés kori testtömege a vizsgált csoportokban

FIGURE 2. Birth weight of female calves in the studied groups



3. ÁBRA. Üszőborjak választás kori testtömege a vizsgált csoportokban

FIGURE 3. Weaning weight of female calves in the studied groups

4. TÁBLÁZAT. A veszteségek alakulása a vizsgált csoportokban

TABLE 4. Evolution of losses in the studied groups

Vemhesítés módja / Method of pregnancy	Vetélés / Abortion	Választásig elhullott borjak / Calf losses until weaning
EMB	4,4%	0%
SEX-MT	0,7%	13,3%
CON-MT	1,0%	0%

MEGVITATÁS

Retrospektív felmérésünkbe a normál, fagyasztott spermával és szexált spermával, valamint embrióbeültetéssel vemhesített és 2017-ben megellett holstein-fríz üszőket vontuk be.

A vemhesség időtartama mindhárom csoport esetében szignifikáns különbséget mutatott, azonban minden esetben a normál vemhességi időn belül alakult (> 260 nap); a CON-MT és az EMB csoport átlaga az optimális intervallumon belül alakult (275–277 nap) (19): a CON-MT csoportban 276,5, az EMB csoportban 275,3, a SEX-MT csoportban pedig 273,8 nap volt a vemhesség időtartama. Bikaborjak esetében azonban – a szakirodalmi adatokat (8, 15, 19) alátámasztva – átlagosan 1 nappal hosszabb volt a vemhesség. Ezek szerint, egy korábbi tanulmánnyal (14) megegyezően, az állatok vemhességi idejét a termékenyítés módja csak elhanyagolható mértékben befolyásolja.

A nehézellések aránya az EMB csoportban 17,6%, a CON-MT csoportban 9,4%, a SEX-MT csoportban pedig mindössze 4,3% volt. A szakirodalmi adatokhoz (11, 12) képest, tekintettel arra, hogy a vizsgálatot üszőkön végezték, az EMB csoport eredménye elfogadhatónak, míg a CON-MT és a SEX-MT csoport aránya kiemelkedően jónak tekinthető.

A halvaszületések száma a hazai (2, 21) és a nemzetközi szakirodalmi adatokhoz (4, 11, 12) képest jelentősen kisebb volt: az EMB csoportban 4,8%, a CON-MT csoportban 1,0%, a SEX-MT csoportban pedig mindössze 0,7%, cáfolva ezzel a korábbi tanulmányokban ismertetett növekvő tendenciát. A legtöbb vizsgálattal ellentétben üszőborjak ($n = 20$) esetén a bikaborjakhoz ($n = 17$) viszonyítva nagyobb volt a halvaszületések száma.

A nehézellések számával összefüggésben (25) a születéskori testtömeg is az EMB csoportban volt a legnagyobb (a gazdaság által megtartott állatok esetében): 2,3 kg-mal több, mint a CON-MT, és 3,3 kg-mal, mint a SEX-MT csoport borjainál. A hazai (3, 22) és a nemzetközi szakirodalmi adatokkal (9, 13) egyezően a bikaborjak nagyobb testtömeeggel születtek, mint az üszőborjak, átlagosan 2,8 kg-mal, azonban a különböző csoportokban a bikák születéskori tömege nem mutatott jelentős különbséget. Az EMB csoport üszőborjai 1,7 kg-mal születtek nagyobb testtömeeggel, mint a CON-MT, és 2,1 kg-mal, mint a SEX-MT csoport nőivarú utódai. Ez a különbség választáskori testtömegnél már nem volt szignifikáns, ez azonban részben adódhat az EMB csoport borjainak nagyobb elhullási arányából is.

A szakirodalmi adatok szerint a szexált spermával vemhesített üszők 82–90%-ban ellenek nőivarú utódot, szemben a normál, fagyasztott spermával termékenyített állatokkal, amelyeknél ez az arány kb. 48% (1, 10). A vizsgálatunkban kapott értékek megfeleltek ezeknek az adatoknak: a SEX-MT csoportban 88,1% volt az üszőborjak aránya, míg az EMB csoportban 51,8%, a CON-MT csoportban pedig 47,3%.

A vetélések aránya az EMB csoport egyedei között viszonylag nagy volt (4,4%) a CON-MT (1%) és a SEX-MT (0,7%) csoportokhoz képest, mint ahogyan annak átlagát korábbi tanulmányok (17, 18, 20) kimutatták. Mindezen adatok tehát a mesterséges termékenyítés technológiájának fejlődéséről számolnak be.

A kapott eredmények azt bizonyítják, hogy mind az embrióbeültetés, mind a mesterséges termékenyítés technológiája jelentős fejlődésen esett át az elmúlt évtizedekben, és szakszerű felhasználással, valamint a technikák megfelelő kombinációjával kiemelkedő eredmények érhetők el; ugyanakkor tökéletesítésük még nem ért véget. A LOS előfordulásának elkerülése, így az embrionális és perinatális elhullási arány csökkentése, a születéskori testtömeg, ezáltal a nehézellések számának mérséklése további vizsgálatokat igényel, amelyek magukban foglalják majd a rendellenesség hátterében álló epigenetikai módosulások kialakulásának feltérképezését, ill. az azokat kiváltó okok megszüntetését is. Ennek elérése érdekében a cél egy olyan embrió-előállítási rendszer fejlesztése, amely optimális környezetet biztosít mind az ivarsejtek, mind az osztódó embrió számára.

Fontos továbbá megjegyezni, hogy ahogyan egy adott tulajdonságot, az eljárások hatékonyságát is számos tényező határozza meg, így az eredmények értékelése során mindössze hozzávetőleges értékeket kaphatunk. A minél pontosabb információk, így az ART-módszerek hatékony fejlesztésének érdekében javasolt olyan vizsgálatok elvégzése is, amelyek kiterjednek többek között az apaállatok utódaikra gyakorolt hatására és a spermaminőségre is.

Az embrióbeültetés és a mesterséges termékenyítési technikák használatával is kiemelkedő eredmények érhetők el

IRODALOM

1. ANDERSSON, M. – TAPONEN, J. et al.: Pregnancy rates in lactating Holstein-Friesian cows after artificial insemination with sexed sperm. *Reprod. Domest. Anim.*, 2006. 41. 95–97.
2. BÁDER E. – KOVÁCS A. – SZABÓ-ARI K. – BAJCSY Á. Cs. – MÁDL I. – TAKÁCS L. – SZENCI O.: Halvaszületések előfordulása egy hazai nagyüzemi holstein-fríz állományban. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2009. 131. 131–136.
3. BAJCSY Á. Cs. – HALLMAN J. – KLIÉ Zs. – BARTYIK J.: Az ellés lefo-lyásának hatása tejhasznú tehenek egyes szaporodásbiológiai mutatóinak alakulására. *Proceedings, Magyar Buiatrikus Társaság 23. Nemzetközi Kongresszusa, Siófok*, 2013. 113–114.
4. BERGER, P. J. – MEYER, C. L.: Perinatal mortality in Holsteins. *Iowa State University, Digital Press, Animal Industry Report 2004*. AS 650, ASL R1898. DOI: https://doi.org/10.31274/ans_air-180814-783.
5. CSEH S. – DOHY J.: Asszisztált reprodukciós technikák (ART) a hazai állattenyésztési gyakorlatban. Történeti áttekintés. *Állatteny. Tak.*, 2003. 52. 3–15.
6. FABER, D. C. – FERRÉ, L. B.: Advancements in reproductive technology in cattle. *Beef Improvement Federation 36th Annual Meeting, Sioux Falls, SD.*, 2004. 5. 25–28.
7. FARIN, C. E. – FARMER, W. T. – FARIN, P. W.: Pregnancy recognition and abnormal offspring syndrome in cattle. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2010. 22. 75–87.
8. FOOTE, R. H.: Factors affecting gestation length in dairy cattle. *Theriogenology*, 1981. 15. 553–559.
9. GIANOLA, D. – TYLER, W. J.: Influences on birth weight and gestation period of Holstein-Friesian cattle. *J. Dairy Sci.*, 2004. 57. 235–240.
10. HEALY, A. A. – HOUSE, J. K. – THOMSON, P. C.: Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers. *J. Dairy Sci.*, 2013. 96. 1905–1914.
11. HEINS, B. J. – HANSEN, L. B. – SEYKORA, A. J.: Calving difficulty and stillbirths of pure Holsteins versus Crossbreds of Holstein with Normande, Montbeliarde, and Scandinavian Red. *J. Dairy Sci.*, 2006. 89. 2805–2810.
12. JOHANSON, J. M. – BERGER, P. J.: Birth weight as a predictor of calving ease and perinatal mortality in Holstein cattle. *J. Dairy Sci.*, 2003. 86. 3745–3755.
13. KING, K. K. – SEIDEL, G. E. – ELSDEN, R. P.: Bovine embryo transfer pregnancies. I. Abortion rates and characteristics of calves. *J. Anim. Sci.*, 1985. 61. 747–757.
14. KING, K. K. – SEIDEL, G. E. – ELSDEN, R. P.: Bovine embryo transfer pregnancies. II. Lengths of gestation. *J. Anim. Sci.*, 1985. 61. 758–762.
15. KNOTT, J. C.: A study of the gestation period of Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.*, 1932. 15. 87–184.
16. KRUIP, T. A. M. – DEN DAAS, J. H. G.: In vitro produced and cloned embryos: effects on pregnancy, parturition and offspring. *Theriogenology*, 1997. 47. 43–52.
17. LÓPEZ-GATIUS, F. – SZENCI O. – BECH-SABAT, G. – GARCÍA-ISPIERTO, I. – SERRANO, B. – SANTOLARIA, P. – YÁÑIZ, J.: Factors of non-infectious natura affecting late embryonic and foetal loss in high producing dairy herds in north-eastern Spain. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2009. 131. 515–531.
18. MARES, S. E. – MENGE, A. C. et al.: Genetic factors affecting conception rate and early pregnancy loss in Holstein cattle. *J. Dairy Sci.*, 1961. 44. 96–103.
19. NOGALSKI, Z. – PIWCZYŃSKI, D.: Association of length of pregnancy with other reproductive traits in dairy cattle. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 2012. 25. 22–27.
20. SANTOS, J. E. – THATCHER, W. W. et al.: The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim. Reprod. Sci.*, 2004. 82–83. 513–535.
21. SZENCI, O. – B. Kiss, M.: Perinatal calf losses in large cattle production units. *Acta Vet. Hung.*, 1982. 30. 85–95.
22. SZENCI O. – HORVÁTH É. – TÖRÖS I.: Az ellés lefo-lyásának ellenőr-zése egy nagyüzemi holstein-fríz tehenészetben. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 1987. 42. 359–365.
23. UNALAN, A.: Estimation of genetic parameters and correlations among some body measurements of Holstein calves and effects of these measurements on calving difficulty. *J. Anim. Vet. Adv.*, 2009. 8. 1589–1594.
24. VAN WAGTENDONK-DE LEEUW, A. M. – MULLAART, E. et al.: Effects of different reproduction techniques: AI MOET or IVP, on health and welfare of bovine offspring. *Theriogenology*, 2000. 53. 575–597.
25. YOUNG, L. E. – SINCLAIR, K. D. – WILMUT, I.: Large offspring syndrome in cattle and sheep. *Rev. Reprod.*, 1998. 3. 155–163.






Közlésre érck.: 2019. dec. 19.

BOVILIS

Védje meg a jövőt!



Bovipast RSP:

-  Az egyetlen olyan vakcina, amely védelmet nyújt a *M. haemolytica* (A1 és A6 szerotípusa), BRSV és PI3 ellen.
-  Az egyedülálló IRP technológiával készül.
-  Egyidőben adható a Bovilis IBR élő marker vakcinával a borjak 3 hetes korától.
-  5 ml sc vakcina akár 2 hetes kortól 4 hetes különbséggel adott két oltással.
-  Vemhes és laktációban lévő teheneken is használható.

A BORJÚ-TÜDŐGYULLADÁS ELLENI SIKERES VÉDEKEZÉS ÉLETRE SZÓLÓ ELŐNYÖKET NYÚJT

A hirdetés és a termékleírás nem teljes körű. Alkalmazás előtt kérjük, olvassa el a készítményhez mellékelt használati utasítást! Kérjen állatorvosától további felvilágosítást. Kizárólag állatgyógyászati alkalmazásra. Kizárólag állatorvosi vényre adható ki. A szöveg lezárásának időpontja: 2019. 01.14.

MÁR ÚJ, EGYADAGOS KISZERELÉSBEN IS ELÉRHETŐ

LÉGY AZ ELSŐ,
LÉGY GYORS!

Bovilis® INtranasal RSP™ Live

EGYETLEN MÁSIK BRD VAKCINA SEM TUD
KORÁBBAN ÉS GYORSABBAN VÉDELMEZNI



- 1 hetes kortól.
- Az immunitás kezdete: a BRSV ellen 5 nap, a PI-3 ellen 7 nap
- Védettség akár már 2 hetes kortól.

Az eddigi legkorábbi megoldás a légzőszervi betegségek (BRD) által okozott veszteségek csökkentésére a szarvasmarhatartásban.

AZ ÚJ BOVILIS INTRANASAL RSP LIVE ELÉRHETŐ 5x5 és 5x1 ADAGOS KISZERELÉSBEN.

Rendelje meg nagykereskedőtől még ma!

A hirdetés és a termékleírás nem teljes körű. Alkalmazás előtt kérjük, olvassa el a készítményhez mellékelt használati utasítást! Kizárólag állatorvosi alkalmazásra. Kizárólag állatorvosi vényre adható ki. A szöveg lezárásának időpontja: 2019. május 14.

 **MSD**
Animal Health

LEGYEN AZ ELSŐ – ALKALMAZZA A BRD ELLENI LEGKORÁBBI VAKCINÁZÁSI PROGRAMOT A GAZDASÁGÁBAN!

Biztosítsa állatai egészségét és magas termelési teljesítményét – ma és a jövőben is – a légzőszervi betegségek elleni lehető legkorábbi védelem révén!

MVDR. Leona Pekáriková (MSD Animal Health)

A mai világban nagyon hangsúlyos az antibiotikum-felhasználás csökkentésének szükségessége a humán gyógyászatban és az állatorvoslásban egyaránt, amelyet a 2022-ben életbe lépő, az Európai Parlament által jóváhagyott antibiotikum-stratégiában tervezett változások is alátámasztanak.¹ Emiatt egyre fontosabbá válik a haszonállatok / élelmiszertermelő állatok betegségeinek megelőzése. A tartástechnológia, az állatjólét, a takarmányminőség és az állathigiéna javítása mellett olyan vakcinázási programok kidolgozására van szükség, amelyek az adott gazdaság speciális körülményeihez igazodnak.

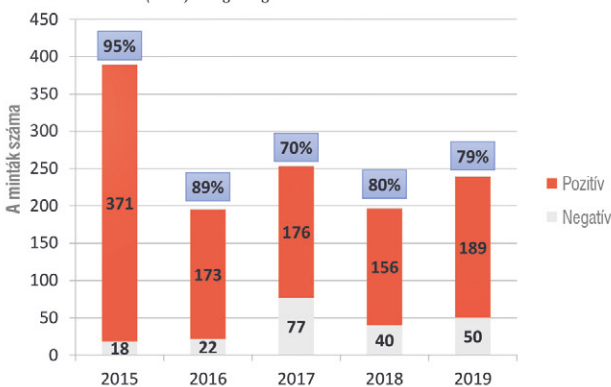
A megfelelő vakcina és vakcinázási programok kiválasztása nem kizárólag a megfelelő állategészségügyi színvonal és életteljesítmény biztosítása szempontjából fontosak, hanem a haszonállattartás gazdaságosságának és prosperitásának javítása érdekében is. Ebben a cikkben a szarvasmarha légzőszervi betegségének (BRD) megelőzésével és a betegség elleni vakcinázással kapcsolatos néhány kérdést tekintünk át.

MILYEN SZEMPONTOKAT KELL FIGYELEMBE VENNİ, AMIKOR VAKCINÁT VÁLASZTUNK A LÉGZŐSZERVI BETEGSÉG ELLENI VÉDEKEZÉSHEZ?

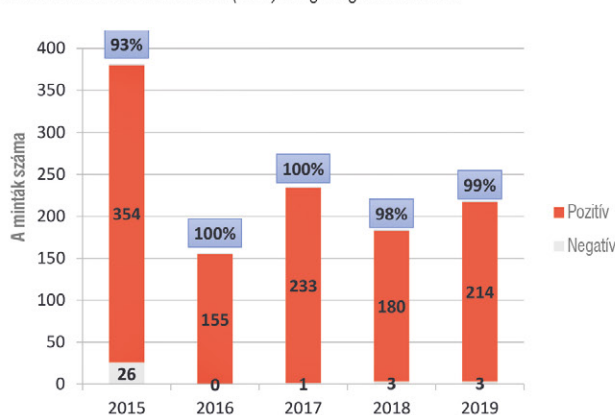
- A gazdaságban előforduló kórokozók spektrumát
- A veszélynek kitett egyedeket, illetve azokat a termelési- vagy korcsoportokat, melyek vakcinázása a legnagyobb előnyt jelenti a teljes gazdaság egészsége szempontjából
- Hogyan lehet megvédeni a legfiatalabb borjakat: a születés utáni első napok a borjak későbbi egész élete során befolyásolhatják azok teljesítményét
- Mely életkortól kezdve vakcinázhatók az állatok, mikorra alakul ki az immunitás és milyen hosszú ideig áll fenn a védettség
- Az anyaállatok vakcinázása: a vemhesség és a laktáció alatt hivatalosan engedélyezett vakcina alkalmazása. Erre vonatkozóan naprakész és érvényes információkat talál a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) honlapján, a Magyarországon engedélyezett állatgyógyászati készítmények oldalon (www.atiportal.nebih.gov.hu).
- A vakcina alkalmazhatósága a szarvasmarha vírusos hasmenése (BVD) jelenlétében vagy annak hiányában (a vakcinázás után termelődő ellenanyagok egy BVD-től mentes állományban megzavarhatják a BVD mentesítési programokat)

Mekkora volt a légzőszervi betegséget előidéző kórokozók előfordulási gyakorisága a Cseh Köztársaságban 2015 és 2019 között gyűjtött és a Jihlavai Állami Állatorvosi Laboratóriumban megvizsgált mintákban? Milyen nagy a gazdaságomban tartott állatok megbetegedési kockázata?

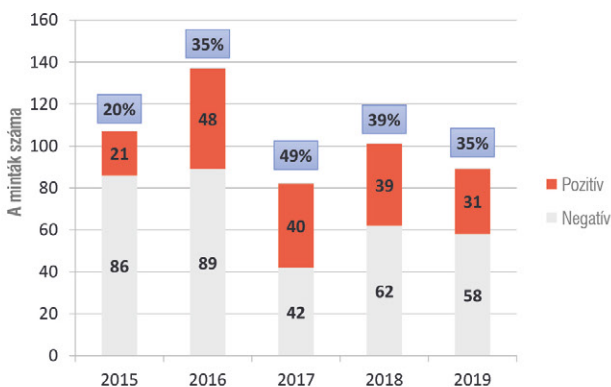
1. ábra: Az immunperoxidáz-monolayer próbával (IPMA) kimutatott BRSV (szarvasmarha járványos köhögés vírusa, bovin respiratory syncytial vírus) szerológiai prevalenciája* a 2015 és 2019 között a jihlavai Állami Állatorvosi Laboratóriumban (SVU) megvizsgált mintákban



2. ábra: A hemagglutináció-gátlási (HAG) próbával kimutatott parainfluenza-3 (PI3) vírus szerológiai prevalenciája* a 2015 és 2019 között a jihlavai Állami Állatorvosi Laboratóriumban (SVU) megvizsgált mintákban



3. ábra: A valós idejű PCR-rel kimutatott *Mannheimia haemolytica* prevalenciája* a 2015 és 2019 között a jihlavai Állami Állatorvosi Laboratóriumban (SVÚ) megvizsgált mintákban



* A vizsgálatban a 2015 és 2019 között az Állami Állatorvosi Laboratóriumba (SVÚ, Jihlava) beküldött mintákat használták. E minták főleg a szarvasmarha légzőszervi betegség tüneteit mutató állatoktól származtak, ezért a vizsgálatban megállapított prevalencia magasabb lehet, mint az általános szarvasmarha-populációban fennálló tényleges prevalencia.

Olyan vakcinázási programot használjunk, amely magában foglalja a PI3 vírus elleni vakcinázást is?

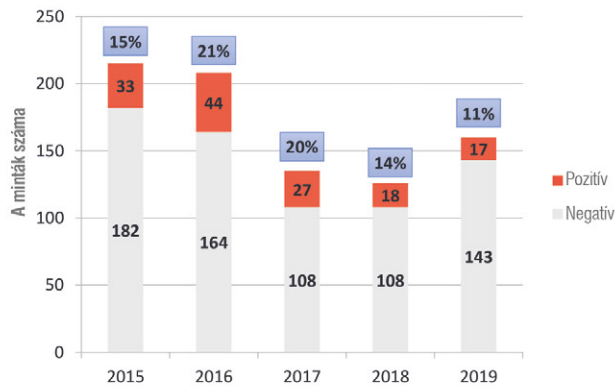
Néha felteszik nekünk a kérdést, hogy szükséges-e a PI3 vírus ellen vakcinázni, mivel e vírusról általánosan ismert, hogy a kártétele nem jelentős. E kérdés megválaszolásakor érdemes megfontolni az alábbi információkat és érveket:

- A PI3 vírus a szarvasmarha légzőszervi betegség fő okozóinak egyike. Az SVÚ Jihlava által kapott adatok (lásd fentebb) alapján egyértelmű, hogy a megvizsgált mintákban kimutatott PI3 vírus előfordulási gyakorisága az elmúlt 5 évben 93% és 100% között változott.
- A PI3 vírus károsítja a nyálkahártyát és elpusztítja a hámsejteket, immunszuppressziót okoz és elősegíti a légutak másodlagos fertőzéseinek kialakulását.²
- Ha a PI3 vírus a vele korábban még nem találkozott borjakban okoz járványos megbetegedést, a szarvasmarha légzőszervi betegségének tipikus klinikai tünetei láthatók: orrfolyás, köhögés, étvágytalanság és a napi súlygyarapodás csökkenése.
- A fertőzést követően elvégzett kóronctani vizsgálattal orrgyulladás, a tüdő légtelenségével (atelectasia) kísért interstitialis tüdőgyulladás, a tüdő állományának tömötte válása, interlobularis ödéma és nyirokcsomó-megnagyobbodás állapítható meg.
- A szállítási betegség esetében kimutatott leggyakoribb kórokozó a PI3 vírus.

A fentiekből levonható legfontosabb következtetés: a PI3 fertőzés nem kezelhető hatásosan. Az ellene való védekezés egyetlen lehetséges módja a minden szintre kiterjedő megelőzés, amely magában foglalja egy megfelelő vakcinázási program bevezetését is.



4. ábra: A baktériumtenyésztéssel, majd MALDI-TOF módszerrel kimutatott *Mannheimia haemolytica* prevalenciája* a 2015 és 2019 között a jihlavai Állami Állatorvosi Laboratóriumban (SVÚ) megvizsgált mintákban



Bovilis® Intranasal RSP® Live – az MSD Animal Health új terméke

A Bovilis® Intranasal RSP® Live egy olyan újdonság, amellyel erősíthető a borjak tüdőgyulladás elleni védeltsége az élet kulcsfontosságú, korai szakaszában.

A Bovilis® Intranasal RSP® Live vakcina már 1 hetes korban beadható, és már nagyon rövid időn belül védelmet nyújt a légzőszervi betegségek ellen (a BRV ellen 5 napon belül, a PI3 ellen 1 héten belül). Az Európai Unióban engedélyezett egyetlen más légzőszervi betegségek elleni vakcina sem védi meg a borjakat ennél korábban és gyorsabban.

A Bovilis® Intranasal RSP® Live egy élő, intranasalisan alkalmazandó vakcina, melynek beadásához nincs szükség külön applikátorra. A vakcina beadható közvetlenül egy fecskendőből is (1 ml mindegyik ornyílásba).³ Azon ügyfelek számára, akik jobban szeretnek applikátort használni, kifejlesztettünk egy külön Intranasal RSP szórófejet, amely lehetővé teszi a vakcina könnyű és gyors beadását, a szórófej könnyen cserélhető így elkerülhető a betegség terjesztése az egyedek közt.

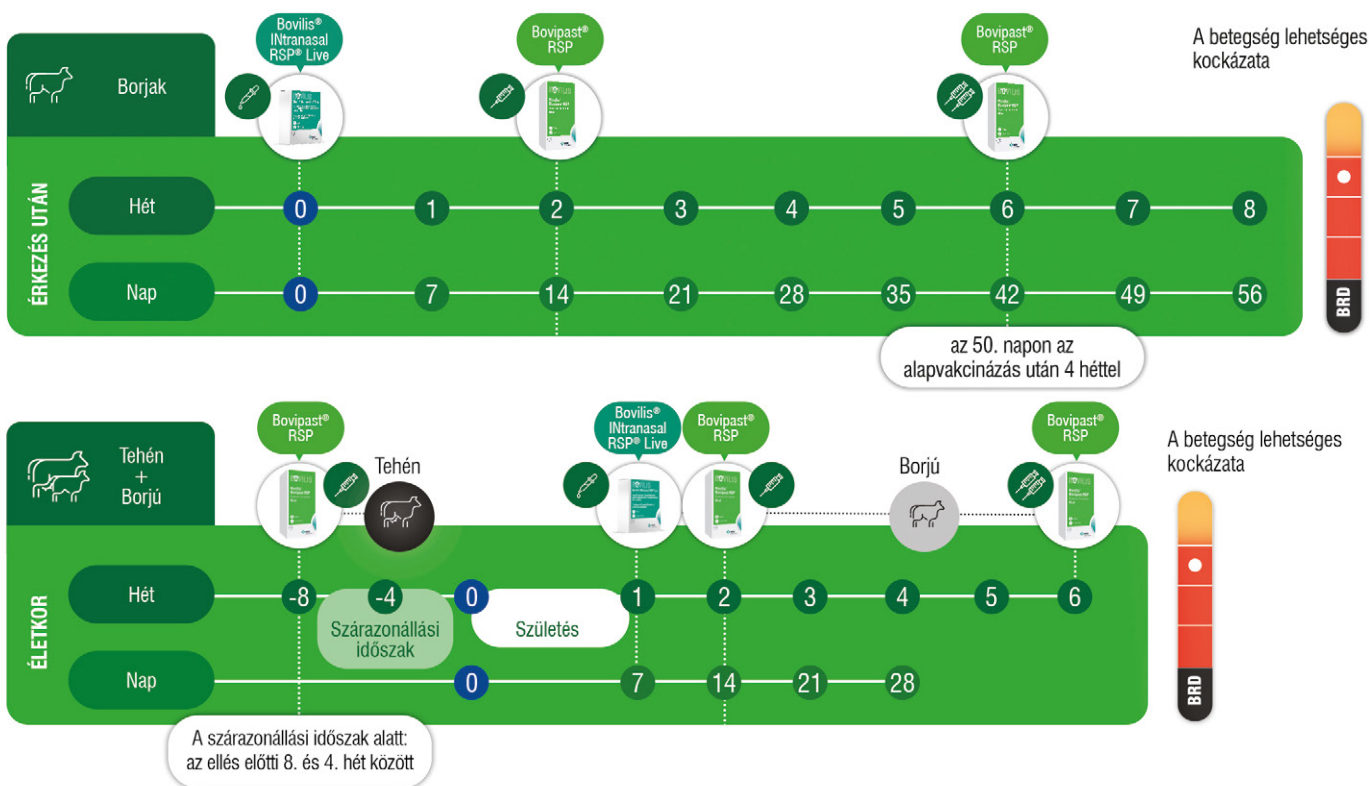
A vakcina tagadhatatlan előnye, hogy a liofilizátum feloldása után akár 6 órán át felhasználható, ami lehetővé teszi, hogy az állatorvosok és a gazdák kényelmesen mindent elő tudjanak készíteni a vakcinázáshoz.

Van-e lehetőség arra, hogy egy, a Bovilis® Intranasal RSP® Live és a Bovilis® Bovipast RSP kombinációján alapuló rugalmas vakcinázási programmal növeljem a legfiatalabb borjak védeltségét?

A jihlavai Állami Állatorvosi Laboratórium statisztikai adataiból (lásd fent) nyilvánvaló, hogy a *Mannheimia haemolytica* fontos szerepet játszik a szarvasmarha légzőszervi betegségének kialakulásában. Üzemi tapasztalatainkból tudjuk, hogy sok esetben ez a baktérium a felelős a légzőszervi betegség nagyon súlyos, magas megbetegedési és elhullási aránnyal kísért lefolyásáért.

A Bovilis® Intranasal RSP® Live és a Bovilis® Bovipast RSP vakcinák kombinációjának alkalmazásán alapuló vakcinázási program esetén a borjak – az immunrendszer különböző komponenseinek erősítése révén – hosszabb időn át tartó és erősebb védelemmel rendelkeznek a BRD mindhárom fő kórokozója ellen. A Bovilis® Intranasal RSP® Live élő vakcina a nem-specifikus és a veleszületett immunrendszer receptorait és citokinjeit aktiválja (sejtes immunitás), a Bovilis® Bovipast RSP inaktivált vakcina pedig az ellenanyag-termelést serkenti (humorális immunitás). A két vakcina által tartalmazott különböző vírustörzsek pedig szélesebb körű védelmet nyújtanak az állatok számára üzemi körülmények között.

A borjak korai vakcinázása (Bovilis® Intranasal RSP® Live 1 hetes korban és Bovilis® Bovipast RSP 2 hetes korban, majd 4 hét elteltével ismételt vakcinázás) jobban beindítja és előkészíti a borjak immunrendszerét. Az erősebb védeltséggel rendelkező és egészségesebb borjak kevesebb klinikai tünetet mutatnak és kevesebb tüdőelváltozás alakul ki náluk, jobban gyarapodnak és jobb a közérzetük, ami az életteljesítményükön kívül a gazdaság jövedelmezőségét is előnyösen befolyásolja.



* Abban az esetben, ha az anyaállatot nem vakcinázták az élete első néhány hónapjában, használja a Bovilis Bovipast RSP alapvakcinázási programot a szárazonállási időszakban végzett emlékeztető oltással.

ÖSSZEFOGLALVA...

A világ változik, és mi sem térhetünk ki a változások elől. Helyes az a tendencia, hogy az állattenyésztésben csökkentik az antibiotikumok használatát és magas színvonalú megelőzési programokat állítanak be. Ezt szem előtt kell tartanunk, amikor a jövőről gondolkozunk. A jövőben ugyanis azok fognak előnyhöz jutni, akik már most követik ezt a gyakorlatot illetve akik a közeljövőben tervezik az antibiotikum-felhasználás csökkentését.

A vakcinázás a megfelelő menedzsment stratégiák egyik eszköze, amellyel jelentősen csökkenthető a fiatal állatok megbetegedésének kockázata és garantálható azok kitűnő jövőbeli termelése.

A (BRSV és a PI3 ellen védelmet nyújtó) Bovilis® Intranasal RSP® Live és (a BRSV, a PI3 és a Mannheimia haemolytica ellen védő) Bovilis® Bovipast RSP vakcinák kombinációja biztosítja, hogy az állatorvosok és az állattartók mindig egy lépéssel a légzőszervi betegségek előtt járjanak. Így biztosíthatják állataik védeltségét a jelenben és a jövőben egyaránt.

Köszönetnyilvánítás: Köszönet illeti MVDr. Vladimir Machová állatorvost és az SVÚ Jihlava munkatársait a BRD kórokozók vizsgált mintákban mutatott előfordulási gyakoriságára vonatkozó statisztikai adatok értékeléséért, feldolgozásáért és rendelkezésre bocsátásáért.

IRODALOM

1. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2019/6/oj>
2. Hodgins, Douglas C., Conlon, Jennifer A. and Shewen, Patricia E.: Respiratory Viruses and Bacteria in Cattle [Légzőszervi vírusok és baktériumok szarvasmarhákban]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2480/>
3. Nuijten, Piet, van der Loop, Jeroen, van Rooij, Mark, Makoschey, Birgit and Vertenten, Geert: Intranasal application of a new BRD vaccine is efficacious with or without spraying device [Egy új BRD vakcina hatásosan beadható intranasálisan permetezőszókkal vagy anélkül egyaránt].
4. Vertenten, Geert: Vaccination protocols guide (How to use respiratory vaccines to manage disease risk) [Vakcinázási program útmutató (Hogyan kell használni a légzőszervi vakcinákat a betegségek jelentette kockázat kezelése érdekében?).]

A Bovilis® Intranasal RSP® Live vakcina élő bovin respiratory syncytial vírust (BRSV) (Jencine-2013 törzs, $5,0-7,0 \log_{10}$ TCID₅₀) és élő bovin parainfluenza-3 vírust (PI3) (INT2-2013 törzs, $4,8-6,5 \log_{10}$ TCID₅₀) tartalmaz. A Bovilis® Bovipast RSP inaktívált bovin respiratory syncytial vírust (BRSV) (EV908-as törzs), inaktívált bovin parainfluenza-3 vírust (SF-4-Reisinger törzs) és inaktívált Mannheimia (Pasteurella) haemolytica (A1-es szerotípus) baktériumokat tartalmaz a szarvasmarhák BRSV, PI3 és M. haemolytica elleni aktív immunizálására.

Kérjük, hogy további információért olvassák el a készítmény jellemzőinek összefoglalóját (SPC).

The measurement of intraocular pressure, tear production and palpebral fissure length in lions

A. L. Nógrádi^{1*}
A. Biácsi²
P. Kertész³

1. Állatorvostudományi Egyetem,
Egzotikusállat-és Vadegészségügyi
Tanszék és Klinika.
H-1078 Budapest István u. 2.

*e-mail: anna.nogradi@gmail.com

2. Nyíregyházi Állatpark Nonprofit Kft.,
Nyíregyháza-Sóstófürdő

3. Ló Zoo Kft., Órbottyán

Szemnyomásmérés, könnytermelésmérés és a szemréshossz megállapítása oroszlánokban

Nógrádi Anna Linda^{1*}, Biácsi Alexandra², Kertész Péter³

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők hat oroszlán egészségügyi vizsgálatának részeként szemészeti vizsgálatot is végeztek. Az állatok egyedi azonosítóját, korát, nemét és becsült testtömegét, valamint a vizsgálataink eredményeit feljegyezték. A vizsgálatba bevont állatokat 3 csoportra osztották. A felnőtt állatok vizsgálata altatásban történt, az utolsó csoportban lévő kölykoroszlánokat éber állapotban vizsgálták. A szemészeti vizsgálat keretein belül az állatoknál a könnytermelést, a szemnyomást, a szemrés méretét, ill. az oculo-palpebralis reflex meglétét vagy hiányát mérték, amint az altatószer beadása után biztonságosan megközelíthetővé váltak, valamint közvetlenül az altatószer antagonistájának beadása előtt.

SUMMARY

Background: As the number of wild lions is drastically declining, studies conducted on these animals in the wild and in zoo environments is a key factor to saving this species. The eye of the lion is big and the pupil is round. Their third eyelid is well developed, which protects the eye when necessary.

Objectives: The aim of this study was to determine the intraocular pressure, the palpebral fissure length, the tear production using Schirmer tear test and the oculo-palpebral reflex in various groups of lions.

Materials and Methods: 2 adult non-gravid females, 2 adult females assumed gravid and 2 cubs, all deemed healthy upon physical examination, were put in groups of 2 and an ophthalmological examination was conducted using different methods of anaesthesia. Tear production using a Schirmer tear test, intraocular pressure using a tonometer, the oculo-palpebral reflex and the palpebral fissure length using a calliper ruler were measured at the beginning of anaesthesia. Tear production and intraocular pressure were measured again before the injection of atipamezol.

Results and Discussion: The mean IOP of the cubs was lower than in the adult females. The IOP of the gravid female was elevated which could be due to a higher level of progesterone. A drastic drop in tear production could be seen before awakening, so the use of eye ointments is advised. With the help of the palpebral fissure length the ideal length of the STT in lions was determined.

Az oroszlánok (*Panthera leo*) régen benépesítették Afrika nagy részét, Európát, a Közel-Keletet és Ázsiát, de ma már, egy kis, ázsiai populációtól (*P. leo persica*) eltekintve, csak a szub-szaharai Afrika szavannáin találhatóak meg (6). A Természetvédelmi Világszövetség (IUCN) veszélyeztetett kategóriába sorolja az oroszlánokat, és számuk az elmúlt években drasztikusan csökkent. Az oroszlánpopuláción végzett kutatások (vadon és állatkerti körülmények között) kulcsfontosságúak a faj megmentésében.

Az oroszlán szeme nagyméretű és a pupilla a házimacskával ellentétben kerek

Az oroszlán szeme nagyméretű és a pupilla a házimacskával ellentétben kerek. A kölykök zárt szemréssel születnek, szemük 3–4 naposan kezd kinyílni. Harmadik szemhéjuk kifejezett, amire a vadonban szükségük is van a szemük védelme érdekében. Az oroszlánok nem tudják a szemüket nagy szögben oldalirányban mozgatni, ezért gyakran a fejüket is fordítják.

A Schirmer-könnytesztcsík (Schirmer tear test, STT) egy 5 mm × 35 mm nagyságú, nedvességet felszívó papírcsík, a legelterjedtebb kvantitatív könnyfilmmérési mód az állatorvosi gyakorlatban. A lekerekített végénél található jelölésnél kell a tesztcsíkot behajtani és az alsó kötőhártyazsák középső harmadába behelyezni. Egy perc után kell eltávolítani, és a könny által megnedvesített papír hossza, ezzel az egy perc alatt termelt könny mennyisége, mm-ben, a csíkról leolvasható. Korábbi vizsgálatok más fajnál azt mutatták, hogy félpercnyi mérés is elegendő lehet szárazszembetegség kiszűrésére (5).

A szemrés (palpebral fissure length, PFL) mérete a külső és belső szemszöglet közötti szakasz, amit mm-ben mérünk. A PFL fajonként nagyon nagy különbségeket mutat. WIESER és mtsai a szemrés és az STT-csík mérete közötti arányt vizsgálták és tettek javaslatot nyolc faj esetében, hogy mekkora lenne az ideális STT-csík. A kutyák szemrésméretét, ami méréseik alapján 21 mm, és az előre gyártott STT-csík szélességét, ami 5 mm, vették alapul. Elméletük szerint a csík mérete ebben a fajban ideális és más fajokban is kiszámolható az ideális méret, ha tudjuk az adott faj szemrésméretét. Vagyis, ha a $21\text{mm}/5\text{mm}=\text{X}/\text{Y}$ képletet használjuk, ahol X az faj szemrés mérete mm-ben, akkor megkapjuk az ideális STT-csík méretét (14).

Az elülső szemcsarnokban uralkodó nyomás a belső szemnyomás (intraocular pressure, IOP). A szemnyomás mérése tonometriával lehetséges. Az applanációs tonometria során a szaruhártya körülírt területének ellaposításához szükséges erő alapján számolja ki a műszer a belső szemnyomást a cornea többszöri érintésével, és a számot higanymilliméterben (mmHg) adja meg.

Az IOP megnövekedésének vannak kóros és nem kóros okai. Ha az elfolyás akadályozott, akkor az IOP növekszik, ami glaukómához vezethet. Nem patológias IOP emelkedést okozhat pl. a test elhelyezkedése a szemhez képest (11). Egyes fajoknál, mint pl. fiatal csirkékben az IOP a szem méretének kialakulását befolyásolja (4). Ezt azonban nyulaknál nem sikerült bizonyítani (3).

OFRI és mtsai több szemészeti vizsgálatot is folytattak oroszlánoknál. A két szem nyomása között nem találtak szignifikáns különbséget (8).

Az életkori változásokat vizsgálva azt találták, hogy az oroszlánok IOP-ja még élettani határokon belül, de drasztikus növekedést mutat életük első 20 hónapjában, ezt követően ez a növekedés lassul, majd 40 hónapos kortól a szemnyomás csökken (9). A nagyon fiatal oroszlánok átlagos IOP-ja 11,1 mmHg volt, ami majdnem 50%-kal kisebb, mint az egy évnél idősebb állatoknál mért IOP (9).

OFRI és mtsai a nem, a reprodukciós ciklus és az IOP összefüggését is vizsgálták oroszlánokban. A fiatal nőstények IOP-ja szignifikánsan kisebb volt, mint a hímeké. A hímek IOP-átlaga $24,9 \pm 2,0$ mmHg, míg a nőstényeké $20,9 \pm 2,4$ mmHg volt. Ezzel szemben a kifejlett nőstényeknél a progeszteronszint

Oroszlánok esetében a belső szemnyomás jelentősen növekszik 20 hónapos életkorig

növekedése és az ovuláció szignifikánsan növelte az IOP-t és az szignifikánsan nagyobb volt, mint a hím egyedeknél (7, 8, 9).

Egyes gyógyszerek emlősök szemnyomásra gyakorolt hatásával több tanulmány is foglalkozik. A medetomidin intravénásan nem okozott szemnyomás-emelkedést kutyáknál, de helyileg adva csökkentette a szemnyomást macskáknál és nyulaknál (2, 13). A ketamin növelheti a szemnyomást kisállatokban és nem javasolják adását glaukóma, szemsérülés, mély szaruhártyafekély vagy descemetocela esetén (12). OFRI és mtsai azt találták, hogy a különböző, oroszlánoknál használt altatási protokollok nem befolyásolták a szemnyomást (7, 8).

EPSTEIN és mtsai is vizsgálták a különböző altatószerek hatását oroszlánokban. Vizsgálataik többek között a pulzusra, légzésszámra, az állkapocs tónusára, és a palpebralis reflexre is kiterjedtek. A palpebralis reflexet egy általuk leírt skálán értékelték 1-től 4-ig ketamin és xylazin, ketamin és diazepam, ill. ketamin és propofol használata esetén, ahol 1 a reakció teljes hiányát jelentette és a 4 a teljes reakciót. Az első csoportot palpebralis reflexét 2,5-re, a másik kettő csoportot 3-ra értékelték a skála alapján (1).

Az oroszlánok szemnyomásának fiziológiás tartománya OFRI és mtsai mérései alapján $23,9 \pm 4,1$ mmHg (9). SARDARI és mtsai Schiotz-tonométerrel mértek szemnyomást helyi érzéstelenítés mellett egy szürkehályogműtét előtti vizsgálat részeként oroszlánoknál. Az állat jobb IOP-ja 23 mmHg, míg a bal értéke 25 mmHg volt. A kapott eredményeket az OFRI és mtsai által megadott IOP-tartomány alapján fiziológiásnak ítélték (10).

ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatokat a Veresegyházi Medveotthonban végezték, ahova mentett oroszlánok érkeztek

A vizsgálatokat a Veresegyházi Medveotthonban végeztük, ahova mentett oroszlánok érkeztek. A felnőtt állatok egészségügyi vizsgálatának részeként általános fizikális, vérből hematológiai és biokémiai vizsgálatot, ill. szívférgesség-gyorstesztet, valamint vemhességi ultrahang és szemészeti vizsgálatot is végeztünk altatásban. Az állatok egyedi azonosítóját, korát, nemét és becsült súlyát, valamint a vizsgálataink eredményeit feljegyeztük. Azoknál a felnőtt állatoknál, amelyek nem bizonyultak vemhesnek, deslorelin hatóanyagtartalmú hormonális fogamzásgátló implantátum beültetése történt. A vizsgálatba 6 oroszlánt vontunk be, amelyeket 3 csoportra osztottunk. Az első csoportot az a két nőstény képezte, amelyeknél nem lehetett kizárni a vemhességet. Őket 2,3 mg/ttkg ketaminnal (Narketan A.U.V.) és 0,05 mg/ttkg medetomidinnal (Cepetor 1 mg/ml inj. A.U.V.) altattuk. Az második csoportot is két nőstény képezte, de az ő esetükben ki lehetett zárni a vemhességet. Őket 0,25–0,3 mg/ttkg tiletamin-zolazepam (Zoletil 100 inj. A.U.V.), 1,5 mg/ttkg ketamin és 0,03 mg/ttkg medetomidin kombinációjával altattuk. Az altatószer beadása minden esetben fúvócső használatával, repülőfecskendővel történt. A harmadik csoportot két kölyök alkotta, egy hím és egy nőstény. Őket altatás nélkül vizsgáltuk. A vizsgált állatok adatait az **1. táblázat** foglalja össze. Az altatott állatokat 50 perc elteltével atipamezollal (Narcostop A.U.V.) ébresztettük, ezen belül az első csoportot 0,25 mg/ttkg, a másodikat pedig 0,15 mg/ttkg adagban kizárólag izomba injektálva.

Vizsgálták a könnytermelést, a szemnyomást és meghatározták a szemérméretet

A szemészeti vizsgálat keretein belül az állatoknál könnytermelést (**1. ábra**), szemnyomást (**2. ábra**), szemérméretet (**3. ábra**), ill. az oculo-palpebralis reflex meglétét vagy hiányát vizsgáltuk közvetlen az anesztézia beállta után, ahogyan az állatok biztonságosan megközelíthetővé váltak, valamint ébresztés előtt, közvetlenül az atipamezol beadása előtt. A szemészeti vizsgálatot és méréseket ugyanaz az állatorvos végezte az összes állatnál. A könnytermelés méréshez Eickemeyer (Tuttlinger, Németország) Schirmer-könnytesztcsíkot használtunk egy gyártásból (Art No. 173589).

1. TÁBLÁZAT. A vizsgált oroszlánok adatai**TABLE 1.** Data of the examined lions

	Nem	Kor	Becsült súly	Altatási csoport	Megjegyzés
Felnőtt 1	Nőstény	6 év	130 kg	Medetomidin+ ketamin	1. csoport, nem vemhes
Felnőtt 2	Nőstény	5 év	150 kg	Medetomidin+ ketamin	1. csoport, vemhes
Felnőtt 3	Nőstény	2 év	100 kg	Medetomidin+ ketamin+ tiletamin+ zolazepam	2. csoport, nem vemhes
Felnőtt 4	Nőstény	5 év	100 kg	Medetomidin+ ketamin+ tiletamin+ zolazepam	2. csoport, nem vemhes
Kölyök 1	Nőstény	3 hónap	20kg	Nem történt altatás	3. csoport
Kölyök 2	Hím	3 hónap	20kg	Nem történt altatás	3. csoport

**1. ÁBRA.** Könnnytermelésmérés Schirmer-könnnytesztcsík használatával oroszlánnál**FIGURE 1.** Measurement of tear production using a Schirmer tear test strip in a lion**2. ÁBRA.** Szemnyomásmérés Tonovet tonométerrel oroszlánban**FIGURE 2.** Measurement of intraocular pressure with a Tonovet tonometer in a lion**3. ÁBRA.** A szemrés hosszának mérése tolómérővel oroszlánban**FIGURE 3.** Measurement of the palpebral fissure length with a caliper ruler in a lion

A könnytermelést a felnőtt, bealtatott állatok esetében vizsgálták

Fél percnél (STT 30 mp) és egy percnél (STT 60 mp) is feljegyeztük a könny által megnedvesített szakasz hosszát mind a jobb (OD), mind a bal szemén (OS) és mindkét szemén elvégeztük a méréseket közvetlen az anesztézia beállta után (STT A), ill. ébresztés előtt (STT B). Ezt követően a szemrés tágasságát (PFL) tolmérővel mindkét oldalon lemértük a WIESER és mtsai által leírt módszerrel. A szemnyomásmérés Icare Tonovet tonométerrel történt az altatás beállta után közvetlenül (IOP 1), ill. az ébresztés előtt (IOP 2) 4–8 mm-re a paciens szemétől, 90 °-os szöget bezárva. Az eszköz 6 mérésből kiszámítja és kiírja a szemnyomás átlagát mmHg-ben, amelyet a szaruhártya középső részével érintkezve mér. Az altatószer antagonistálása előtt mindkét szembe hidroxietil-cellulóz műkönnyet (Lacrimed, Produlab Pharma B.V., Hollandia) helyeztünk.

2. TÁBLÁZAT. A szemészeti vizsgálat eredményei

TABLE 2. Results of the ophthalmological examination

	Nőstény 1	Nőstény 2	Nőstény 3	Nőstény 4	Kölyök 1	Kölyök 2
STT A OD 30 mp (mm)	20	11	15	13	N/A	N/A
STT A OD 60 mp (mm)	26	13	19	16	N/A	N/A
STT B OD 30 mp (mm)	7	8	8	1	N/A	N/A
STT B OD 60 mp (mm)	14	6	9	4	N/A	N/A
STT A OS 30 mp (mm)	9	15	16	14	N/A	N/A
STT A OS 60 mp (mm)	11	23	20	18	N/A	N/A
STT B OS 30 mp (mm)	3	3	6	2	N/A	N/A
STT B OS 60 mp (mm)	4	4	7	4	N/A	N/A.
IOP OD 1 (mmHg)	28	27	26	27	16	17
IOP OD 2 (mmHg)	27	37	26	27	N/A	N/A
IOP OS 1 (mmHg)	23	27	27	26	17	16
IOP OS 2 (mmHg)	21	41	29	26	N/A	N/A
PFL OD (mm)	30	34	30	35	20	20
PFL OS (mm)	32	34,5	31	33	20	20

STT A: Schirmer-könnytesztcsík eredménye anesztézia beállta után;

STT B: Schirmer-könnytesztcsík eredménye az antagonistával való ébresztés előtt;

OD: jobb szem; OS: bal szem; IOP: szemnyomás; PFL: szemréshossz

STT A: The result of the Schirmer tear test after the onset of anaesthesia;

STT B: The result of the Schirmer tear test before the administration of the antagonist;

OD: right eye; OS: left eye; IOP: intraocular pressure; PFL: palpebral fissure length

EREDMÉNYEK

Felnőtt oroszlánokban mértünk könnytermelést. A jobb szem STT-eredményei az anesztézia beállta után: 30 mp 11-20 mm, 60 mp 13-26 mm voltak, ébresztés előtt pedig ezek az értékek: 30 mp 1-8 mm és 60 mp 4-14 mm voltak. A bal szem STT-eredményei az altatás elején: 30 mp 9-16 mm, 60 mp 11-23 mm voltak, míg ébresztés előtt: 30 mp 2-6 mm és 60 mp 4-7 mm voltak. A palpebralis reflexet 2,5-esre értékeltük.

Az IOP az altatás elején a felnőtt állatokban 23-28 mmHg, míg altatás végén 21-41 mmHg volt. A kölykök IOP-ja 16-17 mmHg volt. A PFL 31-35 mm volt a felnőtt oroszlánokban. Ez az érték a kölyköknél 20 mm volt. Szemészeti vizsgálati eredményeinket az 2. táblázatban foglaltuk össze.

A vérből elvégzett hematológiai és biokémiai vizsgálatok eltérést nem mutattak, a szívféregre irányuló gyorstesztek negatív eredménnyel zárultak, a fizikális és szemészeti vizsgálatokkal az érintett állatoknál kóros eltérést nem tapasztaltunk. Egy nőstény a második csoportból ultrahangos vizsgálat alapján előrehaladott vemhesnek bizonyult, ezért deslorelin hatóanyag tartalmú implantátum beültetés az ő esetében nem történt meg.

MEGVITATÁS

A szemészeti vizsgálatot éber állapotban a legmegfelelőbb elvégezni, ami vadállatok esetében gyakran nem lehetséges

A kölykökben, éber állapotban a könnytermelés nem volt vizsgálható

A szemészeti vizsgálat legmegfelelőbb kivitelezése éber állapotban történik. A vadállatok egy részében, mint pl. az oroszlán, mindkét szem vizsgálata éber állapotban az esetek nagy részében nem kivitelezhető. SARDARI és mtsai helyi érzéstelenítés mellett mérték meg a szemnyomást (10). Ennek kivitelezése nem lehetett egyszerű egy nem altatott felnőtt oroszlánál, hiszen a Schiotz-tonométer használatához az állatnak felfelé kell tartania a fejét, miközben a műszert ráfektetjük a szaruhártyára. Jelen kutatásban nem altatásban végzett szemvizsgálat a felnőtt állatoknál nem volt kivitelezhető. A két fiatal egyed vizsgálata altatás nélkül történt. A vizsgálatot nehezen tolerálták, és a könnytermelést több alkalommal meghiúsították. Oroszlánoknál a kölykök is veszélyt tudnak jelenteni a vizsgálatot végző személyekre, mivel a méretük és az erejük nagyobb, mint egy házimacsskáé, kézzel nevelés ellenére vadak, és harapnak, karmolnak, ezért a testi épségünk megóvása érdekében a könnytermelés mérésének megkísérlését a két kölyöknél nem folytattuk. OFRI és mtsai leírták, hogy az oroszlánok szemnyomása 20 hónapos korig nő és a nagyon fiatal oroszlánok szemnyomása átlagosan 11,1 mmHg, ami majdnem 50%-kal kisebb, mint az egy évnél idősebb állatoké (9). Az általunk vizsgált kölykoroszlánok átlagos szemnyomását (IOP OD: 16,5 mmHg; IOP OS: 16,5 mmHg) a felnőtt állatokban az anesztézia beállta után mért átlagos szemnyomással (IOP OD 1: 27 mmHg; IOP OS 1: 25,75 mmHg) hasonlítottuk össze. Méréseink is azt mutatják, hogy a két kölyök jobb, ill. bal IOP-értékei 38,9, ill. 35,9%-kal kisebbek a felnőtt állatoknál mért értékeknél, de nem olyan mértékben, mint amit korábban leírtak.

Az altatott állatokat minden esetben hasra fordítottuk, és a nyakat kiegyenesítettük, hogy a fektetés a lehető legkevésbé befolyásolja a szemnyomást. Továbbá ügyeltünk arra, hogy a nyaki erek ne legyenek nyomás alatt, mivel az is befolyásolhatja a kapott eredményeket, és növelheti a szemnyomást, ezzel hamis eredményeket adva.

A medetomidin, és a ketamin befolyásolhatják a szemnyomást. Oroszlánoknál viszonylag korlátozottak a lehetőségek a nem fűvócsöves vagy altatópuskás altatás kivitelezésére. A szerzők is fűvócsővel adták be az

Az ébresztés előtt mért IOP a vemhes nőtény esetében mindkét szemben megemelkedett

altatáshoz használt altatószereket a felnőtt állatoknak. Az izomba adott altatószerek hatására a szemnyomás a kezdeti IOP-értékekhez képest az altatás végére sem emelkedett meg és az OFRI és mtsai által megállapított fiziológiás IOP-tartományban maradtak (9). Kivételt képezett a vemhes nőtény. Az ébresztés előtt mért IOP a vemhes nőtény esetében mindkét szemben megemelkedett, a jobb szemben 37 mmHg, míg a bal szemben 41 mmHg volt mérhető. OFRI és mtsai leírtak IOP emelkedést megnövekedett progeszteronszint hatására oroszlánoknál, amely a mi kapott eredményünkkel is egybevág (8).

A palpebralis reflexet EPSTEIN és mtsai skáláját használva 2,5-esre értékeltük (1). Az altatott felnőtt oroszlánoknál végig megtartott volt a palpebralis reflex, de kiegyensúlyozott volt az anesztézia a beavatkozás teljes hossza alatt, és minden esetben eseménytelen volt az ébredés az antagonistá beadása után.

Korábbi kutatások más fajokban kimutatták, hogy a két szem könnytermelése összefügg egymással, ill. hogy fél perces STT-mérések is elegendőek lehetnek szárazszembetegség kimutatásához, ha vannak referenciaértékek (5), ezért a szerzők a fél perces STT-eredményeket is feljegyezték. Az összes szemet figyelembe véve az anesztézia beállta után az átlagos STT A 30 mp-nél 14,125 mm volt, míg 60 mp-nél 18,25 mm. A szerzők nem találtak STT-referenciaértékeket oroszlánokra. Sajnos 4 egyedből referenciaértéket felállítani nem lehetséges, de támpontot tud adni az általunk mért 30 mp-es és 60 mp-es STT-eredmény.

Az altatás végére a könnytermelés mértéke jelentősen lecsökkent

Az eredményekből látható, hogy az STT A és STT B mérések között drasztikus a könnytermelés-csökkenés. Az átlagos STT B 60 mp-nél 6,5 mm volt. Ezért a szerzők altatott állatoknál minden esetben az altatás kezdetekor javasolják a könnytermélmérést, ill. a mérés után a szem kiszáradását gátló géllé használatát.

A szerzők tudtával oroszlánban még nem mértek PFL-méretet. Összehasonlítottuk a felnőtt és a kölyök állatok PFL-méretét és azt kaptuk, hogy az a kölyökoroszlánok esetében 38%-kal volt kisebb. Ez nem meglepő, hiszen a kölykök még növekedésben vannak. A WIESER és mtsai (14) által leírt képlet és az általunk mért PFL segítségével megállapítottuk az ideális STT-csík szélességét oroszlánoknál, amely 7,72 mm. Számításainkhoz a fiatal állatok szemréméretét nem használtuk, hiszen azok ilyen fiatal korban még nem képviselik a fajra jellemző méretet. A 4 felnőtt oroszlán mindkét oldali szemréméretének átlagát helyettesítettük a képletbe. A jövőben ideális lenne további kutatásokat végezni több felnőtt egyeddel, hogy még pontosabb STT-csík méretet tudjunk megállapítani. A jelenleg használatos 5 mm-es STT-csíkok is használhatóak oroszlánokban. Fiatal állatoknál, mivel azok szemrése változik, a szerzők a standard, 5 mm-es STT-csík használatát javasolják a jövőben is.

IRODALOM

1. EPSTEIN, A. – WHITE, R. et al.: Effects of propofol as an anaesthetic agent in adult lions (*Panthera leo*) a comparison with two established protocols. *Res. Vet. Sci.*, 2002. 72. 137–140.
2. JIN, Y. – WILSON, S. et al.: Ocular hypotensive effects of medetomidine and its analogs. *J. Ocul. Pharmacol. Th.*, 1991. 7. 285–296.
3. NASTRI, G. – CENAMO, G. – CARUSO, C.: Attempt to arrest eye growth by means of ocular hypotony. *Metab. Pediatr. Syst. Ophthalm.*, 1985. 8. 162–164.
4. NEATH, P. – ROCHE, S. – BEE, J. A.: Intraocular pressure-dependent and -independent phases of growth of the embryonic chick eye and cornea. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*, 1991. 32. 2483–2491.
5. NÓGRÁDI, A. L. – SZENTGÁLI, ZS. – BATTAY, M. – COPE, I. – GÁL, J. – NÉMETH, T.: Measurement of tear production and establishment of reference values in guinea pigs (*Cavia porcellus*) using a modified Schirmer tear test. *Vet Rec.*, 2020. 186. 321.
6. NOWELL, K. – JACKSON, P.: Wild Cats, Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN, Gland, Switzerland. 1996.

7. OFRI, R. – HOROWITZ, I. et al.: The effects of anesthesia and gender on intraocular pressure in lions (*Panthera leo*). *J. Zoo Wildl. Med.*, 1998. 29. 307–310.

8. OFRI, R. – SHORE, L. S. et al.: The effect of elevated progesterone levels on intraocular pressure in lions (*Panthera leo*). *Res. Vet. Sci.*, 1999. 67. 120–122.

9. OFRI, R. – STEINMETZ, A. et al.: Factors affecting intraocular pressure in lions. *Vet. J.*, 2008. 177. 124–129.

10. SARDARI, K. – EMAMI, M. R. et al.: Cataract surgery in an African lion (*Panthera leo*) with anterior lens luxation. *Comp. Clin. Pathol.*, 2007. 16. 65–67.

11. SETOGAWA, A. – KAWAI, T.: Measurement of intraocular pressure by both invasive and noninvasive techniques in rabbits exposed to head-down tilt. *Japan J. Physiol.*, 1998. 48. 25–31.

12. PAWSON, P. – FORSYTH, S.: Anesthetic agents In: MADDISON, J. E. – PAGE, S. W. – CHURCH, D. B. (szerk.): *Small Animal Clinical Pharmacology*. Saunders Elsevier, Philadelphia, 2008. 83–112.

13. VERBRUGGEN, A. M. – AKKERDAAS, L. C. et al.: The effect of intravenous medetomidine on pupil size and intraocular pressure in normotensive dogs. *Vet. Quart.*, 2000. 22. 179–180.

14. WIESER, B. – TICHY, A. – NELL, B.: Correlation between corneal sensitivity and quantity of reflex tearing in cows, horses, goats, sheep, dogs, cats, rabbits, and guinea pigs. *Vet. Ophthalmol.*, 2013. 16. 251–262.

Közlésre érk.: 2019. dec. 10.

HIRDETÉS



To strengthen our team in Hungary we are seeking a:

Technical Sales Manager (m/f/d)

Your qualifications

- University degree in agricultural, nutritional, or veterinary sciences
- Preferably commercially experienced in agriculture market – especially in the poultry industry in Hungary
- Customer-oriented, proactive, seeking opportunities
- Open-minded and able to learn and accept innovative concepts of feed additives and dietary feed supplements
- Ready to travel and visit customers on farm level and feed mill level
- Excellent Hungarian and English skills (written and spoken)
- Enjoy working in an English-speaking team of different nationalities

What Biochem can offer you

- Interesting job with a high level of responsibility and autonomy
- Extensive product training at headquarter and regular visits for team meetings
- Excellent working atmosphere in a dynamic, successful, and international team
- Attractive and performance driven salary / Company car

The Technical Sales Manager will report to the regional Sales Director for South-Eastern Europe.

If this opportunity feels like the job you are passionate about, and it fits with your experience and skills, please email us your application to zorban@biochem.net.

What to expect

As part of our sales team in Hungary, you will ensure that our products are used effectively.

You will take on a wide range of tasks:

- Preferably commercially experienced in agriculture market – especially in the poultry market
- Operational market development in Hungary
- Market observation, preparation, and realization of sales strategies
- Coordination of the support and technical assistance for achievement of sales targets
- Direct interaction with customers and customer acquisition
- High level communication with farm managers, owners, and nutritionists

The social, legal and public
health aspects of animal
protection

A. Kiss^{1*}
G. Lorázkó²
K. Fodor¹

1. Állatorvostudományi Egyetem,
Állattenyésztési, Takarmányozástani és
Laborállat-tudományi Tanszék, Laborál-
lat-tudományi és Állatvédelmi Osztály,
H-1078 Budapest, István utca 2.

*e-mail: annamari9202@gmail.com

2. Kisállatklinika, Székesfehérvár;
Székesfehérvár

Az állatvédelem társadalmi, jogi és közegészségügyi vonatkozásai

Kiss Annamária^{1*}, Lorázkó Gábor², Fodor Kinga¹

ÖSSZEFOGLALÁS

Az állatbántalmazások időben történő felismerése és mértékének megbecslése kiemelten fontos feladat az állatorvosi praxisban, mert az állatok bántalmazása, valamint az állatokkal való nem megfelelő bánásmód az emberek elleni agresszió előszobája. Egy állat jóllétének megítélése elmélyült szaktudást, és gyakorlati tapasztalatot igényel, viszont mivel nincs lehetőség arra, hogy az állatvédelemmel kapcsolatos ügyekben mindig jelen legyen egy szakértő, ráadásul a laikusok nem is tudják reálisan megítélni egy állatbántalmazás mértékét. A szerzők egy olyan online állatbántalmazás-bejelentő felületet hoztak létre, amely reményeik szerint mind a hatóság, mind az állattartók helyzetét megkönnyíteni, amennyiben állatjóllétet érintő esettel találják szembe magukat.

SUMMARY

Recognizing animal abuse and assessing its extent is important, since animal abuse and maltreatment are the first steps to aggression against people. Judging an animal's wellbeing requires professional knowledge and practical experience. Due to media coverage, a wider audience has been affected by the concept of animal protection. My aim was to make assessment of animal abuse and the wellbeing of animals measurable for those too, who are non-professionals in this field. I have taken into consideration the philosophical, biological, veterinary and legal backgrounds of the issue; I have followed the development of professional literature about sensing pain, drawing a parallel between animal and human algesia as well as reacting to pain and finding a close connection between them.

I have conducted in-depth interviews with people who are playing an active role in judging cases of animal abuse. My questions were related to their responsibilities in cases of animal abuse, as well as how the reporting of these cases could be made easier. My conclusions: it is essential to provide adequate training for civil animal rights activists; it is important to establish a National Foundation for the Prevention of Cruelty Against Animals. The sphere of authority of the police officers and the animal rights activists would be made clear, which would solve the conflicts between them.

The number of unnecessary measures could be reduced by using a system, which may be realized by means of online reporting interfaces. It would be useful to fill in a checklist, which is beneficial in the judgement procedure, both from a financial point of view and regarding allocated time. I have made an online reporting interface, which could make procedure faster and could be life-saving for the animals.

IGAZGATÁS

Napjainkban egyre inkább kutatott téma az állatok egzakt módon nem mérhető, úgynevezett „mentális” világa, amely tekintetében a szakemberek sincsenek azonos véleményen. Míg egyesek alátámasztják, hogy az állatok fajtól függően fejlett érzelmekkel rendelkeznek, mások ezt cáfolják a kellő számú tudományos vizsgálat hiánya miatt. A téma emocionális nézetét jól tükrözik a következő gondolatok: „Közös érzelmi örökségen osztozunk. Ők éreznek, és mi is érzünk, függetlenül attól, mennyire nehéz megismernünk, milyenek is az ő érzéseik” (9). Az állatok diszkomfort-érzete, az őket ért fájdalmak, valamint jóllétük romlásának kimutathatósága, ill. ezek mértékének megítélése szakmai szempontból elengedhetetlen, a laikusok számára pedig a helytelen bánásmód, vagy akár a bántalmazás felismerése számos esetben hasznos tudásnak bizonyulhat. Az állatvédelem nagyon sokrétű kérdés. Érzelmi, etikai, közegészségügyi, gazdasági és társadalmi szempontból az emberek különbözőképp ítélik meg fontosságát, egy dolog viszont a legtöbb ember számára valamelyest visszatartó tényező: az állatok védelmét szolgáló jogszabályok. Az 1998. évi XXVIII. törvény az állatok védelméről és kíméletéről kiterjed minden gerinces állatra. Összefoglalja az állat védelmének általános szabályait, amelyben leírja az állattartó kötelezettségeit a felelőssége alá tartozó állattal kapcsolatban (12). Az állattartónak vállalnia kell állata teljes körű gondozását, köteles megteremteni a fajtájának megfelelő optimális körülményeket, az állatjóllétet, azaz a jó gazda gondosságával kell eljárnia (3, 4).

*Az állatok érzelmi világa
napjainkban egyre
inkább kutatott téma*

*Szoros összefüggés
mutatható ki az állat-
és emberbántalmazások
között, leginkább
családon belüli erőszak
vonatkozásában*

Magyar és külföldi szakcikk sokasága támasztja alá, hogy szoros összefüggés mutatható ki az állat- és emberbántalmazások között, amely leggyakrabban a családon belüli erőszak esetében mutatkozik meg. Szakpszichológusok szerint az elkövetők valamilyen belső feszültség levezetéseként folyamodnak ilyen tevékenységekhez, és ez az esetek nagy részében nem áll meg az állatbántalmazás szintjén (14). Amerikában olyan erőszakellenes szervezetek alakultak, amelyek fő célja kifejezetten az állatok és emberek ellen fellépő bűncselekmények szoros összefüggésének a bemutatása (1, 11). Az állatvédelem tehát nem csak az állatok miatt fontos, hanem az emberek védelmében és a bántalmazásra hajlamos személyek kiszűrése miatt egyaránt.

SAJÁT VIZSGÁLAT

*A magasabb rendű
gerinces állatok
élettanilag az
emberrel megegyező
módon reagálnak
a fizikai fájdalomra*

A fájdalomérzet kialakulásának élettani lépéseit a humán és állatorvosi szakirodalom összehasonlítása révén vizsgálhatjuk, amely szerint egy általános háttérfolyamatként írható le. A magasabb rendű gerinces állatok élettanilag az emberrel megegyező módon reagálnak a fizikai fájdalomra. Ezen állatok idegrendszerének fejlettsége az emberétől a fájdalom érzékelésének tekintetében nem tér el, mert megtalálhatók ugyanazon agykérgi területek és a ventrolateralis (ember esetén anterolateralis) rendszerhez tartozó, a fájdalom ingerületét detektáló idegvégződés a központi idegrendszerben, amelyek válaszreakciót alakítanak ki a szervezetben. A fájdalom fokának bírálata a megfigyelő személytől függ, ugyanis az ember nem mindig tud objektív következtetéseket levonni az állat viselkedéséről (5, 13).

A fájdalom mértékének megítélése humán vonatkozásban is évekig vitatott volt újszülötteknél. Évtizedeken át altatás és érzéstelenítés nélkül operálták az újszülötteket, mert nem voltak adatok az idegrendszerük fejlettségéről. Azt feltételezték, hogy a nociceptív reflexívük még nem fejlődött ki megfelelő mértékben, ezért nem is éreznek fájdalmat. Az izmok működését kuráréval gátolták, ezzel magatehetetlenné téve a csecsemőt a műtét alatt. 1985-ben derült fény az operációk menetére és a felmerült etikai kérdések folytán az orvosok kutatásokba kezdtek. Kimutatták, hogy a csecsemők is éreznek fájdalmat, így szükséges a fájdalomcsillapítás, amit jól tolerálnak, és hiányában a metabolikus és endokrin sokk

halálhoz vezethet (2). Ez alapján egyértelmű párhuzamot találunk az újszülöttek és az állatok fájdalmának megítélése között: egyikük sem képes verbális kommunikációra, ezért fokozott figyelmet kell fordítani a nem nyelvi jelekre, továbbá elengedhetetlen a fizikális vizsgálat elvégzése.

Állatokban a fájdalom foka és az érzések kimutatása nem minden esetben korrelál

Az állatok érzéseinek kimutatásával kapcsolatban kijelenthető, hogy a fájdalom foka és az érzések kimutatása nem minden esetben korrelál egymással. Ez a reakció a vadon élő állatok esetén figyelhető meg a leginkább, amikor ösztönösen elfedik sérüléseiket és fájdalmukat elkerülve a prédává válást, vagy a falkán belül alávettettebb pozícióba kerülést. A gyógyulás során pedig többnyire visszahúzódó magatartást mutatnak, depressziósnak, levertnek, szomorúnak tűnnek (7). A fájdalom mértéke és a szorongás szubjektív volta miatt embereken is nehezen állapítható meg, állatok esetében pedig részletes vizsgálatot és szakértelmet igényel. Feltételezhetjük, hogy az állatok is képesek fájdalom és szorongás átélésére, és ez a feltételezés stabil egészen addig, amíg az ellenkezője be nem bizonyítható.

Hasznosnak bizonyult egy olyan állatbántalmazás-bejelentő weboldal létrehozása, amely bárki számára internet elérhetőség mellett bármilyen „okoseszközzel” applikációk letöltése nélkül is könnyen és gyorsan elérhető, egyszerűen és gyorsan kitölthető, valamint hamar eljut a megoldást jelentő személyekhez, így módon elősegítve az állatvédelem fejlődését hazai, de akár nemzetközi szinten is.

ANYAG ÉS MÓDSZER

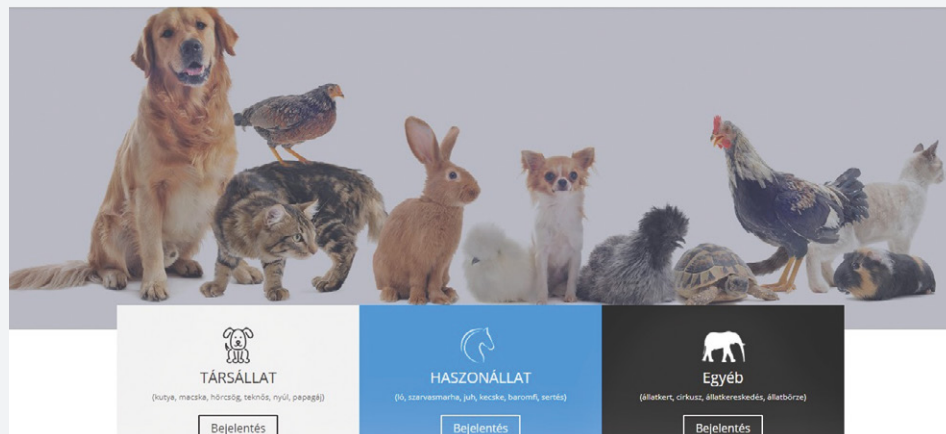
Az állatbántalmazás mértékének megítélésében fontos, hogy az ügyben eljáró személyek kizárólag a tényekre alapozva, érzelmi befolyásoktól mentesen hozzák meg döntéseiket. A szakmai megítélést és állapotfelmérést szükséges olyan adatokkal alátámasztani, amelyek pontos tényeket közölnek, nem csak hozzávetőleges, vagy nem pontosan meghatározható értékek. Sok esetben a megfelelő tényadatok és a konkrét állapotfelmérés hiánya miatt el sem jut egy állatjólétet súlyosan érintő eset a megfelelő hatósági szintre, vagy ha el is jut, hiányos anamnézis, és elhúzódó ügyek esetében nem bizonyítható az elkövető tette.

A szerzők interjúkat készítettek állatbántalmazásos esetekben eljáró szakemberekkel

Elkészült egy online állatbántalmazás-bejelentő felület (Ábra), amelynek megvalósítása előtt mélyinterjú készült olyan személyekkel, akikhez a legtöbb állatbántalmazásos ügy elsőként eljut, így tapasztalataikat, véleményüket és tanácsaikat megosztva segítették a projekt eredményességét. Elsőként egy Budapesten járórszolgálatot teljesítő őrmesterrel készült interjú, aki bünygyi tapasztalatával járult hozzá ahhoz, hogy a rendőrökhöz beérkező állatbántalmazásokkal kapcsolatos bejelentések problémaköre világossá váljon. A következő interjúban egy elsősorban birtokvédelemmel kapcsolatos eljárásokkal foglalkozó jegyző nyilatkozott állatvédelmi hatásköréről és véleményéről az internetes bejelentő felülettel kapcsolatban,

ÁBRA. Az elkészült állatbántalmazás-bejelentő weblap megnyíló oldala

FIGURE. The completed animal abuse reporting website



A szakértők véleményei alapján elkészítették az allatbantalmazasbejelento.hu honlapot

majd egy bíróval készített interjú során mélységeiben feltárára került a bíró állatbántalmazással kapcsolatos jogköre, mellyel teljessé vált ezen ügyek folyamatának egésze a bejelentéstől a végrehajtásig. Végül az Országos Állatvédelem Alapítvány vezető tisztségviselőjével készített interjúból kiderült, hogy vitathatatlanul nagy szükség van a munkájukra, és tevékenységük hatékonyságának növelése érdekében elengedhetetlen lenne egy képzett állatvédőköl álló, hatósági szerepkörrel rendelkező „állatrendőrség” felállítása.

Az Új Nemzeti Kiválóság Program lehetőséget nyújtott az elkészült állatbántalmazás-bejelentő felület továbbfejlesztésére, így a Lorászko-féle check lista (12) és egy weblapszerkesztő cég segítségével létre jött az állatbántalmazás bejelentő honlapja, amelyet teszüzemmódba állítva véleményeztek a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) munkatársai. Az elkészült bejelentő elérhető az alábbi linken: <https://allatbantalmazasbejelento.hu>

EREDMÉNYEK

Az elkészült interjúk összegezett eredményei és a levont következtetések alapján tisztán látható az állatvédelem jelenlegi helyzete hazánkban, valamint megfogalmazhatók az állatbántalmazásos ügyek menetének meggyorsítására és segítésére alkalmas lehetőségek. A bejelentő felület sikerességét mutatja, hogy egy olyan állatbántalmazás-bejelentő weblap készült el, amely több szakvélemény szerint (állatorvos, NÉBIH, bíró, jogász, rendőrség) hiánypótló és szükséges. Egyre nagyobb figyelem éri az állatvédelem fontosságát, így mivel a laikusok is nyitottak a téma iránt, különösen időszerű felnyitni az emberek szemét és rávilágítani arra, hogy milyen szoros kapcsolatok vannak az állatvédelem és társadalmunk egészsége, biztonsága között.

KÖVETKEZTETÉSEK

A legfontosabb következtetések az elkészült interjúk alapján:

1. Sok esetben az állatvédők érkeznek először az állatbántalmazás helyszínére, akiknek nincs jogosultságuk a rendőrök segítségével nélkül megtenni a szükséges lépéseket és nem biztos, hogy képesek szakszerűen felmérni az állat állapotát, mivel jelenleg az állatvédő tevékenység nem képzettséghez kötött szakma. Sok esetben még a rendőr sincs tisztában azzal, hogy mi az állatvédő feladata, így átadja a megítélés lehetőségét másnak, miközben ez a feladat képzett embert kíván. Emiatt szükséges az állatvédők megfelelő szintű képzése, vagy a feladat teljes körű ellátására alkalmas állatvédelem létrehozása.

2. Nem tisztázottak a jogkörök, mert a rendőr az állatvédőkre hárítaná az állatbántalmazással kapcsolatos ügyeket, azonban az állatvédők tehetetlenek a rendőrök nélkül, így nyitott marad a kérdés, hogy ki a felelős az állatbántalmazásos ügyek felderítésében, azok lebonyolításában.

3. Alapvető hiba, hogy az állatvédelemi jogszabályok és az állatkínzás elkülönül egymástól a közigazgatási valamint a büntetőjog területén, pedig a kettő között szoros kapcsolatok, átfedések vannak. A Magyarországon használt kontinentális jogrendszer bonyolultsága nem teszi lehetővé olyan jellegű állatrendőrség működtetését, amilyenre számos országokban láthatunk példát.

4. Az állatbántalmazással kapcsolatban eljáró hivataloknak sokszor az ilyen ügyek elindításához a legalapvetőbb felszereltségük sincs meg. Az anyagi hiányosságok kiküszöbölésére lehetőségként felmerülhet a rendőrségen belül állatvédelemi ügyekkel foglalkozó osztály kialakítása, mivel egy állami működtetésű intézmény kedvezőbb pénzügyi háttérrel rendelkezik, mint egy civil szervezet, ezáltal akár egyesíthető lenne a rendőri és állatvédelmi tevékenység.

5. A felesleges intézkedések elkerülése érdekében a bejelentő azonosíthatóságára nagyobb hangsúlyt kellene helyezni. Ez valószínűleg csökkentené a bejelentések számát,

Állatbántalmazással kapcsolatos bejelentések kapcsán gyakran nem tisztázottak a jogkörök és a feladatok

Az eljáró hivataloknak gyakran hiányos a felszereltsége

*Bizonyos esetekben
az eutanázia
a legkíméletesebb
megoldás, amit
egyes állatvédők
nehezen fogadnak el*

viszont komoly esetek bejelentésétől nem feltétlenül tántorítaná el a szemtanút. Tekintettel arra, hogy egy valós eset bejelentésénél a bejelentett bosszújától tartva sokan nem merik vállalni a nevüket, létre kellene hozni egy „félanonim”, zárt rendszerű bejelentési lehetőséget, ahol a bejelentő konkrét személyét csak abban az esetben derítenék fel, ha kiderül, hogy a bejelentés téves, vagy kifejezetten félrevezető volt.

6. Azon állatvédők, akiknek minden áron az állat életének a megmentése a cél, akkor is, ha az már nem biztosít a tudomány által ismert tények birtokában, a józan ész keretei között értendő méltó életet számára, nem megfelelően járnak el. Ebben az esetben az eutanázia vagy a további kezelések elvégzésének eldöntésére használhatjuk a Maslow-piramist újra gondolva, miszerint az állat alapvető fiziológiai szükségletei biztosítva vannak-e (megfelelő minőségű és mennyiségű takarmány és ivóvíz, elegendő mozgási lehetőség, számára megfelelő egyéb környezeti feltételek – hőmérséklet, páratartalom stb. – megléte), valamint fennállnak-e olyan betegségek, sérülések, genetikai hibák, amelyek az életminőséget jelentősen befolyásolják (10). Fontos az állatok védelmét célzó intézkedések fejlesztése, továbbá az állatvédők olyan jellegű szemléletének kialakítása, amellyel elfogadják, hogy bizonyos esetekben nem lehet az állatnak megfelelő életminőséget biztosítani, sőt, megmentése akár a szenvedésének meghosszabbítását jelentheti, azaz egy állat életét csak akkor kell mindenáron megmenteni, ha az a későbbiekben méltó (szenvédésmentes) életet jelent számára (6, 15).

7. Mivel az állatorvos jelenléte a helyszínelésen nehezen kivitelezhető, hasznos lenne az elkészített állatbántalmazás-bejelentő kitöltésének a kötelezővé tétele a helyszínelések során, amelynek használatával évek múlva is döntő erejű bizonyítékok maradnak meg. További előnye, hogy használata anyagilag és ráfordított idő szempontjából is kedvezőbb, mint a tanúk folyamatos kihallgatása minden tárgyalás során.

8. Meghatározható az ember állattartó képessége, ami egy haranggömbéhez hasonlítható: a középső részét a megfelelő állattartó magatartás szerint cselekvő emberek teszik ki, két széle pedig a végleteket tükrözi. Egyik szélén a szándékosan, vagy hanyag módon elkövetett, másikon a túlzásba vitt, vagy tudatlanság miatt nem megfelelően eljáró állattartók állnak. Nagy jelentőségű lenne az ún. „ember állattartó képességének” a fogalmát bevezetni a köztudatba, ami meghatározná, hogy képes-e a jó gazda gondosságával ellátni háziállatait.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A munka az Új Nemzeti Kiválóság Program (ÚNKP-18-2-ÁTE-3) pályázatának keretében és támogatásával készült.

IRODALOM

- BEKOFF, M. – MEANEY, C. A.: Animal Protection: The Future of Activism. *Encyclopedia of Animal Rights and Animal Welfare*. Greenwood Publishing Group. 2009.
- CHAMBERLAIN, D. B.: Babies don't feel pain: A century of denial in medicine. California. 1991. <http://www.nocirc.org/symposia/second/chamberlain.html>
- CSINTALAN CS. – FODOR K. – GYERTYÁN I. – ÓZSVÁRI L. – VISNYEI L.: *Az állatvédelem általános és jogi vonatkozásai. A/3* Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft. Budapest, 2013. 7–10., 22–28., 105–116.
- FODOR K. – FEKETE S. GY.: Az állatok fájdalmának és kellemetlen közérzetének fölismerése. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2016. 128. 751–760.
- FONYÓ A.: *Az orvosi élettan tankönyve*. Medicina Könyvkiadó Zrt. Budapest, 2011. 555–559.
- GREEN, T. C. – MELLOR, D. J.: Extending ideas about animal welfare assessment to include 'quality of life' and related concept. *N. Z. Vet. J.*, 2011. 59. 263–271.
- HARDIE, E. M.: A fájdalomra utaló viselkedés felismerése állatokban. In: EDENBURG, N. – REDROBE, S. et al.: *Állatfájdalom, A fájdalom felismerése és hatékony kezelése a gyakorlat szemszögéből*. Sík Kiadó Kft. Budapest. 2002. 56–76. 18.
- KEELING, L. J. – RUSHEN, J. et al.: Understanding Animal Welfare. In: APPLEBY, M. C. – HUGHES, B. O. et al. (eds.): *Animal Welfare*, 2nd ed. C.A.B. International, 2001. 13–26.

9. MASSON, J. M. – MCCARTHY, S.: Ami egy másik szív mélyén rejlik. *Miért sír az elefánt?* Magyar Könyvklub. Budapest, 2001. 13–24.
10. MICHAELS, L.: Introducing the hierarchy of dog needs. 2015. <http://www.dogpsychologistoncall.com/hierarchy-of-dog-needs-tm/>
11. National Link Coalition. <http://nationallinkcoalition.org/>
12. NEMZETI ÉLELMISZERLÁNC-BIZTONSÁGI HIVATAL: Kutyakötelesség, Útmutató a felelős kutyatartás jogszabályi előírásaihoz. 2017.
13. RUDAS P. – FRENÝÓ V. L.: *Az állatorvosi élettan alapjai*. Springer Hungarica Kiadó Kft. Budapest, 1995. 516–524.
14. VADAS J.: Állatkínzó gyerekek–Megmutatjuk, mi lesz belőlük. 2014. <http://www.life.hu/csalad/20140709-az-allatkinzasra-hajlamos-gyerekekbol-altalaban-gyilkos-lesz.html>
15. WATHES, C.: Lives worth living? *Vet. Rec.*, 2010. 166. 468–469. Közlésre ér.: 2019. jún. 26.

HIRDETÉS



Nemzetközileg elismert, európai kutya-, ill. macskaeledel magyarországi kizárólagos forgalmazási joga, kiépített franchise-rendszerrel eladó.

A termékek között megtalálhatóak szuperprémium, prémium, ill. tenyésztői, száraz és nedves eledel, valamint kiegészítők. Minden termék kiváló minőséget képvisel, igényes csomagolásban kerül forgalmazásra. A tápok magas hústartalommal rendelkeznek, valamint szója- és adalékanyag-mentesek.

A hazai piacon több éve sikeres franchise-rendszer működik. A hazai ellátást a nemzetközi központ versenyképes árral, folyamatosan biztosított ellátással és marketing-támogatással segíti.

Olyan érdeklődő jelentkezését várjuk, aki a magyarországi központi működtetését és a hazai piac teljes lefedését szeretné megvalósítani.

További részletek egyeztetése miatt kérjük, vegye fel a kapcsolatot a megadott elérhetőségeken:

Kapcsolattartó neve: dr. Vincze Lilla

Kapcsolattartó telefonszáma: +361 248 5333

Kapcsolattartó e-mail címe: lilla.vincze@patella.hu

Genetic based methods of fetal sexing from maternal plasma and their importance in various mammal species
Literature review

H. Kőszegi¹
G. Bóka²
B. Vincze³
A. Gáspárdy¹
P. Zenke^{1*}

1. Állatorvostudományi Egyetem,
Állattenyésztési, Takarmányozástani
és Laborállat-tudományi Tanszék,
H-1078 Budapest, István u. 2.

2. Nyíregyházi állatpark,
Sóstófürdő

3. Állatorvostudományi Egyetem,
Állattenyésztési, Szülészeti Tanszék
és Haszonállat-Gyógyászat Klinika,
Budapest

*e-mail: Zenke.Petra@univet.hu

A magzati ivar anyai vérplazmából való meghatározásának jelentősége és módszerei emlősállatokban

Irodalmi összefoglaló

Kőszegi Hanna¹, Bóka Gabriella², Vincze Boglárka³, Gáspárdy András¹, Zenke Petra^{1*}

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők betekintést nyújtanak a magzati ivar anyai vérplazmából való meghatározásának genetikai módszereire, ill. azok jelentőségére házi- és vadállatokban. A születendő utód ivara az ember és néhány emlősfaj, mint pl. a ló, szarvasmarha, juh, makákó, orrszarvú és elefánt esetén, már a magzati stádiumban nagy biztonsággal kimutatható az anyai vérplazmában megtalálható specifikus, magzati DNS-szekvenciák segítségével. Ez a nem invazív beavatkozás lehetőséget nyújt arra, hogy a jelenleg széles körben alkalmazott módszereket (pl. ultrahangos vizsgálat, hormonszintmérés) kiegészítse, mivel azok sokszor időben korlátozottak, valamint fajonként eltérő megbízhatósággal rendelkeznek.

SUMMARY

In their literature review, the authors intend to provide an overview of the novel, genetic based methods using maternal plasma for foetal sexing and show their importance in domestic animal breeding and in wildlife preservation and organization.

Accurate molecular methods for foetal sex diagnosis of mammals have been developed for various species, including horse, cattle, sheep, macaque, rhinoceros and elephant. In the livestock industry the control and manipulation of the sex ratio of animals is highly desired thus accurate non-invasive diagnosis of foetal sex has considerable applications in this sector.

The genetic sex of the animal has many phenotypic impacts including the behaviour, size, growth and lactation to name a few. Primates (e.g. macaques) are often used as a model to study foetal development for potential clinical applications in humans. The breeding of rhinoceros and elephants in captivity poses several challenges. A male sex ratio skew in population has a potential to severely limit long-term sustainability, therefore a successful method to diagnose foetal gender could serve as an important tool for managing these wild populations. In case of the captive populations, the diagnosis has implications in deciding on where the animal will be placed in the various zoos; arrangements will differ depending on whether the sex is male or female due to the impracticalities of keeping males together.

As the potentiality of ultrasound and hormonal measurements for foetal sex diagnosis are unfeasible or are presently limited in some of these species, genetic based sex diagnosis can be a proper alternative. Molecular sexing is the process of sexing individuals based on DNA variations among sexes, via DNA extraction and often amplification with polymerase chain reaction. Different approaches have been used for molecular sexing of mammals with the amplification of Y-chromosome specific DNA fragments, or with the co-amplification of homologous fragments from both sex chromosomes, which are discriminated by size polymorphism.

HUMÁN EGÉSZSÉGÜGYI HÁTTÉR

Az anyai vérben keringő szabad magzati DNS (*cellfree-fetal DNA*, *cff-DNA*, *cff-DNS*) 1997- es felfedezése (31) új lehetőségeket nyitott meg a nem-invazív prenatális diagnosztika (Noninvasive Prenatal Testing, NIPT) területén, kiváltva az invazív, és potenciálisan kockázatos amniocentézis és chorionboholy-biopsziavétel alkalmazását (36). A *cff-DNS* lehetséges forrása a placentán átlépő magzati hematopoietikus sejtek apoptózisa (31, 44), a szabad DNS placentán keresztüli átjutása (45), valamint a placenta trophoblast-sejtjeinek a folyamatos cserélődés miatti pusztulása (20). Feltehetően ez utóbbi szolgáltatja a vér *cff-DNS*-tartalmának legnagyobb mennyiségét (2). Az apoptotikus folyamatok során a DNS fragmentálódik, és a vérkeringésbe jutó apoptotikus testecskékből szabad formában a vérkeringésbe kerülhet (6, 47). A *cff-DNS* a vérben erősen töredezetten, többnyire 300 bázispárnál (bp) rövidebb fragmentumok formájában található (29). A terhesség előrehaladtával – a placenta, és az anya-utód érintkezési felület kiterjedésével – a vér *cff-DNS*-koncentrációja növekszik, átlagosan a teljes sejtmentes DNS-tartalom 3–6%-a között mozog (32), egyes kutatások szerint azonban akár a 10–20%-ot is elérheti a végső szakaszra (34). Ez a mérték azonban a különböző fajok, valamint egyének között is nagy változatosságot mutathat (52).

A *cff-DNS* elemzésével számos genetikai betegség felismerhető

Az elmúlt két évtizedben számos módszert fejlesztettek ki a *cff-DNS* elemzésére alapozva. Vizsgálatával detektálható többek között az aneuploidia (5, 10, 21), diagnosztizálhatók egygénes betegségek (49), meghatározható a magzati ivar és ezáltal alkalmas a kromoszómához kötött betegségek felismerésére (30), valamint a magzat RhD-státusza is meghatározható (17) az anyai vérből, a terhesség hatodik hetétől (31).

A szülést követően a *cff-DNS*-koncentráció rohamosan csökken, és rövid időn belül (néhány órától néhány napig terjedően) teljes mértékben eliminálódik a vérből (18, 33), így a későbbi terhesség/vemhesség esetén történő prenatális diagnosztizálást nem befolyásolja.

A MAGZATI IVAR KORAI MEGHATÁROZÁSÁNAK JELENTŐSÉGE HÁZI-, VALAMINT FOGSÁGBAN TARTOTT VADÁLLATOK ESETÉN

Az intenzív háziállattartás egyes területein gazdasági szempontból fontos lehet a magzat ivarának korai ismerete

Az állattenyésztés gazdaságosságát bizonyos állatfajokban meghatározza, hogy milyen ivarú a megszületendő állat. Az intenzív háziállattartás területén gazdasági szempontból fontos a magzat ivarának korai ismerete, mivel az számos olyan fenotípusos tulajdonságot befolyásol, melyek egy-egy ágazatban az állat gazdasági értékét határozzák meg. A bevételek és termelés tervezésénél előnyt jelent, ha a tulajdonos a vemhesség alatt már ismeri a megszületendő magzat ivarát, pl. tejelő szarvasmarhafajtákban; vemhes üszők értékesítésénél kifejezett előnyt jelent, ha üszővel vemhes üszőt tudnak eladásra kínálni. A húsmarhaágazatban azonban egy bikaborjú értéke a nagyobb a jobb növekedési mutatók és a jobb takarmányértékesítés következtében (46). Juhállományokban a korai ivarmeghatározás szintén nagy jelentőségű a megfelelő gazdálkodási és kereskedelmi döntések meghozatalában, úgymint az állatok selejtezése és a tenyésztési programok esetén a nemek kiválasztása (24). A magzat ivarának ismerete növelheti az anyajuhok értékét, valamint lehetőséget ad az anyajuhok táplálkozási programjának megfelelőbb megtervezéséhez is (42). A vérből történő genetikai alapú magzati ivarmeghatározás biztonságossága, egyszerűsége, valamint gazdaságossága miatt egyre szélesebb körű az igény és érdeklődés

Az anyai vérben keringő szabad magzati DNS vizsgálatával kiválthatók kockázatosabb, invazív mintavételi eljárások

**Állatkerti állatok
esetében szintén
fontos a születendő
utód ivarának minél
korábbi ismerete**

a juhtenyésztésben e speciális szolgáltatás iránt. Lovak esetében a kívánatos és nem kívánatos ivar főként egyéni preferencia kérdése (38). Egy angol telivér mént versenyzéshez és hobbilovagláshoz is használhatnak, azonban nagyobb árat fizetnek egy Quarterhorse kancáért, amelyet kifejezetten versenyzésre tartanak alkalmasnak (9, 28). Ebből következően a magzat ivarának ismerete hasznos információkkal szolgálhat a tenyésztők számára, hiszen így lehetőség nyílik az értékesítés korábbi megtervezésére, nem csak az utódokat, de a vemhes kancákat illetően is (7).

Állatkerti állatoknál, bár egészen más szempontok érvényesülnek, szintén kiemelten fontos a születendő utód ivarának minél korábbi ismerete, különösen az olyan háremszerkezetű állományokban, ahol nagy a kereslet a nőtényekre, viszont a hímek elhelyezése kihívást jelent. Bizonyos fajokban (pl. elefánt) a hímek agresszivitása miatt azok tartása csak korlátozott számban oldható meg, így az állatkertekben tartott populáció hím/nőtény arányát nemzetközi tenyésztői szervezetek szabályozzák és engedélyezik (1, 3, 39). Egyedi állatkerti szinten ezen tervek minél korábbi ismerete a mindennapi munka számos területén nyújthat segítséget. Egy állat áthelyezése ugyanis a legtöbb esetben altatásban zajlik, a leválasztás különösen nagy stresszt jelenthet az érintett egyedeknek, a szállítás megszervezése is hosszú időt vesz igénybe (szükséges állatorvosi vizsgálatok elvégzése, szállítás feltételeinek biztosítása, dokumentumok elkészítése stb.), így minél korábban születik döntés az utódok elhelyezéséről, az intézmények annál hamarabb kezdhetik meg az állatok elszállításával és tovább tenyésztésükkel kapcsolatos teendőket (1, 37). Továbbá egyes fajok esetében a halvaszületés valószínűsége hím utód esetén jelentősen nagyobb lehet, mint nőtény utód esetén (26), így a magzat nemének ismerete lehetőséget nyújt az állatkert és az állatorvosok számára, hogy időben felkészüljenek a vemhesség és a szülés kimenetelének nagyobb kockázatára.

A MAGZATI IVAR MEGHATÁROZÁSÁRA ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

**Háziállatokban
a magzatok
ivarmeghatározása
történhet ultrahang-
vizsgálattal és
molekuláris biológiai
módszerekkel**

Háziállatokban a magzatok ivarmeghatározására alapvetően két módszert fejlesztettek ki. Az egyik módszer az ultrahangkészülékkel történő ivarmeghatározás, amely a magzati ivargumó (*genitalis tuberculum*) helyzetének vizsgálatából áll. A módszer előnye, hogy a betanulás után nagy hatékonysággal megállapítható az ivar. A vizsgálatot szarvasmarhában és lóban 90% feletti pontossággal lehet elvégezni, de csak a vemhesség egy adott szakaszában, jellemzően az 55–65. nap között (11). A másik, újabb keletű módszer a molekuláris biológiai módszerek terjedésével vált lehetővé, a hímivarban megtalálható Y-kromoszómás DNS-szakaszok kimutatásával (13). Állatkerti, fogságban tartott emlősök közül elefántok esetén működik az anyai vérből történő tesztoszteron-koncentráció mérése, amely módszernél a hím magzattal vemhes anya vérében nagyobb lesz a tesztoszteron koncentrációja, mint a nőtény magzat esetében (16). Az ultrahangvizsgálat a legtöbb állatkerti emlős esetén nehézkes, egyes fajok, mint pl. elefántok esetében nem is kivitelezhető megfelelően, mivel a nőtény nagyméretű belső szervei miatt a magzat az ultrahanggal nem elérhető (40). Továbbá, míg egy háziállat pl. ló esetében egy ultrahangvizsgálat viszonylag egyszerűnek, s az állat számára stresszmentesnek mondható, egy vadállat esetén az eljárás nagyrészt csak altatásban végezhető. Vérvételhez azonban, az általános orvosi ellenőrzések miatt, többnyire szoktatva vannak az állatkerti állatok (19, 27, 43), így a DNS-alapú ivarmeghatározás lényegesen egyszerűbben kivitelezhető, s kevésbé megterhelő és biztonságosabb módszer lehet mind az anya, mind magzata számára.

**Állatkerti állatokban
a DNS-alapú
ivarmeghatározás
lényegesen egyszerűbb**

SEJTMENTES MAGZATI DNS KIMUTATÁSON ALAPULÓ IVARMEGHATÁROZÁSBAN ALKALMAZOTT MOLEKULÁRIS MÓDSZEREK

A magzati ivar polimeráz láncreakció (polymerase chain reaction, PCR) segítségével, anyai vérből (nem invazív módon) történő korai, prenatális meghatározása egyre gyakoribb módszerré válik a házi-, valamint a fogságban tartott vadállatok esetében is. A módszer alkalmazásának leginkább az unipara, azaz egyet ellő, hosszabb vemhességi idejű emlősfajoknál van jelentősége. A placenta anatómiai felépítése, úgymint az implantáció típusa, az anyai és magzati vérkeringést elválasztó szövetrétegek száma és az összeköttetést biztosító pontok (a korion felszínén található bolyhok) elhelyezkedése eltér az egyes emlőscsoportok között (8), és ez erősen befolyásolhatja a plazma sejtmentes magzati DNS-ének mennyiségét, de ennek pontos mértéke jelenleg nem ismert. Bizonyos azonban, hogy a minor komponensként jelen lévő *cff*-DNS kinyerésére, sokszorosítására és kimutatására alkalmazott stratégia alapvetően határozza meg a vizsgálat sikerességét és megbízhatóságát.

A cff-DNS vizsgálatán alapuló magzati ivarmeghatározás az Y-kromoszóma kimutatásán alapszik

A *cff*-DNS vizsgálatán alapuló magzati ivarmeghatározás az Y-kromoszóma, mint hímspecifikus kromoszóma kimutatásán alapszik. A módszer az emberen kívül jelenleg csak néhány más emlősfaj (haszonállatok: szarvasmarha [12, 14, 51], juh [4, 23, 24, 41] ló [15, 25]; modellállatok orvosi biológiai kutatásokban: rézuszmajom [22, 35], jávai makákó [53], állatkerti vadállatok: orrszarvú [48], elefánt [50]) esetén alkalmazott. A módszerek fajspecifikusak, így alkalmazási körük jelenleg rendkívül szűk. A kifejlesztett módszerek alapelve azonos, azonban a kivitelezés lépései, az alkalmazott genetikai technikák és kimutatott markergének gyakran eltérőek. Az alkalmazott módszerek hatékonysága, ill. a kimutatás pontossága szintén különbözik, bár ezt alapvetően meghatározza a vizsgált egyedek száma és a tesztelésre kiválasztott vemhességi stádium, amely a hivatkozott irodalmi forrásokban nem egyezik (Táblázat).

MARKERGÉN VIZSGÁLATOK

Az Y kromoszóma kimutatása egy vagy több Y-specifikus markergén detektálásával történhet, a sejtmentes DNS plazmából való kivonása után, polimeráz láncreakció (PCR) segítségével. Leggyakoribb a kizárólag az SRY (sex-determining region Y) gén azonosításának célzása (15, 22, 23, 25, 35, 48, 51), egyes esetekben azonban az amelogenin gén szex-specifikus hosszpolimorfizmusán (AmelX/Y) (4) vagy Y-specifikus inzerciós régiójának kimutatásán (23) is alapulhat a magzati ivarának meghatározása. A jobb megbízhatóság érdekében a magzati ivar meghatározása bizonyos esetekben az SRY és AmelY (41, 50), vagy más Y-specifikus szakaszok (12, 14) együttes kimutatásán alapszik. Reakciókontrollként – amelynek kimutatása a reakció megfelelő működését jelzi az Y-kromoszóma kimutatásának hiányában – olyan DNS-szakasz megfelelő, amely mindkét nemben megtalálható. Ez az esetek nagy részében egy autoszómás gén, mint a glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz (GAPDH) (15, 23, 24, 25, 35), vagy az ϵ -globin (22) gén, de lehet X-kromoszómán lokalizált, mint az amelogenin (AmelX) (48), vagy a proteolipid-protein (PlpX) gén (50). Az amelogenin hosszpolimorfizmusán alapuló meghatározás esetében maga az amelogenin is szolgálhat a reakció kontrolljaként (4, 14, 41).

CÉLZOTT GÉNSZAKASZ

Mivel a vérplazmában található szabad magzati DNS töredezetten, többnyire rövid, maximum 100–200 bázispárnyi fragmentumokban található, a reakció érzékenysége nagyban függ a génen belül célzott génszakasz hosszától. A megfelelő érzékenység és a későbbi detektálhatóság együttes teljesüléséhez a 70–180 bp közötti hosszúságú szakaszok az optimálisak. A választott génszakaszok és primerek az eddigi vizsgálatok közel mindegyikében a vizsgált fajra specifikusak,

Az ivarmeghatározás egy, vagy esetenként több Y-specifikus génszakasz kimutatásán alapszik

A magzati DNS töredezettsége miatt csak rövid génszakaszok vizsgálhatók

A módszerek kifejezetten fajspecifikusak

TÁBLÁZAT. Állatfajokban alkalmazott molekuláris módszerek (a hím és nőstény magzat kimutatásának pontosságával) és markerek a magzati ivar meghatározására

TABLE. Applied molecular methods (with the accuracy of detection) and markers of foetal sexing in animal species

Faj	Módszer (Kimutatás pontossága)	Y-marker Kontroll	Hossz (bp)	Referencia
Rézusmajom <i>Macaca mulatta</i>	Real-time PCR (TaqMan) (nincs adat)	SRY ε-globin	65 63	JIMENEZ & TARANTAL, 2003 (22)
	Nested PCR (hagyományos/real-time) Poliakrilamid gélelektroforézis (♂,♀:100%)	SRY GAPDH	239/75 194	MITSUNAGA és mtsai 2010 (35)
Jávai makákó <i>Macaca fascicularis</i>	Multiplex real-time PCR (♂,♀:100%)	SRY DYS14 nincs kontroll	122 95 -	YASMIN és mtsai 2015 (53)
Szarvasmarha <i>Bos taurus</i>	Nested PCR Gélelektroforézis (♂:100%; ♀:85,7-92,5%)	SRY nincs kontroll	182/124 -	WANG és mtsai 2010 (51)
	Hagyományos multiplex PCR Agaróz gélelektroforézis (88,6%)	ChrY_1 ChrY_2 Chr1 (autosz.)	210 196 280	DA CRUZ és mtsai 2012 (12)
	Hagyományos multiplex PCR Agaróz gélelektroforézis (♂,♀:100%)	Y_BC1.2 AmelY TSPY AmelX	190 341 260 467	DAVOUDI és mtsai 2012 (14)
Ló <i>Equus caballus</i>	Real-time PCR Kétkörös PCR Agaróz gélelektroforézis (♂:72,7-90,9%; ♀:100%)	SRY GAPDH	182 150	LEON és mtsai 2012 (15)
	Nested real-time PCR (♂:85,7%; ♀:90,9%)	SRY GAPDH	155/91 193	KADIVAR és mtsai 2016 (25)
Juh <i>Ovis aries aries</i>	Real-time (PCR) Hagyományos PCR Gélelektroforézis (♂,♀:100%)	SRY GAPDH	286 467	KADIVAR és mtsai 2013 (24)
	Real-time PCR Agaróz gélelektroforézis (♂:96,5%; ♀:87,5%)	AmelY_ins GAPDH	111 467	KADIVAR és mtsai 2015 (23)
	Hagyományos PCR Agaróz gélelektroforézis (♂:80%; ♀:76%)	AmelY AmelX	217 280	ASADPOUR és mtsai 2015 (4)
	Hagyományos PCR Agaróz gélelektroforézis (♂,♀:100%)	SRY AmelY AmelX	171 182 242	SABERIVAND & AHSAN, 2016 (41)
Orrszarvűfélék <i>Diceros bicornis</i> , <i>Certaotherium simum.</i> , <i>Rhinoceros unicornis</i> , <i>Dicerorhinus sumatrensis</i>	Kétkörös PCR Agaróz gélelektroforézis (♂:71-100%; ♀:100%)	SRY Amel	177 232	STOOPS és mtsai 2018 (48)
Afrikai/Ázsiai elefánt <i>Loxodonta africana</i> , <i>Elephas maximus</i>	Multiplex PCR Kapilláris elektroforézis (♂,♀:100%)	SRY AmelY PlpX	85 75 147	VINCZE és mtsai 2019 (50)

ezáltal elkerülhetők az esetleges kontamináció okozta fals-pozitív eredmények, A markergénekre specifikus megfelelő primerek gondos tervezése kritikus a reakció és a kimutatás sikerességéhez.

PCR-ELJÁRÁSOK

Az X- és Y-kromoszómás génszakaszok célzott sokszorosítása több különböző PCR-eljárással történhet, amelyek egymással akár kombinálhatók is. Legegyszerűbb esetben a génszakaszok amplifikálására hagyományos PCR-t végeznek, monoplex rendszerben (egy marker/reakció), egy (jelölt vagy jelöletlen) specifikus primer-pár használatával (4, 24, 41). Bizonyos esetekben az első PCR után ugyanazokkal a primerekkel egy második kör PCR-t is alkalmaznak, amely során az első reakcióból származó termékek reamplifikálása történik (15, 48). Ezzel ez eljárással növelhető az amplifikált DNS-fragmentumok mennyisége, és így a megfelelő ivar kimutatása egy kisebb (70–80%) pontosságról akár 100%-ra is növekedhet. Több markergén esetén sokszorosításuk együttesen, egyetlen reakción belül, multiplex PCR-rendszerben is történhet (12, 14, 50). Ez lényegesen felgyorsítja az eljárást, azonban ez esetben a markergének mindegyikének megfelelő kimutatásához lényeges a primer-párok olvadási hőmérsékletének és koncentrációjának optimális beállítása. A célzott génszakasz felszaporítása ún. nested (fészkes) PCR során is történhet (25, 35, 51), hagyományos vagy valós idejű, ún. real-time PCR-technikával. Ez esetben a markergénnek elsőként egy hosszabb, a célzott génszakaszt tartalmazó szakaszt sokszorosítják, majd a második PCR során a keletkezett termékben belül célozzák meg a rövidebb szakaszt, a rá specifikus második primerpár segítségével. Alkalmazása hasznos lehet azokban az esetekben, amikor a szabad DNS koncentrációja rendkívül kicsi, vagy ha a célzott szakasz specifikus felszaporítása közvetlenül nem, vagy csak nehezen kivitelezhető. Bár ezzel a módszerrel növelhető a specificitás, a szabad DNS-fragmentumok rövidsége miatt a kezdeti hosszabb szakasz megcélzása a reakció érzékenységét jelentősen leronthatja. A real-time/quantitative PCR a célzott marker felszaporítása és közvetlen detektálása mellett a kezdeti koncentráció meghatározására is alkalmas (15, 22, 23, 24, 25, 35, 53). Alkalmazásával tehát az eltérő vemhességi stádiumokból vett vérplazma minták cff-DNS koncentrációja is meghatározható, így a vizsgált faj esetén az anyai vérnek a vemhesség ideje alatt bekövetkező sejtmentes magzati DNS-koncentráció növekedése is számszerűsíthető (az Y-kromoszómás markerek kimutatása esetén).

KIMUTATÁS

A sokszorosított PCR-termékek a legegyszerűbb módon agarózgél-elektroforézissel elválaszthatók és áteső UV-fényben DNS-festéssel detektálhatók (4, 12, 14, 15, 22, 23, 24, 41, 48, 51). Hasonló méretű fragmentumok (multiplex PCR-nél) és kisebb koncentrációk esetén azonban ez az eljárás kevésbé megbízható (Ábra). Jóval érzékenyebb és nagyobb felbontású a poliakrilamid-gélelektroforézis, amelynél utólagos ezüsfestéssel válnak láthatóvá a sokszorosított DNS-amplikonok (35). Az amplifikáló primerek fluoreszcens jelölésével a fragmentumok elkülönítése és fluoreszcens jel általi detektálása kapilláris-elektroforézis segítségével is történhet (50), amely már kisebb koncentráció és akár átfedő mérettartományú PCR-termékek esetén is megbízhatóan alkalmazható (Ábra).

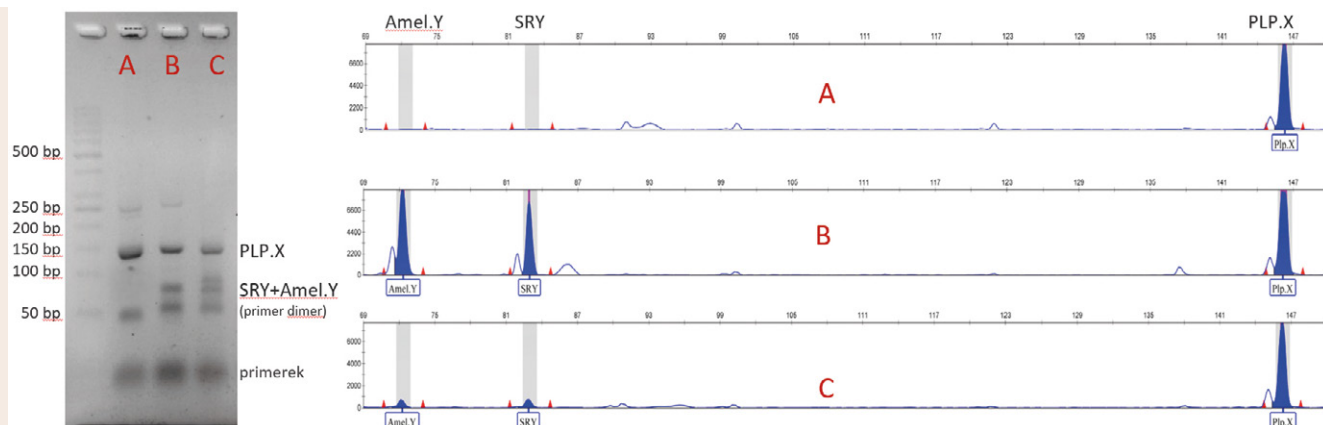
A real-time PCR esetében az azonnali, valós idejű kimutatás szintén a kibocsátott fluoreszcens jel detektálásán alapszik. A kimutatás történhet a reakció során a célzott génszakasz belső nukleotidláncához specifikusan kötődő, fluorofórral jelölt ún. Taqman-próbák segítségével (22), vagy nem szekvencia-specifikus, fluorofór-csoportot tartalmazó interkaláló festékek (pl. SYBR Green) alkalmazásával (15, 23, 24, 25, 35). A reakció minden egyes ciklusában megtörténik a jelintenzitás mértékének meghatározása, és a fluoreszcencia jel növekedése egyenesen arányos az újonnan szintetizálódó DNS-szakaszok mennyiségével.

A kiválasztott génszakaszok sokszorosítása történhet egyszerű, többkörös vagy akár multiplex rendszerekben is

A valós idejű módszerek mennyiségi meghatározásra is alkalmasak

A hagyományos PCR-reakciók kiértékelése valamilyen elektroforézis-eljárással történik

Valós idejű PCR esetén az eredmények a reakcióval egy időben követhetők



ÁBRA. Három minta multiplex reakcióban (PLP.X, SRY, Amel.Y) sokszorosított PCR-termékeinek kimutatása agaróz gélen (balra) és kapilláris-elektroforézissel (jobbra)

A: nőstény elefánt kontroll mintája, B: hím elefánt kontroll mintája, C: hím borjúval vemhes elefánt plazmamintája

FIGURE. Result of a multiplex PCR (PLP.X, SRY, Amel.Y) detected on agarose gel (left side) and by capillary electrophoresis (right side)
A: female elephant control, B: male elephant control, C: plasma sample from a pregnant elephant with male foetus

A szignifikáns fluoreszcencia növekedés mértékéből nagy pontossággal meghatározható a célzott génszakasz (DNS-templát) kiindulási mennyisége (kópiaszáma).

A kimutatott (amplifikált és detektált) DNS-szakasznak a célzott markergén-szakasszal való valódi egyezése szekvenciameghatározással igazolható.

ÖSSZEZEGÉS

Az anyai vérkeringésből több mint két évtizede kimutatott magzati DNS jelenléte nemcsak a humán orvosbiológia (NIPT) területén intenzíven kutatott; a makákókban, mint modellállatokban való kimutatását gyorsan követte a *cff*-DNS állattenyésztésben való alkalmazhatóságának vizsgálata is (Táblázat). A vemhesség előrehaladtával a magzati eredetű sejtmentes genetikai anyag koncentrációja az anyai vérben fokozatosan nő, és az alkalmazott módszertől függően kb. a második trimeszter elejétől nagy biztonsággal kimutatható. Bár mikroszatellita- és SNP- (single nucleotide polymorphism) vizsgálatokkal a nőivarú magzat genetikai állománya az X-kromoszómás és autoszómás vizsgálatok alapján is elkülöníthető az anyai genomtól (54), az állattenyésztésben jelenleg az Y-kromoszómás markervizsgálatoké a döntő szerep. Ennek oka, hogy az állatfajok ivar által meghatározott, ill. befolyásolt fenotípusos tulajdonságainak ágazatonként különböző a gazdasági értéke. A születendő állat ivarának korai ismerete azonban nemcsak a gazdasági haszon szempontjából értékes, hanem egyes, állatkertben tartott vad emlősfajok utódai elhelyezésének időben elkezdett szervezésében és a kellő genetikai diverzitás fenntartásához is szükséges. A módszer alkalmazása az érintett, általában veszélyeztetett fajoknál segítséget nyújt az Európai Állatkertek és Akváriumok Szövetsége (EAZA) globálisan koordinált, tudományos tenyésztési programjaiban, úgymint a megfelelő csere- és tenyésztési programok tervezésében.

A jelen összefoglalónkban ismertetett, nem-invazív beavatkozás mára egyre több gazdaságilag fontos vagy veszélyeztetett fajban lehetőséget nyújt arra, hogy a széles körben alkalmazott egyéb – sokszor időben korlátozott és fajonként eltérő megbízhatóságú – magzati ivar meghatározására irányuló módszereket kiegészítse. Mivel azonban az eddig kifejlesztett fajspecifikus módszerek alkalmazási köre szűk és lassan bővül, érdemes lehet a jövőben az emlős fajok szélesebb körében egységesen alkalmazható módszert kifejleszteni.

A magzat ivarának korai meghatározása számos házi és fogságban tartott vadállat esetében hasznos lehet

IRODALOM

1. ABELLÓ, M. T. – RIETKERK, F. – BEMMENT, N.: EAZA BEST PRACTICE GUIDELINES. 2017.
2. ALBERRY, M. – MADDOCKS, D. et al.: Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenatal Diagnosis: Published in Affiliation With the International Society for Prenatal Diagnosis*, 2007. 27. 415–418.
3. ANDRÉKA, Gy. – GUNICS, Z.: Állatkerti Tenyésztőprogramok – tenyésztünk, szaporítunk vagy szelektálunk? Vad- és egzotikus állatok szaporodásbiológiája, állatkerti tenyésztőprogramok – fiatal- és növendék állatok betegségei, A Magyar Vad-és Állatkerti Állatorvosok Társasága, valamint a Fővárosi Állat-és Növénykert közös konferenciája, Budapest, 2015. március 27-29. (14–16. oldal)
4. ASADPOUR, R. – ASADI, M. H. et al.: Ovine fetal sex determination using circulating cell-free fetal DNA (ccffDNA) and cervical mucous secretions. *Asian Pacific J. Reprod.*, 2015. 4. 65–69.
5. BIANCHI, D. W. – PARKER, R. L. et al.: DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *New Engl. J. Med.*, 2014. 370. 799–808.
6. BISCHOFF, F. Z. – LEWIS, D. E. – SIMPSON, J. L.: Cell-free fetal DNA in maternal blood: kinetics, source and structure. *Hum. Reprod. Update*, 2005. 11. 59–67.
7. BUCCA, S.: Equine fetal gender determination from mid-to advanced-gestation by ultrasound. *Theriogenology*, 2005. 64. 568–571.
8. CHAVATTE-PALMER, P. – TARRADE, A.: Placentation in different mammalian species. In *Annales d'endocrinologie*. Elsevier Masson. 2016. 67–74.
9. CHEZUM, B. – WIMMER, B.: Roses or lemons: adverse selection in the market for thoroughbred yearlings. *Rev. Econ. Stat.*, 1997. 79. 521–526.
10. CHIU, R. W. – AKOLEKAR, R. et al.: Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study. *Bmj*, 2011. 342. c7401.
11. CURRAN, S.: Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. *Theriogenology*, 1992. 37. 17–21.
12. DA CRUZ, A. S. – SILVA, D. C. et al.: Cattle fetal sex determination by polymerase chain reaction using DNA isolated from maternal plasma. *Anim. Reprod. Sci.*, 2012. 131. 49–53.
13. DAVOODIAN, N. – KADIVAR, A.: Prenatal determination of farm animal fetal sex using free fetal DNA in maternal plasma. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 2016. 9. 38–45.
14. DAVOUDI, A. – SEIGHALANI, R. et al.: A low-cost efficient multiplex PCR for prenatal sex determination in bovine fetus using free fetal DNA in maternal plasma. *Int. J. Fertil. Steril.*, 2012. 6. 45.
15. DE LEON, P. M. M. – CAMPOS, V. F. et al.: Equine fetal sex determination using circulating cell-free fetal DNA (ccffDNA). *Theriogenology*, 2012. 77. 694–698.
16. DUER, C. – CARDEN, M. et al.: Utility of maternal serum total testosterone analysis for fetal gender determination in Asian elephants (*Elephas maximus*). *Anim. Rep. Sci.*, 2002, 69. 47–52.
17. FINNING, K. – MARTIN, P. et al.: Effect of high throughput RHD typing of fetal DNA in maternal plasma on use of anti-RhD immunoglobulin in RhD negative pregnant women: prospective feasibility study. *BMJ*, 2008. 336. 816–818.
18. HUI, L. – VAUGHAN, J. I. – NELSON, M.: Effect of labor on postpartum clearance of cell-free fetal DNA from the maternal circulation. *Prenatal Diagnosis: Published in Affiliation With the International Society for Prenatal Diagnosis*, 2008. 28. 304–308.
19. ILVCSIN, L.: Állattréning a budapesti állatkertben, különös tekintettel az elefántok vonatkozásában. Vad- és egzotikus állatok altatása és monitorizálása; anesztézia vs. orvosi tréning; pszichotikus betegségek állatkerti- és egzotikus állatokban, A Magyar Vad-és Állatkerti Állatorvosok Társasága, valamint a Fővárosi Állat-és Növénykert közös konferenciája, Budapest, 2016. április 1-3.
20. JACKSON, L.: Fetal cells and DNA in maternal blood. *Prenatal Diagnosis: Published in Affiliation With the International Society for Prenatal Diagnosis*, 2003. 23. 837–846.
21. JEON, Y. J. – ZHOU, Y. et al.: The feasibility study of non-invasive fetal trisomy 18 and 21 detection with semiconductor sequencing platform. *PLoS One*, 2014. 9. 10.
22. JIMENEZ, D. F. – TARANTAL, A. F.: Quantitative analysis of male fetal DNA in maternal serum of gravid rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Pediatr. Res.*, 2003. 53. 18–23.
23. KADIVAR, A. – HASSANPOUR, H. – DEHCHESHMEH, J. A.: A novel approach to prenatal fetal sex diagnosis by detecting an insertion in the Y-chromosome of ovine Amelogenin gene. *Small Rumin. Res.*, 2015. 123. 218–223.
24. KADIVAR, A. – HASSANPOUR, H. et al.: Detection and quantification of cell-free fetal DNA in ovine maternal plasma; use it to predict fetal sex. *Theriogenology*, 2013. 79. 995–1000.
25. KADIVAR, A. – TAFTI, R. D. et al.: Developing a nested real-time PCR assay for determining Equine fetal sex prenatally. *J. Equine Vet. Sci.*, 2016. 40. 74–79.
26. KENNEDY, J.: AZA North American Regional Studbook. Greater One-Horned Rhinoceros, *Rhinoceros unicornis*. San Diego Zoo Global. 2016. 1–32.
27. KOROKNAI, V. – KERTÉSZ, P. – SÓS, E.: A „könnyítő” faktor? Állat-egészségügyi tréning kivitelezése állatkerti állatoknál. Vad- és egzotikus állatok altatása és monitorizálása; anesztézia vs. orvosi tréning; pszichotikus betegségek állatkerti- és egzotikus állatokban, A Magyar Vad-és Állatkerti Állatorvosok Társasága, valamint a Fővárosi Állat-és Növénykert közös konferenciája, Budapest, 2016. április 1-3.
28. LANSFORD JR, N. H – FREEMAN, D.W. et al.: Hedonic pricing of race-bred yearling Quarter Horses produced by Quarter Horse sires and dams. *J. Agribusiness*, 1998. 16. 1–17.
29. LI, Y. – ZIMMERMANN, B. et al.: Size separation of circulatory DNA in maternal plasma permits ready detection of fetal DNA polymorphisms. *Clin. Chem.*, 2004. 50. 1002–1011.
30. LIAO, G. J. – LUN F. M. et al.: Targeted massively parallel sequencing of maternal plasma DNA permits efficient and unbiased detection of fetal alleles. *Clin. Chem.*, 2011. 57. 92–101.
31. LO, Y. D. – CORBETTA N. et al.: Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *The Lancet*, 1997. 350. 485–487.
32. LO, Y. D. – TEIN, M. S. et al.: Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Am. J. Hum. Genet.*, 1998. 62. 768–775.
33. LO, Y. D. – ZHANG, J. et al.: Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. *Am. J. Hum. Genet.*, 1999. 64. 218–224.

34. LUN, F. M. – CHIU, R. W. et al.: Microfluidics digital PCR reveals a higher than expected fraction of fetal DNA in maternal plasma. *Clin. Chem.*, 2008. 54. 1664–1672.
35. MITSUNAGA, F. – UEIWA, M. et al.: Fetal sex determination of macaque monkeys by a nested PCR using maternal plasma. *Exp. Anim. Tokyo*, 2010. 59. 255–260.
36. MUJEZINOVIC, F. – ALFIREVIC, Z.: Procedure-related complications of amniocentesis and chorionic villous sampling: a systematic review. *Obstet. Gynecol.*, 2007. 110. 687–694.
37. OLSON, D. (Ed.): *Elephant husbandry resource guide*. 2002.
38. PANARACE, M. – PELLEGRINI, R. et al.: First field results on the use of stallion sex-sorted semen in a large-scale embryo transfer program. *Theriogenology*, 2014. 81. 520–525.
39. PAPP, E. Á.: A „vet advisor” és az állatkerti tenyésztőprogramok. Vad- és egzotikus állatok szaporodásbiológiája, állatkerti tenyésztőprogramok – fiatal- és növendék állatok betegségei, A Magyar Vad-és Állatkerti Állatorvosok Társasága, valamint a Fővárosi Állat-és Növénykert közös konferenciája, Budapest, 2015. március 27–29. (12–13. oldal)
40. PUSHPAKUMARA, A. – THITARAM C. – BROWN, J. L.: *Elephants. Veterinary reproduction & obstetrics* (eds, NOAKES, D. E. – PARKINSON, T. J. – ENGLAND, G. C. W.) Elsevier, 2019. 724–744.
41. SABERIVAND, A. – AHSAN, S.: Sex determination of ovine embryos by SRY and amelogenin (AMEL) genes using maternal circulating cell free DNA. *Anim. Rep. Sci.*, 2016. 164. 9–13.
42. SANTOS, M. H. B. – RABELO, M. C. et al.: Determination of the genital tubercle migration period in Morada Nova sheep fetuses by ultrasonography. *Reprod. Domest. Anim.*, 2007. 42. 214–217.
43. SÁPI, Á.: Az állatkerti állattréning alapjai. Vad- és egzotikus állatok altatása és monitorizálása; anesztézia vs. orvosi tréning; pszichotikus betegségek állatkerti- és egzotikus állatokban, 2016. 70–71. A Magyar Vad-és Állatkerti Állatorvosok Társasága, valamint a Fővárosi Állat-és Növénykert közös konferenciája, Budapest, 2016. április 1–3.
44. SEKIZAWA, A. – SAMURA, O. et al.: Apoptosis in fetal nucleated erythrocytes circulating in maternal blood. *Prenatal Diag.*, 2000. 20. 886–889.
45. SEKIZAWA, A. – YOKOKAWA, K. et al.: Evaluation of bidirectional transfer of plasma DNA through placenta. *Hum. Genet.*, 2003. 113. 307–310.
46. SILVERSIDES, D.W. – PILON, N. et al.: Genetic manipulation of sex differentiation and phenotype in domestic animals. *Theriogenology*, 2001. 55. 51–63.
47. SMETS, E. M. – VISSER, A. et al.: Novel biomarkers in preeclampsia. *Clin. Chim. Acta*, 2006. 364. 22–32.
48. STOOPS, M. A. – WINGET, G. D. et al.: Early fetal sexing in the rhinoceros by detection of male-specific genes in maternal serum. *Mol. Reprod. Dev.*, 2018. 85. 197–204.
49. TSUI, N. B. – KADIR, R. A. et al.: Noninvasive prenatal diagnosis of hemophilia by microfluidics digital PCR analysis of maternal plasma DNA. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 2011. 117. 3684–3691.
50. VINCZE, B. – GÁSPÁRDY, A. – BIÁCSI, A. – PAPP, E. Á. – GARAMVÖLGYI, L. – SÓS, E. – CSEH, S. – KOVÁCS, G. – PÁDÁR, Zs. – ZENKE, P.: Sex determination using circulating cell-free fetal DNA in small volume of maternal plasma in elephants. *Sci. Rep.*, 2019. 9. 1–7.
51. WANG, G. – CUI, Q. et al.: Prediction of fetal sex by amplification of fetal DNA present in cow plasma. *J. Reprod. Develop.*, 2010. 1008250297–1008250297.
52. WANG, E. – BATEY A. et al.: Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenatal Diag.*, 2013. 33. 662–666.
53. YASMIN, L. – TAKANO, J. I. et al.: Detection and quantification of male-specific fetal DNA in the serum of pregnant cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Comparative Med.*, 2015. 65. 70–76.
54. ZHANG, S. – HAN, S. et al.: Non-invasive prenatal paternity testing using cell-free fetal DNA from maternal plasma: DNA isolation and genetic marker studies. *Legal Med. Tokyo*, 2018. 32. 98–103.

Közlésre érck.: 2020. febr. 21.

Mikológia

A Mikológia szekcióban a tudományos vitát HARRACH BALÁZS és KAJÁN Győző vezették le.

Az egyetlen előadást DOMÁN MARIANNA tartotta, társszerzői MAKRAI LÁSZLÓ, BALI KRISZTINA, LENGYEL GYÖRGY, KOVÁCS RENÁTO, MAJOROS LÁSZLÓ és BÁNYAI KRISZTIÁN voltak, az előadás címe "Állati és emberi eredetű *Candida albicans* izolátumok összehasonlító molekuláris genetikai vizsgálata" volt.

Az opportunistá patogén gombák állati és emberi megbetegedéseket egyaránt okozhatnak. A mikózisok gazdasági kártételének hátterében a növekedést, szaporodást, a fertőzésekkel szembeni ellenálló képességet negatívan befolyásoló hatások állnak. A háziállatokban előforduló candidiasisok epidemiológiájáról kevés adat áll rendelkezésre a nemzetközi irodalomban, ill. Magyarországon ilyen jellegű felmérés ez idáig nem történt.

A kutatók célja az állati és emberi eredetű *Candida albicans* izolátumok teljes genomjának összehasonlító elemzése, valamint az izolátumok molekuláris epidemiológiai vizsgálata volt. Az eukarióta genom komplexitása miatt a teljes genomok összehasonlító elemzésével alaposabban vizsgálhatják a virulenciafaktorokat, ill. azok változatosságát a különböző izolátumok között, a gombaellenes szerekekkel szembeni rezisztencia genetikai hátterét és ezek terjedését. Jelen előadásukban az előzetes felméréseik eredményeit mutatták be.

Vizsgálataikat libák és kacsák begymikózisából származó 51 izolátummal, egy struccból és egy sólyomból származó izolátummal, valamint 6 emberi izolátummal végezték el. A fajmeghatározás a teljes ITS (internal transcribed spacer) rRNS régió amplifikálásával, majd a termékek Sanger-szekvenálásával történt. A *C. albicans* izolátumokat multi-locus sequence typing (MLST) rendszerrel genotipizálták.

A legtöbb begyűjtött mintából *C. albicans*-t tenyésztettek ki, emellett más gombafajokat is azonosítottak begymikózisból (*C. krusei*, *C. inconspicua*, *Magnusiomyces capitatus*, *Trichosporon asahii*, *C. kefyr*, *C. pelliculosa*, *C. rugosa*, *C. lambica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kazachstania bovina*). A szakirodalomban a *C. albicans*-t tartják a begymikózisok hátterében az elsődleges kórokozónak, vizsgálataik azonban rámutattak, hogy más fajoknak is lehet etiológiai szerepe a begymikózis kialakításában. Közülük különösen érdekes egyes, emberben jelentős mortalitást okozó és gombaellenes szerekekkel szemben többnyire jelentős rezisztenciát mutató fajok (*M. capitatus* és *T. asahii*) azonosítása. Az MLST-vizsgálat

során a *C. albicans* izolátumok között 8 esetben olyan allélkombinációt azonosítottak, amelyek nem szerepelnek a nemzetközi adatbázisban. Megállapították továbbá, hogy egyes *C. albicans* genotípusok állatokban és emberekben egyaránt előfordulhatnak. A *C. albicans* genotípusok fajok közötti átvitelének lehetőségét érdemes lehet tovább vizsgálni az epidemiológiai és molekuláris genetikai módszerek kiterjesztésével.

A munka anyagi fedezetét a Magyar Tudományos Akadémia Lendület programja biztosította. DOMÁN MARIANNA munkáját a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal PD_18 (128617) pályázata támogatta.

Az előadást követően BENKŐ MÁRIA érdeklődött, hogy inkább háztáji vagy nagyüzemi környezetben fordul-e elő ilyen megbetegedés, valamint arról, hogy a sporadikus vagy a járványos forma-e a jellemzőbb. Az előadó a gépi tömés jelentőségét hangsúlyozta a terjesztésben, de megemlítette a víz esetleges terjesztőszerpét is, ill. az antibiotikumos kezelések hajlamosító szerepét; ez esetekben a megbetegedés akár járványosan is előfordulhat. KAJÁN GYŐZŐ a genomméretről érdeklődött, amely 14 millió bázis hosszúságú, Illumina technológiát alkalmaztak a szekvenálásra.

Viroológia és immunológia

A Viroológia és immunológia szekcióban a tudományos vitát továbbra is HARRACH BALÁZS és KAJÁN GYŐZŐ vezették.

Az első előadást BALI KRISZTINA tartotta, társszerzői BÁLINT ÁDÁM, FARSANG ATTILA, MARTON SZILVIA, MATÓ TAMÁS, KISS ISTVÁN, PALLYA VILMOS és ismét BÁNYAI KRISZTIÁN voltak, az előadás a "Vad és vakcina eredetű fertőző bronchitis vírus törzsek közötti genetikai interakció vizsgálata teljesgenom-elemzés segítségével" címet viselte.

A csirkék fertőző bronchitise jelentős morbiditással járó vírusos eredetű megbetegedés. A fertőző bronchitis vírusa (infectious bronchitis virus, IBV) lipid burokkal és körülbelül 27 kb hosszúságú szimpla szálú, pozitív RNS-genommal rendelkezik. Az IBV-törzsek genotipizálása és filogenetikai vizsgálata legtöbbször az IBV S1 gén elemzésén alapszik. Ennek a viszonylag rövid genomi régióknak a meghatározása azonban a vírus evolúciója szempontjából gyakran nem nyújt elegendő információt.

A kutatók célul tűzték ki a rendelkezésükre álló hazai és nemzetközi gyűjtésből származó IBV-törzsek genetikai jellemzését, és az egyes törzsek között fellépő rekombináció lehetőségének vizsgálatát.

Egy nagyobb törzsgyűjteményből összesen 20 európai (öt hazai, egy fehéroroszországi, négy görögországi, egy lengyelországi, egy portugáliai, hét romániai, és egy ukrainai) eredetű IBV-törzs teljes genomjának meghatározását végezték el random RT-PCR-rel történő

amplifikációt követő újgenerációs szekvenálási módszer segítségével (Ion Torrent PGM és Illumina NextSeq 500 platformokon). A konszenzus szekvenciák összeállítása után filogenetikai és rekombináció elemzést végeztek. Az elemzésekhez további 49, a GenBank adatbázisában elérhető teljes IBV-genomszekvenciát is felhasználtak.

A vizsgált IBV-genomok 27348–27845 nukleotid hosszúságúak voltak és 84,7–99,9% nt azonosságot mutattak egymással, ill. az elemzésbe bevont génbanki IBV-genomokkal a végzett összehasonlításban. Az újonnan szekvenált IBV törzsek S1 génjének filogenetikai vizsgálatával öt genotípust azonosítottak (két-két törzs a GI-1 és GI-21 genotípusba volt sorolható, egy a GI-9, négy a GI-13 és végül 11 pedig a GI-19 genotípusba), amelyek közül a GI-21 általánosan elterjedt Európában, míg a GI-1, GI-13 és GI-19 genotípusok globálisan is gyakoriak. A rekombinációs mintázatok elemzéséhez bevont teljes IBV-genomszekvenciák közül 36 vad típusú, 33 vakcina eredetű törzsé volt. Összesen 302 rekombinációs eseményt azonosítottak, számos genom esetében több rekombinációs törésponttal. Bár a rekombinációs események időbeli sorrendjét nem tudták megállapítani, a magyarországi és európai eredetű vad, ill. vakcina eredetű IBV-törzsek közötti rekombinációs események genotípus-specifitástól függetlenül gyakoriak. A rekombináció, mint a vírus diverzitásáért felelős kulcsfontosságú evolúciós mechanizmus, befolyásolhatja az IBV-törzsek pato- és szerotípusát, ill. az ún. protektotípusát, éppen ezért e gyorsan változó vírus elleni védekezés során a megfelelő vakcinatörzsek kiválasztásánál érdemes lehet a rekombinációra való hajlamot is vizsgálni.

A kutatómunka anyagi fedezetét a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal K120201 számú pályázata biztosította.

Az előadás után ZÁDORI ZOLTÁN azt kérdezte, hogy ha a rekombináns vírustörzsek vakcinatörzsektől erednek, tudunk-e valamit az új vírustörzs patogenitásáról. Az előadó válaszában az imrehegyi törzset említette, amely nephropatogénnek bizonyult. Kiss István az után érdeklődött, hogy hogyan lehetne vizsgálni adott vírustörzsek rekombinációra való hajlamát, de az előadó erre nem tudott érdemben válaszolni.

A következő előadó FEHÉR ORSOLYA ESZTER volt, társszerzői pedig FORGÁCH PETRA, MAROSI ANDRÁS, MALIK PÉTER, NAGY ANNA, TAKÁCS MÁRIA és KORBACSKA-KUTASI ORSOLYA. Előadásuknak a következő címet adták: "A nyugat-nílus vírus és más flavivírusok aktivitása Magyarországon".

Az elmúlt, 2018-as évben rekord számú Nyugat-nílus vírus (NyNV) okozta idegrendszeri megbetegedést észlelték hazánkban és Európa számos más országában mind lovakban, mind emberekben. Míg az első hazai NyNV-járvány esetén 2008-ban csak 16 ló betegedett

meg, 2016-ban 56 esetet, majd 2018-ban 91 bizonyítottan NyNV-okozta megbetegedést diagnosztizáltak. A jelentős esetszám mellett előfordultak olyan szezonális heveny idegrendszeri megbetegedések, amelyek klinikai lefolyásukban az NyNV jellegzetességeit mutatták, azonban a nemzetközi (OIE) előírásokon alapuló IgM ELISA-vizsgálaton negatívnak bizonyultak.

A tanulmány során szerettek volna információt nyerni az NyNV, ill. esetlegesen más jelenlévő flavivírus hazai előállományt érintő aktivitásáról és a tünetmentesen fertőződött egyedek arányáról.

A 2018-as szezont követően 112 egészséges, idegrendszeri tüneteket nem mutató, NyNV ellen nem vakcinázott lovat vizsgáltak IgG ELISA-tesztel, amely lovak 72,3%-a bizonyult szeropozitívnak. A vizsgált minták közül 73 esetben vírusneutralizációs eljárásban mérték az ellenanyagok titerértékét, amely során a két eljárás 94,5%-ban azonos eredménnyel zárult. Négy esetben, bár az IgG ELISA-vizsgálat pozitív lett, a vírusneutralizációban azonban a NyNV-fertőzés nem volt igazolható. Nyolc olyan lovat vizsgáltak, amelyek a 2018-as vagy a 2019-es szezonban heveny idegrendszeri tünetet mutattak, de IgM ELISA-teszten negatívnak bizonyultak. Ezen lovak IgG ELISA-vizsgálata 80%-ban pozitívan zárult, majd vírusneutralizációval vizsgálták őket, a lehetséges más flavivírus fertőzések azonosítása céljából.

Az eddigi szerológiai vizsgálatok eredménye alapján nem kizárható, hogy mind a tünetmentes fertőzések, mind a szezonális idegrendszeri megbetegedések némelyikét, valamilyen más flavivírus okozza. A tünetmentesen NyNV-vel fertőződött lovak esetében olyan titerértékeket mértek (1:64<), amelyek az NyNV-antigén tulajdonságait tekintve, megfelelő védelmet nyújtanak egy esetleges megbetegedéssel szemben.

A kutatók köszönetüket fejezik ki a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottságnak (NKB) és az Állatorvostudományi Egyetem Doktori Iskolájának (ÁTE ÁODI) a kutatásokhoz nyújtott támogatásaiért.

Az előadást követő vitában HARRACH BALÁZS arról érdeklődött, hogy az NyNV-törzseken kívül tudtak-e kimutatni más flavivírusokat is. FEHÉR ORSOLYA pozitív választ adott a kérdésre, és a szűnyogokat jelölte meg főbb izolálási forrásként. NAGY BÉLA még annyi megjegyzést fűzött az előadáshoz, hogy libáknál a 2003/2004-es szezonban írtak le egy NyNV-okozta járványt.

A harmadik előadó KASZAB ESZTER volt, társ szerzői LENGYEL GYÖRGY, MARTON SZILVIA, DÁN ÁDÁM, BÁNYAI KRISZTIÁN és FEHÉR ENIKŐ. Az előadásnak a "CRESS DNS-vírusok vizsgálata hazai vizes élőhelyeken előforduló vadmarakban" címet adták.

A *Circoviridae* víruscsaládba tartozó circovírusok és cyclovírusok körülbelül 1700–2100 bázis hosszúságú cirkuláris, egyszálú DNS-genommal rendelkező vírusok, amelyeket a replikációban elsődleges szerepet

játszó *rep* és a kapszid fehérjét kódoló *cp* gén elhelyezkedése alapján különböztetünk meg. Az utóbbi néhány évben számos, a *Circoviridae* családba nem sorolható, de genomszintű szerkezeti hasonlóságot mutató vírust írtak le, amelyekre a *Circoviridae* család tagjaival együtt CRESS (circular Rep-encoding single-stranded) DNS-vírusként hivatkoznak. CRESS DNS-vírusokat gerinces és gerinctelen élőlényekben és környezeti mintákban is leírtak, amelyek eredete és etiológiai szerepe a legtöbb esetben kérdéses.

A kutatók vizsgálataikhoz vizes élőhelyek környékén előforduló vadmadarakból származó, influenza-vírus-szűrésre érkezett kloákatampon-mintákat ($n = 90$) használtak fel circo- és cyclovírusok kimutatására. Tanulmányuk célja a kimutatott vírusok teljes genom-szekvenciájának jellemzése volt.

A minták DNS-állományának kivonását követően szűrővizsgálat gyanánt univerzális circovírus/cyclovírus specifikus primereket használtak a *rep* gén részleges amplifikálására. A kapott PCR-termékek nukleotid-sorrendjének ismeretében további primerpárokat terveztek a vírusok teljes genomjának felszorzására, majd azokat szekvenálásnak vetették alá.

A PCR 30 minta esetében mutatott ki circo- és cyclovírus eredetű szekvenciákat. A teljes genom elemzése három különböző vírus, a *Goose circovirus* fajba tartozó circovírus, a már új fajként (*Duck associated cyclovirus 1*) is elfogadott DuACyV-1 és a szintén újonnan leírt *Garulus glandarius associated circular virus 1* (GgaCV-1) jelenlétét igazolta a mintákban.

Az egyes vírusok eloszlása madárfajtól független, az adott vizes élőhelyhez, ill. földrajzi régióhoz kötött mintázatot mutatott. A vizsgálatba bevont madárfajok jelentős része vonuló életmódot folytat, amely elősegíti a vírusok térbeli szóródását. Bár a vírus sikeres szaporodására alkalmas gazdafaj ismeretlen, a víz megfelelő közvetítő közeg lehet a vírusok átadására. A potenciális gazdafajokra és környezetre is kiterjedő mintavételezés elősegítheti a vizsgált vírusok szerepének feltárását adott ökológiai rendszerben, ill. a vírusok esetleges járványtani szerepének meghatározását.

A projekt anyagi fedezetét a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal K120201 számú pályázata, valamint az MTA Lendület programja biztosította. FEHÉR ENIKŐ és MARTON SZILVIA munkáját a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János ösztöndíja támogatta.

Az tudományos vita során HARRACH BALÁZS javasolta, hogy a kimutatott új CRESS DNS-vírus besorolását is érdemes lenne elvégezni a nemrég frissített rendszertan szerint.

A következő előadás első szerzője KASZAB ESZTER volt, de az előadást FEHÉR ENIKŐ tartotta. Társ szerzőik MARTON SZILVIA, DÁN ÁDÁM, FARSANG ATTILA, BÁLINT ÁDÁM és BÁNYAI KRISZTIÁN voltak.

Előadásuk címe "A lúd haemorrhagiás polyomavírus filodinamikai vizsgálata" volt. A lúd haemorrhagiás polyomavírus (Goose haemorrhagic polyomavirus, GHPV, *Anser anser polyomavirus 1*) egy kisméretű kettős szárlú DNS-genommal rendelkező vírus. A GHPV által okozott betegséget először Magyarországon regisztrálták 1969-ben. A fiatal egyedek megbetegedése súlyos belső szervi rendellenességekkel, idegrendszeri tünetekkel és elhullással járhat. A vírus szaporodik kacsákban is, tünetek kiváltása nélkül.

Tanulmányuk célja Magyarországon leírt GHPV törzsek genomjának meghatározása és filodinamikai jellemzése volt.

A NÉBIH Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóságán 2005 és 2019 között 1111 lúd és kacska belső szerv és bélsár mintájában vizsgálták a GHPV előfordulását, és 384 esetben azonosították azt. Éves viszonyításban a beérkező minták száma és a GHPV-pozitív minták száma hullámzó tendenciát mutatott, a 2008, 2013 és 2016-os években mérhető csúcsokkal. Összesen 22 új GHPV-törzs teljes genomszekvenciáját határozták meg, köztük az első járványos előfordulások során gyűjtött törzsét. A genomok szerkezete és a kódolt gének hossza megegyezik a szakirodalomban leírtakkal. Az elérhető GHPV-szekvenciák felhasználásával evolúciós elemzéseket végeztek. A becsült evolúciós ráta 10^{-5} – 10^{-6} s/s/y (substitutions/site/year) nagyságrendű a teljes genomszekvenciák és egyedi gének esetében. A házi víziszárnyasokból származó szekvenciákon túl vadmadár eredetű VP1 szekvenciákat is bevontak a vizsgálatokba. Az elemzés emelkedett, 10^{-4} s/s/y nagyságrendű szubsztitúciós rátát mutatott, ami a vírus gazdához történő adaptációja miatt felhalmozódó nukleotidváltozások miatt lehetséges. A szelekciós analízis szerint a GHPV-genomokra/génekre negatív szelekciós nyomás hat. A VP1 génből készített időskálázott filogenetikai fán az 1969-ből származó törzs elkülönült kládként jelent meg. A másik kládban a 2010 előtt és után gyűjtött magyar minták jellemzően külön szubkládot alkottak. A 2010 utáni időszakból származó szekvenciák Lengyelországban leírt lúd, kacska és vadmadár eredetű vírusszekvenciákkal csoportosultak. A törzsek filogenetikai értelemben vett elhelyezkedése felveti a különböző vírustörzsek egyidejű cirkulációját, egyes törzsek időközönkénti felbukkanását, ill. újak megjelenését, amelyekért a betegségből felépült egyedek, a környezeti kontamináció, ill. a rezervoárszervezetek tehetők felelőssé.

Bár a polyomavírusokat lassan evolválódó, kevés gazdafajhoz kötődő vírusként jellemzik, a tanulmány arra utal, hogy a GHPV az ismert gazdafajok mellett vadmadarakban is képes szaporodni. A vonuló madarak elősegíthetik a vírusok szóródását, új vírustörzsek behurcolását.

A projekt anyagi fedezetét a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal PD115519 és K120201 számú pályázata biztosította. FEHÉR ENIKŐ és MARTON SZILVIA munkáját a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János ösztöndíja támogatta.

A tudományos vita során ZÁDORI ZOLTÁN arról érdeklődött, hogy a számítások során figyelembe veszik-e, hogy az adott vírustörzsek már hosszú ideje együtt fejlődhetnek a gazdafajjal, ill. még azt kérdezte, hogy a detektált szubsztitúciók kódoló vagy nem kódoló régiókban található-e. FEHÉR ENIKŐ válaszában kifejtette, hogy a szubsztitúciós rátát több tényező is befolyásolhatja a szekvenálási hibáktól a mintázás gyakoriságán át a vizsgált szakasz hosszaiig. Továbbá rámutatott, hogy detektáltak szubsztitúciókat mind a kódoló, mind a nem kódoló régiókban.

Az ötödik előadó a szekcióban MÉSZÁROS ISTVÁN volt, társ-szerzői pedig TAMÁS VIVIEN, OLASZ FERENC, HORNÁK ÁKOS, KISS ISTVÁN és ZÁDORI ZOLTÁN. Előadásának címe "A sertés parvovírus 27a törzs fertőzőképességének vizsgálata sertés here és sertésvese eredetű sejtvonalakon" volt.

Az ezredforduló után több tanulmányt is publikáltak, amelyek olyan új sertés parvovírus- (PPV) törzsek megjelenéséről tudósítottak, amelyek ellen a forgalomban lévő vakcinák gyengébb védelmet nyújtanak (az egyik legjobban jellemzett a PPV 27a törzs). A publikált vizsgálatok alapján, az immunizálás során termelődött ellenanyagok rosszabb hatásfokkal neutralizálják az új izolátumokat, ami felveti annak a lehetőségét, hogy az évtizedek óta alkalmazott vakcinák már nem nyújtanak teljes védelmet a betegség ellen.

Szakirodalmi adatok sokasága áll rendelkezésre arról, hogy különböző parvovírus-törzsek azonos sejtvonalat eltérő hatékonysággal képesek megfertőzni. Mivel a vírusneutralizációs (VN) tesztekben hagyományosan az azonos vírusrészeket TCID₅₀-érték alapján adják meg, ezért a különböző fertőzőképességű törzseknel az azonos TCID₅₀-érték eltérő számú viriont reprezentál. Ez az eltérés pedig megnehezíti vagy akár lehetetlenné teszi a vírusneutralizációs tesztek eredményeinek értékelését.

A kutatás célja a PPV 27a törzs fertőzőképességének vizsgálata volt PT és PK15 sejtvonalakon, abból a célból, hogy felhívják a figyelmet a TCID₅₀ alapú VN-tesztek korlátaira.

A vírusrészek (PPV 27a, NADL-2, K22-vakcinatörzs) titerének meghatározásához hígítási sort készítettek, amelyekkel PT- és PK15-sejteket fertőztek. A fertőzött sejteket immunfluoreszcens (IF) festéssel detektálták a fertőzés 22. órájában. A kimutatáshoz 3C9 (ATCC CRL-1745) monoklonális anti-PPV-kapszid ellenanyagot és CF488A-jelölt anti-egér másodlagos ellenanyagot használtak. Egy módosított VN-teszt során K22 és NADL-2 alapú vakcinákkal immunizált állatok savójából készítettek felező

hígítást, amelyeket 100–100 FFU (fluorescens focus unit) mennyiségű PPV 27a vagy K22 vakcinatörzsszel inkubáltak. Egy óra elteltével a vírus-ellenanyag tartalmú oldatot PT-sejtekre mérték. A sejteket 22 óra múlva fixálták és a fertőzött sejteket IF-festéssel detektálták. Az eredeti vírusmintákból DNáz-kezelés után virális DNS-t tisztítottak, majd qPCR segítségével meghatározták a vírusok kópiaszámát.

A K22 vakcinatörzs titere PT-sejteken nagyjából 8,3× volt nagyobb, mint a 27a stocké, míg PK15-sejteken a K22 stock titere közel 12× volt magasabb (az NADL-2 titere PT-sejteken 200×-osa volt a K22 stocknak, míg PK15 sejteken 130×-osa). A qPCR adatok alapján viszont a K22 stockja nagyjából 5,5× több kópiát is tartalmazott egységnyi térfogatban mint a 27a stock. A VN-teszt során, mind a két vakcinatörzsszel immunizált állatok savói esetében, a PPV 27a törzsszel szemben kisebb volt az ellenanyagok neutralizációs titere. Az átlagos eltérés alapján az immunizált állatok savóját nagyjából 2,5× töményebben kellett használni a PPV 27a törzs neutralizációjához, mint a K22 vakcinatörzs ellen.

A titrálási és qPCR adatok alapján a PT-sejteken a 100 FFU mennyiségű PPV 27a minta ~1,5× több víruskópiát tartalmazott, mint 100 FFU K22 minta. A vírusneutralizációs teszt során azt tapasztalták, hogy az 1,5× több viriont nagyjából 2,5× (SD±2,01) töményebben (nagyobb ellenanyag-tartalmú) savó neutralizálta. Ez alapján a két vírus törzs neutralizációs titere között nincs szignifikáns különbség. Adataik nem támasztják alá, hogy a vakcinázás során keletkező anti-PPV ellenanyagok neutralizáló képessége gyengébb lenne a 27a törzs ellen, mint a K22 törzs ellen, ami kérdéseket vett fel a 27a-ra vonatkozó korábbi vizsgálatok ez irányú eredményeivel kapcsolatban is.

Az előadás végén PAPP TIBOR azt kérdezte, hogy a sejtek közötti fogékonyságkülönbségen kívül más is okozhatta-e a 27a törzs esetében mért eltérő eredményeket. Válaszában MÉSZÁROS ISTVÁN a bolgár kutatók által publikált keresztneutralizációs teszteknel alkalmazott ritka sejtvonalat jelölte meg valószínű okként.

Ezután SZEREDI LEVENTE, BÁLINT ÁDÁM, BAKCSA ERIKA, SZAJKINÉ DR. SZALAY DÓRA és ERDÉLYI KÁROLY előadása következett "Az afrikai sertéspestis vírus vp72 fő burokfehérje immunhisztokémiai módszerrel történő kimutatása természetes körülmények között fertőződött vaddisznóban" címmel.

Az afrikai sertéspestis (ASP) első magyarországi előfordulása 2018-ban került bejelentésre vaddisznóban. Azóta a fertőzött területek nagysága hazánkban lassan, de folyamatosan nő. Az elhullott állatokban a vírus kimutatásának legmegbízhatóbb módszere az RT-PCR, amellyel a kórokozó már a fertőzés egészen korai szakaszában detektálható, és a módszer a betegség vala-

mennyi klinikai formájában (túlheveny, heveny, félheveny, krónikus, szubklinikai) megbízható eredményt nyújt. Nagy érzékenységének köszönhetően a legkülönbélebb, akár erősen autolizált minták (szervek, vér, szérum) vizsgálatára is alkalmas. Az antigén alapú kimutatási módszerek (IF, ELISA, IH) ugyancsak jól alkalmazható laboratóriumi eljárások azzal a megszorítással, hogy azok csupán a túlheveny, heveny és egyes félheveny formáknál nyújtanak megbízható eredményt.

A vizsgálatok célja az volt, hogy kidolgozzanak egy olyan immunhisztokémiai (IH) módszert, amely kiegészítő eljárásként használható az ASP laboratóriumi diagnosztikájában.

Egy elhullva talált és egy kilőtt, az RT-PCR módszerrel ASP-pozitívnak bizonyult, vaddisznóból vett szervminták 10%-os formaldehyd-oldatban kerültek fixálásra. A szervmintákból készített paraffinos sorozatmet- szeteket hematoxin-eozin- és IH-festést követően vizsgálták. Az IH-vizsgálat során a kereskedelmi forgalomba kapható, az ASP vp72 fő burokfehérje ellen termelt monoklonális ellenanyagot, az ellenanyag kapcsolódásának kimutatására pedig ugyancsak kereskedelmi forgalomban kapható, felhasználásra kész, poli- mer alapú reagenst és kromogént alkalmaztak.

A kórszöveti vizsgálatnál az elhullott állatban az előrehaladott önmérsztettségen kívül egyéb körjelző értékű elváltozást nem találtak. Ezen állat mindkét vizsgált szervében (vese, lép) az ASP vp72 fehérjét sejt- en kívül, apró rögök formájában, továbbá számos sejt citoplazmájában és/vagy magjában kisebb-nagyobb rögök alakjában lehetett kimutatni. A kilőtt vaddisznó esetében a kezdődő önmérsztettség mellett a heveny, ill. félheveny ASP-re jellemző elváltozások fordul- tak elő: számos szervben vasculitis és véreelfajulás továbbá friss keletű, enyhébb-súlyosabb fokú vérzés, enyhe-közepes fokú gyulladással besűrűsödés és e gyulladással sejtek rhexise, a lymphoid szervekben kiterjedt rhexis és lymphoid depletio, ill. a vesékben tubulonephrosis. Az ASP vp72 fehérjét valamennyi vizsgált szerv esetében (agy, tüdő, szív, máj, lép, vesé, nyi- rokcsomó, gyomor) számos sejt citoplazmájában és/ vagy magjában kisebb-nagyobb rögök alakjában lehetett kimutatni. A szétesett sejtek területén a vírusfe- hérje sejtén kívül, apró rögök alakjában is megfigyel- hető volt.

A bemutatott IH-módszer segítségével sikerült kimutatni az ASP előfordulását vaddisznóban. A mód- szer alkalmasnak mutatkozott mind a túlheveny, mind pedig a heveny-félheveny ASP következtében elhul- lott vaddisznók esetében, sőt azok előrehaladot- tan önmérsztett szerveiben is a vírus kimutatására. A kidolgozott IH-eljárás RT-PCR-hez viszonyított érzé- kenységének meghatározásához további összehason- lító vizsgálatok szükségesek.

A szekció hetedik előadását TAMÁS VIVIEN tartotta, OLASZ FERENC, MÉSZÁROS ISTVÁN, URSU KRISZTINA és ZÁDORI ZOLTÁN társszerzőségével. Előadásuk címe "Az afrikai sertéspestis vírus policitozin és poliguanin szakaszainak vizsgálata" volt.

Az afrikai sertéspestis vírus (ASPV) egy burkos, ikozaéderes vírus, amelynek genomja 170–194 kb hosszú, kétszálú DNS. A genom két végén kovalensen zárt, fordítottan ismétlődő szekvenciák találhatóak, míg a közepén egy viszonylag jól konzervált régió helyezkedik el (kb. 125 kb), a két szélén egy-egy variábilis régióval szegélyezve (38–47 és 13–16 kb), amelyek nagyrészt öt multigén családba (MGF, multigene family) sorolható fehérjéket kódolnak. Az ASPV bal oldali variábilis régiójában öt policitozin/guanin (C/G) szakasz található, amelyek közül három rendkívül variábilis C/G számot mutat a GenBankban található szekvenciák alapján. A három kérdéses szakasz közül egy az MGF 110-es, egy az MGF 360-as, egy pedig az MGF 300-as családhoz tartozó fehérjét kódoló génben található. A variabilitás oka jelenleg nem tisztázott, a szekvenálási, ill. polimeráz-éjtette hibát sem zárhatjuk ki, de amennyiben a jelenség nem technikai eredetű, úgy a variancia szerepet játszhat az ORF-ek expresszáldásában és/vagy a vírus replikációjában.

A genom minél pontosabb ismerete és az ellentmondások feloldása vakcinafejlesztéshez, epidemiológiai vizsgálatokhoz, és a vírus alapvető biológiai tulajdonságainak megismeréséhez is segítséget nyújthat. A kutatók célja a három említett variábilis C/G szakasz változatosságának vizsgálata három magyarországi ASPV mintában és szövetenyészetben passzált vírusokban. További céljaik közé tartozik a variabilitás okának felderítése, és olyan PCR és szekvenálási módszerek használata (fejlesztése), amelyek alkalmasak hosszú (>15) poly-C, poly-G szakaszok egyértelmű szekvencia meghatározására.

A vizsgálni kívánt szakaszok amplifikálására szekvenspecifikus primereket terveztek a kérdéses poli C/G szakaszok köré. A PCR-reakció után a terméket CloneJET PCR Cloning Kit (ThermoFisher Scientific) segítségével klónozták és OneShot DH10B kompetens sejtbe (ThermoFisher Scientific) transzformálták. A plazmidokat preparálás után PEG-gel tisztították. Tisztítás után a plazmidról újbóli PCR-reakció segítségével amplifikálták a kérdéses szakaszokat, majd ezeket Nucleospin Gel and PCR Clean-up Kit (Macherey-Nagel) felhasználásával gélből izolálták. A plazmidokat és az ezekről PCR-rel sokszorosított szakaszokat Sanger-módszerrel szekvenálták.

A különböző poli C/G régiókból 10 klónt szekvenáltak. Eredményeik a poli C/G számot illetően nagy szórást mutatnak, 10 és 18 polinukleotid-szám között változnak. Annak ellenőrzésére, hogy a variabilitás nem technikai eredetű (PCR vagy szekvenálás), High Fidelity enzim segítségével a klónokról is amplifikálták a kérdéses szakaszokat, majd ezeket a szakaszokat is szekvenálták. Míg a kevesebb számú polinukleotidot tartalmazó

szakaszoknál a plazmid és az utána készített PCR-reakció utáni szakaszok polinukleotid száma megegyezett, úgy a nagyobb számú polinukleotidot tartalmazó klónok és a PCR-termék polinukleotid száma között jelentős eltérést tapasztaltak.

Eredményeik alapján megkérdőjelezhetjük a polinukleotid-szakaszokra eddig használt PCR-protokollok megbízhatóságát, ill. azt, hogy a hagyományos módszerek alkalmasak-e a nagyobb nukleotidszámú polinukleotid-régiók pontos amplifikálására. Ez alapján felmerül a kérdés, hogy az eddig közzétett ASPV-szekvenciák mennyire pontosak ezekben a régiókban.

A kutatást a K119381-es számú pályázat támogatta.

A tudományos vita során FEHÉR ENIKŐ a dithiothreitol hozzáadását javasolta a PCR- és szekvenálási reakciókhoz, ami segít a poli C/G régiók szekvenálásánál. BENKŐ MÁRIA a génbanki szekvenciák varianciájáról érdeklődött, valamint hogy ezek a változatok okoznak-e leolvasásikeret-eltolódást, és hogy az érintett fehérjék ismert funkcióval rendelkeznek-e. Az előadó válaszában kifejtette, hogy igen, a detektált eltérések megfigyelhetők a génbankban elérhető törzseknél is, és azoknál gyakran a leolvasási keret eltolódását okozzák az ismeretlen funkciójú fehérjék esetében.

TAMÁS VIVIEN még egy előadást tartott a víusról hasonló társszerzőkkel: MÉSZÁROS ISTVÁN, OLASZ FERENC, HORNÁK ÁKOS, MAGYAR TIBOR és ZÁDORI ZOLTÁN. Előadásuknak a következő címet adták: "Az afrikai sertéspestis vírus vizsgálata sertés alveolaris macrophagokban".

Az *Asfarviridae* családba tartozó afrikai sertéspestis vírus (ASPV) molekuláris biológiájáról származó ismereteink túlnyomó többsége fajidegen, immortalizált sejtvonalon végzett kísérletekből származik. Ennek oka a fertőzés elsődleges célsejtjeinek számító alveolaris macrophagokkal (porcine alveolar macrophages, PAM) való munka körülményessége, az eredmények nehéz reprodukálhatósága, valamint a PAM-sejtek költséges izolálása, amelyek elriasztják a kutatókat a használatuktól. A vírus vizsgálatához mindenképpen hasznos lenne egy, az *in vivo* fertőzéshez közelebb álló, megbízhatóan reprodukálható kísérleti rendszer felállítása, egy PAM-alapú, megfelelően reprodukálható kísérleti rendszer létrehozása és jellemzése az ASPV vizsgálatához.

A PAM-sejteket RPMI médiumban, 10% BSA, 1% Na-piruvát, 1% antibiotikum/antimycotikum és 1% nem esszenciális aminosav jelenlétében, 37 °C-on, 5% CO₂ szinten növesztették a kutatók. A sejteket az ASFV_HU_2018 törzssel fertőzték, a fertőzést immunofluoreszcens festéssel mutatták ki, ASPV + savó, vagy anti-p72 elsődleges ellenanyag használatával. A sejteket ImageJ programmal számolták le, három párhuzamos fertőzésből származó kép használatával. A PAM-sejteket ugyanabból az állatból származó, fagyasztott-felolvasztott (sérült) vörösvérteszek (vvt) vagy *E. coli* baktériumok hozzáadásával aktiválták.

A vírus bejutási útvonalának vizsgálatához, az endocitózis különböző formáit gátló kémiai anyagokat (lipopoliszacharid, klórpromazin-hidroklorid, mono-danzil-kadaverin, 5-N-etil-N-izopropil amilolid, citokalazin D, latrunculin B, polyinosinic sav) használtak. Kontroll vizsgálatként a kísérleteket a részletesen jellemzett bejutási útvonalú sertés légzőszervi és reprodukciós szindróma vírussal (PRRS) fertőzött macrophagokon is elvégezték.

Vizsgálataik során a PAM-sejteket ért bármilyen külső (stressz)hatás befolyásolta az ASPV-vel való fertőzhetőségüket. Annak ellenére, hogy a fertőzés 72. órájára az összes sejt elpusztult, a 24. órában, még nagy multiplicitású (MOI: 10) fertőzés esetén is a sejteknek csak 10–30%-ában volt IF-festéssel kimutatható a vírus. Ezt befolyásolta, hogy mekkora volt a sejtek sűrűsége, mely állatból származtak, ill. hogy szélesztés után mennyi idővel történt a fertőzés. A fagyasztásból felvett sejtek közvetlenül a szélesztés után voltak a legkevésbé, míg 24 órával a szélesztés után a leginkább érzékenyek a fertőzésre. Ha a macrophagokat vvt vagy baktériumok hozzáadásával aktiválták, az ASPV-vel való fertőzhetőségük drámaian lecsökkent. Az összes vizsgált endocitózisgátló szer képes volt legalább részlegesen gátlolni a fertőzést, ami kérdéssé teszi ezen anyagok megfelelő specificitását.

A PAM-sejteknek csak egy része fogékony a fertőzésre *in vitro*. Az arány feltehetően függ az állatok és a macrophagok aktuális (immun)állapotától, a sejteket ért stresszhatásoktól. Fertőzhetőségük rövid idő alatt képes megváltozni, ami arra utal, hogy nem egy sejtfelszíni receptormolekula megjelenése/eltűnése felelős ezért. Azonban a stresszhatások minimalizálásával és standard fertőzési körülmények alkalmazásával az ASPV-fertőzés megfelelően reprodukálható. Valamennyi endocitózisgátló anyag legalább részlegesen képes volt blokkolni a fertőzést, ami – a PRRSV-vel végzett kontroll kísérletek és a vonatkozó szakirodalom alapján is – azt mutatja, hogy hatásuk nem kellően specifikus ahhoz, hogy rájuk támaszkodva következtethessünk a vírus bejutási útvonalára, és kérdéseket vet fel a korábbi kísérletek érvényességével kapcsolatban is.

A kutatást a K119381-es számú pályázat támogatta.

A vita során KAJÁN Győző az endocitózis gátlásáról érdeklődött, és a válaszból kiderült, hogy az ideális megoldás a bejutási útvonalak génkiütéssel vagy géncsendesítéssel történő specifikus gátlása lenne, ezek a módszerek azonban ezen nagyon érzékeny sertés sejtek esetében nem elérhetők.

Végül VARGA-KUGLER RENÁTA adott elő NAGY BORBÁLA ÁGNES, KASZAB ESZTER, FORRÓ BARBARA és BÁNYAI KRISZTIÁN társszerzőségével, előadásuk címe a "Rotavírus nsp1 gének hatásának vizsgálata az interferontermelésre sejt kultúrában" volt.

A különböző rotavírusfajok (RVA-) tagjai evolúciójuk során számos, egymást komplementáló mechanizmust fejleszthettek ki a gazdaszervezet immunválaszadó

képességének gátlására. Az RVA-törzsek egyik legfontosabb eszköze ebben a küzdelemben az NSP1 fehérje. Az RVA NSP1 egy E3 ubiquitin ligáz, amely a patogénmintázat felismerésének szintjétől kezdve, az interferon (IFN) kaszkád jelátviteli folyamatainak intermedierjein át a transzkripció szintjéig képes gátlolni a sejt vírusszaporodást gátló folyamatait. Az RVB-RVJ (azaz non-RVA) törzsek esetében az NSP1-szerű géntermékek szekvenciái az RVA NSP1 fehérjéjétől akár 90%-ban is eltérhetnek; ezek funkciójára vonatkozóan hiányoznak az ismeretek.

A vizsgálatok célja az volt, hogy meghatározzák a non-RVA törzsek NSP1-szerű fehérjéinek lehetséges szerepét a sejt IFN-termelésének gátlásában.

A kutatók a laboratóriumukban azonosított non-RVA törzsek NSP1-génjét amplifikálták, majd eukarióta expressziós vektorba (pcDNA3) klónozták. Az IFN indukciójához poly I:C molekulát használtak. Az IFN-transzkripció mértékét részben fajidegen (csirke, sertés, macska), részben fajazonos (kutya) epithel jellegű (CRFK, MDCK, PK15, LMH) és fibroblast- (A72) sejt vonalakban mérték transzfekciót követően, fajspecifikus TaqMan próba segítségével.

A CRFK- és LMH-sejtekben nem figyeltek meg poly I:C által kiváltott IFN-termelést, az MDCK- és PK15-sejtekben volt ugyan IFN indukció, de a vizsgált rotavírus NSP1 gének nem okoztak csökkenést az IFN gén kifejeződésében. A kutya eredetű A72-sejtvonalon a fajidegen (denevérből kimutatott) RVJ NSP1 40%, a fajazonos (kutyaéből kimutatott) RVC és RVI NSP1 36%, ill. 83% csökkenést idézett elő az IFN-gén transzkripciójában.

Az RVA NSP1 génen alapuló szakirodalmi adatok alapján jelentős IFN-csökkenést vártak. Az általuk vizsgált non-RVA NSP1 gének azonban jóval kisebb mértékű csökkenést idéztek elő az IFN-gén transzkripciójában. Az eltérés mögött több magyarázat is lehetséges. Az alkalmazott kísérleti rendszerek eltérőek voltak és elképzelhető, hogy az itt használt sejt típusok, azok eltérő gazda- és szervi eredete miatt kevésbé voltak alkalmasak a célkitűzésekben feltett kérdések megválaszolására. Lehetséges továbbá, hogy a non-RVA-törzsek egy részénél az NSP1 fehérje nem ugyanazt a feladatot látja el, mint az RVA-törzseknél, vagy ha mégis, akkor a folyamat hatékonyságában lehetnek jelentős eltérések.

A kutatómunka anyagi fedezetét a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal KH126521 számú pályázata biztosította.

ZÁDORI ZOLTÁN arról érdeklődött, hogy az üres expressziós vektort használták-e kontrollként, de az előadó negatív választ adott. KAJÁN Győző azzal a kérdéssel fordult még az előadóhoz, hogy véleménye szerint elképzelhető-e, hogy az NSP1 fehérje nem a transzkripciót, hanem a translációt gátlja; és VARGA-KUGLER RENÁTA pozitív választ adott, ez is a jövőbeni kutatások egyik témája lehet.

Dr. Kaján Győző



**Hirdetési
felületek már
60 000 Ft-tól**

Többszöri megjelenés esetén
további engedményeket
biztosítunk

Hirdessen Ön is a Magyar Állatorvosok Lapja c. tudományos-szakmai folyóiratban!

Most kedvező áron tesszük közzé hirdetését!

Felület	Méret (mm)	Nettó ár (Ft)					
1/1	200 X 285	130 000					
1/2	200 X 142	110 000					
1/3	200 X 95	75 000					
1/4	200 X 70	60 000					
B2, B3, B4	200 X 285	155 000					
PR	-	100 000					

1/1 tükör méret 1/1 kifutó tükör 1/2 méret 1/3 méret 1/4 méret



Bővebb információért keresse kollégáinkat a lenti elérhetőségek bármelyikén:
**Postacím: Herman Ottó Intézet Nonprofit Kft.
 1223 Budapest, Park u. 2.
 Telefon: 06-1/362-8100
 E-mail: info@agrarlapok.hu**

Ingelvac CircoFLEX®
az új DiaTEC eljárással

Tiszta ÉRTÉK



A csúcstechnológiát képviselő DiaTEC diafiltrációs eljárásnak köszönhetően az Ingelvac CircoFLEX® kristálytiszta és nem-virucid vakcina*.

* Boehringer Ingelheim: belső adatok.

Ingelvac CircoFLEX szuszpenziós injekció sertéseknek; Hatóanyag: Sertés cirkovírus 2-es típus ORF2 protein 1,0–3,75 RP - A referens vakcináéhoz viszonyított relatív hatékonyság (ELISA teszt); **Adjuváns(ok):** Karbomer: 1 mg; **Javallatok:** Sertések 2-es típusú sertés cirkovírus (PCV2) elleni aktív immunizálására 2 hetes kortól, a PCV2 okozta kór-képpel (PCVD) összefüggésbe hozható elhullások, klinikai tünetek – beleértve a testtömegvesztést - és a lymphoid szöveti elváltozások csökkentésére. Ezenkívül a vakcinázás hatására csökken a 2-es típusú sertés cirkovírus (PCV 2) orron keresztüli ürítése, a vérben és a lymphoid szövetekben megjelenő vírusr mennyiség, valamint a virémia időtartama. Az immunitás kezdete: 2 héttel az oltást követően. **Az immunitástartás:** legalább 17 hét. **Ellenjavallatok:** Nincs. **Adagolás:** Használat előtt felrándandó.

Egy adag (1 ml) egyszeri intramuszkuláris injekció formájában, a testtömegtől függetlenül. É.e.ü.v.i: Nulla nap. Hűtve (2°C – 8 °C) tárolandó és szállítandó. Nem fagyasztható. Fénytől védve tartandó. **Engedélyes:** Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, 55216 Ingelheim/Rhein, Németország, Vényköteles. Kérjen állatorvosától vagy gyógyszerésztől további felvilágosítást! Alkalmazás előtt, illetve további információért olvassa el a használati utasítást, vagy kérdezze a Boehringer Ingelheim képviseletét: Boehringer Ingelheim RCV GmbH & CoKG Magyarországi Fióktelepe, 1095 Budapest, Lechner Ödön fasor 10., Tel.: 06 1 299-8900 • Fax: 06 1 299-8901, ah.hu@boehringer-ingelheim.com. Tk.sz.: EU/2/07/079/002 Reklámanyag lezárási dátuma: 2020.10.

