Állatorvostudományi Egyetem

Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

**Menhelyi körülmények között tartott kutyák fertőző eredetű légzőszervi betegségeinek kóroktana, és az ellenük való védekezés lehetőségei**

**Készítette:** Dr. Kozma Tamás

**Témavezető:** Dr. Rusvai Miklós

 egyetemi tanár

Budapest

2016.

[RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE 3](#_Toc467413393)

[1. BEVEZETÉS 4](#_Toc467413394)

[2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS 5](#_Toc467413395)

[2.1. Kutya parainfluenzavírus (CPIV) 5](#_Toc467413396)

[2.2. Kutya herpeszvírus (CHV-1) 6](#_Toc467413397)

[2.3. Kutya adenovírus (CAdV-2) 6](#_Toc467413398)

[2.4. Kutya légzőszervi coronavírus (CRCoV) 7](#_Toc467413399)

[2.5. Kutya influenzavírus (CIV) 7](#_Toc467413400)

[2.6. Kutya pneumovírus 7](#_Toc467413401)

[2.7. Kutya pantropikus coronavírus (CPCoV) 8](#_Toc467413402)

[2.8. Kutya reovírus 8](#_Toc467413403)

[2.9. Kutya bocavírus 8](#_Toc467413404)

[2.10. Kutya hepacivírus 9](#_Toc467413405)

[2.11. Bordetella bronchiseptica 9](#_Toc467413406)

[2.12. Streptococcus zooepidemicus 9](#_Toc467413407)

[2.13. Mycoplasma cynos 10](#_Toc467413408)

[2.14. Szopornyica vírusa 10](#_Toc467413409)

[2.15. Kennel-köhögés 11](#_Toc467413410)

[2.15.1. Tünetek 13](#_Toc467413411)

[2.15.2. Diagnózis 15](#_Toc467413412)

[2.15.3. Kezelés 17](#_Toc467413413)

[2.15.4. Vakcinázás 19](#_Toc467413414)

[3. ANYAG ÉS MÓDSZER 21](#_Toc467413415)

[3.1. Minták 21](#_Toc467413416)

[3.2. Klinikai vizsgálatok 21](#_Toc467413417)

[3.3. Kórbonctan, Kórszövettan 21](#_Toc467413418)

[3.4. RNS/DNS izolálás 21](#_Toc467413419)

[3.5. RT-PCR 22](#_Toc467413420)

[3.6. Standard PCR 22](#_Toc467413421)

[3.7. Elektroforézis 23](#_Toc467413422)

[3.8. Bordetella tenyésztés, kimutatás 23](#_Toc467413423)

[3.9. Mycoplasma tenyésztés 25](#_Toc467413424)

[4. EREDMÉNYEK 26](#_Toc467413425)

[4.1. Kórbonctani, kórszövettani vizsgálat 26](#_Toc467413426)

[4.2. Virológiai vizsgálat 26](#_Toc467413427)

[4.3. Bakteriológiai vizsgálat 26](#_Toc467413428)

[4.3.1. Bordetella bronchiseptica vizsgálatok 26](#_Toc467413429)

[4.3.2. Mycoplasma vizsgálatok 28](#_Toc467413430)

[5. MEGBESZÉLÉS 30](#_Toc467413431)

[6. ÖSSZEGZÉS 35](#_Toc467413432)

[7. SUMMARY 36](#_Toc467413433)

[8. HIVATKOZÁSOK 37](#_Toc467413434)

[9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS 40](#_Toc467413435)

# RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

CADV-1 Canine adenovirus type 1 = 1-es típusú kutya adenovírus

CADV-2 Canine adenovirus type = 2-es típusú kutya adenovirus

CDV Canine distemper virus = Szopornyica vírus

CHV-1 Canine herpesvirus type 1 = 1-es típusú kutya herpeszvírus

CIV Canine influenza virus = Kutya influenzavírus

CPCoV Canine pantropic coronavirus = Kutya pantropikus coronavírus

CPiV Canine parainfluenza virus = Kutya parainfluenzavírus

CRCoV Canine respiratory corona virus = Kutya légzőszervi coronavírus

dATP Dezoxyadenozin-trifoszfát

dCTP Dezoxycitidin-trifoszfát

ddH2O Desztillált víz

dGTP Dezoxyguanozin-trifoszfát

DMSO Dimetil-szulfoxid

DNS Dezoxiribonukleinsav

dNTP Dezoxynukleotid-trifoszfát

dTTP Dezoxytimidin-trifoszfát

ELISA Enzyme-linked immunosorbent assay

FÖRI Fővárosi Önkormányzati Rendészeti Igazgatóság

NCCLS National Committee for Clilincal Laboratory Standards

PBS Phosphate buffered saline

PCR polymerase chain rection = polimeráz láncreakció

RNS Ribonukleinsav

RPM Revolutions per minute = fordulatszám/perc

# BEVEZETÉS

A Fővárosi Önkormányzati Rendészeti Igazgatóság Állategészségügyi Szolgálatának Illatos úti telephelyére (továbbiakban: Telep) évente közel 2500 közterületen kóborló vagy a gazdája által megunt és leadott kutya kerül be, mely állatokat a rendelkezésre álló 94 kennelben kell elhelyezni. Mivel rövid idő alatt viszonylag kis területre sok, nagyon változatos immunbiológiai státusú és eltérő klinikai állapotban levő kutya kerül, túlnyomó részben ismeretlen vakcinázási előélettel, és a kennelek zsúfoltan egymás mellett, egy légtérben vannak elhelyezve, ezért a Telepen található kutyapopuláció fokozott fertőzésveszélynek van kitéve.

A 2000-es évektől kezdődően rendszeres volt a szopornyica fertőzés a Telepen, mely betegség további előfordulását a 2005. tavaszán elindult – és közel egy éven át tartó – immunizálási és járványvédelmi prevenciós program segítségével sikerült felszámolni. Ezen program kidolgozásának és kivitelezésének saját magam is részese voltam, hiszen 1997. óta a Telep állatorvosaként, jelenleg pedig vezető állatorvosaként dolgozom. 2006. év vége óta a Telepen klinikai tünetekben megnyilvánuló szopornyica-fertőzés nem, de a szopornyicához klinikai tüneteiben nagyon hasonló kennel-köhögés folyamatosan és rendszeresen előfordul.

Manapság a bekerülő állatok jelentős része hosszabb-rövidebb a Telepen eltöltött idő után ismét új gazdára talál, ezért nagyon fontos azt hangsúlyozni, hogy a Telepről kikerülő, légzőszervi tüneteket mutató kutyák betegségét a praxisban dolgozó állatorvosok a korábbi, már több, mint egy évtizede meghaladott állapotot ismerve nehogy elhamarkodottan szopornyicaként diagnosztizálják, hanem a betegséget felismerjék, és a valódi kóroknak megfelelően kezeljék.

A dolgozatom témájául szolgáló munka keretében azt tűztük ki célul, hogy az ismeretlen oktanú légzőszervi megbetegedések lehetséges kórokozóit megismerjük, illetve felderítsük azt, hogy a klinikai tünetek megszüntetése szempontjából eredményesnek bizonyult immunizálási program dacára jelen van-e a légzőszervi tüneteket mutató kutyákban a szopornyica vírusa.

# IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A kennel-köhögés ún. multifaktoriális betegség, mely köhögés, orrfolyás, nehezített légzés tünetei között jelenik meg, elsősorban nagy létszámú kutyapopulációkat tartó helyeken (menhelyek, gyepmesteri telepek). A betegség létrejöttében több kórokozónak van szerepe, leggyakrabban a parainfluenza vírusnak (CPiV), a 2-es típusú adenovírusnak (CAdV-2), az 1-es típusú herpeszvírusnak (CHV-1) és a *Bordetella bronchiseptica-*nak.

A fertőzés kialakulásában szerepe lehet ezeken felül még a légzőszervi coronavírusnak, melyet első alkalommal 2003-ban írtak le, majd az ezt követő években bizonyítást nyert a pneumovírusnak, az influenzavírusnak, az. ún. pantropikus coronavírusnak, a *Streptococcus zooepidemicus*-nak és a *Mycoplasma cynos*-nak a betegség kialakulásában kifejtett kórtani szerepe is.

## Kutya parainfluenzavírus (CPIV)

Az 1960-as évek végén légzőszervi tüneteket mutató laboratóriumi kutyákból és egy őrkutyából mutatták ki először a vírust, mely a *Mononegavirales* rend, *Paramyxoviridae* család *Paramyxovirinae* alcsaládjába tartozik [1, 2]. A vírus erősen fertőzőképes, és elsősorban aerogén úton terjed, főleg olyan helyeken, ahol nagy létszámú állatot tartanak együtt. A más kórokozókkal nem szövődött esetekben a fertőzést követő 2-8. nap után hőemelkedés, száraz köhögés, vízszerű orrfolyás, pharyngitis és tonsillitis jelentkezik. Más patogének egyidejű megtelepedése esetén −főként a meggyengült immunrendszerű ill. fiatal, nem vakcinázott állatok esetében − láz, bágyadtság, étvágytalanság és tüdőgyulladás jelentkezhet [3].

Kísérletileg fertőzött állatokban a fertőzést követő 3-8. napban petechiális vérzéseket tapasztaltak az állatok tüdőlebenyében, szövettanilag pedig rhinitis és tracheitis jelei láthatók [2]. A kombinált vakcinákban lévő attenuált parainfluenza törzs önmagában nem biztosít teljes védettséget a betegség ellen, de a kialakuló betegség súlyosságán jelentősen enyhít.

A vírus terjedésének megelőzéséhez szükséges az állattartó kennelek, az etető- és itatóedények rendszeres tisztítása és fertőtlenítése, a jó szellőzés biztosítása és a zsúfoltság mellőzése.

## Kutya herpeszvírus (CHV-1)

A kutya herpeszvírusát elsőként 1965-ben írták le, újszülött állatokban előforduló halálos kimenetelű,vérzéses elváltozásokat mutató betegség kórokozójaként [4]. A *Herpesviridae* család *Alphaherpesvirinae* alcsaládjába tartozó vírus patogenitása nagymértékben függ a gazdaállat életkorától. Újszülött állatokban halálos kimenetelű vérzéses szindróma alakul ki, míg idősebb kölykökben tracheobronchitis tünetei jelentkeznek, gyakran conjunctivitissel, keratitissel, esetleg fekélyes szaruhártya-gyulladással szövődve [5]. Bár a CHV-1 patogenitása idősebb kutyákban kisebb, és felnőtt állatok gyakran nem is mutatnak tüneteket CHV-1 fertőzés esetén, mégis nagy szerepe lehet a vemhes állatok esetében, ahol embrió-felszívódást, vetélést vagy koraellést okozhat.

A vírus terjedése oronazálisan és nemi úton történhet, és az újszülött állatok már vagy a méhben fertőződnek, vagy pedig az anyaállat száj- ill. orrváladéka által [6]. A fertőződést követően a megfelelően működő immunrendszer hatására sok esetben csak tünetek nélküli látens fertőződés alakul ki, és a vírusok az érző ganglionokban telepedhetnek meg, ahol akár élethosszig perzisztálhatnak [7]. Viszont stressz, immunszupresszív kezelés, vagy vemhesség hatására a látens fertőzés fellángolhat, és tüneteket okozhat.

## Kutya adenovírus (CAdV-2)

Az *Adenoviridae* család *Mastadenovirus* nemzetségébe tartozó vírust első alkalommal 1961-ben Kanadában írták le laryngotracheitis tüneteit mutató kutyákból [8]. Az izolált Toronto A26/61 vírust (későbbi CAdV-2) kezdetben a CAdV-1 legyengített törzsének gondolták, csak később tudták a két vírust egymástól elkülöníteni. A CAdV-1 és CAdV-2 genetikailag nagyon közel áll egymáshoz, csupán a szövetekhez való kötődésükben van jelentős különbség [9]. Jelenleg a korábban két vírusnak tartott kórokozót egy vírusfajba sorolják (Canine adenovirus A, CAdV-A). Amíg a CAdV-1 az erek endothel sejtjeihez, a máj és a vese parenchyma sejtjeihez, addig a CAdV-2 a légutak hámsejtjeihez és kisebb mértékben a belek hámsejtjeihez kötődik, és tonsillitist, pharyngitist, tracheitist, bronchitist és ritkábban enteritist okoz. A CAdV-2 vírus erősen ragályos, ezért különösen veszélyes a zsúfolt körülmények között tartott fiatal állatokra (pl. menhelyek, kisállat-boltok, állatkórházak). Önmagában ritkán okoz súlyos elváltozásokat, csupán a másodlagos bakteriális fertőzés miatt kialakuló bronchopneumonia miatt lehet veszélyes. Az adenovírusoknak nincs lipid burkuk, ennek megfelelően meglehetősen ellenállóak a környezeti hatásokkal szemben, a környezetben hosszan túlélnek. A fertőzés közvetlen úton (nose-to-nose) és közvetett úton (a fertőzött állat orrváladékával való érintkezéssel) történhet [10].

## Kutya légzőszervi coronavírus (CRCoV)

A *Coronaviridae* család *Betacoronavirus* nemzetségébe tartozó vírust első alkalommal 2003-ban Londonban írtak le [11]. A légzőszervi coronavírus a kennel-köhögés korai stádiumában okoz enyhe légzőszervi tüneteket, száraz köhögést és orrfolyást. A vírus kifejezett tropizmust mutat a felső légutakra, immunhisztokémiai módszerekkel a trachea és a hörgők hámsejtjeinek citoplazmájában mutatható ki. Szövettani vizsgálatok szerint jelentősen károsítja a trachea csillós sejtjeit és a felső légutak mucociliaris védekező rendszerét, ezáltal másodlagos bakteriális fertőzéseknek nyit utat [12].

## Kutya influenzavírus (CIV)

2004-ben Floridában versenyagarakban izolálták először a vírust, mely genetikailag a ló influenzavírusához (H3N8) áll legközelebb [13]. Az *Orthomyxoviridae* családba tartozó influenzavírus étvágytalanságot, levertséget, köhögést, orrfolyást és könnyezést idéz elő, és kizárólag másodlagos bakteriális fertőzések esetén alakul ki tüdőgyulladás. Kísérletes fertőzések esetén az influenzavírus a felső légutak hámsejtjeinek károsodását idézi elő, ezzel megnöveli azok fogékonyságát más patogénekkel szemben. A többi vírussal szemben az influenzavírus az alsó légutakban is jelentős kórtani szerepet játszik, gyakran okoz az elhalásos és hyperplasiás tracheitis mellett, bronchitist és pneumoniát is. A súlyos tüdőgyulladás hátterében leggyakrabban az influenzavírushoz szövődő *Streptococcus zooepidemicus* áll [14].

## Kutya pneumovírus

A vírust első ízben 2010-ben az USA-ban írták le két kutyamenhelyen, de a teljes génszerkezetét csak 2011-ben sikerült feltérképezni [15]. A kutya pneumovírusa a *Paramyxoviridae* család *Pneumovirinae* alcsaládjába tartozó burkos RNS-vírus, és legközelebbi rokonságban az egér pneumovírussal van (MPV). A kutya pneumovírust egyértelműen kimutatták légzőszervi megbetegedésekben. Az egyéb fajok pneumovírusaihoz hasonlóan a kutya pneumovírus is átvihető légúti váladékokkal, és a fertőzés elsősorban a felső légutak hámsejtjeit támadja meg [16].

## Kutya pantropikus coronavírus (CPCoV)

Első alkalommal 2003-ban Olaszországban írták le ezt a vírust, amely tulajdonképpen a bélrendszeri megbetegedést okozó II-es típusú kutya coronavírus egyik mutációja [17]. Amíg az enteralis coronavírus csak enyhe tüneteket okoz, addig a pantropikus coronavírus nagyon súlyos, sokszor elhullásra vezető szisztémás fertőzést idéz elő, főleg 1-6 hónapos állatokban. Klinikailag láz, levertség, hányás, véres hasmenés, nehezített légzés, néha idegrendszeri tünetek jelentkeznek, vérvizsgálattal pedig jelentős lymphopenia jellemző, és 2-3 nap után gyakran elhullás következik be. Kórbonctanilag vérzéses bélgyulladás, savós-véres szabad hasűri tartalom, vérzéses-kruppos tüdőgyulladás, a vese kéregállományában vérzéses infarctusok, a nyirokcsomókban pedig petechiás vérzések tapasztalhatók [18].

Jellemző, hogy a fertőzés gyakran parvovírussal együtt jelentkezik, így valószínűleg a két vírus között szinergista hatások is felléphetnek, de bizonyított tény, hogy a coronavírus önállóan is képes fatális fertőzést okozni.

Egyelőre genetikai vizsgálatokkal nem lehet egyértelműen elkülöníteni a pantropikus kutyacoronavírusokat az enteralis kutyacoronavírusoktól, ezért az azonosítás a kimutatás helye szerint történik [19].

## Kutya reovírus

A *Reoviridae* család *Orthoreovirus* nemzetségébe tarozó, nem burkos RNS vírusnak három szerotípusa létezik, melyek mindegyikét izolálták már kutyák légutaiból és bélrendszeréből [20-22]. Kísérletes vizsgálatok azt mutatták, hogy a reovírusnak önmagában nincs direkt patogén hatása, hanem sokkal inkább más légzőszervi vírusok által előidézett elváltozások súlyosbításában játszik szerepet [3] .

## Kutya bocavírus

A vírus a *Parvoviridae* család *Parvovirinae* alcsaládjába tartozik. A kutya bocavírus variánsait három csoportba lehet sorolni: A, B és C variánsok. Ezek közül a B és a C variánsokat tudták kimutatni légzőszervi megbetegedést mutató kutyákból, és nagy valószínűséggel ezek a variánsok vagy opportunista kórokozóként vannak jelen a légzőszervi betegség tüneteit mutató állatban vagy a társfertőzés okozta elváltozásokat súlyosbítják [23].

## Kutya hepacivírus

A *Togaviridae* víruscsalád *Hepacivirus* nemzetségébe tartozó vírust az USA-ban tudták először kimutatni egy menhelyen légzőszervi megbetegedésben elpusztult kutyák májsejtjeiből. A kutya hepacivírus genetikailag a humán hepatitis C vírushoz áll legközelebb [24]. A vírus légzőszervi megbetegedésekben betöltött szerepe, patogenezise további vizsgálatokat igényel.

## Bordetella bronchiseptica

A *Bordetella bronchiseptica* Gram-negatív baktérium, melyet először 1910-ben írtak le emlős állatokban [25], mint a sertések torzító orrgyulladásának ill. a kutyák tracheobronchitisének kórokozóját [26]. A baktérium erőteljesen kötődik a légutak hámsejtjeihez, és a klinikai tünetek kialakulásáért a nyálkahártya hámsejtjeire kifejtett direkt károsító hatása tehető felelőssé [27]. A baktérium endotoxint és exotoxinokat (adenilátcikláz-hemolizin, dermonekrotikus toxin, tracheális citotoxin) termel. Ezek együttesen károsítják a csillósejteket, megakadályozzák a fagocitózisra képes sejtek migrációját, szupresszálják mind a humorális, mind a celluláris immunválaszt. A fertőzött állatoknál enyhe-közepesen súlyos tracheobronchitis alakul ki, mely köhögést vált ki. Ritkábban tüsszögés és orrfolyás is jelentkezhet. Ugyanakkor a légutak nyálkahártyájának károsodása révén lehetőséget teremt opportunista bakteriális vagy vírusfertőzéseknek [28]. A Bordetella fertőzés direkt vagy indirekt módon vihető át másik állatra, azaz mind aerogén módon, mind pedig a beteg állatok légúti váladékaival szennyezett ragályfogó tárgyakkal [29].

## Streptococcus zooepidemicus

A *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (*Streptococcus zooepidemicus*) a lovak felső légutaiban és alsó nemi utaiban gyakran előforduló baktérium, melynek kóroki jelentőségét kutyákban is ismerjük az 1970-es évek végétől, sőt az elmúlt években ezen baktérium okozta halálos kimenetelű vérzéses tüdőgyulladásos eseteket is leírták néhány országban [30, 31]

A *Streptococcus zooepidemicus* béta-hemolizáló, a Lancefield C csoportba tartozó baktérium, mely gyakran okoz krónikus orrfolyásban, rhinitisben megnyilvánuló felső légúti megbetegedést [32], de akut, vérzéses, elhalásos, gennyes bronchopneumoniás elváltozásokat is előidézhet. A fibrines és/vagy vérzéses pneumonia kialakításában egy exotoxinnak van szerepe, mely károsítva a tüdő ereit, fibrinkiválást, ödémát és vérzést idéz elő, sőt a vérzések gyakran megfigyelhetők a mellhártyán és a mediastinumon is [33].

A *Streptococcus zooepidemicust* klinikailag egészséges állatokból is tudták izolálni, és Larson és mtsai kísérletes fertőzéssel nem is tudtak klinikai tüneteket előidézni olyan kutyákban, melyeket ezzel a baktériummal fertőztek meg. Amennyiben viszont a *Str. zooepidemicus*-szal és a kutya influenzavírussal közösen idéztek elő fertőzést, akkor súlyos, elhalásos-gennyes tüdőgyulladást tudtak előidézni [34].

## Mycoplasma cynos

A *Mycoplasma cynos*t először 1972-ben izolálták egy tüdőgyulladásos kutyából [35]. 2004-ben egy tanulmány vizsgálta egy menhelyen az ott előforduló légzőszervi megbetegedést előidéző kórokozókat, és mycoplasmákat mind egészséges, mind megbetegedett állatokból is ki tudtak mutatni, de a *Mycoplasma cynos* volt az egyetlen a mycoplasmák közül, amely egyértelműen összefüggésbe volt hozható légzőszervi megbetegedéssel [36]. A későbbiek során a *Mycoplasma cynos*t izolálták egy golden retriever alomnál előforduló halálos kimenetelű bronchopneumonia megbetegedés esetén is [37].

A *Mycoplasma cynos* által előidézett klinikai tünetek nem egyértelműek, hiszen ezt a mycoplasmát gyakran olyan kutyákból izolálták, melyek egyéb patogénekkel (főleg vírusokkal) is fertőzöttek voltak [38].

A *Mycoplasma cynos* által előidézett kórbonctani elváltozások között szerepel a bronchusok hámsejtjeinek károsodása, a fibrines pleuritis, a súlyos savós-gennyes és vérzéses vagy elhalásos bronchopneumonia. Nehéz eldönteni, hogy ezekért a patológiai elváltozásokért egyedül a *Mycoplasma cynos* a felelős-e, vagy pedig a vele együtt előforduló egyéb kórokozók idézik elő az elváltozásokat [37].

## Szopornyica vírusa

A szopornyica a kutyának és közvetlen rokonainak a megbetegedése, de egyes vadon élő fajok is fogékonyak a vírusra [39]. Kórokozója a *Paramyxoviridae* víruscsalád *Morbillivirus* genusába tartozik, világszerte előfordul és súlyos megbetegedéseket, valamint jelentős arányú elhullást okoz a receptív állatfajokban [40]. A szopornyica vírus elleni küzdelmeket nehezíti, hogy számos esetben klinikailag egészséges, de fertőzött állatok akár több héten át is folyamatosan üríthetik a vírust.

A szopornyica főleg a fiatal, egy éven aluli kutyák betegsége, de előfordul idősebb, a betegség ellen többször vakcinázott ebekben is, a fiatal kutyákétól eltérő klinikai kép és kórlefolyás mellett. A vírusok közvetlenül és közvetve a környezetből, szájon át táplálékkal és/vagy vízzel, illetve belélegzéssel jutnak a szervezetbe. A vírus megtelepszik a légzőkészülék felső szakaszában, a tonsillákban és a peribronchiális nyirokcsomókban, ahol bekerül a macrophagokba és az immunrendszer más sejtjeibe. Ez az oka a vírus jelentős immunszuppresszív hatásának, valamint az általa okozott lymphocytopeniának. A véráramba jutott vírusok szétszóródnak a szervezetben (macrophage-associated viraemia), így könnyen eljutnak a nyirokszövetekbe, lépbe, csontvelőbe, ahol elszaporodnak. Ez a betegség kezdetére tehető (első 4-7 nap). Ekkor az első pár órában, a viraemia következtében magas, akár 41°C-os testhőmérséklet a jellemző, majd rövid lázmentes periódus után 1-2 nap múlva újabb lázas fázis alakul ki jellegzetes kétfázisú lázgörbét alakítva ki. A betegségnek két klinikai formája ismert: a heveny lezajlásra inkább a légző- és emésztőszervi tünetek, míg a krónikus formában az idegrendszeri tünetek jellemzőek [41]. Kórbonctanilag a légutak gyulladását, torok- és mandulagyulladást, valamint heveny gyomor- és bélgyulladást észlelünk. A betegség kezdeti stádiumaiban a szövetközi tüdőgyulladás is gyakori lelet, ami a későbbiekben a másodlagos bakteriális fertőzések következtében súlyosabb patológiai elváltozásoknak szolgál alapjául. Jellegzetes az idült esetben kialakuló bőrbeli elváltozás, a talppárnák és az orrtükör hyperkeratosisa („hard pad disease”). Az idegrendszer is jelentősen károsodik, sclerotisáló encephalitis alakul ki, ami szintén jellegzetes következménye a betegségnek. Gyulladásos folyamatok indulnak meg a kötőhártyákon és a szaruhártyán is. Szövettanilag a gyulladásos reakciókon kívül, citoplazmazárványok és syncytium-képződéssel járó CP hatások figyelhetők meg a különböző szervek hámsejtjeiben. Ezen kívül a kórképre utal a központi idegrendszerben a demyelinizációval kísért agyvelőgyulladás is [42].

## Kennel-köhögés

A kennel köhögés egy összetett betegség, melyben a gazdaszervezet, a kórokozó és a tartási körülmények közötti bonyolult kölcsönhatások eredményezik magának a felső légúti tünetekben megnyilvánuló betegségnek a kialakulását (1. táblázat)

Leginkább a kölykök fogékonyak a betegségre, hisz a menhelyekre való kerülésük időpontjában a maternális immunitásuk által biztosított védelem általában csökkenő fázisban van, míg az ilyenkor alkalmazott, aktív immunitást biztosító vakcina pedig még nem tud megfelelő védettséget biztosítani számukra.

A nem vakcinázott felnőtt állatok ugyancsak nagy veszélynek vannak kitéve a fertőzés szempontjából, és mind a kölyök, mind a felnőtt állatok esetében a nem megfelelő táplálás, parazitás fertőzöttség, stressz, és egyéb kórokozók jelenléte nagyban elősegíti a légzőszervi megbetegedések kialakulását [43].

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Gazdaszervezetet betegségre hajlamosító tényezők** | **Kórokozó szempontjából meghatározó tényezők** | **Állattartási tényezők** |
| Életkor | Virulencia | Zsúfoltság |
| Immunstátusz | Lappangási idő | Állatok keveredése |
| Fejlődésben visszamaradottság | Fertőzőképesség ideje | Higiénia |
|  | Perzisztáló fertőzés | Légcsere hiánya |
|  | Fertőzés átvitelének módja | Állandó nedvesség |
|  | Gyenge vakcinás védelem | Stressz |
|  | Új kórokozók esetén a vakcina hiánya | Képzetlen személyzet |

**1. táblázat:** A kennel-köhögés kialakulásában szerepet játszó tényezők [43]

A kórokozók virulenciája, lappangási idejük hossza, a környezetben való túlélésük hossza egyértelműen befolyásoló tényezők. A szubklinikai megbetegedések, a környezetben való hosszabb túlélési idő megnöveli a kórokozók mennyiségét, azok fertőzőképességét. A légzőszervi patogének általános jellemzője az aerogén úton való terjedés, ez az átviteli mód pedig nagyon megnehezíti a kennelekben való gyors terjedésük megakadályozását. A forgalomban lévő vakcinák csupán a bennük lévő antigének okozta megbetegedéstől védenek, teljes védettséget nem tudnak adni, és magát a fertőzést nem tudják megakadályozni. A kennel köhögés kóroktanában újabban kimutatott CIV és CRCoV ellen pedig nem is állnak rendelkezésre vakcinák.

A tartási körülmények közül elsősorban a zsúfoltságot, több állat egy kennelben való elhelyezését kell kiemelni, hiszen ezek a tényezők egyrészt stresszt okoznak az állatoknak, másrészről pedig az állandó zsúfoltság megakadályozza a kennelek megfelelő szintű takarítását és fertőtlenítését, ezáltal a környezet fertőző ágensekkel való terhelése nő. A kennelek állandó vizes takarítása révén a környezet folyamatos nedvessége, a légtér párássága jó lehetőséget biztosít a kórokozók túlélésére. A zsúfoltság miatt nehéz megfelelő légcserét biztosítani, és a rossz minőségű levegő irritálja a légutak nyálkahártyáját, amelyen a kórokozók könnyebben meg tudnak tapadni [43].

* + 1. **Tünetek**

A légzőszervi kórokozók által előidézett tünetek nagyon hasonlóak, és általában orrfolyással tüsszögéssel kezdődnek, majd pedig „nem produktív” köhögéssel folytatódnak. A köhögés nagyon gyakran kifejezetten erőltetett, és súlyos esetben akár néhány percig tartó kínzó köhögés is megfigyelhető. A kezdeti időszakban a felső légúti tünetektől eltekintve az állat egyébként egészséges kutya benyomását kelti. A betegség előrehaladtával, amint a légutakban a váladék mennyisége növekszik, megjelenik a produktív köhögés, bágyadtság, étvágytalanság és esetleg láz, nehezített légzés is.

Súlyosabb tünetek általában kölyök állatokban, immunrendszerileg gyenge felnőttekben illetve egyéb krónikus légzőszervi betegségben szenvedő (pl. idült hörgőgyulladás, hörgőtágulat) egyedekben alakulnak ki [44, 45].

A kennel-köhögés kórokozói közül szinte mindegyik esetében néhány napos lappangási idővel számolhatunk, míg a szopornyica 2-4 hetes lappangási idő után manifesztálódik klinikai tünetekben, és a beteg kutyák legtöbb esetben már a klinikai tünetek megjelenése előtt fertőzik társaikat. A hosszú lappangási idejű szopornyica esetében pedig különösen nagy a veszélye annak, hogy a még tünetmentes, de már vírusokat ürítő állat a környezetében lévő egyedeket megfertőzi, és az ilyen megfertőzött, de még az örökbeadáskor tüneteket nem mutató állat az új gazdánál betegszik meg, ott jelentkeznek először a szopornyica tünetei. A szopornyica esetében egyre inkább emelkedik a megbetegedő állatok száma, azok a kezelésre nem reagálnak, és állapotuk fokozatosan romlik. A CIV és CRCoV esetében általában rövid időn belül sok állat betegszik meg, a fertőzés gyorsan terjed, és 5-14 napon belül az állomány 50-80%-a érintett lesz [43].

A megbetegedett állatok a légúti váladékaikkal – a *Bordetella bronchiseptica* és szopornyica kivételével – átlagosan 7-10 napig ürítik a kórokozókat, éppen ezért a 2 hetes karantén idő elegendő arra, hogy a további fertőzéseknek elejét vegyük. Mivel a *Bordetella bronchiseptica* és a szopornyica vírusa hetekig-hónapokig fertőzhet, a beteg állatokat több hétre, hónapra karanténozni kellene, ami viszont menhelyi körülmények között egyrészt megoldhatatlan, másrészt nagyon költséges is lenne.

A legfontosabb légzőszervi kórokozók lényeges járványtani tulajdonságait a 2. táblázat tartalmazza.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **B. bronch.** | **CPiV / CAdV** | **CDV** | **CIV** | **CRCoV** |
| Lappangási idő | ˂1 hét | ˂1 hét | 2-4 hét | 2-4 nap | ˂1 hét |
| Fertőzés csúcsa | első hét | első hét | első 2-4 hét | első 4 nap | első hét |
| Fertőző-képesség | hetek-hónapok | 7 nap | hetek-hónapok | 7-10 nap | 10-14 nap |
| Morbiditás | alacsony-magas | alacsony | alacsony-magas | magas | magas |
| Mortalitás | alacsony | alacsony | magas | alacsony | alacsony |
| Fertőzés átvitele | aerogén,ragályfogó tárgy | aerogén,ragályfogó tárgy | aerogén,vizelet, bélsár,ragályfogó tárgy | aerogén,ragályfogó tárgy | aerogén,ragályfogó tárgy |
| Vakcina | van | van | van | nincs | nincs |

**2. táblázat:** A legfontosabb kórokozók lényeges járványtani tulajdonságai [43]

A megbetegedések száma a *Bordetella bronchiseptica*, a CAdV, CPiV és a szopornyica esetében jelentős mértékben függ attól, hogy az állatok vakcinázva voltak-e ill. esetleg egy korábbi megbetegedés átvészeléséből származó természetes immunitással rendelkeznek-e.

A szopornyica kivételével a kennel-köhögés kórokozói által okozott megbetegedés esetén a mortalitás alacsony, a legtöbb állat szövődmények nélkül meggyógyul. A szopornyicás megbetegedéseknél viszont nagy a mortalitás, hisz nagyon sok állat elhullik a betegség következtében, vagy pedig a kialakuló súlyos, gyógyíthatatlan elváltozások miatt el kell altatni azokat. Kölyköknél a nem elég agresszív gyógykezelés esetén könnyen alakulhat ki másodlagos bakteriális fertőzés következtében súlyos tüdőgyulladás, amely akár a kutya életét is veszélyeztetheti [43].

A megbetegedett állatok légúti váladékaikkal közvetlenül fertőzik társaikat ill. az ezzel szennyezett ragályfogó tárgyakkal is átvihető a fertőzés. A köhögéssel, tüsszögéssel a levegőbe kijuttatott kórokozók aerogén úton nagy távolságokra képesek eljutni, ezért nagyon fontos, hogy a beteg állatokat mielőbb kiemeljük az adott populációból, és ezzel csökkentsük a levegőbe kerülő vírusok, baktériumok mennyiségét.

A szopornyica vírusa szisztémás megbetegedést képes előidézni, a vírus multiplikálódik a légutak nyálkahártyájának sejtjeiben, a bélrendszerben, a vese tubulusaiban, a húgyhólyag nyálkahártyájában, a központi idegrendszerben, a bőrben és a fogzománc kialakulásában szerepet játszó ameloblast sejtekben is. A kezdeti klinikai tünetek nagyon hasonlítanak a kennel-köhögésre, hiszen köhögés, orrfolyás tapasztalható, majd pedig egyes esetekben hányás, hasmenés és 1-3 hónapon belül idegrendszeri tünetek (görcsök, myoclonus) jelentkezhetnek. Időnként a talppárnák hyperkeratosisa és a fogzománc elszíneződése is kialakulhat. A szopornyica vírusa megjelenik a légúti váladékokban, a bélsárban, vizeletben, nyálban, könnyben és még a bőrben is [43].

* + 1. **Diagnózis**

A kutya légzőszervi kórokozói – főként a betegség első hetében – nagyon hasonló tüneteket okoznak, így kizárólag a klinikai tünetek alapján nem lehet diagnózist felállítani. Bár nagyon sokan a kennel-köhögés hátterében a *Bordetella bronchiseptica*-t feltételezik, a diagnosztikai vizsgálatok egyértelműen bizonyítják azt, hogy a klinikai tünetek hátterében leggyakrabban vírusok (is) vannak [43].

A menhelyeknek nagy hangsúlyt kellene fektetniük a diagnosztikai tesztek alkalmazására, hisz az időben felállított diagnózis segítségével csökkenthető lenne a fertőzés szempontjából veszélyeztetett állatok száma, ill. az alkalmazott antibiotikumok mennyisége is. Egy időben felállított pontos diagnózis alapvetően befolyásolja azt, hogy a járványügyi intézkedések korai bevezetésével minél több állatot tudjunk megvédeni a betegségtől, egészségesek maradjanak, és ezáltal esélyük legyen az örökbefogadásra. Diagnózis hiányában vagy későn felállított diagnózis esetén, későn elkezdett járványügyi intézkedések esetén jelentősen nőhet a megbetegedő állatok száma [44].

A betegségben érintett populáció 5-30%-ából célszerű kötőhártya, orr- ill. garat-mintát venni, lehetőség szerint már a tünetek jelentkezését követő 4 napon belül. Amennyiben a megbetegedett állatokból elvégzett diagnosztikai vizsgálatok nem vezetnek eredményre, célszerű a tüneteket nem mutató, de érintett egyedekből mintát venni, vagy a betegség miatt elhullott állatokból mintát venni PCR-vizsgálatra ill. baktérium-tenyésztésre.

Jelenleg több cég gyárt PCR paneleket kutyák fertőző eredetű légzőszervi betegségeinek diagnosztizálására, de fontos hangsúlyozni, hogy a vírus nukleinsavának jelenléte (pozitív PCR eredmény), nem jelenti azt, hogy az adott kórokozó okozta abban az egyedben a megbetegedést, hiszen egyébként gyakran egészséges állatokból is kimutathatók a kennel-köhögés kórokozói [43, 44].

A klinikusnak azt kell vizsgálnia, hogy a megbetegedett populációban az adott patogén milyen gyakorisággal fordul elő, hiszen minél nagyobb arányban mutatható ki az adott kórokozó, annál nagyobb valószínűséggel állapítható meg annak a kóroki szerepe. De még ez sem zárja ki annak a lehetőségét, hogy a kimutatott kórokozón felül egyéb kóroki tényező is szerepet játsszon.

Fals negatív eredményt okozhatnak mintagyűjtési gondok, a minta nem megfelelő kezelése, vagy a nem megfelelő időpontban elvégzett mintavétel. Az influenzavírus esetében például a diagnosztikai teszt negatív lesz, ha a mintavétel akkor történik, amikor már klinikai tünetek jelentkeznek. Az RNS vírust tartalmazó minták sokkal labilisabbak, mint a DNS minták, és a minta tárolása, szállítása során könnyebben „bomlanak” [43].

Fals pozitív eredményt okozhat a minta kontaminálódása, labortechnikai problémák, és korábbi vakcinázások. A szopornyica vírusa elleni vakcina, a beadást követő három hétig PCR pozitivitást eredményezhet.

A legbiztosabb, valós eredményt akkor kapjuk, ha a mintákat a betegség tüneteinek megjelenésekor minél előbb, lehetőleg lázas kutyákból gyűjtjük [46].

A gyors eredményt biztosító úgynevezett „snap tesztek”esetében gyakran kapunk fals pozitív eredményeket. Ezek leggyakrabban az állati mintában jelenlevő ellenanyagokat vagy antigént mutatják ki, de nem képesek különbséget tenni a vad vírusos fertőzés következtében kialakult magas ellenanyag titer és virémia, valamint egy élő, attenuált vírustörzset tartalmazó vakcinával végzett immunizálás következtében kialakult magas ellenanyag titer és virémia között. Ebből kifolyólag, tehát egy ilyen vakcinával oltott kutya az immunizálást követő pár napban/héten egy vad vírussal fertőzött állathoz hasonlóan átmeneti virémián fog átesni, majd a későbbiekben magas ellenanyag titerrel fog rendelkezni.

A gyakorlatban az egyik leggyakrabban előforduló szituáció a következő:

1. a kutyát élő, attenuált vírustörzset tartalmazó vakcinával oltják (többek között szopornyica ellen)
2. a következő napokban légzőszervi tünetek jelentkeznek
3. az állatorvosi rendelőben végzett gyorsteszt alapján „szopornyica pozitív” az eredmény
4. antibiotikumos kezelés (vagy altatás)
5. sok esetben az állat meggyógyul

Mivel az állatot a mintavétel előtt nem sokkal vakcinázták, a gyorsteszt minden bizonnyal pozitív eredményre vezet, még abban az esetben is, ha a tünetek hátterében egyéb kórokozó (pl. *Bordetella bronchiseptica* és/vagy *Streptococcus* spp.) áll. Ilyen esetekben az állat „szopornyicából való kigyógyulása” a sikerese antibiotikumos kezelésre vezethető vissza (mivel elképzelhető, hogy nem is volt szopornyicavírusos fertőzés).

Ugyanakkor más eljárások (pl. PCR) esetében az ismert genetikai különbségek alapján a vad és vakcinavírusok megbízhatóan elkülöníthetők a nukleotidsorrend meghatározását követően, tehát a gyorstesztek esetében tapasztalt diagnosztikailag fals pozitív eredmények teljes mértékben elkerülhetők [47].

* + 1. **Kezelés**

A kennel-köhögés nem szövődményes esetei javarészt nem igényelnek kezelést, mert általában néhány napon belül meggyógyulnak.

A nem produktív köhögéssel járó esetekben csupán köhögéscsillapítók adása javasolt, és a kiegészítő terápia (nyugalom biztosítása, izgatottság kerülése, szorító nyakörv mellőzése) azt a célt szolgálja, hogy csökkentsük az állat légutainak az irritációját [48].

Azokban az állatokban, amelyekben bakteriális háttér is bizonyított vagy pedig nagy az esélyük a másodlagos bakteriális fertőzésre (pl. immunszuppresszált egyedek, fertőzött környezetben élők), azoknál az antibiotikus kezelés is indokolt.

A *Bordetella bronchiseptica* antibiotikumokra való érzékenysége nem kiszámítható, de leggyakrabban doxiciklinre, klóramfenikolra, enrofloxacinra és klavulánsavval potencírozott amoxicillinre várható érzékenység. Első generációs cefalosporinokra és ampicillinre szinte minden esetben rezisztencia volt tapasztalható.

* A doxiciklin bár emberekben jó koncentrációt tud elérni a légutakban, kutyákban nem tud bejutni a hámszövetekbe, és kölyök állatokban fogzománc-károsító hatására is figyelni kell.
* A klóramfenikol képes megfelelő koncentrációt elérni a légutakban, és ésszerű választás lehet olyan kölyök állatok esetében, ahol a fluorokinolonok és a tetraciklinek kontraindikáltak.
* Mivel a klavulánsavas amoxicillin nem jut el magas koncentrációban a hámszövetekbe, ezért inkább kevésbé súlyos megbetegedések kezelésére ajánlott.
* A fluorokinolonok magas szöveti koncentrációt érnek el, de fiatal állatokban előidézett porckárosító hatásuk miatt alkalmazásuk során figyelemmel kell lenni az állat életkorára.
* Az azitromicin magas koncentrációban jut el a légutakba, emberekben sikerrel alkalmazzák *Bordetella pertussis* fertőzés kezelésére, de *Bordetella bronchiseptica*-val szembeni érzékenységét még nem publikálták, és spektruma meglehetősen szűk [48].

Próbálkozások voltak arra vonatkozóan, hogy porlasztott antibiotikumok bejuttatásával akartak magasabb koncentrációt elérni a megbetegedett állatok légutaiban, de fontos hangsúlyozni azt, hogy a porlasztott antibiotikum soha nem helyettesítheti a szisztémásan adott antibiotikumokat a tüdőgyulladásban szenvedő állatokban, hiszen a tüdőgyulladás a tüdőparenchymában zajlik, és nem csupán az alveolusok megbetegedése. Említést érdemel az is, hogy gyakran az *in vitro* hatékonynak mutatkozó antibiotikum *in vivo* nem tudja megszüntetni a Bordetella fertőzést [46]. Green szerint „Sem a *Bordetella bronchiseptica*, sem a mycoplasma nem tűnik el teljesen a megbetegedett állat légutaiból, és hetekig perzisztál bennük” [49]. Mivel a mycoplasmáknak nincs sejtfaluk, ezért olyan antibiotikumokkal (pl. penicillinek) nem pusztíthatók el, melyek hatásmechanizmusa a sejtfalszintézis gátlásán alapul. A mycoplasmák esetében általában a doxiciklin vagy az azitromicin használata javasolt.

Amióta tudjuk, hogy a kennel-köhögés esetében a *Bordetella bronchiseptica*-n felül egyéb baktériumok is társulhatnak a vírusfertőzésekhez, azóta egyértelmű, hogy a doxiciklin helyett célszerűbb fluorokinolonokat, klavulánsavval potencírozott amoxicillint, vagy egyéb széles spektrumú antibiotikumot alkalmazni. A doxiciklin, fluorokinolonok és azitromicin magas koncentrációt ér el a légutakban, a béta-laktám antibiotikumok eljutnak a tüdőszövetbe, de nem képesek a légúti váladékokba penetrálni [50].

Néhány szerző említést tesz arról, hogy célszerű a tünetek enyhítése miatt szájon át prednizont adni, de ez nem csökkenti le a betegség időtartamát, és a bakteriosztatikus hatású antibiotikumokkal való együttes adása nem is szerencsés [48].

A köhögéscsillapítók, nyálkaoldók és hörgőtágítók szükségességéről megoszlanak a vélemények, mert egyesek szerint ezek alkalmazása enyhíti a tüneteket, elősegíti a gyorsabb gyógyulást, míg mások szerint ezek nem egyértelműen befolyásolják a javulást [48, 49].

A CIV elleni antivirális kezelés egyértelműen nem ajánlott, hiszen annak szakszerű használatához (adagolás, hatékonyság, toxicitás) nem állnak rendelkezésre vizsgálati eredmények [46].

Krakowka említést tesz az interferon-alfa alkalmazási lehetőségéről is. Mint megállapítja, a kennel köhögés elleni védekezésben jelenleg a legjobb megoldás a vakcinával történő megelőzés, a megbetegedett állatok esetében pedig a kiegészítő terápia (köhögés csillapítás, nyálka oldás), de nagy jövőt jósol az interferon-alfának, mely emberekben, laboratóriumi állatokban immunmodulátorként bizonyítottan csökkenti a gyulladásos immunválaszt [51].

* + 1. **Vakcinázás**

A CPiV, a CAdV-2 és a *Bordetella bronchiseptica* elleni intranazális ill. parenterális vakcinák régóta hozzáférhetők, és alkalmazhatók a kennel-köhögés megelőzésében. A *B. bronchiseptica* esetében az IgA és IgG ellenanyagok egyaránt szerepet játszanak a védelem kialakításában. A nyálkahártyák felületén képződő IgA típusú ellenanyag nem ad teljes védettséget, a baktériumot nem pusztítja el, csupán az ún. immun-kirekesztés folyamata következik be. Ennek lényege, hogy a bejutott kórokozót (vagy vakcina antigént) az ellenanyag felismeri, agglutinálja, és az így kialakuló antigén-ellenanyag komplex a mucociliaris rendszer által eltávolításra kerül. Az IgG típusú ellenanyag szisztémásan termelődik, a vérplazmában található, de gyulladásos folyamatok esetén képes a nyálkahártyák felületén is megjelenni. Éppen ezért a *B. bronchiseptica* elleni védekezésben az intranazális vakcina, majd pedig az azt követően adott parenterális vakcina tud maximális védelmet biztosítani a betegséggel szemben. Az intranazálisan beadott vakcina legkorábban 48-72 óra múlva alakít ki helyi védettséget [52]. Ugyanakkor azok az intranazális vakcinák adnak nagyobb védettséget, melyekben a *B. bronchiseptica*-n kívül a CPiV, és a CADV-2 is szerepel [53].

A vakcinák nyilvánvalóan csak azon vírusok ellen védenek, melyek antigénjei az adott vakcinában benne vannak, ha valamelyik alkotó hiányzik, akkor a védettség sem lehet teljes.

A vírusok elleni vakcinás védekezés összességében fontos, hisz ez által kisebb eséllyel fordulnak elő opportunista fertőzések, csökkenteni tudjuk az antibiotikumok használatát, és meg tudjuk akadályozni az indokolatlan antibiotikum használat miatt kialakuló rezisztens *Streptococcus zooepidemicus* törzsek felbukkanását [54].

1. **ANYAG ÉS MÓDSZER**
	1. **Minták**

A vizsgálatok során a FÖRI Állategészségügyi Szolgálatának Illatos úti telephelyén tartott, felső légúti megbetegedés tüneteit mutató 30 db kutyából gyűjtöttünk mintát 2015. április és 2015. december közötti időszakban.

Minden beteg állatból szerológiai vizsgálat céljából natív csőbe ill. EDTA-s csőbe vérmintát, bakteriológiai vizsgálat céljából transzport táptalajos mintavételi csőbe garatváladék-mintát, virológiai vizsgálatra natív csőbe garatváladék-mintát vettünk. A minták feldolgozása az Állatorvostudományi Egyetem Patológiai Tanszéken, valamint a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszéken, továbbá a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont Állatorvos-tudományi Intézetében történt, míg az adott időszakban elhullott egyetlen állatból a mintavétel a Patológiai Tanszéken történt.

* 1. **Klinikai vizsgálatok**

A mintavételezés a Telepen elhelyezett, légzőszervi tüneteket mutató kutyákból történt. A tünetek közül a savós vagy gennyes orrfolyás, köhögés dominált, és a vizsgálatra került állatok nagyobbik része a fiatal (1-2 éves) korosztályból került ki.

Minden állatnál az egyedi azonosító adatok (fajta, kor, ivar, szín stb.), a testtömeg, a mutatkozó tünetek feltüntetése mellett rögzítésre kerültek a klinikai alapadatok (testhőmérséklet, légzésszám, pulzusszám) is.

* 1. **Kórbonctan, kórszövettan**

A Telepen légzőszervi tünetek mellett a vizsgálati periódusban elhullott egyetlen kutya kórbonctani és kórszövettani vizsgálata a Patológiai Tanszékén történt. A kórszövettani mintákból 4%-os pufferolt formaldehid oldatban történt rögzítés, majd standard paraffin beágyazást követően 5 mikrométer vastag metszeteket készítettünk, majd ezeket hematoxilin-eozinnal festettük meg.

* 1. **RNS/DNS izolálás**

A beérkezett szövetmintákat és későbbiekben a tisztított nukleinsavat is -80˚C-on tároltuk. Szövetminták esetében a homogenizálás során steril dörzsmozsárban 2 ml steril PBS-t és kvarchomokot kevertünk a mintákhoz. A dörzsölés után kapott homogenizátumot 3 percig centrifugáltuk 3000 RPM-en. Ezek után a felülúszóval folytattuk a munkát. A váladékokat tartalmazó garattampon minták szintén steril PBS-ben kerültek kioldásra.

* 1. **RT-PCR**

Ezt a PCR eljárást (reverz transzkripciót követő polimeráz láncreakció) az RNS-genommal rendelkező vírusok kimutatására használtuk. A nukleinsav kinyerését követte a cDNS-re való átírás, illetve az amplifikáció, mely egy lépésben, One-step RT-PCR Kit (Qiagen, Germany) segítségével történt, „hot start” nélkül, Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA) gépen.

Az RT-PCR vizsgálathoz 15µl reakcióelegyet használtunk, az amplifikációs lépések a következők voltak:

50˚C 30 perc reverz transzkripció

95˚C 15 perc reverz transzkriptáz elimináció, denaturáció

94˚C 1 perc denaturáció

X˚ C 1 perc anelláció (ciklusok száma: 40)

72˚C 1 perc extenzió

72˚C 10 perc végső extenzió

4˚C ∞

|  |  |
| --- | --- |
| Szopornyica vírus (CDV) | 52˚C |
| Pantropikus coronavírus (CPCoV) | 55˚C |
| Parainfluenza vírus (CPiV) | 52 C |
| Légzőszervi coronavírus (CRCoV) | 45 C |

**3. táblázat:** A primerek kötődési hőmérsékletei az egyes kórokozók esetében

* 1. **Standard PCR**

Ezt az eljárást a DNS-genommal rendelkező, átírást nem igénylő adenovírusok kimutatására használtuk. Az 50 μl reakcióelegy összetétele a következő volt:

RNáz/DNáz-mentes ddH2O

10 x MgCl2 nélküli PCR puffer

2 mM-os dNTP (végső koncentráció: 0,2 mM dATP, dCTP, dGTP, dTTP)

25 mM MgCl2 (végső cc. 1-4 mM)

0.8 μM a megfelelő forward és reverse primerekből

1 μl-t az 1.25 u/50 μlTaq DNS polimerázból (Thermo Fisher Scientific, UK)

2.5 μl templát DNS

A folyamat lépései a következők voltak:

94˚C 10 perc denaturáció, Taq aktiváció

94˚C 1 perc denaturáció

X ˚C 1 perc anelláció (ciklusok száma: 40)

72˚C 1 perc extenzió

72˚C 10 perc végső extenzió

4˚C ∞

A kutya adenovírusok esetében a primerek kötődési hőmérséklete mind a CAdV-1 mind a CAdV-2 esetén 58˚C volt.

A reakciót Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA) géppel végeztük.

* 1. **Elektroforézis**

A kapott amplifikátumokat agaróz gélben elektroforetizáltuk. 100 ml 0,5x-es TBE pufferhez 1,3 g agarózt (SeaKem® LE Agarose, CambrexBio Science, Rockland, USA) adtunk, majd hevítettük. A még folyékony gélhez 4,5 µl gélfestéket (GR Safe DNA Stain, Inno Vita, USA) adtunk. Szilárdulás után 7,5-7,5 µl mintához 1,5-1,5 µl 6x Orange Loading Dye-t (Fermentas, Vilnius, Lithuania) és referenciaként 6,5 µl O'GeneRuler 50 bp DNA Ladder-t (Fermentas, Vilnius, Lithuania) mértünk a gélbe. Mindegyik futtatásnál használtunk pozitív és negatív kontrollt is. A futtatást 80 percig végeztük 80 V-on.

* 1. **Bordetella tenyésztés, kimutatás**

A garattampon mintákból MacConkey (Becton, Dickinson and Co.; New Jersey, USA) táptalajon végeztük a *B. bronchiseptica* izolálást. Az inkubáció 48 órán keresztül, 37°C-on, aerob körülmények között történt. A *B. bronchiseptica* telepmorfológiát mutató telepeket 5 % juhvért tartalmazó Columbia agarra oltottuk, és aerob körülmények között 37ºC-on, 24 óráig inkubáltuk.

A molekuláris azonosítás során a *B. bronchiseptica* genomjának egy specifikus szakaszát polimeráz láncreakcióban (PCR) szaporítottuk fel. A reakcióhoz szükséges DNS templát elkészítéséhez egy kacsnyi baktériumot 50 μl steril desztillált vízben szuszpendáltunk, majd a vortexelést követően 20 percig 99 ºC-on forraltuk. Centrifugálás (12500 rpm, 5 perc) után a felülúszót (DNS templátot) használtuk fel a PCR reakcióban.

A fajspecifikus PCR-hez Hozbor és mtsai (1999) ajánlását követtük [55].

Reakciónként egy-egy mintára 24 μl premix oldatot mértünk össze:

16,5 μl steril desztillált víz

2,5 μl 10× PCR puffer (DreamTaqBuffer, Fermentas, Vilnius, Lithuania)

2,0 μl DMSO

1,2 μl MgCl2 (25 mM, Fermentas, Vilnius, Lithuania)

1,0 μldNTP (10 mM, Fermentas, Vilnius, Lithuania)

0,3 μl forward primer: 5’ AGG CTC CCA AGA GAG AAA GG 3’ (50 μM, Sigma-Aldrich)

0,3 μl reverse primer: 5’ TGG CGC CTG CCC TAT C 3’ (50 μM, Sigma-Aldrich)

0,2 μl Taq polimeráz enzim (5 U/μlDreamTaq DNA Polymerase, Fermentas, Vilnius, Lithuania)

Mintánként 1 μl DNS templátot adtunk a premixhez. A reakciók ellenőrzésére pozitív kontrollnak a korábban leírt, KM22 jelű sertés eredetű *B. bronchiseptica* törzset használtuk. Vortexelés után a mintákat Swift Mini ThermalCycler (Esco) készülékbe helyeztük és az alábbi hőprofil mellett 30 ciklust futtattunk le:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kezdeti denaturáció | 94 ºC | 3 perc  |
| Denaturáció | 94 ºC | 30 mp  |
| Anelláció | 53 ºC | 30 mp  |
| Elongáció | 72 ºC | 30 mp  |
| Végső elongáció | 72 ºC | 5 perc  |

A PCR termékeket gélelektroforézissel (1,5 %-os agaróz gél, 100 V, 1× TBE puffer) GelRed (Biotinum) festék mellett, UV fényben detektáltuk (Kodak GelLogic System).

A törzsek antibiotikum rezisztenciájának meghatározásához Kirby-Bauer korongdiffúziós módszert alkalmaztunk. A vizsgálathoz az egyes *B. bronchiseptica* törzsekből 5 ml steril fiziológiás sóoldatban 0,5 McFarland sűrűségű baktérium szuszpenziót készítettünk, majd steril fülpiszkálóval Mueller-Hinton (LabM) táptalajon szélesztettük. Adagolók segítségével egy táptalajra 6 különböző antibiotikum korongot helyeztünk, majd 36 ºC-on 24 órán át inkubáltuk a mintákat. A keletkezett gátlási zónákat vonalzó segítségével, milliméter pontossággal határoztuk meg. A vizsgálat értékelésekor az NCCLS (2002) határértékeit vettük figyelembe.

* 1. **Mycoplasma tenyésztés**

A tampon mintákat Mycoplasma táplevesbe (pH 7,8) tettük (Thermo Fisher Scientific Inc./Oxoid Inc./, Watham, MA) és 37 ˚C-on, 5% CO2 mellett színváltozásig inkubáltuk. Szilárd Mycoplasma táptalajra csurgatva (Thermo Fisher Scientific Inc./Oxoid Inc.) a látható telepek megjelenéséig inkubáltuk (37 ˚C, 5% CO2), majd háromszori átoltással és filter klónozással színtenyészeteket hoztunk létre. Az izolátumokat DNS kivonást követően (QIAamp DNS Mini Kit /Qiagen Inc., Hilden, Németország/) a *Mycoplasmataceae* család 16S/23S spacer régiójára specifikus PCR rendszerrel vizsgáltuk.

A PCR termékek szekvenálását ABI Prism 3100 automata DNS-szekvenálóval (Applied Biosystems, Foster City, Kanada), a szekvencia analízist BioEdit v7.2.5 programmal, a faj szintű azonosítást BLAST kereső program segítségével végeztük el.

1. **EREDMÉNYEK**
	1. **Kórbonctani, kórszövettani vizsgálat**

Az egyetlen elhullott állatból származó minta patológiai diagnosztikai vizsgálata során enyhe fokú tüdőgyulladás jelei, a vékonybélben lymphoid depletio és hasmenésre utaló béltartalom volt látható. A kórszövettani vizsgálat során a tüdőben interstitialis pneumoniát, alveolus hám degenerációt és leválást, a vékonybélben a mikrovillusok degenerációját tapasztaltunk. A tüdőből véres agaron való baktériumtenyésztés negatív eredményt adott. A PCR vizsgálatok eredménye: szopornyica negatív, parvovírus negatív, coronavírus pozitív (tüdőből és bélből is). A Mycoplasma és Bordetella tenyésztés eredménye is negatív lett.

* 1. **Virológiai vizsgálat**

Az élő állatokból gyűjtött minták PCR vizsgálatok során 9 állat mintájából lehetett parainfluenza vírust kimutatni, míg a légzőszervi coronavírus, pantropikus coronavírus, szopornyica vírus és az adenovírus-1 és adenovírus-2 kimutatását célzó PCR vizsgálatok negatív eredménnyel zárultak.

* 1. **Bakteriológiai vizsgálat**
		1. *Bordetella bronchiseptica vizsgálatok*

A bakteriológiai vizsgálatok során két állat garat mintájából sikerült *Bordetella bronchiseptica* baktériumot kitenyészteni, ezek estében a korongdiffúziós módszerrel elvégzett antibiotikum rezisztencia vizsgálat az alábbi eredményt hozta:

A vizsgált törzs a következő antibiotikumokra volt rezisztens:

Penicillin, ampicillin, ceftiofur, cephalexin, vancomycin, streptomycin, apramycin, lincomycin, co-trimaxazol és sulphonamide

A vizsgált törzs a következő antibiotikumokra volt érzékeny:

Colistin, gentamicin, neomicin, tetraciklin, oxitetraciklin, doxiciklin, eritromicin, tilmicosin, chloramfenicol, florfenicol, flumequin, enrofloxacin, nalidixsav, ciprofloxacin

Az antibiotikum érzékenység adatait az 1. ábra és 4. táblázat foglalja össze.

**1. ábra:** A gátlási zóna átmérőinek grafikus megjelenítése különböző antibiotikumok esetén

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Antibiotikum | Rövidítés | Gátlási zóna átmérője(mm) |
| Penicillin | PEN 10 | 0 |
| Ampicillin | AMP 10 | 0 |
| Ceftiofur | FUR 30 | 0 |
| Cephalexin | CLX 30 | 0 |
| Vancomycin | VAN 30 | 0 |
| Colistin | COL 30 | 17 |
| Streptomycin | STR 10 | 0 |
| Gentamicin | GEN 10 | 17 |
| Neomycin | NEO 30 | 18 |
| Apramycin | APR 15 | 0 |
| Tetracycline | TET 30 | 23 |
| Oxytetracycline | T 30 | 22 |
| Doxycycline | DOX 30 | 25 |
| Erythromycin | ERY 15 | 22 |
| Tilmicosin | TIL 15 | 21 |
| Chloramphenicol | CHL 30 | 23 |
| Florfenicol | FFL 30 | 26 |
| Lincomycin | L 2 | 0 |
| Flumequine | FLM 30 | 16 |
| Enrofloxacin | ENO 5 | 20 |
| Nalidixicacid | NAL 30 | 13 |
| Ciprofloxacin | CPR 5 | 26 |
| Co-trimaxazol | COT 25 | 0 |
| Sulphonamide | SMX 300 | 0 |

**4. táblázat:** A gátlási zónák átmérői

* + 1. *Mycoplasma vizsgálatok*

A vizsgálatok során 10 állatból származó 15 minta esetében tudtunk Mycoplasmát kitenyészteni, amelyek közül – a faj szintű azonosítás során –13 *Mycoplasma canis*nak, 2 *Mycoplasma maculosum*nak, 1 minta pedig *Mycoplasma spumans*nak bizonyult.

A kitenyésztett fajok a kutyák normál légúti flórájának a részét képezik, egészséges és beteg kutyákból egyaránt kitenyészthetők.

A mikrobiológiai vizsgálatok eredményeit összesítve az 5. táblázat tartalmazza.



**5. táblázat:** Eredmények összesítése

1. **MEGBESZÉLÉS**

Nagy létszámú állatot tartó telepeken (menhelyeken, gyepmesteri telepeken) a kennel köhögés előfordulása nagyon gyakori.

A komolyabb járványok kialakulásának megelőzése érdekében alapvetően fontos, hogy a felső légúti megbetegedés tüneteit mutató állatokat minél előbb felismerjük és „kiemeljük” eredeti tartási helyükről, és ezzel csökkentsük a környezet kórokozókkal való terhelését. Mivel a kennel-köhögés gyógyítható betegség, ezért, ha szopornyica fertőzés előfordulásával nem kell számolnunk az állományon belül, és a menhelyen belül van lehetőség arra, hogy a felgyógyulás idejére elkülönítsük a beteg állatokat, akkor a felső légúti fertőző betegség járványszerű kirobbanása megakadályozható.

Az általam vizsgált időszakban a Telepen a parainfluenza vírusa okozott járványszerű esethalmozódást, hisz a vizsgált felső légúti megbetegedést mutató kutyák 30 százalékában (9 esetben) ki lehetett mutatni ezt a kórokozót.

A hosszú lappangási idejű és hosszú kórlefolyású szopornyica esetében a vírusfertőzés átvitelének megakadályozása menhelyi körülmények között nagyon nehéz, gyógykezelése a menhelyen legtöbbször reménytelen, a megbetegedett állatok gyakran eutanáziára kerülnek, de a Telepen a 2005. évben elkezdett szopornyica mentesítési programnak és az azóta is tartó immunizálásnak köszönhetően ez a vírusfertőzés nem ütötte fel a fejét, és ennek sikerességét a mostani vizsgálatok is alátámasztották, hiszen a szopornyica vírusát egyetlen mintában sem lehetett kimutatni.

Egyetlen esetben pantropikus coronavírus került kimutatásra egy elhullott kölyök állatból, de érdekes módon − ellentétben a szakirodalmi adatok szerint jellemző koinfekciós esetekkel szemben – a tetemből parvovírus egyidejű előfordulása nem volt igazolható. Ez amellett szól, hogy a pantropikus coronavírus önmagában is képes fatális kimenetelű generalizált fertőzést kialakítani, ahogyan az az eredeti esetleírásban is bemutatásra került [17, 18].

A kennel-köhögés bakteriális összetevői közül a *Bordetella bronchiseptica* a leggyakoribb, és vizsgálatunkban két kutya garatmintájából sikerült is kitenyészteni ezt a kórokozót. A gyakorlati tapasztalatok azt mutatják, hogy ez a bakteriális fertőzés antibiotikumokkal jól kézben tartható, és az elvégzett antibiotikum rezisztencia-vizsgálatok alapján hatékonynak mutatkozó gyógyszerek *in vivo* is gyorsan visszaszorítják a megbetegedést. Szerencsére multirezisztens törzs nem fordult elő, amelynek felbukkanása jelentősen megnehezítené a gyógykezelést, és gyorsan járványok elterjedését eredményezné.

Bár több mintából sikerült Mycoplasma fajokat izolálni, de azokból a faj szintű azonosítás során egyik sem bizonyult *Mycoplasma cynos*nak, az azonosított mycoplasma-fajoknak (*Mycoplasma canis, Mycoplasma maculosum, Mycoplasma spumans*) pedig kórtani szerepük vélhetőleg nincs.

A kennel-köhögés kóroktanában a szakirodalomban felsorolt egyéb vírusok és baktériumok előfordulása a vizsgálatok szerint a Telepen a vizsgálati periódusban nem volt igazolható. Mindenképpen hangsúlyozni kell azonban (éppen a Telep járványtani nyitottsága és az intenzív állományrotáció miatt), hogy ez csak pillanatnyi helyzetképnek fogható fel, egy újabb vizsgálatsorozat akár pár hónap eltéréssel is már egy teljesen más kórokozó-összetételt tárhat fel.

Megállapítható, hogy a diagnosztikai eljárások jól működnek, mind a vírusok, mind a baktériumok vonatkozásában, és a járványvédelmi, vakcinázási, higiéniai kiegészítésekkel jól kézben tartható a Telep állategészségügyi helyzete, hisz a vizsgálati periódusban súlyos légzőszervi megbetegedés miatt egyetlen állatot sem kellett elaltatni, és elhullásunk is mindössze egy volt: az a fiatal, valószínűleg immundepresszált egyed, amelynek szerveiből a pantropikus coronavírust ki tudtuk mutatni..

Mivel a kennel-köhögésben megbetegedő állatok már a betegség tüneteinek megjelenése előtt is ürítik a vírust, ezért azokat az állatokat, melyek a megbetegedő állatokkal direkt vagy indirekt módon érintkeztek, 14 napon keresztül meg kell figyelni, és vizsgálni kell, hogy náluk is jelentkeznek-e a betegség tünetei.

Fontos hangsúlyozni, hogy a kennel-köhögés esetében az enyhe tüneteket mutató állatoknak nagy szerepük van a betegség adott populáción belüli fennmaradásában. Gyakori tévhit, hogy a megbetegedés enyhe tüneteit mutató egyedek által ürített kórokozók gyenge megbetegedést tudnak csak közvetíteni társaiknak, pedig a valóság az, hogy a klinikai tünetek súlyossága mind a kórokozó virulenciájától, mind pedig az egyed immunrendszerének erősségétől egyaránt függ. A szopornyica vírusával vagy influenzavírussal fertőzött, élénk, enyhe orrfolyást mutató állat által közvetített fertőzés egy másik állatban súlyos, vagy akár halálos kimenetelű megbetegedést tud előidézni.

Aerogén úton terjedő betegségről lévén szó, ha nem megvalósítható a beteg állatok külön légtérben történő elhelyezése, akkor legalább 6 méter légvonalbeli távolság megtartására kell törekedni a beteg és egészséges állatok között.

 A betegség megjelenése estén a legbiztosabb megoldás az állattartó telep bezárása, zárlat alá vonása lenne, azaz új állatok a zárlat ideje alatt nem érkezhetnének. Ez a gyakorlatban viszont nagyon ritkán megvalósítható, ezért a nagyobb járványok kirobbanásának megakadályozása érdekében az alábbi intézkedések javasoltak:

* a beteg állatok azonnali teljes elkülönítése, karanténozása (minimum 2 hétre), amely helyiség önálló szellőző berendezéssel ellátott
* amennyiben a karantén alatt lévő állatért jelentkezik az eredeti gazdája, és az állatot haza akarja vinni, akkor fel kell hívni a gazda figyelmét arra, hogy az állatot kutya közösségbe nem viheti, mert a betegség más állatokra fertőző
* a karanténban lévő állat(ok) kezelésére külön személyzetet kell kijelölni, akik egyszer használatos kesztyűt, csizmát, ruházatot viselnek és az állatok takarítása, etetése és kezelése az egészségesektől izoláltan, külön eszközökkel történjen
* nagy hangsúlyt kell fektetni a megfelelő takarításra és fertőtlenítésre

A megfelelően elvégzett takarítás és fertőtlenítés a fertőző betegségek elleni harcban kiemelt fontosságú, azáltal, hogy jelentősen csökkenti a környezetben lévő fertőző ágensek számát. Az állattartó telepen történő takarítás és fertőtlenítés elvégzésénél nagyon fontos szabály, hogy azt mindig a legérzékenyebb egyedeknél (kölyköknél) kezdjük, utána végezzük el a felnőtt állatoknál, és mindig a nem fertőzött terület felől haladjunk a fertőzött terület felé.

Ennek alapján a helyes sorrend a következő: egészséges kölyök állatok → egészséges felnőtt állatok → karanténozott kölykök → karanténozott felnőtt állatok → beteg, elkülönítőben lévő egyedek.

Minden egyes helyiségnek saját takarítóeszközökkel kell rendelkeznie, és az eszközöknek az egyes területek közötti cseréje szigorúan tilos. Fertőtleníthető gumicsizma és egyszer használatos kötény használatával lehet megelőzni a cipővel, ill. ruhával történő fertőzés átvitelét.

A beteg elkülönítő helyiségben egyszer használatos gumikesztyű használata kötelező, ill. a beteg kutyával való érintkezés után kötelező a 60-90 % etil-alkohol tartalmú kézfertőtlenítő használata is.

A napi takarításnak és fertőtlenítésnek ki kell terjednie az etető-, és itatótálakra, és az állatszállító járművekre is. A műanyag etető-, és itatótálakat célszerű lecserélni rozsdamentes acélból készültre, mert az összekarcolódott műanyag tálak szakszerű fertőtlenítése nem megoldható.

A kennel-köhögés kórokozói közül a vírusok néhány órán belül, a *Bordetella bronchiseptica* pedig néhány héten belül a környezetben elpusztul, és a szokásos fertőtlenítőszerekkel (kvaterner ammónium sók, nátrium-hipoklorit) elpusztíthatók. Az adenovírus viszont kivételt jelent, annak inaktiválásához ugyanis 5 %-os nátrium-hipoklorit, kálcium-hipoklorit, nátrium-diklórizocianurát vagy kálium-peroxymonoszulfát szükséges.

A fertőtlenítőszerek felvitele előtt a felületet a szennyeződésektől (bélsár, vizelet, hányadék, vér stb.) meg kell tisztítani, majd ezt követően a fertőtlenítőszernek minimum 10 perces behatási időt kell hagyni. A fertőtlenítőszereket az előírt koncentrációban szabad csak használni, ugyanis az előírtnál töményebb alkalmazásuk esetén azok irritálják a bőrt, szemet, légutakat, és a fertőtlenítőszerek gőzei a felső légúti megbetegedést súlyosbíthatják. A kórokozók nedves környezetben könnyebben túlélnek, ezért fontos odafigyelni arra is, hogy a nedves takarítást követően a lehető legszárazabb felületek maradjanak vissza.

Az állattartó telepek folyamatos túlzsúfoltsága miatt teljes körű, a Telep valamennyi kennelére kiterjedő takarítás és fertőtlenítés ritkán valósítható meg. Ideális esetben a kennelek olyanok, amelyekben egy zsilipajtóval a kifutó a belső résztől leválasztható, így a zsilipajtó leeresztésével a kutya a takarítás, fertőtlenítés idejére az egyik oldalon tartható. Amennyiben nincs lehetőség „zsilipelésre”, és az állatokat a takarítás idejére ki kell venni a kennelből, akkor nagyon ügyelni kell arra, hogy a kutyákat ne egy közös helyiségbe helyezzük, vagy ne olyan folyosón keresztül vezessük, amely más állatok váladékaival kontaminálódhatott. Zsilipajtó hiányában a kennek fertőtlenítése úgy oldható csak meg, hogy egy kennelsoron belül az utolsó kennel üres és kifertőtlenített, a mellette lévő állatot ide áthelyezik, majd ezt a kennelt kitakarítják, kifertőtlenítik, majd ebbe kerül a mellette lévő, és így tovább.

A kennel-köhögés megelőzésének két fontos eleme van:

- A kennel-köhögés kórokozóival való exponálódás esélyének csökkentése megfelelő járványügyi intézkedésekkel.

- A kennel-köhögés kórokozóival szembeni ellenállóképesség növelése megfelelő vakcinázással, légúti irritáció kiküszöbölésével, és stressz-mentes környezet biztosításával.

A vakcinával való védekezés menhelyeken egyrészt meglehetősen költséges, másrészt pedig hatékonysága sem kielégítő, így bár az opportunista fertőzések megelőzésében segítséget nyújthat, mégis a megelőzésben legfontosabb az, hogy minél nagyobb figyelmet fordítsunk a legnagyobb rizikófaktornak számító zsúfoltság és stressz csökkentésére. A túlzsúfolt telepeken az egymással szembeni kennelekben elhelyezett állatok, az egy kennelben elhelyezett több kutya, a betegség tüneteit mutató állatok kései izolálása mind-mind hozzájárulhat járványok kirobbanásához. Fontos jól felmérni azt, hogy mekkora populáció helyezhető el biztonságosan egy menhelyen, és ez az állatlétszám mekkora személyzettel üzemeltethető.

A kennel-köhögés megelőzésének egyik legegyszerűbb módja, ha lecsökkentjük az állatok tartózkodási idejét a menhelyen, hiszen Edinboro és társai már 2004-ben leírták, hogy minden egyes menhelyen eltöltött nap 3%-al növeli a kennel-köhögés kialakulásának esélyét az adott egyedben [56]. Éppen ezért alaposan mérlegelni szükséges azt, hogy pl. az örökbe adásra váró ebek viselkedési vizsgálatai, az ivartalanításra való várakozás, az egészséges állatok karanténozása stb., nem növelik-e feleslegesen a menhelyen töltött időt, ezáltal az esélyét esetleges fertőző betegségek kialakulásának.

Összességében megállapítható, hogy a Telep járványtani helyzete a fokozott kockázat dacára nem rosszabb, mint más, hasonló menhelyeké, a foganatosított járványvédelmi intézkedések (fertőtlenítések, gondozók mozgásának irányítottsága, beteg állatok elkülönítése, vakcinázási program stb.) hatására a legnagyobb kórokozó képességű vírusokat sikerült kiszorítani az állományból. Az esetleg jelentkező légzőszervi megbetegedések vagy átvészelés révén (parainfluenza vírus) vagy gyógykezelés hatására (*Bordetella bronchiseptica*) gyógyulnak, de komoly, elhullásban vagy súlyos leromlásban jelentkező halmozott esetek nem fordulnak elő.

1. **ÖSSZEGZÉS**

A kennel-köhögés menhelyeken gyakran előforduló multifaktoriális megbetegedés, melynek kialakításában több vírusnak, ill. baktériumnak lehet szerepe, de hasonlóan a mások által korábban végzett vizsgálatokhoz, mi is azt tapasztaltuk, hogy a leggyakoribb vírusos kóroki tényező a viszonylag enyhe lefolyású betegséget előidéző parainfluenza vírus, míg a baktériumok közül a *Bordetella bronchiseptica* a legjelentősebb szereplő.

A szopornyica vírusa, az évekkel korábban elkezdett mentesítésnek és immunizálási programnak köszönhetően nem fordul elő a Telepen, míg pantropikus coronavírus felbukkanásával mindenképpen számolni kell, bár érdekes módon az egyetlen kimutatott esetünkben nem parvovírussal együtt, hanem önállóan fordult elő. Az adenovírus-1 és adenovírus-2 kimutatását célzó vizsgálatok negatív eredménnyel zárultak.

Bár több mintából sikerült különböző Mycoplasma-fajokat (*Mycoplasma canis, Mycoplasma maculosum, Mycoplasma spumans*) kitenyésztenünk, ezeknek kórtani szerepe vélhetőleg nincs, a kifejezetten patogénnek tartott *Mycoplasma cynos* nem fordult elő.

Vizsgálatunkban a *Bordetella bronchiseptica* okozta bakteriális szövődmény kezelésére *in vitro* a legmegfelelőbb antibiotikumnak a florfenikol, a ciprofloxacin, a doxiciklin és az enrofloxacin bizonyult, és összhangban a szakirodalmi adatokkal az ampicillinre és első generációs cefalosporinokra teljes rezisztencia volt tapasztalható. Ezekkel az *in vitro* hatékonynak bizonyuló antibiotikumokkal a bakteriális fertőzések *in vivo* jól kézben tarthatók.

Aerogén úton terjedő betegségről lévén szó, a fertőzés továbbterjedésének megakadályozása szempontjából kiemelt fontosságú a felső légúti tüneteket mutató állatok azonnali elkülönítése, és a megfelelően elvégzett takarítás és fertőtlenítés révén a környezetben lévő fertőző ágensek számának csökkentése. A betegség megelőzése szempontjából fontos a kennel-köhögés kórokozóival való exponálódás esélyének csökkentése megfelelő járványügyi intézkedésekkel, és a legnagyobb rizikófaktorként szereplő zsúfoltság és stressz megszüntetését célzó intézkedések fenntartása.

1. **SUMMARY**

Kennel cough is a multifactorial disease commonly occurring in animal shelters; several viruses and bacteria may participate in its development. Similarly to previous studies conducted by others, we observed that the most common viral cause is the parainfluenza virus, which causes a relatively mild illness. Amongst bacteria, *Bordetella bronchiseptica* is the most prominent factor.

The virus causing dog-distemper does not occur on the Site due to the eradication and immunization program started years ago; however, the occurrence of pantropic coronavirus should definitely be factored in although, interestingly, in the only single identified case, it occurred alone and not with parvovirus. Tests for the detection of adenovirus-1 and adenovirus-2 yielded negative results.

Although various Mycoplasma species (*Mycoplasma canis, Mycoplasma maculosum, Mycoplasma spumans*) were successfully cultured from several samples, they are unlikely to play any role in this pathology. *Mycoplasma cynos,* considered to be a pathogenic bacterium, did not occur.

Our study has shown *in vitro* that the most appropriate antibiotic agents for the treatment of bacterial complication caused by *Bordetella bronchiseptica* were florfenicol, ciprofloxacin, doxycycline, and enrofloxacin; in line with literature, complete resistance to ampicillin and the first generation cephalosporins was seen. With these antibiotics shown to be effective *in vitro,* bacterial infections can be well-controlled *in vivo*.

Given the fact that it is an illness spread by aerogenic way, immediate quarantine for animals showing upper respiratory symptoms and reduction of infectious agents in the environment by cleaning and disinfection are of utmost importance to avoid spread of the disease. The reduction of exposure to pathogens causing kennel cough by epidemic measures and taking measures to eliminate the greatest risk factors, crowdedness and stress, are important for the prevention of this disease.

1. **HIVATKOZÁSOK**

1. Rosenberg, F.J., et al., *Studies of canine respiratory viruses. I. Experimental infection of dogs with an SV5-like canine parainfluenza agent.* Am J Epidemiol, 1971. **94**(2): p. 147-65.

2. Appel, M.J. and D.H. Percy, *SV-5-like parainfluenza virus in dogs.* J Am Vet Med Assoc, 1970. **156**(12): p. 1778-81.

3. Buonavoglia, C. and V. Martella, *Canine respiratory viruses.* Vet Res, 2007. **38**(2): p. 355-73.

4. Carmichael, L.E., R.A. Squire, and L. Krook, *Clinical and pathologic features of a fatal viral disease of newborn pups.* Am J Vet Res, 1965. **26**(113): p. 803-14.

5. Ledbetter, E.C., S.G. Kim, and E.J. Dubovi, *Outbreak of ocular disease associated with naturally-acquired canine herpesvirus-1 infection in a closed domestic dog colony.* Vet Ophthalmol, 2009. **12**(4): p. 242-7.

6. Hashimoto, A., et al., *Experimental transplacental infection of pregnant dogs with canine herpesvirus.* Am J Vet Res, 1982. **43**(5): p. 844-50.

7. Burr, P.D., et al., *Detection of canine herpesvirus 1 in a wide range of tissues using the polymerase chain reaction.* Vet Microbiol, 1996. **53**(3-4): p. 227-37.

8. Ditchfield, J., L.W. Macpherson, and A. Zbitnew, *Association of Canine Adenovirus (Toronto A 26/61) with an Outbreak of Laryngotracheitis ("Kennel Cough"): A Preliminary Report.* Can Vet J, 1962. **3**(8): p. 238-47.

9. Swango, L.J., W.L. Wooding, Jr., and L.N. Binn, *A comparison of the pathogenesis and antigenicity of infectious canine hepatitis virus and the A26-61 virus strain (Toronto).* J Am Vet Med Assoc, 1970. **156**(12): p. 1687-96.

10. Bulut, O., et al., *The serological and virological investigation of canine adenovirus infection on the dogs.* ScientificWorldJournal, 2013. **2013**: p. 587024.

11. Erles, K., et al., *Detection of a group 2 coronavirus in dogs with canine infectious respiratory disease.* Virology, 2003. **310**(2): p. 216-23.

12. Mitchell, J.A., et al., *Tropism and pathological findings associated with canine respiratory coronavirus (CRCoV).* Vet Microbiol, 2013. **162**(2-4): p. 582-94.

13. Crawford, P.C., et al., *Transmission of equine influenza virus to dogs.* Science, 2005. **310**(5747): p. 482-5.

14. Castleman, W.L., et al., *Canine H3N8 influenza virus infection in dogs and mice.* Vet Pathol, 2010. **47**(3): p. 507-17.

15. Renshaw, R.W., et al., *Pneumovirus in dogs with acute respiratory disease.* Emerg Infect Dis, 2010. **16**(6): p. 993-5.

16. Percopo, C.M., et al., *Canine pneumovirus replicates in mouse lung tissue and elicits inflammatory pathology.* Virology, 2011. **416**(1-2): p. 26-31.

17. Buonavoglia, C., et al., *Canine coronavirus highly pathogenic for dogs.* Emerg Infect Dis, 2006. **12**(3): p. 492-4.

18. Decaro, N., et al., *Molecular characterisation of the virulent canine coronavirus CB/05 strain.* Virus Res, 2007. **125**(1): p. 54-60.

19. Béla, L., et al., *A kutyák pantropikus coronavírusfertőzésének kimutatása Magyarországon.* 2013.

20. Binn, L.N., et al., *Recovery of reovirus type 2 from an immature dog with respiratory tract disease.* Am J Vet Res, 1977. **38**(7): p. 927-9.

21. Decaro, N., et al., *Virological and molecular characterization of a mammalian orthoreovirus type 3 strain isolated from a dog in Italy.* Vet Microbiol, 2005. **109**(1-2): p. 19-27.

22. Massie, E.L. and E.D. Shaw, *Reovirus type 1 in laboratory dogs.* Am J Vet Res, 1966. **27**(118): p. 783-7.

23. Kapoor, A., et al., *Characterization of novel canine bocaviruses and their association with respiratory disease.* J Gen Virol, 2012. **93**(Pt 2): p. 341-6.

24. Kapoor, A., et al., *Characterization of a canine homolog of hepatitis C virus.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2011. **108**(28): p. 11608-13.

25. Ferry, N.S., *A preliminary report of the bacterial findings in canine distemper.* Am.Vet.Rev., 1910. **37**: p. 499-504.

26. Goodnow, R.A., *Biology of Bordetella bronchiseptica.* Microbiological reviews, 1980. **44**(4): p. 722.

27. Kume, K., et al., *Properties of dermonecrotic toxin prepared from sonic extracts Bordetella bronchiseptica.* Infect Immun, 1986. **52**(2): p. 370-7.

28. Bemis, D.A., L.E. Carmichael, and M.J. Appel, *Naturally occurring respiratory disease in a kennel caused by Bordetella bronchiseptica.* Cornell Vet, 1977. **67**(2): p. 282-93.

29. Wagener, J.S., et al., *Role of canine parainfluenza virus and Bordetella bronchiseptica in kennel cough.* Am J Vet Res, 1984. **45**(9): p. 1862-6.

30. Byun, J.W., et al., *An outbreak of fatal hemorrhagic pneumonia caused by Streptococcus equi subsp. zooepidemicus in shelter dogs.* J Vet Sci, 2009. **10**(3): p. 269-71.

31. Chalker, V.J., H.W. Brooks, and J. Brownlie, *The association of Streptococcus equi subsp. zooepidemicus with canine infectious respiratory disease.* Vet Microbiol, 2003. **95**(1-2): p. 149-56.

32. Piva, S., et al., *Chronic rhinitis due to Streptococcus equi subspecies zooepidemicus in a dog.* Vet Rec, 2010. **167**(5): p. 177-8.

33. Priestnall, S.L., et al., *Characterization of pneumonia due to Streptococcus equi subsp. zooepidemicus in dogs.* Clin Vaccine Immunol, 2010. **17**(11): p. 1790-6.

34. Larson, L.J., et al., *Efficacy of the canine influenza virus H3N8 vaccine to decrease severity of clinical disease after cochallenge with canine influenza virus and Streptococcus equi subsp. zooepidemicus.* Clin Vaccine Immunol, 2011. **18**(4): p. 559-64.

35. Rosendal, S., *Mycoplasmas as a possible cause of enzootic pneumonia in dogs.* Acta Vet Scand, 1972. **13**(1): p. 137-9.

36. Chalker, V.J., et al., *Mycoplasmas associated with canine infectious respiratory disease.* Microbiology, 2004. **150**(Pt 10): p. 3491-7.

37. Zeugswetter, F., et al., *Lethal bronchopneumonia caused by Mycoplasma cynos in a litter of golden retriever puppies.* Vet Rec, 2007. **161**(18): p. 626-7.

38. Rosendal, S., *Canine mycoplasmas: their ecologic niche and role in disease.* J Am Vet Med Assoc, 1982. **180**(10): p. 1212-4.

39. Appel, M.J. and B.A. Summers, *Pathogenicity of morbilliviruses for terrestrial carnivores.* Veterinary microbiology, 1995. **44**(2): p. 187-191.

40. Varga, J., S. Tuboly, and J. Mészáros, *A háziállatok fertőző betegségei: állatorvosi járványtan 2*. 1999: Mezőgazda.

41. Karsai, F. and K. Vörös, *Állatorvosi belgyógyászat I.* A kutyák és a macskák betegségei. Budapest: PRIM-A-VET Állatgyógyászati Kft, 1999.

42. Tuboly, S., et al., *Állatorvosi járványtan I.* Mezőgazda Kiadó. Budapest, 1998.

43. Crawford, C., *Canine Respiratory Infections in Animal Shelters.* Maddie’s Shelter Medicine Program College of Veterinary Medicine, University of Florida. <http://sheltermedicine>. vetmed. ufl. edu/files/2011/11/canine-respiratory-infections-inanimal-shelters. pdf Accessed November, 2012.

44. Carey, S.A., *Canine Infectious Respiratory Disease Complex: Update on Novel and Emerging Pathogens.*

45. Priestnall, S., et al., *New and emerging pathogens in canine infectious respiratory disease.* Veterinary Pathology Online, 2014. **51**(2): p. 492-504.

46. Cohn, L.A., *Contagious Causes of Canine Cough.* 2010.

47. Demeter, Z., et al., *Genetic diversity of Hungarian canine distemper virus strains.* Veterinary microbiology, 2007. **122**(3): p. 258-269.

48. Keil, D. and B. Fenwick, *Canine Respiratory Bordetellosis: Keeping up with an Evolving.* 2000.

49. Greene, C.E., *Infectious diseases of the dog and cat*. 2013: Elsevier Health Sciences.

50. Lakatos, B., *A kutyák pantropikus coronavírusfertőzésének kimutatása Magyarországon.* Magyar Állatorvosok Lapja, 2013. **135.**(vn): p. 41-47.

51. Ellis, J., *Canine Infectious Tracheobronchitis Update:Epidemiology,Pathogenesis, and Prophylaxis.* 2008.

52. Gore, T., et al., *Intranasal kennel cough vaccine protecting dogs from experimental Bordetella bronchiseptica.* The Veterinary Record, 2005. **156**: p. 482-483.

53. Bhardwaj, M., S. Raj, and P. Vadhana, *Bordetella Bronchiseptica Infection and Kennel Cough in Dogs.* Advances in Animal and Veterinary Sciences, 2013. **1**(3): p. 2309-3331.

54. Cohn, L.A., *Canine Infectious Respiratory Disease Complex.*

55. Hozbor, *Detection of Bordetella bronchiseptica by the polymerase chain reaction.* Research in Microbiology, 1999. **150**: p. 333-341.

56. Edinboro, C.H., M.P. Ward, and L.T. Glickman, *A placebo-controlled trial of two intranasal vaccines to prevent tracheobronchitis (kennel cough) in dogs entering a humane shelter.* Preventive veterinary medicine, 2004. **62**(2): p. 89-99.

1. **KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni az Állatorvostudományi Egyetem Patológiai Tanszék munkatársának, Végh Borbálának, valamint a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék munkatársainak a vizsgálatok elvégzésében nyújtott segítségükért és szakmai iránymutatásukért.