

TDK DOLGOZAT

Tráj Patrik

2019

Állatorvostudományi Egyetem
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

**Újszerű diagnosztikai eljárások alkalmazásával nyert hazai
adatok a papagáj bornavírus fertőzöttségről és a mirigyesgyomor-
tágulatról**

Készítette:

Tráj Patrik

Témavezetők:

Prof. dr. Bakonyi Tamás

ÁTE, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék, egyetemi tanár

dr. Marosi András

ÁTE, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék, doktorandusz

Budapest

2019

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	1
1. Rövidítések jegyzéke	3
2. Bevezetés	4
2.1. Általános bevezetés	4
2.2. Történet	5
3. Szakirodalmi áttekintés.....	7
3.1. A madár bornavírusok.....	7
3.1.1. Morfológia és általános jellemzők.....	7
3.1.2. Rendszertan	7
3.1.3. Más bornavírusok	8
3.1.4. Járványtan.....	9
3.1.5. Előfordulás	10
3.2. Papagájok mirigyegyomor-tágulattal járó kórképe	10
3.2.1. Kóroki szerep tisztázása	10
3.2.2. Immunválasz.....	13
3.2.3. Vírusürítés, a fertőzöttség diagnosztikája.....	13
3.2.4. Kórfejlődés	14
3.2.5. Klinikai kép, kórlefolyás	15
3.2.6. Tüneti kórjelzés	16
3.2.7. Gyógykezelés és hajlamosító tényezők	16
3.2.8. Kórbonctan, kórszövettan.....	17
3.2.9. Analógiák a lovak bornai betegségével.....	18
3.2.10. Jelentőség	19
3.3. Antigangliozid autoantitestek a diagnosztikában.....	21
3.4. Tollminta a virológiai nukleinsav alapú diagnosztikában	22
4. Célkitűzés	24
5. Anyag és módszer.....	25

1. Rövidítések jegyzéke

ABBV (1-2)	vízimadár bornavírus genotípusok (Aquatic bird bornavirus 1-2)
AG	anti-gangliozid
ÁTE	Állatorvostudományi Egyetem
BoDV	a lovak bornai betegségének vírusa (Borna disease virus)
bp	bázispár
DNS	dezoxiribonukleinsav
dNTP	dezoxiribonukleozid-trifoszfát
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
FÁNK	Fővárosi Állat- és Növénykert
FC	tolcséve (feather calamus)
GI	emésztőszervi (gastrointestinal)
IC	intracerebrális
IHC	immunhisztokémia
IR	idegrendszeri
IV	intravénás
M	mátrixprotein
N	nukleoprotein
nt	nukleotid
PBS	foszfát pufferes sóoldat
PCR	polimeráz láncreakció
p.m.	post mortem
RT-PCR	reverz transzkripció polimeráz láncreakció
P	foszfoprotein
PDD	mirigyegyomor-tágulattal járó betegség (Proventricular dilatation disease)
PaBV (1-8)	papagáj bornavírus genotípusok (Parrot bornavirus 1-8)
qPCR	kvantitatív (valós idejű) polimeráz láncreakció
RNA	ribonukleinsav
SARS	severe acute respiratory syndrome

2. Bevezetés

2.1. Általános bevezetés

A mirigyegyomor-tágulattal járó kórkép (Proventricular Dilatation Disease - PDD) a papagájok egy végzetes kimenetelű fertőző betegsége. Jelen ismereteink szerint a kórkép immunmediált oktanú, így progresszív idegszövet károsító természete miatt az emésztőcsatorna beidegzésének zavarát, illetve a központi idegrendszer egyes funkcióinak kiesését okozza. Főbb tünetei így a passzázszavarhoz köthetők, súlyos leromlás következhet be, míg a betegség idegrendszeri kórformája esetén a klinikai képet a kényszermozgások és kisagyi tünetek határozzák meg. Habár az emésztőszervi formát már az 1970-es években megfigyelték arapapagájokban (Macaw-wasting disease), a kóroki szereppel bíró Parrot bornavírus-ok (PaBV) – akkori ismereteink szerint az egyedüli madár bornavírusok – néhány éve kerültek leírásra. Ezek a vírusok tünetmentesen jelen lehetnek a gazdaszervezetben, így a papagájok nemzetközi kereskedelme széleskörű elterjedésükhöz vezetett. A psittaciform madarakat fertőző bornavírusok mostanáig több mint 80 fajból kerültek kimutatásra, azonban a víruscsalád más madárcsoportokat fertőző tagjaihoz köthető PDD-szerű megbetegedéseket is leírtak az északi féltekén. Habár a betegség kártétele és rendhagyó kórfejlődése miatt a kutatói érdeklődés középpontjába került, járványtani vonatkozásai még sok ponton tisztázatlanok. Az avian bornavírusok – akárcsak a lovak bornai betegségének vírusa (Borna disease virus – BoDV) – által okozott kórképek – állatgyógyászati jelentőségük mellett – humán immunmediált betegségek potenciális modelljei is lehetnek, így segíthetnek a vírusellenes adaptív immunitás megértésében.

De Kloet és munkatársai munkája alapján, 2009 óta tudjuk, hogy klinikailag egészséges madarak tartós hordozóként fenntarthatják a vírust az állományban és terjeszthetik azt fogékony társaikra. Ezért különösen fontos a fertőzött állatok mielőbbi felismerése, amihez nagy egyedszámú gyűjteményekben is hatékonyan gyűjthető minták használata szükséges. A közelmúltban új diagnosztikai módszerekről számoltak be a szakirodalomban, ám ezek hazai alkalmazására korábban még nem került sor. Ezért választottuk vizsgálataink elsődleges tárgyául a papagáj kontúrtollak csévélését, mint lehetséges mintát a PaBV-ok nukleinsav alapú kimutatásához. Ennek jelentőségét az adja, hogy a korábban elfogadott szájon át történő fertőződés kétségessé vált. Egyes kutatócsoportok a kültakaró sérüléseihez kötött fertőzést tartják a madár bornavírusok kizárólagos horizontális terjedési módjának. Következésképp fel

kell tennünk a kérdést: az emésztőszervi minták a továbbiakban is használhatóak, vagy a vírus bélesatornán való áthaladásától („pass-through” jelenség) tartva alkalmazásuk kerülendő a diagnosztikában. A probléma érdemi megoldásához a kétféle minta felhasználhatóságának és diagnosztikai értékének összevetése szükséges. A témában sajnos máig nem született átfogó tanulmány. Így kutatásunkban az ABV fertőzöttség kimutatásának elfogadott mintáit, az emésztőszervi mintákat (bélsár és kloaka tampon), és az újszerű tollcséve mintákat használtuk a polimeráz láncreakció (PCR) alapú diagnosztikában. Emellett korábban humán autoimmun betegségek kórjelzésében használt sejtmembrán foszfolipidek ellen termelődő antitestek, az anti-gangliozidok szintjét is alkalmunk nyílt vizsgálni az olaszországi Camerinoi Egyetemmel együttműködésben. Ezek a szerológiai vizsgálatok a PaBV pozitívnak bizonyult madarak idegsejt-károsodásának megítélhetőségét teszik lehetővé. Magyarországon több esetben azonosítottak papagáj bornavírusokat, azonban vizsgálatainkkal pontosabb adatokhoz jutottunk azok elterjedtségéről a hazai állományokban.

2.2. Történet

A papagájok mirigyegyomor-tágulattal és leromlással járó betegsége az 1970-es évek óta ismert kórkép. Első hiteles leírása Richard Woerpel és Walter Rosskopf nevéhez köthető. A klinikusok nagyértékű madarak, köztük ara (*Ara spp.*) és kakadu (*Cacatua spp.*) fajok, valamint aranyosfejű aratingák (*Aratinga auricapillus*) egyedeinek súlyos emésztőszervi, illetve idegrendszeri tünetekkel kísért, végzetes kimenetelű betegségéről számoltak be Kalifornia államban. A szerzők a saját eseteik mellett a betegség halmozott előfordulását jelentették az Egyesült Államok teljes területén. A fertőződés eredetét bolíviai vadbefogott papagájokra vezetik vissza (1). Az oktani tényező sokáig ismeretlen volt, mígnem 2008-ban két kutatócsoport is egy a bornai betegség vírusával 70%-ban rokon kórokozó genomját mutatta ki PDD tüneteit mutató madarak szervmintáiból (2,3). A vírus indukálta betegség hipotézise korábban is a legvalószínűbb elméletek egyike volt, hiszen a vizsgált papagájok szövetmintáiban pleomorf vírusszerű partikulákat figyeltek meg. A közel negyven év találgatás után végül a kérdést a legújabb nukleinsav vizsgáló módszerek, mint a piroszekvenálás és a pán-virális microarray technika segítségével sikerült tisztázni. (3) Az utóbbi módszer számos újonnan felbukkanó betegség oktanának felderítésében kapott szerepet, köztük több cardio- és rhinovírus okozta kórképében, valamint a SARS-éban is (4).

2009-ben a Bécsi Állatorvostudományi Egyetemen együttműködésben Karunk Virologiai Kutatócsoportja írt le elsőként bornavírust nem papagájalakú (Psittaciformes rend) madárban. A kanárifajban kóroktani szerephez jutó új genotípus nukleoprotein génjének szekvenciaanalízise alapján a kutatók egy új ágát vélték felfedezni a *Bornaviridae* családnak, amely a genom homológia szerint az addig ismert papagáj bornavírusok és a bornai betegség vírusa közé került a filogenetikai törzsfán (5) Ezt a leírást számos egyéb önálló bornavírus genotípus meghatározása követte világszerte különböző madárfajokban, míg hazánkban – Európában elsőként – az 5-ös Parrot bornavírus (PaBV-5) került leírásra. Ennek kódoló genomszakaszát szekvenálva magyar szerzők új bornavírus faj, a “Psittaciform 2 bornavírus” létozását javasolták (két, a többtől genetikailag távol álló genocsoport, a PaBV-5 és a PaBV-6 számára), vizsgálataikkal nagyban hozzájárulva a *Bornaviridae* család filogenetikai viszonyainak és rendszertanának tisztázásához. (6).

3. Szakirodalmi áttekintés

3.1. A madár bornavírusok

3.1.1. Morfológia és általános jellemzők

A bornavírusok negatív irányítottágú, szimplaszálú, nem szegmentált RNS genommal rendelkező burkos vírusok. 9 kilobázis méretű genomjuk 6 fehérjét kódol: az RNS-hez közvetlenül kötődő nukleoproteint (N), a foszfoproteint (P), a mátrixproteint (M), egy burok glycoproteint (G), az RNS dependens RNS polimerázt (L) és a P-vel közös nyitott leolvasási kereten kódolt (X) fehérjét, amelynek funkciója még tisztázatlan. A bornavírusok erősen sejthez kötöttek, így sejttenyészetben mesterségesen elszaporítva csekély számú víruspartikulájuk válik csak szabaddá. *In vivo* perzisztens fertőzést képesek okozni, ugyanis nem idézik elő a gazdasejt pusztulását. Ez a sajátosságuk, valamint a sejtmagban zajló replikációjuk egyedivé teszi őket a többi RNS vírus között (7,8). Az utóbbi jellegzetességük bizonyítékai az immunhisztokémiai (IHC) vizsgálat során látható magzárványok, a Joest-Degen testek. Ezek a zárványok szemecskézett festődésként jelennek meg a sejtmagban és a citoplazmában az N és P komplexek aggregációját jelölve a virális transzkripció és a transláció helyén. (9,10).

A madár bornavírusok izolálhatóak fűj eredetű myoblaszt (QM7) és fibroblaszt (CEC32), kacsza embrionális fibroblaszt (DEF) és csirke eredetű fibroblaszt (DF-1), valamint hepatocytá (LMH) sejtvonalakon. Ezzel szemben emlős eredetű sejtkultúrák nem alkalmasak az elszaporításukra (9,11). A különböző genotípusok nagy genetikai változatosságot mutatnak, ami a diagnosztikában gyakran nukleotid polimorfizmusban mutatkozik meg (quasispecies jelleg) (10).

3.1.2. Rendszertan

A csoport típusfaja a Mammalian 1 orthobornavirus, vagyis a bornai betegség vírusa, ami lovak és juhok tájkóros agy- és gerincvelő-gyulladását idézi elő. A betegség a XIX. század végén súlyos, több ezer ló elhullásához vezető járványt idézett elő Szászországban. Az akkori megfigyelések alapján a kórképet egyes falvakhoz, dülökhöz társították Dél-Németországban, Svájcban és Ausztria érintett területein. A széles gazdaspektrumuk, valamint RNS vírus

természetük ellenére az ismert BoDV-1 izolátumok kevesebb mint 5% genetikai diverzitást mutatnak. Filogenetikai vizsgálatok alapján a BoDV-1 5 recens clustert alkot közep-európai földrajzi régiókhoz, illetve a mezei cickány (*Crocidura leucodon*) populációkhoz kötöten. Ez utóbbi faj az elsődleges fenntartó gazdája ennek a természeti gócfertőzésnek. A cickányok a vírust a légutaik és az urogenitális nyálkahártyájuk sejtjeiben hordozzák, így fertőzik a legelőket (12,13).

Tizenkét rendszertanilag besorolt madár bornavírust ismerünk, melyeket 5 fajhoz csoportosítunk a *Mononegavirales* vírusrend aktuális rendszertana szerint (Amarasinghe et al., 2018): Psittaciform 1 és 2 orthobornavirus, a Passeriform 1 és 2 orthobornavirus, valamint a Waterbird 1 orthobornavirus. Elsődleges jelentőséggel bír kártételét tekintve a Psittaciform orthobornavírusok 1-es fájának PaBV-1,2,3,4,7 és a 2-es fájának PaBV-5-ös vírusa vagy genotípusa. Ezek a genocsoportok fertőzik a papagájokat, és alakítják ki bennük a mirigyegyomor-tágulatra jellemző tüneteket.

3.1.3. Más bornavírusok

A legtöbb ma ismert bornavirus madár eredetű, de kígyókban is leírtak genotípusokat az utóbbi években, valamint egy új emlős bornavírust is azonosítottak 2015-ben (14). A Variegated squirrel bornavirus 1 (VSBV-1) halálos agyvelőgyulladásal járó megbetegedések kapcsán került leírásra három idős férfiben, akik a névadó faj, az amerikai változékonymókus (*Sciurus variegatoides*) egyedeit tenyésztették (15). A passeriform orthobornavírusok kizárólag sporadikus elhullást okoznak európai díszmadártenyészetekben kanárifajban (*Serinus canaria*) (16) míg a Waterbird 1 bornavirus, úgy tűnik, széles körben elterjedt Észak-Amerikában és Európában is megjelent (16,17). Az első számú genotípust (ABBV-1) kanadai lúdban (*Branta canadensis*) azonosították először, de a felmérések szerint más lúdalakúakban (*Anseriformes*), sirályokban (*Laridae* család) és gödényfélékben (*Pelecaniformes*) is jelen lehet a fertőzés. Ennek mértéke bütykös hattyú (*Cygnus olor*) állományokban elérheti akár az 50%-ot is, mint például a Huron tó vidékén, Michigan államban (18). PDD-szerű tünetek melletti elhullást leírtak már tukánban (*Ramphastos toco*), rózsás kanalasgémbe (*Platalea ajaja*) és ragadozó madarakban is. Így belátható, hogy a vízimadarak genotípusai – cirkulálva a vonuló fajokban – veszélyt jelenthetnek a vadmadarakra (19–21).

3.1.4. Járványtan

Noha a bornavírusok ellenállóképesége csekély (hőre, fertőtlenítőszerre érzékenyek, fertőzőképességüket hamar elveszítik), a kontaminált környezet mégis lehetséges fertőzési forrás. Szájon át a kórokozó felvétele megtörténhet a párok kölcsönös egymást tápláló viselkedése kapcsán vagy szennyezett itatóvíz, takarmány felvételével. A vírus egy újabb hipotézis szerint kiterjedt hámiányokon keresztül, vagy vérszívó ízeltlábúak közvetítésével jut be a szervezetbe (Lierz és Dorrestein személyes elmondása szerint, nem publikált adat). Emellett szól a kísérleti fertőzéseknél az egészséges „örszem” állatok fertőződésének jellemző elmaradása (13,22,23), valamint a vírus emésztőcsatornán való áthaladásának („pass-through”) hipotézise. Megfigyelték ugyanis, hogy nem fertőzött nimfapapagájok is lehetnek alkalmi vírusűrítők (24). Emellett számos kutatás közöl adatokat parenteralis úton zajló kísérleti fertőzésekről, amelyek kivétel nélkül a fertőzöttség megeredéséhez vezettek (9,13,23). A PaBV-ok euryxen kórokozók. Ismereteink szerint a papagájalakúak 54 különböző nemét képesek fertőzni (25). Filogenetikai vizsgálatok szerint, a gazdaspektrumnak megfelelően a vírus terjedése több faj egyedei között horizontálisan zajlik, ugyanis PaBV genetikai vonalak, egyedi szekvenciák nem köthetőek egy-egy papagájfajhoz. Ezzel szemben ha a kórokozó főképp vertikálisan terjedne, akkor egy tojó utódai azonos genetikai variánsokkal fertőződnenek, így bizonyos mértékben feldúsulna az adott variáns egy fajban, ami megmutatkozna a génbanki adatokban (16). Mindazonáltal bizonyították bornavírus RNS jelenlétét fertőzött szülőpárok befúladt és életképes tojásaiban, viszont gyanítható, hogy ez a terjedési mód alkalomszerű, és a tojó vírusűrítésének perzisztenciájától függ (26–28). A vertikális terjedéssel szemben a kelés utáni horizontális fertőződés nagy jelentőséggel bír, amely könnyen bekövetkezhet az utódok táplálása során. (29). Ennek egy rendhagyó, iatrogén módját szemlélteti egy tanulmány. Kistler egy hobbitenyésztőről számol be, aki sárgaszárnyú ara (*Ara macao*) fiókák mesterséges táplálását egy emésztési zavarokkal küzdő öncsonkító jákópapagáj (*Psittacus erithacus*) sebkezelése után végezte. Az asszisztálan táplált fiókák közül többen idővel takarmányvisszautasítást, majd azt követően három napon belül idegrendszeri tüneteket és hirtelen elhullást figyelt meg. Az összes fióka hasonló tünetek között pusztult el. A kórbonctan megerősítette a PDD-t, a vírus RNS felszaporítható volt a szervek többségéből, így a kloákából és a Bursa Fabricii-ből is. (30).

3.1.5. Előfordulás

Egyes szerzők 86 PaBV-4, valamint 52 PaBV-2 génbanki adatbázisokban rendelkezésre álló nukleoproteint kódoló génszakasz alapján szekvencia-analitikai vizsgálatokat végezve felmérték a genotípusok filogenetikai viszonyait. Ennek tanulsága szerint a négyes genotípus különböző clusterekre különül, míg a 2-es genotípus homogén. A vizsgálat szerint a két genocsoport genetikai varianciája független a földrajzi elterjedéstől. Ennek hátterében az elmúlt évtizedekben zajló extenzív díszmadár-kereskedelem állhat, ami a vírusok variánsainak globális jelenlétéhez vezetett (16). A Psittaciform orthobornavírusok képviselői elterjedtek Észak-Amerikában és Európában, azonosításra kerültek Latin-Amerikában, a Közel-Keleten, Afrikában, Ausztráliában, Japánban. Az idei évben publikálásra került egy cikk, mely jelentős átfertőzöttségről (54%) számol be thaiföldi PDD-érintett állományokban (31). Az ismert genotípusok közül a 2-es és 4-es genocsoportot tartjuk a legvirulensebbnek. A PaBV-4-es a leggyakoribb genotípus, ami mind tünetmentes, mind beteg papagájokból gyakran kerül kimutatásra. Német kutatók elsőként mérték fel az általános idegrendszeri tüneteket és a tolltépő magatartást mutató papagájok esetében a PaBV fertőzöttséget. Tolltépők esetén 52,38%-os, míg idegrendszeri érintettséggel diagnosztizált egyedekben 64,28%-os fertőzöttségi prevalenciát állapítottak meg. Ezek az értékek messze meghaladják az egészséges populációkban vélt PaBV fertőzöttség mértékét (19,6%) (32).

3.2. Papagájok mirigyegyomor-tágulattal járó kórképe

3.2.1. Kóroki szerep tisztázása

Gray és munkatársai embrionált kacsatojásból származó fibroblast sejtenyészeten izoláltak PDD kórképét mutató papagájok agymintáiból származó PaBV-okat. Ezt követően sziklapapagájokat (*Cyanoliseus patagonus*) fertőztek a törzssel, majd azokból kimutatták a kórokozót. Végül sikerrel szaporították el a vírus azonos törzsét intakt sejt kultúrán, ezáltal elégét téve a Henle-Koch posztulátumoknak (9). Ámbár a PaBV-4 genotípus kóroki szerepe más mesterséges fertőzési vizsgálatokban, több ízben is bizonyításra került, a további genotípusokról ezek a kísérletek nem szolgáltak információval. Egy 2016-ban publikált kísérletsorozat azonban két PaBV genotípus patogenitása tekintetében pontos összehasonlításra ad lehetőséget. A Giesseni Egyetemen végzett tanulmányban 18 genetikailag rokon egyéb betegségekre szűrt nimfapapagáj (*Nymphicus hollandicus*) fertőzését végezték el Piepenbring és munkatársai. A csoport egyik fele intracerebrális (IC) inokuláció formájában, a másik fele

intravénás (IV) úton került kontaktusba a PaBV-4 egy patogén törzsével. Az IC csoportba továbbá egy nem fertőzött „örsem” egyed került. A szerzők az áthangolódás és a vírusürítés kezdőnapját lejegyezték, a madarak általános állapotát, az ellenanyag titerek értékét és a vírusürítés mértékét a kísérlet teljes időtartama alatt figyelemmel kísérték. A súlyos tünetek miatt elhullott, illetve elaltatásra került (115. napon a csoport létszámát 9 egyedre csökkentették, 230. napon az összes életben maradt madarat exterminálták) egyedektől szervmintákat gyűjtöttek be, majd azokat kórszövettani, IHC, qPCR vizsgálatokban használták fel. A kísérlet folyamatsora később azonos nimfaállományból származó egyedek PaBV-2 fertőzését végezve az előbbivel teljesen megegyező módon megismétlésre került. A tanulmány eredményét az alábbi táblázat ismerteti (**1. táblázat**).

	PaBV-4 fertőzés (18 egyed)	PaBV-2 fertőzés (18 egyed)
Vírusürítés (az IC és IV csoportokban megfigyelt mediánok átlaga)	<ul style="list-style-type: none"> • 32,5 nap • IC szignifikánsan hamarabb: 25 napra 	<ul style="list-style-type: none"> • 52,75 nap
Áthangolódás (az IC és IV csoportokban megfigyelt mediánok átlaga)	<ul style="list-style-type: none"> • 38,75 nap • egyenletes emelkedés min. 1:5120-ig, minden egyed 	<ul style="list-style-type: none"> • 23,5 nap • minden egyed min. 1:320-ig (ha a korán elhullott egyedektől eltekintünk)
Tünetek (érintett egyedek száma, illetve a jellemző tünetcsoport)	<ul style="list-style-type: none"> • 5 (2IR, 2 GI, 1 IR+GI) 	<ul style="list-style-type: none"> • 12 nem specifikus • súlyvesztés, borzolt tollazat, ataxia
Kórkép súlyossága (mortalitás az első 114 napban – elpusztult vagy elaltatásra került)	<ul style="list-style-type: none"> • 11% 	<ul style="list-style-type: none"> • 44 % • az egyedek több mint fele 2 héttel a tünetek megjelenése után
Kórbonctan (PDD-re jellemző makroszkópos elváltozások)	<ul style="list-style-type: none"> • 5 egyedben mirigyegyomor-tágulat • 1 kimondottan súlyos 	<ul style="list-style-type: none"> • 9 egyedben mirigyegyomor-tágulat • 5 kimondottan súlyos
Kórszövettan (PDD-re jellemző lymphoplazmasejtes beszűrődés)	<ul style="list-style-type: none"> • agy és GI (üreges szervek) főként • testszerte szervek 	<ul style="list-style-type: none"> • GI (üreges szervek) főként, • testszerte szervek • agy Ø (csak gliosis)
Vírus RNS jelenlét a szövetekben (küszöbciklusok mediánjának a reciprokaként megadva)	<ul style="list-style-type: none"> • szem, agy kimondottan magas (0,085) • testszerte magas (legalább 0,06 parenchimas szervek, mellizom, szív kivételével) 	<ul style="list-style-type: none"> • szem, zúzógyomor, mellékvese magas (0,06) • testszerte mérsékelt/csekély • IC inokulált szignifikánsan

		magasabb
IHC (virális P és X szöveti jelenléte)	<ul style="list-style-type: none"> • szív, agy • bizonyos egyedeknél GI szervek 	<ul style="list-style-type: none"> • GI szervek • bizonyos egyedeknél agy, testszerte

1. táblázat: Piepenbring PaBV-4 és PaBV-2-es vírusokkal végzett „18 nimfás” fertőzési kísérleteiben tapasztalt eltérések. Vörös, illetve narancs színnel kiemelve olvashatóak a két fertőzési kísérlet között, illetve egy vizsgálaton belül a csoportok között tapasztalt szignifikánsan eltérő értékek.

Forrás: Piepenbring és mtsai. (22,23)

A kezelt madarak mindegyike a kísérlet eredményei szerint bizonyíthatóan fertőződött, és a kórokozó nem eliminálódott a papagájokból a vizsgálat ideje alatt. Ezzel szemben a sentinel madarak fertőzöttsége nem volt igazolható. Egyik beállításban sem mutatott tünetet az „órszem” állat, illetve nem hangolódott át. Ezzel szemben PaBV-4 kísérletben a 76., míg a PaBV-2 beállításban 64. naptól elkezdte üríteni a vírust a kontaktegged. Szerveik közül a vírus nukleinsavát csak a tollas bőrből lehetett felszaporítani. Elgondolkodtató, hogy a tollas bőrminták szinte minden csoportban magas pozitivitást (0,06 feletti a küszöbciklusok mediánjának a reciproka) mutattak, míg a sentinel madaraknál az IV PaBV-4 fertőzött csoporthoz hasonlóan az qPCR vírusjelenlétre utaló görbéi jóval későbbi ciklusban jelentek meg. Mindazonáltal az IHC vizsgálat negatív eredménnyel zárult, és a kórszövettan sem mutatott a PDD-re jellemző mértékű mononucleáris sejtes beszűrődést. Eszerint az órszem állatok feltételezhetően a kísérlet 230 napja alatt szájon át nem fertőződtek, azonban a masszív környezeti vírusterhelés miatt a bőrük kontaminálódott, valamint a kórokozóra negatív státuszuk ellenére ürítők lettek. Ennek megfelelően Piepenbring és munkatársai post mortem, az órszemek kivételével, minden egyed legalább egy szervéből vissza tudták izolálni a használt törzset.

A „18 nimfás” vizsgálatok pontos összehasonlítást engednek meg. Így a szerzők szerint feltételezhető, hogy a PaBV-2 törzs gyorsabb immunválaszt indukált, ami következményesen súlyos kórtani folyamatokat idézve elő hamarabb károsította a célsejteket vagy pusztította el a gazdaszervezetet. Emiatt végül kisebb replikációs sikerhez jutott (22,23). A kísérletsorozat számos más kérdést is felvet, melyeket a szakirodalmi áttekintő további fejezeteiben tárgyalunk.

3.2.2. Immunválasz

A madár bornavírusok kétféle fehérjét termelnek, amelyek ellen a gazdaszervezetben ellenanyagválasz indulhat meg. Az N és a P ellen képződött antitestek detektálására a Western blot és az ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) módszer egyaránt használható. (33,34). Nem minden bornavírus-fertőzött madár termel mérhető mennyiségű ellenanyagot a kórokozó ellen; azonban, ha van szerokonverzió, az bizonyos esetekben éppen a tüneteket megelőzve következik be. Így a papagájok gyakran magas anti-PaBV ellenanyagszinttel a vérükben intenzív vírusürítés mellett pusztulnak el. (35). Ennek megfelelően Piepenbring PaBV-4 fertőzéses vizsgálatai során magas ellenanyagtitereket mért, illetve az adott kísérleti beállításban minden fertőzött nimfapapagáj áthangelődött. Mindazonáltal a jól áthangelő PaBV-4 genotípus nagyobb arányban okozott idegrendszeri tüneteket. Az idegrendszeri kórforma tüneteinek súlyossága és a humorális ellenanyagok közötti összefüggést Fluck és munkatársai is vizsgálták 2019 évi tanulmányukban. Ők ebben a tekintetben szignifikáns kapcsolatot találtak: a kifejezett központi idegrendszeri kórformát mutató csoportban erősen emelkedett (1:20480), a pusztán tolltépők között emelkedett (1:5120), míg PaBV fertőzött, tünetmenteseknél csak enyhén emelkedett ellenanyagszintek voltak mérhetőek. Továbbá a vírusürítés intenzitása és az immunválasz mértéke is szignifikáns összefüggést mutatott (32). Ez igazolja egyrészt, hogy a madár bornavírusok elleni humorális immunválasz nem proktív a PDD kórképben (25). Másrészt, hogy vélhetően kapcsolat van a tünetek jellege, az ellenanyagválasz, a vírusterhelés, valamint ürítés és az infektív törzs típusa között. Ugyanis merőben ellentétes következtetések vonhatók le a másik „18 nimfás” kísérlet kapcsán: a PaBV-2 fertőzött progrediáló emésztőszervi formában szenvedtek, és a legsúlyosabban érintett egyedek csoportjának közel fele detektálható vírusürítés nélkül pusztult el (22,23). Mindezek ellenére ismert, hogy számos áthangelődött madár tünetmentes (33).

3.2.3. Vírusürítés, a fertőzöttség diagnosztikája

Míg a legtöbb publikáció a bélsárral történő vírusürítés kizárólagos voltára helyezi a hangsúlyt, a széleskörű szöveti vírusjelenlét mást sejtet. Ezt a kérdést vizsgálva Sharman Hoppes és munkatársai három egészséges, ámbár ismertén vírushordozó és ürítő szürkepapagájt (*Psittacus erithacus*) szereztek be. A madaraktól mintákat vettek heti rendszerességgel hét egymást követő héten, majd a későbbiekben csökkenő gyakorisággal. A vírus RNS jelenléte PCR vizsgálattal kimutatható volt a bélsár és a kloákatampon minták mellett az ornyílásból, a choanából és az axillaris fedőtollakból egyaránt. Az ürítésben egyedenként nagy változatosság

volt megfigyelhető. Egy egyed minden mintagyűjtés alkalmával az összes vizsgálati ponton, míg egy másik ugyan nem olyan konzisztensen, de rendszeren ürítette a kórokozót. Ezzel szemben a harmadik egyed alkalmi vírusürítőnek bizonyult, esetenként kizárólag a hortyogó területéről gyűjtött mintáival igazolta a fertőzött státuszát. (35) Kimutatták már a kórokozót szájüregi, légcső-, valamint kloákatampon minta, begybiopszia, vér, illetve tollcséve RT-PCR vizsgálatával. Ezek mind alkalmazhatóak a fertőzöttség kimutatására. Mindazonáltal nem ismert a különböző minták diagnosztikai értéke (érzékenység, specificitás) (29). Továbbá az ismert madár bornavírus genotípusok közötti csekély (68-85%-os) szekvencia-azonosság arra enged következtetni, hogy bizonyos PCR protokollok nem alkalmasak az összes genotípus azonosítására (36).

3.2.4. Kórfejlődés

A kórokozó a bemeneti kaputól az idegek mentén terjedhet, érintve mind a központi idegrendszert, mind a perifériás idegeket (Berhane és mtsai., 2001; Perpiñán, Fernández-Bellon, López, & Ramis, 2007) Ebben minden bizonnyal a vagus agyidegnek kulcsszerepe van, ugyanis a közvetlen beidegzési területéhez tartozó szervek azok, amelyekben a vírus nagy számban perzisztál, illetve amelyeket a kórfolyamat elsősorban károsít. Kiemelendők ezek közül a zsigerek közül az emésztőszervrendszer proximális szakaszának szervei, valamint a szív, de kórtanilag kevésbé érintett parenchim szervekből is kimutatták a vírus nukleinsavát a széles szöveti tropizmussal összhangban (8). A vírus a szervek beidegzését adó vegetatív idegek mellett a parenchim sejtekben is láthatóvá tehető IHC vagy in situ hibridizációs eljárással (37,38). Mégis az idegszövethez, az idegekhez kötött terjedés elsődlegességét bizonyítja, hogy agyba injektálva a szöveti vírusjelenlét qPCR vizsgálatokkal számszerűsítve minden szervben meghaladta intravénás fertőzés esetén mérhető Piepenbring kísérletében (PaBV-2). Továbbá PaBV-4 fertőzés esetén szignifikánsan előbb bekövetkező vírusürítést okozott ez az inokulációs forma (lásd: Kóroki szerep tisztázása). Másrészt ismert, hogy a gazdagabb innervációval bíró szervekből nagyobb mennyiségű vírus RNS szaporítható fel, továbbá ezekből nagyobb sikerrel végezhető el a vírusizolálás is (például agy, retina) (13,22).

A madár bornavírusok nem citopatogének, azonban súlyos gyulladást indukálhatnak. A citotoxikus T sejtek megjelenésével párhuzamosan figyelhető meg a súlyosbodó idegi funkciózavar, az immunpatológias folyamat eredőjeként károsodik a gazdaszervezet (36). Egy ráfertőzöses vizsgálatban PaBV-4 genotípust oltottak be azonos genotípust hordozó nimfapapagájokba. A kísérlet tanúsága szerint a hordozó státusz nem nyújt védelmet a

reinfekció és a kórkép kifejlődése ellen, ráadásul még súlyosabb lefolyást idézhet elő. Ugyanis a ráfertőzést követően 110 nappal koordinációs zavarokat és görcsöket figyeltek meg a provokált egyedeknél az adott vizsgálatban. Szerveikben testszerte szokatlanul súlyos kórszöveti elváltozások, limphoid nodulusok voltak észlelhetőek (gonádokban, és a hasnyálmirigyben is). Az immunhisztokémiai reakciók az ABV P antigént szokatlan módon az érintett szövetek mononucleáris sejteiben is láthatóvá tették (39). A kórkép immunmediált voltát erősíti meg, hogy Hameed kutatócsoportjának vakcinája sikerrel előzte meg a betegség kialakulását kilenc papagáj esetében, míg a szöveteikben perzisztáló víruskoncentráció magas szinten maradt. Ugyanakkor vizsgálataikban a Ciclosporin-A-t is, mint T-lymphocytá aktivációt gátló terápiás szert, kellően hatékonynak találták, míg a kontrollcsoportokban nagyarányú elhullást és a PDD-re jellemző makroszkópos patológiát írtak le (40).

3.2.5. Klinikai kép, kórlefolyás

A betegség tünetei nagyon változatosak lehetnek, így egy-egy klinikai eset egészen önálló jelleggel bírhat az érintett gazdafajtól és az egyes szervek, szervrendszerek érintettségétől függően. Az egyszerűség kedvéért a klinikai gyakorlat kétféle kórformát különböztet meg. Az idegrendszeri forma az óvilági, míg az emésztőszervi forma főként az újvilági fajokat érinti. Mindazonáltal nem ritka, hogy egy madár egyszerre mindkét kórformára jellemző tünetcsoportot mutatja (19). A korábban ismertetett fertőzéses vizsgálatok szerint nemcsak a gazdafaj, de a kórokozó genotípusa is befolyásolhatja a betegség jellegét. Nimfák PaBV-2 fertőzésénél gyors lefolyású emésztőszervi formát, míg PaBV-4 inokuláció után elhúzódóbb kevert formát figyeltek meg (22). A központi idegrendszeri tünetek általában lassan fejlődnek ki. A nagyagy érintettsége a tudatállapot változását és a kognitív funkciók zavarát okozza. A pontatlan célvezérelt mozgások, valamint az ataxia a cerebellaris károsodás következménye. Súlyosabb esetekben a propriocepció zavarát, valamint végtaggyengeséget is megfigyelhetünk, amit idővel teljes bénulás követ. Az idegrendszeri kórforma hangsúlyos volta az óvilági fajokban nem zárja ki a klinikailag nem detektálható szimultán jelen lévő elváltozásokat emésztőcsatorna idegfonataiban. (19,35). Ritkán epileptiform görcsök is felléphetnek. A tolltépés differenciál diagnosztikája során is fel kell merülnie a PDD-nek, ugyanis az érző funkciókért felelős dorzális gyökér ganglionok károsodása, illetve a tolltüszők és bőr idegeiben történő vírusszorodás már leírásra került a betegség kapcsán. Ugyanakkor ez a kóros viselkedés analógiaként is felfogható a bornai betegségnél tapasztalt korai tünetekkel: a viselkedészavarral és az öncsonkítással (32,41).

Ian Tizard hipotézise szerint a mirigyes és zúzógyomor határán lévő isthmus gátló nitrerg (NOerg) sejteinek károsodása az anatómiai egység gyűrűszerű szűkületéhez vezet, ami következtében krónikus pangás és a gyomorfal sorvadása következik be (8). Így az emésztőszervi formára jellemző tünetek kifejezetten a passzázsavarhoz köthetők. Az emésztetlen magvak ürítése, a regurgitáció, elhúzódo begyürülés mind a gyomorban fennálló sztázis következményei. A vagus ideg funkciókárosodása az emésztőnedvek csökkent elválasztását okozhatja. Így a nem kellően alacsony pH, egyes enzimek, szekréumok csökkent termelése kedvez a másodlagos bakteriális fertőzés kialakulásának, illetve a dysbacteriosisnak. A Clostridiumok toxinjaikkal károsíthatják a parenchymás szerveket, valamint következményes mycosis (például Candida albicans és Macrorhabdus ornithogaster) is megjelenhet. A kielégítő étvágy ellenére idővel kondícióromlás tapasztalható, amit a dysbacteriosis okozta hasmenés, kiszáradás és májkárosodás tovább súlyosbít. Az állat elhullását a bakteriális transzlokáció következtében kialakuló septicémia vagy az eléhezés okozza. (36). Akut szívhálhoz vezető kórforma is ismert. A betegség tünetei nem elég specifikusak a diagnózis felállításához, ezért a kórokozó kimutatására kell törekednünk a kiegészítő diagnosztikai eljárások alkalmazása mellett.

3.2.6. Tüneti kórjelzés

Az előrehaladott esetekben a natív röntgenvizsgálat igazolhatja a mirigyes és a zúzógyomor tágulatát. Egyes esetekben csak a kitágult, felgázosodott bélszakaszok képe tűnik fel a vizsgálat során, ami önmagában utalhat a fennálló passzázsavarra. A kontrasztos radiológiai vizsgálat, illetve a fluoroszkópia tekinthető a legbiztosabb módszerek mind az enyhe, mind a súlyos bélmotilitási zavar igazolására (35). Habár a képalkotó eljárások informatívak az emésztőszervi forma kórjelzésében, a végső diagnózist csak a mirigyesgyomorból vagy a begyből vett biopsziás minta kórszövettani vizsgálata után mondhatjuk ki. Noha a begyből történő endoszkópos mintavétel bizonyult a legkevésbé invazív eljárásnak, karakterisztikus gyulladáscsökkentő sejtes léziók mindössze az esetek 50%-ában vannak jelen a szerv falában. Így fontos, hogy a mintavétel a begy jobboldali cranioventrális részéről történjen, és hogy a biopsziátum tartalmazzon legalább egy látható eret, ideális esetben ideget is (20,36).

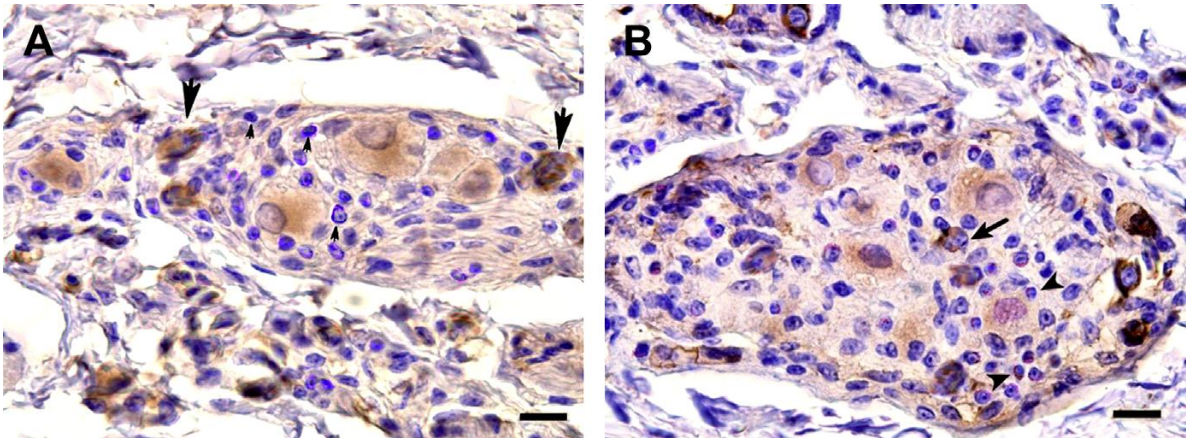
3.2.7. Gyógykezelés és hajlamosító tényezők

Általában mire a diagnózis megszületik, a prognózis már kimondottan rossz. Tapasztalataink és a szakirodalom szerint a gyulladáscsökkentő terápia (szelektív ciklooxygenáz-2 gátlók), a

lágú konzisztenciájú takarmányetetés, valamint a másodlagos fertőzések visszaszorítása mindössze átmeneti javuláshoz vezet (19). Mindazonáltal egy immunszuppresszív tényező, a környezeti stressz hatására a betegség fellángolhat. Így a terápia sarkalatos pontja kell hogy legyen a tartási körülmények optimalizálása, továbbá a környezeti stressz mérséklése. Alkalmazhatóak gabapentin tartalmú készítmények a neurogén fájdalom csökkentésére, valamint a kórlefolyás ismeretében a prokinetikumok használata és a májvédő terápia erősen javallott. A tünetek az ivari aktivitás beindulásával sokszor súlyosbodnak, így azt tanácsos elnyomni leuprolid-acetát depó hatású injekció vagy deslorelin implantátum alkalmazásával. (19,36). A szakirodalom ismertet különböző rekombináns, elölt és vektorvakcinákat, valamint immunszuppresszív és immunmoduláns terápiás protokollokat (40,42,43). Habár ezek kísérleti körülmények között hatékonyak bizonyultak, gyakorlati tapasztalat hiányában alkalmazásuk egyelőre nem terjedt el.

3.2.8. Kórbonctan, kórszövettan

A betegség kórbonctana specifikus. Az emésztési zavar miatt a senyveség jelei figyelhetőek meg, a súlyosan kitégült mirigygyomor emésztetlen magvakkal van kitöltve. A zúzógyomor is feszülésig telt, fala sorvadt, elvékonyodott. Mindazonáltal a makroszkópos elváltozások megléte nem szükséges a p.m. diagnózis felállításához, a lymphocitásp plazmasejtes beszűrődés kórszövettani képe a plexus myentericus dúcaiban önmagában elégséges a kórjelzéshez. Nem gennyes gyulladás figyelhető meg sokszor a gerincvelőben, az agyban, a szív ingerületvezető rendszerének szöveteiben, a szívizomzatban, a simaizmokban, valamint a mellékvesében is a hisztopatológiai vizsgálat során (3). Berhane és munkatársai PDD-vel érintett papagájok post mortem vizsgálata során leírták a perifériás idegek, köztük a vagus gyulladását is az általuk vizsgált papagájok közel 50%-ában. Hasonlóan az eseteik felében figyelték meg perivascularis infiltrációval kísért nem gennyes gyulladást az agyvelőben. A kisagyban a degenerálódó Purkinje- és szemcsesejtek, illetve a helyüket kitöltő a gliahegek jelenléte karakterisztikus és kórjelző értékű (41,44). Az infiltrációban résztvevő sejtféleségek mind a központi mind a perifériás idegrendszerben a CD8 és a CD4 markerfehérjét hordozó T sejtek, valamint a CD68 (vagy lizozim) pozitív makrofágok (**1. ábra**). Ezek a sejtek felelősek a cytotoxikus hatásért, valamint a neuronofágiáért (36). A szövetekből a vírus RNS mennyiségi viszonyainak qPCR vizsgálata sokszor félrevezető lehet, mivel semmilyen összefüggésbe nem hozható a kórszövettani képpel és a tünetekkel (22,45).



1. ábra: (A) A PDD korai stádiumú formájában érintett papagáj mirigygyomor falából származó idegdúcát beszűrő mononukleáris sejtek immun-fenotipizálásával készített kórszöveti metszet képe. Elszórtan megfigyelhetők a CD8/granzyme+ limfociták (kék festődés, kisméretű nyilak) a neuronok sejttestjei, a makrofágok (barna festődés, nagyméretű nyilak) és a CD3+ limfociták (speciális festés nélkül) között. (B) Egy éve PDD-vel diagnosztizált papagáj mirigygyomor falából származó ganglionját beszűrő mononukleáris sejteket bemutató kórszöveti metszet képe. Szembeötlőek a CD4+ limfociták (vörös és kék festődés, nyílhegyek) a nagyszámú CD8/granzyme+ limfocita és makrofág között a degenerálódott idegsejtek körül (Az IHC vizsgálat Anti-granzyme, anti-F40/80, és anti-CD4 elsődleges ellenanyagokkal, valamint Mayer hematoxin festéssel készült. Skála 40µm.

Forrás: Rossi és mtsai.

3.2.9. Analógiák a lovak bornai betegségével

A lovak a szaglóideg közvetítésével fertőződnek a bornai betegség vírusával. A kórokozó olyannyira neurotrop természetű, hogy vele kísérleti körülmények között patkányokat fertőzni intravénásan nem is lehetséges (22). Ezzel szemben Piepenbring „18 nimfás” intravénás és intracerebrális fertőzési vizsgálatai bizonyítják, hogy a PaBV mind az idegek mentén, mind a véráram útján sikeresen terjed. A madár bornavírusok szöveti preferenciája is széleskörű, azonban a szerző kísérletéből kitűnik a PaBV-ok neurotrop jellege: IC inokulációt követően az idegszövetből induló terjedés vagy gyorsabban zajlik (PaBV-4 kísérlet, szignifikánsan korábbi ürítés), vagy végül nagyobb szöveti vírusterheléshez (PaBV-2 kísérlet) vezet. Ennek megfelelően a BoDV esetén a patkányoknál is az intracerebrális inokuláció bizonyult a leghatékonyabb kísérleti fertőzési módnak. Mindazonáltal a bornai betegség vírusa is képes újszülött és immunszuppresszált laboregerekben többféle szövettípust fertőzni és generalizált, súlyosabb kórformát előidézni. (30). Hameed és munkatársai a Payne által leírt reinfekció következtében

kialakuló atípusos PDD kórfomat és kórbonctani elváltozásokat a BoDV rágcslókísérletek tanulságával magyarázzák. Eszerint a bornai betegség vírusával szembeni immunválasz alapvetően N-re specifikus ölü T sejtek által mediált, így a kóros immunpatológiai folyamat elmarad azoknál az egereknél, melyeknél nem az egyes típusú T helper lymphocyták interleukineit által szabályozott válasz válik elsődlegessé. Tehát a humorális út indukálása, melyet főként a T helper kettes sejtek mediálnak, a kívánatos. A bornavírusok ellen kifejlesztett vakcinatípusok mechanizmusai jól szemléltetik ezt a komplex kapcsolatot a gazdaszervezet immunrendszere és a vírus között (40). Egy tanulmányban a BoDV vírus N fehérjét kifejező Vaccinia vírus vektorvakcinával Lewis patkányokat immunizálva a bornai betegség fellángolását tapasztalták. Ezzel szemben egy Parapox és egy Vaccinia vektorvakcina kombináció pre-expozíciósan alkalmazva megakadályozta a kórkép kialakulását kísérleti állatokban. Emellett a kórokozó teljesen eliminálódott a szervezetből 5 hét alatt, feltételezhetően a cytotoxikus T sejtek és a gamma interferon válasz következtében (46). Hasonlóan sikeresen mérsékelte a vírusterhelést több PaBV kísérleti vektorvakcina, de mint tudjuk a kórokozó szöveti jelenlétének csökkentése nem elsődleges a kórkép megelőzése szempontjából, továbbá a cytotoxikus válasz serkentése nem is veszélytelen. Így Texasi Egyetem munkatársai egy inaktivált, teljes vírust tartalmazó, valamint egy rekombináns, a vírus nukleoproteinjét hordozó vakcina-kombináció fejlesztését tűzték ki célul a papagájok immunizálására. Ezek a vakcinatípusok ugyanis tudvalevően nem vezetnek sejtes immunitás kialakulásához. Vakcinájuk protektívnek bizonyult a PDD-vel szemben, azonban a vírusterhelést sem eliminálni sem csökkenteni nem tudta. Kísérleteikkel igazolták, hogy a kórkép immunszuppresszív terápiával is megelőzhető, és hogy a PDD lefolyását a kórokozó mennyiségi viszonyai nem befolyásolják (40,47).

3.2.10. Jelentőség

Habár az első PDD eseteket kizárólag a Bolíviából származó import vadbefogott papagájokban figyelték meg, a kórkép és az ABV-ok jelenlétét sokáig nem bizonyították a természetben. Encinas és Nagel 86 mentett, illetve lefoglalt papagájból 40 fertőzöttségét, illetve PDD érintettségét igazolta Brazíliában. A csoport 11 egyedének emésztőszervi bioptátumát vizsgálva megfigyelt kórszöveti elváltozások szolgálnak a PDD természetben való előfordulásának egyetlen bizonyítékául. Az ehhez hasonló vizsgálatok óriási jelentőséggel bírnak, hisz kihalófélben lévő fajok szaporítása során minden egyes egyed genetikai állománya értékes lehet. Brazília és Bolívia ilyen szempontból kiemelendő, hiszen a veszélyeztetett papagájfajok közel egynegyedének szolgál otthonául (**2. ábra**) (48). Ezzel szemben Dohában, Katar fővárosában

egy fogságban tenyésztett, a természetben kihaltak nyilvánított species, a Spix ara (*Cyanospitta spixii*) állományának megőrzésére indított program sikerességét veszélyezteti a PDD kórkép. A szakemberek újfajta röntgendiagnosztikai mérőszámok vizsgálatával, valamint a takarmány változtatása által sikeresen csökkentették a károkat (49).



2. ábra: A tenerifei Loro Parque ismertető tablója a kihalástól megóvott papagájfajokról. A nyolc ismertett fajból három Bolíviában, illetve Braziliában őshonos.

A betegség előrehaladott formája gyógyíthatatlan, így számba kell vennünk azt a lelki kárt is, amit egy társállat elvesztése jelent. Ezek a madarak több állati viselkedéssel és tanulással kapcsolatos kutatásnak a tárgyai. Dr. Irene Pepperberg vizsgálatai szerint bizonyos nagytestű papagájok *de novo* kognitív modellekkel rendelkeznek, amelyek alkalmassá teszik őket az emberi kommunikáció elsajátítására, valamint átvitt fogalmak, mennyiségi viszonyok megértésére. Ezeknek a képességeknek a fejlesztése áldozatos munkát igényel, csakúgy mint az emberszabású majmok és a tengeri emlősök tréningezése. Mindazonáltal egyes egyedek akár egy négy éves gyermek kommunikációs szintjét képesek megközelíteni a hosszas munka

eredményképp (50). A betegség által leginkább érintett fajok kimondottan az említett nagypapagájok, köztük a jákó (*Psittacus erithacus*) dr. Pepperberg kísérleti modellfaja, valamint a nemes papagájok (*Eclectus roratus*), a kakaduk (*Cacatua* sp.), az arák (*Ara* spp.) és az amazonok (*Amazona* spp.) (25). A lelki teher mellett a felsorolt csoportok egy-egy egyedének elvesztése több ezer eurós anyagi kárt is jelent.

A *Bornaviridae* család jelentőségét adja továbbá, hogy endogén bornavíruszerű szakaszok, az EBL-ek a humán genomban is jelen vannak, és bizonyítottan ki is fejeződnek bizonyos szövetekben. A hosszan fennálló kontaktus a vírusgenom és a gazdasejt örökítőanyaga között lehetőséget adott a vírusgenomnak a gazdasejt örökítőanyagába való integrálódására retrovírusok vagy retrotranszpozonok reverz transzkriptáza által. Ez egyedi jelenség a virológiában a reverz transzkriptázzal nem rendelkező víruscsaládok között. Az EBL-ekről átíródó fehérjék az antivirális immunitás egy ezidáig kevésbé ismert módjának fontos elemei. (7,51). Az ismertett víruscsalád az egyik legrégebbre visszanyúló vírusevolúciós utat járta be, így alkalmazkodva az egyes gazdafajokhoz. Ezt bizonyítják a szőnyegminta pitonban (*Morelia spilota*) leírásra került bornavírusok. Kódoló génszakaszaik sorrendje ugyanis az emlős EBL-ekével egyezik. Így támpontul szolgáltak bornavírus elemek integrálódásának idejének meghatározásához a filogenetikai és vírusevolúciós vizsgálatokban. Ezek alapján a kréta időszakban, 70-80 millió évvel ezelőtt épülhettek be a recens emlős fajok, köztük az ember örökítőanyagába ezek a virális genomszakaszok (52).

3.3. Antigangliozid autoantitestek a diagnosztikában

A gangliozidok szfingolipid molekulák, melyek főként a sejthártya lipid raftjain csoportosulnak. Az idegsejt hártya zsírtermészetű anyagainak 10-12%-át is kitehetik. Lipofil ceramid részük mélyen a membránba süllyedve horgonyozza ki a molekulát, míg az oligoszacharid komponensük az intercelluláris térben a sejtfelismerést és a sejtek közötti kommunikácót szolgálja. Az utóbbi egység változatosságából adódóan 60 különböző gangliozidot különböztethetünk meg. Az egyes típusok fajoként, agyi régióként, koronként változatos eloszlásban fordulnak elő a neuronok felszínén, így az idegrendszer fejlődésében és immunológiai folyamatokban kritikus szabályozó szerepet tulajdonítanak nekik. Így például a myelinizáció folyamatát szabályozzák, valamint központi szerepet tölthetnek be a neurodegeneratív betegségek kórtanában. Az itáliai Camerinoi Egyetem kutatói elsőként közölték PDD-ben érintett papagájok szérummintáiban a gangliozidok ellen termelődő antitestek jelenlétét (antigangliozid ellenanyagok, AG), a Guillain-Barré-szindróma mintájára (36,53). A

Guillain-Barré-szindróma egy végtaggyengességgel, légzési, illetve vegetatív funkciók zavarával jellemezhető emberi kórkép. Fertőző oktanú betegség, melyet sokszor egy heveny gyomor-bélrendszeri vagy felsőlégúti tünetekkel kísért átmeneti lázas állapot vezet be. Ennek lezajlása után polyneuropathiában manifesztál a betegség, amelynek oktana így sokszor szerológiai vizsgálatokkal kideríthető. Herpeszvírusok felületi glükoproteinjei, illetve egyes *Campylobacter jejuni* törzsek lipopoliszacharidjai által indukált antigangliozid autoantitestek termeltetése, autoimmun válasz révén, demyelinizáció vagy közvetlen axonkárosodás következik be. Így ez a „molekuláris mimikrinek” nevezett jelenség végül az ingerületvezetés zavarát okozza (54,55). Ezeknek az antitesteknek a mérésére irányuló vizsgálatok pontos diagnózist adhatnak a PDD-ben szenvedő madarak esetében is, ugyanis Rossi és munkatársai többszáz egyedet felmérő kutatásukban a klinikailag vagy kórszövettanilag érintett papagájokban nagyarányú pozitivitást állapítottak meg (98%). Emellett a szerzők immunhisztokémiai vizsgálatok segítségével egyéb, a betegségre jellemző immunpatológiai folyamatokat írtak le, köztük az immunkomplex lerakódást és komplement aktivációt, valamint a fagocitózist és a T-sejtes (CD8) cytotoxicitást az emésztőszervi dúcokban. Ezeken kívül demyelinizációt és a begyben zajló keratinizáció zavarát mutatták ki. A kutatócsoport továbbá tisztított gangliozid kivonattal kezelve nimfapapagájokat sikeresen indukált bennük mind klinikailag mind kórszövettanilag a PDD-hez hasonló kórképet. A myelin bázikus protein ellen termelődő antitestek is leírásra kerültek a téma szakirodalmában, de ezt bizonyos szerzők sejtsejtéséhez köthető átmeneti autoimmun folyamatokkal magyarázzák (9). Így, habár az antigangliozidok pontos szerepe a betegség kórfejlődésében tisztázatlan, a detektálásukra alkalmas teszt az egyedüli ismert szerológiai módszer, ami prognosztikai információt ad a PDD mindkét kórformája esetében. Ezeknek az antitesteknek a szintje ugyanis a cytotoxikus CD8 lymphocyták mennyiségével arányos az említett szerzők szerint. (36).

3.4. Tollminta a virológiai nukleinsav alapú diagnosztikában

A toll felszíni epidermisze a tollak tüszőjében kiváló közeget biztosít különböző vírusok replikációjához. A tollkezdemény immunológiailag védtelen, azonban a tolltüsző erekkel, idegekkel jól ellátott. Mint tudjuk, a tollas bőrben nem csak a tolltüszőket hálózatosan összekötő izmok beidegzése található meg, hanem a kontúrtollak tüszőivel közvetlen kapcsolatban különböző érzékelő apparátusok is tömörülnek az irhában (56,57). A madártoll ennél fogva számos vírusos oktanú fertőző betegség diagnosztikájában megbízható mintának bizonyult. Ezek között ellenálló DNS vírusok, mint a Marek-betegség és a csirkék fertőző anaemiájának vírusa,

valamint érzékenyebb RNS vírusok, így az influenza és nyugat-nílusi láz vírusa, továbbá egy avian leukosis vírus is említhető (58–61). Továbbá számos tanulmány számol be magas PaBV nukleinsav-jelenlétről a tollas bőrben, valamint Rubbenstroth és munkatársai madár bornvírus fehérje jelenlétét is igazolták a tolltűszők epitheliális sejtjeiben kanáriban (*Serinus canaria*). (22,28,29).

4. Célkitűzés

Tudományos diákköri munkám célja az volt, hogy összevessem a hazánkban korábban még nem használt tolcséve minták diagnosztikai értékét az emésztőszervi tampon mintákéval a reverz transzkripció polimeráz láncreakció (RT-PCR) alapú víruskimutatásban. Választ szerettem volna kapni, hogy habár egy angol-amerikai cég a diagnosztikában egyedüli mintaként használja a tolcsévét, általunk nem ismert hátránya miatt méltán szorult-e háttérbe az egyéb mintákkal szemben más laboratóriumok gyakorlatában. Emellett szeretünk volna többet megtudni az antigangliozid antitest ELISA diagnosztikai értékéről fertőzött, de tüneteket nem mutató madarak, továbbá enyhe tünetekkel diagnosztizált egyedek esetében. Habár a szakirodalomban közölt új tanulmányok szerint a betegség idegrendszeri kórformájában érintett egyedek esetén lehet jelentőségük, a vírus ellen termelt ellenanyagokat kimutató szerológiai vizsgálatok nem megbízhatóak. Ezzel szemben az antigangliozid alapú ellenanyagok kimutatására alkalmas tesztek kimondottan értékes diagnosztikumok lehetnek a klinikailag érintett papagájok PDD betegségének igazolásában bizonyos szerzők szerint. Munkánkat a hazai PDD gyanús beteganyag esetén a pontos diagnózis felállításában segédkezve valósítottuk meg. Emellett néhány hazai arapapagáj tenyészetben a PaBV fertőzöttség előfordulási arányát is alkalmunk nyílt felmérni a tulajdonosok névtelenségének megőrzése mellett. Munkánk harmadik pillére a Fővárosi Állat- és Növénykert vírusra fogékony madarainak, köztük fajmegőrző programokban regisztrált, értékes nagypapagájainak a virológiai laboratóriumi diagnosztikája volt. Az állatkerti gyűjtemény vizsgálatokor célkitűzéseink között szerepelt, hogy a korábban azonosított (a Virologiai Kutatócsoport korábbi vizsgálatain során), ismert fertőzött madarak esetében az emésztőszervi minták vizsgálatával információt szerezzünk a vírusürítésről.

5. Anyag és módszer

5.1. Mintagyűjtés

A mintáink három különböző forrásból érkeztek, illetve kerültek begyűjtésre (**2. táblázat**):

Egzotikusállat- és Vadegészségügyi Tanszék Klinikája (ÁTE): <ul style="list-style-type: none">4 jákó (<i>Psittacus erithacus</i>), 2 kék-sárga ara (<i>Ara ararauna</i>), 4 zöldszárnyú ara (<i>Ara chloroptera</i>), 2 sárgahomlokú amazon (<i>Amazona ochrocephala</i>), 3 rozellapapagáj (<i>Platycercus eximius</i>); 1-1 jácintkék ara (<i>Anodorhynchus hyacinthinus</i>), venezuelai amazon (<i>Amazona amazonica</i>), nagyváza papagáj (<i>Caracopsis vasa</i>), kongópapagáj (<i>Poicephalus gularis</i>)	19 papagáj
Fővárosi Állat- és Növénykert (FÁNK): <ul style="list-style-type: none">5 jácintkék ara, 5 vörösfülű ara (<i>Ara rubrogenys</i>), 4 vöröshátú törpeara (<i>Prioniturus maracana</i>), 2 kék-sárga ara, 3 kea (<i>Nestor notabilis</i>), 1 csupaszszemű kakadu (<i>Cacatua sanguinea</i>)	20 papagáj
Arapapagáj tenyészetek (Szeged és Budapest környékéről): <ul style="list-style-type: none">zöldszárnyú, sárgaszárnyú (<i>Ara macao</i>) és hibrid arák	15 papagáj
Összesen: 14 faj	54 papagáj

2. táblázat: Mintavételi helyek és a diagnosztikai vizsgálatba bevont fajok és egyedszámok.

Az első toll és kloáka tampon minta 2017. szeptember 25-én az Állatorvostudományi Egyetem Egzotikusállat- és Vadegészségügyi Tanszékének klinikájáról érkezett. Ettől fogva dr. Pazár Péter heti rendszerességgel gyűjtött mintákat PDD-re utaló tüneteket mutató, illetve egészséges kontroll vizsgálatokon résztvevő papagájokból. A feldolgozásra kapott anyaggal járó kísérőiratban közölt elsődleges kórelőzményi és jelen állapotra utaló adatok az emésztetlen magvak ürítése és a regurgitáció volt. A klinikáról így 17 madártól történt mintavétel: 2017-ben 11, míg 2018-ban 8 papagáj mintáit dolgoztuk fel május 27-ével bezárólag. A tollak gyűjtése és a kloáka tampon mintavétel rendelési időben, a betegellátás során zajlott. A begyűjtött diagnosztikai anyag szállítása a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszékre hűtve, a lehető legkorábbi időpontban megtörtént.

Szécsi Zsolt díszmadártartó és Pazár doktor közreműködésével október közepén 30 arapapagájtól jutottunk tollmintákhoz. Ez a diagnosztikai anyag Szeged és Budapest

környékéről, több aratenyészet gyűjtéséből származott. A mintavételezésben nem vehettünk részt, az 1-től 30-ig számozott mintákhoz tartozó alanyainknak kizárólag a fajáról, a koráról és a neméről kaptunk információt. Kontrollként november 19-én a vizsgált arák egy részéből bélsár minták érkeztek, így 15 mintapár feldolgozását tudtuk elvégezni április 4-ével bezárólag. Ezzel a munkarésszel kapcsolatos anonimitás, amit a tenyésztők megköveteltek, jelzi, hogy mekkora gondot jelent az ABV fertőzöttség a hazai papagájtenyészetekben. Kérésüket azzal indokolták, hogy az esetleges infektivitás rossz fényt vetne rájuk, ellehetetlenítené a szaporulatok értékesítését.

A PaBV fertőzöttség és a mirigyegyomor-tágulat jelentős problémát jelent a hazai állatkertekben is, így a mintavétel harmadik helyszínéül a Fővárosi Állat- és Növénykertet választottuk. Dr. Sós Endre, az állatkert természetvédelmi és állategészségügyi igazgatójának vezetésével olyan értékes fajok egyedeitől gyűjthettünk testközelségből mintát, mint a vörösfülű (*Ara rubrogenys*) és a jácintkék arák (*Anodorhynchus hyacinthinus*). Ezeknek a fajoknak a budapesti képviselői az Európai Állatkertek és Akváriumok Szövetségének keretein belül működő ún. EEP (European Endangered Species Programmes) fajmegőrző tenyésztőprogramokban regisztrált egyedek. Az állatkerti mintavétel egyszeri, szervezett programként valósult meg december 13-án, amit egy későbbi, a feldolgozásra alkalmatlan mintákat pótló mintagyűjtés követett. A gondozók és az állatorvosi team által kijelölt 20 madártól vettünk mintát éber állapotban, szakszerű rögzítés mellett.

Egyedenként minden mintavételi helyről egy tollminta és egy emésztőszervi minta begyűjtésére került sor. Az összes papagáj esetében legalább 5-6 mell- vagy begytájéki kontúrtollat gyűjtöttünk. A fejlődésben lévő (tokos) és a vedlésre kész, gyengén rögzült tollak eltávolítása gyorsan kivitelezhető volt, csekély fájdalommal járt a madarak számára. A kloákatampon minták gyűjtése mintavevő pálcákkal történt. A kloákában való alapos átforgatás után a vattával fedett végeket előre előkészített, 1000 µl foszfát puffer oldattal (PBS) töltött mikrocentrifuga csövekbe juttattuk sterilizált eszközökkel. Az emésztőszervi minták hűtve, 1,5 ml-es mikrocentrifuga csövekben, míg a tollak simítózáras tasakokban érkeztek az ÁTE Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék virológiai laboratóriumába. A további feldolgozásig ezeket -70°C-on tároltuk. A feldolgozás munkafázisait heti rendszerességgel, a labor munkatársainak felügyelete mellett végeztem.

A szerológiai vizsgálathoz a szükséges véreket 2018 őszén gyűjtöttük. Erre először az állatkerti hiányos minták pótlására szervezett bejárás keretében volt módunk. Minden, az állatorvosi

csapat által jóváhagyott, a vizsgálatok alapján fertőzöttnek ítélt egyed esetében kivitelezhető volt a *vena cutanea ulnaris*-ből történő vérvétel 1 ml-es inzulinos fecskendővel és a hozzátartozó 29 G-s tűvel. Így 5 PaBV fertőzött papagáj vérmintájához jutottunk hozzá. Mindez bódítás nélkül, megfelelő rögzítés mellett történt. Az Állatorvostudományi Egyetem klinikáján történő mintavétel során Pazár doktor gázzal történő általános anesztézia mellett a jobboldali *vena jugularis*-ből vette a véreket vizsgálatainkhoz. Segítségével végül egy ismert PaBV negatív és egy pozitív rozellapapagájtól (*Platycercus eximius*), valamint egy további ismeretlen bornavírus fertőzött, tüneteket mutató zöldszárnýú arapapagájtól (*Ara chloropterus*) jutottunk szérummintákhoz.

5.2. Minta-előkészítés

Felolvasztás után a tollak cséve része ollóval történő felaprítás után kerámia mozsárban homogenizálásra került 1000 µl foszfát puffer oldat hozzáadása mellett. Az így nyert folyadékot mikrocentrifuga csövekbe mértük be. A homogenizátumokat tartalmazó csöveket a kloákatampon és bélsár minták csöveivel együtt 10 percig 2500×g gyorsulással centrifugáltuk. Ezáltal a nagyobb szemcsék, elhalt sejtek, sejtörmelékek a cső alján ülepedtek le, míg a víruspartikulák a felülúszóban maradtak. A vérmintákat néhány óráig szobahőmérsékleten inkubáltuk. A megalvadt mintákat centrifugáltuk, majd a felülúszó vérsavót mikrocentrifuga csövekbe pipettáztuk. Ezeket a szérummintákat -20°C-on tároltuk, míg egy csomagban feladásra nem kerültek Matellicába, az olaszországi Camerinoi Egyetem patológiai laboratóriumába.

5.3. RT-PCR

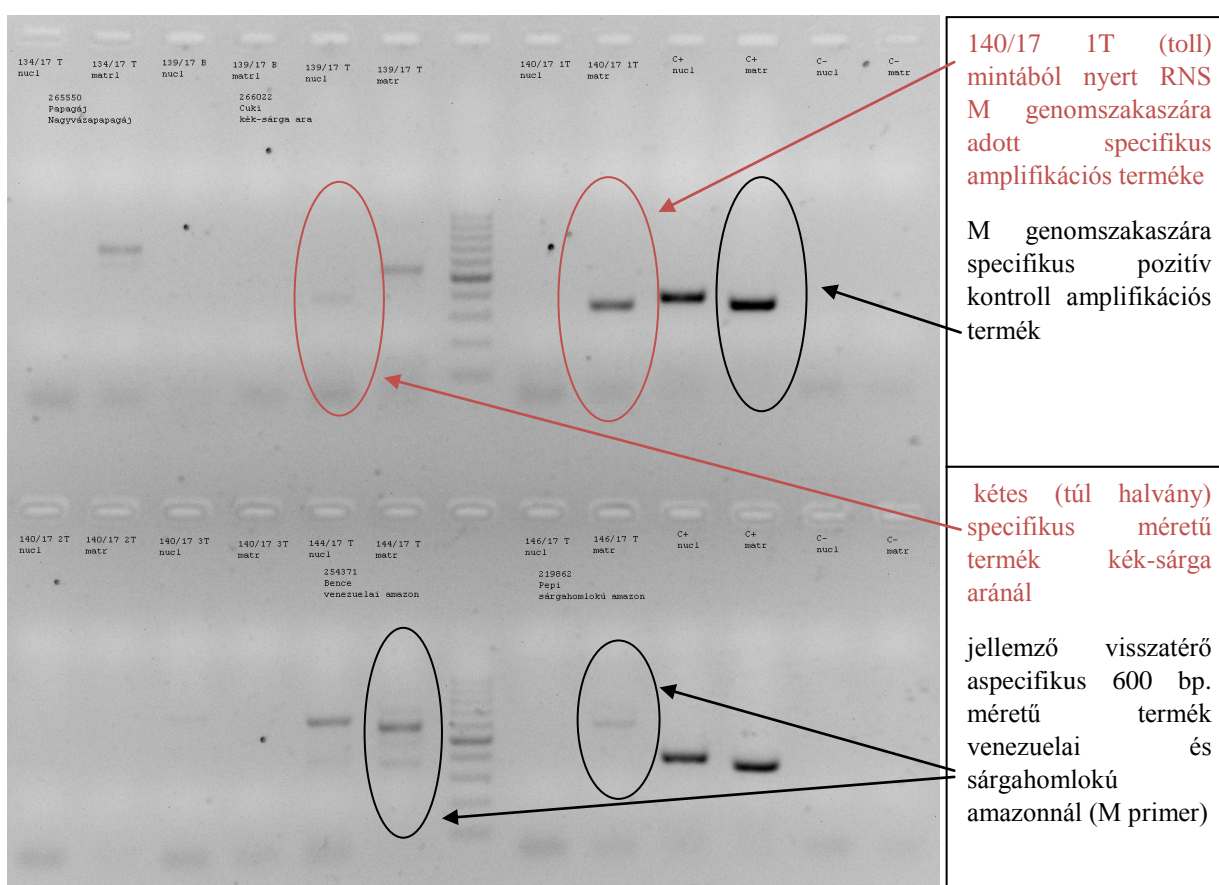
A vírus RNS izolálását QIAamp Viral RNA Mini Kit-tel végeztük a minta csöveink felülúszóiból a Qiagen cég protokollja szerint. A tisztított RNS-t az RT-PCR elvégzéséig -70°C-on tároltuk. Az ABV kimutatására az RT-PCR során két primerpárt használtunk. Az egyik a nukleoprotein (N) génre (forward primer 5' -CATGAGGCTATWGATTGGATTA-3' és reverse primer 5' -TAGCCNGCCMKTGTWGGRTTYT-3'), míg a másik a mátrix protein (M) génre specifikus (forward primer 5' -CAAGGTAATYGTYCCTGGATGG-3' és reverse primer 5' -ACCAATGTTCCGAAGMCGAWAY-3') területre tapad. Ezek a primerek a GenBank adatbázis EU781967 kóddal regisztrált PaBV törzsének nukleotidszakaszaival komplementerek. Az N gén esetében a 632-653 és a 999-1020, míg az M gén

esetében az 1908-1929 és a 2238-2259 számú nt-ok alkotta szakaszok kiegészítő szálai ezek a primerszakaszok. A vírus RNS átírásához, majd a képződő DNS termék amplifikálásához a One Step RT-PCR kitet (QIAGEN) használtuk. Először a gyártó utasításainak megfelelően Rnáz-mentes víz, pufferoldat, dNTP oldat, RNáz inhibitor és az enzim mix összemérésével egy reakcióelegyet készítettünk. Alapos rázatás után ezt elfeleztük, majd az egyik félhez az M génre, míg a másik félhez az N génre specifikus primerpár oldatát mértük. Az így nyert elegyeket a minta és a kontrollok számának megfelelő vékonyfalú PCR csövekbe pipettáztuk. A csövek tartalmához végül az RNS templátokat, illetve 2-2 csőhöz a pozitív (PaBV RNS), illetve negatív (Rnáz-mentes víz) kontrollokat mértük hozzá. Így végül a négy kontroll elegy mellett mintánként kétszer 25 μ l „master mix” reakcióelegyet kaptunk. A PCR csövek ezután termocycler készülékbe kerültek. A gép az első lépésnek megfelelően 50°C-ra melegítette a master mixet. Ezen a hőmérsékleten 30 percig inkubáltuk a csöveket, hogy végbemehessen a reverz transzkripció, mely során a templát RNS DNS-sé íródik át. A polimeráz enzim aktiválódásához a hőmérsékletet a gép 15 percre 95°C-ra emelte. Ezen a hőmérsékleten a reverz transzkriptáz denaturálódott, így elindulhatott a tulajdonképpeni polimeráz láncreakció folyamata. Ez egy három lépésből álló ciklusban valósult meg, amely 45 alkalommal ismétlődött. A ciklus három szakaszból állt, a DNS szálak szétválasztásából (95°C), a primerek kötődéséből (50 °C) és az extenzióból (72 °C). Az egyes folyamatok 30-30 másodpercig zajlottak, majd a ciklus újraindult. A 45. ciklus végeztével a készülék egy végső extenziós folyamatot iktatott be. Ezalatt a készülék 72 °C-on 7 percig inkubálta az elegyeket, hogy a ciklusok során be nem fejeződött polimerizáció végbemehessen. Az így nyert oldatokat 4 °C-on tároltuk a gél-elektroforézis elvégzéséig.

5.4. Agarózgél elektroferózis

A képződött termékek detektálása agarózgél-elektroforézissel történt. Elsőként az ehhez szükséges gélt készítettük el. Ehhez agaróz port kevertünk 50 ml Tris-acetát EDTA pufferhez úgy, hogy a kapott oldat 1,5%-os legyen. Az így nyert folyékony agarózt felforraltuk, majd 3 μ l interkalálódó festék oldatot (GreenSafe, NZYTech, Lisszabon, Portugália) adtunk hozzá, amely a kétszálú DNS-hez kötődve UV fényben fluoreszkál. Végül a folyadékot egy előkészített műanyag fésűvel ellátott öntőformába töltöttük. A gél 30 perc alatt teljesen megdermedt, így a fésű eltávolítása után fogainak helyén a gélben zsebek keletkeztek. A következő lépésben Tris-acetát EDTA puffer oldatot rétegeztünk vékonyan a futtatókádba helyezett gél felületére, majd a mintákat (5 μ l) felvivőpufferrel (1,5 μ l, DNA Loading Dye) a

gél zsebeibe pipettáztuk. A középső üresen hagyott zsebbe molekulatömeg-markert (Gene-Ruler 100 bp, Fermentas, Vilnius, Litvánia) mértünk be, illetve a gél szélő zsebeibe a pozitív, illetve a negatív kontroll templát amplifikációs termékek kerültek. Az optimális elkülönítéshez 8 V/cm feszültség mellett 40 percig végeztük az elektroforézist. Az elektroforézis végeztével a gélben a képződött termékeket UV átvilágító asztalra helyezve bíraltuk el. Ezek a DNS fragmentek az interkalálódó festékkel megszíneződő sávokként tűntek fel az UV fényben. A gélről felvételt készítettünk digitális kamerával, majd a kapott DNS-termékek méretét a molekulatömeg-marker segítségével a pozitív kontroll amplifikációs termékek méretéhez hasonlítottuk (3. ábra).



3. ábra: Agaróz gél elektroforézist követően készített gél képe, mely a 140/17-es mintaszámú madár (Emese) fertőzöttségét igazolja, valamint bemutatja az aspecifikus és a kétes amplifikációs termékeket.

5.5. Antigangliozid ELISA teszt

A 7 PaBV pozitív és az 1 PaBV negatív papagáj szérummintáit Olaszországba küldtük, ahol három különböző ELISA tesztben vizsgálták az antigangliozidok ellen termelődő

ellenanyagok jelenlétét. Meghatározták a leggyakoribb, kereskedelmi forgalomban kapható (SIGMA) gangliozidok, a *GMI* és a *GT1b* kivonataival, illetve peroxidázzal jelölt másdolagos ellenanyaggal reagáltatott szérumminta fényelnyelését. Emellett arapapagáj központi és perifériás idegrendszeri szöveteiből származó tisztított gangliozid kivonattal is elvégezték az ELISA vizsgálatokat a Camerinoi Egyetemen az általuk bejegyzett szabadalom szerint (62).

6. Eredmények

6.1. Nukleinsav alapú diagnosztika

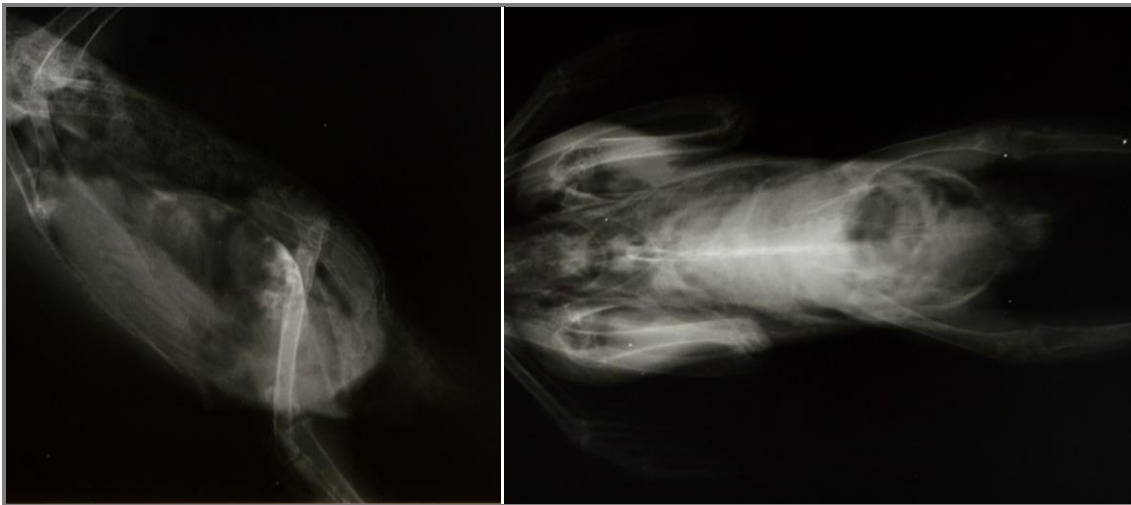
Az eredményeinket az alábbi táblázatban ismertetjük csoportokra bontva (**3. táblázat**):

Mintavétel helyszíne és a vizsgált egyedek klinikai státusza	Vizsgált egyedek száma	Fertőzött egyedek a tollminták alapján	Fertőzött egyedek a GI minták alapján	Σ Fertőzött egyedek
Egzotikusállat- és Vadegészségügyi Tanszék Klinikája (ÁTE): Tünetmentes papagájok	6	2(3)	2	3(4)
Fővárosi Állat- és Növénykert: Tünetmentes papagájok	20	4	1(3)	5(7)
Arapapagáj tenyészetek: Tünetmentes papagájok	15	1	1	2
Tünetmentes papagájok összesen	41	7(8)	4(6)	10(13)
Egzotikusállat- és Vadegészségügyi Tanszék Klinikája (ÁTE): Klinikai tüneteket mutató papagájok	13	3(6)	3	4(6)
Összesen:	54 egyed	10(14)	7(9)	14(19)

3. táblázat: A PaBV fertőzöttség a kétféle nukleinsav alapú vizsgálat szerint. Eredményeinket a vizsgált csoportokban az egyedek klinikai státuszának figyelembevételével tüntettük fel. Zárójelben a kétes pozitív eredményekkel együtt kapott értékek olvashatóak.

Az ÁTE-ről származó minták feldolgozása során két, több éve ismertén vírusürítő idegrendszeri kórfomában érintett szürkepapagáj (*Psittacus erithacus*) fertőzöttségét erősítettük meg. Ezek az egyedek konzisztensen mind tollal, mind bélsárral ürítették a vírust.

Ingadozó általános állapotuk, fennálló idegrendszeri tüneteik miatt rendszeres kontrollvizsgálatokon vettek részt. Részletesen két további papagáj, Emese és Igrai (**5. ábra**) kórtörténetét szeretném ismertetni. 2017. szeptember 29-én az Egzotikusállat és Vadegészségügyi Tanszék Klinikájára egy fél éves kongópapagáj (*Poicephalus gulielmi*) érkezett vizsgálatra. A madár korábban már kivizsgálásra került, a beküldő állatorvost az augusztus vége óta tapasztalt apátia, tollborzolás és hunyorgás miatt keresték fel. A madár a tapasztalt tünetek megjelenésekor két hete volt a tulajdonosnál, ugyanis a hónap közepén vásárolták a tenyésztőtől. A vizsgálat során az állatorvos fluconazol (Diflucan oldat) terápiát javasolt emésztetlen magvak ürítése miatt. Kedélye látszólag javult a kezeléstől, azonban a nevelőtápot (Nutribird) visszaöklendezte. Pazár doktor a fizikális vizsgálat során kielégítő általános állapotot állapított meg, azonban Igrai, a kongópapagáj kimondottan rossz kondícióban volt, illetve rosszul emésztett magvak voltak láthatóak a bélsárában. A röntgenlelete kifejezett mirigyegyomor-tágulatot mutatott (**4. ábra**), azonban a PaBV laboratóriumi vizsgálat során (mindkét minta esetében) negatív eredmény született. Igrai kórházi felvételre került, ám a súlyosbodó idegrendszeri tünetek (gubbasztás, ptosis) valamint a rossz hosszútávú kórjóslat miatt a madár elaltatása mellett döntött a tulajdonosa.



4. ábra: A kongópapagájról készült röntgenképen jól ábrázolódik a légzsákok helyét kitöltő kitágult mirigyegyomor.

Forrás: dr. Pazár Péter

Emese, a négy hónapos zöldszárnyú arapapagáj (*Ara chloropterus*) két hete fennálló emésztőszervi tünetekkel (begyűrülési zavar, kondícióromlás, bágyadság) érkezett az egyetem klinikájára. A tulajdonos elmondása szerint 4 nappal korábban a tenyésztő segítségével szondán

keresztül begy mosást végeztek a madárnál, ugyanis a tenyésztő és a tulajdonos folyamatos kapcsolatban volt (hisz mindössze másfél hónapja került a madár az állattartóhoz). A papagájnál emellett a helyi rendelőben bélsárvizsgálatot végeztek, ami alapján a flórákép eltolódását állapították meg. Kezelésképpen famotidint és probiotikum kezelést (Gastroferm por), illetve édeskömény tea itatását javasolta az állatorvos. Az ÁTE-n a madár fizikális vizsgálata során enyhe dehidrátság, lesóványodás, a begy kiteltsége tűnt fel. Ennek ellenére a papagáj általános állapota jó volt. Napi kétszeri spiramycin és metronidazol tartalmú tablettát (Stomorgyl) kapott szájon át a feltételezhető Gram + anaerob túlszaporodás miatt, illetve nystatint a passzázsavar következtében gyaníthatóan fennálló begycandidiasisra a mikrobiológiai vizsgálatok eredményéig. Mindezek mellé az említett édeskömény tea itatását valamint a rendszeres, mértéktartó etetést és a gyakori súlymérést javasolta Pazár doktor. A május végén beérkező leletek szerint a bélsárkenetben nagyszámú spórás *Clostridium* volt látható, míg a begyváladékból nystatin érzékeny *Candida glabrata* tenyésztett ki, így további 10 nap Stomorgyl, illetve két hét nystatin kezelés kezdődött el. Az egy hónapos kontrollvizsgálatra a madár kondíciója javult, ám a begyben ismét közepes mennyiségű tartalom volt kitapintható. A bélsárkenet ismét *Clostridium* és sarjadzógombák jelenlétét bizonyította, így újabb nystatin és Stomorgyl kúra következett emelt dózissal. Négy hónap elteltével, 2017 októberében az ismeretlen oktanú passzázsavar továbbra is fennállt, ugyanis ismét Gram + anaerob túlsúlyt tapasztaltak a mikrobiológiai vizsgálat során. A madár kondíciója nem javult, így Pazár doktor szárazzeleség arányának növelését és következetes probiotikum terápiát javasolt. Két héttel később a bornavírus fertőzöttség a tollmintából megerősítésre került, így a következő kontroll vizsgálat alkalmával 2018 márciusától napi 20 mg celecoxib (Celebrex) kezelésben részesült az arapapagáj két hónapon keresztül. Egy hónapon belül a madár elérte a fajának és nemének megfelelő 1100 grammos súlyt, ám idővel a kezelés ellenére hangulatváltozás és koordinációs zavarok jelentkeztek nála. 2018 őszén a vérvizsgálat egészséges arapapagájra jellemző biokémiai és hematológiai paramétereket mutatott, a papagáj kondíciója megfelelő volt. Ennek ellenére a bélsárvizsgálat szerint ismét dysbacteriosisban szenvedett, illetve a szérummintájában emelkedett volt az anti-ganglizidok antitestek szintje. Emese a dolgozat leadásának pillanatában is él, kondíciója a normál tartományba esik (1120g). Bal lába időnként erőtlen, nehézkesen hajt vele végre célvezérelt mozgásokat.



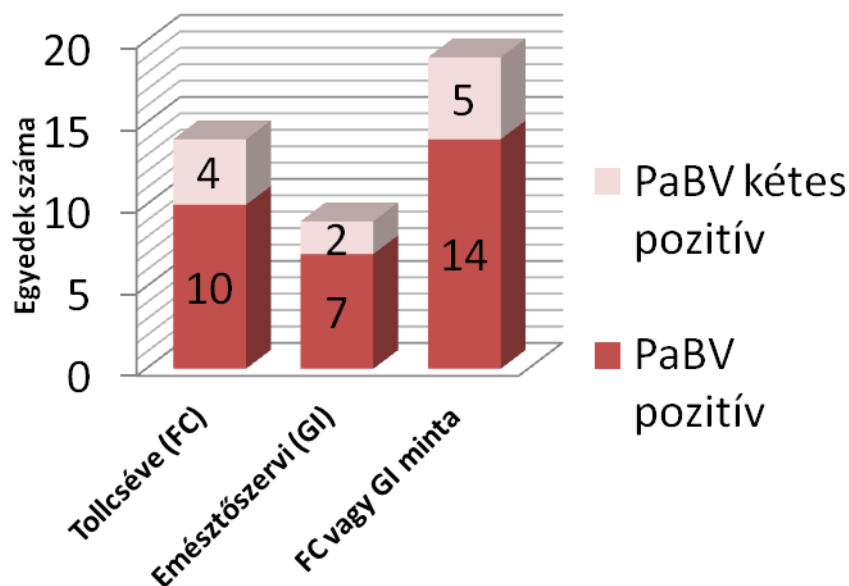
5. ábra: kutatásunkban résztvevő Igrai az idegrendszeri tüneteket mutató kongópapagáj, és Emese a senyves fiatal zöldszárnnyú ara

Forrás: dr. Pazár Péter és dr. Ódor István

Az állatkerti papagájok fertőzöttségének felmérése során több, már egy korábbi 2011-12-es vizsgálat során ellenőrzött madár PaBV fertőzöttségi státuszát vizsgáltuk. Az előbbieken igazoltan fertőzött madarak közül több nem ürítette a vírust. Így például a jácintkék arák és egy-egy kék-sárga ara, valamint csupaszzemű kakadu esetében nem volt kimutatható a fertőzöttség. Ezzel szemben a fertőzött vöröshátú törpeara csoportok, illetve egy vörösfulű arapár PaBV pozitív státusza igazolható volt a toll, illetve a kloákatampon minták szimultán vizsgálata során. Hazánkban először keában (*Nestor notabilis*) is kimutattuk a fertőzöttséget.

A tenyésztőktől érkező minták kimondottan enyhe átfertőzöttségre utalnak a vizsgált arapapagáj állományokban, ugyanis mindössze két, különböző tartók tulajdonában álló egyed fertőzöttségét igazoltuk.

Vizsgálatunk során a tollmintákból 10 madár esetén mutattuk ki a vírus nukleinsavát, míg kizárólag az emésztőszervi minták eredménye alapján mindössze 7 PaBV fertőzött papagájt találtunk. 14 madár pozitivitását igazoltuk teljes biztonsággal, vagy az egyik, vagy szimultán mindkét mintára kapott pozitív RT-PCR eredmény alapján. Az emésztőszervi mintákból végzett diagnosztika egyedi alkalmazása 7 fertőzött madár esetében fals negatív eredménnyel járt volna. Ezzel szemben a tollminta kizárólagos vizsgálata esetén csak 4 papagáj esetében mondtunk volna ki téves diagnózist a fertőzöttség tekintetében (**6. ábra**).



6. ábra: A minták által igazolt PaBV fertőzött és kétes fertőzött egyedek száma a mintavételi csoportjaink egyedeinek eredményeit összesítve.

A fertőzöttségi prevalencia értékek az alábbi táblázatban olvashatók (**4. táblázat**). Zárójelben a kétes pozitív eredmények figyelembe vételével kalkulált értékeket tüntettük fel.

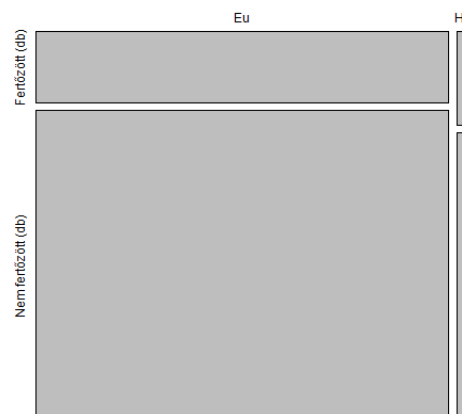
	Prevalencia a tollminták eredménye alapján	Prevalencia az emésztőszervi minták eredménye alapján	Összegzett („valós”) prevalencia
PDD tüneteit mutató: 13 papagáj	23% (46%)	23%	31% (46%)
Tünetmentes 41 papagáj	17% (20%)	10% (15%)	24% (32%)

4. táblázat: A fertőzöttség előfordulási aránya az általunk vizsgált tüneteket mutató és tünetmentes klinikai státuszú csoportok esetében.

Munkánk során számos aspecifikus méretű amplifikációs termék keletkezett. Ezek közül 2018. április 18-án 4 terméket Hollandiába küldtünk szekvencia-meghatározásra. Az aspecifikus termékek nukleotid szekvenciái a legnagyobb hasonlóságot (75-80%) a génbanki adatbázisokban hozzáférhető, különböző madarak genomiális DNS-éhez mutatták. Ezzel igazoltuk, hogy nem az ABV esetleges genetikai változatának nukleinsavát erősítette fel a reakció, hanem – specifikus vírus nukleinsav hiányában – a primerek a vizsgált papagájok genomjában előforduló, részben komplementer szakaszokhoz kapcsolódtak.

Egy reprezentatív nyugat- és dél-európai felmérés a 18,6%-os fertőzöttségről számol be tünetmentes egyedekben (n=1379), míg a betegségben szenvedő papagájokban 66,6%-os prevalenciáról tájékoztat (25). Vizsgálatainkban a hazai papagájok fertőzöttségének előfordulási arányát ennek a felmérésnek az eredményeihez hasonlítottuk. Az alábbi ábra (7. ábra) az előbbieken ismertetett, általunk kapott 24%-os (tüneteket nem mutató egyedek) fertőzöttségi prevalenciát veti össze az irodalmi adattal. A táblázat rész ismerteti a klinikai tüneteket mutató csoportok esetén tapasztalt fertőzöttséget is.

Vizsgált csoportok		Egyedszámok (25)	Egyedszámok saját vizsgálatainkban
Tünetmentes	Fertőzött	257	10
	Nem fertőzött	1122	31
Tüneteket mutató	Fertőzött	42	4
	Nem fertőzött	21	9



7. ábra: A mozaikábra és hozzá tartozó táblázat a tünetmentes egyedeknél megfigyelt fertőzöttséget szemlélteti a hazai és európai vizsgálatok eredményeit összevetve a mintaelemszámok figyelembevételével.

A tünetmentes papagájok esetében az általunk kapott fertőzöttségi prevalencia szignifikánsan nem tér el a cikkben közölt nyugat- és dél-európai gyűjtemények kapcsán leírt PaBV fertőzöttség előfordulási arányoktól ($p = 0,4152$, Fisher-féle egzakt próba). Ezzel szemben a tüneteket mutató papagájok esetében statisztikailag szignifikáns különbség van az általunk kapott prevalencia érték és szakirodalomban ismertetett között ($p = 0,0270$, Fisher-féle egzakt próba).

6.2. Antigangliozid ELISA teszt

Az antigangliozid autoantitestek szintjének mérésére irányuló szerológiai vizsgálat a bornavírussal fertőzött egyedek közül kettő esetében mutatott emelkedett értékeket. Így a hét PaBV fertőzött egyedből a teszt nagy biztonsággal erősítette meg az egyedüli, PDD tüneteket

is mutató papagáj, egy kétéves zöldszárnyú ara (*Ara chloroptera*) tojó, Emese központi és perifériás idegrendszerének érintettségét (**5. táblázat**). A FÁNK-ben mind 2018, mind 2019 nyarán volt idegrendszeri tünetekkel kísért elhullás a keák között. A korábbi eset vírusos fertőzés (szimultán herpesz és nyugat-nílusi vírus) következtében heveny elhulláshoz vezetett, míg a másik egyed elhúzódó ataxiával és viselkedésváltozással jellemezhető elhúzódó körlefolyású betegség után pusztult el 5 és fél hónappal az első tünetek megjelenése után. Nem kizárható ezek alapján, hogy az általunk vizsgált egyed kimondottan magas antigangliozid antitest értékei így más oktanú idegrendszeri kórtani folyamatot, vagy az állományban szimultán meglévő PDD okozta léziók meglétét jelezheti.

Faj	Az állat klinikai státusza és a minta eredete	PaBV státusz	GM1 pozitív, ha ≥ 0.606	GT1b pozitív, ha ≥ 0.428	EX pozitív, ha ≥ 0.430	A vizsgálattal igazolt PDD státusz
<i>Ara chloroptera</i>	Tüneteket mutató (ÁTE)	+ FC	0.664	0.431	0.445	pozitív
<i>Platycercus eximius</i>	Tünetmentes (ÁTE)	+ GI	0.297	0.224	0.209	negatív
<i>Primolius maracana</i>	Tünetmentes (FÁNK)	+ FC	0.412	0.301	0.305	negatív
<i>Primolius maracana</i>	Tünetmentes (FÁNK)	+ FC	0.330	0.255	0.228	negatív
<i>Primolius maracana</i>	Tünetmentes (FÁNK)	+ GI	0.553	0.385	0.330	negatív
<i>Nestor notabilis</i>	Tünetmentes (FÁNK)	+ FC	0.954	0.775	0.629	pozitív
<i>Platycercus eximius</i>	Tünetmentes (ÁTE)	-	0.322	0.285	0.278	negatív
<i>Primolius maracana</i>	Tünetmentes (FÁNK)	kétes GI	0.368	0.279	0.251	negatív

5. táblázat: Az AG antitestek mérése a vizsgált papagájok szérummintáiban. A *GM1*, *Gt1B* és a papagáj eredetű antigangliozid kivonat (EX) alapú ELISA tesztek eredménye az optikai denzitás (OD) értékekben kifejezve.

7. Következtetés

Munkánk során a tollminta használatával végzett diagnosztika több esetben igazolta a fertőzöttséget, mint a kontroll minta, azonban számos esetben kétes eredménnyel szolgált. A szakirodalomban át nem hangolódó vírusürítőkről, valamint mérhető immunválaszt mutató, PCR negatív madarokról számolnak be. (32,35). Így a direkt és indirekt vizsgálatok szimultán végzése növelheti a találati valószínűséget, illetve általuk több kétes pozitív egyed fertőzött státuszát tisztázhatjuk. Eszerint habár önálló módszerként nem megbízható, szimultán szerológiai vagy más direkt víruskimutató eljárás mellett a PCR alapú diagnosztika a tollcsévé felhasználásával végezve megbízható eredményeket adhat a fertőzöttség diagnosztikájában. A könnyen gyűjthető tollminta további előnye, hogy elsődleges mintának számít a csőr- és tollbetegség igazolása során is, így a papagájok két legfontosabb fertőző eredetű kórképének megerősítése a tollcsévé használata esetén azonos mintából is elvégezhető lenne a rutin diagnosztikában (63,64). Emellett ez a minta tárolható szobahőmérsékleten is, ugyanis a a PaBV nukleinsav más vírusok örökítőanyagához hasonlóan hűtés és fagyasztás nélkül akár egy hónapig is felszaporítható a tollak csévéjéből (63,65) A tollminta felsorolt előnyei miatt a 2014-es ABV Research Forum álláspontja megkérdőjelezhető, ugyanis az elvetette annak standard mintaként való alkalmazását. Munkánk jelentőségét növeli, hogy bár 2011 óta (Animal Genetics) lehetséges mintaként számon tartják a tollcsévé, tollból és emésztőszervi tamponból szimultán végzett papagáj bornavírus fertőzöttség diagnosztikai vizsgálatról publikált adat ezidáig nem állt rendelkezésre.

Arra következtethetünk a statisztikai elemzés alapján, hogy a fertőzöttség a Nyugat- és Dél-Európában tapasztalt mértékben (18,6%-os prevalencia) lehet jelen a hazai tünetmentes állományokban. Így belátható, hogy a non-invazív minták alkalmazása és a helyes mintavétel hazánkban is kimondottan nagy jelentőséggel bír. Ezzel szemben a tüneteket mutató csoportok fertőzöttsége szignifikánsan eltért a Heffels-Redmann és munkatársai által megállapított értékektől az általunk vizsgált populációban (25). Ezt a megfigyelést az említett szerzők által használt szimultán anti-PaBV szerológiai és a nukleinsav alapú módszerekkel magyarázhatjuk. A szimultán diagnosztika a kétes eredmények elbírálása mellett a tüneteket mutató fertőzött papagájokat azonosításában még nagyobb jelentőséggel bír, ugyanis beszámoltak az idegrendszeri kórforma súlyossága és anti-bornavírus ellenanyag títere között fennálló szignifikáns összefüggésről (32). Mindazonáltal az áthangolódás nem minden egyednél következik be, így szükségesnek tartjuk egy biztos szerológiai módszer adaptálását a hazai

diagnosztikai gyakorlatba. Rossi és munkatársai 650 madár szérummintáit vizsgálva 15,5% antigangliozid antitest pozitivitást találtak, ami 98%-ban átfedett a klinikailag vagy kórszövettanilag igazolt PDD érintett csoporttal. Így a szakirodalmi adatok és az általunk kapott eredmények alapján kimondhatjuk, hogy az antigangliozid antitestek vizsgálata megbízható módszer lehet a klinikailag érintett egyedek diagnózisának megerősítésében. Továbbá segíthet elkülöníteni a PaBV-fertőzött egyedeket a valóban kórtanilag érintett társaiktól állományosűrő vizsgálatok során.

A kelés utáni fertőződés jelentőségét ismertető cikkkel összhangban az általunk vizsgált tüneteket mutató beteganyagban is halmozottan fordultak elő fiatal egyedek. Ezek a tenyészetekben fertőződő pár hetes papagájok kimondottan érzékenyek, és az életük első hónapjaiban progresszíven súlyosbodó kórképet mutathatnak (29). Ennek a megelőzése, illetve szinten tartása a helyes takarmányozással, a másodlagos patogének visszaszorításával, a tulajdonos szoros együttműködése esetén valósulhat meg. Tapasztalataink szerint a szakirodalomban leírt készítmények hatékonynak bizonyultak a PDD korai stádiumában. A nem szteroid gyulladáscsökkentők, a terápiában alkalmazott elsődleges hatóanyagcsoport. Így a Celecoxib, és a Meloxicam, mint szelektív COX-2 gátlók nem mellőzhetőek a hosszú távú kezelés során, ugyanis az idegszövetet destruáló gyulladást hivatottak mérsékelni (36). A célzott terápia megkezdéséhez mindenképp a tünetek korai felismerése és az időben elvégzett állatorvosi vizsgálat szükséges. Természetesen a képalkotó eljárások mellett kizárólag a megbízható laboratóriumi vizsgálatokkal, a kórokozó kimutatásával kaphatunk pontos diagnózist. Helyes kezelés mellett a kórkép sokszor elhúzódó jellegűvé válhat, a passzázsavar, az idegrendszeri maradványtünetek fennmaradnak. Így a betegség fellángolhat a hajlamosító tényezők, főként a környezeti stressz hatására. Emellett feltételezhetően egyes fajok és egyedek érzékenysége nagyobb lehet, bizonyos egyedek kezelése így sikertelen. Ezért a megelőzésre kell fektetnünk a hangsúlyt. A nagyobb méretű tenyészetek szűrése, a fertőzött egyedek elkülönítése, valamint az adásvételt megelőző többszöri papagáj bornavírus teszt lenne szükséges az állományok fertőzöttségének visszaszorítása érdekében. Ez kizárólag az állatorvos részvételével valósulhat meg, aki később a szavatossági igény érvényesítésében, valamint a helyes karanténzás megtervezésében segítheti a vevőt. Az állatkerti vizsgálataink igazolták, hogy a vírusürítés a fertőzött egyedekben intermittáló jellegű. Továbbá fontos levonható következtetés, hogy az állatkertekben a bornavírus fertőzöttség a tartóktól lefoglalt, szabálytalanul jelölt egyedek elhelyezési kényszere miatt kimondottan magas lehet. Mindazonáltal az optimális tartási körülmények fenntartása, és a rendszeres állatorvosi kontroll

miatt a mirigyesgyomor-tágulattal járó kórkép az ilyen gyűjteményekben ritkábban alakul ki, illetve elvéte manifestál súlyos klinikai tünetekben.

8. Összefoglaló

A nagytestű papagájok mirigyegyomor-tágulattal, leromlással és alkalmanként súlyos idegrendszeri tünetekkel járó krónikus betegsége (Proventricular dilatation disease - PDD) évtizedek óta ismert, végzetes kimenetelű kórkép. Kóroktana sokáig tisztázatlan volt, a háttérben álló papagáj bornavírusokat (PaBV), akkori nevükön avian bornavírusokat (ABV), a közelmúltban mutatták ki PDD tüneteit mutató papagájok szervmintáiból. Az általuk okozott betegségek járványtana és kórfejlődése még sok ponton tisztázatlan, illetve megbízható kórjelzésük sem megoldott. Munkánk célja az volt, hogy összevessük a hazánkban korábban még nem használt tollcséve és az emésztőszervi minták vizsgálatának diagnosztikai értékét a reverz transzkripció polimeráz láncreakció (RT-PCR) alapú víruskimutatásban. Emellett nyolc papagáj esetében egy antigangliozid autoantitest alapú szerológiai eljárást is alkalmaztunk a diagnózis további pontosítása érdekében. Ez az ELISA teszt már a súlyos tünetek megjelenése előtt tájékoztathat bennünket a neuropathia fennállásáról az érintett papagájok esetében. Mintáink a Fővárosi Állat- és Növénykertből (20), az Állatorvostudományi Egyetem Egzotikusállat- és Vadegészségügyi Tanszékének Klinikájáról (19) és öt arapapagáj tartótól (15) származtak. Vizsgálatunk során a tollmintákból tíz madár esetén mutattuk ki a vírus nukleinsavát, míg kizárólag az emésztőszervi minták eredménye alapján mindössze hét pozitív papagájt találtunk. Tizennégy madár pozitivitását igazoltuk teljes biztonsággal, vagy az egyik, vagy szimultán mindkét mintára kapott pozitív RT-PCR eredmény alapján. Az emésztőszervi mintákból végzett diagnosztika egyedi alkalmazásával így hét fertőzött madár esetében téves negatív eredményt kaptunk volna. Ezzel szemben, a tollminta kizárólagos feldolgozását végezve, négy papagáj vonatkozásában mondtunk volna ki téves diagnózist. Kutatásunk során hazánkban először állapítottuk meg a papagáj bornavírus fertőzöttséget keában (*Nestor notabilis*). Korábbi vizsgálatok bizonyították a papagáj bornavírusok jelenlétét Magyarországon. Jelenlegi felméréseink azt mutatják hazai gyűjtemények PaBV fertőzöttsége a nyugat-európaihoz (18,6%) hasonló mértékű lehet. Az antigangliozid autoantitestek szintjének mérésére irányuló szerológiai vizsgálat a bornavírus fertőzött egyedek közül kettő esetében mutatott emelkedett értékeket. Így a hét PaBV fertőzött egyedből a teszt nagy biztonsággal erősítette meg az egyedüli, PDD tüneteket is mutató papagáj, egy zöldszárnýú ara (*Ara chloroptera*) központi és perifériás idegrendszerének érintettségét. Kutatásunk eredményei alapján javasolható a papagájok bornavírus fertőzöttségének felméréséhez az egyszerűen gyűjthető tollminták bevonása a

molekuláris diagnosztikai vizsgálatokba. Az antigangliozid autoantitestek kimutatása segíthet a betegség korai fázisának felismerésében.

9. Abstract

Proventricular dilatation disease (PDD), a chronic wasting disease of mainly large parrots, is well-known for its miscellaneous and fatal nature since the 1970s. The clinical signs are mostly related to the impairment of the gastrointestinal motility. However, seizures, behavioural changes, and ataxia can be detected if the disease involves the central nervous system. The aetiology has long been unknown, but recently pyrosequencing of organ samples originated from diseased birds, revealed a novel bornavirus. The pathomechanism of the diseases caused by parrot bornaviruses (PaBV) is unclear and the diagnostics are still yet to be refined. Previous studies prove that avian bornaviruses are present in Hungary and they may cause significant losses in parrot collections. In this study, we gained further data on the occurrence of the virus, using new diagnostic methods. The sensitivity of reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) on RNA yielded from the feather calami samples (FC) was compared to the RT-PCR on cloacal swab or faeces samples (GI), which are widely used in routine diagnostic applications. Furthermore, we performed a serological exam using an ELISA test validated to detect anti-ganglioside antibodies produced during the pathogenesis of PDD. The results of this test can inform us about the neuropathy before the appearance of the major clinical signs. Our samples originated from the Budapest Zoo and Botanical Garden (20), the Clinic of Exotic Animal and Wildlife Medicine, UVMB (19) and from macaw owners (15). Out of the total number of 14 positive birds, resulted from the simultaneous diagnostics, only 7 avian bornavirus positive parrots were proven by the gastrointestinal (GI) sample exclusively, whereas feather calami verified the positivity of 10 birds. Thus the diagnostics done separately would have resulted in 50% (GI) and 29% (FC) false-negative birds. PaBV has now been detected in Hungary for the first time in Kea (*Nestor notabilis* - feather calami). According to studies conducted with a significant number of samples from western and southern European aviaries, the prevalence of ABV infection can be as high as 18.6 % in asymptomatic collections. The results of the present study indicate that the infection rates in Hungary are comparable to those in the references. We tested serum samples from 7 PaBV positive and a PaBV negative parrot with ELISA test to check the presence of anti-ganglioside autoantibodies. Two of 8 parrots were found positive for the presence of antibodies directed to brain gangliosides. One of them, a red-and-green macaw (*Ara chloropterus*) was the only bird of the 8 that showed clinical signs of PDD. Feather calami sample proved as a reliable source of parrot bornavirus RNA in our assessment. Therefore, we recommend it to be involved in the molecular diagnostic tests of parrot bornavirus infection.

Demonstration of anti-ganglioside autoantibodies can support the early diagnosis of PDD.

10. Irodalomjegyzék

1. Woerpel RW, Rosskopf WJ. The Vet's Corner - A New Disease of Psittacines. AFA Watchb. 1984;11(3):4-5.
2. Honkavuori KS, Shivaprasad HL, Williams BL, Quan P-L, Homig M, Street C, és mtsai. Novel Borna Virus in Psittacine Birds with Proventricular Dilatation Disease. Emerg Infect Dis. 2008. december;14(12):1883-6.
3. Kistler AL, Gancz A, Clubb S, Skewes-Cox P, Fischer K, Sorber K, és mtsai. Recovery of divergent avian bornaviruses from cases of proventricular dilatation disease: Identification of a candidate etiologic agent. Virol J. 2008. július 31.;5(1):88.
4. Chen EC, Miller SA, DeRisi JL, Chiu CY. Using a pan-viral microarray assay (Virochip) to screen clinical samples for viral pathogens. J Vis Exp JoVE. 2011. április 27.;(50).
5. Weissenböck H, Sekulin K, Bakonyi T, Högler S, Nowotny N. Novel Avian Bornavirus in a Nonpsittacine Species (Canary; *Serinus canaria*) with Enteric Ganglioneuritis and Encephalitis. J Virol. 2009. november 1.;83(21):11367-71.
6. Marton S, Bányai K, Gál J, Ihász K, Kugler R, Lengyel G, és mtsai. Coding-complete sequencing classifies parrot bornavirus 5 into a novel virus species. Arch Virol. 2015. november 1.;160(11):2763-8.
7. Horie M, Kobayashi Y, Suzuki Y, Tomonaga K. Comprehensive analysis of endogenous bornavirus-like elements in eukaryote genomes. Philos Trans R Soc B Biol Sci [Internet]. 2013. szeptember 19. [idézi 2019. szeptember 17.];368(1626). Elérhető: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3758186/>
8. Tizard I, Shivaprasad HL, Guo J, Hameed S, Ball J, Payne S. The pathogenesis of proventricular dilatation disease. Anim Health Res Rev. 2016. december;17(2):110-26.
9. Gray P, Hoppes S, Suchodolski P, Mirhosseini N, Payne S, Villanueva I, és mtsai. Use of Avian Bornavirus Isolates to Induce Proventricular Dilatation Disease in Conures. Emerg Infect Dis. 2010. március;16(3):473-9.
10. Weissenböck H, Bakonyi T, Sekulin K, Felix Ehrensperger, Doneley RJT, Dürrwald R, és mtsai. Avian Bornaviruses in Psittacine Birds from Europe and Australia with Proventricular Dilatation Disease. Emerg Infect Dis. 2009. szeptember;15(9):1453-9.
11. Rubbenstroth D, Rinder M, Kaspers B, Staeheli P. Efficient isolation of avian bornaviruses (ABV) from naturally infected psittacine birds and identification of a new ABV genotype from a salmon-crested cockatoo (*Cacatua moluccensis*). Vet Microbiol. 2012. 0 28.;161(1):36-42.
12. Ludwig H, Bode L. Borna disease virus: new aspects on infection, disease, diagnosis and epidemiology. Rev Sci Tech Int Off Epizoot. 2000. április;19(1):259-88.
13. Rubbenstroth D, Brosinski K, Rinder M, Olbert M, Kaspers B, Korbel R, és mtsai. No contact transmission of avian bornavirus in experimentally infected cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) and domestic canaries (*Serinus canaria* forma domestica). Vet Microbiol. 2014. 0 6.;172(1):146-56.

14. Stenglein MD, Leavitt EB, Abramovitch MA, McGuire JA, DeRisi JL. Genome Sequence of a Bornavirus Recovered from an African Garter Snake (*Elapsoidea loveridgei*). *Genome Announc* [Internet]. 2014. október 9. [idézi 2019. szeptember 17.];2(5). Elérhető: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4192372/>
15. Hoffmann B, Tappe D, Höper D, Herden C, Boldt A, Mawrin C, és mtsai. A Variegated Squirrel Bornavirus Associated with Fatal Human Encephalitis. *N Engl J Med*. 2015. július 9.;373(2):154–62.
16. Rubbenstroth D, Schmidt V, Rinder M, Legler M, Twietmeyer S, Schwemmer P, és mtsai. Phylogenetic Analysis Supports Horizontal Transmission as a Driving Force of the Spread of Avian Bornaviruses. *PLOS ONE*. 2016. augusztus 18.;11(8):e0160936.
17. Thomsen AF, Nielsen JB, Hjulsgaard CK, Chriél M, Smith DA, Bertelsen MF. Aquatic Bird Bornavirus 1 in Wild Geese, Denmark. *Emerg Infect Dis*. 2015. december;21(12):2201–3.
18. Guo J, Covalada L, Heatley JJ, Baroch JA, Tizard I, Payne SL. Widespread avian bornavirus infection in mute swans in the Northeast United States. *Vet Med Res Rep*. 2012. július 19.;3:49–52.
19. Dahlhausen RD, Orosz SE. Avian Bornaviral Ganglioneuritis in Clinical Practice. :6.
20. Gregory CR, Latimer KS, Campagnoli RP, Ritchie BW. Histologic evaluation of the crop for diagnosis of proventricular dilatation syndrome in psittacine birds. *J Vet Diagn Investig Off Publ Am Assoc Vet Lab Diagn Inc*. 1996. 0;8(1):76–80.
21. Guo J, Shivaprasad HL, Rech RR, Heatley JJ, Tizard I, Payne S. Characterization of a new genotype of avian bornavirus from wild ducks. *Virology* [Internet]. 2014. november 19. [idézi 2019. szeptember 18.];11. Elérhető: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4239314/>
22. Piepenbring AK, Enderlein D, Herzog S, Al-Ibadi B, Heffels-Redmann U, Heckmann J, és mtsai. Parrot Bornavirus (PaBV)-2 isolate causes different disease patterns in cockatiels than PaBV-4. *Avian Pathol*. 2016. március 3.;45(2):156–68.
23. Piepenbring AK, Enderlein D, Herzog S, Kaleta EF, Heffels-Redmann U, Ressmeyer S, és mtsai. Pathogenesis of Avian Bornavirus in Experimentally Infected Cockatiels. *Emerg Infect Dis*. 2012. február;18(2):234–41.
24. Murray O, Turner D, Streeter K, Guo J, Shivaprasad H, Payne S, és mtsai. Apparent resolution of parrot bornavirus infection in cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). *Vet Med Res Rep*. 2017. július 6.;8:31–6.
25. Heffels-Redmann U, Enderlein D, Herzog S, Herden C, Piepenbring A, Neumann D, és mtsai. Occurrence of avian bornavirus infection in captive psittacines in various European countries and its association with proventricular dilatation disease. *Avian Pathol*. 2011. 0 1.;40(4):419–26.
26. Lierz M, Piepenbring A, Herden C, Oberhäuser K, Heffels-Redmann U, Enderlein D. Vertical Transmission of Avian Bornavirus in Psittacines. *Emerg Infect Dis*. 2011. december;17(12):2390–1.
27. Monaco E, Hoppes S, Guo J, Tizard I. The detection of avian bornavirus within psittacine eggs. *J Avian Med Surg*. 2012. szeptember;26(3):144–8.
28. Rubbenstroth D, Rinder M, Stein M, Höper D, Kaspers B, Brosinski K, és mtsai. Avian bornaviruses are widely distributed in canary birds (*Serinus canaria f. domestica*). *Vet Microbiol*. 2013. 0;165(3–4):287–95.


29. Kerski A, Kloet AH de, Kloet SR de. Vertical Transmission of Avian Bomavirus in Psittaciformes: Avian Bomavirus RNA and Anti-Avian Bomavirus Antibodies in Eggs, Embryos, and Hatchlings Obtained from Infected Sun Conures (*Aratinga solstitialis*). *Avian Dis.* 2012. szeptember;56(3):471–8.
30. Kistler AL, Smith JM, Greninger AL, Derisi JL, Ganem D. Analysis of naturally occurring avian bomavirus infection and transmission during an outbreak of proventricular dilatation disease among captive psittacine birds. *J Virol.* 2010. február;84(4):2176–9.
31. Sa-ardta P, Rinder M, Sanyathitiseree P, Weerakhun S, Lertwatcharasarakul P, Lorsunyaluck B, és mtsai. First detection and characterization of Psittaciform bomaviruses in naturally infected and diseased birds in Thailand. *Vet Microbiol.* 2019. március 1.;230:62–71.
32. Fluck A, Enderlein D, Piepenbring A, Heffels-Redmann U, Herzog S, Pieper K, és mtsai. Correlation of avian bomavirus-specific antibodies and viral ribonucleic acid shedding with neurological signs and feather-damaging behaviour in psittacine birds. *Vet Rec.* 2019. április 13.;184(15):476–476.
33. De Kloet SR, Dorrestein GM. Presence of Avian Bomavirus RNA and Anti-Avian Bomavirus Antibodies in Apparently Healthy Macaws. *Avian Dis.* 2009. 0 1.;53(4):568–73.
34. Villanueva I, Gray P, Mirhosseini N, Payne S, Hoppes S, Honkavuori KS, és mtsai. The diagnosis of proventricular dilatation disease: Use of a Western blot assay to detect antibodies against avian Borna virus. *Vet Microbiol.* 2010. július 14.;143(2):196–201.
35. Hoppes SM, Tizard I, Shivaprasad HL. Avian Bomavirus and Proventricular Dilatation Disease: Diagnostics, Pathology, Prevalence, and Control. *Veterinary Clin North Am Exot Anim Pract.* 2013. május 1.;16(2):339–55.
36. Rossi G, Dahlhausen RD, Galosi L, Orosz SE. Avian Ganglioneuritis in Clinical Practice. *Vet Clin Exot Anim Pract.* 2018. január 1.;21(1):33–67.
37. Rinder M, Ackermann A, Kempf H, Kaspers B, Korbel R, Staeheli P. Broad Tissue and Cell Tropism of Avian Bomavirus in Parrots with Proventricular Dilatation Disease. *J Virol.* 2009. június 1.;83(11):5401–7.
38. Weissenböck H, Fragner K, Nedorost N, Mostegl MM, Sekulin K, Maderner A, és mtsai. Localization of avian bomavirus RNA by in situ hybridization in tissues of psittacine birds with proventricular dilatation disease. *Vet Microbiol.* 2010. szeptember 28.;145(1):9–16.
39. Payne S, Shivaprasad HL, Mirhosseini N, Gray P, Hoppes S, Weissenböck H, és mtsai. Unusual and severe lesions of proventricular dilatation disease in cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) acting as healthy carriers of avian bomavirus (ABV) and subsequently infected with a virulent strain of ABV. *Avian Pathol J WVPA.* 2011. február;40(1):15–22.
40. Hameed SS, Guo J, Tizard I, Shivaprasad HL, Payne S. Studies on immunity and immunopathogenesis of parrot bomaviral disease in cockatiels. *Virology.* 2018. 0 1.;515:81–91.
41. Berhane Y, Smith DA, Newman S, Taylor M, Nagy É, Binnington B, és mtsai. Peripheral neuritis in psittacine birds with proventricular dilatation disease. *Avian Pathol.* 2001. október 1.;30(5):563–70.
42. Runge S, Olbert M, Herden C, Malberg S, Römer-Oberdörfer A, Staeheli P, és mtsai. Viral vector vaccines protect cockatiels from inflammatory lesions after heterologous parrot bomavirus 2 challenge infection. *Vaccine.* 2017. 23;35(4):557–63.

43. Dahlhausen RD, Orosz SE. Avian Bornaviral Ganglioneuritis in Clinical Practice. :6.
44. Ouyang N, Storts R, Tian Y, Wigle W, Villanueva I, Mirhosseini N, és mtsai. Histopathology and the detection of avian bornavirus in the nervous system of birds diagnosed with proventricular dilatation disease. *Avian Pathol.* 2009. október 1.;38(5):393–401.
45. Lierz M, Hafez HM, Honkavuori KS, Gruber AD, Olias P, Abdelwhab EM, és mtsai. Anatomical distribution of avian bornavirus in parrots, its occurrence in clinically healthy birds and ABV-antibody detection. *Avian Pathol.* 2009. 0 1.;38(6):491–6.
46. Hausmann J, Pagenstecher A, Baur K, Richter K, Rziha H-J, Staeheli P. CD8 T Cells Require Gamma Interferon To Clear Borna Disease Virus from the Brain and Prevent Immune System-Mediated Neuronal Damage. *J Virol.* 2005. november 1.;79(21):13509–18.
47. Small JC, Ertl HC. VIRUSES – FROM PATHOGENS TO VACCINE CARRIERS. *Curr Opin Virol.* 2011. október 1.;1(4):241–5.
48. Encinas-Nagel N, Enderlein D, Piepenbring A, Herden C, Heffels-Redmann U, Felipe PAN, és mtsai. Avian bornavirus in free-ranging psittacine birds, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2014. 0;20(12):2103–6.
49. Wyss F, Deb A, Watson R, Hammer S, Wibbelt G, Kretzschmar P, és mtsai. Radiographic measurements for PDD diagnosis in Spix’s macaws (*Cyanospitta spixii*) at Al Wabra Wildlife Preservation (AWWP), Qatar. In: *Proceedings of the International Conference on Diseases of Zoo and Wild Animals [Internet].* Berlin: Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research; 2009 [idézi 2019. augusztus 27.]. o. 349–54. Elérhető: <http://www.zoovet-conference.org/>
50. Pepperberg I. Cognitive and Communicative Abilities of Grey Parrots. *Curr Dir Psychol Sci - CURR DIR PSYCHOL SCI.* 2002. június 1.;11:83–7.
51. Honda T, Tomonaga K. Endogenous non-retroviral RNA virus elements evidence a novel type of antiviral immunity. *Mob Genet Elem [Internet].* 2016. március 22. [idézi 2019. szeptember 17.];6(3). Elérhető: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4964890/>
52. Hyndman TH, Shilton CM, Stenglein MD, Jr JFXW. Divergent bornaviruses from Australian carpet pythons with neurological disease date the origin of extant Bornaviridae prior to the end-Cretaceous extinction. *PLOS Pathog.* 2018. február 20.;14(2):e1006881.
53. Mocchetti I. Exogenous gangliosides, neuronal plasticity and repair, and the neurotrophins. *Cell Mol Life Sci CMLS.* 2005. október 1.;62(19):2283–94.
54. Rossi G, Crosta L, Pesaro S. Parrot proventricular dilation disease. *Vet Rec.* 2008. szeptember 6.;163(10):310–310.
55. van den Berg B, Walgaard C, Drenthen J, Fokke C, Jacobs BC, van Doorn PA. Guillain–Barré syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. *Nat Rev Neurol.* 2014. augusztus;10(8):469–82.
56. Flint SJ, Racaniello VR, Enquist LW, Skalka AM. Principles of virology, Volume 2: pathogenesis and control. *Princ Virol Vol 2 Pathog Control [Internet].* 2009 [idézi 2019. szeptember 30.];(Ed.3). Elérhető: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20093059616>
57. Homberger DG, de Silva KN. Functional Microanatomy of the Feather-Bearing Integument: Implications for the Evolution of Birds and Avian Flight. *Integr Comp Biol.* 2000. augusztus 1.;40(4):553–74.

58. Baigent SJ, Petherbridge LJ, Howes K, Smith LP, Currie RJW, Nair VK. Absolute quantitation of Marek's disease virus genome copy number in chicken feather and lymphocyte samples using real-time PCR. *J Virol Methods*. 2005. 0 1.;123(1):53–64.
59. Davidson I, Artzi N, Shkoda I, Lublin A, Loeb E, Schat KA. The contribution of feathers in the spread of chicken anemia virus. *Virus Res*. 2008. március 1.;132(1):152–9.
60. Nemeth NM, Young GR, Burkhalter KL, Brault AC, Reisen WK, Komar N. West Nile Virus Detection in Nonvascular Feathers from Avian Carcasses. *J Vet Diagn Invest*. 2009. szeptember 1.;21(5):616–22.
61. Yamamoto Y, Nakamura K, Okamatsu M, Miyazaki A, Yamada M, Mase M. Detecting Avian Influenza Virus (H5N1) in Domestic Duck Feathers. *Emerg Infect Dis*. 2008. október;14(10):1671–2.
62. Rossi G, Pesaro S. Method for the detection of proventricular dilatation disease and kit thereof [Internet]. US9081025B2, 2015 [idézi 2019. augusztus 27.]. Elérhető: <https://patents.google.com/patent/US9081025B2/en>
63. de Kloet AH, Kerski A, de Kloet SR. Diagnosis of Avian bomavirus infection in psittaciformes by serum antibody detection and reverse transcription polymerase chain reaction assay using feather calami. *J Vet Diagn Invest*. 2011. május 1.;23(3):421–9.
64. Hess M, Scope A, Heincz U. Comparative sensitivity of polymerase chain reaction diagnosis of psittacine beak and feather disease on feather samples, cloacal swabs and blood from budgerigars (*Melopsittacus undulatus*, Shaw 18005). *Avian Pathol*. 2004. október 1.;33(5):477–81.
65. Hatai H, Ochiai K, Umemura T. Detection of Avian Leukosis Virus Genome by a Nested Polymerase Chain Reaction using DNA and RNA from Dried Feather Shafts. *J Vet Diagn Invest*. 2009. július 1.;21(4):519–22.

11. Köszönetnyilvánítás

Önálló témámmal 2017 nyarától az Állatorvostudományi Egyetem Virologiai kutatócsoportjának munkájába kapcsolódtam be. Így ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, prof. dr. Bakonyi Tamásnak és társtémavezetőmnek, dr. Marosi Andrásnak a témám befogadását, a megerősítést, továbbá a munkafolyamatok összehangolása mellett kiváltképp a szakmai iránymutatást. A laboratóriumi munkát Bakonyi Győző és a Járványtani és a Virologiai Kutatócsoport felügyelete mellett végeztem. Hálásan köszönöm a türelmüket, példaértékű hozzáállásukat és azt a remek légkört, amivel megkönnyítették ennek a dolgozatnak az elkészülését. Az ambuláns ellátásra szoruló, beteg madarak mintáiért és a klinikai kérdésekben nyújtott tanácsaiért dr. Pazár Péternek, az Exo-pet Állatgyógyászati Centrum munkatársának az egyetem korábbi klinikai állatorvosának vagyok hálás. Az állatkerti mintagyűjtés a FÁNK főállatorvosának, dr. Sós Endrének, valamint dr. Hoitsy Mártonnak a közreműködése mellett zajlott. Köszönöm áldozatos munkájukat. Szeretnék sok sikert kívánni ezúton is prof. Giacomo Rossi és Livio Galosi állatorvosoknak, a Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università di Camerino (Camerinói Egyetem) oktatóinak a diagnosztikai módszereik tudományos közvéleménnyel való megismertetéséhez, illetve köszönöm nekik az együttműködést, a közös munkát. Édesanyámnak, illetve a családomnak kiemelt köszönettel tartozom a türelmükért, illetve a dolgozat szerkesztésében nyújtott segítségükért. Szívvel köszönöm Lapat Virág Krisztina biológusnak őszinte kritikáját és áldozatos segítségét. Végezetül szeretnék köszönetet mondani a statisztikai elemzés elkészítése során kapott tanácsokért Mikulecz Áron Benjáminnak és prof. dr. Reiczigel Jenő egyetemi tanárnak, valamint a biztosított mintákért és a sok-sok értékes információért Szécsi Zsoltnak és

dr. Ódor Istvánnak. „ AZ EMBERI ERŐFORRÁSOK MINISZTERIUMA ÚNKP-17-2 KÓDSZÁMÚ ÚJ NEMZETI KIVÁLÓSÁG PROGRAMJÁNAK TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT”

12. Nyilatkozat

Alulírott Tráj Patrik nyilatkozom, hogy szakdolgozatom, melynek címe „Újszerű diagnosztikai eljárások alkalmazásával nyert hazai adatok a papagáj bornavírus fertőzöttségről és a mirigyesgyomor-tágulatról” tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2019 évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2019.10.22



Tráj Patrik

KONZULENSI ELLENJEGYZÉS

Alulírott dr. Marosi András igazolom, hogy Tráj Patrik az „Újszerű diagnosztikai eljárások alkalmazásával nyert hazai adatok a papagáj bornavírus fertőzöttségről és a mirigyegyomor-tágulatról” című szakdolgozatát ismerem, azt beadásra és védeésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2019 november 22.



dr. Marosi András

Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

HuVetA

ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: Tráj Patrik

Elérhetőség (e-mail cím): patrik.traj@gmail.com

A feltöltendő mű címe: Újszerű diagnosztikai eljárások alkalmazásával nyert hazai adatok a papagáj bornavírus fertőzöttségről és a mirigyesgyomor-tágulatról

A mű megjelenési adatai: TDK 2019

Az átadott fájlok száma: 1 db

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédtett PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyeznek, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrészt mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (**egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel**):

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

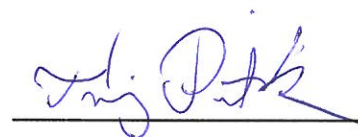
Kérjük, nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:

Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénytörtő módon visszaélné.

Budapest, 2019. november 22.



aláírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutýra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltatassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése, a nyílt hozzáférés támogatása.*