

**Szent István Egyetem**  
**Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**

**Különböző fertőző bronchitis vírustörzsek**  
**pathomechanizmusának összehasonlító vizsgálata**

PhD értekezés tézisei

Készítette:

Dr. Benyeda Zsófia

2011

Szent István Egyetem  
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

**Témavezető:**

Prof. Dr. Rusvai Miklós  
az MTA doktora, egyetemi tanár  
Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar, Kórbonctani és Igazságügyi Állatorvostani  
Tanszék

**Témabizottsági tagok:**

Dr. Bakonyi Tamás  
PhD, egyetemi docens  
Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

Dr. Glávits Róbert  
az állatorvos-tudományok kandidátusa  
Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság

Dr. Palya Vilmos  
az állatorvos-tudományok kandidátusa, igazgató  
CEVA-PHYLAXIA Oltóanyag termelő Zrt., Tudományos Támogató Igazgatóság

## **Bevezetés, célkitűzések**

A fertőző bronchitis (infectious bronchitis, IB) a csirkék heveny légzőszervi tünetekkel járó vírusos eredetű fertőző betegsége. A fertőzés a külföldi és hazai nagyüzemi állományokban napjainkra általánossá vált, és a megbetegedésekből, elhullásokból, valamint a közvetett kiesésekből eredő gazdasági kár komoly terhet jelent a baromfi-ágazat számára.

A betegség az 1930-as években jelent meg Észak-Dakotában (USA), fiatal csirkékben. A későbbiekben mind az érintett állatok kora, mind pedig a klinikai megjelenés köre bővült. Napos- jérce- és tojókorú állományok is megbetegedtek, és a légutakat érintő tünetek mellett jelentős tojástermelés csökkenés is jelentkezett. A vesekárosító törzseket az 1960-as években észlelték először, majd később, az emésztőcsatorna különböző részeit is érintő járványokról számoltak be.

A betegség eredetének tisztázása után nagy előrelépést jelentett az a felismerés, hogy a járványok és a különböző kórképek háttérében egyazon vírus, többféle patho- illetve szerotípusa állhat. Mára világszerte több mint 65 szerotípust tartanak nyilván, de a valóságban ez a szám jóval nagyobb lehet. A szerotípusok előfordulása földrajzi területenként különbözik, és a megbetegítő képességük, valamint a kiváltott klinikai tünetek is nagy eltérést mutathatnak. Ez jelentősen megnehezíti, mind a betegség diagnosztikáját, mind pedig az ellene való védekezés megvalósítását.

Az elsőként azonosított, és a világon máig is a legelterjedtebb a Massachusetts (Mass) szerotípus. Ausztráliát kivéve, ahol az IBV (IB vírus) evolúciója a világ többi részétől függetlenül fejlődött, minden nagyüzemi baromfitartó országban jelen van (Ignjatovic és mtsai., 2006). Igen széleskörű elterjedtsége részben a különböző Mass törzs tartalmú vakcinák általános használatának köszönhető. E szerotípus számtalan ismert törzse igen nagy eltérést mutat a virulenciát és szövetaffinitást tekintve. A törzsek többsége csak légzőszervi tüneteket okoz, de több esetben leírtak vele kapcsolatban vesekárosodást és „áltozó-szindróma” kialakulását is.

Európában a másik legelterjedtebb fertőző bronchitis vírustörzs a 793/B vagy 4/91 szerotípus, amelyet 1992-ben izoláltak először Angliában. Feltehetően 1991-ben jelenhetett meg, és a szokványos IB tünetek mellett tojóállományokban a mély mellizmok elhalásával hozták összefüggésbe. Később kiderült, hogy ugyanez a szerotípus Franciaországban már évek óta jelen volt, és a legkorábbi törzsét (CR88) 1985-ben izolálták Picault és munkatársai. Gyors terjedése miatt Európában hamarosan bekerült a vakcinatörzsek repertoárjába, ami az előfordulási gyakoriságát a Mass szerotípushoz hasonlóvá tette.

A QX szerotípusba tartozó törzs Európában, 2004-ben jelent meg egy hollandiai tojóállományban. A szerotípus eredetileg Kínából származik, ahol mirigygyomor-gyulladás, vagy vesekárosodással kísért járványokban okozott jelentős elhullásokat. A

kínai tapasztalatokhoz hasonlóan, az új szerotípus Európában is gyorsan terjedt, és törzsei sorra bukkantak fel a nyugat-európai országok többségében. A veszteségek mind Kínában, mind Európában jelentősek voltak, mert a nagy antigenitásbeli különbség miatt a QX törzsek képesek voltak áttörni a hagyományos vakcinák által biztosított védelmet. Az európai járványokban a kifejezett légzőszervi tünetek mellett elsősorban vesekárosodásról, illetve a tojóállományokban „áltojó-szindróma” kialakulásáról számoltak be.

Hazánkban 2006-ban izolálták először a QX szerotípus törzseit. A megbetegedések főként brojler állományokat érintettek, ahol kifejezett vesekárosodást okoztak. A fiatal korban fertőzött tojóállományok egyedei, pedig irreverzibilis tojócső károsodást szenvedtek el. Az izolátumok a genetikai vizsgálat alapján 98%-os hasonlóságot mutattak az elsőként Kínában izolált QX törzssel.

A QX szerotípus kontinenseket átívelő gyors terjedése és az eddig ismert IB törzsekhez képest erős pathogén hatása miatt indokoltnak találtuk törzseinek részletesebb vizsgálatát és összehasonlítását a két legelterjedtebb IB szerotípus egy-egy referencia törzsével.

Munkánk során öt klinikai esetből származó mintából izoláltunk QX szerotípusú törzset. Az öt különböző országból származó izolátum, és összehasonlításként a már részleteiben tanulmányozott Mass és 4/91 referencia törzsek viselkedését napos korú SPF csirkék kísérletes fertőzésével tanulmányoztuk. A fertőzést követően figyelemmel kísértük a klinikai tüneteket és több szervre kiterjedően vizsgáltuk a pathomorfológiai elváltozásokat. A vírus antigénjének és nukleinsavának kimutatásával, illetve az utóbbi mennyiségének meghatározásával nyomon követtük a vírustörzsek szervszintű lokalizációját és szaporodásának dinamikáját. A publikált esetek alapján, a QX szerotípus által leggyakrabban károsított szerveken kívül vizsgáltuk még a tüdőre, a vékonybélre, a petefészekre és a herére gyakorolt esetleges károsító hatást is. A három szerotípus esetleges herekárosító potenciáját ivarérett kakasok fertőzését követően is vizsgáltuk. Az izolátumok antigénhatásáról a humorális ellenanyagok mérésén keresztül tájékozódunk.

Az eredmények összegzésével és összehasonlításával megkíséreltük meghatározni és összehasonlítani az egyes izolátumok, illetve a három szerotípus virulenciáját és pontos szervtropizmusát, valamint a három szerotípus közötti és a QX szerotípuson belüli különbségeket. Ezenkívül, elsősorban a QX törzsek tekintetében, tisztázni szeretnénk volna azok valós mirigygyomor- vese- és tojócsőkárosító hatását. A herék vizsgálatával az IBV törzseknek a kakasok terméketlenségében betöltött szerepéről szeretnénk volna tájékozódni.

## **Anyag és módszer**

### **A vizsgálatban felhasznált vírustörzsek**

A vizsgálat során Kína, Franciaország, Szlovákia, Görögország és Magyarország területén lezajlott, egy-egy klinikai esetből származó mintát használtunk fel. A minták a 2005. és 2006. években észlelt, IBV-re jellemző tünetekkel kísért járványkitörésekből érkeztek.

A mintákból embrionált tyúktojásba oltva izoláltuk a vadvírus törzseket, majd az azonosításukat RT-PCR-t (reverse transcription-polymerase chain reaction) követő szekvenálással végeztük el. A kapott szekvenciákat azonosítottuk, majd a génbanki szekvenciákkal összehasonlításban filogenetikai vizsgálatot végeztünk.

### **Állatfertőzési vizsgálat I**

#### *A fertőző inokulum előállítása*

Miután meggyőződünk róla, hogy mind az öt izolált vírustörzs a QX szerotípusba tartozik, állatfertőzési vizsgálatokat végeztünk, az M41 és 793/B szerotípus egy-egy referenciatörzsével összehasonlításban.

A fertőző inokulum előállításakor a vírusizolálás során nyert allantoisz folyadékot használtuk fel. Mind az öt minta esetén az elváltozást mutató embriók allantoisz folyadékát egységesítettük, majd mintánként embrionált tyúktojásban három lépéses véghígítási tisztítást végeztünk. Ezután RT-PCR-t követő szekvenálással ellenőriztük a megfelelő vírustörzs jelenlétét. A tisztítással nyert fertőző inokulumokkal ezután steril próbát, haemagglutinációs-, és mycoplasma kimutatására irányuló tesztet, valamint PCR vizsgálatot végeztünk a főbb baromfi pathogén ágensek jelenlétének kizárása céljából. Végül a fertőzésre szánt allantoisz folyadékot titráltuk és szükség esetén hígítottuk a fertőző dózis titerének pontos beállítása érdekében. A Mass és 4/91 szerotípusok 1-1 referenciatörzse a weybridge-i laboratóriumból származott (Veterinary Laboratories Agency, Avian Virology Department, Weybridge, UK).

#### *Kísérleti elrendezés*

A kísérletben 8 csoportot alakítottunk ki. Az első 4 csoportba 50-50 jércét osztottunk szét és a kínai, francia, szlovák és görög izolátumokkal fertőztük azokat. Az 5., 6. és 7. csoportokban az 50 jérce mellett 50-50 kakas is fertőzésre került a magyar izolátummal, valamint az M41 és a 793/B referenciatörzsekkel. A negatív kontrol csoportot 20 jérce és 10 kakas alkotta. A fertőzés során a napos korú állatok kötőhártyaszájába és orrnyílásába 40 µl 5,7 log<sub>10</sub> EID<sub>50</sub> titerű vírusszuspenziót cseppentettünk. A fertőzést követően 42 napon át követtük a klinikai tüneteket és kórbonctani elváltozásokat és csoportonként, valamint ivaronként összesen 8 alkalommal (a fertőzést követő 4., 7., 11., 14., 21., 28., 35., és 42. napokon) mintát vettünk különböző vizsgálatok céljára. Mintaként azon szerveket/szervrészeket távolítottuk el, ahol vírusszaporodást, illetve következetes szövetkárosítást vártunk.

### *Mintavétel*

A mintavételek alkalmával először minden állatból vért vettünk, majd kórbonctani vizsgálatot végeztünk. Az elváltozások regisztrálását követően, a következő szerveket mintáztuk: légcső, tüdő, vékonybél, vakbélbejárat nyiroktüszők, vese, petefészek, tojócső és here (csak a magyar QX és az M41, 793/B vírustörzsekkel fertőzött és a kontroll csoportok esetén). A mirigygyomor és vékonybél mintákat a fertőzést követő 4. és 21. napok között gyűjtöttük, mivel az addig feldolgozott minták eredménye nem indokolta a további mintavételt. A vakbélbejárat nyiroktüszőket csak RRT-PCR-el (Real-Time RT-PCR) való feldolgozás céljából mintáztuk.

### *A fertőző törzsek visszaizolálása*

A fertőzést követő 4. napon eltávolított légcsőmintákból vírusizolálással és RT-PCR-t követő szekvenálással mutattuk ki és azonosítottuk a fertőző törzseket.

### *Csillóaktivitási teszt*

A fertőzést követő 4., 7., 11. és 14. napokon az állatok elvéreztetése után a légcsövet tápfolyadékot tartalmazó Wasserman csőbe helyeztük. Ezután a légcső alsó és felső szakaszából 3-3, a középsőből 4, lehetőleg 1 légcsőporcot magába foglaló karika metszetet készítettünk. A gyűrűket 96 lyukú lemez 1-1 mélyedésébe, tápfolyadékba helyeztük, sztereomikroszkóp alatt vizsgáltuk és pontoztuk a légcsőhámsejtek csillómozgásának károsodását.

### *Ellenanyagválasz*

Az IBV indukálta humorális immunválasz mértékét indirekt ELISA módszerrel mértük. A fertőzést követő 4., 14., 21. és 42. napokon vett vérminták savóit vizsgáltuk. A reakcióban használt antigént M41 törzssel oltott embrionált tyúktojás allantoisz folyadékából tisztítottuk. A kalibráció egy 9,3-as vírusneutralizációs (VN) titerű savóból készült 7 tagú, kétszerező hígítási sor, valamint egy negatív (SPF) savó volt. A vizsgált mintát  $\geq 3 \log_2$  VN titer esetén tekintettük pozitívnak.

### *Real-Time RT-PCR (RRT-PCR)*

A vizsgált szervekben, a különböző mintavételi időpontok egy részében, a vírusrészecskék meghatározására és összehasonlítására RRT-PCR vizsgálatot végeztünk. A szervminták homogenizálását követően a csoportonként, szervenként és mintavételenként egységesített homogenizátumból kivontuk az RNS-t és DNS másolatot (cDNS) készítettünk.

A vírusnukleinsav kvantitatív meghatározására TaqMan® próba alapú, csoportspecifikus, valós idejű PCR-t alkalmaztunk. A primerek, valamint a próba egyaránt az M41 törzs 5'-nem kódoló régiójához lettek tervezve. A kvantitatív analízis standard görbéjének

megrajzolásához tízszeres hígítási sorozatú ( $10^{-1}$ – $10^{-7}$ ), ismert titerű ( $10^{7,26}$ EID<sub>50</sub>/0,2 ml) 4/91 törzs cDNS pozitív kontrollt használtunk.

#### *Kórszövettani vizsgálatok*

A kórbonctani vizsgálat során eltávolított szövetmintákat 1 napig 10%-os pufferolt formaldehid oldatban fixáltuk, paraffin blokkokba ágyztuk, 4 µm-es metszeteket készítettünk, végül hematoxylin-eosinnal festettük. A metszeteket fénymikroszkóp alatt vizsgáltuk és az IBV fertőzésre jellemző elváltozásokat 0 és 3 között pontoztuk.

#### *Immunhisztokémiai vizsgálatok (IHC)*

Immunhisztokémiai festést a fertőzést követő 4., 7., 11., 14. napokon végeztünk, amikor még feltételeztük a vírusantigén jelenlétét. Az IBV antigén kimutatásához a DAKO EnVision+ System-HRP AEC kisset használtuk. Elsődleges antitestként egérben termeltetett IBV nukleokapszid fehérje elleni monoklonális ellenanyag szolgált.

#### **Állatfertőzési vizsgálat II**

Az IB vírus esetleges terméketlenséget növelő hatásának vizsgálata céljából a naposkori fertőzést követő időszak here mintavételén túl, ivarérett korú kakasokat is fertőztünk. A vizsgálatot a kakasok IBV negatív státuszának ellenőrzését követően egyszerűsített és rövidített formában végeztük el. Ez esetben is a magyar QX izolátummal, az M41 és a 793/B törzsekkel fertőztünk, majd a fertőzést követően 14 napon át követtük a klinikai tüneteket és a kórbonctani elváltozásokat és összesen 4 alkalommal vettünk mintát. A mintavételek a légcső, vese és a here kórszövettani és RRT-PCR célú feldolgozása és a vérben a humorális ellenanyag mérése céljából történtek.

Az egyes csoportok mindkét vizsgálat során egymástól jól szeparált egységekben, elkülönített gondozás mellett kerültek elhelyezésre. Az állatokat mélyalmon tartottuk, az ivóvíz és a takarmány *ad libitum* állt rendelkezésre.

A klinikai megfigyelés, a mintavételek és a minták feldolgozása során minden esetben úgy jártunk el, hogy minimálisra csökkenjen a csoportok közti keresztfertőzés és a kontamináció lehetősége.

## Eredmények

### A vizsgálatban felhasznált vírustörzsek

Az izolálás során 2-3 vakpasszázst követően kialakultak az IBV specifikus embrió-elváltozások, és az RT-PCR alapján mind az öt klinikai esetből származó minta IBV-nek bizonyult. Az S1 gén részleges szekvenenciaanalízise szerint, a francia, szlovák, görög és magyar izolátumok 99%-ban, a kínai pedig 96%-ban azonos volt az eredeti QX törzssel. A két referens törzs esetén ugyanez a hasonlóság 79 (M41) és 82%-os (793/B) volt. A filogenetikai törzsfá vizsgálata alapján, mind az öt klinikai esetből származó izolátum egyértelműen a QX szerotípus csoportjába sorolható vírustörzsnek bizonyult.

### Állatfertőzési vizsgálat I

#### *Légzőszervi forma*

A légzőszervi tünetek a fertőzést követően a 3-8. napok között jelentkeztek. Ehhez kapcsolódóan a légcső kipiroltsága, savós-hurutos gyulladása a 4-11. mintavételi napok között volt látható. A csillóaktivitási teszt eredménye alapján a 4. és 7. napon jelentkezett a legerőteljesebb csillóshám károsodás, de a 14. napra teljes regeneráció következett be. A legkifejezettebb cílium destrukciót az M41, a legenyhébbet a 793/B törzs idézte elő.

A kórszöveti elváltozások 3 fázisban követték egymást. A légcsőnyálkahártya degenerációját, a gyulladós sejtek kifejezett proliferációja követte, végül az utolsó szakaszban megindultak a hámréteg regenerációjára utaló folyamatok. Az elváltozások lefutása megegyezett a csillóaktivitási teszt során látottakkal, de a regeneráció itt csak a 21. napra teljeseedett be. A 4. napon az M41, majd a következő mintavételek alkalmával a QX izolátumok idézték elő a legsúlyosabb elváltozásokat. A vírusantigén jelenlétét a görög izolátummal fertőzöttet kivéve, minden csoport mintáiban ki tudtuk mutatni a fertőzést követő 4. és 7. napon, a nyálkahártya hámsejtek és esetenként a gyulladós sejtek citoplazmájában. Az RRT-PCR módszerrel a 793/B törzs jelenlétét csak a 4. napon tudtuk kimutatni, ezzel szemben az M41 törzs a 11. napig fokozatosan csökkenő koncentrációban volt jelen, míg a QX izolátumok elhúzódóbb kiürülést mutattak.

A tüdőben specifikus kórbonctani elváltozást nem láttunk, azonban a 11-21. napok között a légzsákokban savós, savós-fibrines gyulladás alakult ki. Kórszövettanilag az elsődleges és másodlagos bronchusokban a légcsőben leírtakhoz hasonló, de enyhébb elváltozások alakultak ki. A parabronchiálisan megfigyelt kisebb-nagyobb kiterjedésű lympho-histocytá sejtbeszűrődés nem minden esetben különíthető el a fiziológiásan is előforduló lymphoid szövetből, így a leletek önmagukban nehezen értékelhetők. Az IHC vizsgálat a 4. és 7. napon a francia, kínai és magyar QX izolátumok esetén igazolta a vírusantigén jelenlétét a bronchusok nyálkahártya hámsejtjeiben. A 793/B törzs RNS-ét a tüdőben nem sikerült



kimutatnunk, a másik két szerotípus tekintetében a légcsőben mérthez hasonlóan alakult a fertőző törzsek mennyisége és kiürülése.

#### *Enterális forma*

Az enterális forma kialakulását a mirigyegyomor, a vékonybél és a vakbélbejárat nyiroktüszők vizsgálata alapján próbáltuk megítélni.

A mirigyegyomor mintáinak vizsgálata minden esetben negatív eredménnyel zárult, egyedül egy mintában kimutatott antigén jelenléte utalt a francia izolátum lehetséges megtelepedésére.

A vékonybél nyálkahártyájában gyulladással járó sejtes beszűrődést figyeltünk meg, az elváltozás azonban csak csoportonként néhány mintára korlátozódóan jelentkezett. Az IHC festés ez esetben is csak egyetlen, egy kínai izolátummal fertőzött egyed mintája esetén adott pozitív reakciót. Az RRT-PCR-rel a két referens törzs jelenlétét 1-1 alkalommal, kisebb mennyiségben lehetett kimutatni, ezzel szemben a QX izolátumok hosszabb perzisztálást mutattak és a közepes mennyiségben mérhető RNS koncentrációjuk csak a 21. npra csökkent.

A vakbélbejárat nyiroktüszőkben a QX szerotípus izolátumai az összes vizsgált szerv közül a legnagyobb mennyiségben voltak jelen a 28. napig. Az összehasonlító törzsek ezzel szemben csak kisebb mennyiségben és rövid ideig voltak kimutathatók.

#### *Vesekárosodással járó forma*

A fertőzést követő 14. naptól a kínai, francia, szlovák és magyar QX izolátumokkal fertőzött csoportokban a vesék duzzanata és fakósága volt látható, amelyet esetenként húgysavlerakódás is kísért. A kórképhez csatlakozó mikroszkópos elváltozások már a 4. naptól nyilvánvalóak voltak. Leggyakrabban a vese interstitiumában alakult ki gyulladással járó sejtes beszűrődés, ami sok esetben a tubulushámsejtek károsodásával járt. A lymphohistiocytás sejtek, ezenkívül az elvezető húgyutak és az ureterek nyálkahártyájában is megjelentek. A kórszövettani pontértékek alapján az elváltozások túlnyomórészt a QX izolátumokkal fertőzött csoportokat érintették a kísérlet teljes ideje alatt. Az IHC vizsgálattal csak a makroszkóposan is érintett csoportok mintáiban tudtuk kimutatni a vírusantigén jelenlétét. Pozitivitás a 4. és 14. napok között a tubulus hámsejtek és az elvezető húgyutak nyálkahártya hámsejtjeiben jelentkezett. Az RRT-PCR eredménye megfelelt a morfológiai vizsgálattal látottaknak, ugyanis a 793/B törzs RNS-ét csak nyomokban, az M41-ét egyszeri nagyobb mennyiségben tudtuk mérni, míg a QX izolátumok a vizsgálat teljes ideje alatt, nagyobb mennyiségben perzisztáltak.

#### *Ivarszervi forma*

A petefészekben kórszövettani elváltozások csak enyhe formában, csoportonként néhány mintában alakultak ki. Az interstitiumban megfigyelt gyulladással járó beszűrődés mellett, a

szlovák izolátummal és a 793/B törzssel fertőzött csoportok mintáiban a primer tüszők elmeszesedése volt látható. A fertőző törzsek RNS-ét a többi vizsgált szervhez képest alacsonyabb titerben mértük, kivéve a szlovák izolátumot, amely kifejezetten magas koncentrációban volt kimutatható.

A tojócsőben mind az öt QX izolátum irreverzibilis károsodást idézett elő, amely tojókorbán az „áltojó-szindróma” kialakulásához vezetne. A szerv falának kifejezett tágulata és üregében a savószerű folyadék felhalmozódása a 14. naptól volt látható. Ehhez kapcsolódóan a kórszövetteni vizsgálat során a 11. naptól észleltünk eltéréseket a szerv falában, azonban a megfigyelt elváltozások inkább következményei, mintsem okai voltak a makroszkóposan látott képnek. A nyálkahártyaredők ellapulása mellett, a fal változó mértékű elvékonyodása, esetenként gyulladással gócos kialakulása volt látható a nyálkahártyában, vagy a savóshártya alatt. A QX izolátumok jelenlétét RRT-PCR-rel csak igen kis mennyiségben, a referens törzsekét pedig nem tudtuk kimutatni.

A herében mindhárom fertőzött csoport esetén kisszámú mintában alakult ki gyulladással sejtes beszűrődés az interstitiumban, vagy a mellékhere csatornácskák között. Ennek ellenére a magyar QX izolátum mintáiban nagy mennyiségben sikerült kimutatni a vírus RNS-t a fertőzést követő 21. napig. Az M41 és 793/B törzsek jelenléte csak egy-egy alkalommal kisebb mennyiségben volt mérhető.

Az IHC vizsgálat egyik ivarszerv esetén sem adott pozitív eredményt.

#### *Ellenanyagválasz*

A naposkori fertőzést követően a 14. naptól jelentkeztek a vadvírus fertőzésre jellemző titerek, de teljes áthangolódást csak a 21. naptól mértünk.

#### **Állatfertőzési vizsgálat II**

Az ivarérett kakasokban megismételt vizsgálat során mindhárom vizsgált szervben enyhébb elváltozásokat és alacsonyabb vírusedmennyiségeket észleltünk. Ez különösen a légcsőminták feldolgozásakor volt szembetűnő. A vesében a gyulladás csak kórszövettanilag jelentkezett és az RT-PCR a magyar QX izolátum számottevő jelenlétét igazolta. A here vizsgálata során a naposkori fertőzést követően megfigyelt elváltozásokon túl, a spermiumképződés károsodására, vagy kőképződésre utaló jelenségeket nem figyeltünk meg. A vérben kimutatott humorális immunválasz mértéke, a kakasok immunérettsége folytán, már a 7. napon homogén áthangolódást jelzett.

## Megvitatás

Az eredményeket összefoglalva minden vizsgált kórformában a QX szerotípus izolátumainak károsító hatása volt a legerőteljesebb. Igaz a légzőszervekben, különösen a légcsőben, az M41 törzs közel azonos hatást váltott ki, ugyanakkor a 793/B jóval enyhébb eredményeket adott. A QX izolátumok közül a kínai bizonyult a leginkább, a görög a legkevésbé pathogénnek ezekben a szervekben.

A vizsgálat során egyik szerotípus esetén sem igazolódott be a klinikailag is manifesztálódó enterális kórforma kialakulása, annak ellenére, hogy a bél középső és alsóbb szakaszában, nagy mennyiségben kimutattuk a QX szerotípus törzseinek, különösen a görög izolátumnak RNS-ét. Tünetekkel is járó elváltozások feltehetően csak bizonyos fakultatív pathogén kórokozók együttes jelenléte esetén alakulnak ki.

Kifejezett vesekárosító potenciál a QX szerotípus törzsei esetén jelentkezett, ami a szlovák izolátum mintáiban alakult ki a legszembetűnőbb formában. Az M41 törzset ugyan kimutattuk a vesében, számottevő kórtani hatása mégsem mutatkozott, annak ellenére, hogy a Mass szerotípus számos törzsét nephropathogénnek tartják. Valószínűleg arról lehet szó, hogy bizonyos törzsek csak meghatározott körülmények között fejtenek ki kórtani hatást.

A petefészekben nem tudtuk egyértelműen bizonyítani a vizsgált vírusok közvetlen károsító hatását, bár elképzelhető, hogy a vírusfertőzés során itt is kialakul egy más betegségek esetén is jelentkező, elváltozásokkal nem járó neuro-hormonális mechanizmus, amelynek hatására csökken a petefészek működése és a tüszőérés intenzitása.

A tojócsőben mind az öt QX izolátum, leggyakrabban a kínai hatására alakultak ki az „áltojósziindrómához” vezető maradandó elváltozások. A kórszövettanilag megfigyelt jelenségek azonban nem voltak informatívak a kórkép kialakulásának pathomechanizmusával kapcsolatban és a vírus jelenlétét sem sikerült megnyugtató módon kimutatnunk a szervből. Mindezek alapján arra következtettünk, hogy a vírusátvitel talán nem is a tojócső falában, hanem sokkal inkább a bél végső szakaszán érvényesül, ahol egy fertőzés okozta gyulladással korlátozhatja a Müller-vezeték coprodeumba való szájadzását, ezáltal a tojócső üregének a megnyílását. Ez fiziológiásan a posztembrionális élet első hetében következik be, ami magyarázatot adna arra a gyakorlati megfigyelésre, miszerint a kórkép csak igen korai fertőzés esetén manifesztálódik, valamint, hogy a szűkület miatt mindig a szerv végső szakaszán jelentkezik.

A herében a más szerzők által leírt termékenység csökkenésre utaló elváltozásokat nem figyeltünk meg. Bár a magyar QX izolátum jelenlétét a herékben mindkét korcsoport esetén nagyobb mennyiségben tudtuk kimutatni, ami elképzelhető, hogy hosszú távon, az általunk megfigyelnél súlyosabb következményekkel járhat.

## Új tudományos eredmények

1. Fertőző bronchitis okozta esetekből, különböző országokból gyűjtött mintákból izoláltunk öt, a közelmúltban megjelent QX törzset.
2. Mind az öt vizsgált fertőző bronchitis vírus izolátum esetében bizonyítottuk azok szoros rokonságát a Kínában izolált QX törzssel, és elsőként határoztuk meg azok részleges S1 gén szekvenciáját.
3. Elsőként számoltunk be a QX szerotípus Szlovákiában és Görögországban való megjelenéséről.
4. Elsőként végeztünk el a QX szerotípus pathomechanizmusát elemző vizsgálatot és annak összehasonlítását a két legelterjedtebb európai (Massachusetts és 4/91) szerotípussal.
5. Napos korú csibék kísérletes fertőzését követően leírtuk a három vizsgált szerotípus által előidézett tüneteket, kórbonctani és kórszövettani elváltozásokat.
6. A kiválasztott szervekben kórszövettani, immunhisztokémiai és molekuláris biológiai módszerekkel összehasonlítottuk az egyes törzsek hatására kialakuló elváltozások súlyosságát, a vírusantigén jelenlétét és a vírusrészecskék mennyiségét.
7. A három szerotípus között és a szerotípuson belül, az öt QX izolátumot tekintve, jól érzékelhető eltéréseket figyeltünk meg. Legnagyobb pathogenitással és legszélesebb szöveti affinitással a QX szerotípus, azon belül a kínai izolátum jellemezhető.
8. A QX izolátumok kifejezett légzőszervi és vesekárosító hatása mellett, ezen szerotípus esetén elsőként írtuk le a kísérletes fertőzést követően a tojócsőkárosodás kialakulását. Emellett megállapítottuk, hogy a vírus legnagyobb mennyiségben a vakbélbejárat nyiroktüszőkben volt kimutatható.
9. Az eredmények alapján az általunk vizsgált 793/B törzs kizárólag, az M41 pedig elsősorban légzőszervi típusnak bizonyult.
10. A vizsgált törzsek tekintetében kizártuk azok mirigyegyomor-gyulladást előidéző hatását.
11. Új magyarázatot adtunk az „áltozó-szindróma” kialakulásának pathomechanizmusára.
12. Kísérletes fertőzést követően elsőként bizonyítottuk az IBV megjelenését a herékben, mind naposkorú, mind ivarérett kakasok esetén.

## **Köszönetnyilvánítás**

Szeretnék köszönetet mondani Prof. Rusvai Miklósnak a tudományos munkám anyagi és infrastrukturális feltételeinek biztosításában, a kutatás menetének irányításában, a kapott eredmények értékelésében és a publikációim kéziratának lektorálásában nyújtott segítségéért.

Köszönettel tartozom Dr. Palya Vilmosnak, témabizottságom tagjának, hogy rám bízta a tudományos munkám gerincét képező kutatási témát, hogy biztosította a vizsgálattal járó infrastrukturális és szakmai háttérrel, valamint hogy folyamatos iránymutatásával segítette az eredmények értékelését és publikációim kéziratának javítását.

Köszönöm Dr. Glávits Róbertnek, témabizottságom tagjának, hogy páratlan kórszövettani ismereteivel hozzájárult a vizsgálat során keletkezett minták szövettani értékeléséhez, valamint, hogy segítséget nyújtott publikációim kéziratának javításában.

Köszönöm Dr. Bakonyi Tamásnak, témabizottságom tagjának, segített a munkához nélkülözhetetlen módszerek elsajátításában és az eredmények értékelésében.

Köszönettel tartozom a CEVA-PHYLAXIA Oltóanyagtermelő Zrt. akkori Virologiai Fejlesztés osztályán dolgozó Kardi Veronikának, Fodor Editnek, Varga Máriának, Katonáné Lénárd Magdolnának, Bratu Hajnalkának és Mató Tamásnak a kísérlet során végzett mintavételek, a minták feldolgozása és a módszerek betanulása során nyújtott önzetlen segítségéért. Külön köszönöm Mató Tamásnak a molekuláris biológiai módszerek és azok elméleti háttérének megismertetésében, valamint kivitelezésében nyújtott segítségét és hasznos iránymutatásait.

Dr. Süveges Tibornak köszönöm a kórszövettani leletek értékelésében nyújtott segítséget. Továbbá köszönettel tartozom Dr Szeredi Leventének és Ráczné Mészáros Ágnesnek az immunhisztokémiai vizsgálatok elvégzésében és kiértékelésében nyújtott segítségükért, valamint Popp Renátának a kórszövettani metszetek elkészítésében nyújtott alapos munkájáért.

Köszönettel tartozom a PROPHYL Kft-nek és az állatkísérleti munkában résztvevő munkatársainak, hogy biztosították az anyagi, személyi és infrastrukturális feltételeket a dolgozat kísérletes szakaszának elvégzéséhez.

Külön köszönöm továbbá volt kollégáimnak, Dr. Balka Gyulának, Dr. Baska Ferencnek, Dr. Demeter Zoltánnak, Dr. Dobos-Kovács Mihálynak, Dr. Gál Jánosnak, Dr. Jakab Csabának, Dr. Mándoki Mírának és Dr. Palade Elena Alinának, hogy együttműködésükkel és szakmai támogatásukkal hozzájárultak a dolgozatom elkészüléséhez.

Végül köszönöm családomnak és barátaimnak, hogy állandó támogatásukkal lehetővé tették számomra hogy minél több időt és energiát fordíthassak kutatásaimra.