

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

**Egyes enterális baromfibetegségek (ludak spirochaetosisa,
pulykapipék PEC/PEMS kórképei) kórtani, oktani,
járványtani és kísérleti vizsgálata**

PhD értekezés

Dr. Nemes Csaba

2010

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....
Dr. Glávits Róbert, kandidátus
MGSZH ÁDI Budapest
témavezető

Dr. Tekes Lajos, kandidátus
MGSZH ÁDI Budapest
témabizottság tagja

Dr. Kaszanyitzky Éva, PhD
MGSZH ÁDI Budapest
témabizottság tagja

Készült 8 példányban. Ez a sz. példány.

.....
Dr. Nemes Csaba

Tartalomjegyzék

Rövidítések	5
1. Összefoglalás.....	7
2. Bevezetés	10
3. Irodalmi áttekintés	13
3.1. Kispulykák enterális kórképei.....	13
3.1.1. A kórokozók általános jellemzése.....	14
3.1.1.1. Pulyka coronavirus	14
3.1.1.2. Pulyka astrovírusok	16
3.1.1.3. Madár rotavírusok.....	18
3.1.2. Kórképek (klinikum, kórtan).....	19
3.1.2.1. Pulyka-coronavirus okozta megbetegedés	19
3.1.2.2. Pulyka-astrovírusok okozta megbetegedés.....	20
3.1.2.3. Madár-rotavírusok okozta megbetegedés.....	21
3.1.3. Kórfejlődés	21
3.1.3.1. A pulyka-coronavirus okozta fertőzés kórfejlődése	21
3.1.3.2. A pulyka-astrovírusok okozta fertőzés kórfejlődése	22
3.1.3.3. A madár-rotavírusok okozta fertőzés kórfejlődése.....	23
3.1.4. Immunitás	23
3.1.5. Diagnózis	25
3.1.6. Védekezés	25
3.2. Madarak intestinalis spirochaetosisa (AIS).....	27
3.2.1. Kórokozó.....	27
3.2.2. Kórkép (klinikum kórtan).....	27
3.2.3. Kórfejlődés	28
3.2.4. Diagnózis	29
3.2.5. Védekezés	30
4. Anyag és módszer.....	31
4.1. Kispulykák enterális kórképei.....	31
4.1.1. Vizsgálati minták	31
4.1.2. Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok	33
4.1.3. Bakteriológiai vizsgálatok	33
4.1.3.1. Biokémiai vizsgálatok	34
4.1.3.2. Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok.....	34
4.1.4. Parazitológiai vizsgálatok	34
4.1.5. Molekuláris diagnosztikai vizsgálatok	34
4.2. Ludak intestinalis spirochaetosisa (AIS).....	37
4.2.1. Vizsgálati minták	37
4.2.2. Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok	37
4.2.3. Immunhisztokémiai vizsgálatok	37
4.2.4. Bakteriológiai vizsgálatok	38
4.2.4.1. Biokémiai vizsgálatok	38
4.2.4.2. Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok.....	39
4.2.5. Kísérleti állatfertőzés	39
5. Eredmények	40

5.1. Kispulykák enterális kórképe.....	40
5.1.1. A TCoV-val fertőzött állományok vizsgálati eredményei	40
5.1.2. A TAstV-1, TAstV-2 és/vagy ARoV fertőzöttnek talált állományok vizsgálati eredményei	46
5.2. Ludak intestinalis spirochaetosisa.....	55
5.2.1. Ludak intestinalis spirochaetosisa (természetes esetek)	55
5.2.2. Ludak intestinalis spirochaetosisa (kísérleti állatfertőzés).....	62
6. Megbeszélés	65
6.1. Kispulykák enterális kórképei.....	65
6.1.1. A TCoV-val fertőzött állományok eredményeinek megbeszélése	66
6.1.2. A TAstV-1, TAstV-2 és ARoV fertőzöttnek talált állományok eredményeinek megbeszélése	68
6.1.3. A vizsgálatokból levont általános következtetések.....	70
6.2. A ludak intestinalis spirochaetosisa.....	72
6.2.1. A ludak intestinalis spirochaetosisa (természetes esetek)	72
6.2.2. Ludak intestinalis spirochaetosisa (kísérleti fertőzés)	74
7. Új tudományos eredmények	75
7.1. Kispulykák enterális kórképe.....	75
7.2. Ludak intestinalis spirochaetosisa.....	75
8. Irodalom	76
9. Publikációk	92
9.1. A kutatási témában megjelent szócikkek.....	92
9.2. A kutatási témában tartott előadások	93
9.3. Egyéb publikációk és előadások	93
10. Köszönetnyilvánítás.....	96

Rövidítések

AIS (avian intestinalis spirochaetosis)	madarak intestinalis spirochaetosisa
ANV (avian nephritis virus)	madarak vesegyulladásának vírusa
ARoV (avian rotavirus)	madár rotavirus
bp	bázispár
CAstV (chicken astrovirus)	csirke astrovírus
CD (cluster of differentiation)	differenciálódási marker
cDNS	komplementer DNS
CFU (colony forming unit)	telepképző egység
DEPC	dietil-pirokarbonát
DNS	dezoxiribonukleinsav
dNTP	dezoxiribonukleotid trifoszfát
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
EM	elektronmikroszkóp
FITC	fluoreszcein-izotiocianát
H.- E.	haematoxilin-eozin
HEV (haemorrhagic enteritis virus)	pulykák vérzéses bélgyulladásának vírusa
IBV (infectious bronchitis virus)	fertőző bronchitis vírus
IEM	immun elektronmikroszkóp
Ig	immunglobulin
IHC	immunhisztokémia
ISH	in-situ hibridizáció
kb	kilobázis
MGSZH ÁDI	Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság
MLEE (Multilocus enzyme electrophoresis)	multilókusz enzim elektroforézis
NADH	redukált nikotinamid adenin dinukleotid
NO	nitrogén oxid
NOS	nitrogén oxid szintetáz
Nox	NADH oxidáz
NSP (non structural protein)	nem strukturális fehérje
OÁI	Országos Állategészségügyi Intézet
ORF (open reading frame)	nyitott leolvasási keret

PEC (poult enteritis complex)	kispulykák bélgyulladással járó kórképcsoportja
PEMS (poult enteritis-mortality syndrome)	kispulykák bélgyulladással és jelentős elhullással járó szindrómája
PCR (polymerase chain reaction)	polimeráz láncreakció
PFGE (pulsed field gelelectrophoresis)	pulzáló mező gélelektroforézis
RNS	ribonukleinsav
rRNS	riboszómális RNS
RT-PCR	reverz transzkripciót követő polimeráz láncreakció
S	Svedberg
s. a. (sine anno)	évszám nélkül
SEM	pásztázó elektronmikroszkóp
SPF (specific pathogen free)	meghatározott kórokozóktól mentes
TAstV-1 (turkey astrovirus type 1)	pulyka astrovírus-1
TAstV-2 (turkey astrovirus type 2)	pulyka astrovírus-2
TCoV (turkey coronavirus)	pulyka coronavirus
TGF (transforming growing factor)	transzformáló növekedési faktor
TSA	tripton szója agar
VP (virus protein)	vírusfehérje

1. Összefoglalás

A baromfifajok különféle enterális kórképei termelésre gyakorolt hatásuk miatt nagy gazdasági jelentőségűek. Általában komplex kórokban megbetegedésekről van szó, ahol a veszteségek végső mértéke számos tényező függvénye. Az ide sorolható kórfarmák közül a csirkék fertőző satnyaságáról (malabsorption syndrome) évekre visszamenőleg rendelkezünk hazai adatokkal. Olyan viszonylag újabb kórképek, mint a kispulykák bélgyulladás komplexe (PEC), a kispulykák bélgyulladással, jelentős elhullással járó szindrómája (PEMS), vagy a madarak intestinalis spirochaetosisa (AIS) tekintetében csak néhány beszámoló utalt ezek hazai előfordulására, de állományainkban való elterjedtségükről, jelentőségükről részletes adataink nem voltak.

Kutatásom célja a kispulykák, illetve ludak ezen újabb enterális kórképeinek (PEC/PEMS, AIS) komplex vizsgálata volt.

Eredményeimet részben az MGSZH ÁDI (volt OÁI) kaposvári és budapesti intézeteinek rutindiagnosztikai vizsgálati anyagából választott állatok leletei alapján állítottam össze, részben ezeket kiegészítettem az adott állományra vonatkozó és a kezelő állatorvostól beszerzett járványtani adatokkal. A ludak brachyspirák okozta kórképének tanulmányozására kísérletes állatfertőzést is végeztünk.

Az intézeti rutindiagnosztikai (kórbonctani, kórszövettani, bakteriológiai, parazitológiai) vizsgálatokat, az enterális vírusfertőzésre gyanút keltő kórelőzménnyel érkezett, és/vagy a boncolás során arra gyanússá váló előnevelt pulykaállományokból származó madarak esetén, molekuláris diagnosztikai módszerekkel kiegészítve kíséreltük meg a pulyka koronavírusok (TCoV), a pulyka astrovírusok (TAsTV-1, TAsTV-2) és a madár rotavírusok (ARoV) kimutatását.

2005 és 2007 között 214 előnevelt, többségében 1-3 hetes életkorú pulykaállományból származó madarat dolgoztunk fel. A molekuláris diagnosztikai eredmények alapján az állományok 57%-a bizonyult a fenti vírusok legalább egyikével fertőzöttnek. A fertőzöttnek talált állományok 29%-ban kombinált vírusfertőzést találtunk. Leggyakrabban az önálló ARoV és az önálló TAsTV-1 fertőzés fordult elő és kombinált fertőzések esetén is e két vírus kombinációja volt a leggyakoribb.

Az pulyka astro- és madár rotavírusok életkor szerinti megjelenési mintázatát tekintve az önálló TAsTV-2 fertőzés már egyhetesnél fiatalabb (5 napos) madarakban kimutatható volt és kéthetes koron túl, egyetlen állomány kivételével, nem tudtuk megállapítani. Ez olyan állományokra is igaz volt, ahol a TAsTV-2 más vírussal kombinálódva fordult elő. Önálló TAsTV-1 fertőzöttséget leggyakrabban 3 hetes kor körüli állományokban találtunk. Kombinált fertőzések esetén e vírusok kimutatása is fiatalabb, kéthetes életkorra tolódott. Az önálló

ARoV fertőzöttség megjelenését a fentiekhez hasonló tendencia nem jellemezte, a vírus a legkülönbélebb életkorú előnevelt állományokból kimutatható volt.

Az állományok oldaláról vizsgálva, a fertőzöttség már egyhetes kor alatt megjelent. Ezt főleg a TAsTV-2 önállóan, vagy ARoV-val kombinációban okozta. 8 és 14 napos kor között megnőtt a csak ARoV-val fertőzöttnek talált állományok száma. 14 és 28 napos kor között az ARoV, a TAsTV-1, illetve e két vírus kombinációja volt kimutatható a leggyakrabban a fertőzöttnek talált állományokból, azzal a megfigyeléssel, hogy 3 hetes életkor közelében uralkodóvá vált az önálló TAsTV-1 fertőzöttség. 4 hetes kor után ismét dominálónak vált az önálló ARoV fertőzöttség.

A vizsgált időszakban, TCoV fertőzöttséget 6 előnevelt állományban mutattuk ki. Tekintve, hogy a TCoV iránt a pulyka minden életkorban fogékony a vírus kimutatását jellegzetes klinikai tüneteket (hasmenés, fejlődésben való visszamaradás) mutató utónevelés alatt álló állományokból származó pulykákból is megkíséreltük. A 2005 és 2007 között vizsgált 44 utónevelt állományt reprezentáló minta 36%-át találtuk TCoV pozitívnak.

A TCoV fertőzött állományokban a kórlefolyás jelentősen különbözött attól függően, hogy a vírus kéthetes, vagy annál fiatalabb, illetve négyhetes vagy annál idősebb állományban került-e először kimutatásra. Előbbi, járványtani jellemzői alapján az irodalomban TCoV pozitív PEMS-ként leírt kórképnek, míg az utóbbi a pulykák koronavírus okozta bélgyulladás néven leírt megbetegedésnek felelt meg.

Önálló vírusfertőzés esetén az elhullott állatokban talált kórbonctani elváltozások hasonlóak voltak (eléhezés, kiszáradás, vékonybélhurut, vizes-habos vakbél tartalom), függetlenül attól, hogy később melyik vírus került kimutatásra.

Szöveti vizsgálattal szintén valamennyi vírusfertőzés esetén megfigyelhető volt — a bélnyálkahártya elváltozásai mellett — az immunszervek, főleg a bursa Fabricii enyhébb-súlyosabb fokú sorvadása. A fenti szervekben a legsúlyosabb szöveti elváltozásokat a PEMS-es állatokból származó minták esetén figyeltünk meg.

Az enterális vírusok kimutatásának időpontjában az elhullások is megemelkedtek. A mortalitás végső mértékét azonban a vírusfertőzésen kívül egyéb tényezők is befolyásolták. A fertőzöttnek talált madarakban ugyanis gyakran egyidejűleg bakteriális társfertőzés (leggyakrabban *E. coli* vérfertőzés) is megállapítható volt. Ez a legsúlyosabb következményekkel a PEMS-es állományokban járt, de a többi esetben is hozzájárulhatott a veszteségek fokozódásához.

A fertőzött állatok, fejlődése megtört és testtömegük alatta maradt az adott életkorra a technológia alapján elvárt testtömegnek.

A ludak intestinalis spirochaetosisát első megállapítását követően, 2005 és 2007 között 22 állományban diagnosztizáltuk. A betegség leggyakrabban elsőéves tojóludakban, a tojástermelési ciklus végén, a vedlés megindulásakor jelentkezett. Az elhullott állatokban

kórbonctani vizsgálattal súlyos, fibrines-elhalásos vakbél- és vastagbél-gyulladás (typhlocolitis) fordult elő, amihez vesefibrózis társult. Az elváltozott vastagbél-tartalmakból az esetek többségében biokémiaileg egységesen viselkedő, fenotípusos sajátosságai alapján *Brachyspira alvinipullin* bizonyuló baktériumokat lehetett kitenyészteni.

Az izolált törzsekkel naposliba fertőzési kísérletet végeztünk. A fertőzéshez használt *Brachyspira* törzsek kolonizálták a vastagbelet (főleg a vakbelet) és öthetes korig (a kísérlet lezárásáig) onnan kimutathatóak és visszaizolálhatóak voltak. Megtelepedésüket mérsékelt klinikai tünetek, kórbonctani és kórszövettani elváltozások kísérték.

2. Bevezetés

A baromfiipar teljesítménye világviszonylatban évről-évre nő. Ebben a növekedésben meghatározó szerepet játszik az a genetikai előrehaladás, aminek eredményeként ma a különféle teljesítményteszteken a csoportok átlagteljesítménye sok esetben megegyezik a 10 évvel ezelőtti legjobb egyedi teljesítményekkel. A potenciális genetikai lehetőségek kiaknázása nem lehetséges az optimális tartási, takarmányozási, állategészségügyi feltételek biztosítása nélkül, amelyek magukban foglalják a betegségek megelőzését, vagy azok jelentkezésekor a gyors diagnózis felállítását és ennek ismeretében a hatékony védekezési stratégia kidolgozását.

A diagnosztikai munkában azonban komoly nehézséget jelent, hogy a nagy létszámú állományokban egyre ritkábban találkozunk a klasszikus, egy jól meghatározott kórokozóra visszavezethető megbetegedésekkel. Ennek valószínűleg az a magyarázata, hogy ezekkel szemben már hatékony védekezési lehetőségek (vakcinák) állnak rendelkezésre. Ugyanakkor egyre nő a komplex kóroktanú megbetegedések jelentősége, ahol a pontos oktani diagnózis felállítása is problémát jelent. Ez a megállapítás a baromfifélék különféle enterális kórképeire is igaz. Ilyenkor a diagnózis felállításának nehézségei a következőkben foglalhatók össze:

- A klinikai tünetek kevés támpontot adnak.
- A klinikai tünetek hátterében fertőző és/vagy nem fertőző okok egyaránt lehetnek.
- A mortalitás rendszerint alacsony, az elhullott állatokban megfigyelhető kórbonctani és kórszöveti elváltozások az esetek egy részében jellegtelenek.
- Az ismert oktani tényezők kimutatása hagyományos diagnosztikai módszerekkel nehéz.
- A szóba jöhető kórokozók jelentőségének megítélésében a szakirodalom sem tekinthető egységesnek.

Az oktani diagnosztika nehézségére utal, hogy a fertőző enterális megbetegedésekre, jelezvén azok összetett voltát, mint szindrómákra, vagy komplexekre utal az irodalom (poult enteritis-mortality syndrome, poult enteritis complex, malabsorption syndrome).

Ugyanakkor a gyakorlat oldaláról jelentkezik az igény legalább annak megállapítására, hogy egyes, állomány szinten jelentkező hasmenéssel, rosszabb takarmányértékesítéssel, fejlődésben való visszamaradással járó kórkép hátterében inkább fertőző, vagy inkább takarmányozási tényezők állhatnak-e?

Broilercsirkék fertőző eredetű szétnövéséről az ún. fertőző satnyaság hazai elterjedtségéről, azzal kapcsolatos vizsgálatokról évekre visszamenőleg számos adattal rendelkezünk. Itt az előrelépést az jelentheti, ha újabb kórokozókról sikerül kideríteni, hogy szerepet játszhatnak a betegség kialakításában.

A kispulykák hasmenéssel, fejlődésben való visszamaradással esetenként jelentős elhullással járó PEMS/PEC kórformáinak előfordulásáról csak kevés konkrét hazai tapasztalat volt (Dobos-Kovács és mtsai., 2000).

Ugyanez igaz a madarak ún. intestinalis spirochaetosisával kapcsolatban is. A betegség előfordulását jelezte, hogy részben ludak fibrines-elhalásos vakbél- és vastagbél-gyulladással járó megbetegedéseiből (libák ún. sajtos vakbélgyulladása), részben pulykák enyhébb vastagbél-elváltozásaiból hazai kutatók már korábban is kimutattak spirochaetákat, ezek pontos azonosítására azonban akkor nem került sor (Dobos-Kovács és mtsai., 2001).

A kutatás célja a kispulykák PEMS/PEC kórformáinak, valamint felnőtt ludak intestinalis spirochaetosisának tanulmányozása volt. Ennek során a diagnosztikai intézetekben rutinszerűen végzett (kórbonctani, kórszövetteni, bakteriológiai, parazitológiai) vizsgálatok mellett az elérni kívánt cél érdekében fejlesztett és molekuláris diagnosztikai módszereket is használtuk és így kaptunk adatokat a béltartalomban előforduló egyes baktériumokról, vírusokról, egysejtű, vagy többsejtű parazitákról és az általuk előidézett elváltozásokról. Ezeket immunhisztokémiai vizsgálatokkal és a vizsgált állományokról beszerzett járványtani adatokkal kiegészítve lehetett következtetéseket levonni az egyes kimutatott ágensek kórtani szerepéről.

Kispulykák esetén adatokat gyűjtöttünk a PEMS/PEC kórformák hazai előfordulásáról.

Ehhez az intézeti rutindiagnosztikai (kórbonctani, kórszövetteni, bakteriológiai, parazitológiai) vizsgálatokat, az enterális vírusfertőzésre gyanút keltő kórelőzménnyel érkezett, és/vagy a boncolás során arra gyanússá váló előnevelt pulykaállományokból származó madarak esetén, molekuláris diagnosztikai módszerekkel kiegészítve kíséreltük meg a pulyka koronavírusok (TCoV), a pulyka astrovírusok (TAstV-1, TAstV-2) és a madár rotavírusok (ARoV) kimutatását. A víruskimutatás eredményeit összevetve a kórbonctani, kórszövetteni vizsgálatok leleteivel vizsgáltuk, hogy az egyes vírusok illetve azok kombinációi kialakítanak-e a hagyományos diagnosztika módszereivel egyértelműen azonosítható elváltozásokat. Saját eredményeinket kiegészítve a kezelő állatorvosoktól beszerzett adatokkal, kísérletet tettünk a vizsgált kórkép okozta veszteségek jellemzésére és a fertőzött állományokra vonatkozóan bizonyos járványtani következtetések levonására.

Fibrines-elhalásos vakbél- és vastagbél-gyulladásban elhullott ludakból célzott vizsgálatokat végeztünk brachyspirák kimutatására. Meghatároztuk az elváltozott vastagbélszakaszokból kitenyészett brachyspirák biokémiai tulajdonságait,

gyógyszerérékenységét és tanulmányoztuk az izolált törzsek ultrastruktúrális, molekuláris biológiai jellemzőit is. A kutatás célja ezen kívül a betegség járványtani sajátosságainak tanulmányozása, illetve kísérleti állatfertőzéssel a fenti elváltozásokból leggyakrabban kitenyésztett *B. alvinipulli* patogenitására, az általa előidézett betegség kórfejlődésére irányuló ismeretek szerzése volt.

3. Irodalmi áttekintés

A baromfitartás költségeinek kb. 75%-át a takarmányozás költségei teszik ki. A takarmány lebontásának, a lebontott alkotórészek felszívódásának fő helye a bélcsatorna, ami egy rendkívül komplex struktúra. Amellett, hogy teret és lehetőséget nyújt a tápanyagok lebontásához, felszívódásához, védi a szervezetet a bél ürege, mint környezet felől támadó élő és élettelen károsító hatásokkal szemben. Komplexitásának részét képezi az a baktériumflóra (normál flóra), amely nélkülözhetetlen élettani működéséhez. Minden olyan tényező, ami ebben a bonyolult és összehangolt működésben zavart okoz, a takarmány értékesülésének romlásán keresztül rontja a termelés gazdaságosságát. A különböző házimadár-fajok enterális kórképei ezért nagy gazdasági jelentőségűek.

3.1. Kispulykák enterális kórképei

A fiatal pulykák emésztőszervi megbetegedéseivel kapcsolatos irodalmi ismereteink főleg az USA-ból származnak. Az enterális kórképekkel kapcsolatos terminológiában is főleg az angol rövidítések és definíciók terjedtek el.

A PEMS (poult enteritis-mortality syndrome) 1-4 hetes korú pulykák fertőző, komplex kóroktanú, klinikailag hasmenéssel, kiszáradással, fejlődésben való visszamaradással, az immunrendszer működészavarával és ezekhez társultan jelentős elhullással járó kórképe (Barnes és Guy, 1997).

A PEC (poult enteritis complex) esetén, fiatal (előnevelt) pulykáknál, a fentiekhez hasonló klinikai tüneteket lehet megfigyelni, de a mortalitás alacsonyabb (Barnes és mtsai., 2000).

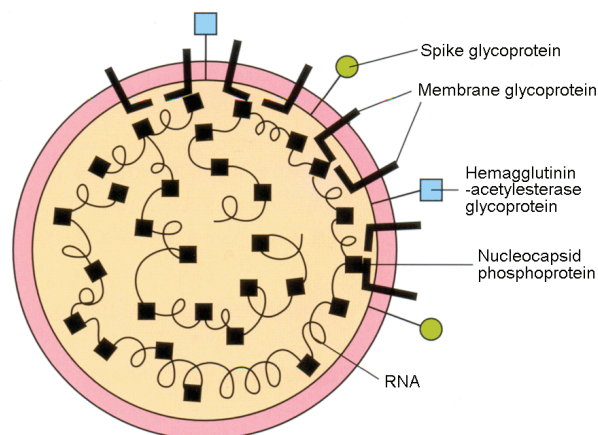
Mindkét esetben multifaktoriális oktanú megbetegedésekről van szó, amelyeknek kórfejlődése is hasonló. Első lépésben enteropatogén vírusok károsítják a vékonybél nyálkahártyáját (Yu és mtsai., 2000). Ennek következménye emésztési és felszívódási zavar. A sérült bélnyálkahártyán később baktériumok, gombák, protozoonok telepedhetnek meg. Az esetek egy részében, az immunrendszer legalább átmenetileg megfigyelhető működészavara immunszuppressziót eredményez. Ez lehetőséget teremt arra, hogy a megtelepedett baktériumok a véráramba törjenek (Qureshi és mtsai., 1997). Jelentősebb elhullások, rendszerint a másodlagos bakteriális szövődmények következtében alakulnak ki (Edens és mtsai., 1997; Barnes és Guy, 1999; Guy és Smith, 2000). Ha a fenti elváltozások következtében kialakuló mortalitás az előnevelési periódus bármely egymást követő 3 hetében eléri, vagy meghaladja a 9 %-ot, PEMS-ről beszélünk.

Intenzív kutatások folynak azoknak az enterális vírusoknak az azonosítására, amelyek meghatározó szerepet játszhatnak a bélnyálkahártya kezdeti károsításában. Az ezzel kapcsolatos ismeretek, főként a diagnosztikai módszerek fejlődésének (elektronmikroszkóp (EM), immunelektronmikroszkóp (IEM), polimeráz láncreakció (PCR)) köszönhetően jelentősen gyarapodtak. Számos vírust mutattak már ki bélgyulladásban megbetegedett kispulykák béltartalmából, ám ezek egy részét egészséges állatok bélsarában is megtalálták. A TCoV-k, TAsV-k és az ARoV-k esetén kísérleti adatok bizonyítják, hogy képesek kispulykákban enterális tüneteket előidézni (Hayhow és Saif, 1993; Ismail és mtsai., 2003; Tang és mtsai., 2006). A lehetséges kórokozók köre ezzel azonban még korántsem tekinthető lezártnak. Mivel kutatásomban a megbetegedett állományokban én a TCoV, TAsV-k és az ARoV-k előfordulását vizsgáltam a továbbiakban ezek jellemzőit és az általuk okozott kórképeket tekintem át.

3.1.1. A kórokozók általános jellemzése

3.1.1.1. Pulyka coronavirus

A TCoV rendszertanilag a *Coronaviridae* család *Coronavirus* nemzetségébe tartozó közel gömb alakú, 120-140 nm nagyságú vírus, amely a sejt belső membránhálózatából származó burokkal (envelop) rendelkezik. A vírus burka jellegzetes, bunkó alakú, 12-24 nm hosszúságú tüskékből álló koronát tartalmaz. Erről kapta a víruscsalád a nevét. A vírus genomja, pozitív szimpla szálú RNS molekula, az ismert RNS vírusok között a legnagyobb (27-32kb) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.html>).



1. ábra. A coronavirusok felépítése

http://www.biomarker.cdc.gov.kr:8080/pathogenimg/Coronavirus_en_gif

A genom 3' végén található a strukturális fehérjéket kódoló gének. A négy fő strukturális fehérje (fő felületi fehérje, membránfehérje, nukleokapszid-fehérje, kis membránfehérje) közül a vírusfertőzés kapcsán a fő felületi S (spike) fehérje szerepe a legjelentősebb (1. ábra). Felelős a vírus gazdasejthez való kapcsolódásáért és a vírusburok, valamint a gazdasejt membránjának fúziójáért. A protektivitásért felelős antigéndeterminánsok többsége is az S fehérjén helyezkedik el. A struktúrféhrjéket kódoló gének közé ismeretlen funkciójú, nem strukturális fehérjéket kódoló gének ékelődnek. Ezeknek a géneknek a száma még azonos csoportba tartozó koronavírusok esetén is változó lehet. A vírusok egy részében (pl. az egér hepatitis vírusa) az ilyen gének deléciója a patogenitás megváltozásával jár, míg más esetekben (pl. fertőző bronchitis) ilyen hatásuk nincs (Casais és mtsai., 2005; Haan és mtsai., 2000).

A genom 5' végén lévő két hosszú nyílt leolvasási keretről (ORF1a és ORF1b) riboszómális frameshift segítségével képződő poliprotein tartalmazza a virális RNS-függő RNS-polimerázt, amelynek végső kialakításában az ORF1a által kódolt virális proteázok játszanak szerepet (Flint és mtsai., 2004).

Az embert és az állatok széles körét megbetegíteni képes koronavírusokat szerológia és genetikai jellemzőik alapján ma három csoportba sorolják. A csoporton belüli heterogenitás miatt az 1-es csoporton belül már két alcsoportot is elkülönítettek (Gonzalez és mtsai., 2003).

A TCoV csoportba sorolása az évek során többször is változott. A vírus azonosítását követően először egy új, önálló 4. csoportba került (Wege és mtsai., 1982). Kanadai kutatók immunoblot, immunprecipitációs, majd DNS hibridizációs és szekvencia vizsgálatokkal is a TCoV és a szarvasmarhák koronavírusának szoros rokonságát találták, így a vírust átsorolták a kettes csoportba (Dea és mtsai., 1990). Újabb vizsgálatok azonban egyre több adatot szolgáltatott arra, hogy a TCoV antigénszerkezeti és genetikailag is a fertőző bronchitis vírusával (IBV) áll közeli rokonságban. Az N és M fehérjéket kódoló gének szekvenciaadatainak összevetésével a TCoV és az IBV között nem találtak nagyobb különbséget, mint az egyes IBV törzsek között (Guy, 2000). Ugyanakkor az S fehérjét kódoló gének tekintetében az azonosság csak 33-34% volt és ez jóval kisebb, mint ami két egymástól leginkább különböző IBV törzs esetén fennáll (Lin és mtsai., 2004). Jelenleg a TCoV az IBV-vel együtt a koronavírusok 3. csoportját alkotja. A genetikai vizsgálatok arra utalnak, hogy a TCoV őse egy olyan IBV törzs lehetett, amelyik ismeretlen eredetű S protein génre tett szert (Jackwood és mtsai., 2004).

A koronavírusok 2. és 3. csoportját alkotó vírusokra jellemző, hogy S proteinjüket egy sejt eredetű szerin-proteáz S1 és S2 alegységre hasítja. A protektivitásért felelős epitópok többsége az IBV esetén az S1 alegységen található és ebben a régióban az egyes IBV törzsek között jelentős heterogenitás figyelhető meg. Ugyanilyen változatosság a különböző

helyeken és időpontokban izolált TCoV törzsek között jelenleg nem mutatható ki (Cavanagh, 2005).

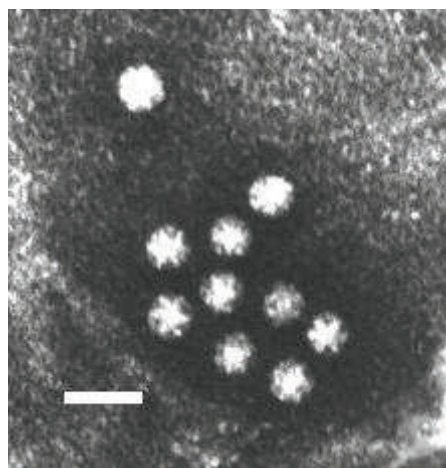
Célzott vizsgálatokkal a csirke és a pulyka mellett más madárfajokból is kimutattak coronavírusokat. Ezek közül a fácánokból izolált vírust, ami a fácánokban légzőszervi megbetegedést okozott, jelenleg önálló vírusnak tekintik és szintén a coronavírusok 3. csoportjába sorolták (fácánok coronavírusa) (Cavanagh és mtsai., 2002).

Az egyébként egészséges pávákból és csörgőrécékből származó izolátumok később IBV-nek bizonyultak (Liu és mtsai., 2005). A gyöngytyúkokban bélgyulladás és elhullást okozó coronavírus esetén még nem eldöntött, hogy önálló gyöngyös coronavírusról van-e szó (Cavanagh, 2005).

Jonassen és mtsai. (2005) reverz transzkripciót követő PCR (RT-PCR) segítségével szürke ludak, mulard kacsák és szirti galambok béltartalmából is kimutattak coronavírusokat és igazolták, hogy ezek a vírusok a coronavírusok 3. csoportjába tartoznak, de különböznek egymástól és 3. csoport már ismert tagjaitól is. Ezeket a vírusokat azonban mindmáig nem sikerült izolálni. Az eredmények azt jelzik, hogy a madarakban előforduló coronavírusok gazdaspektruma szélesebb lehet, mint azt korábban feltételezték.

3.1.1.2. Pulyka astrovírusok

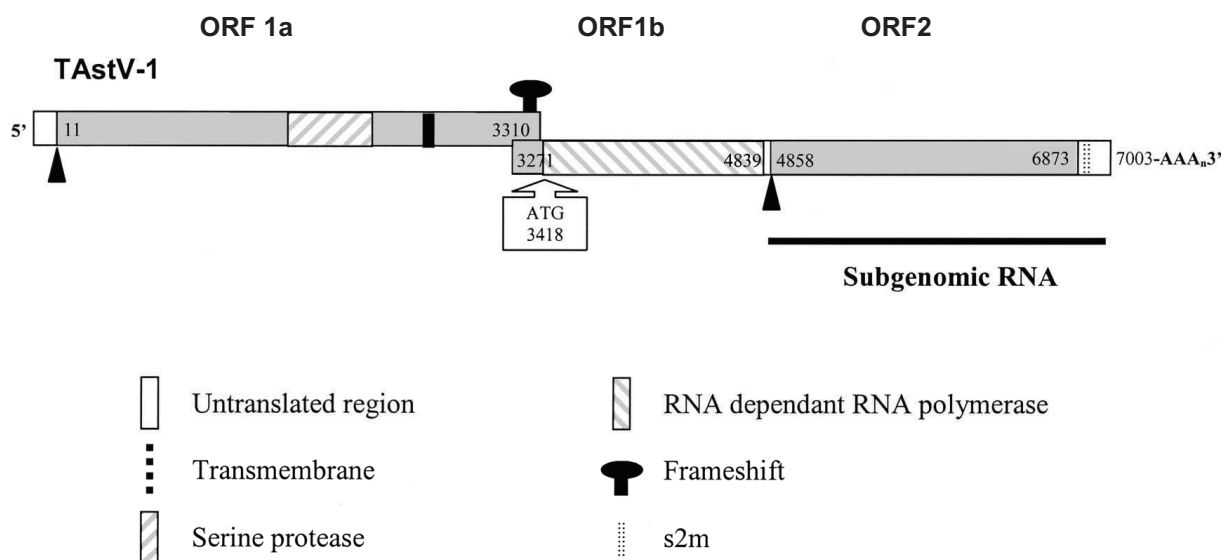
A pulyka astrovírusok rendszertanilag az *Astroviridae* család *Avastroviridae* nemzetségébe tartozó kerek, köbös szimmetriájú, 28-30 nm átmérőjű, burok nélküli vírusok. Elnevezésüket csillagra (astron=csillag) emlékeztető felületi nyúlványaikról kapták (2. ábra). A jellegzetes nyúlványok megjelenése pH függő, a víruspartikulák csak mintegy 10%-án látható. Genomjuk pozitív irányultságú, szimpla szálú RNS, aminek a nagysága 6,8-7,9 kb.



2. ábra. Astrovírusok EM képe

<http://www.stanford.edu/group/virus/astr/2004ambili/astrovirus4starepa.jpg>

A vírusgenom 3, egymást részben átfedő, nyílt leolvasási keretet (ORF1a, ORF1b és ORF2) tartalmaz, amelyet 5' és 3' irányban is közrefog egy nem transzlálódó szakasz. A genom 3' végét poli-A farok zárja (3. ábra). Az egyes szakaszok hosszában a madár astrovírusok között eltérések vannak. Az ORF1b kódolja a vírus RNS-függő RNS-polimeráz enzimjét és ez a terület a genom legkonzervatívabb régiója. Az ORF1a nem strukturális fehérjét, míg az ORF2 a kapszid fehérjét kódolja. Az ORF1a és ORF1b átfedő részén található egy jellegzetes szekvencia, ami riboszómális frameshift révén lehetővé teszi, hogy az ORF1a és az ORF1b egy poliprotein formájában transzlálódják és utána hasadjon funkcionális egységekre (Koci és Schultz-Cherry, 2002).



3. ábra. A TAstV-1 genomjának szerveződése (Koci és Schultz-Cherry, 2002)

A pulykáknak két saját astrovirusa van. A TAstV-1 prototípus törzsét 1985-ben azonosították az USA-ban (Saif és mtsai., 1985). Ebben az időszakban, több felmérésben is gyakran mutattak ki astrovirusokat enterális tüneteket mutató pulykák béltartalmából (Reynolds és mtsai., 1987; Reynolds és Saif, 1986; Saif és mtsai., 1985). Koci és mtsai. (2000a) PEMS-ben elhullott kispulykák thymusából izolált astrovirus részletes genetikai vizsgálatával azt jelentősen különbözőnek találták az addig ismert pulyka astrovirustól, ezért az attól való megkülönböztetés miatt javasolták a TAstV-2 elnevezést. További vizsgálatok azt is megmutatták, hogy ez a genotípus már korábban is jelen lehet az állományokban (Guy és mtsai., 2004; Tang és mtsai., 2005b). Az egyes pulyka astrovirus genotípusokon belül a kapszid, illetve a polimeráz génben megfigyelhető különbségek alapján altípusokat is elkülönítettek (Pantin-Jackwood és mtsai., 2006a).

A pulykák mellett a madár astrovirusok oktani szerepét igazolták csirkék fertőző vesegyulladására, kiskacsák vírusos májgyulladására kórképeiben. Hasmenésben beteg

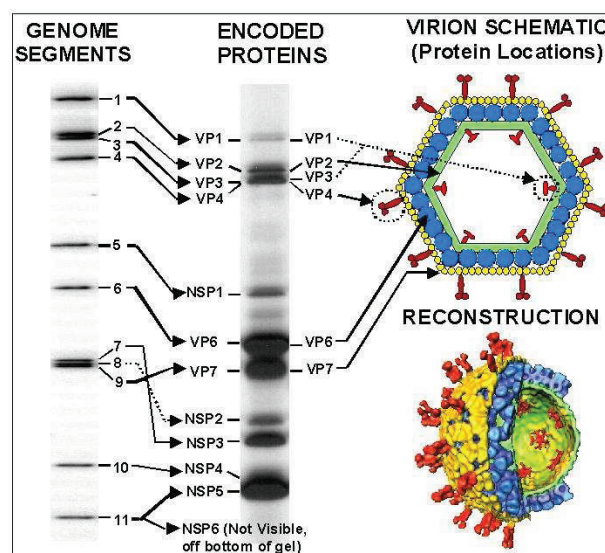
csirkékből egy a fertőző vesegyulladás vírusától (ANV) eltérő astrovírust is azonosítottak, amit csirke astrovírusként (CAstV) jelölnek (Mándoki és mtsai., 2005; Baxendale és Mebatsion, 2004; Imada és mtsai., 2000; Gough és mtsai., 1984). Csirke astrovírusokat később pulykákból is kimutattak (Pantin-Jackwood és mtsai., 2006b).

Az emlősök astrovirusai, amelyeket a *Mamastroviridae* nemzetségbe sorolnak, csecsemőkben, immunszuppresszált felnőttekben, valamint fiatal állatokban okoznak általában enyhe lefolyású, önlimitáló megbetegedést (Matsui és Greenberg, 2001).

3.1.1.3. Madár rotavírusok

A rotavírus nemzetség tagjai a *Reoviridae* víruscsaládba tartozó viszonylag nagyméretű (70-80 nm), kétrétegű ikozahedrális kapsziddal rendelkező, burok nélküli vírusok. Nevüket jellegzetes küllős kerékre emlékeztető megjelenésükről kapták (Carter és Wise, s.a.). Genomjuk 11 szegmensből álló duplaszálú RNS molekula (dsRNS). A 9 és 11 génszegment kivételével minden génszegmenten egyetlen leolvasási keret van.

A kódolt fehérjék közül, a VP6 jelzésű a belső kapszid, a VP4 és VP7 jelzésűek a külső kapszid felépítésében játszanak szerepet. A VP1, VP2 és VP3 jelzésű fehérjék együttesen alkotják a vírus genetikai anyagát körülvevő belső magot (core). A VP1 a vírus saját RNS-függő RNS-polimeráza, a VP3 pedig egy guanilil-transzferáz enzim. A genom 6 ún. nem strukturális fehérjét (NSP1-NSP6) is kódol, amelyek közül az egyik legjobban tanulmányozott a toxinhatású NSP4 fehérje (Reuter és mtsai., 2005) (4. ábra).



4. ábra. A rotavírusok felépítése

http://www.reoviridae.org/dsRNA_virus_proteins/images/04rotavirusfigure.jpg

A rotavírusok csoportosításában lényeges szerepet játszanak a kapszidot felépítő fehérjék antigéntulajdonságai. A VP6 fehérje antigénsajátságai alapján a rotavírusokat csoportokba (szerocsoportokba) (A-G) sorolják (Carter és Wise, s. a.). Az „A” csoportba tartozó rotavírusokat madaraktól és emlősöktől egyaránt kimutatták, de monoklonális ellenanyagokkal végzett vizsgálatokkal azt is felderítették, hogy mind a madarak, mind az emlősök VP6 fehérjéjén a közös, „A” csoportot meghatározó antigéndeterminánstól eltérő epitópok is vannak. (Kang és Saif, 1991).

A VP6 fehérje a csoportspecifikus domének mellett alcsoportspecifikus doméneket is hordoz. Jelenleg négy alcsoportot különböztetnek meg (I, II, I+II, nonI-nonII). A madár „A” csoportú rotavírusok az I-es alcsoportspecifikus monoklonális ellenanyagokkal reagáltak (Minamoto és mtsai., 1993).

Madaraktól az „A” csoportú rotavírusok mellett „D”, „F”, „G” csoportba tartozó rotavírusokat (non group A rotavirus, atipikus rotavirus) is izoláltak (Saif és Jiang, 1994). A pulykákból kimutatott atipikus rotavírusokat „D” csoportba tartozónak találták (Saif és mtsai., 1985; Theil és mtsai., 1986).

A kapszid külső rétegét felépítő VP7 fehérje, az ún. G (glikoprotein antigén) szero-, illetve genotípust, a külső rétegből tüskeszerűen kiemelkedő VP4 fehérje az ún. P (proteázérzékeny antigén) geno-, illetve szerotípust határozzák meg (Reuter és mtsai., 2005). Az ARoV-k szerotípusait illetően kevés adattal rendelkezünk (McNulty és mtsai., 1980a).

A genomsegmentek poliakrilamid gélben való vándorlási képe alapján is lehet a madarak rotavírusait csoportosítani (electropherogroup) (McNulty és mtsai., 1980a). Főleg az 5-ös a 7, 8, 9-es triplet és 10, 11-es duplet vándorlása képezi az elkülönítés alapját. A madár rotavírusokban eddig 5 fő típust különítettek el (Todd és McNulty, 1986).

3.1.2. Kórképek (klinikum, kórtan)

3.1.2.1. Pulyka-coronavírus okozta megbetegedés

A pulykák coronavírus okozta bélgyulladását, mint önálló kórképet, 1951-ben írták le az USA-ban. A megbetegedett állatokra jellemző klinikai tünet miatt először a kék taraj (bluecomb) nevet kapta, majd az oktan tisztázása után nyerte el végső elnevezését (Peterson és Hymas, 1951; Panigrahy és mtsai., 1973). Előfordulását azóta számos országban megállapították.

A PEMS-et megjelenésekor a coronavírusos bélgyulladás súlyos megjelenési formájának tartották. Carver és mtsai. (2001) vizsgálatai bebizonyították, hogy a PEMS és a

coronavírusos bélgyulladás két különböző kórkép, mivel léteznek olyan PEMS-es esetek, amelyekből a TCoV nem mutatható ki (TCoV negatív PEMS) és ez megfordítva is igaz, azaz nem minden TCoV fertőzés okoz PEMS-t.

A TCoV jelenlegi ismereteink szerint csak a pulykákat betegíti meg. SPF csirkéket kísérletesen fertőzve a fertőzés megered, amit az állatok szerológiai áthangolódása jelez. A vírus a fertőzött csirkék bélhámsejtjeiben és a bursa Fabricii hámsejtjeiben is kimutatható, klinikai tüneteket azonban nem okoz (Ismail és mtsai., 2003).

A vírussal szemben a pulyka minden életkorban fogékony. A szájon át felvett vírus 2-3 nap lappangási időt követően okoz tüneteket. A megbetegedett állatok bágyadtak, étvágytalanok, híg, vízszerű hasmenés alakul ki. A morbiditás rendszerint magas, míg az elhullás mértékét egyéb, egyidejűleg ható tényezők is befolyásolják. Fiatal állatokban az elhullás olyan mértékű lehet, hogy már PEMS-ről beszélünk (TCoV pozitív PEMS).

A kórbonctani vizsgálat során az elhullott állatokban vékonybélhurut, üres, esetleg alommal telt zúzógyomor, emésztési zavarra utalóan, híg vizes-habos vakbél tartalom, valamint a bursa atrophija figyelhető meg. Az elhullás oka, ha nincs valamilyen bakteriális társfertőzés legtöbbször kiszáradás, eléhezés (Guy, 2003).

A vékonybélben a vírusszaporodás következtében csökken a bélbolyhok magassága, a csillós hengerhámsejtek helyét köbhámsejtek foglalják el. A propriarétegben gyulladásos-sejtes beszűrődés alakul ki. A vírus a bursa Fabricii hámsejtjeiben is szaporodik. A vírusszaporodással szomszédos területeken intenzív heterophil granulocytás beszűrődés figyelhető meg (Pomeroy és mtsai., 1978; Gonder és mtsai., 1976).

3.1.2.2. Pulyka-astrovírusok okozta megbetegedés

Pulykából astrovírusokat először 1980-ban McNulty és mtsai. (1980b) mutattak ki Angliában. Ezt követően az USA-ban, az 1980-as évek közepén végzett felmérések során, bélgyulladásban beteg fiatal pulykák béltartalmából a rotavírusok mellett leggyakrabban az astrovírusokat mutatták ki (Reynolds és mtsai., 1987; Saif és mtsai., 1985).

A pulykák astrovírusok okozta megbetegedése általában 1-3 hetes életkor között kezdődik. A fő klinikai tünet a hasmenés. Magas morbiditás mellett a mortalitás gyakran alacsony. Az elhullott állatokban megfigyelhető kórbonctani elváltozások nem különböznek lényegesen attól, amit a coronavírus fertőzés és egyébként egyéb enterális vírusszaporodások kapcsán is megfigyeltek és leírtak. A fertőzött állatok testtömeg-gyarapodása romlik (Tang és mtsai., 2006). Koci és mtsai. (2003) a fertőzött állatok immunszerveit (bursa, thymus, lép) a kontroll állatokhoz képest kisebbnek találták. A különbség a thymus esetén volt a legkifejezettebb.

A szövettani elváltozások a gyakran súlyos klinikai tünetek ellenére enyhék. A vékonybél mirigyeinek enyhe hyperplasiáját, a vékonybélbolyhok alapi részét borító hámsejtek degenerációját lehet megfigyelni, boholyatrophia azonban nem alakul ki. Ugyancsak hiányoznak a gyulladással járó jelenségek (Pantin-Jackwood és mtsai., 2008b; Koci és mtsai., 2003; Thouvenelle és mtsai., 1995a). Az immunszervek közül a bursa Fabricii lymphoid folliculusaiban enyhébb-súlyosabb fokú lymphoid depletio mellett az interstitialis kötőszövet megsaporodását figyelték meg. A thymus esetenként leírt makroszkópos elváltozásait markáns szövettani elváltozások nem kísérték (Pantin-Jackwood és mtsai., 2008b; Koci és mtsai., 2003; Schultz-Cherry és mtsai., 2000).

3.1.2.3. Madár-rotavírusok okozta megbetegedés

Pulykákban rotavírus fertőzés kapcsán, életkortól függően, eltérő súlyosságú klinikai tüneteket figyeltek meg. Az élet első hetében enyhe hasmenéssel járó megbetegedés alakul ki, ami jelentősebb elhullást csak egyidejű stresszhatás esetén okoz. Súlyosabb megbetegedés fejlődhet ki 12-21 napos korú állatokban, kifejezett nyugtalanság, alomevés, vizes hasmenés, 4-7% közötti elhullás mellett. 2-5 hetes állatokban, profúz hasmenés és fejlődésben való visszamaradás alakulhat ki. Ugyanakkor nem ritka a szubklinikai, sőt tünetmentes fertőzés sem (McNulty és Reynolds, 2008). Az ARoV-k esetén az emlős rotavírusoknál megfigyelt virulenciabeli különbségekről még nincs adat, ez azonban nem zárja ki annak meglétét. Az adott fertőzés súlyosságát az immunitás megléte, vagy hiánya is befolyásolhatja.

A szövettani elváltozások nem kórjelző értékűek. Főként a bélbolyhok alsó harmadát borító hámsejtek károsodnak. A propriarétegben enyhe gyulladással járó besűrűsödést lehet megfigyelni. A bélbolyhok összeolvadhatnak, boholyatrophia alakulhat ki (Hayhow és Saif, 1993).

3.1.3. Kórfejlődés

3.1.3.1. A pulyka-coronavírus okozta fertőzés kórfejlődése

Az enterális vírusfertőzések kórfejlődésére vonatkozó adatok részben a természetes esetek tanulmányozásából, részben a kísérleti fertőzések eredményeiből származnak.

A TCoV legnagyobb mennyiségben a fertőzött állatok bélsarával ürül. A vírus terjedése fecal-oral úton történik. Szemben a közeli rokon IBV-vel, kifejezetten enterotróp vírusról van szó, amelyik a bélcsatornán kívül csak a bursa Fabricii hámsejtjeiben mutatható ki. A bélben a bélbolyhok csúcsán lévő, emésztő és felszívó kapacitását tekintve legérettebb

enterocytákban replikálódik, amelyek leválnak és helyüket éretlenebb köbhámsejtek foglalják el. Ennek lesz a következménye az emésztési és felszívódási zavar. A bursa Fabricii-ben szaporodó vírus a lymphoid szöveteket közvetlenül nem károsítja, következményesen azonban lymphoid folliculus atrophiat és immunszuppressziót okoz (Guy, 2003).

Szövettenyészteten elszaporított, tiszta vírustörzsekkel elvégzett fertőzési kísérletekben a természetes esetek kapcsán megfigyelt magas mortalitással járó megbetegedéseket nem sikerült előidézni, vagyis azok kórfejlődésében egyéb környezeti tényezők és a másodlagos bakteriális fertőzések is meghatározó szerepet játszanak (Ismail és mtsai., 2003; Pakpinyo és mtsai., 2003).

3.1.3.2. A pulyka-astrovírusok okozta fertőzés kórfejlődése

A pulyka astrovírusok szájon át történő felvételét követően, a vírus a bélcsatorna hámsejtjeiben replikálódik. Koci és mtsai. (2003) vizsgálatai azt mutatták, hogy a TAsV-2 fertőzés nem korlátozódik a bélcsatornára. Bár szaporodás csak a vékonybélben zajlik a vírusgenom RT-PCR módszerrel a fertőzést követő 3.-5. napon kimutatható volt a lépben, thymusban, bursában, vesében, hasnyálmirigyben, vérplazmában. Ennek jelentősége a patogenezisben nem ismert. Behling-Kelly és mtsai. (2002) és Pantin Jackwood és mtsai. (2008b) in-situ hibridizációs és immunhisztokémiai módszerekkel vizsgálva a bélcsatornán kívül egyéb szervekben vírusantigént nem találtak.

A TAsV-k (és általában az astrovírusok) okozta hasmenés kórfejlődése nem tekinthető tisztázottnak. A vékonybélben megfigyelhető szövettani elváltozások mértéke, nem magyarázza a klinikai tünetek súlyosságát. TAsV-1 fertőzött állatokban a specifikus maltáz enzim aktivitásának csökkenését találták, ami jelzi a bélnyálkahártya funkcionális károsodását. Ennek következményeként létrejövő emésztési és felszívódási zavar szerepet játszhat az ozmotikus hasmenés kialakulásában (Thouvenelle és mtsai., 1995b).

Koci és mtsai. (2003) TAsV-2 fertőzés kapcsán a TGF- β aktivitás lokális (bél) és szisztémás növekedését mutatták ki, ami magyarázatul szolgálhat a gyulladásos reakció hiányára. Humán astrovírus fertőzések esetén a paracelluláris permeabilitás növekedését figyelték meg (Moser és mtsai., 2007).

Az immunszervek (thymus, bursa Fabricii) vizsgálatára vonatkozó adatok többsége azt jelzi, hogy a TAsV-2 fertőzöttség az immunszervek legalább átmeneti működészavarát okozza (Pantin-Jackwood és mtsai., 2008b; Koci és mtsai., 2003; Behling-Kelly és mtsai., 2002; Schultz-Cherry és mtsai., 2000).

3.1.3.3. A madár–rotavírusok okozta fertőzés kórfejlődése

Madarak rotavírus fertőzésének kórfejlődéséről feltételezik, hogy az emlősökéhez hasonlóan zajlik. A vírus a bélsárral ürül és a fertőződés szájon keresztül történik. A vírus célsejthez való kapcsolódásában a VP4 fehérje játszik meghatározó szerepet, a sejt belsejébe jutásához, azonban szükséges a VP4, sejtenzimek általi hasítása, ami a VP5 és VP8 jelzésű alegységek keletkezéséhez vezet. A vírusfertőzés célsejtjei a bélbolyhokat borító érett, már nem osztódó enterocyták. A vírusreplikáció az érett bélhámsejtek pusztulását okozza, amelyek helyét a Lieberkühn crypták felől kevésbé differenciált sejtek foglalják el. Ennek következménye a csökkent emésztőenzim (pl. diszacharidáz) aktivitás, illetve a kiválasztó és felszívó sejtek arányának eltolódása a kiválasztó sejtek irányába (Estes és Atmar, 2003).

Az így kialakuló malabsorptió nem az egyetlen magyarázat a rotavírus fertőzés következtében kialakuló hasmenésre. A vírusfertőzés gátolja a diszacharidáz–transzportot a sejt felületére akkor is, ha a sejt nem pusztul el (Jourdan és mtsai., 1998). A vírus egyik fehérjéje (NSP4) enterotoxin hatású. Növeli a Ca^{2+} -függő Cl^- csatornák átteresztőképességét, ami a Cl^- szekréció fokozódásához vezet (Estes és Morris, 1999). Megváltoztatja a paracelluláris permeabilitást és az intracelluláris aktineloszlást is (Tafazoli és mtsai., 2001). A madarak NSP4 fehérjéje hasonló biológiai aktivitást mutat (Mori és mtsai., 2002). Egerekben végzett vizsgálatok eredményei azt mutatták, hogy a bélidegrendszer aktivációja is hozzájárul a rotavírus fertőzést követő bélbeli folyadék felhalmozódáshoz. A folyamat pontos mechanizmusa nem ismert (Lundgren és mtsai., 2000).

3.1.4. Immunitás

TCoV fertőzésen átesett madarak védettek az újrafertőzéssel szemben (Pomeroy és mtsai., 1975). Ebben jelentős szerepet játszanak a vírusfertőzés hatására a bélben, lokálisan termelődő IgA típusú ellenanyagok. Ugyancsak a lokális ellenanyagok jelentőségét húzza alá, hogy a vérplazmában lévő maternális ellenanyagok nem csökkentik a vírussal szembeni fogékonyságot (Loa és mtsai., 2002; Tumlin és Pomeroy, 1958). Ez lényeges lehet egy vakcinázási stratégia kidolgozásánál.

A vírusfertőzést követően a celluláris immunválasz aktiválódását is megfigyelték, de ennek pontos szerepe a fertőzés leküzdésében és a kialakuló immunitásban nem tisztázott (Loa és mtsai., 2001).

SPF pulykapipék astrovírus fertőzését követő 14 nap múlva, immunelektronmikroszkópos vizsgálatban a fertőzött állatok vérsavója összecsapta az

astrovírus részecskéket, ami specifikus ellenanyagok jelenlétére utalt (Reynolds és Saif, 1986). Ugyanakkor TAsV-2-vel végzett fertőzési kísérletben csak alacsony titerben tudtak a vérsavóban kapszid-specifikus ellenanyagot kimutatni (Koci és mtsai., 2004).

Humán bélbiopszia-mintákban astrovírusokkal szembeni CD4+ T memóriasejteket azonosítottak (Molberg és mtsai., 1998). Azt is megfigyelték, hogy T sejtés immunhiányos állapotok növelik az astrovírusokkal szembeni fogékonyságot (Liste és mtsai., 2000). Kispulykákban TAsV-2 fertőzést követően, a teljes keringő lymphocita-populációt vizsgálva nem találtak eltérést a kontrollokhöz képest sem a keringő CD4+ és CD8+ T sejtek arányában, sem a fertőzött állatok T sejtjeinek mitogénekre adott válaszreakciójában (Koci és mtsai., 2004). A celluláris immunitás TAsV fertőzéssel szembeni pontos szerepének megválaszolásához a vírus-specifikus bélbeli T sejtpopuláció vizsgálatára volna szükség.

Az adaptív immunrendszer TAsV fertőzéssel szembeni védekezésben játszott szerepe a fentiek alapján nem pontosan ismert. Ugyanakkor, a TAsV-2 vírussal végzett vizsgálatok a természetes immunrendszer meghatározó szerepét mutatják a vírusreplikáció gátlásában. A fertőzés hatására fokozódott a makrofágok nitrogén-oxid (NO) termelése, ami mind in vivo, mind in vitro gátolja a vírusreplikációt. A makrofágok NO-szintetáz enzimjének (NOS2) gátlása 3 hatványkitevővel növelte vírusszaporodás mértékét (Koci és mtsai., 2004).

Rotavírus fertőzést követő 4-6 nap múlva ellenanyagok jelennek meg a fertőzött csirkék és pulykák szérumban és lokális ellenanyagok (IgA) a bélfolyadékában (Myers és Schat, 1990). Az ellenanyagokhoz az utódok passzív úton is hozzájuthatnak. Az, hogy ez a fertőzéssel szemben védelmet nyújt-e, a maternális ellenanyagok titerétől függ. Vakcinázott szülőpár tojópulykák IgG (IgY) típusú ellenanyagai kiválasztódnak az utódok bélfolyadékába és az első élethétben megvédik azokat a rotavírus fertőzéssel szemben. Természetes úton fertőződött tojópulykák utódainak bélfolyadékában nem tudtak anti-rotavírus IgG-t (IgY) kimutatni, annak ellenére, hogy a szérumban ezek megtalálhatók (Shawky és mtsai., 1993; Shawky és mtsai., 1994). Az eredmények a bélben lokálisan jelenlévő ellenanyagok szerepének jelentőségére utalnak a rotavírus fertőzéssel szembeni védelemben.

Ugyanakkor bursectomizált csirkék is felépülnek a rotavírus fertőzésből és védetté válnak a homológ törzsszel való újrafertőződéssel szemben, noha hosszabb idő alatt, mint egészséges társaik (Myers és Schat, 1990). Ez a tény jelzi, hogy a lokális ellenanyagok képződése mellett, az immunrendszer egyéb mechanizmusai is szerepet játszanak a védekezésben.

3.1.5. Diagnózis

A klinikai tünetek, a kórbonctani és kórszövettani elváltozások kevés támpontot adnak a tárgyalt vírusok okozta kórképek kórjelzéséhez. A pontos diagnózis felállításához szükség van a kórokozó direkt, vagy indirekt kimutatására.

A klasszikus technika a bélsár, vagy béltartalom elektronmikroszkópos vizsgálata volt. Mivel azonban a vírusok morfológiája a környezet pH viszonyaitól függően változhat (különösen igaz ez az astrovírusokra) sok volt a téves negatív eredmény. A módszer érzékenységét növelte az EM technika immunológiai eszközökkel való ötvözése (IEM) (Saif, 2008).

A TCoV embrionált tyúk és embrionált pulykatojásba, a pulyka astrovírusok embrionált pulykatojásba, a pulyka rotavírusok csirkeembrióba oltva elszaporíthatók. A pulyka astrovírusok esetén, SPF embriókat használva, ez makroszkóposan is megfigyelhető elváltozásokkal jár, míg közönséges embriók esetén ilyenek nincsenek, de a vírus elszaporodik (Koci és mtsai., 2000a; Castro és mtsai., 1994; Adams és Hofstadt, 1971). Dea és mtsainak (1989) sikerült a TCoV-t egy humán végbél adenocarcinoma (HRT) sejtvonalhoz adaptálni és azon elszaporítani. Ugyancsak sikeresen lehetett pulykákból rotavírusokat kimutatni rhesus majom embrió veséjéből készített sejtvonalon (MA 104) (Kang és mtsai., 1986).

A fentieknél egyszerűbb és ma már széles körben alkalmazható módszer a specifikus primerek alkalmazásával elvégzett reverz transzkripciót követő polimeráz láncreakció (RT-PCR) (Day és mtsai., 2007; Velayudhan és mtsai., 2003; Koci és mtsai., 2000b). A pulyka astrovírusok azonosítására antigénfogó ELISA módszert is kifejlesztettek (Tang és mtsai., 2005a).

A TCoV fertőzés átvészelése következtében termelődő specifikus ellenanyagok kimutatására, IBV antigén felhasználásával, a gyakorlatban is jól használható ELISA módszert dolgoztak ki (Loa és mtsai., 2000).

3.1.6. Védekezés

Jelenleg a tárgyalt vírusfertőzésekkel szemben, specifikus védekezési lehetőség még nem áll rendelkezésre.

Járványvédelmi eszközökkel kell megakadályozni a vírusok fogékony állományokba való behurcolását. A vírusok, főként az astrovírusok ellenálló képessége miatt a takarítást, fertőtlenítést a legnagyobb gondossággal kell elvégezni (Schultz-Cherry és mtsai., 2001; Brown és mtsai., 1997).

Már fellépett megbetegedés esetén törekedni kell a tartás és takarmányozás oldaláról ható esetleges stresszorok minimalizálására, emellett az antibiotikus kezelés csökkentheti a másodlagos bakteriális szövődmények okozta kártételt (Edens és Doerfler, 1999).

3.2. Madarak intestinalis spirochaetosis (AIS)

AIS alatt a madarak vak- és/vagy vastagbelének patogén *Brachyspira* fajokkal való kolonizációját és ennek következtében, főként enterális tünetekkel járó megbetegedését értjük. Számos házimadár (tojótyúk, húshibrid szülőpár, pulyka) és vadmadár (fácán, fogoly, vándorló vízimadarak, nandu) fajban leírásra került (Glávits és mtsai., 2008; Shivaprasad és mtsai., 2005; Jansson és mtsai., 2001; Webb és mtsai., 1997; Sagartz és mtsai., 1992; Swayne és mtsai., 1992; Dwars és mtsai., 1989).

3.2.1. Kórokozó

Az AIS szempontjából jelentős spirochaeták a *Spirochaetales* rend *Brachyspiraceae* családjának *Brachyspira* nemzetségébe tartoznak. A *Brachyspira* nemzetségbe jelenleg 7 hivatalos (*B. hyodysenteriae*, *B. intermedia*, *B. innocens*, *B. murdochii*, *B. alvinipulli*, *B. pilosicoli*, *B. aalborgi*) és két még pontosan be nem sorolt (*B. pulli*, *B. canis*) faj tartozik (Songer és Post, 2005).

Madarakból a *B. aalborgi* és *B. canis* kivételével valamennyi ismert *Brachyspira* fajt izolálták már. Fertőzési kísérletek eredményei alapján a *B. intermediat*, *B. pilosicolit*, *B. alvinipullit*, és *B. hyodysenteriaet* tekintjük madarakban potenciális patogénnek (Hampson és Swayne, 2008).

3.2.2. Kórkép (klinikum kórtan)

Az AIS a különböző madárfajokban eltérő súlyosságú formában jelentkezhet. A madarak vastagbelében megtelepedő *Brachyspira* fajok az esetek egy részében semmilyen klinikai tünetet nem okoznak. Ezeknek az állatoknak, azonban lényeges szerepük lehet a fertőzés terjesztésében (Jansson és mtsai., 2001).

Tojótyúkok illetve tenyészállományok *B. intermedia*, *B. pilosicoli* és *B. alvinipulli* fertőzése kapcsán enyhe-mérsékelt súlyosságú megbetegedésről számoltak be. Ezekben az esetekben a fő klinikai tünet a hasmenés. Az ürített bélsár zsiros konzisztenciájú. Romlik az alomminőség, növekszik a bélsárral szennyezett tojások száma és a fertőzött állományokban a tojástermelés is csökken (Glávits és mtsai., 2008; Trampel és mtsai., 1994; Swayne és mtsai., 1992; Dwars és mtsai., 1992).

Szövetteni vizsgálattal a vastagbél hámfájának erodálódása figyelhető meg esetenként nyilvánvaló gyulladással reakció nélkül, máskor a nyálkahártya propriarétegében gócos heterophil-sejtes beszűrődés alakul ki. *B. alvinipulli* fertőzés kapcsán tojóállományban az

előzőeknél kifejezettebb lymphocytás vastagbélgyulladást írtak le, amit a vastagbél hámszövetének hyperplasiája és a propriaréteg ödémája is kísért (Swayne és mtsai., 1995; Muniappa és mtsai., 1996).

Nanduban (*Rhea americana*) *B. hyodysenteriae* fertőzés súlyos elhalásos vastagbélgyulladást okozott. Az állatok általában előzetes klinikai tünetek nélkül hullottak el. Az elhullott állatokban a vakbél kitágult, fala megvastagodott, a vakbél nyálkahártyáján vaskos fibrinfelrakódás alakult ki. A vakbél falában súlyos hámszövetelhalást, a cryptákat borító mirigyhám hyperplasiáját figyelték meg (Sagartz és mtsai., 1992).

3.2.3. Kórfejlődés

Az AIS pontos kórfejlődését nem ismerjük. A fertőződés a szájon keresztül történik. Az emésztőcső felső szakaszán túljutó kórokozók tartósan megtelepednek a vak- és a vastagbélben, ahol főleg a crypták üregében találhatók (Dwars és mtsai., 1990).

A megtelepedésben és az azt követő kórtani elváltozások kialakításában is lényeges szerepet játszanak bizonyos virulenciafaktorok, amelyekről azonban, főleg a madárpatógén fajok vonatkozásában, viszonylag kevés ismerettel rendelkezőnk.

A brachyspirák aktív mozgásra való képessége teszi lehetővé a vastagbelet borító nyálkán való áthatolást és a nyálkahártyaréteg elérését. A patogén törzsek egy része a nyálkában előforduló kémiai anyagokhoz speciálisan kötődni képes receptorokkal is rendelkezik (Rosey és mtsai., 1996; Milner és Sellwood, 1994).

A vastagbélben való túlélést segíti a NADH-oxidáz aktivitás, ami védi a baktériumokat az oxigéntoxicitástól. A nox gén inaktiválása csökkentette a *B. hyodysenteriae* patogenitását (Stanton és mtsai., 1999).

A brachyspirák sejtfalában előforduló lipooligoszacharidok bizonyos biológiai sajátágaikban hasonlítanak a Gram negatív baktériumok endotoxinjára. Hatásukat főleg *B. hyodysenteriae*-ben és *B. pilosicoli*-ben tanulmányozták. Ennek során egyértelműen bebizonyosodott, hogy ezek a molekulák szerepet játszanak a virulenciában (Nuessen és mtsai., 1983). Különböző *B. pilosicoli* törzsek esetén azt is igazolták, hogy az egyes baktériumtörzsekben ezeknek a molekuláknak felépítése különbözhet egymástól, ami eltérő megbetegítőképeségben nyilvánulhat meg (Lee és Hampson, 1999).

Speciális virulenciafaktor lehet a hemolizintermelés, amely mint citotoxin hámszövetdegenerációt és -elhalást okoz (Hampson és mtsai., 1996).

A megfelelő virulenciafaktorokkal rendelkező brachyspirák megtelepedését követő történésekkel kapcsolatban a sertésdysenteria kapcsán végzett vizsgálatokra támaszkodhatunk. Eszerint a vastagbélbeli folyadékfelhalmozódás a hámszövetek elhalásának,

az ennek következtében kialakuló gyulladásnak és malabsorptionnak a következménye. Romlik a NaCl transzportja a bél lumenéből a vérpályába és ez egyben vízvesztéssel is jár (Varga, 1999). Hasonló mechanizmus madarakban is lehetséges.

Az AIS a sertésdysentériához hasonlóan multifaktoriális megbetegedés. Erre utal, hogy a természetes esetekből izolált törzsekkel, kísérleti állatokat fertőzve, a természetes esetekhez hasonló súlyosságú elváltozásokat gyakran nem sikerült reprodukálni. A klinikai tünetek megjelenését az adott *Brachyspira* törzs mellett, számos genetikai, tartási, takarmányozási tényező befolyásolja, amelyek arra is kihatnak, hogy a megtelepedő brachyspirák milyen mikrobiális „társkörnyezetbe” kerülnek. Ezzel magyarázható, hogy az AIS során megfigyelt klinikai és patológiai elváltozások jelentősen eltérhetnek a különböző állományokban (Kouwenhoven, 1993).

Speciális vizsgálatokkal (MLEE, PFGE) több esetben kimutatták, hogy adott telepről, adott járványmentből származó azonos fajhoz tartozó *Brachyspira* izolátumok eltérő típusokba sorolhatók. Vagyis, legalább a fertőzött állományok egy részében, adott fajhoz tartozó domináns törzsek mellett ugyanahhoz a fajhoz tartozó, más biológiai sajátosságokkal, virulencia jellemzőkkel rendelkező törzsek is előfordulhatnak, és ez a betegség végső kimenetelét lényegesen befolyásolhatja (Stephens és mtsai., 2005; Phillips és mtsai., 2005).

3.2.4. Diagnózis

Az AIS diagnózisának felállításához a jellegzetes klinikai tünetek mellett szükséges a kórokozó azonosítása. Ez több lépcsőben lehetséges.

A klinikai tüneteket mutató állatok béltartalmából készített natív, vagy festett kenetekben (Giemsa, fukszin) a jellegzetes dugóhúzó alakú baktériumok jelenléte megállapítható. Az elváltozott szövetekből készült metszetekben ezüstimpregnációs, vagy immunhisztokémiai eljárással tehetjük láthatóvá a spirochaetákat. Ezek a módszerek — csakúgy, mint a poliklonális ellenanyagok felhasználásával végzett IF eljárások — csak a betegség gyanújának megállapítására alkalmasak.

A *Brachyspira* fajok vért és antibiotikumokat tartalmazó táptalajon, anaerob körülmények között kitenyészthetők. A növekedés, fajtól függően, 2-5 nap alatt már megfigyelhető. A táptalaj felületén lapos, összefolyó, néha az agarba nöövő telepeket alkotnak, amelyeket fajtól függően haemolitikus zóna vesz körül (Varga, 1998).

A faji meghatározásban döntő szerepet játszó biokémiai tulajdonságok: a haemolízis mikéntje, az indoltermelés, a hippuráthidrolízis, a β -galaktozidáz-, α -glukozidáz- és β -glukozidáz-aktivitás megléte, vagy hiánya (Stanton és mtsai., 1998).

Az utóbbi időkben, éppen a tenyésztés nehézségei és a biokémia tulajdonságok bizonytalanságai miatt egyre jelentősebb erőfeszítések történnek a *Brachyspira* fajok modern molekuláris biológiai módszerekkel való azonosítására (PCR, ISH). A primer-tervezés célpontjai a 16S rRNS, a 23S rRNS és a nox gének. (Rohde és mtsai., 2002; Barcellos és mtsai., 2000). Az alkalmazott rendszerek egy része nemzetségszintű azonosítást tesz lehetővé (Phillips és mtsai., 2005). Fajsztű azonosításra alkalmas PCR rendszerek jelenleg a *B. hyodysenteriae*, *B. pilosicoli* és a *B. intermedia* kimutatására léteznek (Phillips és mtsai., 2006; La és mtsai., 2003).

A fenti gének egyes fajokra jellemző, egyedi szekvenciáinak felderítése lehetővé teszi komplementer oligonukleotid próbák tervezését, és azok in situ hibridizációs eljárásokban való felhasználását. Ez a módszer nemcsak a kórokozó azonosítását teszi lehetővé, hanem annak pontos helyeződése is megállapítható az elváltozott szövetekben (Boye és mtsai., 1998).

A szerológiai módszerek használhatósága az AIS és általában a *Brachyspira* fertőzések diagnosztikájában csekély. A használt tesztek alacsony érzékenységek és specifitásúak, nem alkalmasak a faji elkülönítésre (La és Hampson, 2001).

3.2.5. Védekezés

A mentes állományokba szigorú járványvédelmi intézkedések fenntartásával kell a behurcolást megakadályozni. Lényeges a takarmány és vízellátás védelme a vándorló vízimadaraktól. Fertőzött állományokban fontos a fertőzési nyomás csökkentése (rendszeres takarítás, fertőtlenítés), a stresszhatások minimálisra csökkentése. Ez mind a tartás, mind a takarmányozás oldaláról szükséges.

A fenti változtatások mellett szükséges lehet az állományok gyógykezelése is. Az USA-ban és Ausztráliában *B. pilosicoli*, *B. hyodysenteriae*, *B. alvinipulli* és *B. intermedia* izolátumok következetesen érzékenyek voltak lincomycinre, tiamulinra. Úgy tűnik tehát, ezek a szerek függetlenül attól, hogy melyik *Brachyspira* faj áll az AIS hátterében jól alkalmazhatók a gyógykezelésben (Hampson és mtsai., 2006; Trampel és mtsai., 1999).

Speciális megelőzés célját szolgáló, hatékony vakcina jelenleg még nem áll rendelkezésre.

4. Anyag és módszer

4.1. Kispulykák enterális kórképei

4.1.1. Vizsgálati minták

A kutatás során feldolgozott minták nagyobb részben az MGSZH ÁDI kaposvári (korábban Országos Állategészségügyi Intézet kaposvári intézete) kórbonctani osztályára, kisebb részben az MGSZH ÁDI budapesti (volt OÁI) baromfibelegéségek laboratóriumába érkezett vizsgálati anyagból származtak. Az elhullott állatok mellett esetenként élő állatokat is kaptunk vizsgálatra.

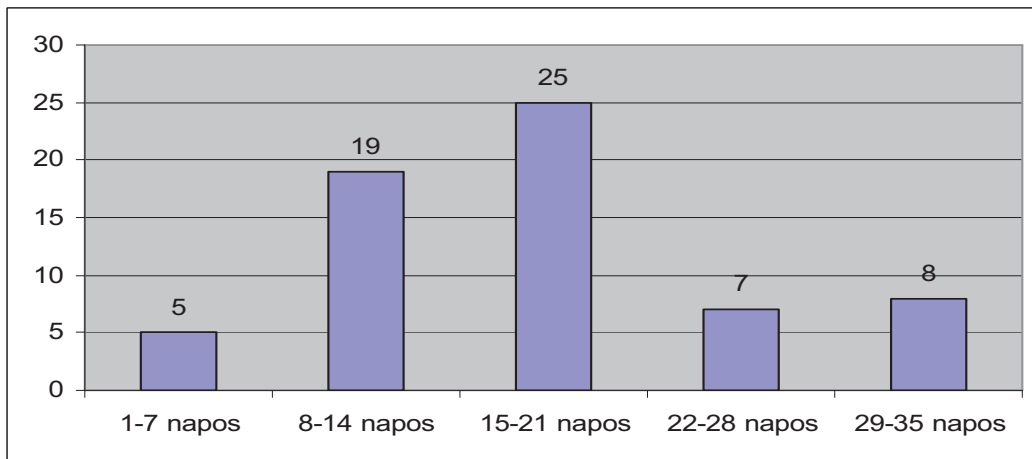
Rutindiagnosztikai vizsgálatra küldött, előnevelt (1-6 hetes életkorú) pulykák közül azokat választottuk, amelyeknél a kórelőzményi adatok és/vagy a boncolási lelet felvetették a vírusos bélgyulladás gyanúját. Ezek olyan állományokat (telepítéseket) reprezentáltak, amelyek kórelőzményében hasmenés, fejlődésben való visszamaradás, heterogén fejlettség és az elhullások emelkedése szerepelt. Olyan mintáink is voltak, ahol az állatokból célzottan kérték bizonyos enterális vírusok kimutatását.

A pozitívnak talált állományok egy részében ismételt mintaküldések (esetek) következtében lehetőség nyílt arra, hogy a fertőzöttséget hosszabb perióduson keresztül nyomon kövessük. Az előnevelt állományokból származó minták áttekintését az *1. táblázat* tartalmazza.

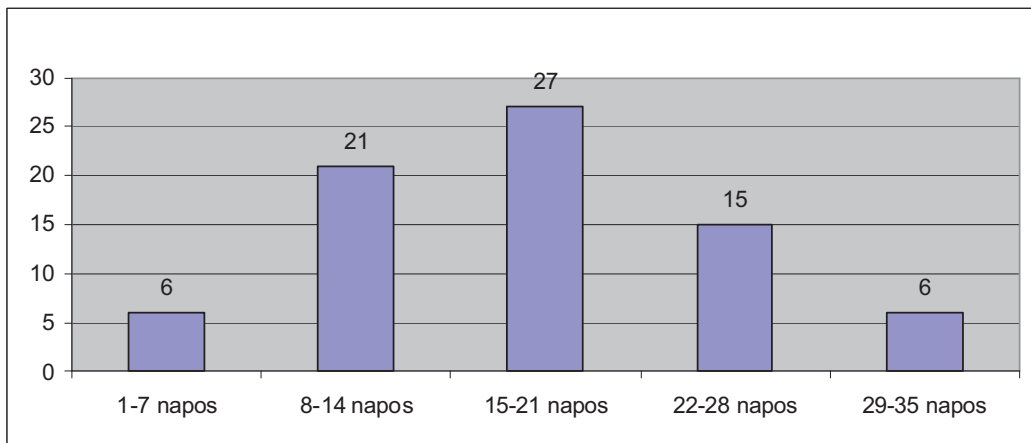
1. táblázat. Az előnevelt pulykaállományokból származó minták áttekintése

Vizsgálat éve	Vizsgált állományok száma	Vizsgált esetek száma	Vizsgált állatok száma
2005	71	78	714
2006	86	86	881
2007	57	57	690

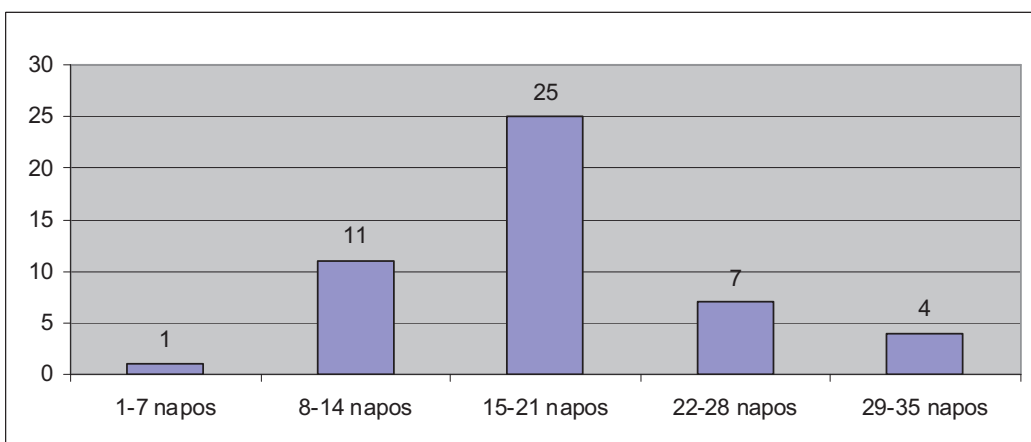
Az 5., 6., 7. ábrákon azoknak az előnevelt pulykáknak az életkor szerinti megoszlását tüntettem fel, amelyek esetén erről pontos adattal rendelkezem.



5. ábra. 2005-ben vizsgált előnevelt pulykák életkor szerinti megoszlása



6. ábra. 2006-ban vizsgált előnevelt pulykák életkor szerinti megoszlása



7. ábra. 2007-ben vizsgált előnevelt pulykák életkor szerinti megoszlása

A TCoV kimutatását utónevelt (>6 hét), hasmenés klinikai tüneteit mutató állományokból származó állatokból is megkíséreltük. Az utónevelt állományokból származó minták áttekintését a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat. Az utónevelt pulykaállományokból származó minták áttekintése

Vizsgálat éve	Vizsgált állományok száma	Vizsgált esetek száma	Vizsgált állatok száma
2005	13	13	78
2006	21	21	101
2007	10	10	55

Saját vizsgálatainkat a kezelő állatorvostól beszerzett járványtani adatokkal is kiegészítettük.

4.1.2. Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok

Az állatokat az intézeti diagnosztikában szokásos módon dolgoztuk fel. Állományonként rendszerint 5-15 állat került vizsgálatra. Testsúlyméréssel meghatároztuk az állatok korhoz, hasznosítási irányhoz viszonyított fejlettségi állapotát. Ezt követően részletes boncolást végeztünk. Ennek során gyűjtöttük a további vizsgálatra szánt különböző mintákat, amelyeket a feldolgozás céljának megfelelően tároltunk.

Kórszövettani vizsgálatot a pulykák vékonybelének különböző szakaszaiból, a bursa Fabriciiból, a thymusból, emellett főleg friss hullák, vagy elvéreztetett állatok esetén a hasnyálmirigyből, a mirigyesgyomorból, a májból, a lépből, a tüdőből, a veséből, a szívizomból és az agyvelőből végeztünk. A mintákat 4%-os pufferolt formaldehid oldatban fixáltuk. A mintákból részben fagyasztásos technikát alkalmazva, részben paraffinba való beágyazást követően készítettünk szövettani metszeteket. A mintákat haematoxilin-eozinnal festettük.

4.1.3. Bakteriológiai vizsgálatok

Rutin bakteriológiai vizsgálatot a szívvérből, májból, kisebb állatok esetén a csontvelőből végeztünk közönséges-, véres- és Drigalski-agaron, aerob körülmények között. A mintákat 37°C-on 24 órán keresztül inkubáltuk.

A vizsgált pulykák egy részének vékonybeléből Wilson agarba oltottunk. A szulfitredukáló és gázt termelő tenyészeteket Columbia véresagar felületére szélesztettük és 42°C-on 48 óráig anaerob körülmények (AnaeroGen, Oxoid, Anglia) között inkubáltuk.

4.1.3.1. Biokémiai vizsgálatok

Az *E. coli* és *Salmonella ssp.* tenyészetek biokémia sajátosságait az ún. 3-cső-próba segítségével határoztuk meg (Lassen, 1975). A véresagaron jellegzetes növekedést mutató (kettős haemolízis) tenyészetek mozgását mikroszkóp alatt vizsgáltuk, majd Gram szerint festettük. A véresagaron kettős haemolízist okozó, nem mozgó, szulfitredukáló, Gram pozitív pálcákat *Clostridium perfringens*nek határoztuk meg.

4.1.3.2. Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok.

A pulykákból izolált *E. coli*, illetve *Salmonella ssp.* törzsek gyógyszer-érzékenységi vizsgálatát, korongdiffúziós módszerrel végeztük (Bán, 1999).

4.1.4. Parazitológiai vizsgálatok

A pulykák rectumából, esetenként a szállítódobozok aljáról gyűjtött bélsármintákat, állományonként egyesítve, felszindúsítást követően, parazita fejlődési alakok jelenlétére vizsgáltuk (Kassai és mtsai., 1994).

4.1.5. Molekuláris diagnosztikai vizsgálatok

Pulykákban a keresett vírusok előfordulását molekuláris diagnosztikai módszerrel, polimeráz láncreakcióval (PCR), illetve reverz transzkripció PCR-rel (RT-PCR) vizsgáltuk, amihez a vékonybelek középső szakaszából származó, beküldésenként ötösével csoportosított mintákból kivont nukleinsavat használtuk.

A fagyasztott szervmintákból borsónyi darabokat steril dörzscsészében steril homokkal homogenizáltunk. A homogenizátumhoz 1:10 arányban DEPC-es vizet adtunk, majd Eppendorf csőbe töltöttük és 8000 fordulat/perc fordulatszámra 5 percig centrifugáltuk a sejttörmelék leüleptetésére.

A továbbiakban a minták felülúszóját használva, a nukleinsav kivonást az irodalomban leírt silica szuszpenziós módszerrel végeztük (Cheung és mtsai., 1994).

Egy újabb Eppendorf csőbe 900 µl lízis puffert és 27 µl silica szuszpenziót mértünk. Ehhez adtunk hozzá 200 µl-t a minta felülúszójából. Az elegyet vortexeléssel összekevertük, 10 percig szobahőmérsékleten állni hagytuk, majd 12000 fordulat/perc fordulatszámon 1 percig centrifugáltuk és a felülúszót elöntöttük. A pelletet kétszer 450 µl mosópufferben, kétszer 1 ml 70%-os etanolban majd egyszer 1 ml acetonban mostuk. Ezt követően a pelletet 56°C-on 10 percig szárítottuk. A nukleinsav eluálásához a pelletet 56°C-on 10 percig DEPC-es vízben reszuszpendáltuk, majd 12000 fordulat/perc fordulatszámon 3 percig centrifugáltuk. A felülúszót új Eppendorf csőbe mértük és a további vizsgálatokhoz ezt használtuk.

Mivel az általunk keresett vírusok nagyjából RNS vírusok voltak a vírusnukleinsavról reverz transzkripcióval komplementer DNS-t (c-DNS-t) kellett szintetizálni. A szintézis során a reverz transzkriptáz enzim előállítója által javasolt protokollt követtük.

Mintánként egy-egy Eppendorf csőbe 4,5 µl DEPC-es vizet, 1,5 µl random hexamert (Invitrogen, USA) és 5 µl mintát mértünk. Az elegyet 10 percig 70°C-on tartottuk, majd felhasználásig 4°C-ra hűtöttük. Ezzel párhuzamosan egy másik csőbe 1 µl DEPC-es vizet, 10 µl 2 mM-os dNTP oldatot, 6 µl 5x-ös reakció puffert (Fermentas, Litvánia) és 1 µl RN-áz inhibitor (Biosciences, USA) mértünk. A két cső tartalmát elegyítettük és 25°C-on 5 percig inkubáltuk. Ezt követően az elegyhez 1 µl M-MuLV reverz transzkriptáz (Fermentas, Litvánia) enzimet tettünk és a reverz transzkripciót a következő kondíciókkal végeztük: 10 perc 25°C-on, 60 perc 42°C-on 10 perc 70°C-on. A mintákat a PCR reakció elvégzéséig 4°C-on, a fel nem használt mintákat -80°C-on tároltuk.

A PCR reakciót 50 µl végtérfogatban végeztük, amely 25 µl GoTaq Green Master Mixet (Promega, USA), 16 µl DEPC-es vizet, 2-2 µl 250 µM koncentrációjú reverz, illetve forward primert és 5 µl mintát (c-DNS) tartalmazott. Az alkalmazott ciklusok a következők voltak: 1x 95°C/5 perc; 35x (94°C/30 sec, 53°C/30 sec, 72°C/45 sec); 1x 72°C/5 perc. A reverz transzkripciót és a PCR reakciót TouchDown™ Temperature Cycling System készülékben (Hybaid, USA) végeztük.

A PCR termékeket 1,5%-os 5 µg/l etidium bromidot tartalmazó agarózgélben elektroforézist követően detektáltuk. A molekulatömeg meghatározásához DNS létrát (O'RangeRuler™ 100 bp DNA Ladder, Fermentas, Litvánia) használtunk.

A reakciók elvégzéséhez az intézeti hálózatban az adott vírusok detektálására használt primer párokat alkalmaztuk (3. táblázat). Ezek közül a TCoV, a TAsV-1 és az ARoV kimutatására az OÁI-ban tervezett, míg TAsV-2 kimutatására irodalmi primer párokat használtunk (Koci és mtsai., 2000b).

A primerek specificitását a PCR termékek szekvenálásával ellenőriztük. A kapott szekvenciákat BLASTN (National Center for Biotechnology Information,

<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) homológiakereső programmal azonosítottuk. Mivel kezdetben pozitív minták a legtöbb esetben nem álltak rendelkezésünkre, általános baromfi coronavirus, ill. rotavírus rendszereket használtunk, majd az első pozitív pulyka minták ellenőrzését szintén a PCR termékek szekvenciasorrendjének meghatározásával végeztük (ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer, Biomi Kft. Gödöllő). Mivel minden esetben megfelelő nukleotidsorrendet kaptunk, a későbbiekben ezeket a mintákat, illetve az ezekből a mintákból készült vírustenyészeteket használtuk pozitív kontrollként.

Az utónevelt pulykaállományok közül azokban, amelyekben előzetes vakcinázásra nem volt adat a TCoV mellett, a pulykák vérzéscsillós bélgyulladás vírusának (HEV) jelenlétét szintén molekuláris biológiai módszerekkel vizsgáltuk. A DNS kivonását a fentiekben leírt módon végeztük. Az amplifikáláshoz a hexon génre tervezett primer párokat használtuk (Palya és mtsai., 2007). A reakciókörülmények a fentiekkel megegyezők voltak.

3. táblázat. A vírusok kimutatására használt primerek leírása

Név	Primer pár szekvenciája	Célzott gén	Termék nagysága
TCoV	5'-GGTAGCGGTGTTCTGATAA-3 5'-GRACTAGGTTGAGCATTGCTGT-3	nukleokapszid	670 bp
TAstV-1	5'-AACCTGGACTCAACACCTGG-3 5'-CAATTCTGGTGGTATGGTGC-3	polimeráz	410 bp
TAstV-2	5'-TCATCATCCTCTCACACTGG-3 5'-AGCAGCAGTAGGTGGCAGTG-3	kapszid	842 bp
ARoV	5'-GAACACTCGGAACGACCTTA-3 5'-CCACGTATTCAAGCCATCAG-3	VP6	550 bp
HEV	5'-GATGGAGCAAGCATTTCAGTT-3 5'-CTCTGTCCAAGGTCAGTCAA-3	hexon	896 bp

A TCoV pozitívnak talált minták egy részéből a CEVA-Phylaxia virológiai részlegének segítségével vírusizolálást is megkíséreltünk.

4.2. Ludak intestinalis spirochaetosis (AIS)

4.2.1. Vizsgálati minták

A kutatás során feldolgozott minták részben az MGSZH ÁDI kaposvári kórbonctani osztályára, részben az MGSZH ÁDI budapesti baromfibetegségek laboratóriumába érkezett vizsgálati anyagból származtak.

A megbetegedéseket először két (A és B állomány), első tojástermelési ciklusát befejező állományban észleltük. Az „A” jelzésű állományból 3 különböző alkalommal összesen 8 lúdhulla, a „B” jelzésű állományból ugyancsak 3 alkalommal 7 elhullott és 5 élő állat került vizsgálatra. Ezt követően az ország különböző területeiről érkező, jellegzetes kórbonctani elváltozásokat (fibrines-elhalásos vakbél- és remesebél-gyulladás) mutató állatokból célzottan kíséreltük meg a *Brachyspira*-fajok kimutatását.

4.2.2. Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok

Az állatokat az intézeti diagnosztikában szokásos módon dolgoztuk fel. Testsúlyméréssel meghatároztuk az állatok korhoz, hasznosítási irányhoz viszonyított fejlettségi állapotát. Ezt követően részletes boncolást végeztünk. Ennek során gyűjtöttük a további feldolgozásra szánt különböző mintákat, amelyeket a feldolgozás céljának megfelelően tároltunk.

Kórszövettani vizsgálatot a vakbélből, a vastagbélből, a májból és a veséből, alkalmoszerűen a hasnyálmirigyből, a lépből, a szívizomból, és az agyvelőből végeztünk. A mintákat 4%-os pufferolt formaldehid oldatban fixáltuk. A mintákból részben fagyasztásos technikát alkalmazva, részben paraffinba való beágyazást követően készítettünk szövettani metszeteket. A mintákat rutinszerűen haematoxilín-eozinnal festettük, amit a metszetek egy részénél Giemsa festéssel és Warthin-Starry festéssel is kiegészítettünk.

4.2.3. Immunhisztokémiai vizsgálatok

Immunhisztokémiai vizsgálatokat a vakbelekből és remesebelekből készített metszeteken végeztünk. A vizsgálatokat kereskedelmi forgalomban kapható FITC-el jelölt nyúl immunszérummal végeztük (National Veterinary Services Laboratories, USA). A szérum leptospirák kimutatására készült. Specifitását 13 másik baktériumfajjal tesztelték és a leptospirákhoz hasonló intenzív reakciót csak egyetlen baktériumfaj, a *B. hyodysenteriae*

esetén kaptak (Miller és mtsai., 1989.). A szérum használhatóságát egy *B. alvinipulli* tenyészetből tárgylemezre készített preparátumon teszteltük, amihez a jelölt ellenanyag képes volt kötődni.

A deparaffinálást követően a metszeteket citrát-puffer oldatban (pH 6), mikrohullámú sütőben (750 W, 20 perc) melegítettük. Ezt 10 percig 3%-os H₂O₂ oldatban, majd ugyanennyi ideig tartó 2%-os tejporoldatban való kezelés követte 37°C-on.

A metszeteket 1:10000 arányban hígított, jelölt nyúl immunszérummal 30 percig 37°C-on inkubáltuk. Az antigén-ellenanyag kapcsolódás kimutatása torna peroxidázal jelölt polimert tartalmazó teszt (EnVision™+ anti-rabbit HRP, Dako, Dánia) felhasználásával történt. Kromogénként 3-amino-9-etilkarbazol oldatot használtunk, a kontrasztfestést Mayer-féle haematoxilinnel végeztük. A pozitív kontroll egy sertésdysenteriában elhullott sertés vastagbele volt, míg a negatív kontrollban a *Brachyspira* specifikus ellenanyagot foszfát pufferra cseréltük.

4.2.4. Bakteriológiai vizsgálatok

Rutin bakteriológiai vizsgálatot a szívvérből, májból végeztünk közönséges-, véres- és Drigalski-agaron, aerob körülmények között. A mintákat 37°C-on 24 órán keresztül inkubáltuk.

Az elváltozott vakbelekből, remesebelekből a brachyspirák szelektív kitenyésztésére élesztőkivonattal, antibiotikumokkal (6,25 µg/ml vancomycin, 6,25 µg/ml colistin, 25 µg/ml spiramycin, 12,5 µg/ml rifampicin és 200 µg/ml spectinomycin) és 5% juhvérral kiegészített tripton és szójakivonatot tartalmazó agart (Trypton Soy agar CM131, Oxoid, Anglia) használtunk.

A tenyészeteket anaerob körülmények között (AnaeroGen, Oxoid, Anglia) 42°C-on 4-6 napig inkubáltuk. A baktériumok alakját és mozgását sötétlátóteres mikroszkópban vizsgáltuk.

A növekedést mutató lemezokról, a felkenés széli részéről 5% juhvért tartalmazó Columbia agar felületére szélesztettünk, majd a tenyészeteket a fenti módon inkubáltuk. A továbboltott tenyészetekből Gram szerint festett keneteket készítettünk, így ellenőrizve azok tisztaságát a biokémiai vizsgálatok elvégzése előtt.

4.2.4.1. Biokémiai vizsgálatok

A *Brachyspira* törzsek biokémiai sajátosságai közül a hippuráthidrolízist, az α-galaktozidáz-, α-glukozidáz- és β-glukozidáz-termelést Rosco diagnosztikai tabletták (Rosco,

Dánia) segítségével határoztuk meg a gyártó utasításainak megfelelően. Az indol reakciót indolreagenssel (1 g p-dimetil-amino-cianoaldehyd 100 ml 10% sósavban oldva) átitatott szűrőpapíron vizsgáltuk.

4.2.4.2. Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok.

A *Brachyspira* törzsek tiamulin-, lincomycin- és amoxycillin-érzékenységét agar-hígításos, míg tetracyclin- és erythromycin-érzékenységét E-teszt (AB BIODISK, Svédország) módszerrel határoztuk meg. Mindkét esetben 5% juhvérrel kiegészített TSA agart használtunk. A vizsgálandó törzs Columbia agaron növe friss tenyészetét 2ml steril fiziológiás sóoldattal mosva McFarland 3 sűrűségű szuszpenziót készítettünk. Ebből steril tamponnal, 6,5 mm átmérőjű Petri-csészében lévő TSA felületére szélesztettük. A táptalajok az egyes antibiotikumokat az alábbi koncentrációkban tartalmazták: 0,1, 0,5, 1, 2, 5 µg/ml koncentrációjú tiamulin, 10, 20, 50, 100 µg/ml koncentrációjú lincomycin, 1, 2, 5, 10 µg/ml koncentrációjú amoxycillin. Az oxytetracyclin és erythromycin különböző hígításait tartalmazó E-test csíkokat a gyártó utasításainak megfelelően a fenti módon beoltott antibiotikummentes TSA agarok felületére helyeztük.

4.2.5. Kísérleti állatfertőzés

A *Brachyspira alvinipulli* patogenitásának meghatározásához kísérleti állatfertőzést végeztünk. A kísérlethez 30 napslibából véletlenszerűen három tízes csoportot alakítottunk ki (A, B, C csoportok). Az „A” jelzésű csoport állatait *Brachyspira alvinipulli*, a „B” jelzésű csoport állatait *Brachyspira hyodysenteriae* tenyészetével fertőztük szájon keresztül. A fertőzéshez a tenyészetekből McFarland 3 sűrűségű hígítást készítettünk, ami 5×10^8 CFU/ml fertőző dózissal felelt meg. A „C” jelzésű csoport állatai szolgáltak kontrollként.

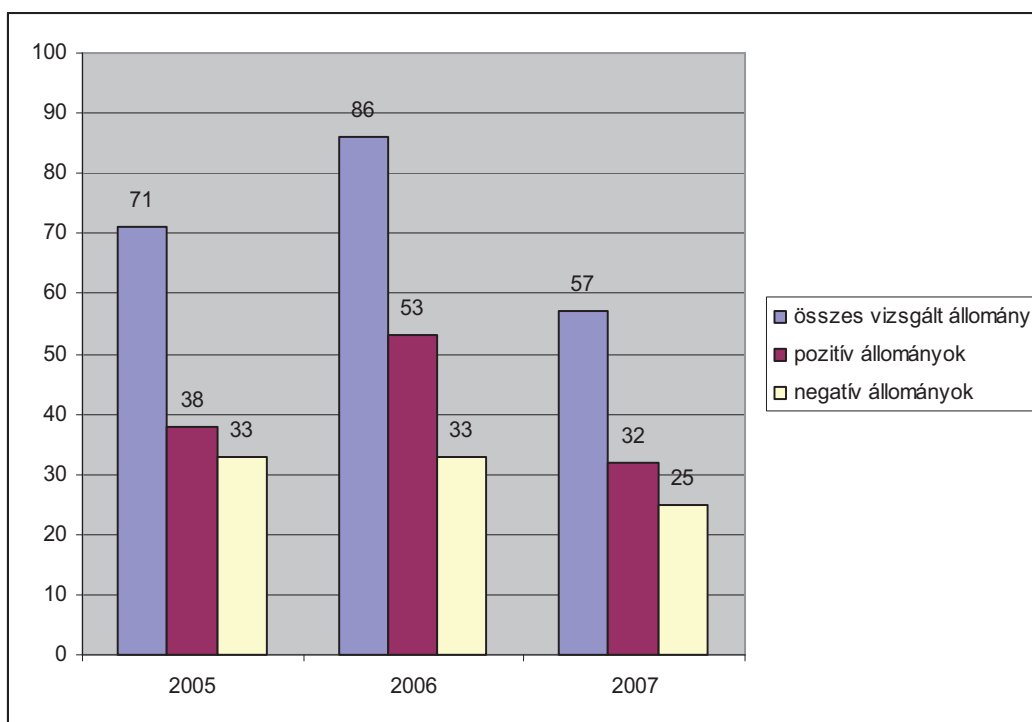
Az állatok testsúlyát hetente mértük. A fertőzést követő első és második hét végén minden csoportból 3-3, a harmadik és ötödik hét végén minden csoportból 2-2 állatot elvéreztettünk. Az elvéreztetett állatokat boncoltuk, a májból, lépéből, veséből valamint a csípőbélből, vakbélből és remesebélből szövettani és immunhisztokémiai vizsgálatok céljára mintát vettünk és 4%-os pufferolt formaldehyd oldatban fixáltunk.

A brachyspirák visszaizolálását a csípőbél, vakbél és vastagbél nyálkahártyájáról, illetve a 14. napon kiirtott állatok veséjéből kíséreltük meg a korábban leírt eljárás szerint.

5. Eredmények

5.1. Kispulykák enterális kórképe

2005-ben 38 (51%), 2006-ban 53 (62%), míg 2007-ben 32 (57%) előnevelt állományt találtunk a vizsgált vírusok (TCoV, TAsTV-1, TAsTV-2, ARoV) legalább egyikével fertőzöttnek (8. ábra).



8. ábra. A fertőzöttség alakulása a vizsgált előnevelt állományokban

A TCoV előfordulására vizsgált utónevelés alatt pulykaállományok közül 2005-ben 6 (46%), 2006-ban 7 (33%), 2007-ben 3 (30%) bizonyult TCoV-val fertőzöttnek.

A TCoV pozitív és a többi vizsgált vírusra pozitív állományok eredményeit külön tárgyalom.

5.1.1. A TCoV-val fertőzött állományok vizsgálati eredményei

A vizsgált időszakban a TCoV-ot 6 előnevelt és 16 utónevelt állományból származó mintában mutattuk ki. Az előnevelt állományokban a TCoV két esetben más vírussal (TAsTV-1) együtt fordult elő, míg a TCoV pozitív, utónevelt állományokban az egyidejűleg vizsgált másik vírust (HEV) kimutatni nem tudtuk.

A fertőzöttnek talált állományok, a későbbi vizsgálatok alapján, két, jól elkülöníthető csoportot alkottak. Az egyik csoportba azok tartoztak amelyekben 2 hetes vagy annál fiatalabb, míg a másikba azok, amelyekben 4 hetes vagy annál idősebb korban történt a fertőzöttség megállapítása. Az első csoportba 3 állomány tartozott (A, B, C). Ezekben ismételt mintaküldések következtében lehetőségünk nyílt a betegség kórfejlődésének hosszabb időn keresztül megfigyelésére. Az „A” jelzésű állományból 5 alkalommal kaptunk vizsgálati anyagot. Az észlelt kórbonctani elváltozásokat a 4. táblázatban tüntettük fel és a 9., 10., 11., 12., 13., 14. ábrákon mutatjuk be.

4. táblázat. Kórbonctani elváltozások az „A” jelzésű állományban

Életkor (nap)	Intézetben vizsgált állatok száma (db)	KÓRBONCTANI ELVÁLTOZÁSOK („A” állomány)						
		Sziktómlő visszamaradás	Üres emésztő csatorna	Vékonybél hurut	Habos-vizes vakbél tartalom	Bursa Fabricii fibrines gyulladás	Lépduzzanat	Fibrines szívburok- és légzsák-gyulladás
4	14	+	+					
11	36		+	+	+			
15	40		+	+	+	+ (2)*	+	+
20	32			+	+ (9)	+ (2)	+	+
32	20			+		+ (1)	+	+

* A zárójelbe tett számok azt mutatják, hogy a vizsgált állatok közül mennyiben fordult elő az adott elváltozás. Ahol nincs jelzés, ott mindegyikben.



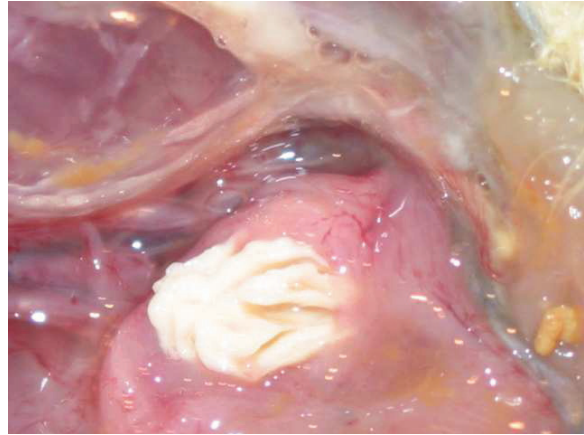
9. ábra. Alommal telt zúzógyomor



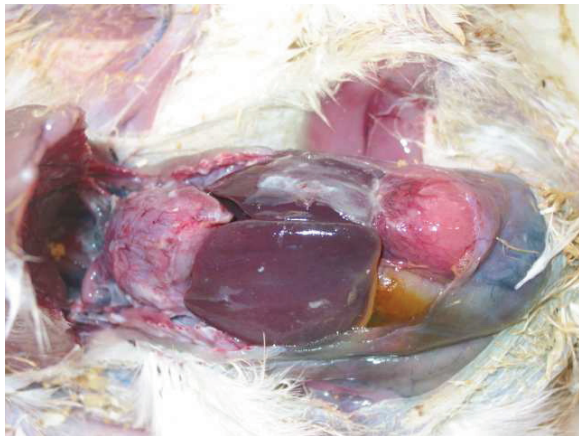
10. ábra. Vékonybélgyulladás



11. ábra. Híg habos vakbél tartalom



12. ábra. Fibrin felhalmozódás a bursa Fabricii üregében

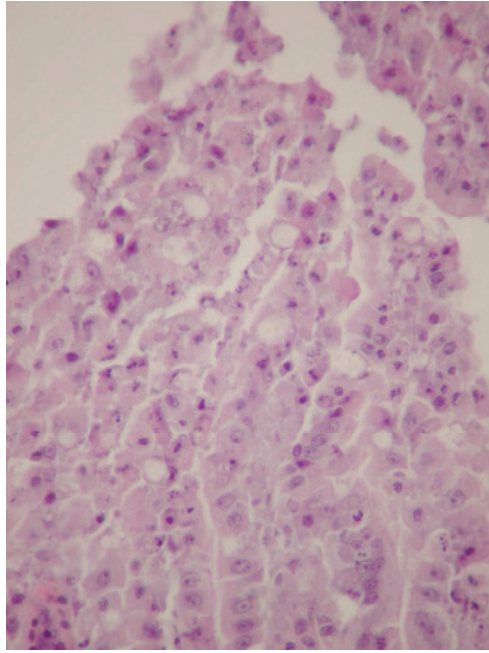


13. ábra. Bakteriális szövődmény következtében kialakult fibrines elváltozások

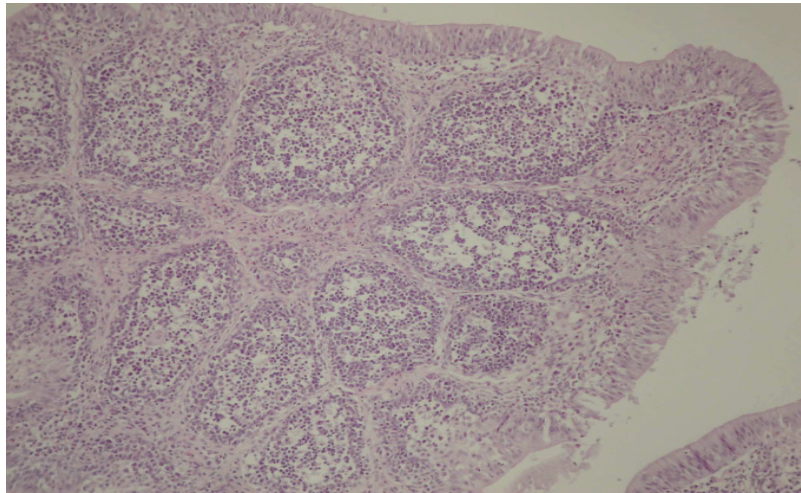


14. ábra. Heterogén fejlettség

Kórszövettani vizsgálattal a 11. és 15. napos életkorban küldött állatok vékonybeléből készült metszetekben a bélbolyhok csúcsi részén a hámsejtek elfajulását, leválását, a kehelysejtek megduzzadását és a propriaréteg gyulladós beszűrődését találtuk (15. ábra). A bursa Fabricii-ben a nyálkahártyaredők hámrétegében elfajulást, hámleválást, a lymphoid folliculusokban súlyos lymphocita kiürülést és apoptosist, az interstitiumban gyulladós sejtes beszűrődést figyeltünk meg (16. ábra). Egyéb vizsgált szervekben nem volt a vírusfertőzéssel összefüggésbe hozható elváltozás.



15. ábra. A hámsejtek leválása a bélbolyhok csúcsi részén (H.-E. 400X)

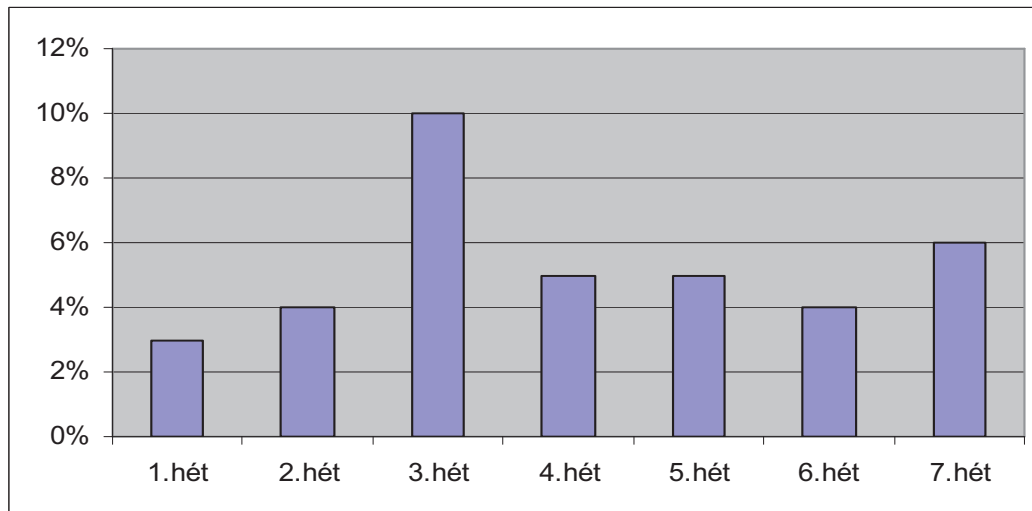


16. ábra. A bursa folliculusaiban lymphocytá kiürülés, az interstitiumban gyulladás (H.-E. 200X)

A 4 és 11 napos állatok bakteriológiai vizsgálata negatív eredményű volt. A 15 napos állatokból 5 esetben (12,5%), a 20 napos állatokból 19 esetben (59%), a 32 napos állatokból 12 esetben (60%) *E. coli* baktériumokat izoláltunk. A bakteriális szövődmények száma a rezisztencia vizsgálati adatoknak megfelelően végzett célzott antibiotikum kezelések ellenére emelkedett.

A 11, 15, 20 és 32 napos állatok csoportosított vékonybélmintáiból elvégzett RT-PCR vizsgálattal a coronavírusokat valamennyi vizsgált életkorú csoportban kimutattuk.

20 napos kortól kezdve kifejezett szétnövés jelentkezett, emellett az elhullás folyamatos volt. Az állomány egy részét a szokásos 6 hét helyett 7 hetes korban lehetett utónevelésre kiadni. Eddig az időpontig a letelepített állomány 33%-a hullott el. A heti elhullási adatokat a letelepített létszám százalékában a 17. ábra mutatja.



17. ábra. Heti %-os elhullási adatok az „A” jelzésű állományban

A „B” és „C” jelzésű állományokban a fentiekhez hasonló jellegű és mértékű elváltozásokat tapasztaltunk. A „B” jelzésű állományban az *E. coli* baktériumok mellett, közelebről meg nem határozott *Salmonella* szerotípusok is szerepet játszottak a bakteriális szövödmények kialakításában. A „C” jelzésű állományban az elhullás, illetve a fejlődésben való visszamaradás mértéke olyan fokú volt, hogy a megmaradt állatokat az előnevelés végén kiirtották.

A második csoportba tartozó 19 állomány (D-Z), (3 előnevelt, 16 utónevelt) esetén a vírus kimutatása 4 hetes kor felett történt. A kórelőzményben súlyos, csillapíthatatlan hasmenés, szétnövés szerepelt, illetve a fejlődési erély alacsonyabb volt a technológiailag elvárható szintnél.

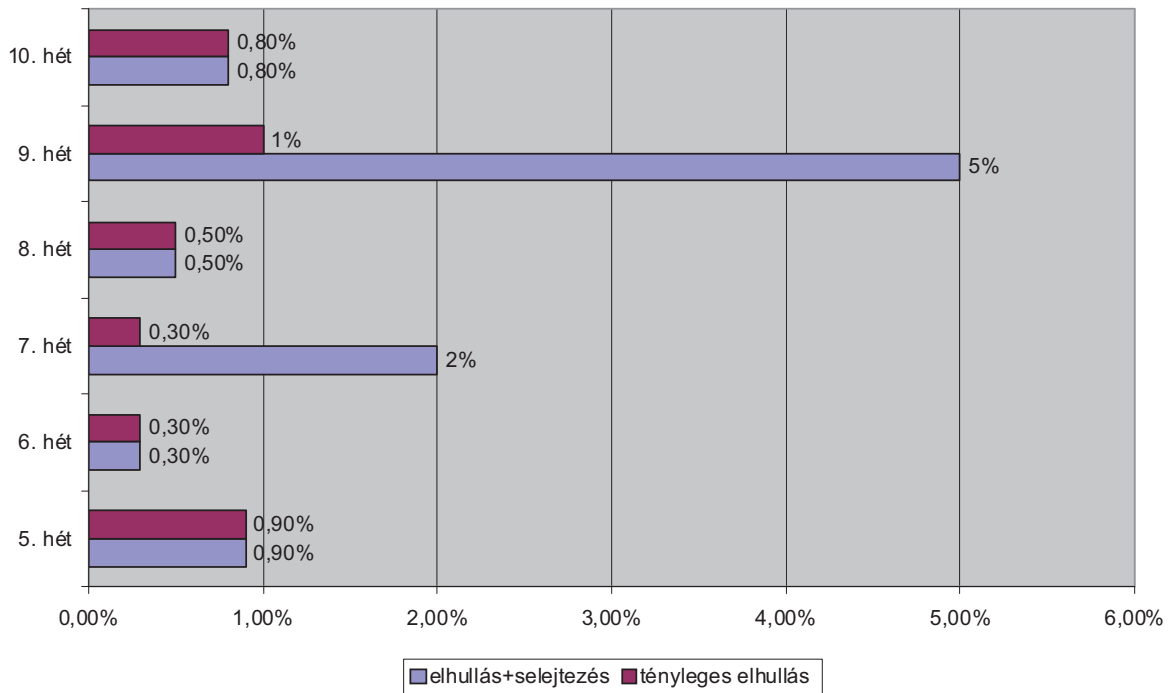
Az állatok kórbonctani vizsgálata során a fejlődésben való visszamaradás, a vékonybélhurut és a kitágult vakbelekben felhalmozódó vízszerű tartalom mellett, 4 állományban (E, F, I, P) fibrines szívburok- és légzsákgyulladást, 1 állományban tüdőaspergillost (J) állapítottunk meg.

A vékonybelek, illetve a bursa Fabricii kórszövetteni vizsgálatával az „A” állományban megfigyeltekhez hasonló, de azoknál enyhébb fokú elváltozásokat találtunk.

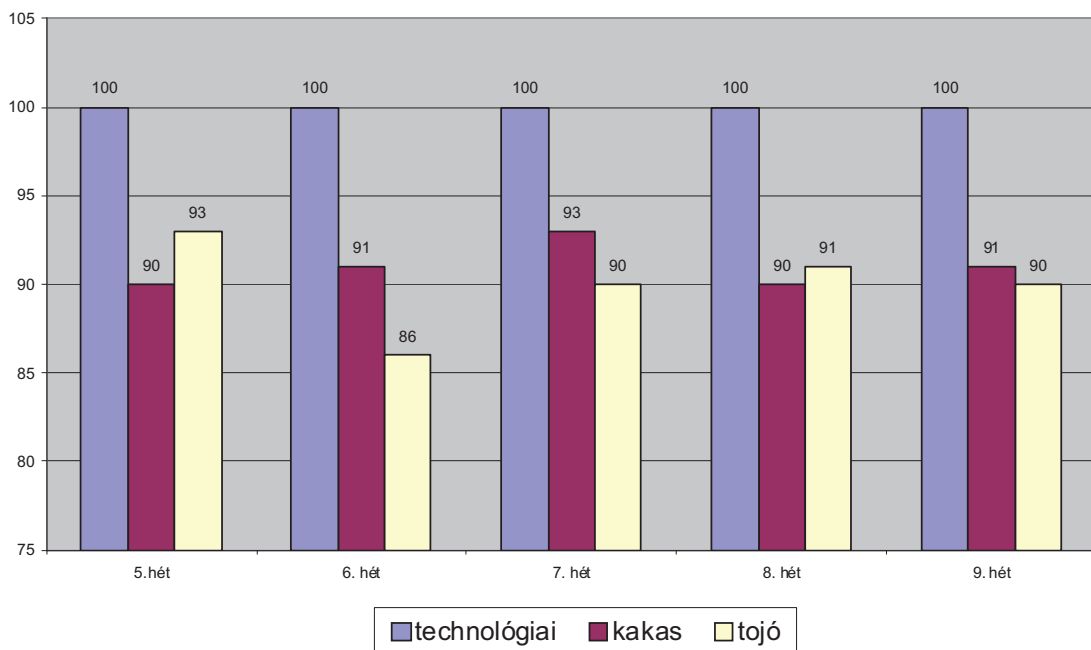
A fibrines elváltozásokat mutató állatokból *E. coli* baktériumokat tenyésztettünk ki.

Ebből a csoportból a „H”, „L” és „M” jelzésű állományokból vannak részletes elhullási, illetve termelési adataink. Ezek egy-egy jellegzetes példáját mutatja a 18. és 19. ábra.

A többi esetben a vírusfertőzés következményeinek megítélésében a beküldő kolléga szóbeli közlésére hagyatkoztunk.



18. ábra. A „H” jelzésű állomány elhullásból és a visszamaradt állatok selejtezéséből származó veszteségei a vizsgált időszakban



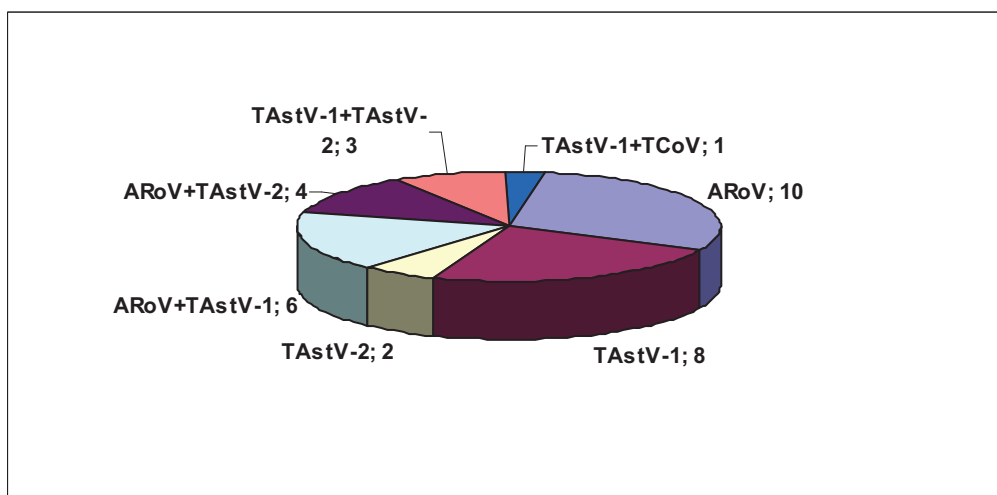
19. ábra. A „H” jelzésű tojók és kakasok testtömeg-gyarapodása a vizsgált időszakban a technológiailag elvárt testtömeg százalékában

Négy pozitívnak talált mintából embrionált pulykatojás-oltással sikerült a vírust izolálni és RT-PCR-rel igazolni annak szaporodását az oltott embriók vékonybelében. Ugyanakkor LMH (chicken hepatocellular cell line) szövettenyészetek oltásával háromszori vakpasszázst követően sem tudtunk kimutatni TCoV-t, vagy egyéb citopatogén ágenszt.

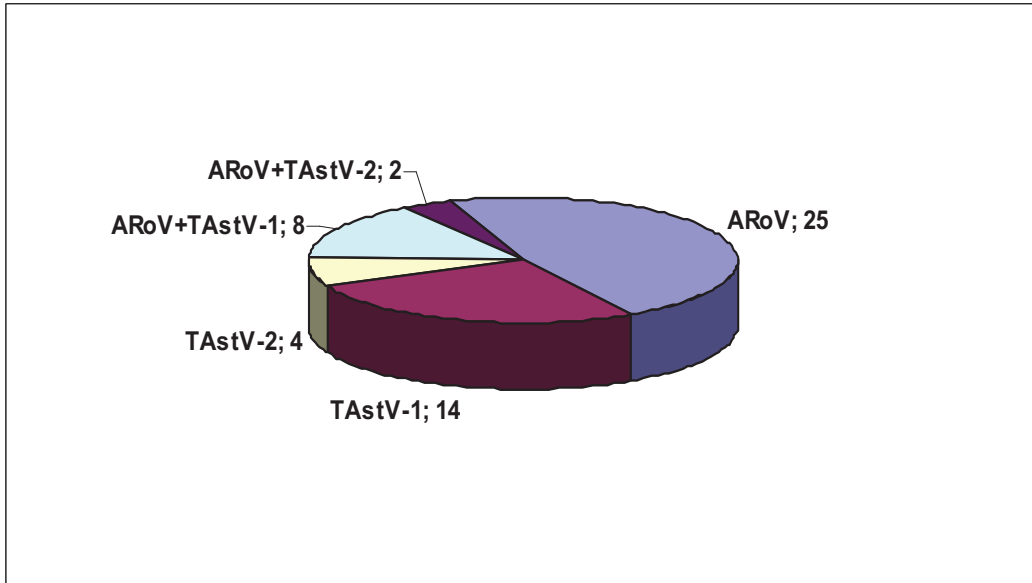
5.1.2. A TAstV-1, TAstV-2 és/vagy ARoV fertőzöttnek talált állományok vizsgálati eredményei

2005-ben a vizsgált állományok 48%-a (34/71), 2006-ban 62%-a (53/86), 2007-ben 56%-a (32/57) bizonyult madár rotavírussal és/vagy pulyka astrovírussal fertőzöttnek. A pozitívnak talált állományok 71%-ában önálló, míg 29%-ában kombinált vírusfertőzést állapítottunk meg.

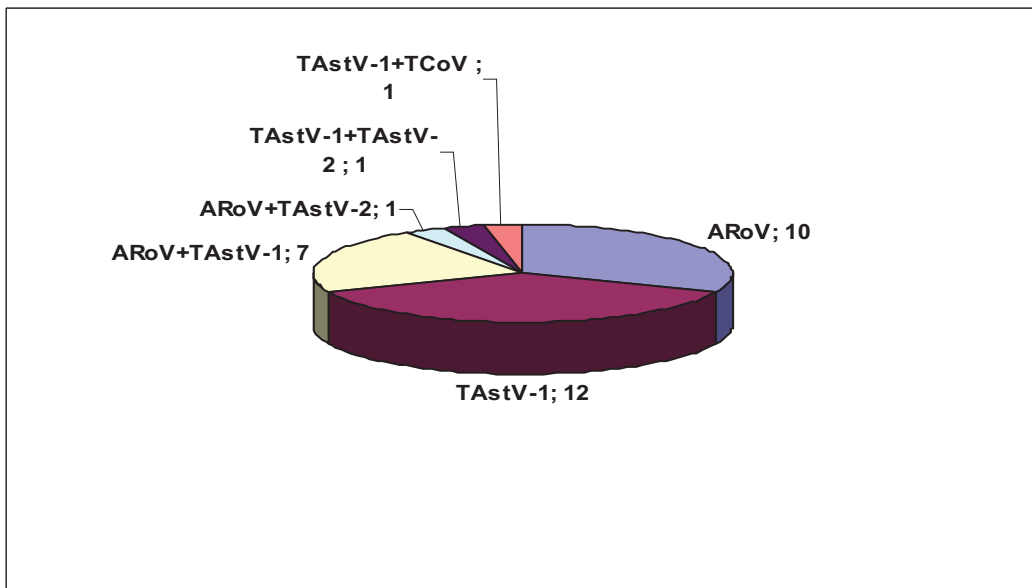
A pozitívnak talált állományokban leggyakrabban önálló ARoV fertőzöttséget (2005-ben 14%, 2006-ban 29%, 2007-ben 18%) és önálló TAstV-1 fertőzöttséget (2005-ben 11%, 2006-ban 16%, 2007-ben 21%) tudtuk kimutatni. Kevert fertőzések esetén is e két vírus kombinációja volt a leggyakoribb (2005-ben 8%, 2006-ban 9%, 2007-ben 12%). A vizsgált 3 évben a TAstV-2 fertőzés önálló formában ritkábban fordult elő (5%), mint valamilyen más vírussal kombinációban (9%) (20., 21., 22. ábra).



20. ábra. 2005-ben vizsgált astro- és/vagy rotavírussal fertőzött állományok megoszlása

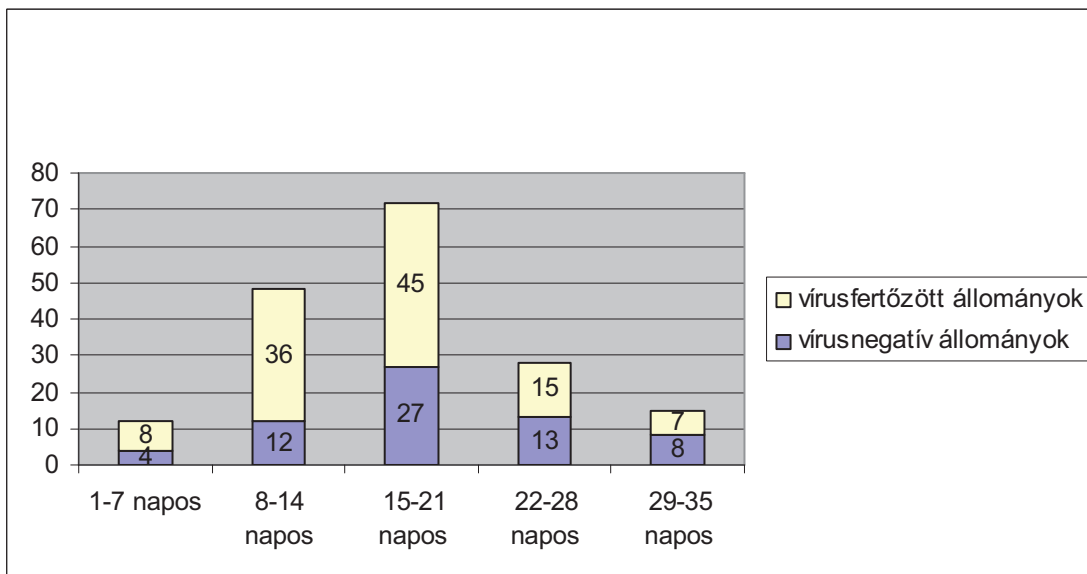


21. ábra. 2006-ban vizsgált astro- és/vagy rotavírussal fertőzött állományok megoszlása



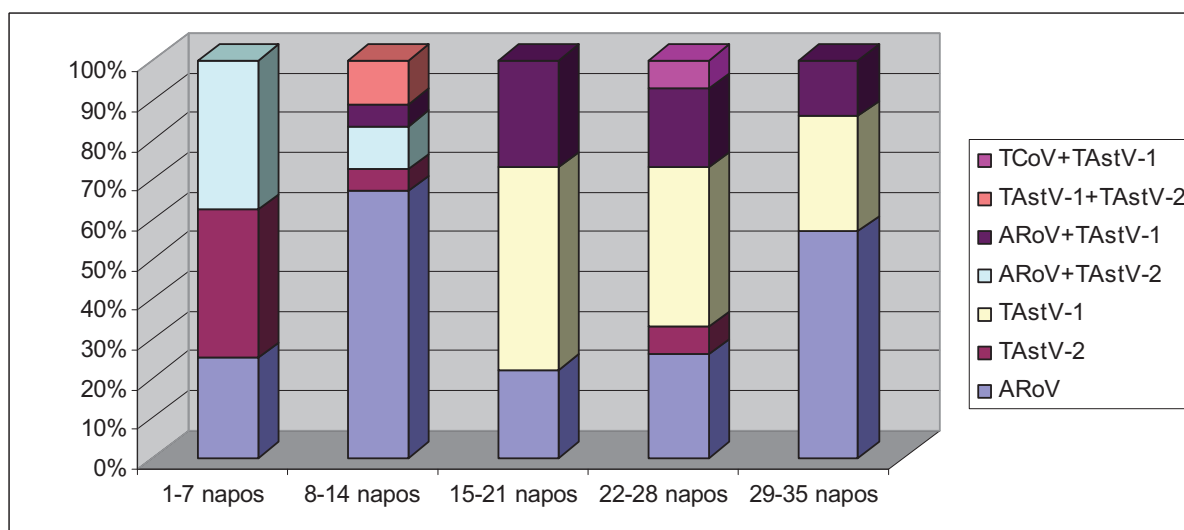
22. ábra. 2007-ben vizsgált astro- és/vagy rotavírussal fertőzött állományok megoszlása

Legnagyobb számban 1-3 hetes életkorú előnevelt madarakat kaptunk vizsgálatra és az enterális vírusfertőzöttség is ebben a korcsoportban volt a legnagyobb arányú (23., ábra).



23. ábra. 2005-2007-ben vírusfertőzöttnek (TCoV nélkül), illetve negatívnak talált előnevelt állományok életkor szerinti megoszlása

Azt, hogy a vírusfertőzöttnek talált előnevelt állományokban az egyes vírusokat (önálló TCoV nélkül), illetve azok kombinációit milyen életkorban mutattuk ki, a 24. ábrán mutatom be.



24. ábra. A vírusfertőzöttnek talált előnevelt állományokban az egyes vírusok kimutatásának életkor szerinti megoszlása 2005-2007-ben a pozitív állományok %-ban

Az 5. táblázat az adott évben a legfiatalabb, illetve legidősebb állomány életkorát mutatja, amelyben egy adott vírusfertőzés (TCoV nélkül), vagy vírusfertőzés kombináció megállapításra került.

5. táblázat. A legfiatalabb és legidősebb állomány életkora (nap) amelyből az adott vírusfertőzés megállapításra került

	2005	2006	2007
ARoV	12-21 nap	6-35 nap	9-35 nap
TAstV-1	18-32 nap	18-28 nap	15-30 nap
TAstV-2	14-24 nap	5-14 nap	
ARoV+TAstV-1	15-25 nap	13-30 nap	14-25 nap
ARoV+TAstV-2	7-10 nap	7-8 nap	7 nap
TAstV-1+TAstV-2	8-12 nap		14nap

Az önálló TAstV-2 fertőzés már egyhetesnél fiatalabb madarakban megjelent és kéthetes koron túl, egyetlen állomány kivételével, nem tudtuk megállapítani. Ez olyan állományokra is igaz volt, ahol a TAstV-2 más vírussal kombinálódva fordult elő. Az önálló TAstV-1 fertőzöttséget leggyakrabban 3 hetes kor körüli állományokban detektáltuk. Kombinált fertőzések esetén e vírusok kimutatása is fiatalabb, kéthetes életkorra tolódott. Az önálló ARoV fertőzöttség megjelenését a fentiekhez hasonló tendencia nem jellemezte, az a legkülönbélebb életkorú előnevelt állományokból kimutatható volt. Amíg a TAstV-1, a TAstV-2 és ezek különféle kombinációi esetén – az összes vizsgált állományt figyelembe véve – a legkorábbi és a legkésőbbi megállapítás között durván 2 hét különbség volt, addig ez az önálló ARoV fertőzöttség esetén 4 hét időtartamot is kitett.

Az állományok oldaláról vizsgálva ugyanezt a kérdést azt figyeltük meg, hogy a fertőzöttség már egyhetesnél fiatalabb állományokban megjelent. Ezt főleg a TAstV-2 önállóan, vagy ARoV-val kombinációban okozta. 8 és 14 napos kor között megnőtt a csak ARoV-val fertőzöttnek talált állományok száma. 14 és 28 napos kor között az ARoV, a TAstV-1, illetve e két vírus kombinációja volt kimutatható a leggyakrabban a fertőzöttnek talált állományokból, azzal a megfigyeléssel, hogy 3 hetes életkor közelében uralkodóvá vált az önálló TAstV-1 fertőzöttség. 4 hetes kor után ismét dominálóvá vált az önálló ARoV fertőzöttség.

A vizsgálatra került elhullott állatokban általában üres, vagy csak alommal telt zúzógyomrot, vékonybélhurutot, a vékonybél illetve a vakbél tágulatát, főként a vakbélben, habos-gázos tartalom felhalmozódását, emellett exsiccosis jeleit lehetett megfigyelni (25., 26. ábra). Az állatok egy részében a fentiek mellett bakteriális társfertőzés következtében lépduzzanat, savós-fibrines légzsákgyulladás, esetenként savós-fibrines szívburokgyulladás alakult ki.



25. ábra. Vékonybélgyulladás TAsTV-1 fertőzött pulykában

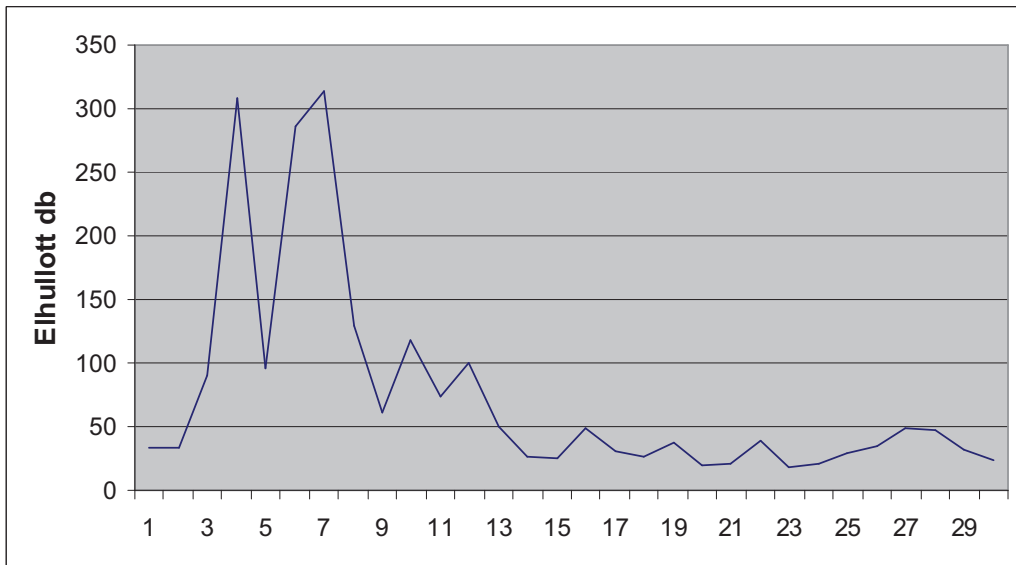


26. ábra. Világos-habos vakbél tartalom ARoV fertőzött pulykában

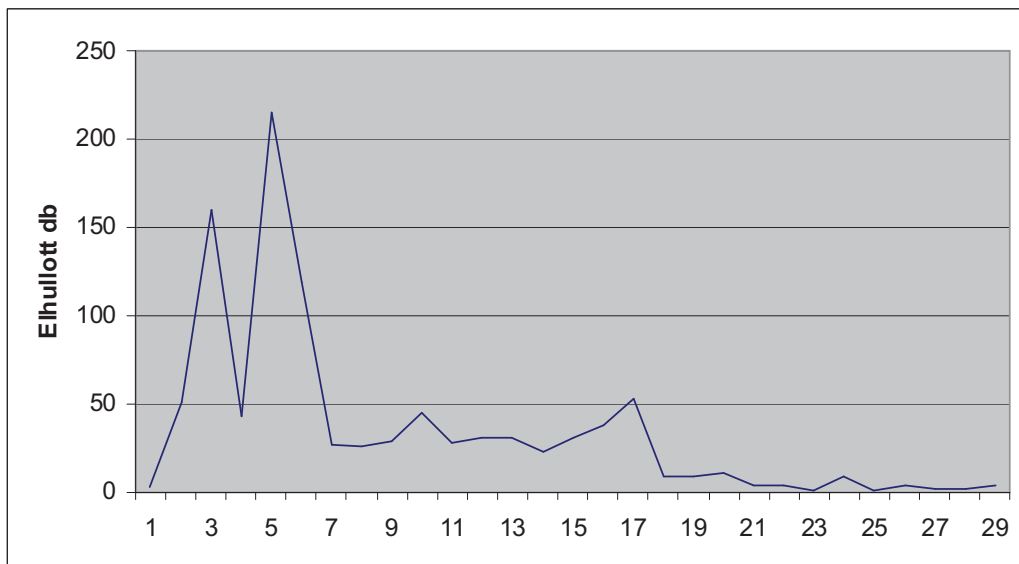
Szövetteni vizsgálattal, a vékonybelek nyálkahártyájának ödémás beivódását, a vékonybelek mirigyhámsejtjeinek enyhe fokú hyperplasiáját, esetenként a vékonybél propriarétegének enyhe mononuclearis-sejtes beszűrődését, illetve a thymusban és a bursa Fabricii-ben a lymphocyták számának megfogyását lehetett felismerni. A többi vizsgált szervben érdemleges elváltozások nem voltak.

A csontvelőkből, illetve a szív- és májából elvégzett bakteriológiai vizsgálatok alapján bakteriális társfertőzések az ARoV pozitív állományok 32%-ában, a TAsTV-1 pozitív állományok 47%-ában, az ARoV és TAsTV-1 víruskombinációval fertőzött állományok 53%-ában fordultak elő. A leggyakoribb társfertőzést okozó baktérium az *E. coli* volt, emellett ritkábban *Salmonella ssp.* baktériumokat lehetett izolálni. A vékonybél tartalomból néhány esetben Wilson agarból továbboltva, véresagaron anaerob körülmények között, *Clostridium perfringens* növekedését is észleltük, de ez nem volt tendenciózus jellegű. A vakbél tartalomból készített festett kenetekben a vegyes, de zömében pálcika alakú baktérium alakok mellett 1-2 alkalommal sarjadzógomba alakokat figyeltünk meg. A parazitológiai vizsgálatok negatív eredményre vezettek.

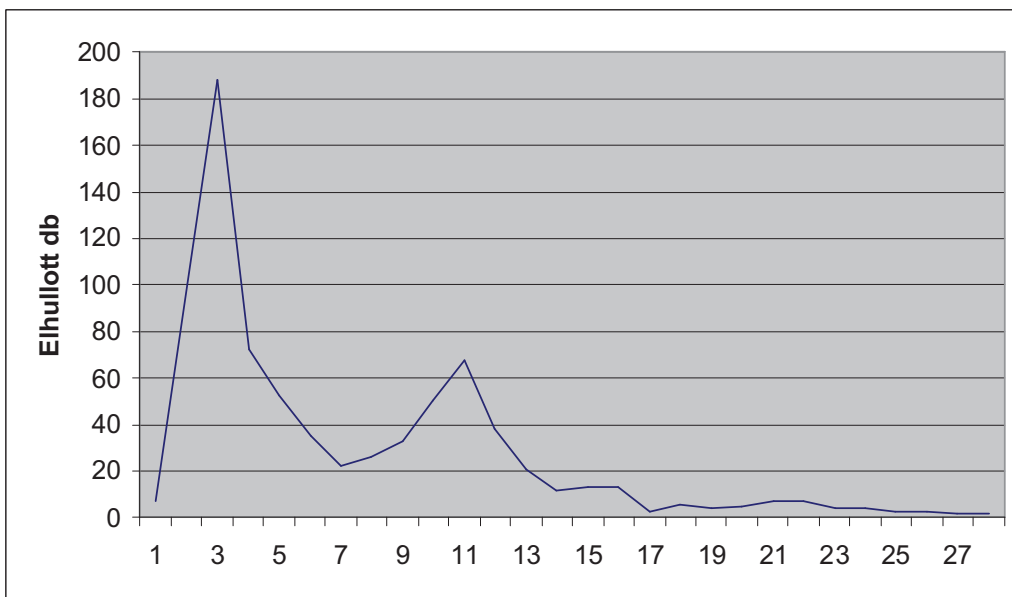
A 27., 28., 29., 30. ábrákon az egyes vírusfertőzésekre illetve azok kombinációira jellemző elhullási görbéket láthatunk. Ezek olyan állományok, amelyekben a szövődményes esetek száma csekély, így viszonylag tisztán mutatják a vírusfertőzés mortalitására gyakorolt hatását.



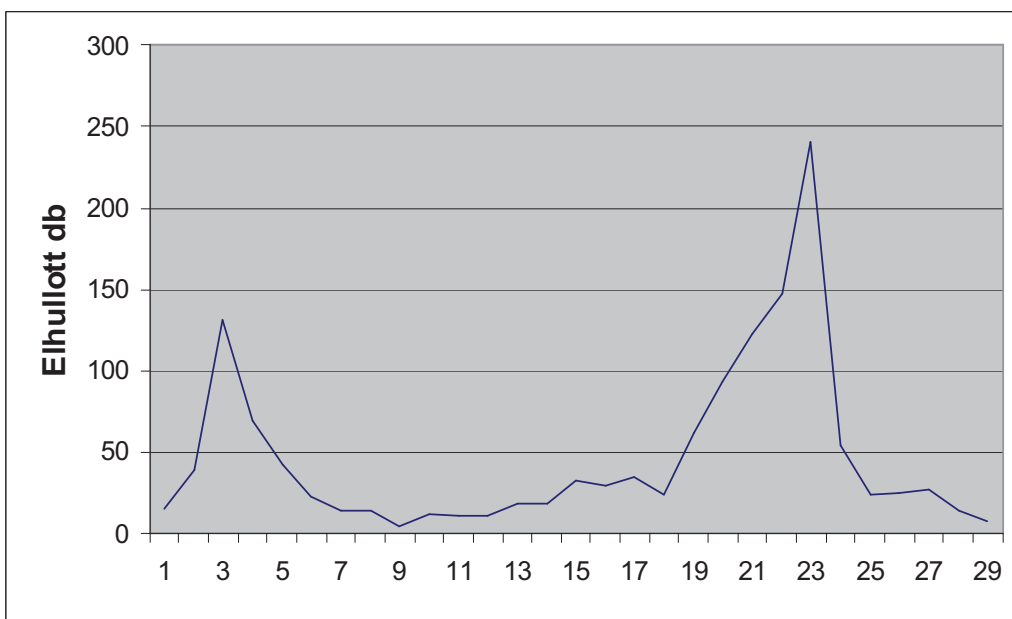
27. ábra. Napi elhullási adatok egy ARoV-val és TAstV-2-vel együttesen fertőzött állományban. (Az állomány létszáma 23900 db, az előnevelés alatti kiesés 11%)



28. ábra. Napi elhullási adatok egy TAstV-2-vel fertőzött állományban. (Az állomány létszáma 9200 db, az előnevelés alatti kiesés 8%)



29. ábra. Napi elhullási adatok egy ARoV-val és TAsTV-1-gyel együttesen fertőzött állományban. (Az állomány létszáma 17630 db az előnevelés alatti kiesés 9%)



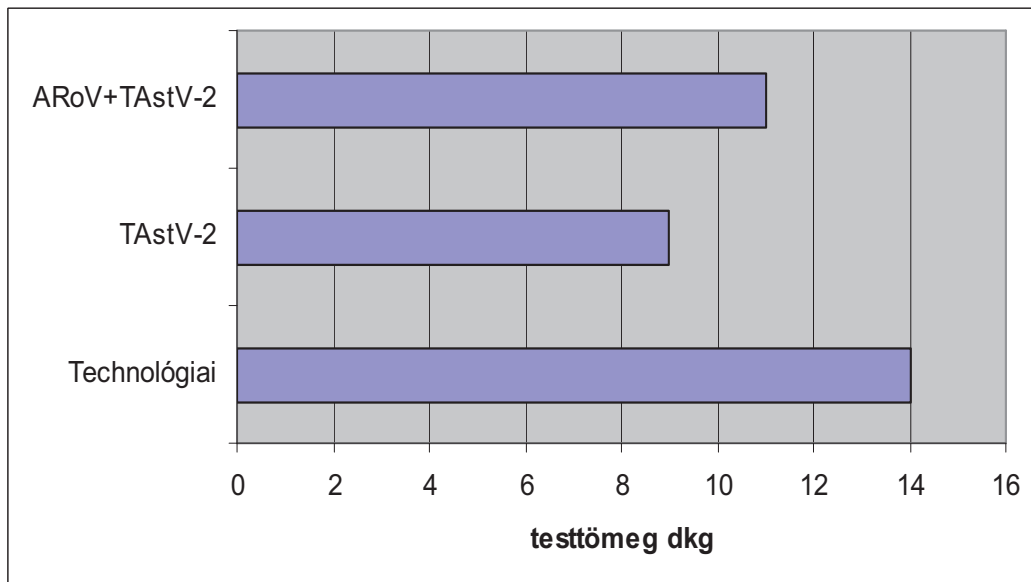
30. ábra. Napi elhullási adatok TAsTV-1-gyel fertőzött állományban. (Az állomány létszáma 22439 db az előnevelés alatti kiesés 9%)

A fertőzött állományokban gyakori a szétnövés (31. ábra).

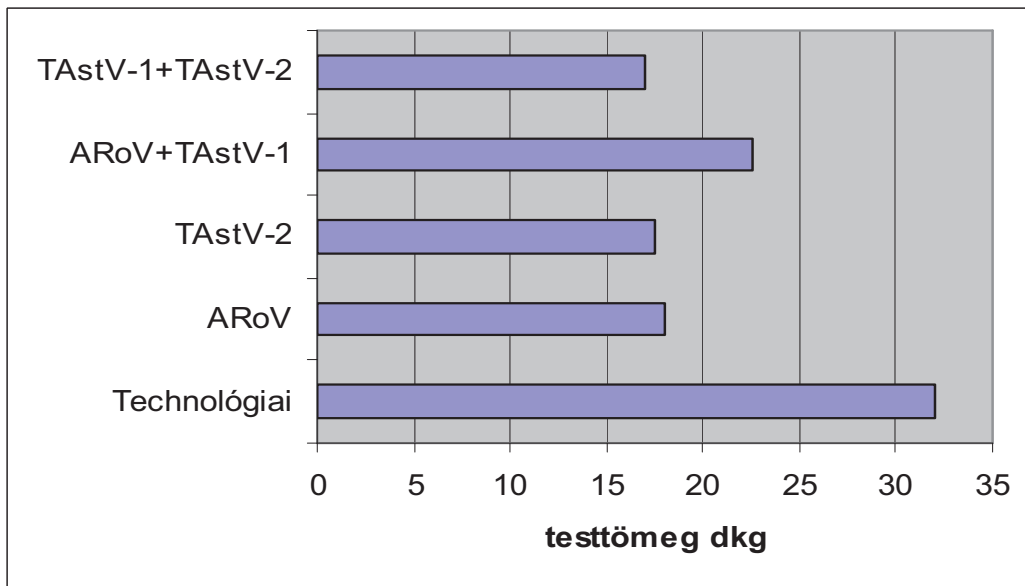


31. ábra. Heterogén fejlettségű, rotavírussal fertőzött pulykák

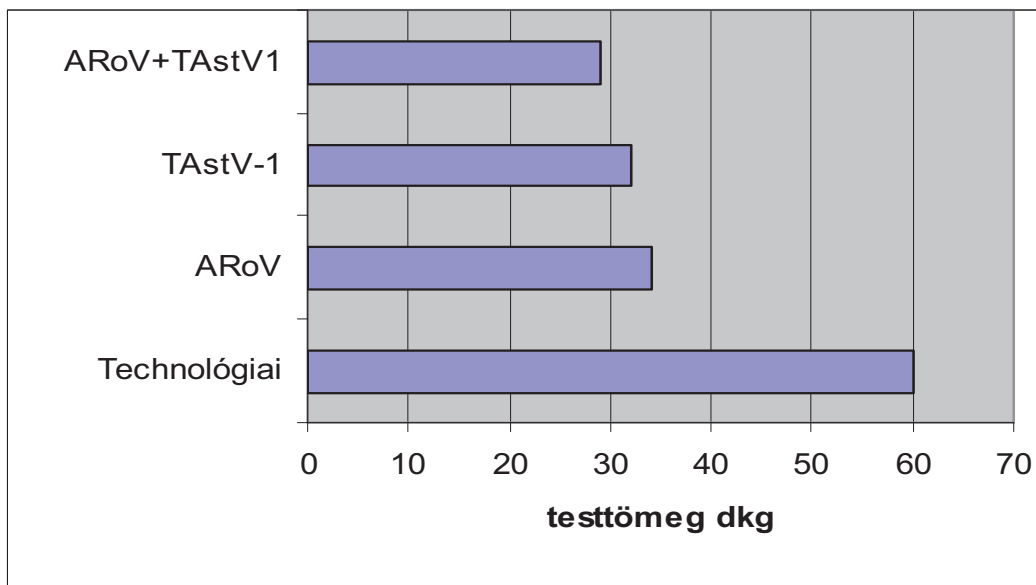
A 32., 33., 34. ábrák az adott vírussal, vagy víruskombinációval fertőzöttnek talált, vizsgálatra került állatok testtömegének átlagát mutatják az adott életkorra elvárt technológiai súlyhoz képest.



32. ábra. Az előnevelés első hetében vírusfertőzöttnek talált állatok átlag-testtömege



33. ábra. Az előnevelés második hetében vírusfertőzöttnek talált állatok átlag-testtömege



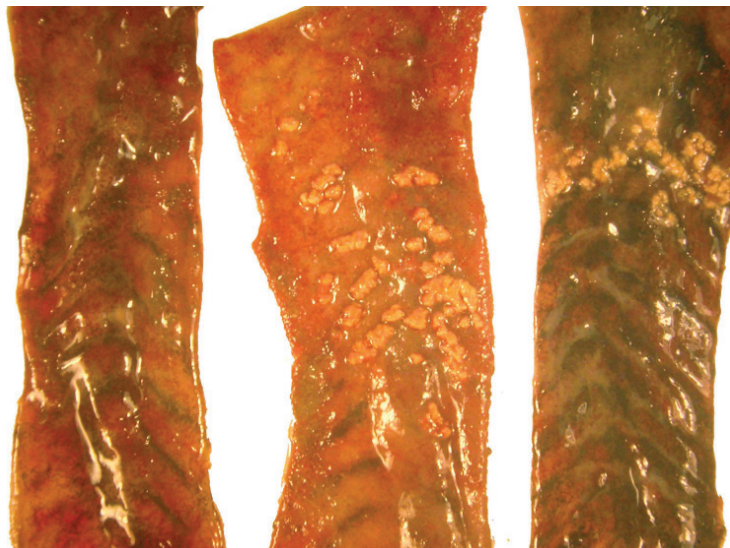
34. ábra. Az előnevelés harmadik hetében vírusfertőzöttnek talált állatok átlag-testtömege

5.2. Ludak intestinalis spirochaetosisa

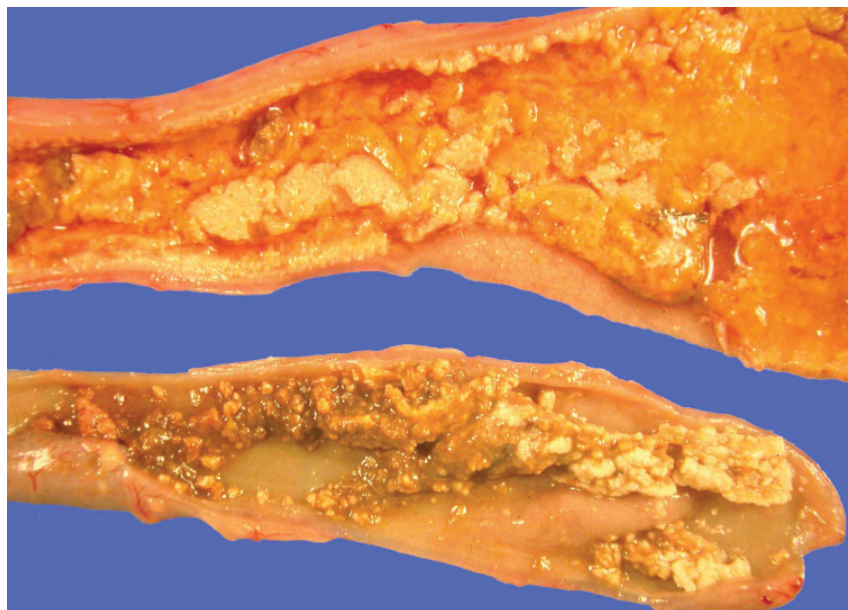
5.2.1. Ludak intestinalis spirochaetosisa (természetes esetek)

A betegséget először, egyidejűleg, két az első tojástermelési periódusukat befejező állományban állapítottuk meg (A és B állomány). Az állatok természetes ciklusban termeltek. A tojásrakás 18-20. hetétől kezdve az elhullások száma megemelkedett. A mortalitás emelkedése a tojóelhullásból adódott, a gúnarak kiesése a technológiai szinten maradt. Ugyanazokon a telepeken tartott idősebb állatok nem betegedtek meg. Az elhullásokat klinikailag 1-2 napos bágyadság, étvágytalanság előzte meg. Intézeti vizsgálatra az „A” jelzésű állományból 3 különböző alkalommal összesen 8 lúdhulla, a „B” állományból ugyancsak 3 alkalommal 7 elhullott és 5 élő állat érkezett.

Kórbonctani vizsgálattal a remesevégbél kitégült üregében gyakran fibrincafatókat is tartalmazó, vörhenyes színű, bűzös tartalmat találtunk. A nyálkahártya megduzzadt, kipirult, szakaszonként felületesen elhalt és fibrines álhártya borította (35. ábra). 12 állat vakbelében fibrindugó képződése (36. ábra), 6 állatban álhártyás vékonybélgyulladás is megfigyelhető volt. A vesék megduzzadtak, halvány sárgásbarnára színeződtek (37. ábra). A veseelváltozásokat öt hullában a zsigeri köszvény kísérte.



35. ábra. A remesevégbél nyálkahártyája kipirult, duzzadt, helyenként felületesen elhalt és fibrines álhártyával borított

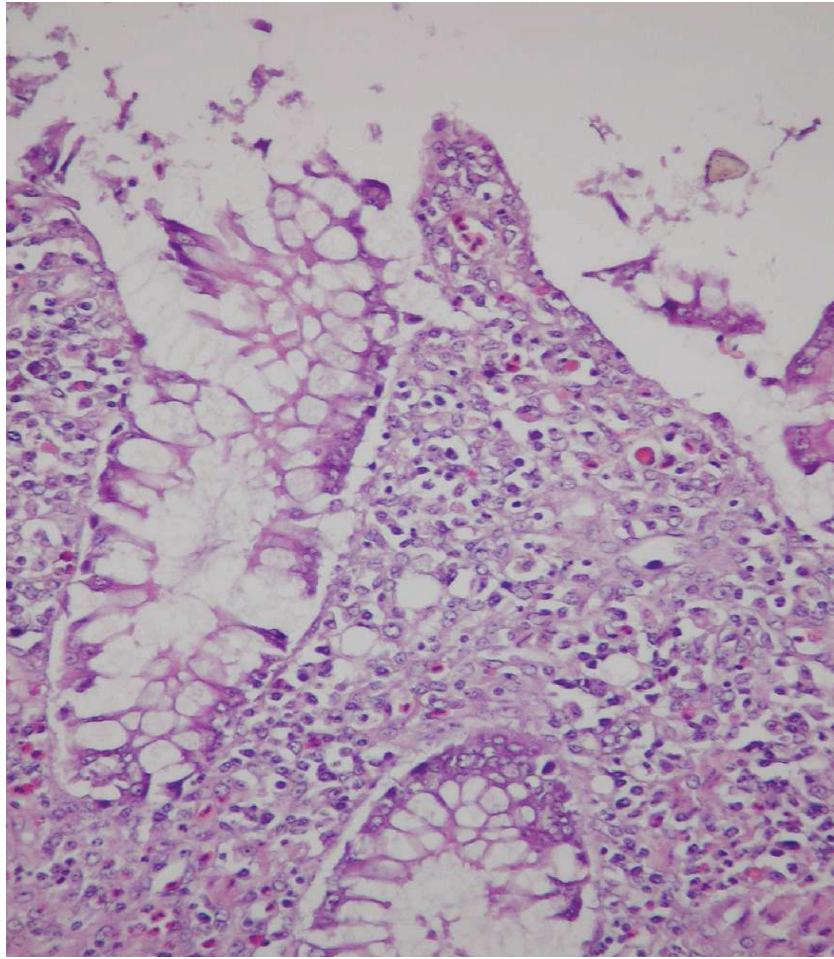


36. ábra. Fibrinkiválás a vakbél nyálkahártyáján



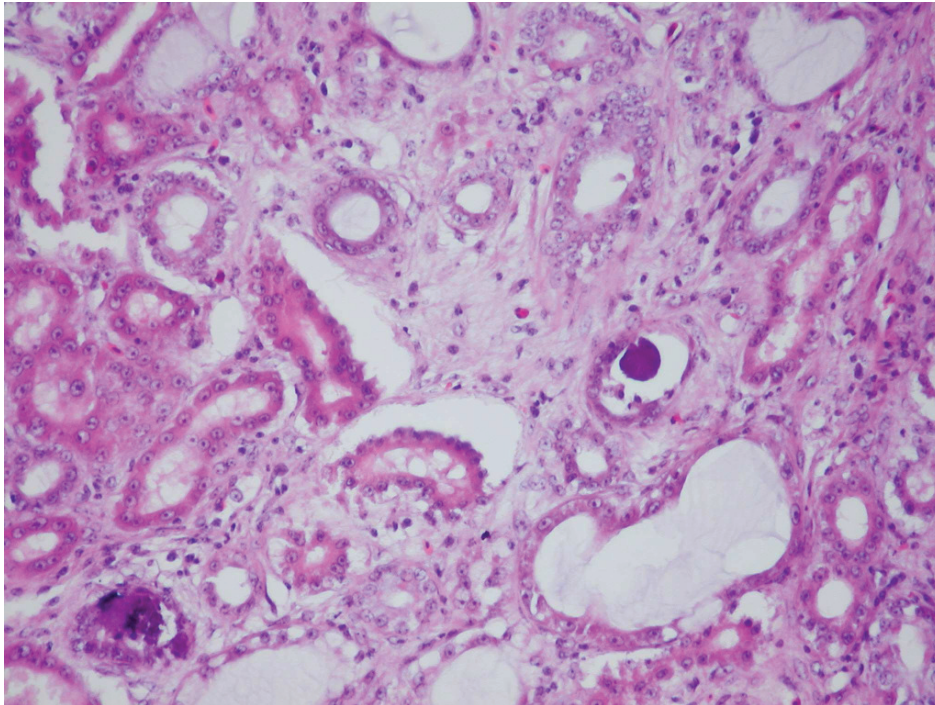
37. ábra. Duzzadt, sárgásbarnán elszíneződött vesék

Kórszövetteni vizsgálattal a remesevégbél és a vakbél nyálkahártyája megduzzadt, a hámréteg szakaszosan elhalt, levált, a kötőszövetes rétegben pedig vérzések, valamint lympho-histiocytás és heterophil granulocytás beszűrődések látszottak (38. ábra). A remesevégbél nyálkahártyájában az elhalás 13 esetben a propriaréteg felső harmadára is ráterjedt.



38. ábra. Lympho-histiocytás és heterophil granulocytás beszűrődés a remese nyálkahártyájában. A hámréteg elfajulása, szakaszonként leválása (H.-E. 400X)

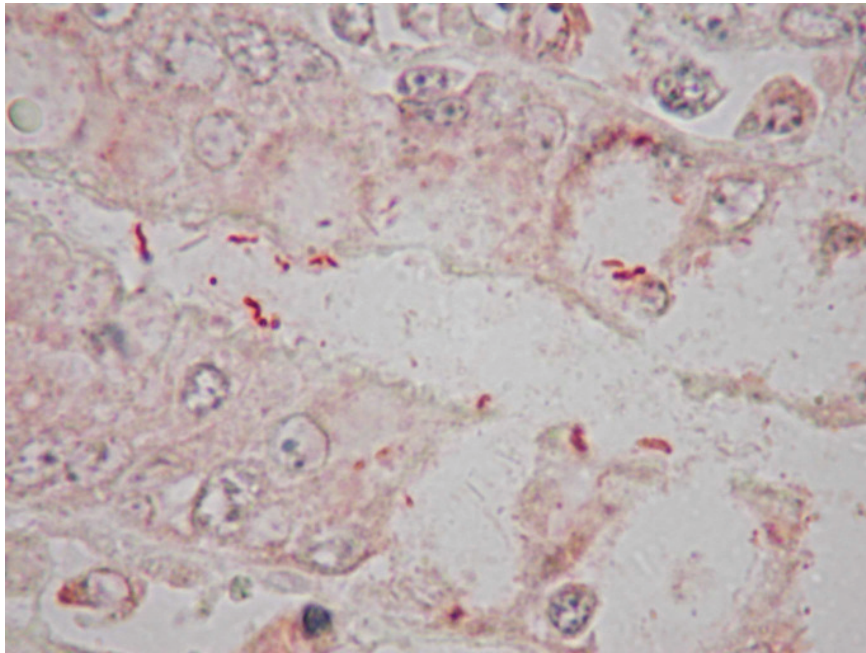
A vesékben a tubulusok hámsejtjeinek elfajulását, intertubulárisan gócos, vagy diffúz fibroblastsarjadzást, a glomerulusok és a tubulusok következményes atrophiáját, helyenként ásványianyag lerakódást állapítottunk meg (39. ábra). A fentiek mellett a májban a kötőszövet változó mértékű lympho-histiocytás beszűrődése, a tüdőben pedig passzív bővérőség fordult elő.



39. ábra. Intertubuláris fibroblast sarjadzás, következményes atrophia és ásványianyag kiválás (H.-E. 200X)

Warthin-Starry és Giemsa festéssel spirochaeta baktériumalakokat lehetett felismerni a nyálkahártya felületes elhalt és mélyebb rétegeiben, főleg a kitágult mirigyek üregében. A felületes elhalt rétegben ezen kívül nagyszámú egyéb (pálcika, coccoid) baktériumalak és *Trichomonas ssp.* alakok voltak megfigyelhetők.

Immunhisztokémiai vizsgálattal valamennyi vizsgált állat vak- és remesebelében kimutattuk a jellegzetesen spirális lefutású baktériumalakokat a ludak belének üregében egyesével, vagy csoportosan, a bélmirigyek üregében és a propriarétegben közvetlenül az alapjától elemelkedett enterocyták rétege alatt (40. ábra). Intracellulárisan nem figyeltünk meg baktériumokat.



40. ábra. *Brachyspira* alakok az elváltozott remesevégbél mirigyeinek üregében (IHC. 1000X)

A vastagbél tartalomból készített negatív kontraszt technikával megfestett készítményekben elektronmikroszkópos vizsgálattal *Brachyspira* alakokat és *Trichomonas* alakokat is ki lehetett mutatni (41. ábra).



41. ábra. *Brachyspira* alak az elváltozott remese lumenében (Dr. Dobos-Kovács Mihály felvétele)

A szívvérből és a májából közösleges agaron, Drigalski agaron és véresagaron kórokozót kitenyésztetni nem tudtunk. A béltartalom aerob tenyésztésével vegyes flórát izoláltunk.

Az elváltozott bélszakaszok (vakbél, remesevégbél) nyálkahártyájáról szelektív táptalajon anaerob körülmények között kilenc esetben sikerült brachyspirákat izolálni. Az izolált törzsek a vizsgált biokémiai próbákban, egy kivétellel, azonosan viselkedtek (6. táblázat). A nyolc egységesen viselkedő törzs fenotípusos sajátosságai alapján *B. alvinipullinak*, míg az egy különböző *B. hyodysenteriae*nek bizonyult. A *B. alvinipulli* a *B. intermediat*ól a hippurát pozitívitás alapján, a *B. pilosicoli*ól pedig a β -glukozidáz pozitívitás alapján elkülöníthető volt.

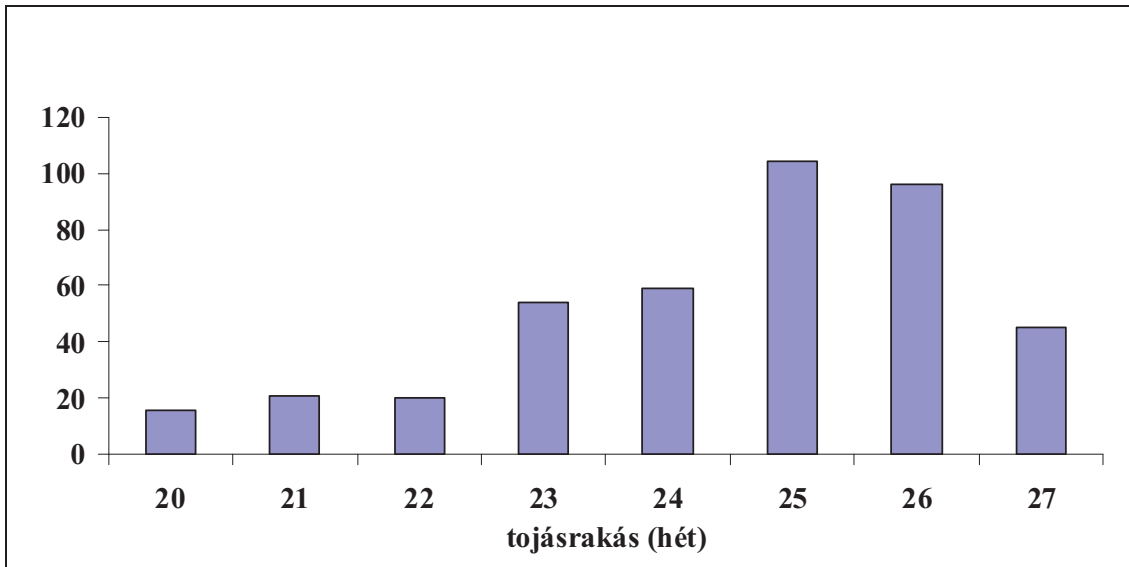
6. táblázat. Az izolált *Brachyspira* törzsek biokémiai tulajdonságai

Jelzés	Haemolízis	Gyűrűpróba	Hippuráthidrolízis	Indol	α -galaktozidáz	α -glukozidáz	β -glukozidáz
1x	erős	+	-	-	-	+	+
2xx	gyenge	-	+	-	-	-	+
3xx	gyenge	-	+	-	-	-	+
4xx	gyenge	-	+	-	-	-	+
5xx	gyenge	-	+	-	-	-	+
6xx	gyenge	-	+	-	-	-	+
7xx	gyenge	-	+	-	-	-	+
8xx	gyenge	-	+	-	-	-	+
9xx	gyenge	-	+	-	-	-	+

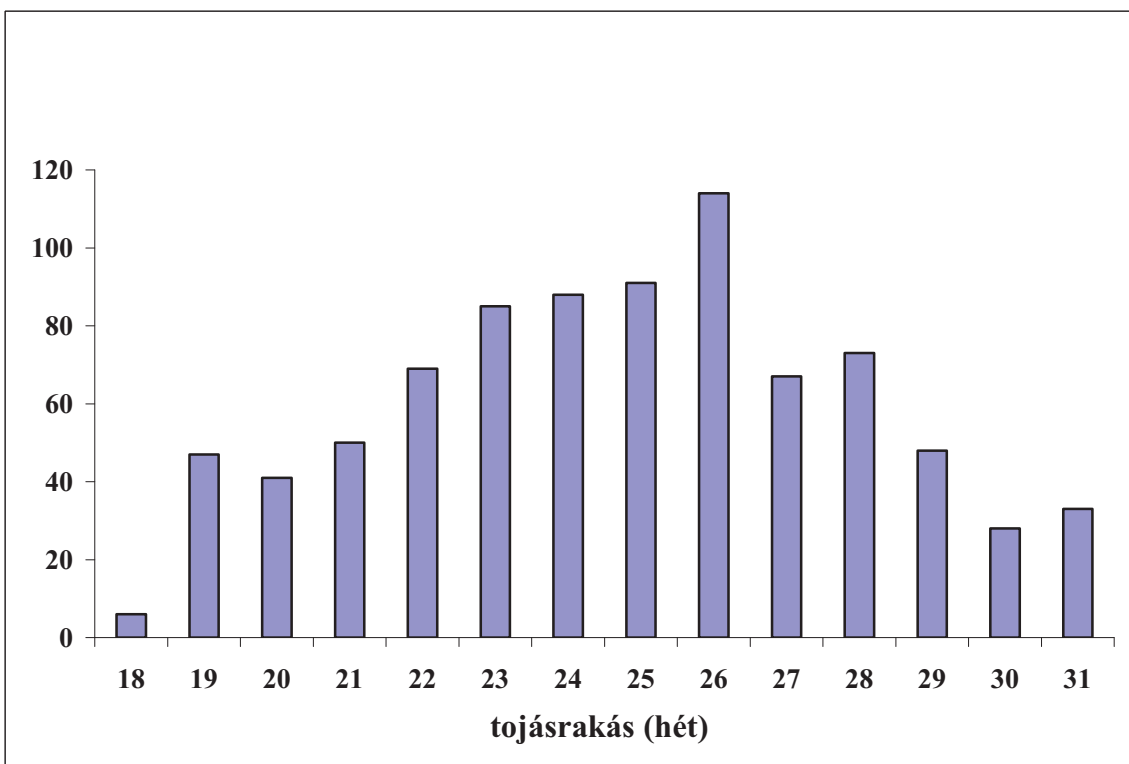
Megjegyzés: x = *B. hyodysenteriae*; xx = *B. alvinipulli*

Agarhígításos módszerrel végzett vizsgálatban az izolált törzsek 1, 2, 5 és 10 $\mu\text{g/ml}$ amoxicillint tartalmazó lemezekben is fejlődtek. Fenti módszerrel a tiamulin és a lincomycin is minden koncentrációban gátolta a baktériumok fejlődését. E-teszttel oxytetracyclinnel szemben az „A” állományból származó törzs minimális gátló koncentráció értéke 4 $\mu\text{g/ml}$, míg a „B” állományból származó törzsé 3 $\mu\text{g/ml}$ volt. Erythromycinnel szemben mindkét törzs még 256 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban is rezisztens volt.

Az elhullások emelkedésétől számítva az „A” jelzésű állományban egy 8 hetes periódusban (az elhullások csökkenéséig) az állatok 28%-a (415/1500), míg a „B” jelzésű állományban egy 12 hetes periódusban az állatok 18%-a (834/4500) hullott el (42., 43. ábra).



42. ábra. Heti elhullási adatok az „A” jelzésű állományban



43. ábra. Heti elhullási adatok a „B” jelzésű állományban

A betegséget, első megállapítását követően a fentiekhez hasonló járványtani és kórtani jellemzők mellett a vizsgált időszakban, 22 állományban figyeltük meg. Oktanában a bakteriológiai vizsgálatok alapján továbbra is a *B. alvinipulli* játszik meghatározó szerepet.

5.2.2. Ludak intestinális spirochaetosisa (kísérleti állatfertőzés)

A betegség kórfejlődésének és az izolált törzsek patogenitásának tanulmányozásához kísérleti állatfertőzést végeztünk az anyag és módszer részben leírt kísérleti tervnek megfelelően.

A fertőzést követő 5 hetes megfigyelési periódusban nem volt jelentős különbség a fertőzött és a kontroll állatok testtömeg-gyarapodásában. Elhullás egyik kísérleti csoportban sem fordult elő.

A fertőzést követő első héten nem találtunk különbséget a kontroll és a fertőzött állatok bélsarának konzisztenciája között. A fertőzés második hetétől a megfigyelési periódus végéig, mindkét fertőzött csoportban az állatok mintegy fele a normálisnál hígabb, sárgásan elszíneződött bélsarat ürített.

Az elvéreztetett kislibák vakbele mindkét fertőzött csoportban kissé kitágult, benne a kontrollokhoz képest hígabb, sárgább és gyakran habosabb tartalom fordult elő. A vakbél nyálkahártyája kissé megduzzadt és hurutos nyálka borította. Egyéb bélszakaszokon, valamint a parenchymás szervekben kóros elváltozást nem tudtunk megfigyelni.

A *B. alvinipullival* fertőzött, majd a fertőzést követő 1., 2., 3. és 5. héten elvéreztetett kislibák vakbelének szövettani vizsgálata során a vakbélbolyhokat borító hámsejtek enyhe hyperplasiáját, a boholycsúcs propriarétegében enyhe ödémát, és lymphocytás infiltrációt találtunk.

A fentiekhez hasonló elváltozásokat figyeltünk meg a *B. hyodysenteriae*vel kísérletesen fertőzött állatokban is.

Egyéb vizsgált szervekben (máj, lép, vese, a csípőbél és a vastagbél nyálkahártyája) kórjelző értékű elváltozások nem voltak.

A fertőző törzseket a kísérlet időtartama alatt a vakbél- és a vastagbél tartalmából változó mértékben, vissza lehetett izolálni (7. táblázat).

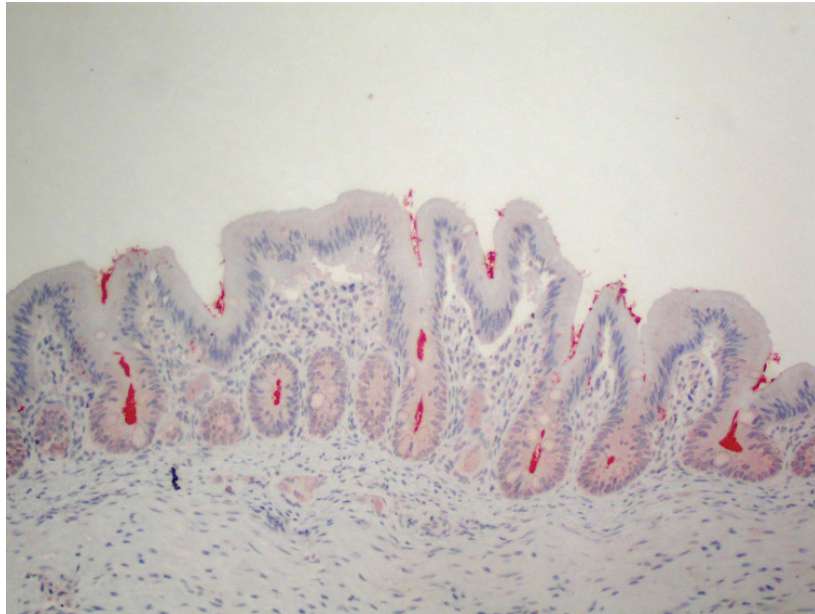
7. táblázat. A fertőzésre használt törzsek visszaizolálásának eredményei

A fertőzött csoport jelzése	A vizsgálatok időpontja (nap)															
	7				14				21				35			
	caecum		colon		caecum		colon		caecum		colon		caecum		colon	
	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
A	0	3	0	3	1	2	0	3	1	1	2	0	1	1	1	1
B	0	3	0	3	2	1	3	0	1	1	1	1	0	2	1	1
C	3	0	3	0	3	0	3	0	2	0	2	0	2	0	2	0

Tekintettel a természetes esetekben megfigyelhető veseelváltozásokra a 14. napon kiirtott állatok veséjéből is megkíséreltük a fertőző törzsek kitenyésztését, ami azonban negatív eredményre vezetett.

Immunhisztokémiai vizsgálattal a brachyspirákat egyetlen kivétellel a vakbelek nyálkahártyájában lehetett kimutatni. A fertőzést követő 7. napon kiirtott állatokban nagyszámú baktérium fordult elő a vakbél üregében, valamint a vakbél nyálkahártya rétegében is (44. ábra). A *B. alvinipullival* fertőzött állatokban a vakbél mirigyeinek üregében is nagyszámú baktériumot lehetett kimutatni. A 14. napon kiirtott állatokban a fentiekhez hasonló elváltozások voltak azzal a különbséggel, hogy már a *B. hyodysenteriae*vel fertőzött állatok vakbél mirigyeiben is jelentős számban lehetett brachyspirákat kimutatni és ebben a csoportban baktériumok mérsékelt számban megjelentek a vastagbélben is. A 21. és 35. napon elvégeztetett állatokban a spirochaeták a fenti helyeken, de az előzőeknél kisebb számban voltak kimutathatók.

A brachyspirák mind transzmissziós, mind scanning elektronmikroszkóppal megtalálhatóak voltak a fertőzött kislibák vakbelében minden vizsgált időpontban (45. ábra).



44. ábra. *Brachyspira* alakok a vakbél nyálkahártya rétegében és vakbél mirigyeinek üregében (IHC. 200X)



45. ábra. *Brachyspira* alakok a vakbél üregében (SEM)
(Dr. Dobos-Kovács Mihály felvétele)

6. Megbeszélés

6.1. Kispulykák enterális kórképei

A PEC/PEMS előnevelt pulykák hasmenéssel, fejlődésben való visszamaradással, esetenként jelentős elhullással járó kórképe. Ezekkel a klinikai tünetekkel hazai állományaikban is rendszeresen találkoztunk, de a betegség itthoni előfordulásáról, széleskörű vizsgálatokon alapuló, publikált eredmények nem álltak rendelkezésre.

Kutatásunk tervezésekor több célt tűztünk magunk elé. Adatokat kívántunk gyűjteni a kórkép hazai előfordulásáról. Ehhez a jellegzetes klinikai tüneteket is mutató állományokból származó mintákban vizsgáltuk, hogy a kórfejlődés szempontjából lényegesnek tekintett és a nemzetközi irodalomban említett pulyka coronavírusok, pulyka astrovírusok és madár rotavírusok közül hazánkban melyik, milyen gyakorisággal, milyen kombinációkban fordulnak elő. A talált kórbonctani és kórszövettani elváltozásokat a víruskimutatás eredményeivel összevetve kerestük, hogy a hagyományos diagnosztikai módszerek mennyiben segítik az oktani diagnózis felállítását. Célunk volt a fertőzöttnek bizonyult állományokból járványtani adatok gyűjtése és azok összevetése a nemzetközileg publikált megfigyelésekkel.

Az elért eredmények szándékaink szerint felhívják a figyelmet a kórkép előfordulására, segítséget nyújtanak a diagnózis felállításához és kijelölik a védekezés lehetséges irányait.

Munkánkat motiválta, hogy ilyen irányú vizsgálati eredmények a kontinentális Európa területéről csak kis számban kerültek publikálásra (Cattoli és mtsai., 2007).

2005. és 2007. között 214 előnevelt, klinikai tüneteket mutató állományban vizsgáltuk a TCoV, a TAsTV-1, a TAsTV-2 és az ARoV előfordulását. Ezeknek az állományoknak 58%-a (123/214) bizonyult a vizsgált vírusok legalább egyikével fertőzöttnek. Ez amerikai, hasonló vizsgálatok eredményeivel összevetve alacsonyabb fertőzöttség (Reynolds és mtsai., 1987; Pantin-Jackwood és mtsai., 2008b). Az amerikai állományok magasabb fertőzöttsége a TAsTV-k és ARoV-k gyakoribb előfordulásából adódik. A különbséget részben magyarázhatja az a tengerentúli szemlélet, ami szerint, ha az alom jól van kezelve, abban kórokozó nem maradhat életben. Ezért ott éppen a PEMS megjelenéséig rendszeresen előfordult, hogy több, egymást követő turnust költségkímélés miatt ugyanarra az alomra telepítettek. Ilyen esetben a legnagyobb ellenállóképességgel rendelkező astrovírusok biztosan túlélnek és fertőzik a betelepülő állományt.

6.1.1. A TCoV-val fertőzött állományok eredményeinek megbeszélése

Az egyes általunk is vizsgált vírusok szerepének, jelentőségének megítélése is folyamatosan változik. Ez alól kivételt jelent a TCoV, amelynek kórokozó szerepe soha nem kérdőjeleződött meg, legfeljebb az általa kiváltott betegség súlyosságának megítélésében lehetnek eltérések.

A vizsgált időszakban 6 előnevelt és 16 utónevelt állományban állapítottunk meg TCoV fertőzöttséget. Ezekben az állományokban két, jelentősen eltérő súlyosságú kórlefordulást figyeltünk meg.

Az „A”, „B” és „C” jelzésű állományokban a TCoV fertőzöttség típusos PEMS-re jellemző kórlefordulást eredményezett. Az elváltozások kezdetben csak a bélcsatornára korlátozódtak, majd megjelentek a bakteriális szövődmények, amelyek az előnevelés végéig fennmaradtak és a felelősek voltak a magas (> 33%) mortalitásért. A fenti 3 állományban megfigyelt elváltozások megfelelnek az irodalomban TCoV pozitív PEMS néven leírt kórképnek.

A többi TCoV fertőzött állományban (3 előnevelt és 16 utónevelt) az emésztőszervi tünetek (hasmenés) domináltak. A mortalitás az előző csoporthoz képest elenyésző volt. A gazdasági kár részben a fejlődésben súlyosan visszamaradt állatok selejtezéséből, részben abból származott, hogy a fertőzött állományok súlygyarapodása feltételezhetően a vírusreplikáció következményeként elmaradt az adott telepre korábban jellemzőtől és a technológiailag elvárhatótól. Ezekben az állományokban, az irodalomban a pulykák coronavirus okozta bélgyulladását néven leírt betegséget állapítottuk meg. A két kórkép különbözőségére Carver és mtsai. (2001) is felhívták a figyelmet.

A kórbonctani és kórszöveti vizsgálatok során megállapított elváltozások mindkét csoportban hasonlóak voltak, de a PEMS-es állományokban súlyosabb formában jelentkeztek. A talált elváltozások megegyeztek a TCoV fertőzés kapcsán mások által leírtakkal (Teixeira és mtsai., 2007; Guy, 2003; Gonder és mtsai., 1976). A bursa Fabricii fibrines gyulladását – amelyet az „A” és „B” jelzésű állományokban mi is megfigyeltünk – noha más okból is kialakulhat, a TCoV pozitív PEMS kórképre jellemzőnek tartják (Barnes és Guy, 2003).

Az általunk tapasztaltak megegyeznek azzal a megfigyeléssel is, hogy bár a pulyka a TCoV fertőzésre minden életkorban fogékony, minél fiatalabb korban történik a fertőződés, a következmények általában annál súlyosabbak.

A PEMS-es állományokban, a vírus bélcsatornában való replikációja már önmagában az elhullás emelkedését okozta, hasonlóan ahhoz amit Ismail és mtsai. (2003) tapasztaltak. A kezdeti, tisztán TCoV okozta elváltozásokhoz bakteriális szövődmények társultak, amelyek

a célzott antibiotikus kezelések ellenére sem csökkentek jelentősen. Ez a tény és az ezekben az állományokban 3 hetes koron túl megjelenő *Salmonella ssp.* okozta vérfertőzés véleményünk szerint jelentős immunszuppresszióra utal. Ezt alátámasztják a bursa Fabricii kifejezett szövettani elváltozásai is.

Összehasonlítva a PEMS–es állományokból származó madarakkal, a másik körlefolyású csoportba sorolt TCoV fertőzött állatoktól származó bursákban a lymphoid elemek kiürülése enyhébb fokú volt, ami nem következik logikusan az állatok eltérő korából, de magyarázza a társfertőzésekkel szembeni kisebb fogékonyságot.

Feltételezhető, hogy az üzemi körülmények között tartott fiatal állatokat egyébként is érő stresszorok immunszervekre gyakorolt negatív hatását a TCoV fertőzés tovább erősíti, ezért alakulnak ki az általunk is megfigyelt súlyosabb, bakteriális szövődményekkel járó elváltozások. Az idősebb madarak stressztűrő képessége már feltételezhetően nagyobb.

Abban a két állományban, ahol a TCoV fertőzés dinamikájának megfigyelésére is lehetőségünk volt (A, B) azt tapasztaltuk, hogy a vírus valamennyi vizsgált korcsoportban kimutatható volt, ami a „B” jelzésű állomány esetén csaknem 7 hetes időkülönbséget, vagyis legalább ennyi ideig fennálló folyamatos fertőzöttséget jelent. Breslin és mtsai. (2000) hasonlóan hosszú ideig tartó vírushordozást figyeltek meg. Különböző korcsoportú állományok egy telepen tartása esetén a fertőzött idősebb állományok hosszú időn keresztül jelenthetnek fertőzési veszélyt a fiatalabb korcsoport számára.

A fertőzés forrását egyik állományban sem tudtuk pontosan azonosítani. A legnagyobb veszteségeket szenvedő állományok esetén ismerjük, hogy a telepen más korcsoportú állatot nem tartottak, vagyis idősebb, esetleg hordozó állatoktól nem származhatott a fertőzés. Az „A” és „B” jelzésű állományok azonos, míg a „C” jelzésű állomány egy másik integrációhoz tartozott, így valószínűsíthetően máshonnan származtak a naposállatok is.

A fertőzött állományok kitelepítését követően az „A” és „B” jelzésű telepekről többször gyűjtöttünk információt (ellátó kolléga megkérdezése) az újonnan betelepített állományok egészségi állapotára vonatkozóan. Az újabb turnusokból időnként vizsgálati anyagot is kaptunk. Sem ezeken, sem más, korábban fertőzöttnek talált telepen a vizsgált időszakban a TCoV fertőzöttség újbóli megállapítására nem került sor. Ebből arra következtetünk, hogy a különböző integrációk által előírt takarítási, fertőtlenítési és pihentetési előírások alkalmasnak bizonyultak a fertőzési lánc megszakítására.

Míg utónevelt állományokban minden évben kimutattunk TCoV fertőzöttséget, a hat előnevelt állományban történt megállapításból öt, a 2005-ös évben történt. 2006-ban – mikor egyébként a legtöbb vizsgálatot végeztük – egy esetben sem tudtuk kimutatni és 2007-ben is csak egy állományból sikerült. Az utónevelt állományok fertőzöttsége mutatja a TCoV folyamatos jelenlétét. Tapasztalataink szerint, amit egyébként mások megfigyelései is

megerősítenek, az előnevelt állományok látens fertőzöttsége nem valószínű (Pantin-Jackwood és mtsai., 2008a). Feltételezzük, hogy az előnevelt állományok viszonylag ritkán megállapított fertőzöttsége, ezeknek az állományoknak a zártabb tartásával van összefüggésben. A szigorúbb járványvédelmi intézkedések pedig megakadályozhatják a TCoV behurcolását a fiatalabb, fogékonyabb állományokba.

6.1.2. A TAstV-1, TAstV-2 és ARoV fertőzöttnek talált állományok eredményeinek megbeszélése

A TCoV mellett vizsgált vírusok közül az önálló ARoV, illetve az önálló TAstV-1 fertőzöttséget tudtuk a leggyakrabban kimutatni. Kevert fertőzések esetén is e két vírus kombinációja volt a leggyakoribb. Hasonló eredményeket mutatnak a 80-as évek közepén Amerikában végzett felmérések, ahol előnevelt pulykák enterális kórképeiből szintén az astrovírust és a rotavírust mutatták ki a leggyakrabban (Saif és mtsai., 1985; Reynolds és mtsai., 1987). Bár a vizsgálatokat abban az időszakban EM-el végezték, a kimutatott astrovírusokra több szerző is, mint TAstV-1 vírusra hivatkozik (Koci és Schultz-Cherry, 2002; Pantin-Jackwood és mtsai., 2006b).

A TAstV-2-t először PEMS-ben beteg pulykákból azonosították 2000-ben (Koci és mtsai., 2000a). Azóta több felmérés tanulsága szerint az amerikai pulykaállományokban előfordulási gyakorisága jóval felülmúlja a TAstV-1 előfordulását és gyakran egészséges madaraktól is kimutatható (Pantin-Jackwood és mtsai., 2006b, 2008a). Mi a TAstV-2 fertőzöttséget ritkán detektáltuk és akkor is rendszerint más vírussal kombinációban.

A fentiek alapján a pulyka astrovírusok előfordulási arányát tekintve az általunk vizsgált állományok a 80-as évek amerikai állományaival mutatnak hasonlóságot.

A vírusok korcsoport szerinti megjelenési mintázatát leginkább Pantin-Jackwood és mtsai. (2007) nyolc állományban végzett követéses vizsgálatának eredményeivel lehet összehasonlítani. Fenti szerzők az ARoV és a TAstV-2 előfordulását valamennyi állományban, valamennyi vizsgált előnevelt korcsoportban (2, 4, 6 hét) kimutatták. TAstV-1 fertőzöttséget először 4 hetes korú állományban találtak, de ennek a vírusnak az előfordulási gyakorisága alatta maradt mind az ARoV, mind a TAstV-2 előfordulásának. A mi eseteinkre is igaz, hogy fiatalabb életkorú, vírusfertőzött állományokban (kb. 2 hetes korig) leggyakrabban az ARoV és TAstV-2 fertőzöttséget mutattuk ki. Ugyancsak megegyezik, hogy az ARoV-k valamennyi előnevelt korcsoportban kimutathatók voltak. Az ARoV-k előfordulását az előnevelés alatti különböző korcsoportokban mások is leírták (Reynolds és mtsai., 1987; Yason és mtsai., 1987).

A jelentős eltérés a pulyka astrovírusok megjelenési mintázatában mutatkozik. TAsTV-2 vírus okozta fertőzöttséget kéthetes koron túl csak egy esetben találtunk. Ugyanakkor a 3-4 hetes korú fertőzöttnek talált állományokban a TAsTV-1 válik dominálóvá. A megfigyelt eltérésekre több magyarázat adódhat. A legkézenfekvőbb a földrajzi távolság. Különbőség az is, hogy az amerikai szerzők eredményeiket ugyanazon, egyébként egészségesnek leírt állományok, különböző időpontban végzett vizsgálatából kapták, míg mi különböző, de azonos életkorú, beteg állományok vizsgálati eredményeit összegeztük. Egy további szempont, hogy mint már korábban is említettem, a hozzáférhető adatok alapján az amerikai pulykaállományokban egy váltás történt, amelynek okai nem világosak, és aminek eredményeként a TAsTV-2 előfordulási gyakorisága fölülmúlja a TAsTV-1 előfordulási gyakoriságát. Eseteinkben az önálló TAsTV-1 fertőzöttséget tendenciaszerűen 3 hetes kor környékén mutattuk ki. Saját eredményeink alapján elképzelhető, hogy bár a vírus jelen van, önálló fertőzés esetén 3 hetes kor körül idéz elő olyan tüneteket, hogy egyáltalán felmerül a kimutatás igénye. Magyarázat lehet a 3 hetes kor körül lecsengő klinikai tüneteket kivédő maternális immunitás. Erre nézve azonban irodalmi adatok nincsenek.

Az enterális vírusok germinatív terjedésével kapcsolatos vizsgálatokról kevés az adat. Rotavírusokat már a keltetőben vett mintákból is kimutattak (Pantin-Jackwood és mtsai., 2007). Az általunk vizsgált három, napos állomány, bár az alacsony mintaszám miatt a kapott eredmények tendenciák levonására nem alkalmasak, de negatívak voltak.

A három vírus (ARoV, TAsTV-1, TAsTV-2) illetve azok kombinációi okozta kórbonctani elváltozások tekintetében jelentős különbségeket megfigyelni nem tudtunk. A kórbonctani lelet, eltekintve a szövődényes esetektől szegényes volt és nem különbözött az irodalomban mások által leírtaktól (Thouvenelle és mtsai., 1995a; Yason és mtsai., 1987; Pantin-Jackwood és mtsai., 2008b).

A megfigyelt klinikai tünetekhez képest a bélben rendszerint csak enyhe és jellegtelen szöveti elváltozásokat találtunk. A fertőzést gyakran kísérte a lymphoid szervekben a lymphocyták számának csökkenése, ami összefügghet immunszuppresszív állapot kifejlődésével. A lymphoid szervek elváltozásai azonban sosem voltak olyan súlyosságúak, mint amilyeneket a TCoV pozitív PEMS-es állományokban találtunk. Az immunszervek általunk megfigyelt szövettani lelete, ami egyébként megegyezik azzal amit Pantin-Jackwood és mtsai. (2008b); Koci és mtsai. (2003); Behling-Kelly és mtsai. (2002) TAsTV-2 fertőzés esetén leírtak, arra utal, hogy ha nem is feltétlenül közvetlenül, de az enterális vírust fertőzés legalább átmenetileg hátrányosan befolyásolja a madarak ellenálló-képességét. Ezért jelenhettek meg a bakteriális társfertőzések, amelyek kombinált vírust fertőzések esetén magasabb arányban fordultak elő. Az ellátó állatorvostól kapott információk alapján ezek a baktériumos fertőzések a célzott antibiotikumos kezelésre viszonylag jól reagáltak.

Azokban a fertőzött állományokban, ahonnan adatokhoz jutottunk, azt találtuk, hogy a kelésgyengeségi csúcsot követően egy újabb elhullási csúcs jelentkezett. A második csúcs egybeesik a vírusfertőzés kimutatásának időpontjával, vagyis TAsV-2 és azok kombinációi esetén korábban figyelhető meg, mint a TAsV-1 fertőzés és azok kombinációi esetén. Ebből a kimutatott vírus és az elhullások közti ok-okozati összefüggésre következtethetünk. Az előnevelés alatti kiesés mértéke ezekben az állományokban változó volt, de általában meghaladta a technológiailag elfogadható bruttó 4%-os szintet, viszont nem érte el a PEMS kimondásához szükséges mértéket.

A vírusfertőzött állatok testtömegének átlagát mindig alacsonyabbnak találtuk az adott életkorra technológiailag elvárható testtömegnél. Ebből arra következtethetünk, hogy a vírusfertőzés az állatok fejlődési erélyét megtörte. Ezt a hatást pulyka astrovírus fertőzéssel kapcsolatban mások is leírták (Pantin-Jackwood és mtsai., 2008b; Tang és mtsai., 2006). Ennek mértéke változó volt és nem találtunk olyan összefüggést, hogy valamelyik vizsgált vírus (leszámítva a fiatalkori TCoV fertőzést), illetve valamely kombináció erősebb negatív hatást gyakorolt volna erre a paraméterre a többinél. A negatív hatás mértékét nyilván egyéb környezeti tényezők is befolyásolják.

A fertőzött állományokban a fertőzés forrását nem tudtuk felderíteni. Vizsgálati anyagunk egy jelentős része tudottan olyan telepről származott, ahol különböző korcsoportú állatokat tartottak együtt.

6.1.3. A vizsgálatokból levont általános következtetések

Vizsgálataink hozzásegítettek egy probléma felismeréséhez amennyiben rámutattak, hogy a kispulykák hasmenéssel, fejlődésbeni elmaradással (PEC) és ehhez társultan esetenként jelentős elhullással (PEMS) járó kórképeinek megjelenésével, valamint az ezek oktanában feltételezett enterális vírusok közül a TCoV, TAsV-1, TAsV-2 és az ARoV-k előfordulásával a hazai állományokban is számolni kell.

A legmarkánsabb elváltozásokat a TCoV fertőzött állományokban figyeltük meg, ahol két eltérő súlyosságú kórformát írtunk le. Azonban a többi kimutatott vírusnak is ok-okozati szerepet tulajdonítunk a megfigyelt klinikai és kórtani elváltozások kialakításában. Erre utalnak az elhullási görbék jellegzetességei, a fejlődési erély csökkenése. Ez utóbbi adatok azt is megmutatják, hogy a veszteségek végső mértékét egyéb környezeti (tartási, takarmányozási) tényezők is befolyásolják.

Az irodalmi adatokkal összhangban azt találtuk, hogy a kórtani (kórbonctani és kórszövettani) elváltozások nem nyújtanak elegendő támpontot a pontos diagnózis

felállításához. Ehhez molekuláris biológiai (PCR) módszerekre és az irodalmi adatok függvényében azok fejlesztésére van szükség.

Vizsgálataink felhívják a figyelmet, hogy az enterális vírusok okozta kártétel elkerülése érdekében mindenképp a fiatal állományok fertőződésének megelőzésére kell törekedni. Mivel specifikus védekezési lehetőség (vakcina) ma még külföldön sem áll rendelkezésre, ebből a szempontból is fontos kihangsúlyozni, főleg előnevelt pulykaállományok esetén az általános járványvédelmi szabályok betartásának fontosságát, és így a vírusok behurcolásának megakadályozását.

Az immunszervekben megfigyelhető, legalább átmeneti immunszuppresszióra utaló szövettani elváltozások alapján is, a fertőzött állományokban gondot kell fordítani az általános ellenálló képesség javítására, valamint a szövődményes megbetegedések okozta kiesések gyógykezeléssel történő mérséklésére.

A vizsgálatok további irányát jelentheti a vizsgálandó vírusok körének bővítése, az egyes vírusfertőzések manifesztálódásához szükséges és a veszteségek mértékét befolyásoló környezeti tényezők pontosabb meghatározása, illetve az ugyanazon állományban, vagy állományokban szisztematikusan végzett megfigyelésekkel további járványtani kérdések tisztázása. A kispulykák enterális vírusfertőzéseiben oktani szerepet játszó vírusok elterjedtségének, valamint kártételük pontosabb megismerése pedig megalapozhatja specifikus védekezési eljárások kidolgozását, ezáltal a pulykák felnevelési betegségeinek csökkentését.

6.2. A ludak intestinalis spirochaetosisa

6.2.1. A ludak intestinalis spirochaetosisa (természetes esetek)

A madarak intestinalis spirochaetosisát számos madárfajban leírták már. Bár a kórkép pulyka és lúd állományokban való előfordulásáról hazánkban is voltak adatok (Dobos-Kovács és mtsai., 2001) libákban eddig az egyetlen leírt spirochaeta fertőzés a *B. anserina* okozta heveny vérfertőzés volt (Swayne, 2003). A ludak intestinalis spirochaetosisának komplex leírását először mi adtuk közre (Nemes és mtsai., 2006).

A betegséget következetesen első tojástermelési ciklusukat befejező, vedlő tojóludakban észleltük. Más fajokban is jellemző, hogy az AIS klinikai tünetei gyakran hajlamosító tényezők, egyebek közt tojóállományokban, éppen a vedléssel együtt járó stressz hatására jelennek meg (Kouwenhoven, 1993; Swayne és mtsai., 1992; Trampel és mtsai., 1994).

Ugyanazon a telepen tartott idősebb állatokban a betegség nem fordult elő. Ez a fogékonyság korral való csökkenésére, vagy kifejlődő immunitásra utalhat. Az irodalom tanulmányozása nem nyújt elegendő támpontot a kérdés eldöntéséhez. Nanduk *B. hyodysenteriae* fertőzése esetén a fiatal növedék állatokban súlyosabb megbetegedést tapasztaltak, mint a felnőttekben. Ugyanakkor tojótyúk állományokban a brachyspirákkal való kolonizáció mértéke a kor előrehaladtával nőtt (Stephens és Hampson, 1999). A fertőzéssel szemben kialakuló immunitás mibenlétéről is ellentmondóak az adatok. Sokszor fertőzött állatokból ellenanyagok nem mutathatók ki, máskor olyan madarakban jelennek meg az ellenanyagok, amelyekből brachyspirákat nem lehet kitenyészteni (Hampson és Swayne, 2008).

Az AIS ludakban fibrines elhalásos vakbél- és/vagy vastagbélgyulladás formájában jelentkezett, amihez súlyos veseelváltozások társultak. Madarakban a vastagbél spirochaetákkal való kolonizációjának következménye általában tünetmentes fertőzöttség, enyhe vagy mérsékelt súlyos klinikai megbetegedés. Kifejezetten súlyos klinikai megbetegedést eddig csak nanduban írtak le *B. hyodysenteriae* fertőzés kapcsán és most mi észleltük ludakban.

Az általunk tapasztalt veseelváltozásokhoz (tubulonephrosis, fibrosis, zsigeri köszvény) hasonlóról eddig sem madarak, sem emlősök intestinális spirochaetosisával kapcsolatban nem számoltak még be. A veseelváltozások kórfejlődésének mi sem tudjuk pontos magyarázatát adni. Elképzelhető, hogy bizonyos fajspecifikus sajátosságokkal van összefüggésben (pl. a vízimadarak kiválasztó rendszerének fokozott érzékenysége a dehidrációval szemben), esetleg a súlyosan károsodott vastagbélből felszívódó toxikus anyagok károsították a vesét. A károsodott vesékből baktériumokat és egysejtűeket nem

lehetett kimutatni. A polyomavírusok, mint vesekárosító vírusok kimutatására irányuló virológiai vizsgálat szintén negatív eredményre vezetett.

Az első esetekből, az elváltozott vastagbelekből izolált törzsek biokémiailag, egy kivételtől eltekintve (*B. hyodysenteriae*), egységesen viselkedtek és fenotípusos sajátásaik alapján *B. alvinipullin*ak bizonyultak. A *B. alvinipulli* a madárpatogénnek tekintett brachyspirák közé tartozik. Korábban ezt a fajt főleg tojótyúkok, illetve tenyészállományok enyhe, vagy közepesen súlyos megbetegedéseiből izolálták (Swayne és mtsai., 1992; Feberwee és mtsai., 2008).

A spirochaeták meghatározó szerepét a betegség kialakításában alátámasztják azok a megfigyeléseink, miszerint a spirochaetákat az esetek többségében a nyálkahártya-elváltozások mélyén lehetett kimutatni és kizárólag a vastagbél tartalmából izolálni. Nem zárhatjuk ki azonban potenciális szinergista kórokozók szerepét az elhalásos bélelváltozások kialakításában. Ha voltak ilyenek, ezek pontos azonosítása nem sikerült. Bár az elváltozott vakbél tartalmakban főként az elhalt, felületes nyálkahártya rétegben, illetve a vakbél lumenében a brachyspirák mellett gyakran lehetett *Trichomonas* alakokat megfigyelni, patológiai szerepüket éppen helyeződésük miatt az elváltozások kialakításában másodlagosnak ítéljük. A *Trichomonas* fertőzésnek a libákban játszott bármilyen patológiai szerepe jelenleg nem is ismert (McDougald, 2003). Az elváltozott vastagbél tartalmakból a *Clostridium* ssp. kitenyésztésére irányuló vizsgálatok negatív eredményre vezettek.

Az izolált törzsek antibiotikum-érzékenységi vizsgálatának eredményei megegyeznek a nemzetközi irodalomban leírtakkal (Trampel és mtsai., 1999) és kijelölik a kezelésre igénybe vehető szerek körét.

A hazai lúdállományok fertőződésének forrására vonatkozóan nincsenek adataink. Mivel az első megállapított esetekben hagyományosan (nem zártan) tartott, természetes ciklusban termelő állományokról volt szó, nem zárható ki a vad vízimadaraktól való fertőződés lehetősége. Később a megállapított esetek számának drasztikus emelkedésében szerepe lehetett annak is, hogy járványvédelmi okokból (madárinfluenza elleni védekezés) zárt térben, kisebb alapterületen tartott állományokban a zsúfoltság növekedése, a higiéniai feltételek romlása lehetőséget teremtett a brachyspirák feldúsulására.

A ludakban történt megállapítása óta az AIS hazai tojótyúk és kacsállományokban is leírásra került. A tojótyúk állományokban az izolált törzsek többsége *B. hyodysenteriae* nek bizonyult. A kacsállományokban emellett *B. pilosicoli* és *B. intermedia* törzseket lehetett kimutatni (Glávits és mtsai., 2008).

Az állatok fertőződésének időpontját még közelítőleg is nehéz meghatározni. Ennek oka, hogy a spirochaeták klinikai tünetek nélkül is képesek tartósan megtelepedni a vastagbélben (Hampson és mtsai., 2002). Az, hogy ezt a kolonizációt követi-e egyáltalán a klinikai tünetek megjelenése, több tényező függvénye (kolonizáló faj, esetleg törzs, gazdafaj,

tartás, takarmányozás és valószínűleg genetikai háttér is). Tulajdonképpen ezt erősítették meg a kísérleti fertőzés eredményei is.

6.2.2. Ludak intestinalis spirochaetosis (kísérleti fertőzés)

Az AIS kapcsán végzett naposállat fertőzési kísérletek általában egy adott izolátum kórokozó képességének megítéléséhez nyújtanak segítséget. A naposlibákat *B. alvinipullival* és *B. hyodysenteriae*vel szájon át fertőzve sikerült igazolni, hogy a természetes esetekből izolált és a kísérlethez felhasznált törzsek a kísérlet teljes időtartama alatt (35 nap) megtelepedtek a vastagbélben, főleg a vakbélben. A vakbélben képesek voltak áthatolni a hámrétegen és elérni a propriaréteget. A brachyspirák megtelepedését klinikai tünetek (híg bélsárürítés) és sejtes reakciók (lymphocytás infiltráció a nyálkahártyában) is kísérték. Másokhoz hasonlóan azonban azt is tapasztaltuk, hogy a természetes esetekből izolált törzsekkel (*B. alvinipulli*, *B. pilosicoli*) elvégzett naposállat kísérletek során kapott elváltozások jóval enyhébbek annál, mint amelyeket a természetes eset kapcsán megfigyelhetünk (Dwars és mtsai., 1992; Trott és Hampson, 1998). Ennek nyilván oka lehet az eltérő életkor és a kísérleti körülmények gyakorlati körülményektől való eltérő volta. Ugyanakkor egy *B. alvinipulli* törzssel végzett naposcsibe-fertőzési kísérletben az általunk leírtakhoz nagymértékben hasonló klinikai, kórbonctani és kórszövettani elváltozásokról számoltak be (Swayne és mtsai., 1995).

Lúdállományokban végzett vizsgálataink során egy már ismert betegség (AIS) új madárfajban való megjelenését állapítottuk meg. Azonosítottuk a kórokozót és azzal naposállatokban fertőzési kísérletet végeztünk, amelynek során a fertőzött állatokban kórtani elváltozások alakultak ki igazolva az izolált törzs patogenitását. A vizsgálatok rávilágítottak arra is, hogy a betegség manifesztálódásához egyéb hajlamosító hatásokra is szükség van. Ezek jobb megismeréséhez újabb, felnőtt madarakban elvégzett kísérletekre van szükség. Fontos a további adatgyűjtés a betegség megjelenésével kapcsolatban, ami további járványtani kérdések (fertőzési forrás, állományok közötti terjedés, korcsoportok fogékonysága, stb.) tisztázásához nyújthat segítséget.

7. Új tudományos eredmények

7.1. Kispulykák enterális kórképe

- Elsőként gyűjtöttem adatokat jellegzetes klinikai tüneteket mutató pulykaállományokban bizonyos enterális vírusok (TCoV, TAsTV-1, TAsTV-2, ARoV) hazai elterjedtségéről.
- Hazánkban elsőként számoltam be előnevelt pulykaállományokban a TCoV pozitív PEMS kórkép megjelenéséről, és leírtam a TCoV fertőzés előfordulását, klinikai tüneteket mutató utónevelt pulykaállományokban.
- A vizsgált állományokban az ARoV és a TAsTV-1 széleskörű előfordulását találtam, gyakran kombinációban. Ez a vírusfertőzés nem járt olyan súlyos következményekkel, mint a hasonló életkorban kimutatott TCoV fertőzés.
- Az alkalmazott molekuláris diagnosztikai módszer (RT-PCR) rutinszerűen alkalmasnak bizonyult a különféle vírusfertőzések oktani kórjelzésére.

7.2. Ludak intestinalis spirochaetosisa

- A nemzetközi irodalomban is elsőként számoltam be a ludak intestinalis spirochaetosisáról.
- Munkatársaimmal megállapítottam, hogy a hazai lúdállományokban talált kórbonctani elváltozásokból leggyakrabban a *Brachyspira alvinipulli* tenyésztethető ki. Vizsgálatokat végeztünk a kórkép hazai elterjedtségére vonatkozóan.
- Kísérleti állatfertőzéssel bizonyítottuk, hogy a *B. alvinipulli* képes a naposlibák vastagbelét kolonizálni (legalább a kísérlet öthetes időtartamára) és megtelepedését mérsékelt klinikai tünetek valamint kórtani leváltozások kísérik.

8. Irodalom

1. ADAMS, N. R., HOFSTAD, M. S.: Isolation of transmissible enteritis agent of turkeys in avian embryos. *Avian Dis.*, 1971. 15. 426-433.
2. BARCELLOS D. E., de UZEDA, M., IKUTA, N., LUNGE, V. R., FONSECA, A. S., KADER I. I., DUHAMEL, G. E.: Identification of porcine intestinal spirochetes by PCR-restriction fragments length polymorphism analysis of ribosomal DNA encoding 23S rRNA. *Vet. Microbiol.*, 2000. 75. 189-198.
3. BARNES, H. J., GUY, J. S.: Poult enteritis-mortality syndrome („spiking mortality”) of turkeys. In: CALNEK, B. W. (ed. in chief) *Diseases of poultry 10th ed.* Iowa State University Press. Iowa. 1997. 1025-1031.
4. BARNES, H. J., GUY, J. S.: Clinicopathologic findings in turkeys with the severe form of poult enteritis mortality syndrome. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1999. 215. 1675.
5. BARNES, H. J., GUY, J. S., VAILLANCOURT, J. P.: Poult enteritis complex. *Rev. Sci. Tech.*, 2000. 19. 565-588.
6. BARNES, H. J., GUY, J. S.: Poult enteritis-mortality syndrome. In: SAIF, Y. M. (ed. in chief) *Diseases of poultry 11th ed.* Iowa State University Press. Iowa. 2003. 1171-1181.
7. BAXENDALE, W., MEBATSION, T.: The isolation and characterization of astroviruses from chickens. *Avian Path.*, 2004. 33. 364-370.
8. BÁN, É.: Korongdiffúziós módszer. In: CZIRÓK, É. (főszerkesztő) *Klinikai járványügyi bakteriológia.* Melánia Kft. Budapest. 1999. 603-606.
9. BEHLING-KELLY, E., SCHULTZ-CHERRY, S., KOCI, M., KELLEY, L., LARSEN, D., BROWN, C.: Localization of astrovirus in experimentally infected turkeys as determined by in situ hybridization. *Vet. Path.*, 2002. 39. 595-598.

10. BOYE, M., JENSEN, Z. K., MOLLER, K., LESER, T. D., JORSAL, S. E.: Specific detection of the genus *Serpulina*, *S. hyodysenteriae* and *S. pilosicoli* in porcine intestines by fluorescent rRNA in situ hybridization. *Mol. Cell Probes*, 1998. 12. 323-330.
11. BRESLIN, J. J., SMITH, L. J., BARNES, H. J., GUY, J. S.: Comparison of virus isolation immunohistochemistry and reverse transcriptase-polymerase chain reaction procedures for detection of turkey coronavirus. *Avian Dis.*, 2000. 44. 624-631.
12. BROWN, T. P., GARCIA, A., KELLY, L.: Spiking mortality of turkey poults: 2. Effect of six different in vitro disinfection techniques on organ homogenates capable of reproducing SMT. *Avian Dis.*, 1997. 41. 906-909.
13. CARTER, G. R., WISE, D. R.: Reoviridae. In: CARTER, G. R., WISE, D. J., FLORES, E. F. (eds). A concise review of veterinary virology. Veterinary Information Service. Ithaca NY (www.ivis.org) s. a.
14. CARVER, D. K., VAILLANCOURT, J. P., STRINGHAM, M., GUY, J. S., BARNES, H. J.: Mortality patterns associated with poult enteritis mortality syndrome (PEMS) and coronaviral enteritis in turkey flocks raised in PEMS-affected regions. *Avian Dis.*, 2001. 45. 985-991.
15. CASAIS, R., DAVIES, M., CAVANAGH, D., BRITTON, P.: Gene 5 of the avian coronavirus infectious bronchitis virus is not essential of replication. *J. Virol.*, 2005. 79. 8065-8078.
16. CASTRO, A. E., MOORE, J., HAMMAMI, S., MANALAC, R. B., CHIN, R. P.: Direct isolation of rotaviruses from turkeys in embryonating chicken eggs. *Vet. Rec.*, 1992. 130. 379-380.
17. CATTOLI, G., de BATTISTI, C., TOFFAN, A., SALVIATO, A., LAVAZZA, A., CERIOLI, M., CAPUA, I.: Co-circulation of distinct genetic lineages of astroviruses in turkey and guinea fowl. *Arch. Virol.*, 2007. 152. 595-602.
18. CAVANAGH, D., MAWDITT, K., WELCHMAN, D. de B., BRITTON, P., GOUGH, R. E.: Coronaviruses from pheasants (*Phasianus colchicus*) are genetically closely related to coronaviruses of domestic fowl (infectious bronchitis virus) and turkeys. *Avian Path.*, 2002. 31. 181-193.

19. CAVANAGH, D.: Coronaviruses in poultry and other birds. *Avian Path.*, 2005. 34. 439-448.
20. CHEUNG, R. C., MATSUI, S. M., GREENBERG, H. B.: Rapid and sensitive method for detection of hepatitis C virus RNA by using silica particles. *J. Clin. Microbiol.*, 1994. 32. 2593-2597.
21. DAY, M. J., SPACKMAN, E., PANTIN-JACKWOOD, M.: A multiplex RT-PCR test for differential identification of turkey astrovirus type-1, turkey astrovirus type-2, chicken astrovirus, avian nephritis virus and avian rotavirus. *Avian Dis.*, 2007. 51. 681-684.
22. DEA, S., GARZON, S., TIJSSEN, P.: Isolation and trypsin-enhanced propagation of turkey enteric (bluecomb) coronaviruses in a continuous human rectal adenocarcinoma cell line. *Am. J. Vet. Res.*, 1989. 50. 1310-1318.
23. DEA, S., VERBEEK, A. J., TIJSSEN, P.: Antigenic and genomic relationships among turkey and bovine enteric coronaviruses. *J. Virol.*, 1990. 64. 3112-3118.
24. DOBOS-KOVACS, M., DREN, Cs., TOVARI, J., VETESI, F.: Diagnostic problems of enteritis and growth retardation in turkey poult in Hungary. 3rd Turkey Diseases Symposium. Berlin. 2000.
25. DOBOS-KOVÁCS M., FODOR L., PING J., BATA Á., NYERGES A., KOVÁCS L.: Intestinalis spirochaetosis vizsgálata libában és pulykában. IX. Derzsy napok. Kecskemét. 2001.
26. DWARS, R. M., SMIT, H. F., DAVELAAR, F. G., van T VEER, W.: Incidence of spirochaetal infections in cases of intestinal disorders in chickens. *Avian Path.*, 1989. 18. 591-595.
27. DWARS, R. M., SMIT, H. F., DAVELAAR, F. G.: Observations on avian intestinal spirochaetosis. *Vet. Quart.*, 1990. 12. 51-55.
28. DWARS, R. M., SMIT, H. F., DAVELAAR, F. G.: Influence of infection with avian intestinal spirochetes on the faeces of laying hens. *Avian Path.*, 1992. 21. 513-515.

29. EDENS, F. W., QURESHI, R. A., PARKHURST, C. R., QURESHI, M. A., HAVENSTEIN, G. B., CASAS, I. A.: Characterization of two *Escherichia coli* isolates associated with poult enteritis and mortality syndrome. *Poult. Sci.*, 1997. 76. 1665-1673.
30. EDENS, F. W., DOERFLER, R. E.: Controlling poult enteritis and mortality syndrome. *World Poult.*, 1999. 15. 48-50.
31. ESTES, M. K., MORRIS, A. P.: A viral enterotoxin. A new mechanism of virus-induced pathogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1999. 473. 73-82.
32. ESTES, M. K., ATMAR, R. L.: Rotavirus infection of the intestine. In: HECHT, G. A. (ed.) *Microbial pathogenesis and the intestinal epithelial cell*. ASM Press. Washington DC. 2003. 527-536.
33. FEBERWEE, A., HAMPSON, D. J., PHILLIPS, N. D., LA, T., van der HEIJDEN, H. M. J. F., WELLENBERG, G. J., DWARS, M. R., LANDMAN, W. J. M.: Identification of *Brachyspira hyodysenteriae* and other pathogenic *Brachyspira* species in chickens from laying flocks with diarrhea or reduced production or both. *J. Clin. Microbiol.*, 2008. 46. 593-600.
34. FLINT, S. J., ENQUIST, L. W., RACAINELLO, V. R., SKALKA, A. M.: RNA virus replication and mRNA production. In: *Principles of virology*. 2th ed. ASM Press, Washington D. C. 2004. 183-214.
35. GLÁVITS R., IVANICS É., NEMES Cs., DÁN Á., KASZANYITZKY É., SAMU P-né, THUMA Á., BEREGSZÁSZI A., SIMON A., ALADICS S., BERTA P., DOBOS-KOVÁCS M.: Vizsgálatok és megfigyelések a liba, kacska, és a házityúk intestinalis spirochaetosisáról (brachyspirososisáról) a sertésdysenteriával összehasonlítva. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2008. 130. 663-670.
36. GONDER, E., PATEL, B. L., POMEROY, B. S.: Scanning electron, light and immunofluorescent microscopy of coronaviral enteritis of turkeys (bluecomb). *Am. J. Vet. Res.*, 1976. 37. 1435-1439.
37. GONZALEZ, J. M., GOMEZ-PUERTAS, P., CAVANAGH, D., GORBALENYA, A., ENJUANES, L.: A comparative sequence analysis to revise the current taxonomy of the family Coronaviridae. *Arch. Virol.*, 2003. 148. 2207-2235.

38. GOUGH, R. E., COLLINS, M. S., BORLAND, E., KEYMER, L. F.: Astrovirus-like particles associated with hepatitis in ducklings. *Vet. Rec.*, 1984. 114. 279.
39. GUY, J. S., SMITH, L. G.: High mortality and growth depression experimentally produced in young turkeys by dual infection with enteropathogenic *Escherichia coli* and turkey coronavirus. *Avian Dis.*, 2000. 44. 105-113.
40. GUY, J. S.: Turkey coronavirus is more closely related to avian infectious bronchitis virus than to mammalian coronaviruses: a review. *Avian Path.*, 2000. 29. 207-212.
41. GUY, S. J.: Turkey coronavirus enteritis. In: SAIF, Y. M. (ed. in chief) *Diseases of poultry* 11th ed. Iowa State University Press. Iowa. 2003. 300-308.
42. GUY, J. S., MILES, M. M., SMITH, L., FULLER, F. J., SCHULTZ-CHERRY, S.: Antigenic and genomic characterization of turkey enterovirus-like virus (North Carolina, 1988 isolate): identification of virus as turkey astrovirus 2. *Avian Dis.*, 2004. 48. 206-211.
43. HAAN de, C. A., MASTERS, P. S., SHEN, X., WEISS, S., ROTTIER, P. J.: The group specific murine coronavirus genes are not essential, but their deletion by reverse genetics, is attenuating in the natural host. *Virology*, 2000. 296. 177-189.
44. HAMPSON, D. J., FELLSTRÖM, C., THOMSON, J. R.: Swine dysentery. In: STRAW, B. E., ZIMMERMANN, J. J., D'ALLAIRE, S., TAYLOR, D. J. (eds.) *Diseases of swine*. 9th ed. Blackwell publishing. Oxford. 1996. 785-805.
45. HAMPSON, D. J., PHILLIPS, N. D., PLUSKE, R. J.: Dietary enzyme and zinc bacitracin inhibit colonisation of layer hens by the intestinal spirochaete *Brachyspira intermedia*. *Vet. Microbiol.*, 2002. 86. 351-360.
46. HAMPSON, D. J., STEPHENS, C. P., OXBERRY, S. L.: Antimicrobial susceptibility testing of *Brachyspira intermedia* and *Brachyspira pilosicoli* isolates from Australian chickens. *Avian Path.*, 2006. 35. 12-16.
47. HAMPSON, D. J., SWAYNE, D. E.: Avian intestinalis spirochaetosis. In: SAIF, Y. M. (ed. in chief) *Diseases of poultry*. 12th ed. Blackwell Publishing. Ames. 2008. 922-941.

48. HAYHOW, C. S., SAIF, Y. M.: Experimental infection of specific-pathogen-free turkey poults with single and combined enterovirus and group A rotavirus. *Avian Dis.*, 1993. 37. 546-557.
49. http://www.biomarker.cdc.go.kr:8080/pathogenimg/Coronavirus_en_gif
50. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.html>
51. http://www.reoviridae.org/dsRNA_virus_proteins/images/04rotavirusfigure.jpg
52. <http://www.stanford.edu/group/virus/astr/2004ambili/astrovirus4starepa.jpg>
53. IMADA, T., YAMAGUCHI, S., MASE, M., TSUKAMOTO, K., KUBO, M., MOROOKA, A.: Avian nephritis virus (ANV) as a new member of the family astroviridae and construction of infectious ANV cDNA. *J. Virol.*, 2000. 74. 8487-8493.
54. ISMAIL, M. M., TANG, Y., SAIF, Y. M.: Pathogenicity of turkey coronavirus in turkeys and chickens. *Avian Dis.*, 2003. 47. 515-522.
55. JACKWOOD, M. V., HILT, D., BOYNTON, T., CALLISON, S. A.: Molecular analysis of TCoV, SARS-CoV, and IBV: how are they related? In: 4th International Symposium on Avian Corona- and Pneumovirus infections, Rauschholzhausen. Germany. 2004. 158-165.
56. JANSSON, D. S., BROJER, C., GAVIER-WIDEN, D., GUNNARSSON, A., FELLSTRÖM, C.: *Brachyspira* ssp. (*Serpulina* ssp.) in birds: a review and results from a study of Swedish game birds. *Anim. Health Res. Rev.*, 2001. 2. 93-100.
57. JONASSEN, C. M., KOFSTADT, T., LARSEN, I. L., LOVLAND, A., HANDELAND, K., FOLLESTAD, A., LILLEHAUG, A.: Molecular identification and characterization of novel coronaviruses infecting greylag geese (*Anser anser*), feral pigeons (*Columba livia*) and mallards (*Anas platyrhynchos*). *J. Gen. Virol.*, 2005. 86. 1597-1607.
58. JOURDAN, N., BRUNET, J. P., SAPIN, C., BLAIS, A., COTTE-LAFFITTE, J., FORESTIER, F., QUERO, A. M., TRUGNAN, G., SERVIN, L. A.: Rotavirus infection reduces sucrase-isomaltase expression in human intestinal epithel cells by perturbing protein targeting and organization of microvillar cytoskeleton. *J. Virol.*, 1998. 72. 7228-7236.

59. KANG, S. Y., NAGARANJA, K. V., NEWMAN, J. A.: Primary isolation and identification of avian rotaviruses from turkeys exhibiting signs of clinical enteritis in continuous MA 104 cell line. *Avian Dis.*, 1986. 30. 494-499.
60. KANG, S. Y., SAIF, L. J.: Production and characterization of monoclonal antibodies against an avian group A rotavirus. *Avian Dis.*, 1991. 35. 563-571.
61. KASSAI T., SRÉTER T., FARKAS R., FOK Éva: Állatorvosi parazitológiai diagnosztika 2. kiadás. Állatorvostudományi Egyetem Jegyzet. Budapest 1994. 18-20.
62. KOCI, M. D., SEAL, B. S., SCHULTZ-CHERRY, S.: Molecular characterization of an avian astrovirus. *J. Virol.*, 2000(a). 74. 6173-6177.
63. KOCI, M. D., SEAL, B. S., SCHULTZ-CHERRY, S.: Detection of turkey astrovirus by RT-PCR. *J. Vir. Meth.*, 2000(b). 90. 79-83.
64. KOCI, M. D., SCHULTZ-CHERRY, S.: Avian astroviruses. *Avian Path.*, 2002. 31. 213-227.
65. KOCI, M. D., MOSER, L. A., KELLEY, L. A., LARSEN, D., BROWN, C. C., SCHULTZ-CHERRY, S.: Astrovirus induces diarrhea in the absence of inflammation and cell death. *J. Virol.*, 2003. 77. 11798-11808.
66. KOCI, M. D., KELLEY, L. A., LARSEN, D., SCHULTZ-CHERRY, S.: Astrovirus induced synthesis of nitric oxide contributes to virus control during infection. *J. Virol.*, 2004. 78. 1564-1574.
67. KOUWENHOVEN, B.: Environment, husbandry, genetics and nutritional interactions in infectious diseases in poultry. In: YORK, J. (ed.) *Proc. Xth Cong. World Vet. Poultry Assoc. Australian Veterinary Poultry Association, Sydney Australia.* 1993. 113-126.
68. LA, T., HAMPSON D.J.: Serologic detection of *Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae* infections. *Anim. Health Res. Rev.*, 2001. 2. 45-52.
69. LA, T., PHILLIPS, N. D., HAMPSON, D. J.: Development of a duplex PCR assay for the detection of *Brachyspira hyodysenteriae* and *Brachyspira pilosicoli* in pig feces. *J. Clin. Microbiol.*, 2003. 41. 3372-3375.

70. LASSEN, J.: Rapid identification of Gram-negative rods using a three-tube method combined with a dichotomic key. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 1975. 83. 525-533.
71. LEE, B. J., HAMPSON, D. J.: Lipooligosaccharide profiles of *Serpulina pilosicoli* strains and their serological cross-reactivities. *J. Med. Microbiol.*, 1999. 48. 410-415.
72. LIN, T. L., LOA, C. C., WU, C. C.: Complete sequences of 3' end coding region for structural protein genes of turkey coronavirus. *Vir. Res.*, 2004. 106. 61-70.
73. LISTE, M. B., NATERA, I., SUAREZ, J. A., PUJD, F. H., LIPRANDI, F., LUDERT, J. E.: Enteric virus infections and diarrhea in healthy and human immunodeficiency virus-infected children. *J. Clin. Microbiol.*, 2000. 38. 2873-2877.
74. LIU, S., CHEN, J., KONG, X., SHAO, Y., HAN, Z., FENG, L., CAI, X., GU, S., LIU, M.: Isolation of avian infectious bronchitis coronavirus from domestic peafowl (*Pavo cristatus*) and teal (*Anas*). *J. Gen. Virol.*, 2005. 86. 719-725.
75. LOA, C. C., LIN, T. S., WU, C.C., BRYAN, T. A., THACKER, H. L., HOOPER, T., SCHRADER, D.: Detection of antibody to turkey coronavirus by antibody-capture enzyme-linked immunosorbent assay utilizing infectious bronchitis virus antigen. *Avian Dis.*, 2000. 44. 498-506.
76. LOA, C. C., LIN, T. L., WU, C. C., BRYAN, T., THACKER, H. L., HOOPER, T., SCHRADER, D.: Humoral and cellular immune responses in turkey poultts infected with turkey coronavirus. *Poult. Sci.*, 2001. 80. 1416-1424.
77. LOA, C. C., LIN, T. L., WU, C. C., BRYAN, T., HOOPER, T., SCHRADER D.: Specific mucosal IgA immunity in turkey poultts infected with turkey coronavirus. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2002. 88. 57-64.
78. LUNDGREN, O., PEREGRIN, A. T., PERSSON, K., KORDASTI, S., UHNOO, I., SVENSSON, L.: Role of the enteric nervous system in the fluid and electrolyt secretion of rotavirus diarrhea. *Science*, 2000. 287. 491-495.
79. MATSUI, S. M., GREENBERG, H. D.: Astroviruses. In: KNIPE, D. M., HOWLEY, P. M. (eds.) *Fields Virology Vol. 1*. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. 2001. 875-894.

80. MÁNDOKI M., DOBOS-KOVÁCS M., IVANICS É., NEMES Cs., BAKONYI T., RUSVAI M.: Az avian nephritis vírus okozta kórkép előfordulásának első hazai leírása és elterjedtségének vizsgálata. Magyar Állatorv. Lapja, 2005. 127. 720-726.
81. MCDUGALD, L. R.: Trichomoniasis. In: Saif, Y. M. (ed. in chief) Disease of poultry. 11th ed. Iowa State University Press. Iowa. 2003. 1006-1008.
82. McNULTY, M. S., ALLAN, G. M., TODD, J., MCFERRAN, J. B., MCKILLOP, E. R., COLLINS, D. S., MCCRACKEN, R. M.: Isolation of rotaviruses from turkey and chickens: Demonstration of distinct serotypes and electropherotypes. Avian Path., 1980(a). 9. 363-375.
83. McNULTY, M. S., CURRAN, W. L., MCFERRAN, J. B.: Detection of astroviruses in turkey faeces by direct electron microscopy. Vet. Rec., 1980(b). 106. 561.
84. McNULTY, M. S., REYNOLDS, D. L.: Rotavirus infection In: SAIF, Y. M. (ed. in chief) Diseases of poultry. 12th ed. Blackwell Publishing. Ames. 2008. 338-350.
85. MILLER, D. A., WILSON, N. A., KIRKBRIDE, C. A.: Evaluation of multivalent *Leptospira* fluorescent antibody conjugates for general diagnostic use. J. Vet. Diagn. Invest., 1989. 1. 146-149.
86. MILNER, J. A., SELLWOOD, R.: Chemotactic response to mucin by *Serpulina hyodysenteriae* and other porcine spirochetes: Potential role in intestinal colonization. Infect. Immun., 1994. 62. 4095-4099.
87. MINAMOTO, N., SUGIMOTO, O., YOKOTA, M., TOMITA, M., GOTO, H., SUGIYAMA, M., KINJO, T.: Antigenic analysis of avian rotavirus VP6 using monoclonal antibodies. Arch. Virol., 1993. 131. 293-305.
88. MOLBERG, O., LUNDIN, K. E., SOLLID, L. M., SCOTT, H., BRANDTZAEG, P., THORSBY, E.: CD4+ T cells with specific reactivity against astrovirus from normal human small intestine. Gastroenterology, 1998. 114. 115-122.

89. MORI, Y., BORGAN, M. A., ITO, N., SUGIYAMA, M., MINAMOTO, N.: Diarrhea-inducing activity of avian rotavirus NSP4 glycoproteins, which differ greatly from mammalian rotavirus NSP4 glycoproteins in deduced amino acid sequence, in suckling mice. *J. Virol.*, 2002. 76. 5829-5834.
90. MOSER, L. A., CARTER, M., SCHULTZ-CHERRY, S.: Astrovirus increases epithelial barrier permeability independently of viral replication. *J. Virol.*, 2007. 81. 11937-11945.
91. MUNIAPPA, N. G., DUHAMEL, G. E., MATHIESEN, M. R., BARGAR, T. W.: Light microscopic and ultrastructural changes in the ceca of chicks inoculated with human and canine *Serpulina pilosicoli*. *Vet. Path.*, 1996. 33. 542-550.
92. MYERS, T. J., SCHAT, K. J.: Intestinal IgA response and immunity to rotavirus infection in normal and antibody deficient chickens. *Avian Path.*, 1990. 19. 697-712.
93. NEMES, CS., GLÁVITS, R., DOBOS-KOVÁCS, M., IVANICS, ÉVA KASZANYITZKY, ÉVA, BEREGSZÁSZI ANIKÓ, SZEREDI, L., DENCŐ, L.: Typhlocolitis associated with spirochaetes in goose flocks. *Avian Path.*, 2006. 35. 4-11.
94. NUESSEN, M. E., JONES, L. A., GLOCK R. D.: Involvement of lipopolysaccharide in the pathogenicity of *Treponema hyodysenteriae*. *J. Immunol.*, 1983. 131. 997-999.
95. PAKPINYO, S., LEY, D. H., BARNES, H. J., VAILLANCOURT, J. P., GUY, J. S.: Enhancement of enteropathogenic *Escherichia coli* pathogenicity in young turkeys by concurrent turkey coronavirus infection. *Avian Dis.*, 2003. 47. 396-405.
96. PALYA, V., NAGY, M., GLÁVITS, R., IVANICS, É., SZALAY, D., DÁN, Á., SÜVEGES, T., MARKOS, B., HARRACH, B.: Investigation on field outbreaks of turkey haemorrhagic enteritis in Hungary. *Act. Vet. Hun.*, 2007. 55. 135-149.
97. PANIGRAHY, B., NAQI, S. A., HALL, C. F.: Isolation and characterization of viruses associated with transmissible enteritis (bluecomb) of turkeys. *Avian Dis.*, 1973. 17. 430-438.

98. PANTIN-JACKWOOD, M. J., SPACKMAN, E., WOOLCOCK, P. R.: Phylogenetic analysis of turkey astroviruses reveals evidence of recombination. *Vir. Gen.*, 2006(a). 32. 187-192.
99. PANTIN-JACKWOOD, M. J., SPACKMAN, E., WOOLCOCK, P. R.: Molecular characterization and typing of chicken and turkey astroviruses circulating in the United States: Implications for diagnostics. *Avian Dis.*, 2006(b). 50. 397-404.
100. PANTIN-JACKWOOD, M. J., SPACKMAN, E., DAY, M. J., RIVES, D.: Periodic monitoring of commercial turkeys for enteric viruses indicates continuous presence of astrovirus and rotavirus on the farms. *Avian Dis.*, 2007. 51. 674-680.
101. PANTIN-JACKWOOD, M. J., DAY, M. J., JACKWOOD, W. M., SPACKMAN, E.: Enteric viruses detected by molecular methods in commercial chicken and turkey flocks in the United States between 2005 and 2006. *Avian Dis.*, 2008(a). 52. 235-244.
102. PANTIN-JACKWOOD, M. J., SPACKMAN, E., DAY, M. J.: Pathogenesis of type 2 turkey astroviruses with variant capsid genes in 2-day-old specific pathogen free poults. *Avian Path.*, 2008(b). 37. 193-201.
103. PETERSON, E. H., HYMAS, T. A.: Antibiotics in the treatment of unfamiliar turkey disease. *Poult. Sci.*, 1951. 30. 466-468.
104. PHILLIPS, N. D., LA, T., HAMPSON, D. J.: A cross-sectional study to investigate the occurrence and distribution of intestinal spirochaetes (*Brachyspira* spp.) in three flocks in laying hens. *Vet. Microbiol.*, 2005. 105. 189-198.
105. PHILLIPS, N. D., LA, T., HAMPSON, D. J.: Development of a two-step nested duplex PCR assay for the rapid detection of *Brachyspira pilosicoli* and *Brachyspira intermedia* in chicken faeces. *Vet. Microbiol.*, 2006. 116. 239-245.
106. POMEROY, B. S., LARSEN, C. T., DESHMUKH, D. R., PATEL, B. L.: Immunity to transmissible (coronaviral) enteritis of turkeys (bluecomb). *Am. J. Vet. Res.*, 1975. 36. 553-555.

107. POMEROY, K. A., PATEL, B. L., LARSEN, C. T., POMEROY, B. S.: Combined immunofluorescence and transmission electron microscopic studies of sequential intestinal samples from turkey embryos and poults infected with turkey enteritis coronavirus. *Am. J. Vet. Res.*, 1978. 39. 1348-1354.
108. QURESHI, M. A., EDENS, F. W., HAVENSTEIN, G. B.: Immune system dysfunction during exposure to poult enteritis and mortality syndrome agents. *Poult. Sci.*, 1997. 76. 564-569.
109. REUTER G., JAKAB F., BÁNYAI K., SZÚCS Gy.: Gastroenteritist okozó vírusok. In: BERENCSEI Gy. (szerk.) *Orvosi molekuláris virológia*. Convention Budapest KFT. Budapest. 2005. 30.-37.
110. REYNOLDS, D. L., SAIF, Y. M.: Astrovirus: a cause of an enteric disease in turkey poults. *Avian Dis.*, 1986. 30. 728-735.
111. REYNOLDS, D. L., SAIF, Y. M., THEIL, K. W.: A survey of enteric viruses of turkey poults. *Avian Dis.*, 1987. 31. 89-98.
112. ROSEY, E. L., KENNEDY, M. J., YANCEY, R. J.: Dual *flaA1 flaB1* mutant of *Serpulina hyodysenteriae* expressing periplasmic flagella is severely attenuated in a murine model of swine dysentery. *Infect. Immun.*, 1996. 64. 4154-4162.
113. ROHDE, J., ROTHKAMP, A., GERLACH, G. F.: Differentiation of porcine *Brachyspira* species by a novel nox PCR-based restriction fragment length polymorphism analysis. *J. Clin. Microbiol.*, 2002. 40. 2598-2600.
114. SAGARTZ, J. E., SWAYNE, D. E., EATON, K. A., HAYES, J. R., AMASS, K. D., WACK, R., KRAMER, L.: Necrotizing typhlocolitis associated with a spirochete in rheas (*Rhea americana*). *Avian Dis.*, 1992. 36. 282-289.
115. SAIF, L. M., SAIF, Y. M., THEIL, K. W.: Enteric viruses in diarrheic turkey poults. *Avian Dis.*, 1985. 29. 798-811.
116. SAIF, L. J., JIANG, B.: Nongroup A rotaviruses in humans and animals. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1994. 185. 339-371.

117. SAIF, Y. M.: Viral enteric infections In: SAIF, Y. M. (ed. in chief) Diseases of poultry. 12th ed. Blackwell Publishing. Ames. 2008. 329-330.
118. SCHULTZ-CHERRY, S., KAPCZYNSKI, D. R., SIMMONS, V. M., KOCI, M. D., BROWN, C., BARNES, H. J.: Identifying agent(s) associated with poult enteritis mortality syndrome: importance of the thymus. *Avian Dis.*, 2000. 44. 256-265.
119. SCHULTZ-CHERRY, S., KING, D. J., KOCI, M. D.: Inactivation of an astrovirus associated with poult enteritis mortality syndrome. *Avian Dis.*, 2001. 45. 76-82.
120. SHAWKY, S. A., SAIF, Y. M., SWAYNE, D. E.: Role of circulating maternal anti-rotavirus IgG in protection of intestinal mucosal surface in turkey poults. *Avian Dis.*, 1993. 37. 1041-1050.
121. SHAWKY, S. A., SAIF, Y. M., MCCORMICK, J.: Transfer of maternal anti-rotavirus IgG to the mucosal surface and bile of turkey poults. *Avian Dis.*, 1994. 38. 409-417.
122. SHIVAPRASAD, H. L., DUHAMEL, G. E.: Cecal spirochaetosis caused by *Brachyspira pilosicoli* in commercial turkeys. *Avian Dis.*, 2005. 49. 609-613.
123. SONGER, G. J., POST, K. W.: The genus *Brachyspira*. In: *Veterinary Microbiology*. Elsevier Saunders. St. Louis. 2005. 232-240.
124. STANTON, T. B., POSTIC, D., JENSEN, N. S.: *Serpulina alvinipulli* sp. nov., a new *Serpulina* species that is enteropathogenic for chickens. *Int. J. System. Bacter.* 1998. 48. 669-676.
125. STANTON, T. B., ROSEY, E. L., KENNEDY, M. J., JENSEN, M. S., BOSWORTH B. T.: Isolation, oxygen sensitivity, and virulence of NADH oxidase mutants of the anaerobic spirochete *Brachyspira* (*Serpulina*) *hyodysenteriae* etiologic agent of swine dysentery. *Appl. Envir. Microbiol.*, 1999. 65. 5028-5034.
126. STEPHENS, C. P., HAMPSON, D. J.: Prevalence and disease association of intestinal spirochaetes in chickens in eastern Australia. *Avian Path.*, 1999. 28. 447-454.

127. STEPHENS, C. P., OXBERRY, S. L., PHILLIPS, N. D., LA, T., HAMPSON, D. J.: The use of multilocus enzyme electrophoresis to characterise of intestinal spirochaetes (*Brachyspira* spp.) colonising hens in commercial flocks. *Vet. Microbiol.*, 2005. 107. 149-157.
128. SWAYNE, D. E., BERMUDEZ, A. J., SAGARTZ, J. E., EATON, K. A., MONFORT, J. D., STOUTENBURG, J. W., HAYES, J. R.: Association of cecal spirochetes with pasty vents and dirty eggshells in layers. *Avian Dis.*, 1992. 36. 776-781.
129. SWAYNE, D. E., EATON, K. A., STOUTENBURG, J., TROTT, D. J., HAMPSON, D. J., JENSEN, N. S.: Identification of a new intestinal spirochete with pathogenicity for chickens. *Infect. Immun.*, 1995. 63. 430-436.
130. SWAYNE, D. E.: Avian intestinal spirochaetosis. In: SAIF, Y. M. (ed. in chief) *Diseases of poultry*. 11th. ed. Iowa State Univ. Press. Ames. 2003. 826-836.
131. TAFAZOLI, F., ZENG, C. Q-Y., ESTES, M. K., MAGNUSSON, K. E., SVENSSON, L.: The NSP4 enterotoxin of rotavirus induces paracellular leakage in polarized epithel cells. *J. Virol.*, 2001. 75. 1540-1546.
132. TANG, Y. M., ISMAIL, M., SAIF, Y. M.: Development of antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay and RT-PCR for detection of turkey astroviruses. *Avian Dis.*, 2005(a). 49. 182-188.
133. TANG, Y., MURGIA, M. V., SAIF, Y. M.: Molecular characterization of the capsid gene of two serotypes of turkey astroviruses. *Avian Dis.*, 2005(b). 49. 514-519.
134. TANG, Y., MURGIA, M. V., WARD, L., SAIF, Y. M.: Pathogenicity of turkey astroviruses in turkey embryos and poults. *Avian Dis.*, 2006. 50. 526-531.
135. TEIXEIRA, M. C. B., LUVIZOTTO, M. C. R., FERRARI, H. F., MENDES, A. R., da SILVA, S. E. L., CARDOSO, T. C.: Detection of turkey coronavirus in commercial turkey poults in Brazil. *Avian Path.*, 2007. 36. 29-33.

136. THEIL, K. W., REYNOLDS, D. L., SAIF, Y. M.: Comparison of immune electron microscopy and genome electropherotyping techniques for detection of turkey rotavirus and rota-like viruses in intestinal contents. *J. Clin. Microbiol.*, 1986. 23. 695-699.
137. THOUVENELLE, M. L., HAYNES, J. S., REYNOLDS, D. L.: Astrovirus infection in hatchling turkey. Histologic, morphometric and ultrastructural findings. *Avian Dis.*, 1995(a). 39. 328-336.
138. THOUVENELLE M. L., HAYNES, J. S., SELL, J. L., REYNOLDS, D. L.: Astrovirus infection in hatchling turkeys: Alterations in intestinal maltase activity. *Avian Dis.*, 1995(b). 39. 343-348.
139. TODD, D., MCNULTY, M. S.: Electrophoretic variation of avian rotavirus RNA in polyacrilamide gels. *Avian Pathol.*, 1986. 15. 149-159.
140. TRAMPEL, D. W., JENSEN, N. S., HOFFMAN, L. J.: Cecal spirochaetosis in commercial laying hens. *Avian Dis.*, 1994. 38. 895-898.
141. TRAMPEL, D. W., KINYON, J. M., JENSEN, N. S.: Minimum inhibitory concentration of selected antimicrobial agents for *Serpulina* isolated from chickens and rheas. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1999.11. 379-382.
142. TROTT, D. J., HAMPSON, D. J.: Evaluation of day-old specific-pathogen-free chicks as an experimental model for pathogenicity of intestinal spirochete species. *J. Comp. Pathol.*, 1998. 118. 365-381.
143. TUMLIN, J. T., POMEROY, B. S.: Bluecomb disease of turkeys. V. Preliminary studies on parental immunity and serum neutralization. *Am. J. Vet. Res.*, 1958. 19. 725-728.
144. YASON, C. V., SUMMERS, B. A., SCHAT, K. A.: Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chickens and turkeys: pathology. *Am. J. Vet. Res.*, 1987. 48. 927-938.
145. YU, M., ISMAIL, M. A., QURESHI, M. A., DEARTH, R. N., BARNES, H. J., SAIF, Y. M.: Viral agents associated with poult enteritis and mortality syndrome: the role of small round viruses and turkey coronavirus. *Avian Dis.*, 2000. 44. 297-304.

146. VARGA J.: Részletes bakteriológia In: TUBOLY S. (szerk.) Állatorvosi járványtan I. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 1998. 189-191.
147. VARGA, J.: Sertésdysenteria. In: VARGA J., TUBOLY S., MÉSZÁROS J. (szerk.) A háziállatok fertőző betegségei. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 1999. 228-232.
148. VELAYUDHAN, B. T., SHIN, H. J., LOPES, V. C., HOOPER, T., HALVORSON, D. A., NAGARAJA, K. V.: A reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for the diagnosis of turkey coronavirus infection. J. Vet. Diagn. Invest., 2003. 15. 592-596.
149. WEBB, D. M., DUHAMEL, G. E., MATHIESEN, M. R., MUNIAPPA, M., WHITE, A. K.: Cecal spirochetosis associated with *Serpulina pilosicoli* in captive juvenile ring-necked pheasants. Avian Dis., 1997. 41. 997-1002.
150. WEGE, H., SIDDEL, S., MEULEN, V.: The biology and pathogenesis of coronaviruses. Curr.Top. Microbiol. Immunol., 1982. 99. 165-200.

9. Publikációk

9.1. A kutatási témában megjelent szakcikkek

NEMES CS., GLÁVITS, R., DOBOS-KOVÁCS, M., IVANICS, ÉVA, KASZANYITZKY, ÉVA, BEREGSZÁSZI, ANIKÓ, SZEREDI, L., DENCSŐ, L.: Typhlocolitis associated with spirochaetes in goose flocks. Avian Path., 2006. 35. 4-11.

NEMES CS., GLÁVITS R., DOBOS-KOVÁCS M., IVANICS ÉVA, KASZANYITZKY ÉVA, BEREGSZÁSZI ANIKÓ, SZEREDI L., DENCSŐ L.: Spirochaetafertőzéssel összefüggő vastagbélgyulladás lúdállományokban. Másodközlés. Magyar Állatorv. Lapja, 2006. 128. 343-350.

IVANICS ÉVA, DOBOS-KOVÁCS, M., GLÁVITS, R., KASZANYITZKY, ÉVA, NEMES, CS., SZEREDI, L., BEREGSZÁSZI ANIKÓ, DENCSŐ, L.: Experimental study on the role of *Brachyspira alvinipulli* in intestinal spirochaetosis of geese. Acta Vet. Hun., 2007. 55. 315-326.

NEMES CS., SZALAY D., URSU KRISZTINA, PALYA V., GLÁVITS R.: Pulykák coronavírus okozta bélgyulladásának vizsgálata Magyarországon. 1. rész. Irodalmi áttekintés. Magyar Állatorv. Lapja, 2008. 130. 80-87.

NEMES CS., SZALAY D., URSU KRISZTINA, PALYA V., GLÁVITS R.: Pulykák coronavírus okozta bélgyulladásának vizsgálata Magyarországon. 2. rész. Saját megfigyelések. Magyar Állatorv. Lapja, 2008. 130. 148-156.

NEMES CS., IVANICS ÉVA, SZALAY D., URSU KRISZTINA, SIMONYAI ERIKA, GLÁVITS R.: Kispulykák astrovírus és rotavírus okozta bélgyulladásának hazai vizsgálata. Irodalmi áttekintés és saját megfigyelések. Magyar Állatorv. Lapja, 2008. 130. 464-474.

GLÁVITS R., IVANICS ÉVA, NEMES CS., DÁN Á., KASZANYITZKY ÉVA, SAMU PÉTERNÉ, THUMA Á., SIMON ANNA, ALADICS S., BERTA P., DOBOS-KOVÁCS M.: Vizsgálatok és megfigyelések a liba, kacska és a házityúk intestinális spirochaetosisáról (brachyspirosisáról) a sertésdysentériával összehasonlítva. Magyar Állatorv. Lapja, 2008. 130. 663-671.

9.2. A kutatási témában tartott előadások

NEMES CS., GLÁVITS R., DOBOS-KOVÁCS M, IVANICS ÉVA, KASZANYITZKY ÉVA, BERECSZÁSZI ANIKÓ, SZEREDI L., DENCSŐ L.: *Brachyspira alvinipulli* okozta vesekárosodással járó vastagbélgyulladás (enterális spirochaetosis) lúdállományokban. MTA Akadémiai beszámoló. 2005.

NEMES CS., GLÁVITS R., DOBOS-KOVÁCS M., IVANICS ÉVA, KASZANYITZKY ÉVA, BERECSZÁSZI ANIKÓ, SZEREDI L., DENCSŐ L.: *Brachyspira alvinipulli* okozta vesekárosodással járó vastagbélgyulladás (enteralis spirochaetosis) lúdállományokban. 13. Derzsy Napok. Galyatető, 2005.

IVANICS ÉVA, DOBOS-KOVÁCS M., GLÁVITS R., KASZANYITZKY ÉVA, NEMES CS., SZEREDI L., BERECSZÁSZI ANIKÓ, DENCSŐ L.: Libák intestinalis spirochaetosisából izolált *Brachyspira alvinipulli* vizsgálata. MTA Akadémiai beszámoló 2006.

NEMES CS., IVANICS ÉVA, SZALAY D., URSU KRISZTINA, GLÁVITS R., PALYA V., ZARKA P.: Pulykák vírusos bélgyulladásai, az ún. poult enteritis mortality syndrome (PEMS) kórkép hazai vizsgálata. MTA Akadémiai beszámoló 2007.

NEMES CS., SZALAY D., URSU KRISZTINA, PALYA V., GLÁVITS R.: Pulykák coronavirus okozta bélgyulladása. MTA Akadémiai beszámoló 2007.

NEMES CS., IVANICS ÉVA, SZALAY D., URSU KRISZTINA, GLÁVITS R., PALYA V., ZARKA P.: Pulykák vírusos bélgyulladásai, az ún. poult enteritis mortality syndrome (PEMS) kórkép hazai vizsgálata. 15. Derzsy Napok, Balatonfüred, 2007. június 7.-8.

GLÁVITS R., IVANICS ÉVA, NEMES CS., DÁN Á., KASZANYITZKY ÉVA, BERECSZÁSZI ANIKÓ, SIMON ANNA, ALADICS, S.: A liba, a kacsa és a házityúk spirochaetosisának (brachyspirosisának) összevetése a sertédszterciával. 16. Derzsy Napok, Zalakaros, 2008. június 5.-6.

9.3. Egyéb publikációk és előadások

SZALAY, D., GLÁVITS, R., NEMES, CS., KÓSA, ANNA, FODOR, L.: Clinical signs and mortality caused by *Ornithobacterium rhinotracheale* in turkey flocks. Acta Vet. Hun., 2002. 50. 297-305.

NEMES CS., BENDA T., GLÁVITS R., CSÉPLŐ A., VISNYEI S.: Yersinia pseudotuberculosis okozta tömeges megbetegedés egy hízópulyka-állományban. Magyar Állatorv. Lapja, 2000. 122. 579-586.

MÁNDOKI MÍRA, DOBOS-KOVÁCS M., IVANICS ÉVA, NEMES CS., BAKONYI T., RUSVAI M.: Az avian nephritis vírus okozta kórkép előfordulásának első hazai leírása és elterjedtségének vizsgálata. Magyar Állatorv. Lapja, 2005. 127. 720-726.

MÁNDOKI, M., BAKONYI, T., IVANICS, É., NEMES, CS., DOBOS-KOVÁCS, M., RUSVAI, M.: Phylogenetic diversity of avian nephritis virus in Hungarian chicken flocks. Avian Path., 2006. 35. 224-229.

IVANICS ÉVA, PALYA V., GLÁVITS R., NEMES CS., MATÓ T., DÁN Á., NAGY EÖRSNÉ, ZARKA P., SURÁNYI ANDREA, MUNCZ F., BACSÓ TÍMEA, KÖRÖSI L.: A csirkék fertőző anaemiájának újabb járványos hazai előfordulása. Magyar Állatorv. Lapja, 2007. 129. 103-110.

PALYA V., NEMES CS., GLÁVITS R., NAGY M.: Pulyka meningoencephalitis hazai megállapítása. MTA Akadémiai beszámoló 2005.

IVANICS ÉVA, PALYA V., GLÁVITS R., NEMES CS., MATÓ T., DÁN Á., NAGY EÖRSNÉ, ZARKA P., SURÁNYI ANDREA, MUNCZ F., BACSÓ TÍMEA, KÖRÖSI L.: A csirkék fertőző anaemiájának újabb járványos hazai előfordulása. Broiler Szakülés, MOÁE Baromfi-egészségügyi Társasága, Szolnok, 2006. március 9.

DOBOS-KOVÁCS M., PALYA V., MATÓ T., BAKONYI T., IVANICS ÉVA, NEMES CS., PALYA V., RUSVAI M., GLÁVITS R.: A fertőző nephritis előfordulása és járványtani jelentősége hazai csirkeállományokban. 14. Derzsy Napok, Eger, 2006. június 8-9.

MATÓ T., MÁNDOKI MÍRA, BAKONYI T., IVANICS ÉVA, NEMES CS., PALYA V., RUSVAI M.: A fertőző nephritis molekuláris diagnosztikája és a hazai törzsek genetikai diverzitása. 14. Derzsy Napok, Eger, 2006. június 8-9.

NEMES CS. GLÁVITS R., BAKONYI T., MATÓ T., DOBOS-KOVÁCS M., SÁLYI G., BENYEDA J., PALYA V.: A csirkék fertőző nephritisének kísérletes vizsgálata. 14. Derzsy Napok, Eger, 2006. június 8-9.

NEMES CS., GLÁVITS R., SZALAY D., URSU KRISZTINA, IVANICS ÉVA, PALYA V.: Kispulykák vírusos eredetű emésztőszervi kórképei, különös tekintettel a coronavirus fertőzésre. MOÁE Baromfi-egészségügyi Társaság szakülése, Bögöte, 2006. szeptember 19.

IVANICS ÉVA, PALYA V., GLÁVITS R., NEMES CS., MATÓ T., DÁN Á., NAGY EÖRSNÉ, ZARKA P., SURÁNYI ANDREA, MUNCZ F., BACSÓ T., KÖRÖSI L.: A csirkék fertőző anaemiájának újabb járványos hazai előfordulása. MTA Akadémiai beszámoló 2007.

NEMES CS., DUDÁS Z. GLÁVITS R.: A gerincsigolyák Streptococcus bovis okozta tömegesen jelentkező osteomyelitise és következményes spondylolisthesis broiler szülőpár állományban. MTA Akadémiai beszámoló 2008.

10. Köszönetnyilvánítás

Dr Glávits Róbertnek témavezetőmnek, aki végig támogatott, biztatott és aktívan segített a felmerülő szakmai problémák megoldásában.

Dr. Tekes Lajosnak igazgatónak, aki a nehéz körülmények között is biztosította az anyagi és technikai feltételeket a vizsgálatokhoz.

Ursu Krisztinának, Dr. Dán Ádámnak és Dr. Kiss Istvánnak, akik bevezettek a molekuláris diagnosztika rejtelmeibe.

Dr. Ivanics Évának, Dr. Kaszanyitzky Évának és Dr. Szalay Dénesnek, akikkel való termékeny beszélgetések sokat segítettek az anyag formálásában.

Dr. Cséplő Attilának, közvetlen főnökömnek, aki megszerettette velem az intézeti diagnosztikát és igyekezett hozzászoktatni a pontos, precíz munkavégzéshez.

A **kaposvári intézet kórbonctani osztálya valamennyi dolgozójának**, akik mindennapi munkájukkal támogatták, hogy a leírt eredmények megszülethessenek.

Végül, de nem utolsó sorban azoknak **a gyakorló kollegáknak**, akik biztosították a vizsgálati anyagot és adataikkal lehetővé tették az eredmények szélesebb körű interpretálását.