

Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar
Állathigiéniai, Állomány-egészségtani és Állatorvosi Etológiai Tanszék

Kutatási célú *Brachyspira hyodysenteriae* fertőzési modell kidolgozása

Készítette: Csiky Katinka

Témavezető: Dr. Könyves László, egyetemi docens, tanszékvezető
Dr. Adorján András, tanszéki állatorvos

SZIE ÁOTK Állathigiéniai, Állomány-egészségtani és
Állatorvosi Etológiai Tanszék

Budapest

2014

TARTALOMJEGYZÉK

Tartalomjegyzék	1
1. Bevezetés.....	2
2. Irodalmi áttekintés	3
3. Anyagok és módszerek	7
3.1. Kísérleti állatok.....	7
3.2. A kísérleti állatok elhelyezése	7
3.3. A kísérleti állatok takarmányozása	8
3.4. T-2 toxin és takarmány adalékok.....	9
3.5. Előzetes kísérletek	10
3.6. A fő kísérlet elrendezése	12
3.7. A kísérleti fertőzés részletes ismertetése.....	14
3.7.1. Az inokulum előállítása, vizsgálata és az izolált törzs azonosítása	14
3.7.2. Fertőzés az inokulummal	15
3.8. Vértétel és hematológiai vizsgálat	15
3.9. Adatgyűjtés.....	15
3.10. Kórbonctani, kórszövettani és bakteriológiai vizsgálatok.....	18
4. Eredmények.....	19
4.1. A súlymérések eredményei.....	19
4.2. Takarmányfogyasztás és a takarmánykeverékek T-2 és HT-2 toxin koncentrációjának ellenőrzése.....	20
4.3. A gyomortartalom kémhatásának mérési eredményei	20
4.4. A sertésdizentériára jellemző tünetek jelentkezése és a betegség lefolyása	23
4.5. Hematológiai vizsgálatok eredményei	24
4.6. Kórbonctani, kórszövettani és bakteriológiai vizsgálatok eredményei.....	25
4.7. Statisztika	29
5. Következtetések.....	30
6. Összefoglalás	34
7. Summary	35
Köszönetnyilvánítás	36
Irodalomjegyzék	37

1. BEVEZETÉS

A sertésdizentéria (kórokozó: *Brachyspira hyodysenteriae*) egy gazdasági szempontból nagy jelentőséggel bíró, világszerte előforduló, bakteriális emésztőszervi megbetegedés, amely a választást követő időszakban, de leggyakrabban a hízalás időszakában betegíti meg az arra fogékony süldőket, valamint felnőtt sertéseket. A betegség klinikailag egyre súlyosbodó, eleinte vízszerű, később véres-nyálkás hasmenésként jelentkezik az állatokon. A jellegzetes tünetek esetleges hiánya azonban nem jelenti azt, hogy az állomány mentes a kórképtől, a sertésdizentéria ugyanis a jellegzetes klinikai forma helyett akár szubklinikai formában is jelen lehet az állományban.

Jelen szakdolgozat alapját egy olyan fertőzési modell kidolgozása szolgáltatta, amely hatékonyan alkalmazható konvencionális sertéseken a *Brachyspira hyodysenteriae* okozta sertésdizentéria kiváltására. Az így kidolgozott fertőzési modell és annak tapasztalatai alapját képezhetik egyéb, a dizentériával kapcsolatos kutatások elvégzésének. Ennek megfelelően az általunk megalkotott és végrehajtott modell lehetővé tette, hogy tesztelésre kerülhessen két takarmány adalék hatékonysága a sertésdizentériával szembeni védekezés terén. Szakirodalmi adatok alapján számos próbálkozás volt már a betegség kontrollált körülmények közötti kiváltására konvencionális és gnotobiotikus sertéseken is. Ezekben a kísérletekben más-más fertőzési módszert és hajlamosító tényezőket alkalmaztak a fertőzés sikeres megeredésének biztosítására. Nem minden esetben jártak azonban megbízható eredménnyel, ami megerősíti azt a tényt, hogy egy olyan összetett oktanú és nehezen reprodukálható betegségről van szó, melynek előidézésében számos tényező együttes hatására van szükség, és ezek a tényezők a mai napig sem tisztázottak pontosan.

Szakdolgozatomban részletesen beszámolok a kidolgozott modell elvégzésének módjáról, a kapott eredményekről, valamint a levonható következtetésekről. Ezen felül kitérek két előzetesen végzett kísérletre is, melyek szoros összefüggésben állnak az itt ismertetett kutatással és az ezek során kapott eredmények nagyban hozzájárultak a fertőzési módszer megalkotásához.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A sertésdizentéria kórokozója a *Brachyspira* (korábban *Serpulina*, előtte *Treponema*) *hyodysenteriae*, egy Gram-negatív, anaerob, β -hemolizáló, morfológiáját tekintve spirálisan csavarodott baktérium. A betegséget Whiting és munkatársai már 1921-ben leírták közleményükben, de csak 1971-ben, a kórokozó kitenyésztésével és ennek a tenyészetnek konvencionális sertéseken végrehajtott kísérleti fertőzésével sikerült bizonyítani a betegség okát Taylor, Alexander és munkatársainak köszönhetően.¹ A sertésdizentéria világszerte elterjedt, jelentős gazdasági veszteséget okozó betegség. A veszteségek a hizlalási időszak során tapasztalható takarmány-értékesülés csökkenéséből, csökkent súlygyarapodásból, hosszabb elkészülési időből, kisebb vágósúlyból, és az akár 30%-os mértéket is meghaladó elhullásokból,² valamint a megbetegedett állatok állománykezelésére fordított nagyobb gyógyszerköltségeiből adódnak.

A sertésdizentéria jellemzően a 6-8 hetesnél idősebb süldők és kifejlett sertések fertőző emésztőszervi megbetegedése, melyben elsősorban a vastagbél érintett. Az állatok fertőződése szájon keresztül történik a környezetből, majd a bélsarukkal ürítik a kórokozókat. A néhány hetes malacok a kolosztrális immunitásnak köszönhetően még védettek a betegséggel szemben. A kezdeti általános tüneteket (láz, csökkent étvágy) eleinte vízszerű, szürkés-sárga, majd vért és fibrincafatókat is tartalmazó nyálkás hasmenés kíséri. Súlyos esetekben az ürített bélsár borseprőszerű, csokoládébarna. A tünetek következtében az állatok fokozatosan dehidratálódnak és gyengül a védekezőképességük a környezeti behatásokkal szemben. A betegséget átvészelt egyedek egy-két hét alatt képesek meggyógyulni, de súlygyarapodásuk ezután elmarad az elvárhatótól, ezen felül a gyógyult egyedek továbbra is nagy mennyiségben ürítik a kórokozót a környezetbe, a megbetegedés után kialakult immunitás pedig nem tartós, így könnyen újrafertőződhetnek.^{1,2}

Kórbonctanilag a gyakoribb, elhúzódó esetekben a vastagbél középső szakaszának jellegzetes elváltozásai figyelhetők meg. A vastagbél nyálkahártyája duzzadt, bővérű, és mivel a kórokozók a nyálkahártya felületén szaporodnak, felületes, diffúz, korpaszerű elhalást okoznak. A *Brachyspira hyodysenteriae* által termelt hemolizin és endotoxinok a nyálkahártya hámsejtek mellett a vérereket is károsítják, emiatt fokozódik a faluk átteresztőképessége, így vörösvérsejtekben és fibrinogénben gazdag savó lép ki a bél üregébe. A gyulladós folyamatok következtében megnő a kehelysejtek nyálkatermelése is, míg a crypták viszonylag

épek maradnak. Az említett jelenségek eredményeképpen a vastagbél üregében nagy mennyiségű, híg, vörhenyes színezetű, nyálkás tartalom halmozódik fel. A betegség előrehaladtával a nyálkahártya bővülése mérséklődik, az elhalás mélyebbre terjed és szürkészöld, elhalt sejteket tartalmazó, álhártyaszerű felrakódás látható a nyálkahártyaráncokon.^{1,3}

Habár a *Brachyspira hyodysenteriae* egy anaerob baktérium, bizonyos hőmérsékleti és környezeti feltételek mellett hosszú ideig is képes túlélni, különösen, ha megfelelő mennyiségű szerves anyag áll rendelkezésére. Annak ellenére, hogy egy fajspecifikus kórokozóról van szó, számtalan állatnak (kutya, macska, rágcsálók, madarak, rovarok) szerepe van a betegség terjesztésében. Ezekben a fertőzőközvetítő állatokban nem alakul ki megbetegedés, de akár át is vihetik a kórokozót egyik sertéstelepről a másikba és fertőzhetik az arra fogékony sertéseket.⁴

A kórokozó etiológiájának felderítése érdekében végzett korábbi kísérletek során csíramentes állatokban nem sikerült kiváltani a betegséget sem a szájon át beadott *Brachyspira hyodysenteriae* baktérium tenyészzettel, sem a *Spirochaeta* és *Vibrio coli* levestenyészet kombinációjával.⁵ Eredménytelennek bizonyult a csíramentes állatok fertőzése abban az esetben is, mikor a normál bélflóra részét képző *E. coli*, *Lactobacillus*, *Vibrio coli* és *Clostridium* levestenyészet együttes alkalmazásával egészítették ki a *Brachyspira hyodysenteriae* tenyészzettel való fertőzést.⁶ Ugyanebben a kísérletben sikerült a sertésdizentériára jellemző súlyos, mucohemorrhagiás hasmenést kiváltani csíramentes állatokon, amikor a sertésdizentéria klinikai tüneteit mutató sertés vastagbeléből nyert tartalommal fertőztek, valamint konvencionális sertéseken is, baktériumtenyészetből előállított inokulum használatával. Ezek a kísérleti fertőzések arra engednek következtetni, hogy a sertésdizentéria kiváltásához a *Brachyspira hyodysenteriae* mellett olyan egyéb baktériumok jelenlétére is szükség van, melyek a normál bélflóra részét képezik. Ezeknek a baktériumoknak a felderítése érdekében további vizsgálatokat végeztek csíramentes állatokon, melyek során azt találták, hogy előzetesen *E. coli*-val oltott, majd a későbbiekben négyféle obligát anaerob bélbaktériumot és a *Spirochaeta*-t tartalmazó keverék inokulum beadásával sikerült előidézni a betegséget.⁷ Hasonló eredményről számolnak be ugyanebben a cikkben, mikor az előzetesen *Spirochaeta*-val oltott malacokat néhány nap múlva az előbb említett négy obligát anaerobal fertőzték, illetve a baktériumok fordított adása esetén is. Nem alakult ki viszont a sertésdizentéria abban az esetben, mikor a kórokozókat külön-külön alkalmazták.

Egy kifejezetten *Brachyspira hyodysenteriae* fertőzési modellek összehasonlításával foglalkozó közlemény különböző hajlamosító tényezők hatását vizsgálta.⁸ Gyomorszondán, szájon át fecskendőből, illetve vakbél kanülön keresztül próbálkoztak a fertőzéssel, de a dizentéria kialakulása független volt a fertőző anyag beadásának módjától. Sikerült viszont alátámasztani a takarmányozás, a tartásmód és más baktériumok (*E. coli*, *Bacteroides fragilis* és *Fusobacterium necrophorum* kombináció, *Bacteroides vulgatus*) hajlamosító hatását a sertésdizentéria kialakulásában. A szója tartalmú takarmány etetése és a csoportos tartás egyértelműen hajlamosító tényező, ugyanakkor a szójával etetett, de egyedileg tartott állatok nem betegedtek meg. A *Brachyspira hyodysenteriae*-vel egy időben adott különböző baktériumok 30%-ban hatásosnak bizonyultak a betegség előidőzésében.

Az immunrendszer gyengítése érdekében, 30 perccel a fertőzés előtt kortikoszteroidot (0,15mg/kg dexametazon) adtak az állatoknak intramusculárisan⁸, de az így előkezelt egyedek nem betegedtek meg. Egy korábbi kísérletben már beszámoltak arról, hogy a sertésekben nem elég kifejezett a dexametazon immunszupresszív hatása.⁹ 2, illetve 6 mg/kg dexametazonnal kezelték a sertéseket, majd meghatározott időközönként ellenőrizték az immunrendszer működését, mely során a lymphocytáé blastogenesis mértéke és a neutrophil funkció nem mutatott jelentős változást, a hematológiai vizsgálatok során azonban neutrophiliát, lymphopeniát és eosinopeniát tapasztaltak. A szájon át történt fertőzés miatt kísérletet tettek a gyomor savas kémhatásának közömbösítésére, hogy csökkentsék a gyomorsavnak a baktériumokra kifejtett negatív hatását.⁸ Ennek érdekében antacidot (2,2 g/állat alumínium-hidroxid és magnézium-karbonát gélt) adtak az állatoknak, ez azonban látszólag nem befolyásolta a fertőzés eredményét. Mivel sem a dexametazon, sem az antacid nem bizonyult hatásosnak a szervezet védekező mechanizmusainak gátlásában, saját kísérletünkben más módszerrel próbáltunk immunszupresszív hatást elérni.

Több kísérlet vizsgálta már a takarmány T-2 toxin tartalmának immunrendszerre gyakorolt hatását sertésekben. Kimutatásra került többek között, hogy a 25 napon keresztül 5 mg/takarmány kg mennyiségben etetett T-2 toxin csökkenti a thymus és a lép tömegét.¹⁰ A thymus lebenykéi megkisebbedtek, a kéregállományában csökkent a lymphocyták száma, a lépben pedig kisebbek és lazább szerkezetűek lettek a Malpighi-testecskék a kevesebb lymphocytáé tartalom miatt. Ugyan ez a kutatás kimutatta a lymphocyták számának jelentős megfogyását a nyirokcsomókban is. Egy másik tanulmányból, amely a T-2 toxin különböző koncentrációinak hatását vizsgálta a hízók termelésére, anyagcseréjére és klinikai állapotára,

az derült ki, hogy a 0,5 mg/takarmány kg T-2 toxin már hatással van az állatok szervezetére, 4 mg felett pedig már makroszkópos elváltozásokat is okoz a bőrön és a száj nyálkahártyáján.¹¹ Takarmány kg-onként 0,5 mg T-2 toxin jelenléte már kimutathatóan csökkenti a fehér léppulpa T- és B dependens zónájának, valamint a thymus lebenykéinek méretét és a humorális immunválaszra is gátló hatása van.¹² Ezekből a tapasztalatokból kiindulva a jelen kutatásban 2 mg/takarmány kg T-2 toxin tartalmú táppal etettük az állatokat, mert ez a mennyiség már gyengíti az immunrendszert, de még nem okoz súlyos egészségkárosodást és takarmány visszautasítást, ami kedvezőtlenül befolyásolná a kísérlet valódi célját.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Kísérleti állatok

A kísérlet összesen 24 magyar nagyfehér × dán lapály F1 választási malac felhasználásával zajlott. A malacok egy olyan Dél-dunántúli sertéstelepről (DunaHyb Kft, Szekszárd) kerültek beszerzésre, amely évekre visszamenően bizonyítottan mentes a sertésdizentéria klinikai tüneteinek előfordulásától. A betelepítést megelőzően az állatok súlyát egyedileg lemértük és az így kapott testtömeg adatok ismeretében négy kísérleti csoportot (Kontroll, T2, Dys-1, Trial-D1) alakítottunk ki hat-hat malac elhelyezésével, törekedve a súly szerinti homogenitásra a csoportok között. A cél az volt, hogy elkerüljük az újabb átcsoportosítások okozta stresszt, illetve súly alapján minél egyöntetűbb csoportokat hozunk létre. Így a későbbiekben könnyebben összehasonlítható a súlygyarapodás a csoportok között, valamint mérsékeljük az egyedi fejlettségnek a csoport teljesítményére gyakorolt esetleges hatását is. Az egyes kísérleti csoportok átlagsúlya a szórás figyelembe vételével: Kontroll 14,7±1,4 kg; T2 14,6±2,2 kg; Dys-1 14,6±1,9 kg; Trial-D1 14,3±2,2 kg-nak adódott. Az állatok ivara a kísérlet szempontjából nem befolyásoló tényező, de az egységességre törekedve valamennyi malac ártány volt.

3.2. A kísérleti állatok elhelyezése

A növendék sertések a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar, Állathigiéniai, Állomány-egészségtani és Állatorvosi Etológiai Tanszékének Klímalaboratóriumában lettek elhelyezve a súlymérést és egyedi megjelölést követően. Az egyedek megkülönböztetése céljából csoportonként 1-6-os sorszámmal láttuk el őket jól látható módon úgy, hogy ezüst-nitrát oldatot használva ecsettel festettük a számokat az oldalukra. Az ezüst-nitrát fény hatására könnyen redukálódik és a kiváló elemi ezüst tartós, fekete színű nyomot hagy a bőrön.

Mind a négy csoport külön légterű kamrákban, fém ráccspadozatú, egyszintes utónevelő battériába került, törekedve az életkoruknak megfelelő optimális mikroklíma feltételek biztosítására. A hőmérsékletet minden kamrában minimum-maximum hőmérővel mértük és naponta feljegyeztük a mért adatokat. A kísérlet teljes ideje alatt 22-24°C között volt a hőmérséklet minden kamrában. A légcserét elszívósos szellőztető rendszer biztosította,

miközben huzat nem keletkezett és a légáramlás nem haladta meg a 0,2 m/sec értéket. A levegő minőségét érzékszervileg bíráltuk a munkavégzés során, mely alatt nem érzékeltünk sem a munkavégző személyek egészségére, sem az állatok termelésére vagy egészségi állapotára káros mennyiségű por és ammónia koncentrációt, valamint nem tapasztaltunk olyan tüneteket, amelyeket a levegő káros összetételére vezethetnénk vissza. A megfelelő környezeti higiénia megteremtése és a levegő minőségének megőrzése érdekében napi rendszerességgel történt az állatok férőhelyének vizes lemosással való alapos takarítása.

A kísérlet kezdetétől az egy csoportba tartozó állatok egy ketrecben tartózkodtak a fertőzés végrehajtásáig. Az ezt követő időszakban, növekvő helyigényük miatt két közvetlen egymás mellett lévő ketrecbe helyeztük át őket, ugyanabban a helyiségben (ketrecenként 3-3 malac), úgy hogy továbbra is tudtak érintkezni egymással (1. ábra). A vizsgálat alatt egyöntetűen napi 12 órás megvilágítást alkalmaztunk automatizált világító program segítségével.



3.3. A kísérleti állatok takarmányozása

Az etetés napi két alkalommal, takarmányszóródás-gátlóval ellátott vályúból történt úgy, hogy az állatok minden esetben ad libitum tudjanak takarmányt fogyasztani. Ketrecenként egy szópókás önitató biztosította az ivóvizet.

A laborba érkezést követően három nap alatt tértünk át a származási helyről hozott, antibiotikumot tartalmazó startertápról a Vitafort Zrt. által gyártott dercés startertápra (Vitapig starter, teljes értékű takarmánykeverék), amely antibiotikumot és egyéb antimikroba hatású készítményeket nem tartalmazott, ennek fontosabb beltartalmi értékeit az 1. táblázat szemlélteti. A három napos átmeneti időt leszámítva a vizsgálat során végig ezzel a startertáppal takarmányoztunk, két különböző adalékanyaggal és T-2 toxinnal kiegészítve az egyes kísérleti csoportoknak megfelelően. A Vitafort startertáp a vizsgálatok szerint nem

tartalmazott aflatoxinokat, trichotecén vázas mikotoxinokat (pl. T-2 toxin, HT-2 toxin), zearalenont és fumonizineket kimutatható mennyiségben.

1. táblázat: Vitapig startertáp beltartalmi összetétele

Nedvesség max.	13,6 %
Ny. fehérje min.	18,11 %
DE sertés min.	13,8 MJ/kg
ME sertés min.	13,38 MJ/kg
Nyersrost max.	3,9 %
Nyerszsír min.	2,9 %
Kalcium min.	0,72 %
Foszfor min.	0,56 %
Lizin min.	1,21 %
Metionin min.	0,36 %
Nyershamu	4,6 %

3.4. T-2 toxin és takarmány adalékok

A kísérlet során alkalmazott toxint a Kaposvári Egyetem Állattenyésztési Kar, Állathigiéniai és Állatételtani Tanszékének Mikotoxin Laboratóriumában szaporított *Fusarium sporotrichioides* NRRL 3299 törzs segítségével állították elő a tanszék munkatársai. A tenyészetet 25°C-on hét napig inkubálták, majd szobahőmérsékleten további egy hétig tárolták a steril szemes kukoricára oltott, micéliumból és spórákból készített inokulumot. Ezt követően néhányszor átforgatták, és két héten át 8-10°C-os inkubátorban tenyésztették. A gombatenyészet T-2 és HT-2 toxin tartalmát szárítást, darálást és homogenizálást követően határozták meg LC/MS készülékkel (Liquid chromatography/mass-spectrometry, folyadékkromatográfiás tömegspektrométer).

A toxin takarmányhoz keverése már a kísérlet helyszínén történt az Állathigiéniai, Állományegészségtani és Állatorvosi Etológiai Tanszék munkatársainak közreműködésével. A T-2 toxinból, az immunrendszer gyengítése érdekében, 2 mg/takarmány kg került a tápba úgy, hogy 30 kg takarmányhoz számított toxinmennyiséget mértek 3 kg-nyi startertáphoz és elektromos keverővel homogenizálták. Az így kapott előkeveréket 27 kg takarmányhoz

adagolták és az egészet öt percen át egy erre a célra átalakított betonkeverővel egyneművé keverték. A toxin bekeverésénél csak a T-2 toxin mennyiségével számoltunk, a HT-2 toxint nem vettük figyelembe. A toxintartalmú takarmánykeverékek előállításakor a hatályos munkavédelmi előírásoknak megfelelően védőöltözetet, védőszemüveget, és gázmaszkot viselt minden segédkező, valamint egyszerre maximum csak két ember tartózkodott a munkavégzés idejében a helyszínen, minimalizálva a veszélyes anyaggal való érintkezés lehetőségét.

A négy kísérleti csoport más-más takarmánykeveréket fogyasztott (részletes ismertetésüket lásd később), így a vizsgálat különböző szakaszaiban mind a négy keverékből mintavételre került sor, amelyekből csoportok szerinti átlagminták készültek a T-2 és HT-2 toxin koncentrációjának megállapítása céljából. A toxin mennyiségének meghatározását a Kaposvári Egyetem Élettani, Biokémiai és Állategészségügy Intézetének Élettani és Biokémiai Laboratóriumában végezték.

A hatékony *Brachyspira hyodysenteriae* fertőzési modell kidolgozása mellett a kutatás további célját képezte két antibakteriális szerves kelát vegyület (ideiglenes néven Dys-1 és Trial-D1) hatékonyságának vizsgálata a sertésdizentériával fertőzött malacokban. Ezt a két, nem antibiotikum eredetű takarmány adalékot arra fejlesztették ki, hogy megakadályozzák a sertésdizentéria klinikai tüneteinek kialakulását, illetve hogy enyhítsék a már kialakult betegség lefolyásának súlyosságát és ezzel együtt a betegség okozta gazdasági veszteséget. A két vegyület jellemzőinek és hatékonyságuknak ismertetése nem képi a jelen szakdolgozat szerves részét, de mivel a mesterséges fertőzés szolgáltatta az alapot az adalékok teszteléséhez, a sertések takarmányozása és a kísérleti elrendezés miatt szorosan kapcsolódik a két vizsgálat. Így tehát ha nem is részletesen, de említést kell tennem e két készítményről.

A takarmány adalékok a startertáphoz lettek keverve a T-2 toxin bekeverésével azonos módon. A gyártó javaslatának megfelelően a Dys-1 elnevezésű 1 kg/tonna takarmány, a Trial-D1 pedig 10 kg/tonna takarmány adagban került a tápba, egyenletesen elkeverve. Az elkészült keverékeket csoportonként elkülönítve, jelölt nátronzsákokban tároltuk.

3.5. Előzetes kísérletek

A hatékony *Brachyspira hyodysenteriae* fertőzési modell (fő kísérlet) kidolgozását két előzetes kísérlet tapasztalataira alapoztuk, melyek szintén az Állathigiéniai, Állomány-

egészségtani és Állatorvosi Etológiai Tanszéken zajlottak. Az egyik ilyen kísérlet a sertésdizentériával való megbetegedés előidézésére irányult, ami 6 darab magyar nagyfehér × dán lapály F1 választási (ártány) malac felhasználásával történt, a jelenlegi kutatásban már ismertetett kísérletes körülményekhez hasonló feltételek mellett. Az állatok malac startertápot kaptak ad libitum és egy hét akklimatizációs időszak után, öt egymást követő napon, virulens *Brachyspira hyodysenteriae* szintenyészetből (amely épp a logaritmus növekedési fázisában volt) frissen készített levestenyészettel (100-100 ml/állat) fertőztük őket szájon át, fecskendőből bejuttatva a készítményt. Ezt követően folyamatosan figyeltük a malacok klinikai állapotát és naponta kétszer regisztráltuk a bélsár minőségét. Tekintve, hogy a levestenyészet beadása után 2-3 héttel még nem jelentkeztek a dizentériára jellemző klinikai tünetek, megismételtük a fertőzést, ezúttal két egymást követő napon, napi kétszer végrehajtva.

Mivel a protonpumpa-gátlók sertéseken való alkalmazási módjáról nem találtunk szakirodalmi adatokat és nincs is sertésekre törzskönyvezett ilyen hatású készítmény, ezért az általunk alkalmazott esomeprasol hatóanyagú szer hatásának mértékét és időtartamát egy előkísérletben teszteltük. Az esomeprasol egy olyan benzimidazol származék, amely irreverzibilisen gátolja az ATP-függő H^+/K^+ pumpa működését, ezáltal hosszú időre mérsékli a gyomornyálkahártya savszekrécióját.¹³ A vizsgálat két olyan tartalék állaton történt, amelyeket a fő kísérletbe nem vontunk be. Ez a két állat a többi süldőhöz hasonló életkorú és testtömegű volt, viszont az egyikük, valószínűleg a szállítás közben bekövetkezett sérülés miatt lábszétcsúszásban szenvedett. Ennek ellenére általános állapota és étvágya kielégítőnek bizonyult. Először 12 órás éheztetés után vettünk mintát a gyomortartalomból szondán keresztül, majd a protonpumpa-gátló izomba történő injektálását követően fél órával, utána pedig minden órában, összesen öt alkalommal ismételtük meg a mintagyűjtést. A gyomortartalmak kémhatásának meghatározásával követtük nyomon, hogy miként alakult a kémhatás a gyomorban az esomeprasol hatása alatt. Azt tapasztaltuk, hogy a 12 órás koplalás nem volt elegendő a gyomor kiürüléséhez, a mintákban takarmánymaradvány volt, ami befolyásolhatja a mérési eredményeket, ezért egy másik alkalommal megismételtük a kísérletet 18 órás koplaltatás után.

3.6. A fő kísérlet elrendezése

A nyolc hetes kísérlet három szakaszra bontható, a megfigyelési-, a bevezető-, és a kísérleti szakaszra. A 2. táblázat az átláthatóság megkönnyítése érdekében egy összefoglaló képet ad a kísérlet menetéről.

A **megfigyelési szakasz** 9 napig tartott, ez alatt történt a malacok első súlymérése, a súly alapján homogén csoportok létrehozása, az egyedi megjelölés és az állatok végleges elhelyezése, valamint három nap átmenetet biztosítottunk a beszerzési helyről hozott medikált tápról az antibiotikumot nem tartalmazó Vitafort startertápra való áttérésre. Ebben a fázisban készültek el az adalék anyagokat és T-2 toxint tartalmazó kísérleti tápok is. A megfigyelési időszakban valamennyi csoport kiegészítés nélkül kapta a startertápot. A szakasz végén feljegyeztük a csoportonként elfogyasztott takarmánymennyiséget, miközben folyamatosan figyeltük a süldők egészségi állapotát.

A **bevezető szakasz** 19 napig tartott, első napja egyben a megfigyelési szakasz utolsó napja volt és ekkor történt a második súlymérés, amit további mérések követtek a bevezető szakasz hetedik és tizenkilencedik napján. Ezen szakasz első napjától az egyes csoportok a számukra előkészített kísérleti tápot fogyasztották, kivéve a **Kontroll csoportot**, amely a három napos átmenetet követően egészen a kísérlet végéig a vizsgálandó adalékanyagok és T-2 toxin nélkül kapta a startertápot.

A **T-2 csoport** a megfigyelést követően a kísérleti szakasz hetedik napjáig 2 mg/takarmány kg mennyiségben T-2 toxinnal kiegészített tápot evett, ezt követően pedig (a kísérleti szakasz 7. napjától) toxinmentes Vitafort startertápot kapott egészen a vizsgálat végéig.

A **Dys-1 csoport** és **Trial-D1 csoport** a bevezető szakasz kezdetétől a kísérlet lezárásáig a Dys-1, illetve Trial-D1 elnevezésű takarmány kiegészítővel kevert startertápot fogyasztotta. Ezen felül a bevezető szakasz első napjától a kísérleti szakasz hetedik napjáig a T-2 csoportéval azonos mennyiségű (2 mg/takarmány kg) T-2 toxint is tartalmazott a takarmányuk.

A harmadik, egyben leghosszabb szakasz a **kísérleti szakasz** volt, amely négy héten át tartott. Első napján, a reggeli súlymérés után elvettük a takarmányt az állatok elől, de az ivóvízhez továbbra is korlátlanul hozzáfértek. Hét órás koplaltatást követően gyomortartalom mintát vettünk a Kontroll csoport malacaitól, melyek kémhatását Radelkis No. 7024 típusú pH

mérővel határoztuk meg, majd esomeprasol hatóanyag tartalmú protonpumpa-gátlóval kezeltük a sertéseket 20 mg/állat adagban intramuscularisan (Nexium 40 mg por oldatos injekcióhoz, gyártó: AstraZeneca, Németország). A Kontroll csoport kezelésben nem részesült. Öt órával az esomeprasol beadása után valamennyi egyedtől vért vettünk a fülvénából és újabb gyomortartalom mintát is nyertünk, majd ezt követően történt az első kísérleti fertőzés. A következő nap reggelén ismét ellenőriztük a gyomortartalom kémhatását, ekkor az állatok már huszonnégy órája nem jutottak takarmányhoz. Közvetlenül a második fertőzés előtt újra protonpumpa-gátlót adtunk (kivéve Kontroll csoport), azzal a különbséggel, hogy ezúttal intravénásan kapták a készítményt, ekkor azonban már nem vettünk mintát a gyomorból. Eleséget csak a második fertőzést követően kaptak újra a malacok. Minden, az állatokon végzett és kifejezettebb stresszel járó beavatkozás (vérvétel, szondázás gyomortartalom minta gyűjtése vagy fertőző anyag beadása érdekében) felületes bódításban történt, melyhez egy sertésre törzskönyvezett, azaperon hatóanyag tartalmú nyugtatót (Stressnil injekció A.U.V., gyártó: Janssen Pharmaceutica N. V. Belgium) használtunk 2mg/ttkg adagban intramuscularisan.

A kísérleti szakasz 7., 14., 21. és 28. napján ismét megmértük a malacok súlyát, és továbbra is minden súlymérésnél feljegyeztük a csoportok takarmányfogyasztását. Naponta ellenőriztük a malacok klinikai állapotát, különös figyelmet fordítva a bélsár konzisztenciájára, melyet pontozásos módszerrel minősítettünk (lásd később). A kísérlet végén újabb vérvétel történt a vena jugularis-ból, majd az állatokat elektromos kábítás után elvégeztettük és kórbonctani, valamint kórszövettani vizsgálatnak vetettük alá őket.

2. táblázat: A kísérlet egyszerűsített folyamatábrája

Csoport	Megfigyelési szakasz 9 nap	Bevezető szakasz 19 nap	Kísérleti szakasz 28 nap	
			1. hét	2-4. hét
Kontroll	átállítás a telepi takarmányról a Vitafort startertáp etetésére (3 nap)	Starter táp	fertőzés az inokulummal 2 alkalommal + a bevezető szakaszban alkalmazott takarmányozás	Starter táp
T-2	+ megfigyelés	Starter táp+T2-toxin		Starter táp
Dys-1		Starter táp+T2-toxin+Dys-1		Starter táp+Dys-1
Trial-D1		Starter táp+T2-toxin+Trial-D1		Starter táp+Trial-D1

3.7. A kísérleti fertőzés részletes ismertetése

3.7.1. Az inokulum előállítása, vizsgálata és az izolált törzs azonosítása

Az inokulum előállításához szükséges mintát a fertőzés mindkét napján frissen szereztük be egy vágóhídról (Pikker Húsipari, Kereskedelmi és Szolgáltató Kft., Mohács). A sertésdizentéria jellegzetes klinikai tüneteit és a vágást követően szembetűnő vastagbél elváltozásokat mutató sertés béltraktusát a leölés után kiemeltük, lekötöttük és 4°C-ra hűtve a lehető leghamarabb a Szent István Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszékére szállítottuk. A vastagbél felvágása után a sertésdizentériára jellemző kórbonctani elváltozásokat (duzzadt, bővérű nyálkahártya; felületes, diffúz, korpaszerű elhalás) mutató szakasz területéről származó összes béltartalmat, illetve az innen vett nyálkahártya kaparékot összegyűjtöttük és a bélsár nagyobb komponenseinek eltávolítása érdekében 0,5 mm pórusátmérőjű szűrőn mostuk át PBS-oldat (phosphate buffered saline) felhasználásával. Végül annyi PBS-oldatban szuszpendáltuk az összegyűjtött béltartalmat és kaparékot, hogy megfelelő sűrűségű és elegendő mennyiségű szuszpenziónk legyen a malacok nyelőcső szondán át való fertőzéséhez.

Az egyenletesen szuszpendált inokulumból 5 µl-t tárgylemezre cseppentve és fedőlemezzel lefedve fáziskontraszt mikroszkóp alatt vizsgáltunk, 100-szoros immerziós objektívet használva. Átlagosan 5-25 *Brachyspira* alakot lehetett megfigyelni látóterenként. Az inokulumból és az előállításához használt sertés vastagbél-nyálkahártyájából is baktériumizolálás történt, melyet a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszéken végeztek. A baktériumizoláláshoz 10% defibrinált szarvasmarhavért tartalmazó, frissen készült TSA agart használtak, amelyet antibiotikum kombinációval (400µg/ml spektinomycin, 25µg/ml vankomicin, 25µg/ml kolisztin) egészítettek ki a szelektivitás elérése érdekében. A minták leoltása után a Petri-csészék BD anaerob tasakokat tartalmazó anaerob edényekbe (Oxoid) kerültek, és 42°C-on 72 órás inkubálást követően háromszor, antibiotikumot tartalmazó táptalajon passzálták. Ezt követően véres TSA agarra oltották, és a szintenyészetben kifejlődő *Brachyspira* izolátumot 25% steril glicerint is tartalmazó TSB táptalajban szuszpendálták, majd -80°C-ra lefagyasztották.

Az izolált törzs fajszintű azonosításához DNS-t vontak ki az izolátumból Qiagen kit felhasználásával, majd univerzális 16S rRNS gén primerekkel a 16S rRNS gén egy szakaszát

amplifikálták és szekvenálták. Az izolátumot végül *Brachyspira hyodysenteriae*-ként azonosították a génbank adatbázisával összevetett szekvencia adatok alapján.

3.7.2. Fertőzés az inokulummal

Mind a négy csoport süldőit kétszer fertőztük, 24 órás különbséggel. A takarmánymegvonást, mint hajlamosító tényezőt alkalmaztuk, így tizenkét óras koplalást követően történt az első kísérleti fertőzés és mivel továbbra sem kaptak tápot az állatok, a második fertőzés idejére már több mint egy napja éheztek. A koplalás mellett a savtermelés csökkentése, azaz a gyomortartalom kémhatásának emelése szolgáltatta a másik fontos tényezőt a fertőzés megeredésének elősegítésében. Mindkét alkalommal egyedenként 200-200 ml fertőző inokulumot juttattunk peroralisan, nyelőcső szondán keresztül az állatok gyomrába, törekedve arra, hogy egy órán belül az összes sertés fertőzése megtörténjen.

3.8. Vérvétel és hematológiai vizsgálat

A kísérlet során minden állatból két alkalommal vettünk vért. Először a kísérleti szakasz első napján, közvetlenül a fertőző szuszpenzió beadását megkönnyítő bódítást (2 mg/ttkg Stressnil injekció A.U.V., im.) követően a fülvénából, majd a kísérlet végén végrehajtott leölést megelőzően a vena jugularisból.

A levett vérmintákat 5 µl Na-heparinnal gátoltuk az alvadásban, és vérkeneteket készítettünk, amelyeket Reag-Quick Panoptic gyorsfestéssel tettünk láthatóvá. A kenetkészítés célja a fehérvérsejt-típusok egymáshoz viszonyított százalékos arányának (minőségi vérkép) meghatározása volt, melyet immerziós lencsével, 1000-szeres nagyítás mellett végeztünk. A leölést megelőzően vett vérmintákból is készítettünk keneteket fehérvérsejt számlálásra, emellett Ps-5 vérsejtszámláló készülékkel (gyártó: Medicor, Magyarország) az alakos elemek mennyiségét és hemoglobin tartalmat határoztunk meg (mennyiségi vérkép).

3.9. Adatgyűjtés

A malacok súlyát a laboratóriumba érkezésük napjától kezdve fél kilogrammos pontossággal mértük egy mechanikus mérlegen (Metripond), így folyamatosan figyelemmel kísérhettük súlygyarapodásukat. Ezek a súlymérések hozzávetőlegesen hetente, de egyes esetekben ennél

hosszabb időközönként (8-12 nap) történtek a kísérleti fázisok hosszától függően, de úgy időzítve, hogy az egyes fázisok végére mindig essen egy súlymérés.

A kiosztott takarmánymennyiségeket dkg pontossággal határoztuk meg, és minden egyes súlyméréskor visszamérve a vályúban maradt táp mennyiségét, információt kaphattunk az adott csoport takarmányfogyasztásáról. Az így kapott adatok segítségével kiszámíthattuk az egyedek napi takarmányfogyasztását, napi súlygyarapodását, valamint fajlagos takarmány felhasználásukat. A takarmányfogyasztással kapcsolatos adatok azonban sajnos pontatlanok voltak a takarmányszóródás miatt.

A kísérleti fertőzésig naponta egy alkalommal, a reggeli takarmánykiosztást követően, megfigyeltük a malacok egészségi- és tápláltsági állapotát, valamint viselkedésüket, hogy az esetlegesen fellépő megbetegedéseket időben észlelhessük. A fertőzést követően egészen a kísérlet végéig naponta kétszer, de esetenként többször is ellenőriztük az állatokat. A kísérleti szakaszban történt megfigyelések fő célja a kondíció és az étvágy nyomon követése, illetve a hasmenés első jelentkezésének, és az ürített bélsár minőségének feljegyzése volt.

Kezdetben szöveges jellemzés formájában történt a bélsár minősítése, majd egy 0-4-ig terjedő pontozásos rendszer alapján értékeltünk,¹⁴ amely szerint elkülönítettük a normális, jól formált, fajra jellemző bélsarat (0); lágy, nedves, cement konzisztenciájú bélsarat (1); híg, folyós bélsarat (2); a nyálka és/vagy fibrin tartalmú hasmenést (3) és a véres hasmenést (4). Ezek után azonban, a könnyebb értékelhetőség érdekében az 1-es és a 2-es, valamint a 3-as és a 4-es kategóriákat összevontuk, mert úgy ítéltük meg, hogy így kisebb bizonytalansággal tükrözik a betegségben szenvedő állatok tényleges klinikai állapotát. Ennek megfelelően a 0 továbbra is a normál bélsarat, „A” az enyhe hasmenést (1+2 kategória), és „B” a súlyos hasmenést (3+4 kategória) jelöli. A 2-7. ábrák a különböző kategóriájú bélsarakat mutatják be.



2. ábra: Normál bélsár (0)



3. ábra: Lágy, nedves cement konzisztenciájú bélsár (A)



4. ábra: Híg, folyós bélsár (A)



5. ábra: Nyálkás hasmenés (B)



6. ábra: Fibrin tartalmú véres hasmenés (B)



7. ábra: Véres hasmenés (B)

Az adatok statisztikai elemzése során a hasmenéses tünetek függetlenség vizsgálata Fisher egzakt próbával történt az R statisztikai program (R Core Team) segítségével. A hasmenések

súlyosságának a várható értéktől való eltérését a Pearson reziduális segítségével határoztuk meg, majd az egyes csoportokat asszociációs grafikonon ábráztuk, amelyen az oszlopok magassága a várható értéktől való eltérést mutatja.

3.10. Kórbonctani, kórszövettani és bakteriológiai vizsgálatok

A kísérlet végén, a hatályos állatvédelmi rendeletnek megfelelően, elektromos kábítást követő elvéreztetéssel irtottuk ki a még életben lévő sertéseket, majd a szakma szabályai szerint boncolást végeztünk. A boncolás során fokozott figyelmet fordítottunk a vastagbél (különös tekintettel a nyálkahártya és a savóshártya felszínére, illetve a béltartalomra), a máj, a vese és az elülső bélszakaszok makroszkópos vizsgálatára. A vizsgált szervekből mintát vettünk és a későbbi kórszövettani vizsgálatra 24 órán át szobahőmérsékleten, 4%-os pufferolt formaldehid oldatban konzerváltuk. A fixálást és paraffinos beágyazást követően 5 µm vastagságú metszetek készültek, amelyek hematoxin-eozinnal, valamint Warthin-Starry módszerrel lettek megfestve.

A kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok elvégzésében a Patológiai Tanszék dolgozói voltak segítségünkre. A szövettani metszetekben a gyulladás és elhalás jeleit, a savóshártya elváltozásait, valamint *Brachyspira* szerű alakok jelenlétét keresték. A gyulladásos elváltozások súlyosságát egy ötfokozatú (0-4) skála szerint pontozták, így el lettek különítve egymástól az intakt, gyulladásos elváltozást nem mutató (0), az enyhe (1), enyhe-mérsékelt (2), közepesen súlyos (3), és súlyos (4) gyulladásos képet mutató metszetek. Az elhalás és a savóshártyán észlelt elváltozások mértéke, illetve a *Brachyspira* szerű alakok jelenléte szintén egy ötfokozatú skála szerint lett osztályozva a Patológiai Tanszék gyakorlatban alkalmazott pontozásos módszere szerint.

A boncolás során csoportonként két-két sertés vastagbéléből 10-15 cm hosszú szakaszt lekötöttünk és kivágtunk, majd a kórokozó visszaizolálása érdekében bakteriológiai vizsgálatra küldtünk a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszékre. A bélszakaszok nyálkahártyájából csapvizet lemosás után három helyről mintát vettek bakteriológiai kaccsal, majd a fertőzéshez használt inokulum vizsgálatával azonos módon (ld. 3.7.1. fejezet) izolálták a baktériumot.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A súlymérések eredményei

A betelepítés napján a sertések átlagsúlya csoportok szerint a Kontroll, T-2, Dys-1, Trial-D1 sorrendet követve 14,7±1,4; 14,6±2,2; 14,6±1,9, illetve 14,3±2,2 kg volt. A kísérleti szakasz végére a mért testtömeg értékek sorrendben a következőképpen alakultak: 37,7±10,2; 36,5±13,4; 45,3±13,7 és 38,8±12,8 kg. Az első naptól a fertőzés végrehajtásának időpontjáig az állatok tényleges súlygyarapodása 19,6±1,3; 20,6±3,3; 19,1±4,6 és 18,9±5,6 kg értékeket ért el, 0,70±0,05; 0,74±0,12; 0,68±0,17 és 0,67±0,20 kg átlagos napi súlygyarapodás mellett. Ezzel szemben a súlygyarapodás a fertőzés napjától a kísérlet lezárásáig csupán 3,4±17,2; 1,3±11,7; 11,6±9,8 és 5,5±13,0 kg körül alakult, miközben az átlagos napi súlygyarapodás 0,12±0,59; 0,04±0,4; 0,4±0,34 és 0,19±0,45 kg volt. A 3. táblázat összefoglalva tartalmazza a kísérlet különböző fázisaiban elvégzett súlymérések eredményeiből kiszámított átlagsúlyokat és a napi átlagos súlygyarapodást az egyes csoportoknak megfelelően.

3. táblázat: A csoportok átlagsúlya (kg) és súlygyarapodása (kg/nap) a kísérlet különböző szakaszaiban

Csoport	Kísérlet	Megfigyelési szakasz		Fertőzés		Kísérlet	
	kezdetén	kezdetén		időpontjában		befejezésekor	
	Átlagsúly	Átlagsúly	Súlygy.	Átlagsúly	Súlygy.	Átlagsúly	Súlygy.*
Kontroll	14,7±1,4	21,1±1,8	0,71±0,07	34,3±2,4	0,70±0,05	37,7±10,2	0,12±0,59
T-2	14,6±2,2	22,1±2,7	0,83±0,16	35,2±4,1	0,74±0,12	36,5±13,4	0,04±0,40
Dys-1	14,6±1,9	21,6±2,8	0,78±0,19	33,7±5,6	0,68±0,17	45,3±13,7	0,40±0,34
Trial-D1	14,3±2,2	21,4±2,8	0,79±0,35	33,2±5,7	0,67±0,20	38,8±12,8	0,19±0,45

Súlygy.= súlygyarapodás

*a fertőzéstől a kísérlet végéig

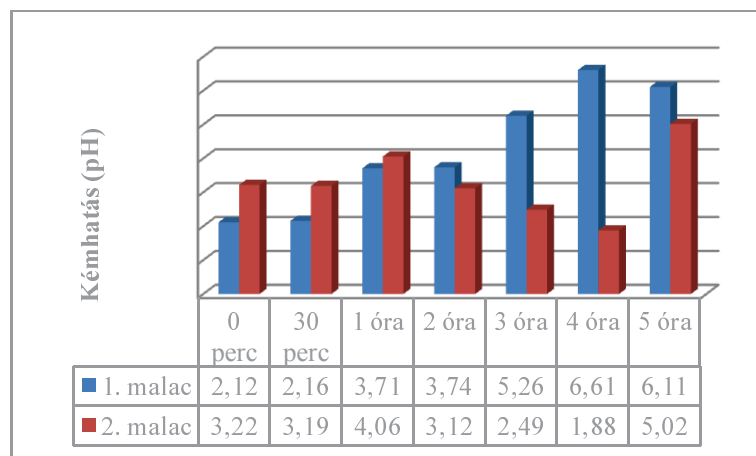
4.2. Takarmányfogyasztás és a takarmánykeverékek T-2 és HT-2 toxin koncentrációjának ellenőrzése

A korábban már említettek szerint, minden csoportban rendszeresen mértük az elfogyasztott takarmány mennyiségét és meghatároztuk az állatok napi takarmányfogyasztását és fajlagos takarmány felhasználását is. A vályúból kiszóródott jelentős mennyiségű táppal azonban nem tudtunk számolni, ezért a takarmány fogyásából vonatkoztatott adatok értékelhetősége korlátozott, nem tükrözik megfelelően a valóságot, így nem is kerülnek itt feltüntetésre.

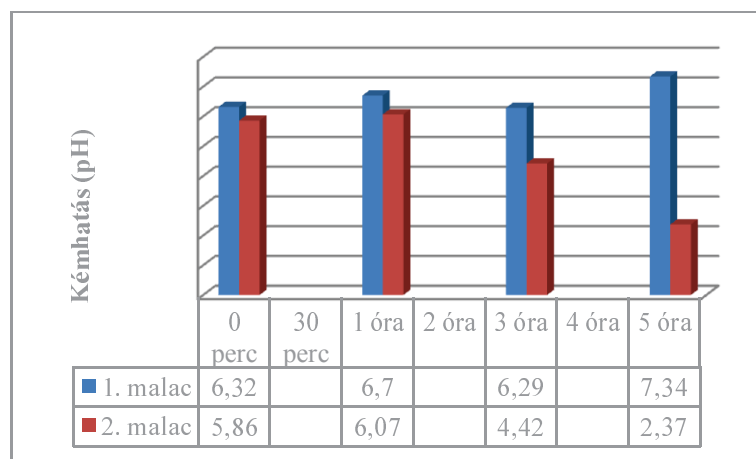
Az előállított négyféle takarmánykeverék toxintartalmának visszaellenőrzésekor a T-2, Dys-1 és Trial-D1 csoportok esetében azt tapasztaltuk, hogy a T-2 és HT-2 toxinok együttes koncentrációi elmaradnak a bekevert 2000 µg/kg értéktől. A Kontroll csoport tápjának T-2 toxin tartalma 10 µg/kg, míg HT-2 toxin tartalma 25 µg/kg alatt volt, ami azt jelenti, hogy olyan alacsonyak voltak a szintek, hogy még a nagy érzékenységgel bíró módszer ellenére sem lehetett kimutatni. A toxint tartalmazó három kísérleti táp HT-2 és T-2 toxin koncentrációja az előbb említett sorrendben, majd a kettő összegének feltüntetésével a következőképpen alakult: T-2 csoport tápjá $130+840=970$ µg/kg; Dys-1 táp $150+880=1030$ µg/kg; Trial-D1 táp $110+500=610$ µg/kg. Vagyis a számított értékekhez képest kevesebb, mint felét tartalmazták a tápok a bekevert toxinmennyiségnek.

4.3. A gyomortartalom kémhatásának mérési eredményei

A protonpumpa-gátló hatásának tesztelésére szolgáló előkísérletben, a 12 órás koplaltatás és a Nexium injekció intramuscularis beadása előtt közvetlenül, majd azt követően fél, egy, kettő, három, négy, illetve öt órával vett gyomortartalom minták kémhatását a 8. ábra szemlélteti. Ezen jól látható, hogy a 0. percben mért 2,12-es és 3,22-es kémhatás az 5. órára 6,11-re és 5,02-re kúszott fel. A gyomorszondával nyert mintákban talált jelentős mennyiségű takarmánymaradvány miatt azonban egy későbbi alkalommal megismételtük a kísérletet hosszabb koplaltatást (hozzávetőlegesen 18 óra) követően. E szerint az egyik malac esetében a 0. percben kapott 6,32-es kémhatás 7,34-re növekedett az 5. órára, viszont a másik malac értékei 5,86-ról 2,37-re csökkentek (9. ábra).



8. ábra: A gyomor kémhatásának alakulása 12 óra koplalást és a protonpumpa-gátló beadását követően

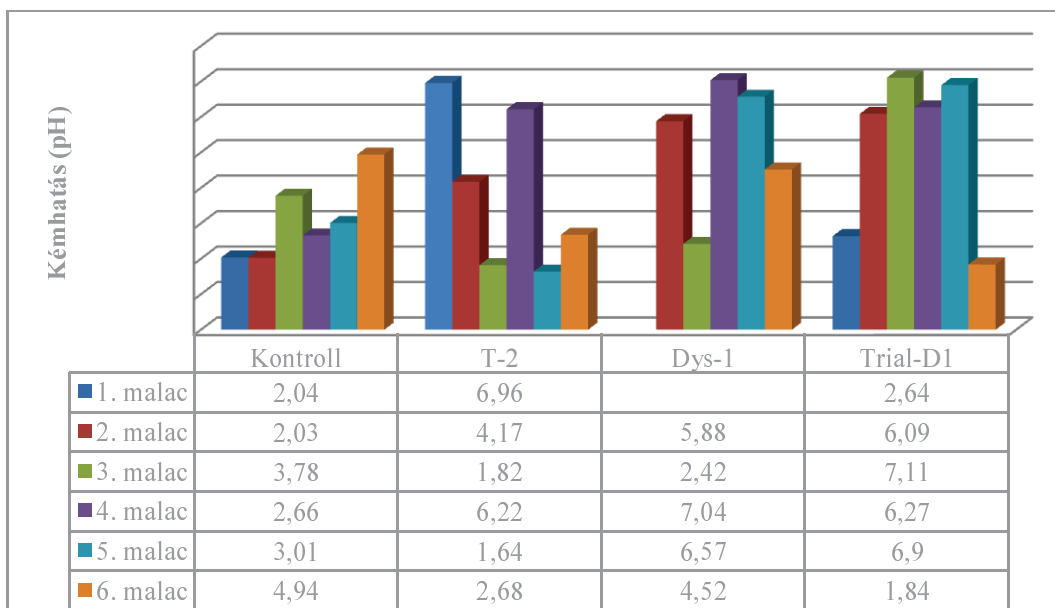


9. ábra: A gyomor kémhatásának alakulása 18 óra koplalást és a protonpumpa-gátló beadását követően

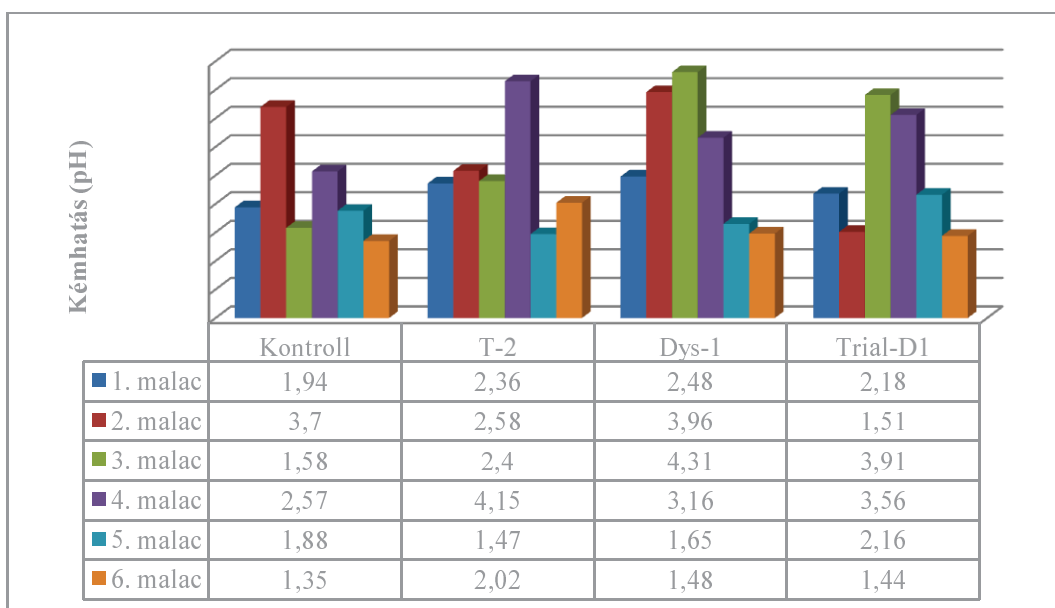
Az protonpumpa-gátló tesztelése során szerzett tapasztalatok alapján a kísérletben az ionpumpa-gátló és az éheztetés együttes hatását használtuk ki a gyomor kémhatásának növelése érdekében. A fertőzés első napján, hét órás takarmánymegvonást követően, az alap kémhatás felőli tájékozódás céljából a Kontroll csoport egyedeitől vett minták eredményeinek (malacok sorszáma szerint: 3,55; 3,84; 0,92; 3,37; 5,14; 1,21) átlaga $3,01 \pm 1,63$ volt.

Ezt követően beadtuk a protonpumpa-gátlót és az öt órás várakozás után vett gyomortartalom minták kémhatása csoportok szerint átlagolva a következőképpen alakult: Kontroll $3,08 \pm 1,12$; T-2 $3,92 \pm 2,27$; Dys-1 $5,29 \pm 1,86$ és Trial-D1 $5,14 \pm 2,29$. A második kísérleti fertőzés napjának reggelén mért kémhatások csoportonkénti átlaga az előző sorrendet követve $2,17 \pm 0,86$; $2,50 \pm 0,90$; $2,84 \pm 1,18$ valamint $2,46 \pm 1,04$ volt. A 10. és 11. ábra részleteiben is szemlélteti a gyomortartalom kémhatásának értékeit a kísérleti fertőzés első és második napján, minden

egyed adatainak feltüntetésével. Ismét felhívnom a figyelmet arra, hogy a Kontroll csoport protonpumpa-gátló kezelésben egyik fertőzés előtt sem részesült.



10. ábra: A gyomortartalom kémhatásának alakulása 5 órával a protonpumpa-gátló beadása és 12 órával a takarmánymegvonás után



11. ábra: A gyomortartalom kémhatásának alakulása 17-18 órával a protonpumpa-gátló beadása és 24 órával a takarmánymegvonás után

4.4. A sertésdizentériára jellemző tünetek jelentkezése és a betegség lefolyása

A korábbi, fertőző anyagként levestenyészetet használó kísérletben egyetlen sertés sem mutatta megbetegedés jeleit még két-három héttel a fertőzést követően sem, étvágyuk és súlygyarapodásuk az életkoruknak megfelelően alakult. A bélsár minősége minden egyednél a fajra jellemző volt a kísérleti megfigyelés teljes ideje alatt és az ismételt fertőzés is eredménytelenül járt. Két állat azonban elpusztult, egyik közvetlenül a fertőző anyag beadásakor, félrenyelés okozta fulladás következtében, egy másik pedig néhány nappal később, amelyben valószínűleg szintén félrenyelés okozta, kifejezett tüdőgyulladásra utaló kórbonctani képet láthattunk.

A most vizsgált modellben minden sertés megbetegedett, mégpedig a sertésdizentériára jellemző klinikai tüneteket produkálva. Csak egyetlen állat, a Kontroll csoport 1-es jelzésű malaca pusztult el a kísérlet lezárása előtt, a fertőzést követő kilencedik napon, miután hét napig jelentkezett nála a hasmenés súlyos, nyálkát és fibrincafátokat tartalmazó, valamint véres formája. A T-2 csoport 5-ös és a Dys-1 csoport 1-es sorszámú malacainál csak egy alkalommal figyeltünk meg hasmenést, ami enyhe (A kategória: lágy, nedves, cement konzisztenciájú bélsár vagy híg, folyós bélsár) formának minősült. Őket leszámítva azonban minden egyednél váltakozó mértékben és intervallumban, de súlyos (B kategória: nyálka és/vagy fibrin tartalmú, vagy véres) hasmenést is tapasztaltunk.

Valamennyi csoportban előfordult olyan állat, amelynél már a fertőzést követő első napon enyhe hasmenést észleltünk. Csoportonkénti átlagban azonban az első tünetek a Kontrollnál $4,5 \pm 5,8$, a T-2-nél $6,8 \pm 7,9$, a Dys-1-nél $7,2 \pm 7,6$, a Trial-D1 csoportnál pedig $5,2 \pm 4,2$ napon jelentkeztek. A bélsár minőségének pontozására szolgáló számok (0-4) csoportok szerint lettek összegezve a kísérleti periódus első két hetére, illetve mind a négy hetére vonatkoztatva, amely segít átlátni, hogy hol jelentkezett a legtöbb hasmenés. Ennek megfelelően a bélsárpontok összege a Kontroll, T-2, Dys-1 és Trial-D1 csoportok sorrendjének megfelelően 88, 94, 112 és 104 volt az 1-2. héten, illetve 198, 167, 193 és 194 a négy hét alatt összesen. A tünetek a Kontroll csoport kivételével súlyosabbnak bizonyultak az első két hétben, mint a fertőzést követő 3-4. héten, ami az összesített bélsárpontokból is kitűnik. A súlyosnak ítélt hasmenés a csoportok sorrendjében a $8,3 \pm 6,1$; $5,8 \pm 2,2$; $6,3 \pm 4,3$ és $5,3 \pm 4,0$ napon jelentkezett először (4. táblázat).

4. táblázat: A hasmenés jelentkezésével kapcsolatos adatok a csoportonkénti átlagok feltüntetésével és a bélsár pontok összegzése

Csoport	Kontroll	T-2	Dys-1	Trial-D1
Hasmenés első jelentkezése (nap)	4,5±5,8	6,8±7,9	7,2±7,6	5,2±4,2
Súlyos hasmenés első jelentkezése (nap)	8,3±6,1	5,8±2,2	6,3±4,3	5,3±4,0
Első és utolsó súlyos hasmenés között eltelt idő (nap)	11,8±7,1	6,8±6,2	8,3±7,0	9,2±7,1
Első és utolsó hasmenés között eltelt idő (nap)	16,4±4,6	18,3±9,7	17,5±9,4	17,7±6,3
Bélsár pontok összege az 1-2. héten	88	94	112	104
Bélsár pontok összege a kísérleti periódus alatt	198	167	193	194

4.5. Hematológiai vizsgálatok eredményei

A fertőzés végrehajtása előtt végzett hematológiai vizsgálat a vérkenetekben előforduló neutrophil- (jugend, pálca és szegmentált alakok), basophil- és eosinophil granulocyták, lymphocyták, valamint monocyták százalékos előfordulási arányáról adott felvilágosítást. Az összes vizsgált paraméter a fiziológiás tartományba esett és nem fedeztünk fel jelentős különbséget a csoportok adatai között, így a basophil- és eosinophil granulocyták, illetve monocyták előfordulási arányának feltüntetését nem találtam lényegesnek a kísérlet szempontjából (5. táblázat).

A kísérlet végén, közvetlenül a sertések leölését megelőzően vett vérmintákból készült minőségi vérkép is fiziológiásnak bizonyult, nem voltak sem az egyes csoportok között, sem pedig a fertőzés előtt készült vérképhez viszonyított lényeges eltérések (5. táblázat). A mennyiségi vérképet vizsgálva azonban azt vehetjük észre, hogy bár a fehérvérsejtek százalékos eloszlása megfelel az élettani értékeknek, a Kontroll csoport fehérvérsejt száma kiugróan magas, és a T-2 és Trial-D1 csoportoknak is megemelkedett. A mennyiségi vérképpel kapcsolatban lényeges eltérés tapasztalható még a hemoglobin koncentráció terén, amely jelentősen lecsökkent (70-74 g/l) az élettani értékekhez (90-130 g/l) viszonyítva. A

vörösvértest szám és a hematokrit érték a fiziológiáson belül, a felső határ közelében voltak (6. táblázat).

5. táblázat: Minőségi vérkép a fertőzés előtt és a kísérlet lezárásakor

Csoport	Fertőzés előtt		Kísérlet végén	
	Neutr. gran. %	Lymphocyta %	Neutr. gran. %	Lymphocyta %
Kontroll	31,7±12,8	59,8±16,4	37,2±15,4	48,4±18,7
T-2	27,8±4,5	62,0±6,3	25,5±14,5	67,5±17,8
Dys-1	31,2±8,9	58,3±12,2	23,8±7,3	67,8±8,4
Trial-D1	25,2±11,9	67,2±12,0	25,7±15,7	65,8±17,5
Normál érték¹⁵	20-70	35-75	20-70	35-75

Neutr. gran.= neutrophil granulocyta, szegmentált

6. táblázat: Mennyiségi vérkép a kísérlet lezárásakor

Csoport	Vvt. ×10 ¹² /l	Fvs. ×10 ⁹ /l	Hb g/l	Ht %
Kontroll	7,4±1,1	36,8±12,3	74,6±8,3	47,5±5,7
T-2	6,7±0,7	26,9±8,2	70,2±10,3	43,3±3,4
Dys-1	6,9±1,0	20,2±4,3	73,5±6,4	46,7±4,7
Trial-D1	7,1±0,8	29,0±12,9	73,3±8,1	47,7±4,9
Normál érték¹⁵	5-7	11-22	90-130	36-43

Vvt.= vörösvértest, Fvs.= fehérvérsejt, Hb= hemoglobin, Ht= hematokrit

4.6. Kórbonctani, kórszövettani és bakteriológiai vizsgálatok eredményei

A makroszkóposan végzett kórbonctani vizsgálat során az állatok többségében nem észleltünk kóros belső szervi elváltozásokat. A vastagbél részletes vizsgálatával, különös figyelmet fordítva a nyálkahártya és a savóshártya felszínére, valamint a béltartalomra, a Kontroll és a Dys-1 csoportnál négy-négy állat esetében, a T-2 csoportból két állatnál, a Trial-D1

csoportból pedig egy egyednél tapasztaltunk az élettanitól eltérő állapotot. A 12-15. ábrák néhány jellegzetes kórbonctani elváltozás képét mutatják be.

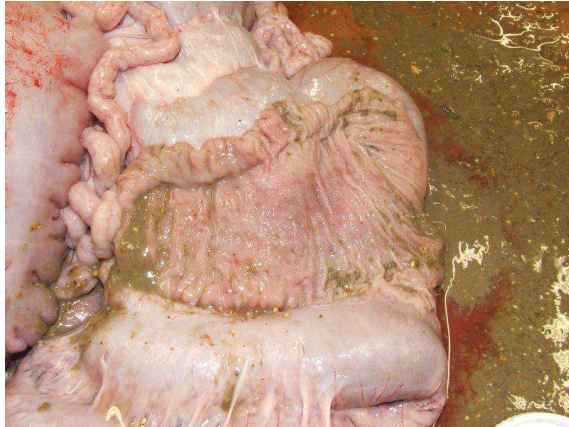
A kísérleti szakasz kilencedik napján elhullott malacnál hét napig jelentkeztek a sertésdizentériára jellemző hasmenéses tünetek, a kórbonctani vizsgálat során pedig híg, vörhenyes béltartalommal telt vastagbelet és diffúz, fibrines-elhalásos jellegű elváltozásokat mutató vastagbél nyálkahártyát észleltünk.

A Kontroll csoport 3-as malacának vastagbél nyálkahártyája enyhén kipirult és megvastagodott volt, helyenként multifokális, fibrines-elhalásos jellegű felrakódásokkal, a bél üregében híg tartalommal. Ugyanezen csoport 4-es malacában a vastagbél savóshártyáján közepesen súlyos, idült peritonitisre utaló elváltozásokat figyeltünk meg összenövésekkel, a nyálkahártya pedig helyenként kipirult. Az 5-ös számú állat vastagbélének savóshártyáján, a 4-eshez hasonlóan, közepesen súlyos, idült peritonitisnek tűnő elváltozások mutatkoztak összenövésekkel, valamint rendkívül híg tartalommal a béltraktusban. A Kontroll csoport 6-os állata mutatta mindközül a legsúlyosabb elváltozásokat: a vastagbélben híg, vörhenyes színezetű, kevés kávézacc-szerű (emésztett vérnek tűnő) törmeléket tartalmazó bélsár volt. A vastagbél nyálkahártyáján súlyos fokú, idült, diffúz fibrines-elhalásos jellegű gyulladás, a savóshártyán pedig súlyos, idült peritonitis és összenövések mutatkoztak.

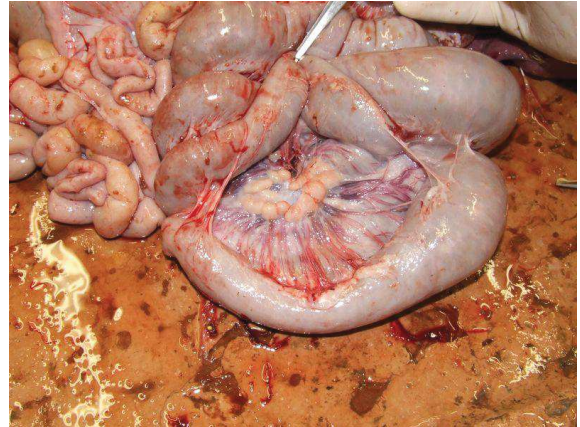
A T-2 csoport 1-es sertésében helyenként enyhén kipirult vastagbél nyálkahártyát és híg béltartalmat találtunk, míg a 6-os állatban a szintén helyenként kipirult nyálkahártya ödémás volt, kifejezetten híg tartalommal a bél lumenében.

A Dys-1 csoport 2-es egyedében híg tartalom mellett a vastagbél nyálkahártyáján idült jellegű, multifokális fibrines-elhalásos felrakódások voltak. A 3-as vastagbélében csak a rendkívül híg tartalom volt szembeutón. A 4-es malac vastagbélét borító savóshártyán enyhe, idült peritonitisnek tűnő elváltozást figyeltünk meg, híg tartalommal a bél üregében. Az 5-ös állatban közepesen súlyos, idült peritonitisnek tűnő elváltozás jelentkezett összenövésekkel.

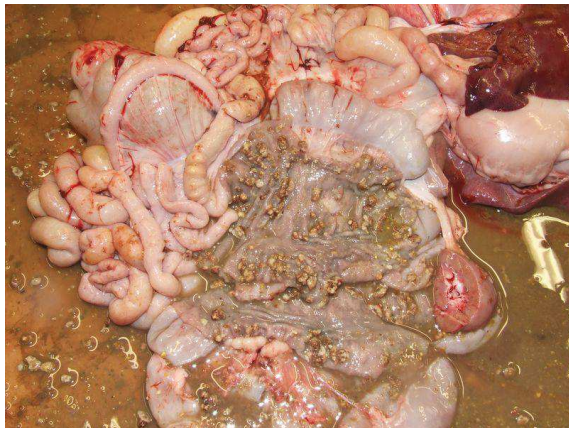
A Trial-D1 csoport egyetlen elváltozást mutató egyedében (2-es malac) közepes/súlyos, idült és multifokális fibrines-elhalásos jellegű felrakódások voltak a vastagbél nyálkahártyáján, rendkívül híg tartalom mellett.



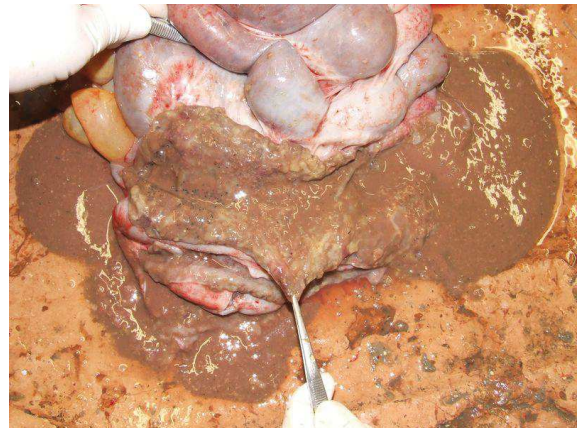
12. ábra: Helyenként enyhén kipirult, ödémás vastagbél nyálkahártya, híg tartalommal



13. ábra: Megnagyobbodott bélfodri nyirokcsomók



14. ábra: Multifokális, fibrines-elhalásos jellegű felrakódások a vastagbél nyálkahártyáján



15. ábra: Diffúz, fibrines-elhalásos jellegű gyulladás, híg, borseprőszerű béltartalommal

Több kórszövettani metszetben is sikerült *Brachyspira* szerű, spirális baktériumokat megfigyelni, de pusztán a morfológiai lelet alapján nem lehet megállapítani, hogy az valóban a *Brachyspira hyodysenteriae* fajba tartozik. Emellett jelentős számban lehetett *Balantidium coli*-t is látnia a metszetekben. A kórszövettani vizsgálat eredményei összefoglalva a 7. táblázatban láthatóak, csoportok szerint átlagolva a gyulladás, az elhalás és a savóshártya elváltozásainak súlyosságát, valamint a *Balantidium coli* és *Brachyspira* szerű alakok jelenlétét kifejező pontszámokat (0-4) a metszetekben.

A leöléskor még klinikai tüneteket és makroszkópos elváltozásokat is mutató, csoportonként két-két állat vastagbeléből sikerült a *Brachyspirákat* kitenyészteni, illetve ezeknél az

állatoknál a legtöbb esetben, a kórszövetteni metszetekben is voltak Brachyspira szerű alakok (8. táblázat).

7. táblázat: Kórszövetteni vizsgálat eredményei az elváltozások mértékét jelölő pontszámok csoportonkénti átlagának feltüntetésével

Csoport	Gyulladás	Elhalás	Savóshártya	B. coli	Br. szerű alakok
Kontroll	2,40	1,60	1,60	1,40	1,80
T-2	1,50	0,67	0,00	1,00	0,83
Dys-1	2,00	0,17	0,17	0,17	1,17
Trial-D1	2,67	1,17	0,33	1,33	1,67

B.= Balantidium, Br.= Brachyspira

8. táblázat: A tenyésztés eredménye és a kórszövetteni eredmények

Csoport/állat sorszama	Párhuzamos tenyészetek			Kórszövetteni			
	1.	2.	3.	Gyulladás	Elhalás	B. coli	Br. szerű alakok
Kontroll/3.	++	+	-	2	0	1	0
Kontroll/6.	+++	+++	+++	1	1	1	3
T-2/2.	+/-	-	-	2	1	0	3
T-2/6.	+++	++	+	3	0	0	1
Dys-1/2.	+	++	++	4	2	4	2
Dys-1/6.	+	+	+/-	3	2	4	3
Trial-D1/2.	+++	+++	+++	2	1	3	4
Trial-D1/3.	+/-	+/-	-	3	4	2	3

B.= Balantidium, Br.= Brachyspira

- nincs Brachyspira telep

+/- Br. gyanús telepek nagyon kis számban

+ kis számban Br. telepek

++ közepes számban Br. telepek

+++ nagy számban Br. telepek

Elváltozás mértéke és baktérium jelenléte:

0: nincs elváltozás

1: enyhe

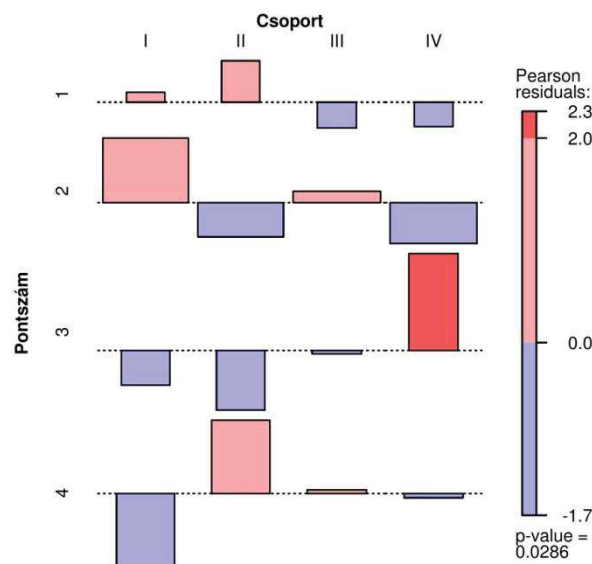
2: enyhe-mérsékelt

3: közepesen súlyos

4: súlyos

4.7. Statisztika

A négy csoport és az azokban előforduló tünetek gyakorisága közötti összefüggést a Fisher egzakt próbával ellenőriztük ($p=0.029$), amely összefüggést a Pearson reziduális segítségével vizualizáltunk (16. ábra). A diagramon az oszlopok magassága a várható értéktől való eltérést mutatja. A vízszintes, pontozott egyenes vonaltól lefelé helyeződő oszlopok azt jelentik, hogy a bélsárpontok tapasztalati gyakorisága kisebb a várt értéktől, míg a felfelé helyeződő oszlopok esetében a tapasztalati gyakoriság nagyobb volt a várttól. A hasmenéses tünetek csoportokon belüli szerkezetét Fisher egzakt próbával továbbvizsgálva, a Kontroll csoportban jelentkező súlyos hasmenés nagyobb valószínűséggel fordult elő, mint a T-2 csoport esetében, amely összefüggés szignifikánsnak ($p=0,0041$) mutatkozott (9. táblázat).



16. ábra: A hasmenések súlyosságának a várható értéktől való eltérése

9. táblázat: A csoportokon belüli súlyos (B) hasmenés gyakoriságának összehasonlítása az enyhe (A) hasmenések gyakoriságával Fisher egzakt próbával

	OR	p érték
T-2 és Kontroll csoport	2,75	0,0041*
Dys-1 és Kontroll csoport	1,32	0,42
Trial-D1 és Kontroll csoport	1,49	0,25

OR=esélyhányados

P (95%-os konfidencia intervallumban)

* statisztikailag szignifikáns érték

5. KÖVETKEZTETÉSEK

Az előkísérletben alkalmazott fertőzési módszer teljesen hatástalannak bizonyult, ráadásul a levestenyészet fecskendőn keresztüli beadása többször is félrenyeléshez vezetett a malacokban, ami az egyik állat azonnali fulladását okozta, egy másik, a fertőzést követően néhány nappal elhullott állat esetében pedig kórbonctanilag félrenyeléses tüdőgyulladás jeleit figyelhettük meg. Ezért döntöttünk úgy, hogy a kidolgozott fertőzési modellben vastagbél nyálkahártya kaparékból és béltartalomból készített inokulumot alkalmazunk, habár a szakirodalmi adatok alapján a baktériumtenyésztéssel szájon át végzett fertőzés is számtalanszor megvalósíthatónak bizonyult.^{6,7,8} A félrenyelés és a következményes fulladás elkerülése érdekében a nagyobb munkaerőt és több időráfordítást igénylő nyelőcső szondán keresztüli beadást választottuk. Ez a módszer végül a gyakorlatban alkalmazhatónak és eredményesnek bizonyult.

A südők csoportonkénti átlagsúlya, ami a betelepítéskor közel azonos volt, mind a bevezető, mind pedig a megfigyelési időszakban egyenletes növekedést mutatott az összes csoportban, egészen a kísérleti fertőzés első napján végzett mérésig, melyet a súlygyarapodási értékek is hasonlóan követtek. Az azonos körülmények között tartott állatok az életkoruknak megfelelően fejlődtek a kísérleti szakasz kezdetéig, annak ellenére, hogy a Kontroll csoport egyedei kivételével valamennyien T-2 toxin tartalmú takarmányt kaptak. Korábbi kísérletek kimutatták, hogy a takarmány 2 mg/kg T-2 toxin tartalma már érzékelhetően csökkenti az állatok napi átlagos súlygyarapodását a toxinmentes tápon nevelt kontroll sertésekhez képest, a takarmány visszautasítása miatt.¹¹ Jelenlegi kísérletünkben ezt azonban nem tapasztaltuk, az állatok fejlődési erélyét a toxin nem befolyásolta. A fertőző inokulum beadása utáni hetekben viszont jelentős törés következtek be a súlygyarapodás terén. A malacok a négy hetes kísérleti periódus alatt alig fejlődtek, a csoportok között és az egyes csoportokon belül is feltűnő volt a szétnövés és olyan állatok is voltak, amelyeknél fokozatos fogyást figyelhettünk meg a fertőzéstől a kísérlet lezárásáig. Egyedül a Dys-1 csoport átlagsúlya és súlygyarapodása volt lényegesen kedvezőbb, ami feltehetően az alkalmazott takarmány kiegészítő hatásával hozható összefüggésbe.

A takarmánykeverékek toxinkoncentrációjának visszaellenőrzésekor kiderült, hogy a számítottnál (2000µg/kg) jelentősen kisebb mennyiségű T-2 toxint tartalmaz a táp. Ennek egyik oka lehet például, hogy bár eredetileg tartalmazta a kívánt toxinmennyiséget a keverék,

azonban a tárolás során jelentős mértékű átalakuláson, illetve bomláson ment keresztül. További okok lehetnek a kísérlet céljára előállított toxinnak a deklarált értéknél alacsonyabb T-2 koncentrációja, az inhomogén elkeverés a kísérleti tápok előállítása során, a toxin kiválása, illetve leülepedése a tárolás alatt, vagy mintavételi hiba, amely következtében a vizsgálatra került átlagminták nem voltak reprezentatívak. A számítottnál alacsonyabb T-2 toxin koncentráció az egyes keverék takarmányokban lehetett az oka annak, hogy a szakirodalmi adatokkal ellentétben^{11,12} a kísérletben nem tapasztaltuk a toxinnak sem a súlygyarapodásra, sem pedig a minőségi vérképre kifejtett negatív hatását. Ezen felül a toxin hatástalanságát az is magyarázhatja, hogy a korábbi, hivatkozott kutatásokban kisebb testtömegű malacokkal dolgoztak, így esetükben a testtömeg-egységre vonatkoztatott napi T-2 toxin felvétel nagyobb volt az általunk alkalmazottnál.

A protonpumpa-gátló tesztelése során arra a következtetésre jutottunk, hogy bár a készítmény emelte a gyomortartalom kémhatását, ez a hatás nem mindig volt megbízható mértékű és időtartamú. A 12 órás koplaltatást követő mérések esetében az egyik malacnál egyenletesen növekedett a kémhatás, a másikonál viszont enyhe növekedést követően már a második órában csökkent, az ötödik órában pedig ismét emelkedett értékeket mértünk. Ezek az eltérő eredmények összefüggésben lehetnek azzal, hogy az éheztetés ellenére a gyomortartalom minták jelentős mennyiségű tápot tartalmaztak, ami kedvezőtlenül befolyásolhatta a szer hatásmechanizmusát. Azt, hogy a gyomorban még 12 órás takarmánymegvonás után is volt tartalom, okozhatta a takarmánymegvonás miatti stressz hatására lelassult gyomorürülés és a következményes takarmány pangás a gyomorban. A kiindulási igen alacsony kémhatás értékeket a hatóanyag emelni kezdte, de nem tudta tartósan és megbízhatóan fenntartani. A hosszabb koplaltatást követően vett mintákat már nem szennyezte takarmány, valamint a 0. percben a korábbi mérésnél magasabb alap kémhatást mértünk mindkét állatban (amit a protonpumpa-gátló tovább emelt), ebből pedig arra következtettünk, hogy az éheztetésnek önmagában is volt egy jelentős kémhatásnövelő szerepe a gyomorban. A harmadik órában azonban már csökkenő tendenciát mutattak az értékek az egyik állatnál, a készítmény hatása ennél az egyednél rövidebbnek bizonyult, vagyis a protonpumpa-gátló hatása nem volt azonos a két malac esetében. Lényeges viszont, hogy az a malac, akinél kevésbé bizonyult hatásosnak az ionpumpa-gátló, a lábszétcsúszásban szenvedő egyed volt, akiben a betegség okozta nagyobb stressz módosíthatta a készítmény hatását. Összességében tehát elmondható, hogy a tapasztalatok alapján az éheztetés nagyobb mértékben emelte a gyomortartalom kémhatását,

de a protonpumpa-gátlót is alkalmaztuk a kísérletben, mert ugyan kisebb mértékben, de az is hatásosnak bizonyult.

A fertőzés napján vett mintákból is látszik, hogy számos állatnál eredményes volt a gyomor kémhatásának emelésére tett próbálkozásunk, ugyanakkor voltak olyan egyedek, melyek értékei továbbra is alacsonyak maradtak. A T-2 csoport gyomortartalom kémhatásának viszonylag alacsonyabb értékét az okozhatta, hogy a kísérleti fertőzés során időben ez a csoport volt az utolsó és bár igyekeztünk az összes sertés fertőzését minél rövidebb időn belül kivitelezni, az utolsóként fertőzött malacokban az ionpumpa-gátló hatása már lecsengőben volt. Az első fertőzéskor, az alkalmazási móddal kapcsolatos hiányos adatok miatt az egyszerűbb, de bizonytalanabb hatásidejű és felszívódású intramusculáris beadását választottuk a protonpumpa-gátlónak. A második fertőzéskor viszont a nehezebben kivitelezhető és nagyobb élőmunka ráfordítást igénylő intravénás alkalmazást választottuk és közvetlenül utána fertőztünk, ezzel is elősegítve a betegség megeredését.

A minőségi vérképben a T-2 toxin etetés, és a fertőzést követő gyulladással járó folyamatok hatására sem következett be aránybeli változás. A T-2 toxin hatására várt lymphocita szám csökkenés elmaradásának feltételezhető oka a már előbb említett, a bekevertnél alacsonyabb toxinkoncentráció volt. Számos állatban jelentős fehérvérsejt szám emelkedést mértünk, amelyet a megbetegedés okozta gyulladással járó folyamatok jelenlétére vezettünk vissza. A mennyiségi vérképben észlelhető, az élettani értékeknek a felső határán lévő, illetve enyhe emelkedést mutató vörösvértest szám és hematokrit érték a hasmenés következtében kialakuló nagyfokú folyadékvesztéssel áll összefüggésben. Ugyanakkor az is látszik, hogy az állatok a sertésdizentéria okozta vérvesztésig a leülés idejére már részben kompenzálni tudták. A minden csoportban lecsökkent hemoglobin koncentráció oka valószínűleg a súlyos hasmenésben jelentkező jelentős vérvesztés az emésztőrendszeren keresztül, valamint a tartós hasmenés és gyulladás okozta vasszívódási zavar.

Az első hasmenéses tünetek jelentkezése megfelelt a szakirodalomban olvasható lappangási időnek. A bélsárpontok csoportonkénti összegzéséből láthattuk, hogy a Kontroll csoport kivételével az első két hétben volt súlyosabb a hasmenés, a kísérleti periódus második felére pedig az állatok gyógyulni kezdek, illetve egyes esetekben pár napos tünetmentes periódus után ismét rosszabbodott az állapotuk. Azt, hogy a Kontroll csoport esetében később

jelentkeztek a súlyos tünetek magyarázhatja, hogy ez a csoport nem kapott T-2 toxint, sem protonpumpa-gátlót, ami gyengítette volna a szervezet védekező mechanizmusait. Az állatok boncolása során sok egyedben nem, vagy csak nagyon enyhe makroszkópos elváltozásokat észleltünk, és ezek az elváltozások leginkább a leöléskor még klinikai tüneteket mutató sertésekben mutatkoztak, a többiek addigra egy gyógyulási fázisba kerültek. Azokból az egyedekből viszont, amelyeknél a kórbonctani és kórszövettani kép a sertésdizentériára jellemző volt, sikerült a baktériumot szintenyészetben visszaizolálni. Érdekes lelet volt a kórszövettani metszetekben a *Balatidium coli* nagyszámú jelenléte, amely baktériumot már számtalanszor kimutatták sertésdizentériában szenvedő állatok vastagbelében.⁶

A jelentkező klinikai tünetek (különböző súlyosságú hasmenés, étvágytalanság, lesóványodás, dehidratáció), valamint a kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok eredményei mind a sertésdizentériára jellemző képet mutattak, amit a sikeres baktériumizolálás is alátámasztott. A statisztikai elemzéssel végzett függetlenségi próba eredménye azt mutatta, hogy a csoportokban tapasztalt hasmenéses pontszámok előfordulási gyakorisága szignifikánsan függ a csoportokban alkalmazott kezelésektől.

Végző következtetésként elmondható, hogy a létrehozott sertésdizentéria fertőzési modell sikeres volt, a kísérletbe bevont összes állaton sikerült kiváltani a betegséget. Hajlamosító tényezőként, valamint a gyomortartalom kémhatásának növelése érdekében alkalmazható legegyszerűbb, de kellőképpen hatásos módszer a több mint 12 órás koplaltatás. Mivel az állatok a kísérlet negyedik hetének végére már egy gyógyulási periódusban voltak, ezért a jövőben végzendő hasonló fertőzéses modell felállításakor érdemes lenne három hétre lerövidíteni a kísérleti szakaszt, hogy a kórbonctani elváltozások is kiértékelhetőbbek legyenek.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Egy előzetes kísérletben *Brachyspira hyodysenteriae* szintenyészetből készült levestenyézzel fertőztünk 6 választási malacot szájon át, fecskendőből beadva. Ez a módszer azonban sikertelennek bizonyult a fertőzés megeredése szempontjából, az állatok semmi jelét nem mutatták megbetegedésnek. A fő kísérletben 24 választási malacot négy jól elkülönített csoportra osztottunk (csoportonként 6-6 malac). A T-2, Dys-1 és Trial-D1 csoportok a megfigyelési időszak után 4 héten át T-2 toxint (2 mg/takarmány kg) tartalmazó startertápot kaptak, a Dys-1 és Trial-D1 csoportok takarmánya ezen felül egy-egy kísérleti takarmány adalékot is tartalmazott a vizsgálat ideje alatt. A fertőzés a sertésdizentéria klinikai tüneteit mutató sertés vastagbelének nyálkahártya kaparékjából készült inokulummal történt két egymást követő napon, nyelőcsőszondán keresztül bejuttatva. A T-2 toxin szerepe az immunrendszer gyengítése volt, valamint a fertőzés előtti koplaltatással és protonpumpa-gátló (2 mg/ttkg Nexium 40 mg oldatos injekció) adásával igyekeztünk emelni a gyomortartalom kémhatását, hogy kiküszöböljük a gyomorsav fertőző anyagra kifejtett negatív hatását. A Kontroll csoport semmilyen kezelésben nem részesült, de fertőzve lett. A fertőzést követően valamennyi állat a sertésdizentériára jellemző klinikai tüneteket mutatott. A bélsarat egy pontozásos módszerrel minősítettük, illetve hematológiai, kórbonctani, kórszövettani és bakteriológiai vizsgálat is készült. A kórbonctani vizsgálat során csak a kísérlet végén még tüneteket mutató malacoknál találtunk makroszkópos elváltozásokat a vastagbélben és ezekből az egyedekből sikerült is nagy számban kitenyészteni a *Brachyspira hyodysenteriae*-t. Összegzésül tehát elmondható, hogy az általunk megalkotott fertőzési modell sikeresnek bizonyult.

7. SUMMARY

In a preliminary trial 6 weaned pigs was inoculated per os with broth culture of *Brachyspira hyodysenteriae*. This test was unsuccessful to induce swine dysentery on pigs, they did not show any signs of this illness. In the main experiment 24 weaned pigs was settled in four separately kept group with 6-6 pigs in each group. The T-2, Dys-1 and Trial-D1 groups got T-2 toxin (2 mg/kg feed) in the feed during the first stage of the experiment for four weeks. The Dys-1 and Trial-D1 groups' feed also contained two experimental feed additive during the whole process. The pigs was infected twice with 24 hours interval through gastric tube with colon scraping from a sick animal in swine dysentery. The role of the T-2 toxin in the experiment was to suppress the immunsystem of the pigs and the role of starvation and the usage of the proton-pump inhibitor (2 mg/body weight, Nexium 40 mg injection) before the inoculation was to increase the gastric Ph which can negatively effects the livability of the given bacteriums. The Kontroll group was only infected but did not get any other manipulation. All of the animals started to produce typical signs of the swine dysentery after arteficial infection. The stools was evaluated with a scoring system and haemetological, pathological, hystological, bacteriological examination was carried out as well in all of the four groups' animal. At the final stage only the clinically ill pigs showed macroscopic pathological signs and the *Br. hyodysenteriae* was also identified only in these animals. Summarily the infection model was succesful and can be useful for future experiments as well.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék hálás köszönetet mondani témavezetőimnek, Dr. Könyves Lászlónak és Dr. Adorján Andrásnak a szakdolgozatom elkészítéséhez nyújtott támogatásért és szakmai segítségnyújtásért. Köszönöm továbbá Dr. Makrai Lászlónak, Dr. Balka Gyulának és Dr. Papp Zoltánnak, valamint az Állathigiéniai, Állomány-egészségtani és Állatorvosi Etológiai Tanszék valamennyi munkatársának, akik munkájukkal hozzájárultak a kísérlet megvalósulásához. Köszönet illeti továbbá a családomat, legfőképp pedig a szüleimet, akik segítségükkel és megértésükkel végig támogattak az egyetemi évek alatt.

A bemutatott kutatási projekt a KMR_12-1-2012-0020 pályázata alapján valósult meg.

IRODALOMJEGYZÉK

- 1 VARGA J., TUBOLY S., MÉSZÁROS J.: A háziállatok fertőző betegségei. Állatorvosi járványtan II. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 1999. p. 228-232.
- 2 KARSAI FERENC, VÖRÖS KÁROLY (szerk.): Állatorvosi belgyógyászat II. kötet. A lovak, a kérődzők és a sertések betegségei. 3. változatlan kiad. Budapest: MÁOK Kft., 2013. 507 p.
- 3 KARDEVÁN ANDOR: A háziállatok kórbonctana 2. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 1976. p. 331-332.
- 4 ALVAREZ-ORDÓÑEZ, A., MARTÍNEZ-LOBO, J. M., ARGUELLO, H., CARVAJAL, A., RUBIO, P.: Swine Dysentery: Aetiology, Pathogenicity, Determinants of Transmission and the Fight against the Disease. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2013. 10. p. 1927-1947.
- 5 MEYER, R. C., SIMON, J., BYERLY, C. S.: The Etiology of Swine Dysentery I. Oral Inoculation of Germ-free Swine with *Treponema hyodysenteriae* and *Vibrio coli*. *Veterinary Pathology*, 1974. 11. p. 515-526.
- 6 MEYER, R. C., SIMON, J., BYERLY, C. S.: The Etiology of Swine Dysentery II. Effects of a Known Microbial Flora, Weaning and Diet on Disease Production in Gnotobiotic and Conventional Swine. *Veterinary Pathology*, 1974. 11. p. 527-534.
- 7 MEYER, R. C., SIMON, J., BYERLY, C. S.: The Etiology of Swine Dysentery III. The Role of Selected Gram-Negative Obligate Anaerobes. *Veterinary Pathology*, 1975. 12. p. 46-54.
- 8 JACOBSON, M., FELLSTRÖM, C., LINDBERG, R., WALLGREN, P., JENSEN-WAERN, M.: Experimental swine dysentery: comparison between infection models. *Journal of Medical Microbiology*, 2004. 53. p. 273-280.
- 9 FLAMING, K. M., GOFF, B. L., FRANK, D. E., ROTH, J. A.: Pigs are Relatively Resistant to Dexamethasone Induced Immunosuppression. *Comparative Haematology International*, 1994. 4. p. 218-225.
- 10 TÚRY E., RAFAI P., TUBOLY S.: A T-2 toxin hatása a sertés lymphoid szöveteire és egyes szerveire. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 1989. 44. 5. p. 305-311.

-
- 11 RAFAI P., BATA Á., VÁNYI A., PAPP Z., BRYDL E., JAKAB L., TUBOLY S., TÚRY E.: Effects of various levels of T-2 toxin on the clinical status, performance and metabolism of growing pigs. *The Veterinary Record*, 1995. 136. p. 485-489.
 - 12 RAFAI P., TUBOLY S., BATA Á., TILLY P., VÁNYI A., PAPP Z., JAKAB L., TÚRY E.: Effects of various levels of T-2 toxin in the immune system of growing pigs. *The Veterinary Record*, 1995. 136. p. 511-514.
 - 13 GÁLFI P., CSIKÓ GY., JERZSELE Á.: *Állatorvosi gyógyszerstan II.* Budapest: Robbie-Vet Kft., 2011. p. 193-195.
 - 14 RUBIN, J. E., COSTA, M. O., HILL, J. E., KITTRELL, H. E., FERNANDO, C., HUANG, Y., O'CONNOR, B., HARDING, J. C. S.: Reproduction of Mucohaemorrhagic Diarrhea and Colitis Indistinguishable from Swine Dysentery following Experimental Inoculation with "Brachyspira hamptonii" Strain 30446. *PLOS ONE*, 2013. 8. 2. e57146.
 - 15 KAHN, C. M. (ed.): *The Merck Veterinary Manual.* 10. ed. Whitehouse Station, N. J., U.S.A.: MERCK & CO., INC., 2010. p. 2824-2825.