

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

**A kacsá és a házityúk intestinalis spirochaetosisának
(brachyspirosisának) vizsgálata**

PhD értekezés

Dr. Thuma Ákos

2012

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....
Dr. Glávits Róbert
kandidátus, osztályvezető
MgSzH ÁDI, Emlőskórbonctani és Kórszövettani Laboratórium
témavezető

Dr. Dán Ádám
PhD, osztályvezető
MgSzH ÁDI, Molekuláris Biológiai Laboratórium
témabizottság tagja

Dr. Tekes Lajos
kandidátus, nyugalmazott igazgató
MgSzH ÁDI
témabizottság tagja

Készült 8 példányban. Ez a ... sz. példány.

.....
dr. Thuma Ákos

Tartalomjegyzék

| | |
|--|----|
| Rövidítések jegyzéke | 5 |
| 1. Összefoglalás | 6 |
| 2. Bevezetés | 9 |
| 3. Irodalmi áttekintés | 11 |
| 3.1 Az intestinalis spirochaetosis története és előfordulása | 11 |
| 3.1.1 Az intestinalis spirochaetosis rövid története emlősökben | 11 |
| 3.1.2 A madarak intestinalis spirochaetosisának (AIS) története | 12 |
| 3.3 Kóroktan | 14 |
| 3.3.1 Rendszertan..... | 14 |
| 3.3.2 Morfológia | 15 |
| 3.3.3 Tenyésztés | 16 |
| 3.3.4 Biokémiai tulajdonságok | 16 |
| 3.3.5 Virulencia faktorok..... | 17 |
| 3.3.6 Ellenálló képesség | 18 |
| 3.4 Kórfejlődés..... | 18 |
| 3.4.1 A brachyspirákkal történő egyik lehetséges fertőzési mód: „Cloacal drinking” | 19 |
| 3.5 Kórkép (tünetek és kórbonctan) | 19 |
| 3.5.1 Tünetmentes fertőzöttség..... | 19 |
| 3.5.2 Enyhe kórkép | 20 |
| 3.5.3 Súlyos kórkép | 21 |
| 3.5.4 A takarmány eredetű mikotoxikózis lehetséges hajlamosító szerepe | 21 |
| 3.6 Diagnózis..... | 22 |
| 3.6.1 Elkülönítő kórjelzés | 23 |
| 3.7 Gyógykezelés | 24 |
| 3.8 Védekezés | 24 |
| 3.9 Gazdasági jelentőség | 25 |
| 3.10 Közegészségügyi jelentőség..... | 25 |
| 4. Anyag és módszer | 26 |
| 4.1 Vizsgálati minta (házikacsa vizsgálatok) | 26 |
| 4.1.1 Felnőtt házikacsa-állományokban történt vizsgálatok | 26 |
| 4.1.2 Növendékkacsa-állományokban történt vizsgálatok | 29 |
| 4.2 Vizsgálati anyag (házityúk vizsgálatok) | 29 |
| 4.3 Kórbonctani és kórszövetteni vizsgálatok..... | 30 |
| 4.4 Immunhisztokémiai vizsgálatok..... | 30 |
| 4.5 Bakteriológiai vizsgálatok..... | 31 |
| 4.5.1 Biokémiai (fenotípus) vizsgálatok | 32 |
| 4.5.2 Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok | 32 |
| 4.6 Parazitológiai vizsgálatok..... | 32 |
| 4.7 Molekuláris diagnosztikai (genotípus) vizsgálatok | 33 |
| 4.8 Kísérletes állatfertőzés..... | 34 |
| 4.8.1 Első kacsakísérlet | 34 |
| 4.8.2 Második kacsakísérlet..... | 35 |
| 4.8.3 Csibekísérlet | 35 |
| 4.8.4 Fertőző anyag | 36 |
| 4.8.5 A kísérlet menete | 36 |
| 5. Eredmények..... | 38 |
| 5.1 Felnőtt házikacsa-állományokban történt vizsgálatok | 38 |
| 5.1.1 Kórbonctani vizsgálatok | 38 |
| 5.1.2 Kórszövetteni és immunhisztokémiai vizsgálatok | 40 |

| | |
|---|----|
| 5.1.3 Bakteriológiai vizsgálatok | 42 |
| 5.1.4 Antibiotikum érzékenység | 44 |
| 5.1.5 Szekvencia és filogenetikai analízis | 45 |
| 5.2 Növendékkacsa-állományokban történt vizsgálatok | 47 |
| 5.2.1 Kórbonctani, kórszövettani és mikrobiológiai vizsgálatok | 47 |
| 5.2.2 Brachyspira tenyésztés és antibiotikum rezisztencia vizsgálat | 48 |
| 5.2.3 Molekuláris biológiai vizsgálat | 50 |
| 5.3 Felnőtt házityúk-állományokban történt vizsgálatok | 50 |
| 5.3.1 Kórbonctani vizsgálatok | 50 |
| 5.3.2 Kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálatok | 51 |
| 5.3.3 Bakteriológiai és antibiotikum érzékenységi vizsgálat | 52 |
| 5.3.4 Molekuláris biológiai vizsgálat | 54 |
| 5.4 Első kacsakísérlet | 55 |
| 5.4.1 Klinikai vizsgálatok | 55 |
| 5.4.2 Kórbonctani és kórszövettani eredmények | 56 |
| 5.4.3 Immunhisztokémiai vizsgálatok | 56 |
| 5.4.4 Bakteriológiai vizsgálatok | 57 |
| 5.5 Második kacsakísérlet | 58 |
| 5.5.1 Klinikum, kórbonctan, kórszövetten, immunhisztokémia | 58 |
| 5.5.2 Bakteriológiai vizsgálatok | 58 |
| 5.6 Csibekísérlet | 59 |
| 5.6.1 Klinikum, kórbonctan, kórszövetten, immunhisztokémia | 59 |
| 5.6.2 Bakteriológiai vizsgálat | 59 |
| 6. Megbeszélés | 61 |
| 6.1 Felnőtt házikacsa-állományokban történt megfigyelések | 62 |
| 6.2 Növendékkacsa-állományokban történt vizsgálatok | 66 |
| 6.3 Felnőtt házityúk-állományokban történt megfigyelések | 67 |
| 6.4 Kísérletes állatfertőzések | 69 |
| 6.5 Összegzés | 71 |
| 7. Új tudományos eredmények | 72 |
| 8. Irodalomjegyzék | 73 |
| 9. A doktori kutatás eredményeinek közlései | 84 |
| 9.1 Lektorált tudományos folyóiratban megjelent publikációk | 84 |
| 9.2 Kutatási témában tartott előadások | 84 |
| 9.3 Egyéb kutatási témán kívüli publikációk | 85 |
| 9.4 Egyéb kutatási témán kívüli előadások | 85 |
| 10. Köszönetnyilvánítás | 86 |

Rövidítések jegyzéke

| | | |
|----------------|---|--|
| AIS | avian intestinal spirochetosis | madarak intestinalis spirochaetosisa |
| ANOVA | analysis of variance | varianciaanalízis |
| DNS | deoxyribonucleic acid | deoxiribonukleinsav |
| ELISA | enzyme linked immunosorbent assay | enzimhez kötött immunadszorpció vizsgálat |
| H.E. | hematoxylin and eosin staining | hematoxilin-eozin festés |
| IH | immunohistochemistry | immunhisztokémia |
| ISH | <i>in situ</i> hybridisation | <i>in situ</i> hibridizáció |
| MIC | minimum inhibitory concentration | minimális gátló koncentráció |
| NADH | reduced nicotinamide adenine dinucleotide | redukált nikotinamid adenin dinukleotid |
| nox gén | NADH oxidase gene | NADH oxidáz gén |
| PCR | polymerase chain reaction | polimeráz láncreakció |
| PEC | poult enteritis complex | kispulykák bélgyulladásal járó kórképcsoportja |
| PEMS | poult enteritis mortality syndrome | kispulykák bélgyulladásal és jelentős elhullással járó kórképe |
| RFLP | restriction fragment length polymorphism | restrikciós fragmenthossz polimorfizmus |
| RNS | ribonucleic acid | ribonukleinsav |
| TSA | tripticase soy agar | triptikáz szója agar |
| TSB | tripticase soy broth | triptikáz szója leves |

1. Összefoglalás

A különböző házimadár-fajok enterális kórképei fontos gazdasági jelentőséggel bírnak. A baromfi-fajok bélcsatornát érintő betegségei között ismerünk olyanokat, amelyekben egy vagy több vírus játszik szerepet a megbetegedések kialakításában (pl. a csirkék fertőző satnyasága, vagy a kispulykák PEC/PEMS kórképe). Előfordulnak olyan enterális betegségek is, amikor az etetett takarmány nem megfelelő összetétele vagy minőséghibái emésztési rendellenességet és a bél baktériumflórájának következményes eltolódását idézik elő (pl. fertőző elhalásos bélgyulladás). Ismerünk továbbá olyan Spirochaeta-fajokat (*B. hyodysenteriae*, *B. alvinipulli*, *B. intermedia*, *B. pilosicoli*) amelyek hajlamosító tényezők fennállása esetén képesek felnőtt madarakban bélgyulladást, hasmenést előidézni. A madarak intestinalis spirochaetosisáról (AIS) házikacsában eddig nem voltak nemzetközi adatok, tyúkok esetében pedig hazai viszonylatban nem történt a betegségről esetleírás.

A jelen dolgozat célja a házikacsa és a házityúk intestinalis spirochaetosisának (brachyspirosisának) természetes körülmények között történt előfordulásával és kísérletes előidézésével kapcsolatos járványtani, klinikai, kórbonctani, kórszövettani és kóroktani (immunhisztokémiai, bakteriológiai, molekuláris biológiai) vizsgálatok eredményeinek bemutatása, valamint a kacsa- és tyúkállományainkban előforduló *Brachyspira*-törzsek izolálása, tipizálása és antibiotikum-érzékenységének meghatározása volt.

A vizsgálatok a Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság (MgSzH-ÁDI) budapesti intézetének rutindiagnosztikai vizsgálati anyagainak a felhasználásával történtek. A betegség, elhullás okának felderítése céljából vizsgálatra küldött állatokat kórbonctani, kórszövettani, immunhisztokémiai és bakteriológiai vizsgálatnak vetettük alá. Az így szerzett ismereteket a kezelő állatorvosoktól kapott járványtani, néhány esetben pedig az időjárással kapcsolatos adatokkal is kiegészítettük. A bélből szelektív táptalajon kinőtt *Brachyspira*-fajokat biokémiai és molekuláris biológiai vizsgálatokkal kíséreltük meghatározni, és megállapítottuk a kórokozó antibiotikum-érzékenységét. A meghatározott *Brachyspira*-fajokkal kísérletes fertőzést végeztünk, a kórokozó kolonizációs illetve megbetegítő képességének tanulmányozása végett.

A házikacsák intestinalis spirochaetosisát 2008-tól – az első megállapítástól – felnőtt kacsaállományokban rendszeresen megállapítjuk. Ezekben az állatokban a betegség döntően az első tojástermelési ciklus végén jelentkezik. A két részletesen vizsgált (A és B) állományra jellemző volt a magas (18,4 és 16,6%) mortalitás. Az elhullott állatokban kórbonctani és szövettani vizsgálattal súlyos fibrines vak- és vastagbélgyulladást, vesefibrózist, máj- és lépamyloidózist, valamint esetenként az ujjizületek duzzanatát,

gyulladását lehetett látni. Immunhisztokémiai módszerrel a vastagbelekben valamennyi állatból kimutatható volt a kórokozó. Fenotípus- és genotípus-elemzéssel hét izolált törzsből négy (A állomány) *B. hyodysenteriae*-nek, nyolc izolátumból pedig öt (B állomány) *B. pilosicoli*-nak volt meghatározható.

Növendékállományban történt vizsgálatokkal összesen 3 pecsenyekacsa és 1 növendék-törzskacsaállományból 32 elhullott madár került vizsgálatra. Az elhullások emelkedése rendszerint 3-4 hetes korban kezdődött, és a 7000-15000 létszámú állományok mintegy 7-9 %-át érintette. Az elhullott állatok kórbonctani és kórszövettani vizsgálata során az intestinalis spirochaetosisra jellemző vastagbél-elváltozások (fibrines-elhalásos gyulladás) enyhébb formában voltak felismerhetők, mint a felnőtt kacsák brachyspirosis esetén. Emellett két állományban takarmányozási ártalomra gyanút keltő máj- és veseelváltozásokat (májelfajulást, heveny tubulonephrosist), egyben kacsacircovírus-fertőzöttséget, egyben anatiszter betegeket, egyben pedig nem megfelelő tartási körülményekre jellemző elváltozásokat is meg lehetett figyelni. A növendék-törzskacsaállomány ismételt vizsgálatával 8 és 9 hónapos korban fibrines-elhalásos vastagbélgyulladás és félheveny veseelfajulás – azaz a felnőtt törzsállatok brachyspirosisára jellemző elváltozások – voltak megfigyelhetők. A brachyspira-fertőzöttséget valamennyi állományban igazolni lehetett az állatok többségének vastagbelében immunhisztokémiai, baktériumtenyésztéses és molekuláris biológiai vizsgálatokkal. Az izolált 10 Brachyspira-törzs többsége (7 izolátum) *B. pilosicoli*-nak volt meghatározható.

Hazai tyúk szülőpárállományokban, különböző (50, 87 ill. 47 hetes) életkorban profúz hasmenés volt megfigyelhető az állatok 10-50%-ában. Az érintett egyedek bélsara emésztetlen takarmányrészeket és vizes fázist tartalmazott, vagy barnás-sárga színű, erősen bűzös volt. Az alom átnedvesedett, a környezet, a tyúkok tollazata, a tojások héja híg bélsárral elszennyeződött. A tojástermelés és a keltethetőség csökkenése, a hasmenés ismételt jelentkezése után, elérte a 15-20%-ot. A tojások héja elvékonyodott, törékennyé, színe világosabbá vált. A tojók legyengültek, nehezen mozogtak, gyakran ültek. A talpbőr megvastagodott, berepedezett és másodlagos fertőzések miatt gyakran begyulladt. A napi elhullások száma enyhén (heti 0,3-0,4%-ról 0,7-0,8%-ra), vagy egyáltalán nem növekedett. Az izolált Brachyspira-törzsek biokémiai tulajdonságai és szekvencia-analízis alapján kilencből öt esetben *B. hyodysenteriae*-nek egyben pedig *B. intermedia*-nak bizonyultak.

Az izolált törzsekkel naposálat (kacsa és csibe) fertőzési kísérleteket végeztünk. Naposkacsák vastagbelében a *B. alvinipulli*, *B. pilosicoli*, valamint a kacsa-, tyúk- és sertés eredetű *B. hyodysenteriae* megtelepedett, onnan a kórokozók a kísérlet lezárásakor kimutathatóak voltak. Csibék vastagbelét csak fajazonos *B. hyodysenteriae*-vel tudtuk eredményesen (mind kloákán, mind szájon át) fertőzni, azonban a kórokozót csak első héten

tudtuk az állatokból visszaizolálni. Az állatokban brachyspira-fertőzésre visszavezethető kórbonctani és kórszövettani elváltozást nem lehetett megfigyelni.

Felnőtt házikacsák intestinalis spirochaetosisáról a nemzetközi szakirodalomban elsőként számoltunk be, és megállapítottuk, hogy a nandu és a házilúd megbetegedéséhez (valamint a sertésdysenteriához) hasonló, elhullásokkal járó, súlyosfokú elhalásos vastagbélgyulladás jön létre. Növendékkacsa állományokban a brachyspira fertőzés önállóan nem okoz elhullásokat, de más kórokozókkal együtt hozzájárulhat az állatok megbetegedésének súlyosbításához és a veszteség mértékének növeléséhez.

Felnőtt tojótyúk-állományokban – a külföldi megfigyelésekkel összhangban – tartós hasmenéssel és termelésesökkenéssel járó brachyspirosist figyeltünk meg, amely nem járt számottevő elhullással.

A különböző Brachyspira-izolátumokkal naposkacsákat és naposcsibéket fertőzve nem sikerült klinikai tüneteket vagy elhullással járó megbetegedést kiváltani, azonban a szájon át, vagy kloákán keresztül bejutatott kórokozó – az állatfaj és a Brachyspira-faj által eltérő mértékben – tartósan megtelepedett a vastagbél nyálkahártyájában a hám felületén és/vagy a mirigyek üregében, ezzel lehetőséget teremtve a későbbi megbetegedésre.

2. Bevezetés

A baromfieredetű élelmiszerek iránti kereslet évről évre nő. Ez nagy feladatot ró a baromfiágazatban dolgozó állattartókra, állattenyésztőkre és az állategészségügyi szakemberekre egyaránt. A genetikai előrehaladás az utóbbi évtizedben lelassult, különösen igaz ez az intenzív körülmények között tartott állatokra, amelyek közelítenek a genetikai képességeik szerinti maximális termeléshez. Mivel a tenyésztői munka eredményeként a szelekció elsősorban a termelésnövekedés irányába hat, egyéb fontos tényezők a háttérbe szorulhatnak.

A magas termelési eredményekre törekvő intenzív takarmányozás és a nagy létszámú állatcsoportok együtt tartása nagymértékben próbára teszi az állatok egészségét. Az üzletpolitikával foglalkozó szakemberek nyomására az állattartók és a tenyésztők a profit maximalizálására törekednek. Ezt leginkább az állatlétszám emelésével és a kiadások csökkentésével igyekeznek elérni. Ez utóbbira egyik lehetőség az olcsóbb takarmány vásárlása, mint a fő kiadási forrás mérséklése. Ennek eredményeként előfordulhat, hogy beltartalmi értékek szempontjából nem teljes értékű, esetleg minőséghibás (pl. mikotoxinokkal szennyezett) takarmány kerül etetésre. A másik kiadáscsökkentési lehetőség az istállóhigiéncia „elhanyagolása”, a nem megfelelő takarítás, fertőtlenítés. Megemlítendő az is, hogy az egész szárnyas ágazatban, különösen az intenzíven tartott fajok esetében (brojlercsirke, pulyka) jellemző a merev, erőtetett munkamenet. A telepítés valamint a vágás szigorúan (akár több hónappal előre) meghatározott rend szerint zajlik, és az adott alapterületen tartott állatok száma eléri, vagy gyakran meghaladja a még eltűrhető állatsűrűséget. Ez a kórokozók feldúsulását eredményezheti.

Ez a csupán néhány példa is abba az irányba hat, hogy a korábban jól meghatározható kórokozóra visszavezethető betegségek helyett inkább az ún. összetett kóroktanú betegségek (többféle kórokozó együttes hatása, vagy fakultatív patogén kórokozó és külső környezeti, tartási vagy takarmányozási eredetű gyengítő hatások) jelentik manapság a baromfiágazatban a komoly termelés kiesések gyakori okát. A baromfifajok fiatalkori enterális betegségei között ismerünk olyanokat, amelyekben egy vagy több vírus játszik szerepet a megbetegedések kialakításában (pl. a csirkék runting-stunting szindróma néven is ismert fertőző satnyasága, vagy a kispulykák PEC/PEMS kórképe). Előfordulnak olyan enterális betegségek is, amikor az etetett takarmány nem megfelelő összetétele vagy minőséghibái emésztési rendellenességet és a bél baktériumflórájának következményes rendellenes eltolódását idézik elő. Ilyenkor *E. coli* vagy Clostridium-fajok (colibacillosis, elhalásos bélgyulladás) okozhatnak megbetegedést, elhullást. A romlott vagy mikotoxinnal

szennyezett takarmányok önállóan is gyakran idéznek elő hasmenést, bélgyulladást, amelyhez ugyancsak társulhat *E. coli* baktérium okozta vérfertőzés. Ismerünk továbbá olyan Spirochaeta-fajokat (*B. hyodysenteriae*, *B. alvinipulli*, *B. intermedia*, *B. pilosicoli*) amelyek hajlamosító tényezők fennállása esetén képesek felnőtt madarakban bélgyulladást, hasmenést előidézni.

Ezekre a betegségekre jellemző, hogy a megelőzés, és az eredményes védekezés komplex megközelítést igényel, figyelembe véve a hajlamosító tényezők kiküszöbölését is. Az állattartókban az a szemlélet él, hogy a vakcinázás és a gyógyszeres kezelés jelenti a fertőző eredetű betegségekre a megoldást. A komplex kóroktanú betegségek esetében a konkrét elhullást kiváltó fertőző kórokozók ellen gyakran nincs vakcina, vagy alkalmazásuk nem gyakorlatias, esetleg nem gazdaságos. A gyógykezelést pedig – a tartási vagy takarmányozási eredetű gyengítő faktorok (pl. zsúfoltság, vagy rossz minőségű takarmány) változatlan fennállása esetén – gyakran a korábban említett recidíva követi, amely pl. baktériumok esetén a már használt antibiotikummal szembeni rezisztencia kialakulását is eredményezheti.

A hazai és nemzetközi kutatásoknak és a hatékony vakcinák kifejlesztésének köszönhetően az olyan megbetegedések, amelyek a korábbi évtizedekben egy-egy ágazat létét veszélyeztették (Marek betegség, Derzsy betegség stb.), mára szórványossá váltak. Az MgSzH-ÁDI Baromfibetegségek Laboratóriumában egyre gyakrabban találkozunk olyan komplex kóroktanú betegségekkel, amelyek egy egész gazdaság eredményességét hátrányosan befolyásolják és a mai piacgazdaság elvárásait tekintve, létét is veszélyeztetik.

A jelen dolgozat célja a házikacsa és a házityúk intestinalis spirochaetosisának (brachyspirosisának) természetes körülmények között történt előfordulásával és kísérletes előidézésével kapcsolatos járványtani, klinikai, kórbonctani, kórszövettani és kóroktani (immunhisztokémiai, bakteriológiai, molekuláris biológiai) vizsgálatok eredményeinek bemutatása, valamint a kacsa- és tyúkállományainkban előforduló *Brachyspira*-törzsek izolálása, tipizálása és antibiotikum-érzékenységének meghatározása volt. A házikacsa betegségével kapcsolatos vizsgálatok eredményei nemzetközi vonatkozásban is új eredménynek tekinthetők, a házityúk intestinalis spirochaetosisának vizsgálata pedig hazai viszonylatban hoztak új eredményeket és megfigyeléseket. A két baromfifaj közül a házityúk intestinalis spirochaetosisa felnőtt tojástermelő állományokban tartós hasmenéssel és tojástermelés-csökkenéssel járt, de számottevő elhullás nem fordult elő. Kacsaállományokban viszont – ugyancsak a tojástermelés időszakában – nagyarányú elhullás és a hullákban súlyosfokú elhalásos vastagbélgyulladás alakult ki, amely emlékeztetett a sertésdysenteria esetén látható elváltozásokra. Mindkét fajban a megbetegedések kialakulását hajlamosító tényezők (a tojásrakással kapcsolatos terhelés, és az etetett takarmány minőséghibája) segítették elő.

3. Irodalmi áttekintés

Az állattartás, és így a baromfitartás költségeinek orozslánrészét a takarmányozás kiadásai teszik ki. A takarmány lebontásának, felszívódásának fő helyszíne a bélcsatorna. A bélcsatorna egy olyan komplex szerv, amely lehetővé teszi a tápanyagok hasznosulását, szabályozza az anyagcserét (pl. vas), és mivel „nyitott” a külvilág felé is, ezért szükségszerűen részt vesz a szervezetet érő külső élő és élettelen behatásokkal szembeni védekezésben. A bélcsatorna azonban nemcsak egy szerv, hanem egy ökológiai életközösség is. A bélcsatornát állatokban természetes körülmények között fajra jellemző vegyes baktériumflóra (normál bélflóra) lakja, amelynek jelenléte fontos a takarmánylebontás komplex folyamatában. A fajra jellemző bélflóra eltolódása (pl. különböző bélgyulladások, helytelen antibiotikumkúra, helytelen tömés) egészségkárosodáshoz, megbetegedéshez vezethet.

3.1 Az intestinalis spirochaetosis története és előfordulása

Számos spirochaeta faj okozta betegséget ismerünk emlősökben és madarakban (1. táblázat). Ezek közül jelen dolgozatban, a szárnyasok bélcsatornáját érintő bántalmakra kívánok fókuszálni.

3.1.1 Az intestinalis spirochaetosis rövid története emlősökben

Intestinalis spirochaetosis alatt a vastagbélben a patogén *Brachyspira*-fajok megtelepedését, és ennek következtében kialakuló, főként emésztőszervi tünetekkel és elváltozásokkal járó, megbetegedést értjük.

A brachyspirákat az ember, a kutya, a nyúl, a különböző rágcsálófajok, a szarvasmarha, és talán állategészségügy szempontból legfontosabb fajként megemlítve, a sertés bélcsatornájából izoláltak (Harris és Kinyon 1974; Joens és Kinyon 1982; Jones és mtsai 1986). Egyes spirochaeta-fajok, pl. a sertésekben az enyhén béta-hemolizáló *Brachyspira innocens* (Kinyon és Harris 1979) és a nem hemolizáló *Brachyspira succinifaciens* (Cwyk és Canale-Parola 1979) a vastagbélflóra nem patogén résztvevőjének tekinthető. Más béta-hemolízist mutató fajokat emberből és sertésből hasmenés esetén mutattak ki (Jones és mtsai 1986; Jacques és mtsai 1989; Lee és Hampson 1992; Lee és mtsai 1993). Ilyen fajokkal, mint pl. a *Brachyspira hyodysenteriae*-vel, a sertésdysenteria

kórokozójával, konvencionális (Taylor és mtsai 1980), valamint gnotobiotikus sertések (Neef és mtsai 1994) megbetegíthetőek voltak. Laboratóriumi körülmények között az egér is megbetegíthető volt *B. hyodysenteriae* törzsekkel végzett kísérletes fertőzés során. (Joens és Glock 1979).

Hazai vonatkozásban Molnár (1985) foglalkozott a sertésdysenteria – korábban sertések ún. fertőző gyomor- és bélgyulladására néven ismert betegség – oktatásával és az izolált *Treponema*-fajok tulajdonságaival, majd Süveges (2002) foglalta össze a bántalommal kapcsolatos veszteségek csökkentésének lehetőségeit.

1. táblázat: pathogén spirochaeták és az általuk okozott kórképek különböző emlős és madárfajokban. Jansson (2009a) nyomán.

| Faj | Betegség | Gazdafaj |
|---|--------------------------------------|---|
| <i>Treponema pallidum</i> subsp. <i>pallidum</i> | szifilisz | ember |
| <i>Treponema pallidum</i> subsp. <i>pretune</i> | frambózia | ember |
| <i>Treponema carateum</i> | pinta | ember |
| <i>Treponema paraluis-cuniculi</i> | nyúlszifilisz | nyúl |
| <i>Treponema</i> spp. | ínygyulladás, paraodontitis | ember, kutya |
| <i>Treponema</i> spp. | digitalis dermatitis | kérődzők |
| <i>Borrelia recurrentis</i> (és még 15 faj) | visszatérő láz | ember |
| <i>Borrelia burgdorferi</i> (<i>sensu lato</i> : és még 11 faj) | Lyme-kór | ember, kutya, ló |
| <i>Borrelia anserina</i> | baromfiborreliózis | liba, kacs, tyúk, pulyka, fácán |
| <i>Leptospira</i> spp. | leptospirosis | ember, kutya, sertés, kérődzők, ló, rágcsálók |
| <i>Spirillum minus</i> | patkányharapás-láz/sodoku | ember |
| <i>Brachyspira pilosicoli</i> , <i>B. aalborgi</i> | Intestinalis spirochaetosis | ember |
| <i>Brachyspira hyodysenteriae</i> | sertésdysenteria | sertés |
| <i>Brachyspira pilosicoli</i> | sertések spirochaeta hasmenése | sertés |
| <i>Brachyspira hyodysenteriae</i> , <i>B. pilosicoli</i> , <i>B. alvinipulli</i> , <i>B. intermedia</i> | madarak intestinalis spirochaetosisa | tyúk, pulyka, nandu, liba, kacs |

3.1.2 A madarak intestinalis spirochaetosisának (AIS) története

Madárfajok közül számos házasított és vadmadárból izoláltak *Brachyspira*-fajokat a világ minden tájáról. Ezek egy része azonban tünetmentes hordozásnak minősült (2. táblázat).

2. táblázat: madaraktól származó, természetes esetekből izolált *Brachyspira*-fajok és azok első leírása

| Madárfajok | Kórokozó | Első leírás |
|---|---|-------------|
| Házityúk ¹ | <i>B. intermedia</i> | 1986 |
| | <i>B. pilosicoli</i> | 2001 |
| | <i>B. alvinipulli</i> | 1998 |
| | <i>B. hyodysenteriae</i> | 2008 |
| Pulyka ¹ | <i>B. pilosicoli</i> | 1990 |
| Házilúd ¹ | <i>B. alvinipulli, B. hyodysenteriae</i> | 2006 |
| Nandu ¹ | <i>B. hyodysenteriae</i> | 1992 |
| Fácán | <i>B. pilosicoli</i> | 1997 |
| Fogoly | <i>B. pilosicoli</i> | 2001 |
| Tőkésréce | <i>B. hyodysenteriae, B. suanatina</i> ² | 2004 |
| Örvös bukó | <i>B. alvinipulli</i> | 2007 |
| Nyílfarkú réce, chilei fütyülőréce, fekete hattyú, rózsás flamingó | <i>Brachyspira spp.</i> | 1995 |
| Csóka, vetési varjú, dolmányos varjú | <i>B. corvi</i> ² | 2008 |

1: klinikai AIS-t is megfigyeltek.

2: hivatalosan nem besorolt *Brachyspira*-fajok

Házityúkokban (*Gallus gallus domestica*) már az 1930-as évek elején leírtak spirochaeta morfológiájú baktériumalakokat bélkenetből (Harris és mtsai 1930), majd európai és észak-amerikai szerzők a '80-as évek végén és a '90-es években beszámoltak az intestinalis spirochaetosis előfordulásáról. A tojótyúkok intestinalis spirochaetosisában a fő kórokozóként számon tartott *B. intermedia* okozta megbetegedések esetén hasmenésről, a tojástermelés csökkenéséről és a tojások tömegének, valamint karotinoid tartalmának csökkenéséről számoltak be (Davelaar és mtsai 1986; Feberwee és mtsai 2008; Griffiths és mtsai 1987; Hampson és McLaren 1999). A patogén fajok közül a *B. alvinipulli* okozta enyhe megbetegedés esetén az állatok kb. 5%-át érintő hasmenést az alom és a tojások bélsárral való szennyeződését láttak (Stanton és mtsai 1998). *B. pilosicoli* okozta megbetegedésnél az állatok kb. 25%-át érintő hasmenést és mintegy 5%-os tojástermelés-csökkenést észleltek anélkül, hogy az elhullások száma megnőtt volna (Stephens és Hampson 2001). *B. hyodysenteriae*-t a közelmúltban Hollandiában izolálták egy hasmenésben megbetegedett tyúkállományból (Feberwee és mtsai 2008).

Tojótyúkokon túl Dwars és mtsai (1990) hasonló kórlefolyású betegséget írtak le pulykában (*Meleagris gallopavo*).

Sagartz és mtsai (1992) nanduban (*Rhea americana*) írták le a kórképet, amelyben a betegség súlyos formája, elhullással járó elhalásos vastagbélgyulladás alakult ki.

Tüneteket nem mutató tőkésréceben (*Anas platyrhynchos*) már a '90-es években kimutattak *B. alvinipulli*-t és *B. pilosicoli*-t (Swayne és McLaren 1997), majd *B.*

hyodysenteriae-t, *B. intermedia*-t, és *B. suanatina*-t is (Jansson és mtsai 2001). Később Jansson és mtsai (2009b) kísérletesen fertőztek napos récéket szájon és kloákán át vadréce és sertés eredetű *B. hyodysenteriae*-vel, *B. suanatina*-val, valamint referencia *B. hyodysenteriae*-vel (B204^R). Ezek a récék szájon át fertőzhetőek voltak vadkacsa és sertés eredetű *B. hyodysenteriae*-vel és *B. suanatina*-val, kloákán át pedig fertőzhetőek voltak vadkacsa eredetű *B. suanatina*-val. Klinikai tünetek azonban nem alakultak ki. A referencia *B. hyodysenteriae* törzs nem telepedett meg a bélnyálkahártyában.

Hazánkban 2001-ben előadás hangzott el a lúd- és pulykaállományokban előfordult intestinalis spirochaetosis kórtani és ultrastruktúrális vizsgálatáról (Dobos-Kovács és mtsai 2001). Néhány évvel később Nemes és mtsai (2006) házilúdban (*Anser anser*) nemzetközileg elsőként írták le az AIS-t, amely két libaállományban 18% ill. 28%-os elhullást okozott. Az állatok a tojástermelési szezon végén a vedletés alatt betegedtek meg. A kórbonctani és kórszövettani elváltozások fibrines-elhalásos vak- és remesevégbélgyulladás, vesefibrosis és következményes köszvény voltak. A megbetegedett állatokból 9 *Brachyspira*-törzset izoláltak, amelyeket biokémiai és molekuláris biológiai módszerekkel meghatározva nyolc *B. alvinipulli*-nak és egy *B. hyodysenteriae*-nek bizonyult.

3.3 Kóroktan

3.3.1 Rendszertan

Az AIS kórokozói a *Spirochaetales* rend, *Brachyspiraceae* család, *Brachyspira* nemzetségébe tartoznak (Paster és Dewhirst 2000). A nemzetséget jelenleg hét hivatalos (*B. hyodysenteriae*, *B. intermedia*, *B. alvinipulli*, *B. pilosicoli*, *B. aalborgi*, *B. murdochii*, *B. innocens*), valamint több besorolásra váró faj (*B. canis*, *B. pulli*, *B. suanatina*, *stb.*) alkotja. Az elkülönítés alapja a multilókuszos enzim elektroforézis és a 16S rRNS gén szekvenciája (Stephens és mtsai 2005; Jansson és mtsai 2008). Madaraktól a felsorolt fajok közül eddig csak a *B. canis*-t és a *B. aalborgi*-t nem izolálták, patogénnek szárnyasokban azonban csak négy faj tekinthető (Hampson and Swayne 2008):

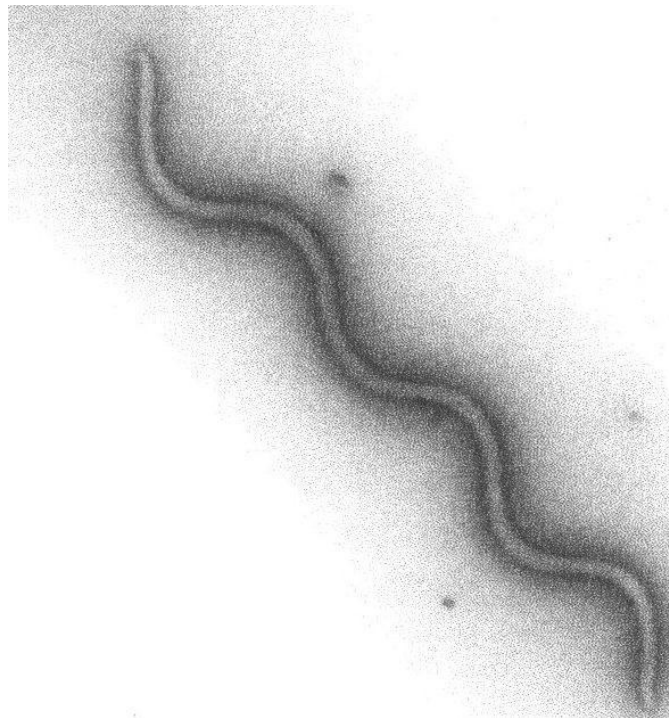
1. *B. hyodysenteriae*: sertéseken túl megbetegíti a házityúkot, libát, nandut.
2. *B. intermedia*: a tojótyúk intesztinalis spirochaetosisának legjelentősebb kórokozója.
3. *B. alvinipulli*: beteg tojótyúkokból és libákból mutatták ki.
4. *B. pilosicoli*: a legkevésbé fajhoz kötött kórokozónak tartják, megbetegedett tojótyúkokból, pulykákból izolálták.

Elképzelhető, hogy a négy kórokozó mellett még kerülnek brachyspirák a patogénnek tekintett fajok körébe, ezt mutatja, hogy például a *B. pulli*-val végzett kísérletes állatfertőzés során (csirke) a kórokozó mérsékelten patogénnek bizonyult (Hampson és McLaren 1997).

Az AIS kórokozóit el kell különíteni a madarak spirochaetosisa néven ismert, vérfertőzést okozó baromfiborreliosis kórokozójától (*Borrelia anserina*), amelyet a tyúkpoloska (*Argas persicus*) terjeszt.

3.3.2 Morfológia

A Brachyspira-fajok Gram festés szerint negatívan, Wright-Giemsa festéssel kéken, Warthin-Starry féle ezüst-impregnációval barnán festődő, 3-19 μm hosszúságú, 0,25-0,6 μm átmérőjű, spirális alakú baktériumok. Néha azonban *in vitro* előfordulnak gömb alakú formák is (Wood és mtsai 2006).



1. ábra: Brachyspira alak a bélcsatorna lumenében (Dr. Dobos-Kovács Mihály transzmissziós elektronmikroszkópos felvétele, 15.000x)

A sejtmembránt egy vékony proteoglikán réteg, valamint egy másik kétrétegű membrán, az elasztikus membrán veszi körül. A kettő között a periplazma található. A baktérium aktív mozgását a periplazmában lévő csillók biztosítják. Ez a mozgatórendszer egyrészt támpontot adhat a patogén törzsek fenotípusos elkülönítésére, másrészt pedig

ennek segítségével a baktérium olyan viszkózus mucinban is képes a mozgásra, amelyben egyéb, akár külső csillókkal rendelkező prokarióták már mozgásképtelenek (Charon és mtsai 1992; Berg 1976). Az élő baktériumok natívan könnyen vizsgálhatóak sötétlátóteres és fáziskontraszt mikroszkóppal, továbbá a tanulmányozásukhoz igénybe vehető scanning és transzmissziós elektronmikroszkóp egyaránt (1. ábra).

3.3.3 Tenyésztés

Az AIS kórokozói anaerob baktériumok, 10% juhvért tartalmazó agaron, illetve Columbia táptalajon 37-42°C-on 2-10 nap alatt elszaporodnak (Stanton és Lebo 1988). Tekintettel arra, hogy a vastagbélflóra különösen vegyes, valamint a brachyspirák lassan nőnek, ezért a különböző bélbaktériumok túlnőhetik a spirochaetákat. Emiatt a vastagbélből kioltáshoz szelektív táptalajra van szükség. A baktériumok a táptalaj tetejét filmszerűen borítják be. A különböző fajokból származó *B. hyodysenteriae* és a *B. suanatina* törzsek (de ritkán más fajok is) erősen béta-hemolizáló tulajdonságúak, a többi faj gyengén hemolizál (Jansson és mtsai 2001; Jansson és mtsai 2004; McLaren és mtsai 1996).

3.3.4 Biokémiai tulajdonságok

A *Brachyspira*-fajok biokémiai tulajdonságait (indol termelés, hippurát hidrolízis, α -galaktozidáz, α -glükózidáz, β -glükózidáz enzimek termelése) a 3. táblázat tartalmazza. Jansson és mtsai (2008) vizsgálatai azt mutatták, hogy az egyes baktériumizolátumok biokémiai vizsgálati eredményeinek az ismételhetsége rossz. Ennek a magyarázata, hogy – a sertésekkel ellentétben – a madarak bélcsatornájában jelenlévő általában kevert spirochaeta flórából a következetes eredményeket adó szintenyészet nehezen készíthető el. A kevert tenyészet a genetikai vizsgálatok eredményeit is befolyásolja. A biokémiai alapon nyugvó fajmeghatározás monitorvizsgálatokhoz azonban hasznos lehet. A gyakori kétes (+/-) biokémiai tulajdonság a genetikai vizsgálatokat is szükségessé teszi (Hampson és Swayne 2008).

3. táblázat: Különböző *Brachyspira*-fajok biokémiai tulajdonságai.

| faj | hemolízis véres agaron | indol reakció | hippurát-hidrolízis | α -galaktozidáz | α -glukozidáz | β -glukozidáz |
|--------------------------|------------------------|---------------|---------------------|------------------------|----------------------|---------------------|
| <i>B. aalborgi</i> | gyenge | - | gyenge | - | - | - |
| <i>B. alvinipulli</i> | gyenge | - | + | +/- | - | + |
| <i>B. canis</i> * | gyenge | - | - | + | - | + |
| <i>B. hyodysenteriae</i> | erős | +/- | - | - | +/- | + |
| <i>B. innocens</i> | gyenge | - | - | + | +/- | + |
| <i>B. intermedia</i> | gyenge | + | - | - | + | + |
| <i>B. murdochii</i> | gyenge | - | - | - | +/- | + |
| <i>B. pilosicoli</i> | gyenge | +/- | +/- | +/- | - | - |
| <i>B. pulli</i> * | gyenge | +/- | NA | + | +/- | + |
| <i>B. suanatina</i> * | erős | + | - | - | - | + |

* Hivatalosan nem besorolt fajok.

3.3.5 Virulencia faktorok

A brachyspirák okozta betegség kialakulásának részletei és a betegség kialakulásában nélkülözhetetlen vagy fontos baktériumtulajdonságok a mai napig nem tisztázottak. Hampson és Swayne (2008) összefoglaló tanulmánya a következő lehetséges virulencia faktorokat említi meg (az alábbi adatok a *B. hyodysenteriae* és *B. pilosicoli* vizsgálatán alapulnak):

- Motilitás, kemotaktikus képesség.
- Bélhámhoz való kapcsolódás: Muniappa és mtsai (1998) bizonyították az in vitro sejt-baktérium kapcsolódást, de a módja mindezidáig tisztázatlan.
- Hemolizáló képesség: Lysons és mtsai (1991) in vitro kísérlettel igazolták, hogy a sertés eredetű bélhámsejtek közötti kötéseket a baktérium hemolizinjai felszakítják.
- a sejtfalban megtalálható lipooligosaccharidok (LOS): a többi Gram negatív baktériumhoz hasonló (Nuessen és mtsai 1983)
- NADH oxidáz enzim aktivitás. Oxigéntől védi a baktériumot, inaktivált NADH oxidáz (nox) génnel rendelkező baktérium enyhébben betegíti meg a sertést, az általa fertőzött állatok pedig nem hullottak el. (Stanton és mtsai 1999)

3.3.6 Ellenálló képesség

A *B. pilosicoli* túlélőképességét vízben 25°C-on 4 napnak, 4°C-on 66 napnak, sertéstrágyában 10°C-on 78-210 napnak, csirketrágyában 4°C-on mindössze 3 napnak találták. A csirketrágya savas pH-jával és száraz állagával magyarázzák a brachyspirák csökkent túlélését. A legtöbb fertőtlenítőszer hatásos az AIS kórokozói ellen (Oxberry és mtsai 1998; Berg 1976; Phillips és mtsai 2003).

3.4 Kórfejlődés

Az AIS pontos kórfejlődése tisztázatlan. A fertőzés az emésztőrendszeren (szájon, kloákán) át történik. A kórokozók ezt követően tartósan megtelepedhetnek a vak- és remesevégbélben, ahol főleg a crypták üregében találhatóak. Sertéskísérletek alapján feltételezik, hogy szinergizmus van a *Brachyspira*-fajok és a különböző anaerob bélflórát alkotó baktériumok között, mint pl. a clostridiumok (Dwars és mtsai 1990; Whipp és mtsai 1979).

A kóros elváltozások kialakításában a virulenciafaktorok játszanak szerepet. A brachyspirák aktív mozgásra való képessége lehetővé teszi a vastagbelet borító viszkózus nyálkán történő áthatolást. A bélhámsejt felületén eddig tisztázatlan módon képes megtapadni, majd hemolizin segítségével akár meg tudja szakítani a bélcsatornát borító hám sejt-sejt (tight junction) kapcsolatát, ezáltal utat törve a mélyebb szöveti térbe. Gyakori esetben a hemolizin hatására a Liberkühn mirigyek kitépődnek, a kehelysejtek pedig fokozott nyálkatermelésbe kezdenek. Kialakul a helyi vérbőség, a savó pedig a bél lumenébe kerül. További ozmotikus alapon nyugvó folyadékvesztést jelent, hogy romlik a NaCl transzportja a bél lumenéből a vérpályába. Érdekes, hogy mindeközben a ciklikus adenzin- és guanozin-monofoszfát szint normális. Ez azt mutatja, hogy pl. sertésekben az enterotoxikus *E.coli* okozta hasmenéssel ellentétben, az intestinalis spirochaetosisnál az enterotoxinok és prosztaglandinok önmagukban nem magyarázzák az elektrolitvesztést. A helyi vérkeringési zavar következtében kialakuló regresszív hatásoknak köszönhetően a bélcsatorna hámja elfajul, súlyosabb esetben elhal. A gyulladást okozó sejtek a betegség korai szakaszában hiányoznak, azok a betegség későbbi szakaszában jelennek meg elsősorban az elhalt szövetek elhatárolása céljából. A parenchymás és egyéb szervek degeneratív elváltozásai feltehetőleg a bélből felszívódó különféle toxinok hatásával magyarázhatóak. A tartós hasmenésnek a következménye a víz és elektrolitvesztés zavara, exsiccosis és metabolikus acidosis. (Argenzio és mtsai 1980; Hampson és mtsai 2006a; Süveges 2002; Varga és mtsai 1999).

AIS kórokozók okozta spirochaetaemiáról madarakban eddig nem számoltak be, de ez a lehetőség nem zárható ki.

3.4.1 A brachyspirákkal történő egyik lehetséges fertőzési mód: „Cloacal drinking”

A madarak kloákanyílása érintésre egy jellemző szívó mozgást végez, amit kloáka reflexnek ill. angol szakirodalomban „cloacal drinkingnek” is hívnak. A reflex egyik fő oka, hogy az így felszívott tartalommal az immunrendszer (elsősorban a Fabricius féle bursa) találkozhat és az esetlegesen bekerült antigének ellen ellenanyagokat termeljen (Sorvari és mtsai 1975). Ezt tojótyúkokban úgy igazolták a szerzők, hogy előlt *Brucella abortus* szuszpenziót cseppentettek a kloákára, majd a vérsavóban kifejezett titer emelkedés mutatta a kísérlet sikerességét. A felszívott tartalom azonban nem áll meg a bursánál, hanem a belekbe is eljut. Kőrösi (2010) irodalmi adatokra hivatkozva arra hívta fel a figyelmet, hogy az így felszívott tartalom akár a zúzógyomorig is eljuthat. A kloákán keresztül kórokozók is juthatnak be a szervezetbe, mint ahogy brachyspirák esetén ezt Jansson és mtsai (2009b) bizonyították. A „cloacal drinking” azonban hasznos is lehet, hiszen esetleg alternatív vakcinázási módként használható.

3.5 Kórkép (tünetek és kórbonctan)

A természetes esetekből izolált törzsekkel végzett kísérletes állatfertőzéssel gyakran nem sikerül a betegséget reprodukálni. A klinikai tünetek megjelenését az adott Brachyspira-törzs mellett, számos genetikai, tartási, takarmányozási tényező befolyásolja. Mindezek tehetők felelőssé azért, hogy az AIS során megfigyelt klinikai tünetek és patológiai elváltozások jelentősen eltérhetnek a különböző állományokban (Kouwenhoven 1993, Swayne és mtsai 1995). Fontos megemlíteni, hogy tojótyúk esetében a tartástechnológiai különbségek (ketreces vagy mélyalmos tartás) nincsenek hatással az AIS előfordulására (Dwars és mtsai 1989). A betegség három formáját érdemes elkülöníteni: a tünetmentes fertőzöttség, az enyhe megbetegedés, valamint a súlyos megbetegedés (Hampson és Swayne 2008)

3.5.1 Tünetmentes fertőzöttség

Különböző életkorú és fajú, klinikai tüneteket nem mutató madárból (pl. növendék csirkéből és vadkacsából) izoláltak különböző Brachyspira-fajokat (Jansson és mtsai 2001; Jansson és mtsai 2004). Az ilyen állatok járványtani szerepe nem lebecsülendő, hisz

tünetmentesen hordozzák a kórokozót, majd hajlamosító tényezők hatására klinikai kórkép alakulhat ki. Irodalmi adatok nincsenek arról, hogy az ilyen állatokban bekövetkezik-e testsúlycsökkenés, illetve ebből adódó gazdasági kár. Járványtanilag jelentősége van annak, hogy fertőzött vadmadarak fertőzhetik háziállott társaikat is.

3.5.2 Enyhe kórkép

Ezzel a kórformával találkozhatunk pulykában, tojótyúkokban és brojler szülőpárállományok intestinalis spirochaetosisa kapcsán. Természetes esetekben a vezető klinikai tünet a makacs hasmenés és a tojástermelés-csökkenés. A hasmenés következtében romlik az alomanyag minősége, és növekszik a bélsárral szennyezett tojások száma. A kórbonctani elváltozások enyhék vagy teljesen hiányoznak. Szövetteni vizsgálattal a vastagbél nyálkahártyában erodálódást, a propriában pedig, vagy gyulladással járó, vagy anélküli ödémát figyeltek meg (Trampel és mtsai 1994; Swayne és mtsai 1992; Dwars és mtsai 1992b, Swayne és mtsai 1995; Muniappa és mtsai 1996). Bár Adachi és mtsai (1985) már írtak le sikeres fertőzést *B. hyodysenteriae*-vel végzett kísérlet során, pathogenitási vizsgálat felnőtt tyúkokban csak *B. pilosicoli*, *B. intermedia* és *B. alvinipulli* felhasználásával történt.

B. pilosicoli-val végzett fertőzés során tenyészttyúkokban a bélsár folyadéktartalmának növekedését, a tojáshéjak bélsárral való szennyeződését, és tojástermelés-csökkenést észleltek. Az állatok vakbele fakó volt, tartalma pedig híg, habos. A tojótyúkok hasonló kórokozóval való fertőzése klinikailag negatív eredményt hozott. (Stephens és Hampson 2002; Jamshidi és Hampson 2002)

B. intermedia-val történt fertőzés után tojótyúkokban és tenyészállatokban egyaránt híg, nyálkás, habos volt a bélsár, tojástermelés-csökkenés mutatkozott, a termelt tojások könnyebbek voltak a kontrollnál, a szik fakóbb volt, a tojás karotintartalma pedig csökkent. Érdekes, hogy a fertőzött, tüneteket mutató állatok tojásaiból keltetett csibék súlya a 2-3 héten a kontrolcsoporttól szignifikánsan elmaradt. Fontos azonban megemlíteni, hogy az utódokban brachyspira-fertőzöttség nem volt kimutatható (Dwars és mtsai 1990, 1992b, 1993).

B. alvinipulli-val fertőzött tyúkoknak és naposcsibéknek egyaránt sárga-narancssárga bélsárak voltak. A vakbél kitágult, híg, habos, fakó, sárgás-zöldes tartalommal telt volt. A vakbélben lymphocytás és heterophil granulocytás gyulladás volt látható, a bélhámsejtek hyperplasiájával (Swayne és mtsai 1995).

3.5.3 Súlyos kórkép

Súlyos lefolyású AIS-t eddig két madárfajban írtak le. Nandu (*Rhea americana*) esetében a hat hónaposnál idősebb állatok gyakran előzetes klinikai tünetek nélkül, hirtelen hullottak el. Néha levertséget és híg bélsárürítést lehetett látni az elhullás előtt néhány napig. Az állatok vakbélnyálkahártyája fibrinnel és törmelékes anyaggal fedett volt, esetenként fekélyképződést is lehetett látni. Szövetteni vizsgálattal a vakbelekben súlyos elhalást, a kehelysejtek és a hám hyperplasiáját lehetett megfigyelni. Az ilyen beteg állatokból *B. hyodysenteriae*-t mutattak ki. A nanduból származó törzsekkel fertőztek naposcsibét, pulykapipét, nanducsibét is, melyekben felnőtt állatokéhoz hasonló (de annál enyhébb) elváltozások alakultak ki (Sagartz és mtsai 1992; Buckles és mtsai 1997).

Libaállományokban már az ezredfordulón is volt szóbeli közlés AIS okozta megbetegedésről hazánkban (Dobos-Kovács és mtsai 2001). Néhány évvel később Nemes és mtsai (2006) számoltak be a nemzetközi irodalomban elsőként a betegségről. Az általuk vizsgált két állományban 18% ill. 28%-os mortalitás volt. Az elhullások az első tojásrakási ciklusban lévő tojókat érintették. Az idősebb állatok és a gunarak kiesése technológiai szinten maradt. Az elhullásokat néhány napig bágyadtság és étvágytalanság előzte meg. A kórbonctanilag elváltozott, kipirult és duzzadt vakbél felületén elhalást és fibrines álhártyát, néhány esetben az üregében fibrindugót láttak. Az elváltozásokat néhány esetben álhártyás vékonybélgyulladás is kísérte. A vesék duzzadtak, fakók voltak, a veseelváltozásokat néhány esetben köszvény is kísérte. Kórszövetteni vizsgálattal a vastagbélben elhalásokkal, vérzésekkel kísért gyulladásos sejtes beszűrődést, a vesékben pedig fibroblast sarjadzással kísért vesehámelfajulást láttak. Az elváltozott bélszakaszokból végzett immunhisztokémiai vizsgálattal valamennyi állatban igazolták a kórokozó jelenlétét. Ugyancsak a bélből szelektív táptalajon végzett tenyésztéssel és fenotípus (biokémiai) meghatározással 9-ből 8 törzset *B. alvinipulli*-nak, egyet pedig *B. hyodysenteriae*-nek határoztak meg. Az izolált törzsekkel végzett kísérletes naposliba fertőzés során a fertőzött csoportban az állatok mintegy felének hígabb, sárgásabb volt a bélsara, a vakbelek kitágultak voltak, a faluk duzzadt, a tartalmuk pedig hígabb volt. Szövetteni vizsgálattal a vakbelet borító hámsejtek enyhe hyperplasiáját, a propriában ödémát és lymphoid sejtes beszűrődést láttak, a kórokozót pedig visszaizolálták (Ivanics és mtsai 2007).

3.5.4 A takarmány eredetű mikotoxikózis lehetséges hajlamosító szerepe

A gombák által termelt toxikus metabolitok (mikotoxinok) okozta megbetegedést mikotoxikózisnak hívjuk. A mikotoxinokat számos csoportba sorolhatjuk, így ismertek a

fuzárium mikotoxinok, ergotoxinok (*Claviceps spp.*), aflatoxinok (*Aspergillus* és *Penicillium spp.*), ochratoxinok (*Aspergillus* és *Penicillium spp.*), citrinin (*Aspergillus* és *Penicillium spp.*) stb. A fuzárium toxinok számos további alcsoportra bonthatók: trichotecén vázas toxinok, monilliformin, fumonizin, fusariochromanon, zearalenon stb. (Hampson és Swayne 2008).

A különféle baromfifajok felnevelése és tartása során Magyarországon a mikotoxinok közül a trichotecén típusúak, és azok közül főleg a deoxinivalenol (DON), valamint a T-2 toxin okozza a legnagyobb gazdasági veszteséget. Különböző baromfifajokkal (csirkékkel, tojtyúkokkal, pulykával libával, kacsával) végzett vizsgálatok alapján ismert, hogy a T-2 toxin és azzal rokon mikotoxinok károsító hatása többirányú. Erőteljes citotoxikus hatásuk van (Schiefer és Beasley 1989), gátolják a fehérjeszintézist (Rosenstein és Lafarge-Fraysinnet 1983), továbbá károsítják az idegrendszert (Feuerstein és mtsai 1989), a parenchymás szerveket (Schiefer és Beasley 1989), az immunrendszert (Taylor és mtsai 1989) és a nemi működést is (Ványi és mtsai 1994, Fazekas és mtsai 1993).

A házikacsa, és különösen a barbari kacska (*Carina moschata*) trichotecén fuzariotoxinok iránti fokozott érzékenysége ismert, és ezen alapszik, hogy esetenként fiatal kacsákat használtak ilyen típusú mikotoxinok biológiai próbával való kimutatására. Az ún. „kacsateszt” lényege az volt, hogy különböző fuzariotoxinok kis mennyiségű (0,1-0,4 mg/ttkg) *sub cutan* bevitele hányást idéz elő (Schlosberg és mtsai 1984). Sályi és Glávits (1995) kísérletükben a T-2 toxint tartalmazó tápot fogyasztó barbari kacsákban takarmány visszautasítást, növekedésben elmaradást, a lymphoid szervek sorvadását, a lábak bőrein és a szájnyálkahártyán pedig fekélyeket láttak. Az említett elváltozások gyorsan kialakultak (24 óra), majd néhány héten belül enyhültek. A májokban és vesékben nem találtak elváltozást. Pekingi kacsában végzett kísérletekkel Rafai és mtsai (2000) hasonló eredményeket találtak, de csupán a 2 mg/kg toxin koncentrációt meghaladó tápot fogyasztó állatokban láttak makroszkópos elváltozásokat, elsősorban a szájnyálkahártya károsodását.

3.6 Diagnózis

Az AIS gyanújának a felvetéséhez szükséges a járványtani, kórbonctani, kórszövettani vizsgálat. A beteg állatok bélsarából készült natív (sötétlátóteres vagy fáziskontraszt mikroszkóp) vagy festett (Giemsa, fukszin stb.) kenetben jól láthatóak a jellegzetes morfológiájú spirochaeták. A belekből készült metszetekben ezüstimpregnációs, direkt vagy indirekt immunfluoreszcens, illetve immunhisztokémiai eljárással tehetővé láthatóvá a brachyspirák. Ezek a módszerek azonban nem képesek meghatározni faji szinten a kórokozót (Hampson és Swayne 2008). A betegség diagnózisához azonban nem

szükséges a kóroktani azonosítás. Amennyiben erre mégis igény mutatkozik, akkor erre több lehetőség is van:

Egyik ilyen lehetőség a brachyspirák kitenyésztése és az elszaporodott kórokozók fenotípusos meghatározása (a betegség diagnosztikájában a gyanút követő pozitív tenyésztés lelet és/vagy az *in situ* (IH) kimutatás elégséges a diagnózishoz).

Utóbbi időkben a tenyésztés nehézségei és főleg a biokémiai tulajdonságok bizonytalanságai miatt egyre jelentősebb erőfeszítések történnek a *Brachyspira*-fajok modern molekuláris biológiai módszerekkel való azonosítására (PCR, ISH). A primertervezés célpontjai a 16S rRNS, a 23S rRNS és a *nox* gén (Stanton és mtsai 1997; Rohde és mtsai 2002; Barcellos és mtsai 2000). Csirkék bélsarából való kimutatáshoz nested duplex PCR módszert is kifejlesztettek *B. intermedia*-hoz és *B. pilosicoli*-hoz (Phillips és mtsai 2006).

A szerológiai módszerek használhatósága csekély. A kórokozóval szembeni immunitás kialakulásáról keveset tudunk. Stoutenburg (1993) azt tapasztalta, hogy szeropozitivitás akkor is jelen van, amikor a baktérium a bélből nem mutatható ki, ugyanakkor a fertőzött állatok között is vannak szeronegatív egyedek. Az eredmények értékelését befolyásolja, hogy a kifejlesztett tesztek (pl. ELISA, indirekt immunfluoreszcencia stb.) szenzitivitása és/vagy specificitása alacsony. További hátránya a szerológiai vizsgálatoknak, hogy nem tudnak különbséget tenni a *Brachyspira*-fajok között (La és Hampson 2001; Hampson és mtsai 2006a).

3.6.1 Elkülönítő kórjelzés

Az AIS okozta súlyos elhalásos bélgyulladás el kell különíteni a *Salmonella spp.*, illetve a *Clostridium spp.* okozta bélgyulladástól, a szisztémás amyloidosistól, pulykák esetében pedig a histomonadosistól (blackhead) is. A libákban található veseelfajulás és köszvény miatt a takarmányeredetű mikotoxikózist, a polyoma vírus okozta megbetegedést, valamint az itatástechnológiai problémákat kell kizárni.

Az enyhébb, krónikus hasmenéssel járó AIS-t a salmonellosistól, colibacillosistól, kokcidiózistól és a histomoniasistól kell elkülöníteni. Nem fertőző eredetű kórokok közül a takarmányozási hibák (só, zsír, szójabab túletetés) jöhetnek szóba.

A béltartalomból készített kenetek értékelése során figyelembe kell venni, hogy számos, többségében apatogén helikális alakú baktérium lehet a béltartalomban. Ilyenek pl. a *Campylobacter spp.*, az *Arcobacter spp.* vagy a *Helicobacter*-fajok (Hampson és Swayne 2008).

3.7 Gyógykezelés

Gyógykezelésként antimikrobiális kezelés jöhet szóba. A tapasztalat az, hogy a kezelés hatására a tünetek enyhülnek, az elhullások lecsökkennek, megszűnhetnek. A kezelés befejeztével azonban a gyógykezelés előtti állapot visszaállhat. Ennek a magyarázata az lehet, hogy az antibiotikum itatása nem szünteti meg a fertőzöttséget, így ha a hajlamosító tényező tovább hat, akkor a betegség kiújul. Az EU-ban az élelmiszertermelő állatoknak engedélyezett készítmények közül a sertésdysenteria esetén alkalmazott készítmények hatásosak AIS ellen is: makrolid antibiotikumok, linkospektinek, pleuromutilinek (tiamulin), tetraciklinek, egyes β -laktám antibiotikumok. Nemzetközi tapasztalatok azt mutatják, hogy a tiamulin, linkomicin (és az EU-ban élelmiszer termelő állatoknak nem adható metronidazol) használható eredményesen a kezelésben a kórokozó *Brachyspira*-fajtól függetlenül (Hampson és mtsai 2006a; Hampson és mtsai 2006b). Fontos megemlíteni, hogy a tiamulin ionofór kokcídium ellenes szerekkel együtt nem adható. Az esetleges gyógykezelés előtt mindenképpen ajánlott az izolátumból in vitro rezisztencia vizsgálatot készíteni, annak ellenére, hogy egy ilyen vizsgálat elkészítése hosszadalmas (legalább 10 nap).

3.8 Védekezés

Az AIS elleni eredményes védekezés csak komplex megközelítésben lehetséges.

A mentes állományba a behurcolást kell megakadályozni szigorú járványvédelmi intézkedések fenntartásával: a telep fizikai elhatárolása, a vadmadarak elleni védekezés (különösen félintenzíven tartott madarak esetén az etető és itató részen), a takarmány és víz tisztasága, a telepre érkező állatok karanténozása, a személyi forgalom minimálisra csökkentése, fekete-fehér zsilipes rendszer szabályainak betartása.

Fertőzött állományok esetében a leghatásosabb, legrövidebb (és lehet, hogy az egyetlen biztos) módszer a fertőzés megszüntetésére, az AIS kórokozójától mentes állatokkal történő állománycsere és az újratelepítést megelőző takarítás, fertőtlenítés, valamint az alapos szervízperiódus. A veszteségek mérséklését teszi lehetővé – a fent említett járványvédelmi intézkedések mellett – a stresszhatások csökkentése: a jó minőségű és mikotoxinokkal nem szennyezett takarmány etetése, a vedlést megelőző takarmányváltás kíméletes véghezvitele. Kiemelten fontos a fertőzött állományokban a különböző korcsoportok keveredésének megakadályozása (pl. libák esetén a második ciklusában lévő pihenő tojók és első éves, még nem termelő tojók azonos legelőn tartásának kerülése stb.).

Gondot kell fordítani a telepen a rágcsálóirtásra is, mert rezervoár szerepük nem kizárható (Hampson és mtsai 1991).

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

3.9 Gazdasági jelentőség

Az Egyesült Királyságban több számítás, és becslés látott napvilágot az AIS okozta veszteségekkel kapcsolatban. A helyzet komolyságát mutatja, hogy Burch és mtsai (2006) csak a tojóttyúk és ezen belül csak a *B. pilosicoli* fertőzés éves kártételét Nagy Britannia baromfiiparára nézve kb. 4,1 millió angol fontra (GBP) becsülte. Ez nagyjából 1,3 milliárd magyar forintnak (HUF) felel meg. Smith és mtsai (1998) a spirochaetákkal fertőzött tenyészállományok veszteségét (csökkent tojástermelés és takarmányhasznosítás) 10,600 GBP/állomány/év-re becsülte (3,37 millió HUF/állomány/év). A fertőzött állomány tojásaiból keltetett csirkék hizlalásának a becsült vesztesége (csökkent takarmányértékesítés és testsúlygyarapodás) további 9,900 GBP/állomány/év (3,15 millió HUF/állomány/év). Becslések szerint az AIS betegség éves kártétele a brit baromfiipar teljes termelés éves értékének az 1,5%-át teszik ki (Burch és mtsai 2006).

3.10 Közegészségügyi jelentőség

Az intestinalis spirochaetosis embereknél is előforduló betegség. Különösen a fejlődő országokban, valamint a fejlett országok immunszuppresszált (pl. AIDS beteg) emberei között magas a betegség prevalenciája (Trivett-Moore és mtsai 1998; Mikosza és Hampson 2001). A betegség tünetei: hasfájás, krónikus hasmenés, valamint gyerekek esetén fejlődésben való elmaradás (Douglas és Crucoli 1981; Kanavaki és mtsai 2002; Mikosza és Hampson 2001).

Vizsgálatok kimutatták, hogy emberből izolált *B. pilosicoli* kolonizálja a naposcsibék és a felnőtt tyúkok emésztőcsatornáját, de a madarokról emberre terjedés mindeztáig nincs bizonyítva. Az irodalmi adatok alapján valószínűsíthető, hogy mivel a *B. pilosicoli* nem kötődik szorosan egy gazdafajhoz, a zoonózis lehetősége nem kizárható (Dwars és mtsai 1992a; Jamshidi és Hampson 2003; Trott és mtsai 1995).

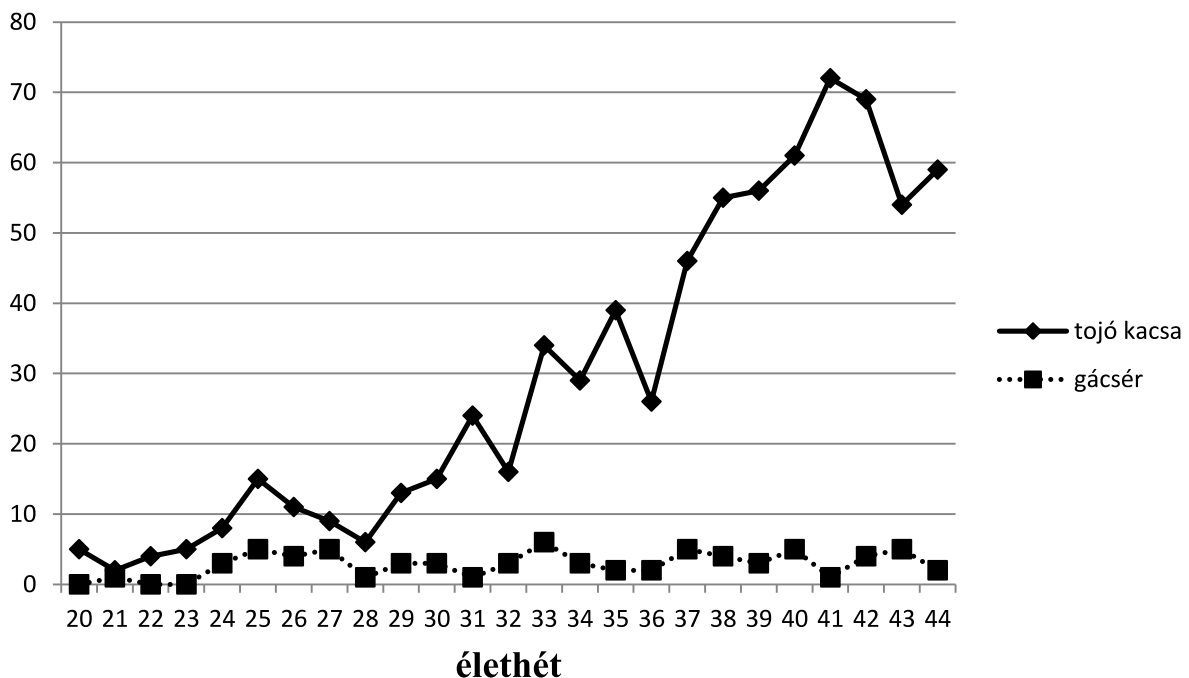
4. Anyag és módszer

A kutatás során feldolgozott minták az MgSzH-ÁDI (volt Országos Állategészségügyi Intézet) budapesti Baromfibetegségek Laboratóriumába érkezett vizsgálati anyagokból származtak. A megbetegedett állományokra vonatkozó járványtani adatokat (életkor, hasznosítási irány, morbiditás, mortalitás, a betegség állományszintű lefolyása) a kezelő állatorvosok által összegyűjtött megfigyeléseknek, valamint a helyszíni vizsgálat során szerzett tapasztalatoknak köszönhetjük. A bakteriológiai és antibiotikum érzékenységi vizsgálat a Higiénés Bakteriológiai Laboratóriumban, a molekuláris biológiai vizsgálatok a Molekuláris Biológiai Laboratóriumban történtek. A kísérletes állatfertőzésre az MgSzH-ÁDI állatházában került sor.

4.1 Vizsgálati minta (házikacsa vizsgálatok)

4.1.1 Felnőtt házikacsa-állományokban történt vizsgálatok

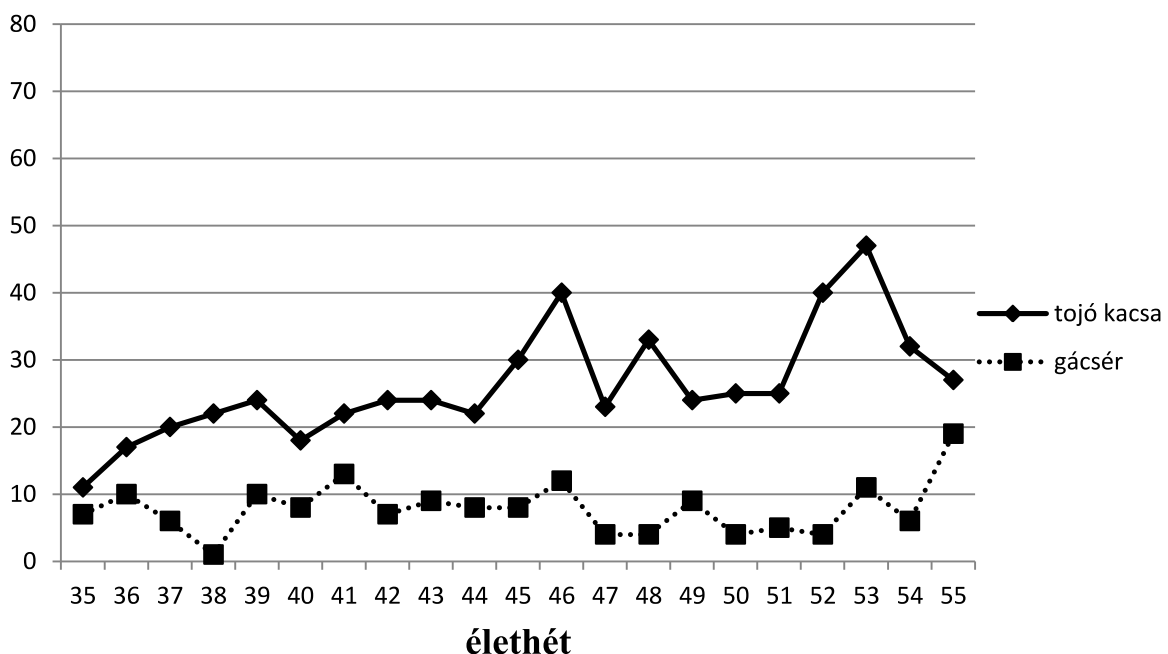
Felnőtt kacsában az AIS-t először két (A és B), az első tojástermelési ciklusát töltő állományban észleltük.



2. ábra: A heti mortalitás változása a 4200 létszámú A állományban

Az A jelzésű állományban egy 4200 tenyész kacsaát számláló telepen (3500 tojó és 700 gácsér) az első tojástermelési ciklus március elejétől július elejéig tartott. Március végétől azonban a napi elhullás megemelkedett főként a tojók körében (2. ábra), és 24 hét alatt 773 állat (18,4%) pusztult el (703 tojó és 70 gácsér). Az elhullást megelőző 1-2 napon levertség, étvágytalanság és nehéz mozgás jelentkezett. A telepen történt boncolás során fibrines vastagbélgyulladás, vese-, lép- és májduzzanat, valamint ízületi ödéma volt megfigyelhető. Áprilisban, májusban és júniusban amoxicillin és doxiciklin kezelés volt (10mg/testtömeg kg, 5 napig), amely nem vezetett eredményre.

A B állományban egy 5000 létszámú, szintén első tojóciklusban lévő állatok között (4300 tojó és 700 gácsér) megemelkedett a napi elhullás, és 20 hét (3. ábra) alatt 715 állat elhullott (550 tojó és 165 gácsér; 16,63%). A klinikai tünetek és a boncolási lelet megegyezett az A jelű állományban tapasztaltakkal. Fontos megemlíteni, hogy hasmenés egyik állományban sem jelentkezett.

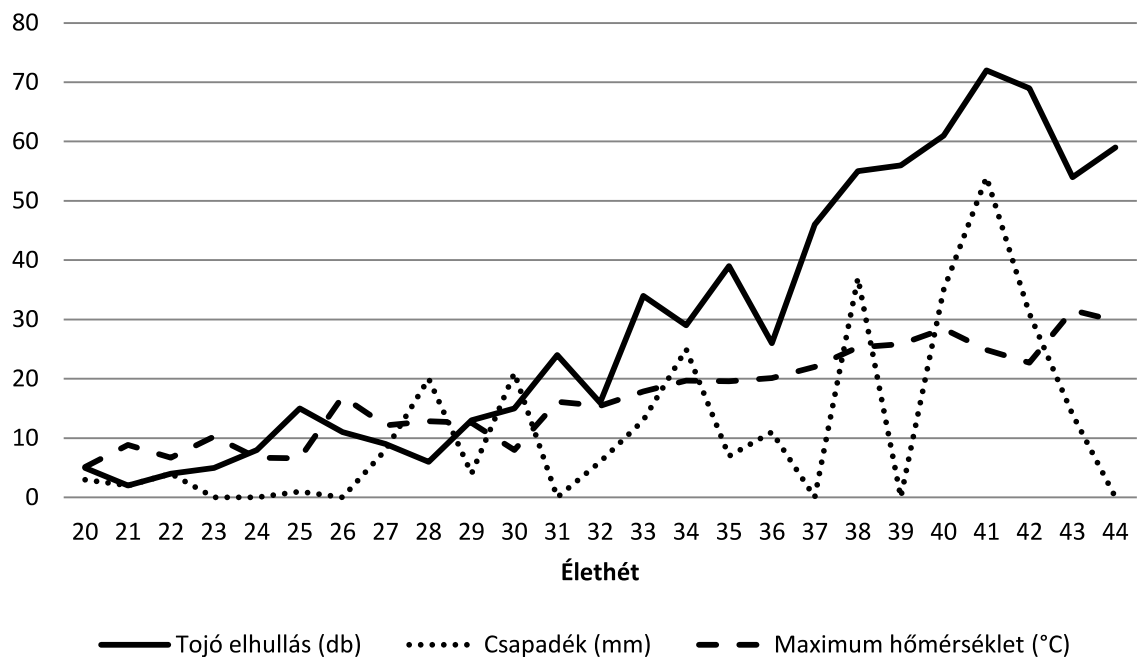


3. ábra: A heti mortalitás változása az 5000 létszámú B állományban

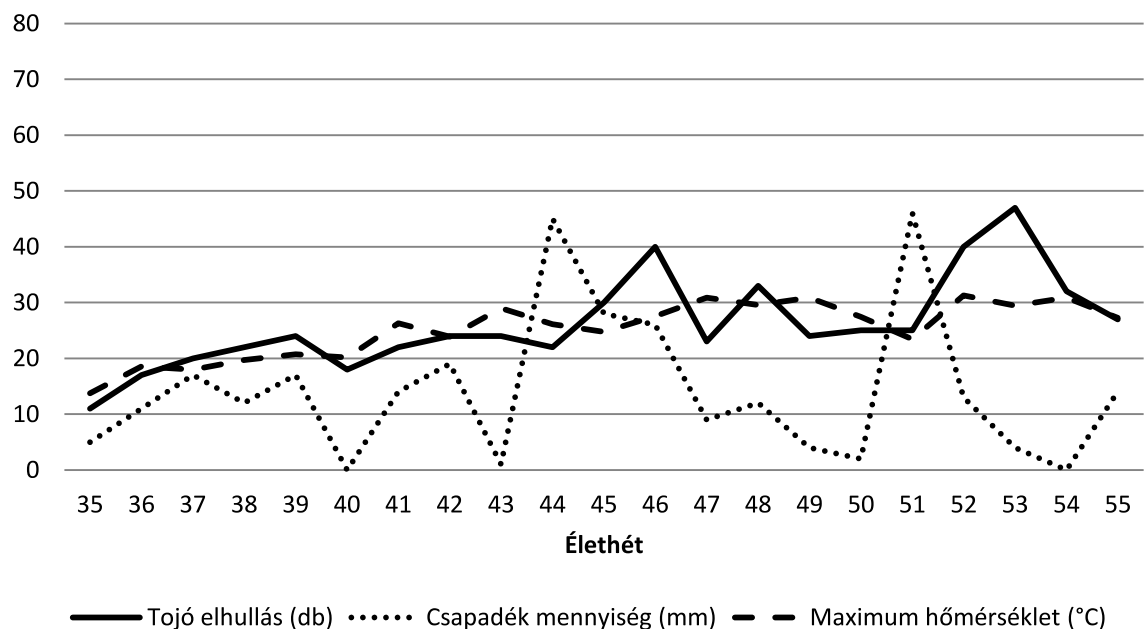
Intézetünkbe az A jelű állományból 4 héten át, három alkalommal, összesen 16 elhullott állatot küldtek be, a B jelű állományból pedig 12 állatot (8 elhullott és 2 élő tojót, valamint 2 gunarat) kaptunk vizsgálat céljából.

A két állományban az elhullások és az időjárási események összehasonlításához az Országos Meteorológiai Szolgálat archívumából, az adott telephez legközelebbi mérőállomás adatait használtuk fel (www.met.hu/omsz.php, archívum). A vizsgálatunk során

a heti csapadékmennyiséget, és a heti átlag maximum hőmérsékletet hasonlítottuk össze a heti összes elhullással. Az eredmények a 4. és az 5. ábrán láthatóak. Különösen a B állomány esetében megfigyelhető az csapadékos időszakot követő mortalitásnövekedés.



4. ábra: Az „A” állományban történt elhullások az időjárás viszonylatában



5. ábra: A „B” állományban történt elhullások az időjárás viszonylatában

4.1.2 Növendékkacsa-állományokban történt vizsgálatok

A vizsgálatainkat 4 (C, D, E, F), négy-, öt- és héthetes korú kacsaállományban végeztük. A „C”, a „D”, és az „F” állományt pecsenyekacsaként, az „E” állományt törzskacsaként nevelték (4. táblázat). Utóbbi állományban lehetőség volt háromhavonta további vizsgálatokat végeznünk. Valamennyi állományból 4 illetve 5 hetes életkorban a napi elhullás megemelkedése miatt küldtek intézeti vizsgálatra elhullott állatokat (C:12, D:10, E:3, F:7), majd az E állomány esetében 5 illetve 8 és 9 hónapos életkorban további 3-3-3 kacsát vizsgáltunk.

4. táblázat: A vizsgált növendékkacsa állományok életkora és létszáma

| Jelzés | Kor | Létszám | Beküldött mintaszám |
|---------------|--------------------|----------------|----------------------------|
| A | 1 év (törzs) | 4200 | 16 |
| B | 1 év (törzs) | 5000 | 12 |
| C | 4 hét | 11000 | 12 |
| D | 4 hét | 9100 | 10 |
| E | változó (7-36 hét) | 3000 | 12* |
| F | 5 hét | 14700 | 7 |

* többszöri mintaküldés

4.2 Vizsgálati anyag (házityúk vizsgálatok)

Vizsgálatainkat 50, 87, ill. 47 hetes életkorú, 30000, 35000, ill. 19000 létszámú húshibrid szülőpár állományokban („G”, „H” és „I”) végeztük (5. táblázat).

A tyúkok 6, valamint 4 épületben rácspadozaton, ill. szalma almon voltak elhelyezve. A „G” és az „I” állományokban a tojásrakási periódus 3-4. hetétől, a „H” állományban vedletést követően profúz hasmenés jelentkezett, ami időszakonként hullámzóan, az állatok 10-50%-ában volt megfigyelhető. Az érintett egyedek bélsara emésztetlen takarmányrészeket és folyadék fázist tartalmazott, barnás-sárga színű és erősen bűzös volt. Az alom átnedvesedett, a tyúkok tollazata, a tojások héja híg bélsárral elszennyeződött. A tojástermelés és a termékenység csökkenése a hasmenés recidívái után elérte a 15-20%-ot. A tojások héja elvékonyodott, törékennyé, színe világosabbá vált. A tojók legyengültek, nehezen mozogtak, gyakran ültek. A talpbőr megvastagodott, berepedezett, és másodlagos fertőzések miatt gyakran begyulladt. A napi elhullások száma a „G” és a „H” állományban nem, míg az „I” állományban enyhén (heti 0,3-0,4%-ról 0,7-0,8%-ra) növekedett. Tiamulinnal

és doxiciklinnel történt 5-7 napig tartó kezelés hatására a hasmenéses egyedek száma lecsökkent, azonban a kezelés befejeztével ez az arány ismét megemelkedett. Takarmányváltoztatást követően a hasmenés megszűnt, és ismételten már nem jelentkezett. Az „I” állománnyal a hasmenés idején etetett takarmányokban 0,25-0,5 ppm dezoxinivalenol (DON), valamint 0,15-0,5 ppm F-2 (zearalenon) fuzáriumtoxin szennyezettséget mutattak ki. Az „G” és a „H” állományokkal etetett takarmányokban mikrobiológiai módszerekkel minőségromlást nem lehetett kimutatni.

Intézeti vizsgálatra a „G” állományból két különböző időpontban beküldött 4-4 élő, a „H” állományból 5 élő, az „I” állományból ugyancsak két különböző időpontban beküldött 8 élő és 6 elhullott állat került.

5. táblázat: A vizsgált házityúk állományok életkora és létszáma

| Jelzés | Kor | Létszám | Beküldött mintaszám |
|---------------|------------|----------------|----------------------------|
| G | 50 hét | 30000 | 8 |
| H | 87 hét | 35000 | 5 |
| I | 47 hét | 19000 | 14 |

4.3 Kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok

A vizsgálatra került kacsákat és tyúkokat 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 remesebélből, esetenként a csípőbélből, a májból, a veséből és a lépéből készítettünk. Felnőtt kacsák esetén továbbá az elváltozott izületeket, az agyvelőt és a tüdőt; növendék kacsákból pedig a Fabricius-féle bursát, a tüdőt, a choanákat és az agyvelőt is vizsgáltuk. A mintákat 10%-os pufferolt formaldehid oldatban fixáltuk, paraffinba ágyasztuk, metszettük, majd a 3-4 mikrométer vastagságú metszeteket hematoxilín-eozinnal festettük meg.

4.4 Immunhisztokémiai vizsgálatok

Immunhisztokémiai vizsgálatot mindegyik esetben a vakbélből és a remesebélből végeztünk, a korábban Nemes és mtsai (2006) által leírt módon. A spirochaeták kimutatását egy kereskedelmi forgalomban lévő, fluoreszcein izotiocianáttal jelölt nyúl immunsavóval

(National Veterinary Services Laboratories, Ames, USA) kíséreltük meg. Az immunsavó 14 különböző *Leptospira*-szerotípus tenyésztésével, és kísérletesen fertőzött aranyhőrcsögök szerveiben 5 különböző *Leptospira*-szerotípussal adott pozitív reakciót. Specificitását Miller és mtsai (1989) 13 másik baktériumfajjal tesztelték és a leptospirákhöz hasonló intenzív reakciót csak a *Brachyspira hyodysenteriae* esetén kaptak. Nemes és mtsai (2006) a *B. alvinipulli*-val való pozitív reakciót is leírták már libában. A szérum használhatóságát a többi patogén *Brachyspira*-fajok esetén (*B. intermedia*, *B. pilosicoli*) a tenyészetekből egy üveg tárgylemezre készített preparátumon teszteltük, melyhez a jelölt ellenanyag képes volt kötődni.

A deparaffinálást követően a metszeteket citrát-puffer oldatban (pH 6), mikrohullámú sütőben (750W, 20perc) 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 peroxidázzal jelölt polimert tartalmazó teszt (EnVision™ + anti-rabbit HRP, Dako, Glostrup, Dánia) felhasználásával történt. Kromogénként 3-amino-9-etilkarbazol oldatot (Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) használtunk, a kontrasztfestést Meyer-féle hematoxillinnel végeztük. A pozitív kontroll egy sertésdysenteriában elhullott sertés vastagbele volt, míg a negatív kontrollban a brachyspirákra specifikus ellenanyagot foszfát pufferre cseréltük.

4.5 Bakteriológiai vizsgálatok

Bakteriológiai vizsgálatot a szírvérből, a májból, a vastagbélszakaszokból, ezen kívül a felnőtt kacsák elváltozott ízületeiből, valamint a növendékkacsák agyvelejéből végeztünk, 10% juhvért tartalmazó agar és Drigalski táptalajokon, aerob és anaerob körülmények között.

A brachyspirák tenyésztését a beteg állatok vak és remesebél szakaszaiból kíséreltünk meg. Az érintett bélszakaszok középső részét 1-2 cm hosszú szakaszon steril ollóval bemetszettük, és a nyálkahártya felszínéről steril kaccsal mintát vettünk.

Tekintettel arra, hogy a brachyspirák növekedése lassú, és a béltartalom vegyes baktériumflórája gyorsan növekvő baktériumokat is tartalmaz, ezért a tenyésztéshez szelektív táptalaj használata szükséges. A táptalaj 5% juhvért, élesztőkivonatot, antibiotikumokat: 6,25 µg/ml vankomicin, 6,25 µg/ml kolisztin, 25 µg/ml spiramicin, 12,5 µg/ml rifampicin és 200 µg/ml spektinomycin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), triptont és szójakivonatot tartalmazó agar (Trypticase Soy agar CM131 Oxoid). A táptalajt Kunkle és Kinyon (1988) nyomán készítette el az Intézetünk Higiénés Bakteriológiai Laboratóriuma. A

tenyészeteket anaerob körülmények között (AnaeroGen Oxoid) 42°C-on 3-6 napig inkubáltuk. A baktériumok alakját és mozgását sötétlátóteres mikroszkóppal vizsgáltuk.

A tenyészet tisztítását úgy végeztük, hogy a növekedést mutató lemezekről, a rajzás széli részéről 5% juhvért tartalmazó Columbia-agar felületére szélesztettük, majd a tenyészeteket a fenti módon inkubáltuk. Az átoltást több (3-5) alkalommal megismételtük. A továbboltott tenyészeteket is ellenőriztük sötétlátóteres mikroszkóppal, valamint Gram szerint festett keneteket készítettünk, így ellenőrizve azok tisztaságát, a biokémiai, és antibiotikum érzékenységi vizsgálatok elvégzése előtt.

4.5.1 Biokémiai (fenotípus) vizsgálatok

A szintenyészetek biokémiai tulajdonságait (hippurát hidrolízis, α -galaktozidáz, α -glikozidáz és β -glikozidáz) Hommezz és mtsai (1998) sertés izolátumokhoz készült leírása alapján határoztuk meg Rosco diagnosztikai tabletták (Rosco, Taastrup, Dánia) használatával. Az indol reakciót indol reagenssel (1 g p-dimetil-amino-cianoaldehyd 10 ml 10% sósavban oldva) átitatott szűrőpapíron vizsgáltuk.

4.5.2 Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok

A *Brachyspira*-törzsek tiamulin, linkomicin és amoxicillin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) érzékenységét agarhígításos, míg tetraciklin és eritromicin érzékenységét E-teszt (AB Biodisk, Solna, Sweden) módszerrel határoztuk meg. Mindkét esetben 5% juhvérrel kiegészített TSA agart használtunk. A Columbia agaron növő friss tenyészeteket 2 ml fiziológiás sóoldattal 0,5-1 McFarland sűrűségűre hígítottuk. Az így kapott szuszpenziót 6,5 mm átmérőjű Petri-csészében lévő TSA felületére szélesztettük. A táptalajok az egyes antibiotikumokat az alábbi koncentrációban tartalmazták: 0,25-16 μ g/ml tiamulin és linkomicin esetén, 2-64 μ g/ml koncentráció amoxicillin esetén. Az oxitetraciklin és eritromicin különböző hígításait (0,016-256) tartalmazó E-teszt csíkokat a gyártó utasításainak megfelelően a fenti módon beoltott antibiotikum mentes TSA agarok felületére helyeztük. A rezisztencia határértékeket Karlsson és mtsai (2003) nyomán határoztuk meg.

4.6 Parazitológiai vizsgálatok

A beteg állatok vékony-, és vastagbelének kaparékát natívan világoslátóteres mikroszkópban, valamint a béltartalmat állományonként egyesítve, felszindúsítást követően, parazita fejlődési alakok jelenlétére vizsgáltuk (Kassai és mtsai 1994).

4.7 Molekuláris diagnosztikai (genotípus) vizsgálatok

A vizsgálat tisztított brachyspira kultúrákból történt. A DNS kivonása a kitenyészített Brachyspira-törzsekből, egy korábban Dán és mtsai (2003) által közölt cikkben ismertetett guanidin-HCl-on alapuló eljárással történt. A baktériumtörzsek nox génjének részleges molekuláris biológiai jellemzéséhez Townsend és mtsai (2005) által leírt PCR-módszert alkalmaztunk (6. táblázat).

6. táblázat: A referens Brachyspira-törzsek restrikciós enzimes vágással kapott szakaszainak méretei (Townsend és mtsai 2005)

| Faj | <i>Bfml</i> (bp) | <i>DpnII</i> (bp) |
|--------------------------|-------------------|-------------------|
| <i>B. aalborgi</i> | 453, 248, 238 | 939 |
| <i>B. alvinipulli</i> | 742, 197 | 898, 41 |
| <i>B. pilosicoli</i> | 742, 197 | 898, 41 |
| <i>B. hyodysenteriae</i> | 742, 197 | 684, 214, 41 |
| <i>B. intermedia</i> | 504, 238, 197 | 684, 214, 41 |
| <i>B. innocens</i> | 504, 211, 197, 27 | 684, 214, 41 |
| <i>B. murdochii</i> | 504, 211, 197, 27 | 684, 157, 57, 41 |

A felerősített PCR-terméket a QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Hilden, Németország) segítségével tisztítottuk ki a gélből, szekvenálás céljából. A szekvenálás (Biomi Kft., Gödöllő), a PCR-reakcióban is használt primerekkel, valamint a BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA) segítségével történt automata ABI PRISM 3130 szekvenálón (Applied Biosystems). A kapott DNS-szekvenciák elemzését, szerkesztését, javítását és a lehetséges kódolt aminosav-szekvenciák megállapítását a DNASTAR (Lasargene, WI, USA) programok (EditSeq, SeqMan, MapDraw), valamint az ingyenes és interneten elérhető (<http://workbench.sdsc.edu>) Biology WorkBench 3.2 programgyűjtemény segítségével végeztük. A lehetséges kódolt fehérjék meghatározásához a National Center for Biotechnology Information (NCBI) adatbankjában lévő szekvenciákat használtuk a BLASTX program (Altschul és mtsai 1990) segítségével. Fehérjét nem kódoló DNS-szekvenciák homológia keresését pedig a BLASTN program segítségével végeztük (Altschul és mtsai 1990, National Center for Biotechnology Information, Bethesda, Maryland, USA, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Az evolúciós távolságokat az UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) módszer alapján (Sneath és Sokal 1973) a legnagyobb kompozit valószínűség (maximum composite likelihood) modellel számoltuk ki (Tamura és mtsai 2004). A törzsfa megbízhatóságát bootstrap analízissel ellenőriztük 1000 ismétlést alkalmazva.

4.8 Kísérletes állatfertőzés

A felnőtt kacsákból, és tyúkokból izolált különböző *Brachyspira*-törzsek patogenitásának meghatározásához három kísérleti állatfertőzést végeztünk.

Az első kacsakísérletben valamennyi természetes kacsasetből izolált, patogénnek tartott fajjal fertőztünk (*B. hyodysenteriae*, *B. pilosicoli*, *B. alvinipulli*, *B. intermedia*) naposállatokat úgy, hogy mellette párhuzamosan csoportokat T-2 toxint tartalmazó táppal etettünk. Tekintettel az eredményekre, a kísérletet *B. intermedia* és *B. hyodysenteriae* törzsekkel megismételtük. Ebben ez esetben nem etettünk toxinos tápot, viszont különböző állatfajokból (pl. sertésből, kacsából, tyúkból) származó *B. hyodysenteriae*-vel fertőzött csoportokat is kialakítottunk.

A természetes tojótyúk esetből izolált *B. hyodysenteriae* patogenitását csibékben is vizsgáltuk. A második kacsakísérlethez hasonlóan itt is több állatfajból származó törzseket használtunk. Kíváncsiak voltunk továbbá arra is, hogy a csibék kloákán át fertőzhetőek-e.

A kísérletek során az állatokkal való bánásmód és eutanázia megfelelt a hatályos EU konform magyar jogszabályoknak (1998. évi XXVIII. törvény az állatok védelméről és kíméletéről, hatósági engedélyszám: 22.1/1848/003/2007).

4.8.1 Első kacsakísérlet

Összesen 123 klinikailag egészséges, egynapos pekingi kacsát használtunk.

Az egy napos állatoknak megmértük a testtömegét, és véletlenszerűen 10 csoportot (I-X) alakítottunk ki. Minden csoportba 12-12 állat került. Az I és II csoportot *B. pilosicoli*-val, a III. és IV csoportot *B. alvinipulli*-val, az V és VI csoportot *B. hyodysenteriae*-vel, a VII-VIII csoportot *B. intermedia*-val fertőztük szájon át. A IX és X csoport fertőzetlen kontrollcsoportként szolgált. A II, IV, VI, VIII, és X. csoport takarmányába 1 mg/kg koncentrációban T-2 toxint kevertünk. A kísérleti elrendezést ld. a 7. táblázatban.

Csoportonként 3 állatot véreztettünk el a fertőzést követő első, második, harmadik és negyedik hét végén. Az állatokat boncoltuk. A kórszövettani vizsgálatokhoz 3 bélszakaszt (csípő-, vak-, és remesebél), májat, vesét, lépét, csecsemőmirigyét, Fabricius-féle bursát, és esetenként nyelvet fixáltunk.

7. táblázat: A kísérleti elrendezés az első kacsakísérlet esetében

| Fertőző anyag \ Takarmány | Normál | Toxint tartalmazó |
|---------------------------|--------------|-------------------|
| <i>B. pilosicoli</i> | I. csoport | II. csoport |
| <i>B. alvinipulli</i> | III. csoport | IV. csoport |
| <i>B. hyodysenteriae</i> | V. csoport | VI. csoport |
| <i>B. intermedia</i> | VII. csoport | VIII. csoport |
| Fertőzetlen | IX. csoport | X. csoport |

4.8.2 Második kacsakísérlet

A kísérlet során 57 klinikailag egészséges, egynapos pekingi kacsát használtunk, melyeket 6 csoportba osztottunk (9-9 állat/csoport). Az 1. csoportot kacsakeredetű, a 2. csoportot libakeredetű, a 3. csoportot tyúkeredetű, a 4.-et sertés eredetű *B. hyodysenteriae*-vel, az 5.-et pedig kacsakeredetű *B. intermedia*-val fertőztük, a 6. csoport a fertőzetlen kontroll csoport volt (8. táblázat). Valamennyi fertőzés szájon át történt.

Mintavétel az 1., 2., és 4. héten volt. Alkalmanként és csoportonként 3-3 állatot elvéreztettünk, majd boncoltunk. Kórszövettani vizsgálatra valamennyi állatból májat, vesét, valamint 3 bélszakaszt (csípő-, vak-, és remesebél) fixáltunk.

8. táblázat: A kísérleti elrendezés a második kacsakísérlet esetében

| Fertőző anyag | izolátum származása | csoport |
|--------------------------|---------------------|------------|
| <i>B. hyodysenteriae</i> | kacsa | 1. csoport |
| <i>B. hyodysenteriae</i> | liba | 2. csoport |
| <i>B. hyodysenteriae</i> | tyúk | 3. csoport |
| <i>B. hyodysenteriae</i> | sertés | 4. csoport |
| <i>B. intermedia</i> | kacsa | 5. csoport |
| Fertőzetlen | - | 6. csoport |

4.8.3 Csibekísérlet

Összesen 48 klinikailag egészséges, SPF tojásból konvencionális körülmények között keltetett egynapos Babcock csibét 5 csoportba osztottunk (9-9 állat/csoport). Az A és B csoportot tyúkeredetű, a C csoportot kacsakeredetű, a D csoportot sertés eredetű *B. hyodysenteriae* törzsszel fertőztünk. Az A, C, D csoportot szájon át, a B csoportot kloákán keresztül fertőztünk. Az E csoport a fertőzetlen kontroll volt (9. táblázat).

Mintavétel az 1., 3., és 4. héten volt. Az előző kísérlethez hasonlóan csoportonként és alkalmanként 3-3 állatot vizsgáltunk. Kórszövettani vizsgálatokhoz valamennyi állatból májat, vesét, valamint 3 bélszakaszt (csípő-, vak-, és remesebél) fixáltunk.

9. táblázat: A kísérleti elrendezés a csibekísérlet esetén

| Fertőző anyag | izolátum származása | fertőzés útja | csoport |
|--------------------------|---------------------|---------------|-----------|
| <i>B. hyodysenteriae</i> | tyúk | szájon át | A csoport |
| <i>B. hyodysenteriae</i> | tyúk | kloákán át | B csoport |
| <i>B. hyodysenteriae</i> | kacsa | szájon át | C csoport |
| <i>B. hyodysenteriae</i> | sertés | szájon át | D csoport |
| Kontroll | - | - | E csoport |

4.8.4 Fertőző anyag

A kísérlethez használt különböző *Brachyspira*-törzseket, intézetünkbe érkezett természetes esetekből (megbetegedett állatokból) izoláltuk. Olyan törzseket használtunk, melyeket izolálást követően fenotípusos és genotípusos tulajdonságaik alapján meghatároztunk. A meghatározást követően ezeket a törzseket 15% glicerollal dúsított triptikáz szója levesbe (TSB; Becton Dickinson and Company, Sparks, MD 21152 USA) oltottuk és -80°C-on tároltuk.

Felolvasztást követően a törzseket Columbia véres agarra szélesztettük, és anaerob körülmények között 3-6 napig inkubáltuk. A tenyészetből TSB-be szuszpenziót készítettünk. A leves sűrűségét denzitométerrel (bioMérieux SA, 69280 Mary-l'Etoile, France) 3 McFarlandra (kb. 5×10^8 CFU/ml) állítottuk be. Az így készült leves szolgált fertőző anyagként a kísérlet során.

4.8.5 A kísérlet menete

Valamennyi kísérlet során a fertőzés előtt három állatot elvéreztettünk, diagnosztikai boncolásnak vetettük alá, valamint megkíséreltük a *brachyspirák* kitenyésztését is. A szájon át való fertőzéskor 0,5 ml/állat fertőző anyagot adtunk az állatoknak Pasteur pipettával a nyelőcsőbe. A kloákán át való fertőzéskor pedig 0,2 ml/állat fertőző anyagot juttattunk pipettával kb. 5 mm mélyre a kloákába. Az állatok a fertőzést követően folyamatos megfigyelés alatt álltak, a tüneteket naponta megfigyeltük, a testsúlyokat hetente regisztráltuk. A testsúlyokból származó adatok statisztikai vizsgálatához több szempontos varianciaanalízist (ANOVA) használtunk az R program (© 2009 The R Foundation for

Statistical Computing) segítségével. A statisztikai próbákban az elsőfajú hiba határát (szignifikancia szint) 5%-ban határoztuk meg ($\alpha=0,05$). Az eutanáziát és boncolást követően a valamennyi állatból elvégzett kórszövettani, immunhisztokémiai, valamint a bakteriológiai vizsgálatokat a korábban leírt metodika szerint végeztük el.

5. Eredmények

Természetes esetek vizsgálata

5.1 Felnőtt házikacsa-állományokban történt vizsgálatok

5.1.1 Kórbonctani vizsgálatok

A két állományból (A és B) intézetbe küldött kacsák (összesen n=28) átlagosnál gyengébb kondícióban voltak. A vakbél, remesebél, máj, vese, lép, lábtő- és ujjizületek kórbonctani elváltozásait a 10. táblázatban foglaltam össze. 26 egyedben (93%) a vakbél és a remesebél a kissé kitágult, a béltartalom bűzös szagú, vörhenyes volt, és gyakran fibrincafatókat tartalmazott.

10. táblázat: Kórbonctani és kórszövettani elváltozások a két (A és B) felnőtt házikacsa-állományban

| | A állomány | B állomány | Összesen |
|--|------------|--------------|-----------|
| vizsgált állatok száma | 16 (♀) | 12 (10♀, 2♂) | 28 |
| Kórbonctani és szövettani leletek: | | | |
| fibrines-elhalásos vakbél- és vastagbélgyulladás | 16 | 10 | 26 (93%) |
| duzzadt, sárgásbarna vese | 16 | 12 | 28 (100%) |
| vesecsatornahám elfajulás | 10 | 9 | 19 (73%) |
| vesefibrózis | 6 | 3 | 9 (35%) |
| duzzadt, szürkésbarna máj és lép | 14 | 9 | 23 (88%) |
| amyloidlerakódás a májban ill. lépben | 14 | 9 | 23 (88%) |
| lábtő- és lábujjizületek gyulladása | 10 | 8 | 18 (69%) |
| petefészektüszők degenerációja | 14 | 7 | 21 (87%)* |
| heresorvadás | - | 2 | 2 gácsér |

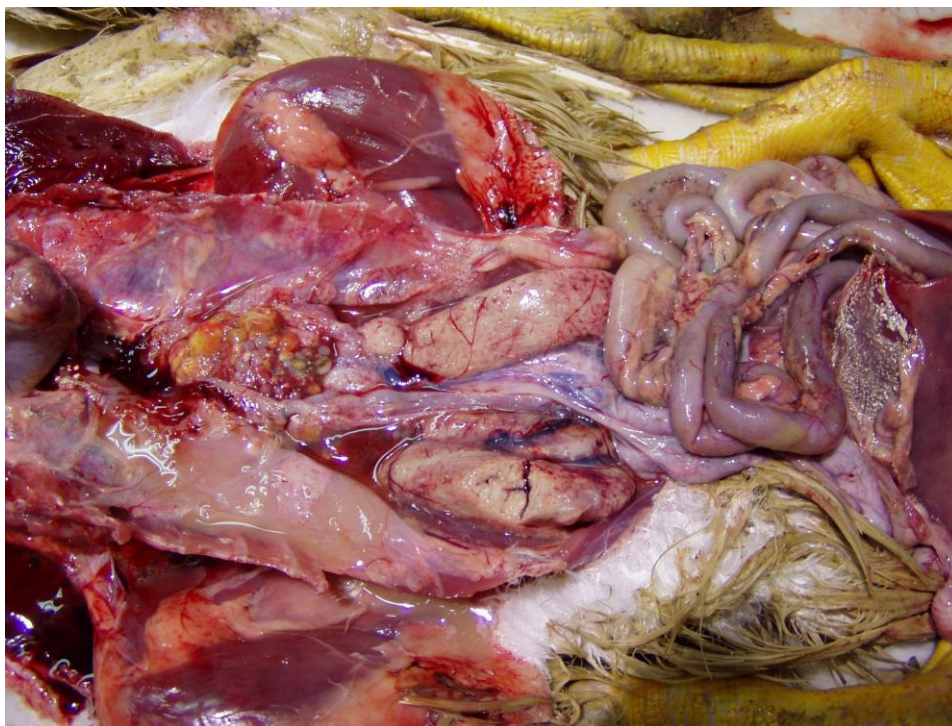
*: a vizsgált tojók %-a

A vastagbél nyálkahártyája duzzadt és bővérű volt, felületén szakaszonként korpaszerű elhalás és fibrines álhártya borította (6. ábra). 6 állatban (21%) a vékonybél is érintett volt: a csípőbelekben heveny hurutos gyulladás jelei voltak láthatók. Valamennyi

állatban a vesék duzzadtak, halvány sárgásbarna színűek és esetenként nehezen szakíthatók voltak (7. ábra).



6. ábra: Brachyspirosisban megbetegedett kacsában a remesebél duzzadt, bővérű. A felületén szakaszonként korpaszerű elhalás és fibrines álhártya



7. ábra: Brachyspirosisban megbetegedett kacsában a vesék duzzadtak és fakó sárgásbarna színűek

23 esetben (88%) a lép és a máj duzzadt, szürkésbarna színű, és törékeny volt. 21 tojóban (87%) a petetüszőkben a folliculusok degenerációját és atrófiáját lehetett látni, valamint a herék mindkét gácsérban sorvadtak voltak. 18 állatban (69%) egyik vagy mindkét oldali lábtő és/vagy ujjízület duzzanatát észleltük (8. ábra). Az ízületi tokok megvastagodtak, a tokban a sárgásbarna ízületi folyadék enyhén megszaporodott.



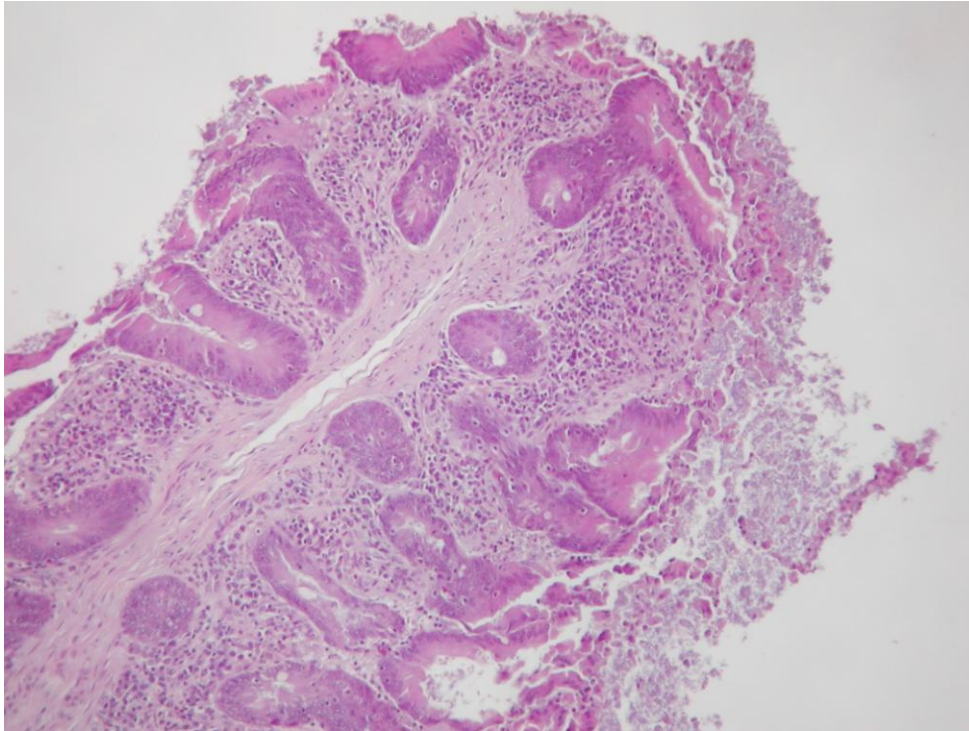
8. ábra: Brachyspirosisban megbetegedett kacsza ujjízületi duzzanata

5.1.2 Kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálatok

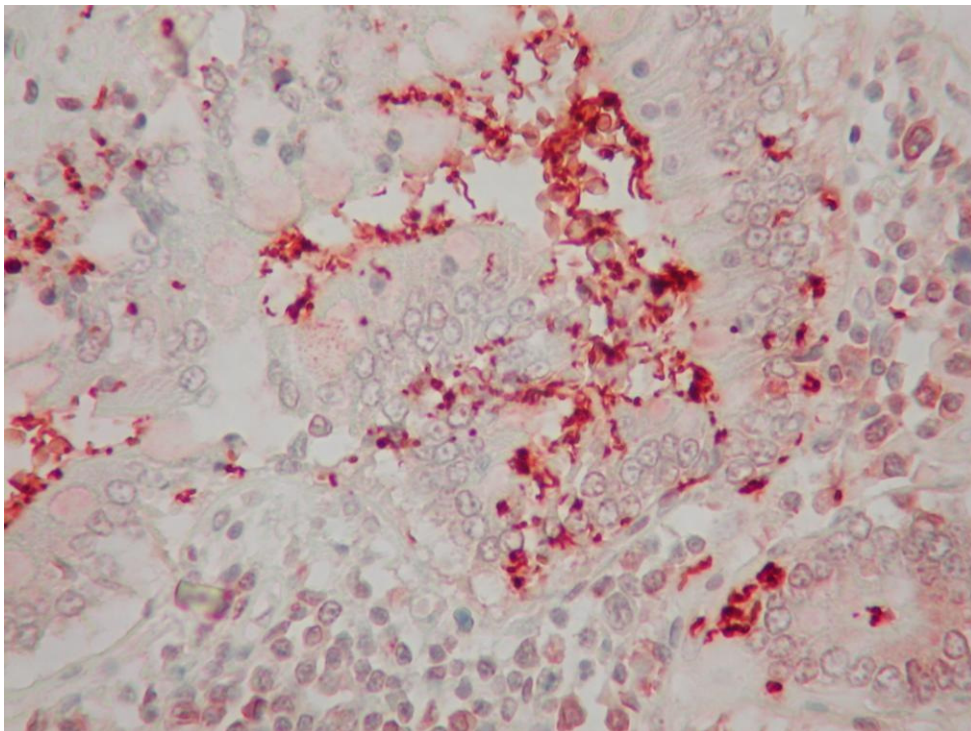
Kórszövettani vizsgálattal a remesevégbél és a vakbél nyálkahártyája megszélesbedett, a hámréteg szakaszosan elhalt, levált vagy nyálkás-fibrines váladékkal volt fedett (9. ábra). A kötőszövetes rétegben vérzések, valamint lympho-histiocytás és heterophil granulocytás beszűrődés látszott. 13 esetben (46%) a remesebél nyálkahártyájában az elhalás a propria felső harmadára is ráterjedt.

Immunhisztokémiai vizsgálattal valamennyi vizsgált állat vak- és remesebelében ki lehetett mutatni a jellegzetesen hullámos alakú baktériumokat (10. ábra). A spirochaeták ugyanolyan intenzitással festődtek, mint a pozitív kontrollként használt sertésbél szakaszban található baktériumalakok, míg a negatív kontroll metszet nem festődött. A brachyspirák a belek üregében egyesével, vagy csoportosan mutatkoztak. Többször előfordult, hogy a nyálkahártya felületén, vagy a bélmirigyek üregében és a propria rétegben közvetlenül az

alapjától elemelkedett enterocyták rétege alatt, néha a lamina propria mélyebb rétegeiben is megfigyelhetők voltak. Intracellulárisan nem figyeltünk meg baktériumokat.

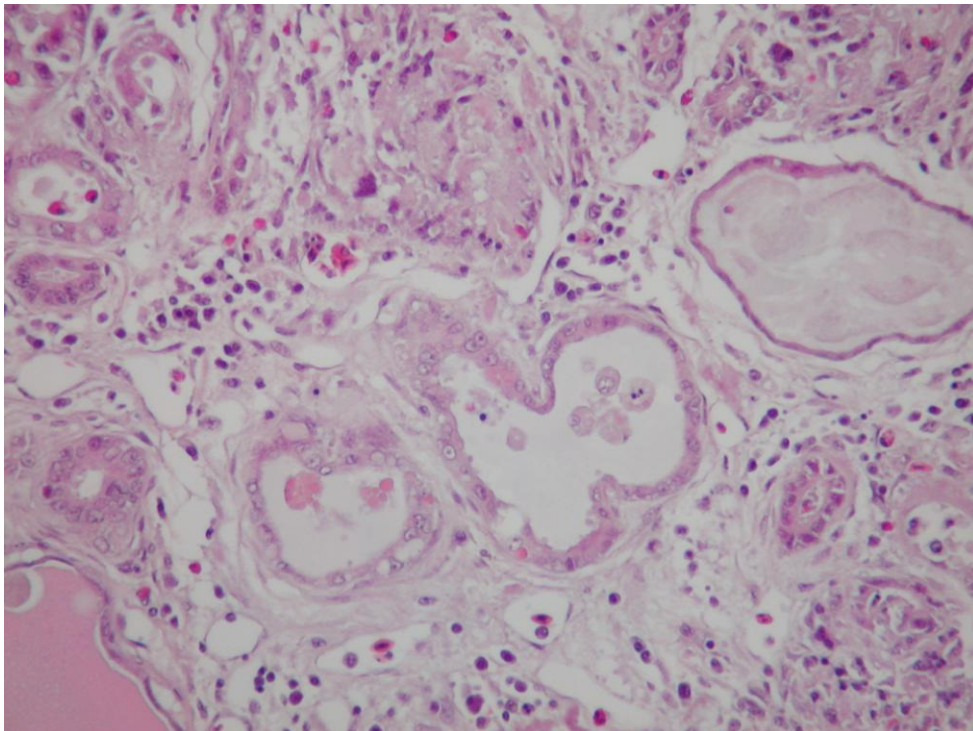


9. ábra: Brachyspirosisban megbetegedett kacsá remesevégbél nyálkahártyája duzzadt, lympho-histiocytás és granulocytás beszűrődéssel. A hám felületesen elhalt, fibrines álhártyával fedett. (H.E.) 200x



10. ábra: Brachyspirosisban megbetegedett kacsá vastagbelében pozitív reakciót adó spirális lefutású baktériumok az elhalt és levált bélhámsejtek között. Immunhisztokémiai reakció, 400x

Kórszövettani vizsgálattal 19 esetben (73%) a vesékben a tubulusok hámsejtjeinek zonális, vagy diffúz elfajulását lehetett látni. Ezt 9 esetben (35%) gócos vagy kiterjedt fibroblast sejt sarjadzás kísérte, ami következményes glomerulus és tubulus sorvadással és helyenként ásványi anyag lerakódással járt (11. ábra). A kórbonctani elváltozásokat mutató májakban és lépekben gócos vagy diffúz amyloid lerakódást lehetett megfigyelni. Az elváltozott ízületek synoviális membránjában és az alatta lévő kötőszövetben lymphocytás, histiocytás és heterophil granulocytás beszűrődést és kifejezett fibroblast sarjadzást láttunk. Egyéb szervekben körjelző értékű elváltozást nem lehetett megfigyelni.



11. ábra: Brachyspirosisban megbetegedett kacska veséjében elfajult és levált vesetubulus hámsejtek és intertubularis fibroblast sarjadzás. (H.E.)

400x

5.1.3 Bakteriológiai vizsgálatok.

A májából és a szírvérből véres és Drigalski agaron kórokozót kitenyésztteni egyetlen esetben sem tudtunk. Az elváltozott lábtő- és ujjízületek folyadékából *Erysipelothrix rhusiopathie*-t (A állományból 4 eset, B állományból 1 eset), *Escherichia coli*-t (A állományban 1 eset, B állományban 1 eset), és *Staphylococcus aureus*-t (B állományban 1 eset) izoláltunk. A béltartalomtól aerob és anaerob körülmények között vegyes flórát izoláltunk. Clostridium-fajok nem nőttek egy mintából sem.

Az elváltozott bélszakaszok (vakbél, remesevégbél) nyálkahártyájáról szelektív táptalajon anaerob körülmények között 15 esetben izoláltunk brachyspirákat, melyek biokémiai tulajdonságai a 11. és 12. táblázatban láthatók. Tizenötből tíz esetben a törzsek meghatározhatóak voltak fenotípus és genotípus sajátosságai alapján egyaránt (11. és 12. táblázat, szürke háttér). Egy törzs (24916/2) esetében a biokémiai vizsgálat eredménye nem volt összhangba hozható a molekuláris biológiai vizsgálat eredményével: genotípus szerint *B. suanatina*, azonban az indol reakció negatív, az α -glükózidáz reakció pedig pozitív eredményt adott (11. táblázat, fekete háttér). Négy törzs sem fenotípus sem genotípus teszt alapján nem volt faji szinten meghatározható (11. és 12. táblázat, fehér háttér).

11. táblázat: Az A állományból származó törzsek biokémiai tulajdonságai

| Törzs | 21330/2 | 21330/3 | 24916/1 | 24916/2 | 29086/1 | 29086/2 | 29086/3 |
|------------------------|-------------------|-----------------------|-------------|------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Hemolízis | gyenge | erős | gyenge | erős | erős | erős | erős |
| Indol | + | - | - | - | + | - | + |
| Hippurát hidrolízis | - | - | - | - | - | - | - |
| α -galaktozidáz | - | - | - | - | - | - | - |
| α -glükózidáz | + | + | - | + | + | + | + |
| β -glükózidáz | + | + | + | + | + | + | + |
| fenotípus | <i>intermedia</i> | <i>hyodysenteriae</i> | <i>spp.</i> | <i>spp.</i> | <i>hyodysenteriae</i> | <i>hyodysenteriae</i> | <i>hyodysenteriae</i> |
| genotípus | <i>spp.</i> | <i>hyodysenteriae</i> | <i>spp.</i> | <i>suanatina</i> | <i>hyodysenteriae</i> | <i>hyodysenteriae</i> | <i>hyodysenteriae</i> |

12. táblázat: B állományból származó törzsek biokémiai tulajdonságai

| Törzs | 9757/1 | 9757/2 | 10363/1 | 10363/2 | 10363/3 | 10363/4 | 10363/5 | 10363/6 |
|------------------------|-------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------|-------------------|-------------|
| Hemolízis | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge |
| Indol | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Hippurát hidrolízis | - | + | - | - | + | - | + | - |
| α -galaktozidáz | - | + | - | - | + | + | + | + |
| α -glükózidáz | + | - | - | - | - | - | - | - |
| β -glükózidáz | + | - | - | - | - | + | - | + |
| fenotípus | <i>spp.</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>spp.</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>spp.</i> |
| genotípus | <i>spp.</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>spp.</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>spp.</i> |

5.1.4 Antibiotikum érzékenység

Valamennyi izolátum fajától függetlenül érzékeny volt tetraciklinre és rezisztens volt eritromicinre. Egy *B. hyodysenteriae* és egy *B. suanatina* törzs rezisztens volt tiamulinra és amoxicillinre. Egy *B. hyodysenteriae*, egy *B. intermedia* és egy *B. pilosicoli* törzsnek megemelkedett MIC értéke volt (32 µg/ml) linkomicinnel szemben (13. és 14. táblázat).

13. táblázat: Az A állományból izolált és vizsgált *Brachyspira*-törzsek gyógyszerérzékenysége

| Hatóanyag | Határértékek (µg/ml) | | <i>Brachyspira</i> | | | |
|-------------|----------------------|-----|------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| | É | R | <i>hyodysenteriae</i> (29086/1) | <i>intermedia</i> (21330/2) | <i>hyodysenteriae</i> (21330/3) | <i>suanatina</i> -24916 |
| tetraciklin | ≤4 | ≥16 | 0.32 | 0.02 | 0.75 | 0.25 |
| | | | É | É | É | É |
| eritromicin | <32 | >32 | 256 | 256 | 256 | 256 |
| | | | R | R | R | R |
| linkomicin | ≤4 | >32 | 1 | 4 | 16 | 32 |
| | | | É | É | M | R |
| tiamulin | ≤1 | >4 | 0.25> | 2 | 16 | 8 |
| | | | É | M | R | R |
| amoxicillin | ≤8 | ≥32 | 4 | 2 | 64 | 64 |
| | | | É | É | R | R |

Rövidítések: É: érzékeny M: mérsékelten érzékeny R: rezisztens

14. táblázat: B állományból izolált és vizsgált *Brachyspira*-törzsek gyógyszerérzékenysége

| Hatóanyag | Határértékek (µg/ml) | | <i>Brachyspira</i> | | |
|-------------|----------------------|-----|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| | É | R | <i>pilosicoli</i> (9757/2) | <i>pilosicoli</i> (10363/1) | <i>spp.</i> (10363/4) |
| tetraciklin | ≤4 | ≥16 | 0.064 | 0.016 | 1 |
| | | | É | É | É |
| eritromicin | <32 | >32 | 64 | 256 | 256 |
| | | | R | R | R |
| lincomicin | ≤4 | >32 | 2 | 8 | 8 |
| | | | É | M | M |
| tiamulin | ≤1 | >4 | 0.5 | 0.25 | 0.5 |
| | | | É | É | É |
| amoxicillin | ≤8 | ≥32 | 2 | 2 | 4 |
| | | | É | É | É |

Rövidítések: É: érzékeny M: mérsékelten érzékeny R: rezisztens

5.1.5 Szekvencia és filogenetikai analízis

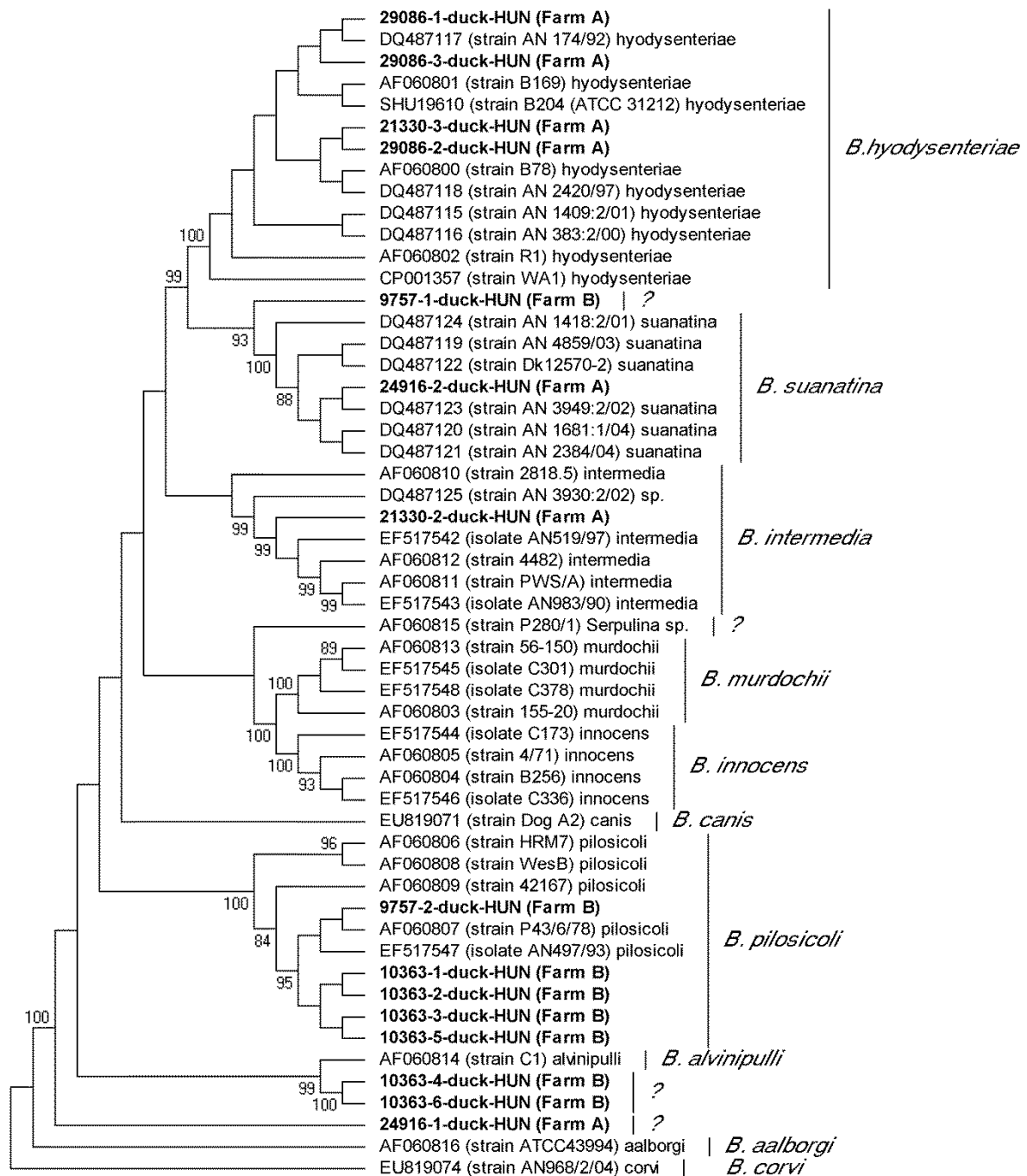
A Nox gén szekvencia hasonlóság és a restriktió endonukleáz hasítási analízisével (Rhode és mtsai 2002; Townsend és mtsai 2005), valamint filogenetikai összehasonlítással 15-ből 10 esetben sikerült megbízhatóan azonosítani a kacsákból kitenyésztett törzseket faji szinten (15. táblázat és 12. ábra). Az A állományból egy törzset (24926/2) *B. suanatina*-nak, négyet (21330/3, 29086/1,2,3) pedig *B. hyodysenteriae*-nek határoztunk meg, ez utóbbi törzsek nukleotid szinten teljesen azonosak voltak. A B állományból 5 törzs (10363/1,2,3,5 és 9757/2) *B. pilosicoli*-nak bizonyult. Filogenetikai analízissel tizenötből négy törzset nem lehetett egyértelműen besorolni egyetlen ma ismert *Brachyspira*-faj közé sem.

15. táblázat: A *BfmI* és *DpnII* restriktió endonukleáz hasítási helyei a nox gén szekvenciákban és hasonlósága az általunk izolált törzsek esetében. Az eredményeket a Townsend és mtsai (2005) által közölt táblázatba (szürke háttér) illesztettük.

| Faj | <i>BfmI</i> (bp) | <i>DpnII</i> (bp) | Nukleotid- és aminosavsorrend hasonlóság* |
|--|-------------------|-------------------|--|
| <i>B. aalborgi</i> | 453, 248, 238 | 939 | |
| <i>B. alvinipulli</i> | 742, 197 | 898, 41 | |
| <i>B. pilosicoli</i> | 742, 197 | 898, 41 | |
| 10363/1, 2, 3, 5 (B állomány) | | | 99% és 100% : <i>B. pilosicoli</i> P43/6/78 AF060807 és AAC78816 törzssel |
| 9757/2 (B állomány) | | | |
| <i>B. hyodysenteriae</i> | 742, 197 | 684, 214, 41 | |
| 21330/3, 29086/1, 2, 3 (A állomány) | | | 100% és 100%: <i>B. hyodysenteriae</i> B78 AF060807 és AAC78809 törzssel |
| 10363-4, 6 (B állomány) | | | 91% és 96%: <i>B. alvinipulli</i> C AF060814 és AAC78823 törzssel |
| <i>B. intermedia</i> | 504, 238, 197 | 684, 214, 41 | |
| 21330/2 (A állomány) | 504, 238, 197 | 898, 41 | 97% és 99%: <i>B. intermedia</i> PWS/A AF060811 és AAC78820 törzssel |
| <i>B. innocens</i> | 504, 211, 197, 27 | 684, 214, 41 | |
| <i>B. murdochii</i> | 504, 211, 197, 27 | 684, 157, 57, 41 | |
| 24916/1 (A állomány) | 453, 238, 197, 51 | 939 | 91% és 95%: <i>Brachyspira</i> spp. A_S4 klón FJ599592 és ACM41754 törzssel |
| <i>B. suanatina</i> ** | 691, 248 | 684, 214, 41 | |
| 24916/2 (A állomány) | | | 100% és 100%: <i>B. suanatina</i> AN 3949:2/02 DQ487123 és ABF38943 törzssel |
| 9757/1 (B állomány) | 691, 197, 51 | 684, 214, 41 | 97% és 98%: <i>B. suanatina</i> AN 1418:2/01 DQ487124 és ABF38944 törzssel |

* A legnagyobb BLASTN és BLASTX hasonlósággal bíró törzsek GenBank számát tüntettük csak fel.

** Általunk meghatározott restriktió endonukleáz vágási pozíciók



12. ábra: A parciális nox gén szekvencia alapján létrehozott filogenetikai fa. Az ábra 59 *Brachyspira spp.* adatait tartalmazza, beleértve az általunk izolált törzseket is. Az ábrán a 83%-nál magasabb bootstrap értékek vannak csak feltüntetve. A saját eredményeket félkövér betűkkel tüntettük fel.

5.2 Növendékkacsa-állományokban történt vizsgálatok

5.2.1 Kórbonctani, kórszövettani és mikrobiológiai vizsgálatok

Az C, D, és F jelzésű Bács-Kiskun megyéből származó állományokban a napi elhullások száma 3-4 hetes életkorban megemelkedett és mintegy 2 héten át tartott. A veszteség 7-9% körül alakult.

Az intézeti vizsgálatok (16. táblázat) a „C” állomány esetében heveny vékony- és vastagbélgyulladást, valamint diffúz pathológiás zsíros májelfajulást és a vesékben tubulonephrosist derítettek fel. Egy állatban a vakbélben fibrindugót is lehetett látni. Három állatban *Riemerella anatipestifer* okozta fibrines szívburok és légzsákgyulladás, egy állatban pedig *Aspergillus fumigatus* okozta tüdőmycosis volt megfigyelhető.

16. táblázat: A különböző kacsállóományokból származó hullák intézeti vizsgálatának eredményei

| Állomány | Életkor (hét) | Vizsgált állatok száma | Kórbonctani és kórszövettani elváltozások | | | | | | | Immunhisztokémiai és bakteriológiai vizsgálat | | | | |
|-----------|---------------|------------------------|---|---------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|-------------------|-----------------------------|---|-------------------------|----------------|-------------------------|---|
| | | | A máj és vese elfajulása | Heveny vékony- és vastagbél-gyulladás | Fibrosissal járó nephropathia | Elhalásos vastagbél-gyulladás | Savós-fibrines agyhártya-gyulladás | Rhinitis-fulladás | A Fabricius-bursa sorvadása | Brachyspirák | <i>R. anatipestifer</i> | <i>E. coli</i> | Circovírus fertőzöttség | |
| C | 4 | 12 | + | + | | | | + | | | + | + | | |
| D | 4 | 10 | | | | | | | + | | + | | + | + |
| E* | 7 | 3 | + | + | | | | | | | + | | | |
| | 20 | 3 | + | + | + | | | | | | + | | | |
| | 32 | 3 | | | + | + | | | | | + | | | |
| | 36 | 3 | | | + | + | | | | | + | | | |
| F | 5 | 7 | | | | | | | + | | + | | | |

*=nem megfelelő tartási körülmények

A „D” állományban a Fabricius-féle bursa circovírus fertőzöttséggel kapcsolatos sorvadását (erős lymphocita kiürülést) és PCR módszerrel circovírus jelenlétét lehetett igazolni. Három állatban *Escherichia coli* okozta szepszist, egy állatban pedig streptococcusist lehetett az elhullások okaként megállapítani. 3 állatban a vakbélben hámleválással és felületes elhalással járó fibrines gyulladást is láttunk.

Az „F” állományban heveny savós-hurutos ornyálkahártya gyulladás és következményes fulladás került megállapításra. A vak és remesevégebelekben hámsejtek leválását lehetett látni.

Az „E” állományt a korábban ismertetett felnőtt kacsza „B” állomány (Szabolcs-Szatmár-Bereg megye) mellé telepítették le, a betegség megállapítását követő 5. hónapban. A járványvédelmi intézkedések (pl. korcsoportok megfelelő elkülönítése) nem voltak megfelelőek, a tartási higiénia sem a felnőtt, sem a fiatal állatok esetében nem volt a kívánatos szinten. A beküldött fiatal, 7 valamint 20 hetes állatokban egyaránt, heveny vékony-, és vastagbélgyulladást valamint diffúz pathológiás zsíros májelfajulást, a vesékben pedig heveny tubulonephrosist lehetett észlelni. Ezen kívül nem megfelelő tartási körülményekre utaló sáros, „csapzott” tollazatot figyeltünk meg. A 32 hetes, valamint 36 hetes életkorban ismét vizsgálatra került elhullott állatokban heveny fibrines-elhalásos vastagbél (vakbél és remese) gyulladást, a vesékben fibrosissal, és mészkonkrementumok képződésével kísért félheveny-idült tubulonephrosist észleltünk.

A bélcsatorna kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálata során a különböző állományokból származó kacsák esetében a vakbél és a remese makroszkóposan elváltozott nyálkahártyájában lymphocytákból, histiocytákból és heterophil granulocytákból álló beszűrődést lehetett észlelni. Helyenként a hámsejtek elfajulása, leválása is felismerhető volt. A kehelysejtek megduzzadtak és fokozott mértékű szekréció jeleit mutatták.

A hámréteg felületén és a kitágult nyálkahártya-mirigyek üregében, valamennyi vizsgált állatban, kortól és állománytól függetlenül, egyenként vagy csoportokban spirális alakú pozitív immunhisztokémiai reakciót adó spirochaetákat nagy számban lehetett felismerni.

5.2.2 Brachyspira tenyésztés és antibiotikum rezisztencia vizsgálat

Az elváltozott bélszakaszok (vak-, remesebél) nyálkahártyájáról anaerob viszonyok között 10 esetben (C-E-F állományban sorrendben 1-6-3 alkalommal) izoláltunk Brachyspira-törzseket. A „D” állományból beküldött állatokból tenyésztéses vizsgálat nem történt. Clostridium-fajok egyik mintából sem fejlődtek. Az izolált Brachyspira-törzsek biokémiai tulajdonságait a 20. táblázat tartalmazza.

A kitenyésztett kórokozókból valamennyi esetben készült *in vitro* antibiotikum rezisztencia vizsgálat is (17. táblázat). Az E állományból valamennyi időpontban beküldött anyag felhasználásával nyomon követtük a kitenyésztett kórokozók gyógyszerérzékenységét. 7 hetes korban történt beküldés előtt amoxicillin, a 20 hetes korban történt beküldés előtt tiamulin itatás történt. 32 és 36 hetes korban közvetlenül a vizsgálat előtt nem történt antibiotikumos gyógykezelés. Ezt követően az állományt felszámolták.

A kórokozók tetraciklinre valamennyi esetben érzékenyek voltak. Eritromicinre és amoxicillinre az E állományból 2, valamint az F állományból izolált törzs rezisztensnek bizonyult. Tiamulinra 1, linkomicinre 4 *Brachyspira*-izolátum mérsékelt érzékenységet, a többi érzékenységet mutatott (18. táblázat).

17. táblázat: Az izolált *Brachyspira*-törzsek biokémiai tulajdonságai

| Állomány | "C" | "E" | | | | | | "F" | | |
|------------------------|--------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | II/12 | II/28 | II/29 | II/30 | II/35 | II/36 | II/40 | II/41 | II/42 |
| Törzs | 9044 | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge |
| Hemolízis | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge | gyenge |
| Indol | - | + | - | - | - | - | + | - | - | - |
| Hippurát hidrolízis | + | - | + | + | - | - | - | + | - | + |
| α -galaktozidáz | + | - | + | + | - | - | - | + | + | + |
| α -glükózidáz | + | + | - | - | - | + | + | + | + | + |
| β -glükózidáz | - | + | - | - | - | + | + | - | - | - |
| fenotípus | <i>pilosicoli?</i> | <i>intemedia</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>pilosicoli</i> | <i>murdochii?</i> | <i>intemedia</i> | <i>pilosicoli?</i> | <i>pilosicoli?</i> | <i>pilosicoli?</i> |
| genotípus | <i>pilosicoli</i> | | | | | | | | | |

18. táblázat: A növendék-kacsaállományból izolált és vizsgált *Brachyspira*-törzsek gyógyszerérzékenysége

| Hatóanyag | Határértékek ($\mu\text{g/ml}$) | | Állomány | | | | | |
|-------------|-----------------------------------|-----------|------------|-------|--------|--------|--------|-------|
| | É | R | "C" | "E" | | | | "F" |
| | | | kor: 4 hét | 7 hét | 20 hét | 32 hét | 36 hét | 5 hét |
| tetraciklin | ≤ 4 | ≥ 16 | 0,016 | 0,5 | 0,032 | 0,16 | 0,125 | 0,064 |
| | | | É | É | É | É | É | É |
| eritromicin | < 32 | > 32 | 0,023 | 0,125 | 256 | 0,32 | 256 | 256 |
| | | | É | É | R | É | R | R |
| linkomicin | ≤ 4 | > 32 | 1 | 16 | 8 | 0,25 | 8 | 16 |
| | | | É | M | M | É | M | M |
| tiamulin | ≤ 1 | > 4 | 0,5 | 0,5 | 1 | 0,25 | 2 | 0,125 |
| | | | É | É | É | É | M | É |
| amoxicillin | ≤ 8 | ≥ 32 | 4 | 16 | 32 | 2 | 32 | 128 |
| | | | É | M | R | É | R | R |

Rövidítések: É: érzékeny M: mérsékelt érzékeny R: rezisztens

5.2.3 Molekuláris biológiai vizsgálat

Az általunk izolált *Brachyspira*-törzsből kivont DNS nox génjét megszekvenáltuk. Az eredményezett szekvencián (939 bázispár [bp] hosszú szakasz) számítógépes programokkal megállapítottuk a két restriktációs enzim (*Bfml*, *DpnII*) RFLP mintázatát, amely megegyezett a *B. pilosicoli* referens törzsnél leírttal (*Bfml*: 742 és 197 bp; *DpnII*: 898 és 41bp hosszú fragmensek). A homológia vizsgálatok alapján az általunk izolált törzs egy nukleotiddal tért el a CP002025 génbanki azonosítóval ellátott *B. pilosicoli* 95/100 törzs szekvenciától a vizsgált szakaszon. Aminosav szinten a két szekvencia azonos volt.

5.3 Felnőtt házityúk-állományokban történt vizsgálatok

5.3.1 Kórbonctani vizsgálatok

A tollzat a tyúkhullák végbél tájékán csapzott, híg bélsárral szennyezett volt. Huzamosabb ideje fennálló hasmenés esetén a talppárna és az ujjak bőre megvastagodott, durva, egyenetlen felületű volt, és gyakran berepedezett. Több esetben a berepedezés helyén gyulladás és elhalás jelei látszottak (13. ábra). A mellcsonti taraj és a végtagok csontjai könnyebben metszhetők voltak.



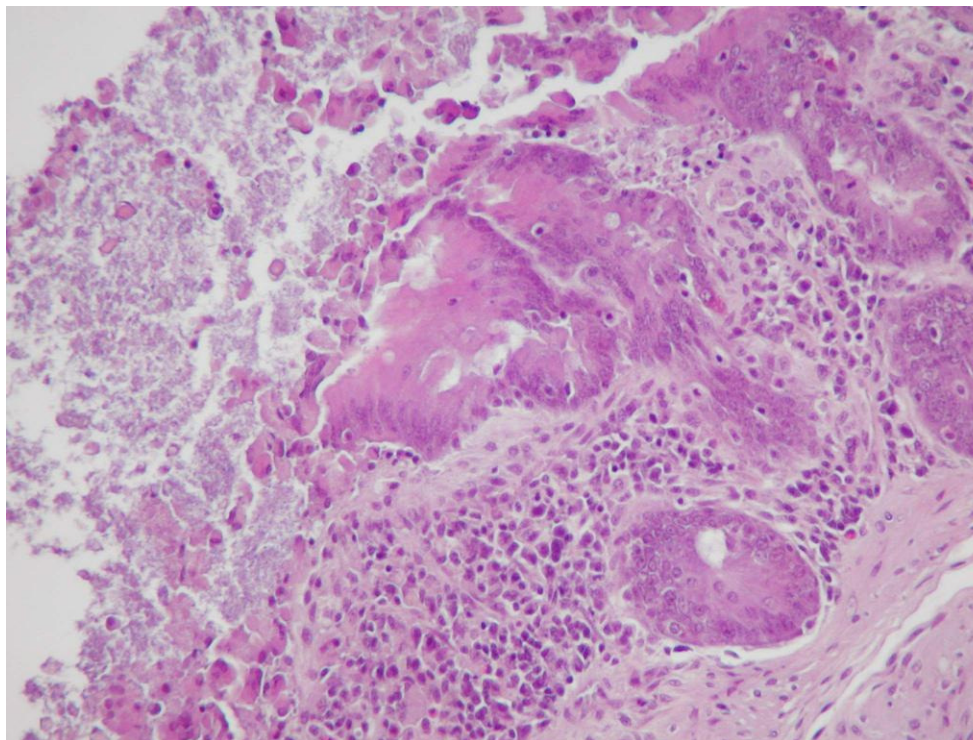
13. ábra: *Brachyspirosis*ban megbetegedett tyúk talpbőre megvastagodott és kirepedezett

A máj és a vesék gyakran duzzadtak és halvány barnára elszíneződtek voltak. A vakbél és a remese-végbél kissé kitágult, és üregében híg, sárgás barna, többször emésztetlen takarmányrészeket is magába foglaló tartalom mutatkozott. A bélnyálkahártya megduzzadt, szakaszonként kipirult és hurutos nyálka borította.

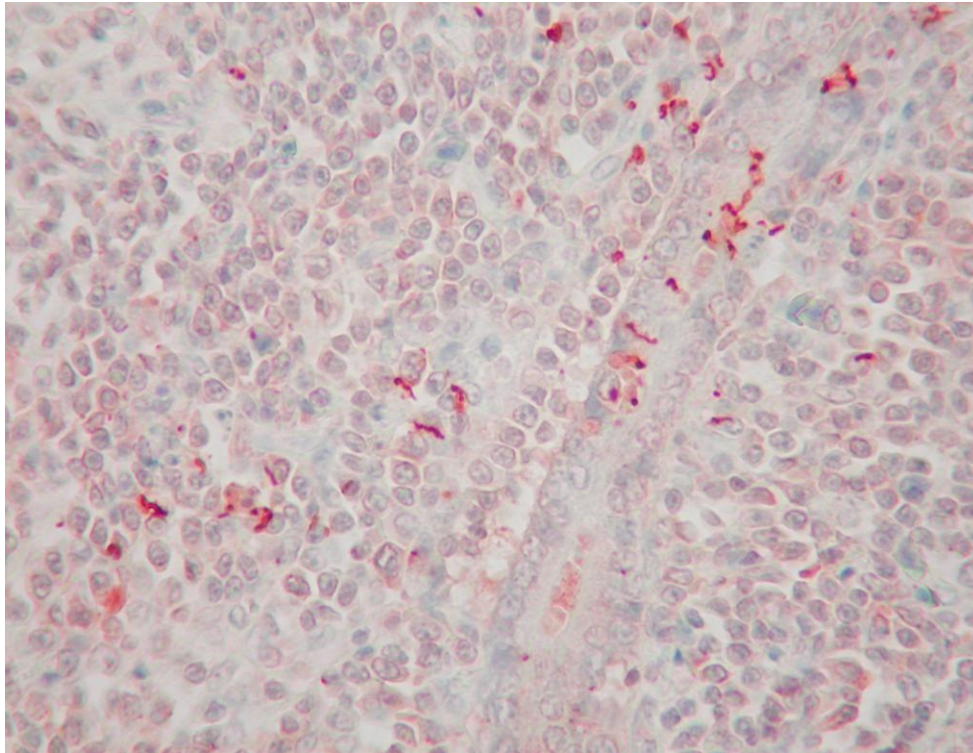
5.3.2 Kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálatok

A vizsgálatok során a vakbél és a remese nyálkahártyájában lymphocytákból, histiocytákból és heterophil granulocytákból álló beszűrődést lehetett észlelni. Helyenként a hámsejtek elfajulása, leválása is felismerhető volt (14. ábra). A kehelysejtek megduzzadtak és fokozott mértékű szekréció jeleit mutatták.

A hámréteg felületén és a kitágult nyálkahártya-mirigyek üregében, valamennyi vizsgált állatban, egyenként vagy csoportokban pozitív immunhisztokémiai reakciót adó a brachyspiráknak megfelelő méretű és morfológiájú baktériumokat lehetett nagy számban felismerni (15. ábra). Ezen kívül coccoid és különböző méretű, pálcika alakú baktériumok is láthatók voltak. A makroszkópos vizsgálattal duzzadtnak és elszíneződöttnek látszott májakban szövettani vizsgálattal patológiás zsíros elfajulás, a vesékben pedig zonálisan vagy diffúzan tubulonephrosis volt megállapítható. A könnyebben metszhető csontok dekalcinálását követően a kéregállomány és a csontgerendák osteoporosisra utaló elvékonyodása látszott.



14. ábra: Brachyspirosisban megbetegedett tyúk vastagbél nyálkahártyája megszálesbedett, lymphocytákkal és histiocytákkal beszűrődött, a hámréteget hurutos nyálka borítja. (H.E.) 400x



15. ábra: Brachyspirosisban megbetegedett tojóttyúk vastagbél nyálkahártya mirigyének ürgében és a propriában hullámos alakú, pozitív immunhisztokémiai reakciót adó *Brachyspira* alakok. Immunhisztokémiai reakció 400x

5.3.3 Bakteriológiai és antibiotikum érzékenységi vizsgálat.

A szívvérből és a májból baktériumokat egy esetben sem lehetett kitenyészteni. A remese és a vakbél nyálkahártyájáról aerob körülmények között a bélflóra különböző alkotóelemei (*E. coli*, *Enterococcus spp.* stb.) fejlődtek. Parazitológiai vizsgálattal kórokozókat kimutatni nem tudtunk. Az elváltozott bélszakaszok (vakbél, remese) nyálkahártyájáról anaerob viszonyok között 9 esetben (a „G”, a „H” és az „I” állományból 3-3-3) *brachyspira* törzset izoláltunk. *Clostridium*-fajok egyik mintából sem fejlődtek. Az izolált *Brachyspira*-törzsek biokémiai tulajdonságait az 19. táblázat tartalmazza.

Antibiotikum érzékenységi vizsgálat: A G állományból származó törzs valamennyi vizsgált antibiotikumra érzékeny volt. A H állományból nyert izolátum tetraciklinre és amoxicillinre, az I állományból kitenyészített 3 *brachyspira* tiamulinra volt érzékeny (20. táblázat).

19. táblázat: A felnőtt tyúkállományból izolált *Brachyspira*-törzsek biokémiai tulajdonságai

| | G állomány | | | H állomány | | | I állomány | | |
|------------------------|---------------|---------------|----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | gyenge | gyenge | gyenge | erős | erős | gyenge | erős | erős | erős |
| indol | - | - | - | - (+) | - (+) | - | + | + | + |
| Hippurát-hidrolízis | - | + | - | - (+) | - (+) | + (-) | - | - | - |
| α -galaktozidáz | + | + | + (-) | - | - | - | - | - | - |
| α -glukozidáz | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| β -glukozidáz | - | + | - (+) | + | + | + | + | + | + |
| Fenotípus | <i>B. spp</i> | <i>B. spp</i> | <i>B. intermedia</i> | <i>B. hyodysenteriae</i> | <i>B. hyodysenteriae</i> | <i>B. innocens</i> | <i>B. hyodysenteriae</i> | <i>B. hyodysenteriae</i> | <i>B. hyodysenteriae</i> |

Megjegyzés: zárójelben az irodalmi adatok alapján az adott fajra jellemző biokémiai tulajdonság, melyektől az általunk kitenyésztett törzsek eltértek.

20. táblázat: A felnőtt tyúkállományból izolált és vizsgált *Brachyspira*-törzsek gyógyszerérzékenysége

| Hatóanyag | Határértékek ($\mu\text{g/ml}$) | | Állomány | | | | |
|--------------|--------------------------------------|-----------|----------------------|--------------------------|--------------------------|------|------|
| | É | R | "G" | "H" | "I" | | |
| | | | <i>B. intermedia</i> | <i>B. hyodysenteriae</i> | <i>B. hyodysenteriae</i> | | |
| tetracyclin | ≤ 4 | ≥ 16 | 0,064 | 0,064 | 8 | 6 | 6 |
| | | | É | É | M | M | M |
| erythromicin | < 32 | > 32 | 3 | 256< | 256< | 256< | 256< |
| | | | É | R | R | R | R |
| lincomycin | ≤ 4 | > 32 | 2 | 16 | 16 | 16 | 16 |
| | | | É | M | M | M | M |
| tiamulin | ≤ 1 | > 4 | 1 | 2 | 0,5 | 1 | 0,5 |
| | | | É | R | É | É | É |
| amoxicillin | ≤ 8 | ≥ 32 | 2 | 2 | 64 | 64 | 64 |
| | | | É | É | R | R | R |

Rövidítések: É: érzékeny M: mérsékelten érzékeny R: rezisztens

5.3.4 Molekuláris biológiai vizsgálat

21. táblázat. Az általunk tyúkállományokból vizsgált *Brachyspira*-törzsek nox specifikus RFLP és a részleges nox gén szekvenciával végzett DNS homológia vizsgálat eredményei. A táblázatban a GenBankban nyilvántartott szekvenciák közül az általunk izolált törzshöz leghasonlóbbakat tüntettük fel.

| Állomány és jelzés | RFLP | <i>Nox</i> szekvencia homológia | |
|--------------------|--------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| „G” 1 törzs | <i>Brachyspira</i> spp. | 91,38 | <i>B. pilosicoli</i> AF060808* |
| „G” 3 törzs | <i>Brachyspira</i> spp. | 91,38 | <i>B. pilosicoli</i> AF060808* |
| „G” 4 törzs | <i>B. intermedia</i> | 97,5 | <i>B.intermedia</i> AF060811* |
| „H” 1 törzs | <i>B. innocens</i> | 99,14°% | <i>B. innocens</i> AF060804* |
| „H” 2 törzs | <i>B. hyodysenteriae</i> | 100% | <i>B. hyodysenteriae</i> AF060801* |
| „H” 3 törzs | <i>B. hyodysenteriae</i> | 100% | <i>B. hyodysenteriae</i> AF060801* |
| „I” 1 törzs | <i>B. hyodysenteriae</i> | 100% | <i>B. hyodysenteriae</i> AF060801* |
| „I” 2 törzs | <i>B. hyodysenteriae</i> | 100% | <i>B. hyodysenteriae</i> AF060801* |
| „I” 3 törzs | <i>B. hyodysenteriae</i> | 100% | <i>B. hyodysenteriae</i> AF060801* |

* GenBank azonosító szám.

Towsend és mtsai (2005) az általuk leírt cikk protokolljában a különböző *Brachyspira*-fajokat a nox génen alapuló PCR-el felerősített termék két restrikciós enzimmel (*Bfml*, *DpnII*) történő emésztésével kapott mintázat eredmények alapján különítették el egymástól.

Az általunk izolált *Brachyspira*-törzsekből kivont DNS nox génjét megszekvenáltuk. Az eredményezett szekvenciákon (939 bázispár hosszú szakasz) számítógépes programokkal megállapítottuk a két enzim RFLP mintázatát, valamint DNS homológia vizsgálatokat végeztünk. A kapott RFLP mintázatok alapján (21. táblázat) sikerült azonosítani a „H” állományban 2 *B. hyodysenteriae* törzset (a két törzs valamint az „I” állomány 3 *B. hyodysenteriae* törzse szekvencia szinten azonos) és 1 *B. innocens* törzset, az „I” állományban 3 *B. hyodysenteriae* törzset valamint a „G” állományban 1 *B. intermedia* törzset. Az „G” állományból izolált két másik *Brachyspira* spp. (a kettő, szekvencia szinten egymással egyforma) egyikét sem sikerült faj szinten meghatározni, mivel egy eddig ismeretlen RFLP mintázatot mutatnak.

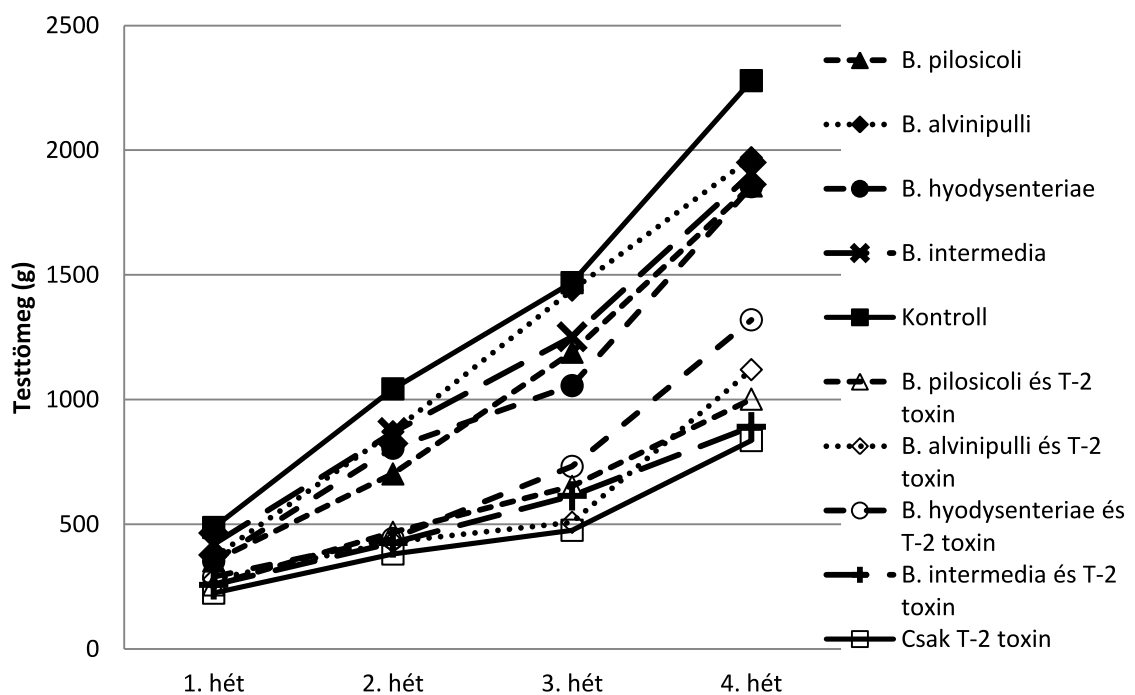
Míg a *B. hyodysenteriae*, *B. innocens*, *B. intermedia* törzsek faji meghatározását a DNS homológiai vizsgálatokkal kapott magas értékek is alátámasztották (21. táblázat) a két *Brachyspira* spp. törzs esetében ez sem adott további támpontot.

Kísérletes állatfertőzés

5.4 Első kacsakísérlet

5.4.1 Klinikai vizsgálatok

A kísérlet során egy esetben történt elhullás (az első héten) a II. csoportban. Ebben az esetben paratyphust állapítottuk meg az elhullási okaként. Hasmenés egyik csoportban sem alakult ki. Az állatok testsúlyvizsgálatával (16. ábra) és a statisztikai próbákkal (22. táblázat) azt az eredményt kaptuk, hogy a különböző kórokozókkal fertőzött csoportok testtömeg gyarapodása között egyik héten sem mutatható ki statisztikailag szignifikáns különbség. Ezzel szemben a toxint tartalmazó és toxinmentes tápot fogyasztó csoportok testtömege között mind a négy héten szignifikáns különbség volt. A 2., 3. és utolsó héten az adatok azt mutatták, hogy a testsúly szempontjából a toxinetetés és fertőzés kapcsolatban (interakcióban) van egymással.



16. ábra: Az első kacsakísérlet során mért átlagos testtömeggyarapodás a különböző csoportok között

22. táblázat: Az első kacsakísérletben kapott testtömegértékek statisztikai vizsgálatának eredményei (p értékek; $\alpha=0,05$)

| | 1. hét | 2. hét | 3. hét | 4. hét |
|---------------------------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| fertőzött csoportok között* | 0,16 | 0,08 | 0,93 | 0,11 |
| más tápot fogyasztó csoportok között* | $9,1 \cdot 10^{-6}$ | $1,75 \cdot 10^{-13}$ | $3,62 \cdot 10^{-12}$ | $2,28 \cdot 10^{-12}$ |
| kórokozó:toxin interakció | 0,13 | 0,003 | $5 \cdot 10^{-4}$ | 0,0017 |

* A csoportok között kapott legalacsonyabb p érték van feltüntetve.
Szürke háttérrel a szignifikáns eredmények láthatóak.

5.4.2 Kórbonctani és kórszövettani eredmények

Az állatok külső vizsgálatával, a toxint tartalmazó táppal etetett csoportban, valamennyi állatban a csőrön, a talp bőrén és a szájnyálkahártyán barna száraz felrakódást, a szájüregben ezen kívül elhalást és fekélyképződést, valamint odaragadt takarmányrészeket is meg lehetett figyelni. Kórszövettani vizsgálattal ezeknek az állatoknak a primer immunszerveiben (csecsemőmirigy, Fabricius-féle bursa) sorvadást és lymphocyta kiürülést láttunk. Szövettani vizsgálattal a talp bőrén és a száj nyálkahártyájában a többrétegű laphám elhalását, az irharétegben és a submucosában gyulladással járó beszűrődést, és baktérium alakokat lehetett felismerni. Ezek az elváltozások a kísérlet 14. és 21. napján voltak a legkifejezettebbek, a 28. napon a tünetek mérséklődtek, de jelen voltak. A vesék és májak nem mutattak kóros elváltozást. A T-2 toxinos táppal etetett *Brachyspira pilosicoli*-val és *B. alvinipulli*-val fertőzött csoportokba tartozó állatokban (II és IV. csoport) a 21. és 28. napon a vakbelekben híg, sárgás, emésztetlen tartalmat lehetett látni. Egyéb kórjelző értékű elváltozást nem lehetett regisztrálni.

5.4.3 Immunhisztokémiai vizsgálatok

A vizsgálatok során a fertőzést követő 7. napon a *B. pilosicoli*-val és *B. alvinipulli*-val fertőzött mindkét csoportban (I. és III. csop.), 1-1 állat vakbelében a bél mirigyeinek üregében a baktériumok megtelepedését lehetett látni. A 14. napon a *B. alvinipulli*-val fertőzött madarak közül egy állatban (III. csop.) a vastagbélben és csípőbélben, a T-2 toxinnal etetett és *B. alvinipulli*-val fertőzött madarak közül (IV. csop.) egy állatban a vastagbelekben történt kolonizáció. A 21. napon a vastagbelekben (III. csop., 1 állat), a vakbelekben (IV. csoport, 1 állat), a 28. napon pedig a vakbelekben (I. csoport: 1 állat; III.

csoport: 1 állat; IV. csoport: 1 állat) baktériumok megtelepedését lehetett látni (23. táblázat). A többi csoportban (V.-X.) nem láttunk kolonizációt.

23. táblázat: Az első kacsakísérlet immunhisztokémiai eredményei

| Csoportok | Fertőzéstől számított | | | |
|--------------------------------------|-----------------------|--------------|------------|---------|
| | 7. nap | 14. nap | 21. nap | 28. nap |
| <i>B. pilosicoli</i> | 1/3 (c) | 0/3 | 0/3 | 1/3 (c) |
| <i>B. pilosicoli</i> + T-2 toxin | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| <i>B. alvinipulli</i> | 1/3 (c) | 1/3 (i,c,cr) | 1/3 (c,cr) | 1/3 (c) |
| <i>B. alvinipulli</i> + T-2 toxin | 0/3 | 1/3 (c,cr) | 1/3 (c) | 1/3 (c) |
| <i>B. hyodysenteriae</i> | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| <i>B. hyodysenteriae</i> + T-2 toxin | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| <i>B. intermedia</i> | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| <i>B. intermedia</i> + T-2 toxin | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Csak T-2 toxin | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Kontroll | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |

rövidítések:

x/y: pozitív állatok/vizsgált állatok

i: csípőbél

c: vakbél

cr: remesevégbél

Az IH pozitív mintákban a baktériumok a bél üregében és a bélnyálkahártyán egyesével vagy csoportokban, a Liberkün mirigyek üregében csoportokban voltak kimutathatók. Néhány esetben a brachyspirák a propriarétegben, ritkán a submucosában is felismerhetőek voltak. Az adatok szerint a T-2 toxinnal etetett és a toxinmentes tápon tartott csoportok között nem volt látható különbség sem a baktériumok számát sem elhelyezkedését illetően.

5.4.4 Bakteriológiai vizsgálatok

Az I. csoportból a *Brachyspira pilosicoli* visszaizolálása (egy ill. két állatból) valamennyi mintavételi alkalommal sikeres volt, míg a T-2 toxinnal is etetett csoportból (II. csop.) egy alkalommal sem tudtunk kórokozót kitenyészteni (24. táblázat). A *B. alvinipulli*-val fertőzött csoportban (III.) a 7., 14., 21. és 28. napon is visszaizoláltuk a baktériumot, a T-2 toxinnal szennyezett takarmányt is fogyasztó állatoknál ez csak a 7. és 14. napon sikerült. A többi csoportban (V.-X.) brachyspirákat kitenyészteni nem tudtunk.

24. táblázat: Első kacsakísérlet bakteriológiai tenyésztési eredményei

| Csoportok | Fertőzéstől számított | | | |
|--------------------------------------|-----------------------|-------------|------------|---------|
| | 7. nap | 14. nap | 21. nap | 28. nap |
| <i>B. pilosicoli</i> | 1/3 (cr) | 1/3 (c) | 2/3 (c) | 1/3 (c) |
| <i>B. pilosicoli</i> + T-2 toxin | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| <i>B. alvinipulli</i> | 3/3 (c) | 3/3 (c, cr) | 2/3 (c,cr) | 1/3 (c) |
| <i>B. alvinipulli</i> + T-2 toxin | 1/3 (c,cr) | 2/3 (c,cr) | 0/3 | 0/3 |
| <i>B. hyodysenteriae</i> | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| <i>B. hyodysenteriae</i> + T-2 toxin | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| <i>B. intermedia</i> | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| <i>B. intermedia</i> + T-2 toxin | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Csak T-2 toxin | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Kontroll | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |

rövidítések:

x/y: pozitív állatok/vizsgált állatok

c: vakbél

cr: remesevégbél

5.5 Második kacsakísérlet

5.5.1 Klinikum, kórbonctan, kórszövettan, immunhisztokémia

A kísérlet folyamán két elhullás történt. Az egyik a kacsaaeredetű *B. hyodysenteriae*-vel fertőzött csoportban (1. csop.) a fertőzést követő 3. napon (az elhullási ok sziktómlőrepedés), a másik pedig a libaaeredetű *B. hyodysenteriae*-vel fertőzött csoportban a 2. héten (colibacillosis). Klinikai tüneteket a kísérlet folyamán egyik csoportban sem lehetett látni. Testtömeg méréssel a csoportok között sem egyedi szinten, sem csoportok átlagolásával nem látszott különbség. Kórbonctani és kórszövettani vizsgálattal körjelző értékű elváltozás nem volt észlelhető. Az immunhisztokémiai vizsgálatok is negatív eredménnyel zárultak.

5.5.2 Bakteriológiai vizsgálatok

A kacsaaeredetű *Brachyspira hyodysenteriae*-vel fertőzött csoportban (1. csop.) a kórokozót alkalmanként egy vagy mindhárom állatból valamennyi mintavételi alkalommal visszaizoláltuk. A tyúkeredetű törzsekkel fertőzött csoportban (3. csop.) a 2. és 4. héten valamennyi állatból, a sertésaaeredetű törzsekkel fertőzöttben pedig a 4. héten egy állatból volt kitenyészhető a kórokozó. A kacsaaeredetű *B. intermedia*-val fertőzött állatok esetében (5.

csop.) az előző kísérlethez hasonlóan most is negatív eredményt kaptunk, valamint a libaeredetű *B. hyodysenteriae*-vel fertőzött és a fertőzetlen csoportban (2. ill. 6. csoport) sem volt a baktérium kimutatható (25. táblázat).

25. táblázat: A második kacsakísérlet során visszaizolált kórokozók száma

| | 1. hét | 2. hét | 4. hét |
|-------------------------------------|---------|-------------|-------------|
| 1. csoport (kacsaeredet) | 1/3 (c) | 3/3 (c, cr) | 1/3 (c) |
| 2. csoport (libaeredet) | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| 3. csoport (tyúkeredet) | 0/3 | 3/3 (c, cr) | 3/3 (c, cr) |
| 4. csoport (sertéseredet) | 0/3 | 0/3 | 1/3 (c, cr) |
| 5. csoport (<i>B. intermedia</i>) | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| 6. csoport (kontroll) | 0/3 | 0/3 | 0/3 |

rövidítések:

x/y: pozitív állatok/vizsgált állatok

c: vakbél

cr: remesevégbél

5.6 Csibekísérlet

5.6.1 Klinikum, kórbonctan, kórszövettan, immunhisztokémia

A kísérlet során két spontán elhullás történt. Az egyik esetben a 4. napon az A csoportban (tyúkeredetű *B. hyodysenteriae*) kelésgyengeséget állapítottunk meg, míg a 4. héten a D csoportban (sertéseredetű *B. hyodysenteriae*) colibacillosis volt az elhullási ok. Klinikai tüneteket, valamint kórbonctani és kórszövetteni elváltozásokat egy állatban sem lehetett megfigyelni. A testtömeg gyarapodást tekintve a csoportok között kimutatható különbség nem volt. Immunhisztokémiai vizsgálattal valamennyi állat negatívnak bizonyult.

5.6.2 Bakteriológiai vizsgálat

A szájon át tyúkeredetű *B. hyodysenteriae*-vel fertőzött csoportban (A csop.) az 1. héten egy állat vastagbeleiből, a kloákán át fertőzött csoportban (B csop.) pedig szintén az 1. héten két állat vastagbeleiből sikerült a kórokozót visszaizolálni. Ezekben a csoportokban más mintavételi időpontokban, illetve a többi csoportban baktériumot kitenyészteni nem tudtunk (26. táblázat).

26. táblázat: A csibekísérlet során visszaizolált kórokozók száma

| | 1. hét | 2. hét | 4. hét |
|------------------------------------|---------|--------|--------|
| A. csoport (tyúkeredet po.) | 1/3 (c) | 0/3 | 0/3 |
| B. csoport (tyúkeredet kloákán át) | 2/3 (c) | 0/3 | 0/3 |
| C. csoport (kacsaeredet) | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| D. csoport (sertéseredet) | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| E. csoport (kontroll) | 0/3 | 0/3 | 0/3 |

rövidítések:

x/y: pozitív állatok/vizsgált állatok

c: vakbél

6. Megbeszélés

A madarak intestinalis spirochaetosis (AIS) enterális tünetekkel (hasmenéssel) és a vastagbél (vakbél, colorectum) gyulladásával járó betegség, amely bizonyos fajokban (nanduban, lúdban, kacsában) a sertésdysenteriához hasonló súlyos fokú elhalásos vastagbélgyulladással és nagymértékű elhullással jár. Nemzetközi adatok alapján a betegség főként a tojtyúk-állományokat sújtja, ahol enyhe vagy mérsékelt súlyosságú, idült, makacsul recidiváló hasmenést okoz (Davelaar és mtsai 1986; Dwars és mtsai 1989; McLaren és mtsai 1996). Az AIS alattomosan jelentkező, hosszú távon komoly gazdasági károkat okozó betegség. Az Egyesült Királyságban a betegség által okozott veszteségek a baromfiipar éves termelésének 1,5%-át tették ki (Burch és mtsai 2006). Hazai állományokban már az ezredfordulón beszámoltak klinikai AIS-ról pulykákban és libában (Dobos-Kovács 2001), majd nemzetközi szinten először Magyarországon közölték libában a brachyspirosist (Nemes 2006). Naposlibában vizsgálták a kórokozó (*B. alvinipulli*) kolonizációs képességét (Ivanics és mtsai 2007). A hazánkban és külföldön a házikacsa brachyspirosisáról korábban nem volt tudomásunk. Svédországban vadászati célokra tenyésztett tünetmentes tőkés récék fertőzöttségéről, és napos récék kísérletes fertőzéséről számoltak be (Jansson és mtsai 2004, 2009b). Házikacsák intestinalis spirochaetosisának leírása ugyancsak hazánkban történt (Glávits és mtsai 2011), majd a beteg kacsákból izolált *Brachyspira*-törzsekkel naposkacsákat fertőztünk (Thuma és mtsai 2011a). A naposkacsákban a *Brachyspira* megtelepedésének igazolása után felmerült a kérdés bennünk, hogy ha felnőtt korban klinikai megbetegedés van, és a napos állatok sikerrel fertőzhetőek, akkor növendékkorban jelen van-e a fertőzöttség, és esetleg megnyilvánul-e klinikailag valamilyen formában (Thuma és mtsai 2011b). Hazánkban házi húshibrid, majd tojóhibrid házityúk-állományban is megállapítottuk az AIS-t (Ivanics és mtsai 2009).

Kutatásunk tervezésekor több célt tűztünk ki magunk elé. Adatokat kívántunk gyűjteni a kórkép hazai előfordulásáról kacsában és tyúkokban. Tekintettel arra, hogy a klinikai tünetekben és elhullásokban megnyilvánuló AIS-t felnőtt tojástermelő állományokban észleltük, ezért adatokat kerestünk a különböző korcsoportokban előforduló esetleges fertőzöttségére. A talált kórbonctani és kórszövetani elváltozásokat összevetettük a különböző kiegészítő vizsgálatok (klasszikus bakteriológia: tenyésztési tulajdonságok fenotípus (biokémiai) analízis, immunhisztokémia, PCR módszerek: genotípus analízis) eredményeivel, és kerestük azt, hogy ezek a módszerek hogyan és milyen mértékben segítenek a betegség oktani diagnózisának a felállításában. Vizsgálatokat végeztünk az

egyes állományokból kitenyészett különböző *Brachyspira*-fajok gyógyszerérzékenységét illetően is.

Elért eredményeink szándékaink szerint felhívják a figyelmet a különböző baromfifajokban a betegség előfordulására, segítséget nyújtanak a kórfejlődés megismerésében, a kórhatározásban és a komplex védekezési módozatokon belül az esetleges gyógykezelés megválasztásában.

6.1 Felnőtt házikacsa-állományokban történt megfigyelések

Súlyos lefolyású, elhalásos vastagbélgyulladással és elhullással járó AIS-t libában és nanduban írtak le eddig (Hampson és Swayne 2008). Nemes és mtsai (2006) hazai libaállományban a betegséget következetesen az első tojástermelési ciklusukat befejező, vedleni kezdő tojókban észlelték. Az A állományban 1500 tojó 28%-a hullott el 8 hét alatt, a B állományban a 4500 tojó 18%-a pusztult el 12 hét alatt. Az érintett állatokban kifejezett veseelfajulással és következményes köszvénnel járó vérzéssel elhalásos remesevégbél- és fibrines-elhalásos vakbélgyulladást láttak. Az elváltozott bélszakaszokban spirochaeták jelenlétét igazolták. Kórszövettani vizsgálattal a vastagbelekben hámelhalással és a propria rétegben gyulladós-sejtes beszűrődéssel és vérzésekkel járó elváltozásokat tapasztaltak. Néhány esetben az elhalás a propriaréteg felső harmadára is ráterjedt. A vesékben a tubularis vesehámszövetek degenerációt mutattak, intertubularisan pedig zonális vagy diffúz fibroblast proliferációt, valamint a glomerulusok sorvadását és mészkonkrementumokat lehetett látni. A májban lymphohistiocytás interstitialis gyulladás volt megfigyelhető. Fajmeghatározással 10 izolált törzs közül 9 *Brachyspira alvinipulli*-nak, egy pedig *B. hyodysenteriae*-nek bizonyult.

A *Brachyspira* genusba tartozó baktériumok közül különböző madárfajokban ez idáig a *B. hyodysenteriae*, *B. intermedia*, *B. pilosicoli* és *B. alvinipulli* bizonyult patogénnek. Néhány esetben ezen kívül *B. innocens*, *B. murdochii*, vagy eddig nem meghatározott törzsek kerültek még a béltartalomból izolálásra (Hampson és Swayne 2008).

Felnőtt kacsákban végzett saját vizsgálatainkkal súlyos fokú AIS-ra jellemző bélelváltozásokat láttunk, kórokozóként a *B. hyodysenteriae*-t és a *B. pilosicoli*-t tudtuk azonosítani. A betegséget kacsában következetesen az első tojástermelési ciklus alatt, egy esetben az előtt láttuk. Úgy tűnik, hogy az AIS manifesztálódásában liba- és kacsaállományokban a tojók szervezetének a tojásrakással összefüggő legyengülése játszhat hajlamosító szerepet. Más fajokban is jellemző, hogy az AIS klinikai tünetei gyakran hajlamosító tényezők, egyebek közt tojóállományokban, a vedléssel együtt járó stressz hatására jelennek meg (Kouwenhoven 1993; Swayne és mtsai 1992, Trampel és mtsai

1994). Ugyanazon a telepen tartott idősebb (második vagy harmadik tojóciklusú állományokban) a betegség nem, vagy csak ritkán 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 is súlyosabb megbetegedést tapasztaltak fiatal növendék állatokban, mint felnőttekben (Sagartz és mtsai 1992). Ugyanakkor a tojótyúk-állományokban a brachyspirákkal való kolonizáció mértéke a kor előrehaladtával nőtt (Stephens és Hampson 2001). A fertőzéssel szemben kialakuló immunitás természetéről is ellentmondóak az irodalmi adatok. Sokszor nem mutathatók ki ellenanyagok fertőzött állatokból, máskor olyan madarakban jelentek meg az ellenanyagok, melyekből brachyspirákat nem lehetett kitenyészteni (Stoutenburg 1993).

Az AIS kacsákban fibrines-elhalásos typhlocolitis és kifejezett veseelváltozás (tubulonephrosis és interstitialis fibrosis) formájában jelentkezett. Az esetek többségében az elváltozott bélcsatorna mélyén spirochaeta alakokat lehetett látni, és onnan a kórokozót izolálni is lehetett. Ezek a megfigyelések arra engednek következtetni, hogy a spirochaetáknak oktani szerepük volt a betegség kialakulásában, de ez nem zárja ki az esetleges egyéb anaerob flóra (pl. *Clostridium spp.*) súlyosbító szinergista hatását (Hampson és Swayne 2008). Ha voltak is jelen ilyen kórokozók, nekünk egyetlen egy esetben sem sikerült izolálni. Nemes és mtsai (2006) ludakban gyakran találtak a béltartalomtól izolálható *Trichomonas*-fajokkal, kacsában azonban nem találtunk ilyen fertőzöttséget.

A különféle madárfajok közül libákban és kacsákban a vastagbélszakaszok súlyosfokú kórbonctani és kórszövettani elváltozásai megegyeznek a sertésdysenteria esetén látható elváltozásokkal (vérzéses-elhalásos vastagbélgyulladás). A sertésekben előforduló hasmenés mint vezető tünet azonban a beteg víziszárnyasokban nem észlelhető. Tojótyúkokban viszont a hosszú ideig fennálló és gyógykezelések után ismét visszatérő hasmenés volt a jellemző tünet. Ugyanakkor a vastagbélgyulladás enyhébb mértékű volt. A nyálkahártya elhalásos-vérzéses elváltozása nem alakult ki, és az elhullás sem volt jelentős mértékű. A vesefibrosissal és mészkonkrementumok képződésével járó súlyosfokú károsodás, a különböző fajok intestinalis spirochaetosisa esetén csak víziszárnyas fajokban (lúd, kacska) fordult elő. A súlyos vesekárosodás magyarázata talán abban keresendő, hogy a libák és kacsák fokozottabban érzékenyek a kiválasztó rendszert ért káros hatásokra (mint ahogy érzékenyebbek a dehidrációra is), és/vagy a károsodott bélnyálkahártyán olyan toxikus anyagok szívódnak fel, melyek károsítják az állat veséit. Ez utóbbi feltételezést látszik alátámasztani, hogy a májban és a vesében amyloidlerakódást gyakran lehetett találni. Ezen kívül kacsák esetén az ízületek elváltozásai is kialakultak és esetenként baktériumokat is ki lehetett tenyészteni, de gyakrabban az bakteriológiai eredmény negatív volt.

A *Brachyspira*-fajok tipikusan lúgos és savas foszfátáz, észteráz, lipáz, β -galaktozidáz, és foszforiláz aktivitással bírnak (Stoutenburg 1993). Fenotípus szerinti meghatározáshoz ezért a β -haemolízis erősségét, az indoltermelést, a hippurát hidrolízist, illetve az α -galaktozidáz valamint az α - és β -glükózidáz aktivitás meglétét vagy hiányát regisztráljuk. Ez azonban nem eléggé egzakt módszer a fajmeghatározáshoz, éppen ezért szükséges specifikusabb molekuláris technikákat alkalmazni, hogy információt nyerjünk a kórokozó fajáról, és a filogenetikai tulajdonságairól (Bano és mtsai 2008; Feberwee és mtsai 2008, Hampson és Swayne 2008). Feberwee és mtsai (2008) arról számoltak be, hogy az általuk kitenyésztett 73 *Brachyspira*-izolátum kevesebb, mint felét sikerült azonosítani biokémiai fenotípus meghatározással, míg az izolátumok 94,8%-át sikeresen azonosították a baktériumok DNS-ének PCR és szekvencia analízisével. Ismert, hogy – különösen madarakban – a *Brachyspira*-fajok meghatározása még a felsorolt módszerek igénybevételével sem sikerül minden esetben. Bár vannak hagyományos laboratóriumi diagnosztikai és molekuláris módszerek is a fajmeghatározáshoz, mindegyiknek megvannak a maga korlátai és hátrányai (Jansson 2009a).

A két felnőtt kacsáállományból származó 15 *Brachyspira*-izolátumból 9-et sikerült egyértelműen, fenotipizálással és genotipizálással is egybehangzóan azonosítani. Valamennyi biztonsággal azonosított törzs vagy *B. pilosicoli*-nak, vagy *B. hyodysenteriae*-nek bizonyult. A nem egyértelműen azonosított törzsek közül a 21330/2-es jelzésű izolátum (A állomány) nagy hasonlóságot mutat a referencia *B. intermedia* törzssel (99% aminosav hasonlóság: 298 aminosavból 1 aminosavban tér el), továbbá filogenetikailag szorosan kapcsolódik a *Brachyspira intermedia* genetikai csoportjához, és a *Bfml* restrikciós profilja is megegyezik a Townsend és mtsai (2005) által közölt *B. intermedia* profillal. Egy néma mutáció miatt a *DpnII* restrikciós mintázata hiányzik, ezért ez az izolátum eltérő profilt mutat (898, 41), mint a GenBankban fellelhető *B. intermedia* szekvencia adatok.

A 24916/1-es törzs (A állomány) egy Townsend és mtsai (2005) által vizsgált (701 és 802-es madár) izolátumhoz hasonló restrikciós mintát mutat. Ezt egy új fajnak, a '*B. pulli*'-nek javasolták azonosítani. A GenBank adatbázisában sajnos nincs erre vonatkozó elérhető *nox* gén szekvencia, ami lehetővé tenné a szekvenciák összehasonlítását és további következtetések levonását. A 10363/4 és a 10363/6 (B állomány) törzsek *B. hyodysenteriae*-nek megfelelő restrikciós profil mintázatot mutatnak. Szekvencia analízissel azonban nagy a hasonlóság a *B. alvinipulli*-val (91% nukleotid és 95% aminosav hasonlóság), ezért nehéz megállapítani, hogy tulajdonképpen melyik *Brachyspira*-fajról is van tulajdonképpen szó. A 9757/1-es törzs esetében nagy hasonlóságot lehetett látni a Rasback és mtsai (2007) által javasolt új fajjal a *B. suanatiná*-val, melyet sertésekből és tőkés récékből izoláltak. Az izolátum azonban egy új *Bfml* *nox* gén restrikciós profilt mutat, amelyet korábban meghatározott fajokban eddig nem láttak. Annak ellenére, hogy a 24916/2-es izolátum

fenotípusos profilja irodalmi adatok alapján nem egyezik a *B. suanatiá*-val, genotipizálással azonban ennek volt meghatározható. A *B. suanatina* egy meglehetősen új fajnak minősül, nem izolálták és tanulmányozták még elég számban. Elképzelhető hogy nincs még elég tapasztalat a biokémiai profiljának a meghatározásához.

A felnőtt kacsáállományból izolált törzsek változatossága újabb bizonyítékot szolgáltat arra, hogy madarak bélfloájából egyedileg mennyire különböző *Brachyspira*-fajok izolálhatók. Ez természetesen zavarja a fenotipizálást és a genotipizálást is. Feberwee és mtsai (2008) szerint vegyes flóra gyakran előfordul, viszont az elváltozásokat többnyire egy (vagy több) patogén faj okozza. Ez összhangban van azzal, hogy mi egy állományból, sőt egy állat különböző bélszakaszaiból is gyakran más-más *Brachyspira*-fajnak meghatározott törzset tenyésztünk ki. Ezért AIS járványkitörésekor – amennyiben az oktani diagnózist faji szinten akarjuk (vagy szükséges) meghozni – több mintát is szükséges elemezni. Az elemzéshez azonban nem elég egy módszert használni. Az adott egyedben és a megbetegedett állományban a klinikai tünetek ill. a kórtani elváltozások előidézésével összefüggésbe hozható *Brachyspira*-fajt a klasszikus és modern módszerek eredményeit egybevetve komplex megközelítéssel – állományszinten több beteg egyed vizsgálatával – szükséges meghatározni.

A két állomány ólnaplójának és az időjárési archivumból (www.met.hu/omsz) nyert adatok összevetésével látszik, hogy az elhullások megemelkedése a csapadékcsúcsokat követő két héten belül történt. Gyakorlatban dolgozó kollégák alátámasztották a megfigyelést. Elmondásuk alapján pl. a „B” állományban egy kora nyári frontbetörés után tömegessé vált az elhullás, és az esetek túlnyomó részében AIS volt a diagnózis. Ez felhívja a figyelmet az állatok általános ellenállóképességét negatívan befolyásoló stressztényezők, hajlamosító tényezők szerepének fontosságára.

A betegség hazai előfordulásáról, gyakoriságáról még csupán kisszámú adatunk van. Az intézetünkbe küldött vizsgálati anyagok eredményei arra utalnak, hogy az intestinalis spirochaetosis a felnőtt korban jelentkező leggyakoribb kacsabetegségek közé tartozik. A betegséget az első két megállapítást követően többször diagnosztizáltuk. Házikacsában felnőtt korban 2008-ban 9, 2009-ben 3, 2010 évben pedig 4 állományban került megállapításra. Az érintett telepeken továbbra is az elhullások megemelkedése hívta fel a figyelmet az AIS-ra. Területileg 10 esetben Bács-Kiskun, 6 esetben Szabolcs-Szatmár-Bereg megyéből érkezett a vizsgálati anyag. Az esetek túlnyomó többségében a korábban ismertetett elváltozások fordultak elő. Továbbra is a veseelfajulás (67% ill. 78%), az elhalásos vastagbélgyulladás (61%) és a májamyloidosis (56%) volt a leggyakoribb, azonban ezek többnyire nem egyszerre jelentkeztek. Néhány esetben volt látható ízületgyulladás (39%). A krónikus vesekárosodás 22%-ban vesefibrózishoz, 11%-ban pedig zsigeri

köszvényhez vezetett. A kórokozók jelenlétét a bél nyálkahártyáján immunhisztokémiai módszerrel igazoltuk.

Brachyspira tenyésztést, a korábban ismertetett két állományon kívül, 8 esetben kíséreltünk meg a béltartalomból, és valamennyi pozitív lett. Rezisztenciavizsgálatot ezek közül 6 izolátumból végeztünk. Valamennyi tenyészet érzékeny volt tetraciklinre, míg linkomicinre 4, amoxicillinre és tiamulinra 3, eritromicire 1 törzs bizonyult érzékenynek.

Érdekességként megemlítem, hogy egy Veszprém megyéből madárinfluenza vizsgálatra beküldött elhullott bütykös hattyúban (*Cygnus olor*), hurutos vastagbélgyulladást észleltünk. A vastagbél nyálkahártyáján immunhisztokémiai vizsgálattal valamennyi vastagbélszakaszban brachyspira-kolonizációt lehetett megfigyelni (a madárinfluenza kórokozó kimutatás negatív eredményre vezetett).

6.2 Növendékkacsa-állományokban történt vizsgálatok

Kacsában az intestinalis spirochaetosis felnőtt korban jelentkező betegség, de napos állatok is bizonyítottan fertőzhetőek, amelyek eredményeként a bevitt Brachyspira-törzs kolonizálódik a vastagbelek nyálkahártyájában. Felmerült a kérdés, hogy természetes körülmények között tartott, nagylétszámú növendékkacsa állományokban kimutatható-e a brachyspira-fertőzöttség, és ez szerepet játszhat-e az állatok egészségi állapotának veszélyeztetésében. Ezért a vizsgálati időszakban az intézetbe küldött növendékállatokat (kacsák, libák, csirkék) diagnosztikai vizsgálata során brachyspira-fertőzöttségre is kiterjesztettük a vizsgálatokat.

Négy-héhetes, természetes körülmények között tartott, nagy létszámú (7.000-15.000) növendékkacsa állományokban a brachyspira-fertőzöttséget az elhullott állatok vastagbél nyálkahártyájában immunhisztokémiai, baktériumtenyésztéses és molekuláris biológiai vizsgálatokkal igazoltuk. A különböző anyagokból származó 10 izolált Brachyspira-törzs többsége (7 eset) *B. pilosicoli*-nak volt meghatározható.

Az elhullott állatok kórbonctani és kórszövettani vizsgálata során az intestinalis spirochaetosisra jellemző vastagbél elváltozások (fibrines-elhalásos gyulladás) enyhébb formában voltak felismerhetők, mint ami a felnőtt kacsák brachyspirosis esetén látható. Emellett két állományban takarmányozási ártalomra gyanút keltő máj- és veseelváltozásokat (májelfajulást, heveny tubulonephrosist), egyben kacsa circovírus fertőzöttséget, egyben anatiszter betegséget, és egyben nem megfelelő tartási körülményekre jellemző leleteket (pl sárral és tolltetvekkal szennyezett toll stb.) is meg lehetett állapítani.

Ezenkívül fiatal 32 és 36 hetes törzskacsa-állomány megismételt vizsgálatával fibrines-elhalásos vastagbélgyulladást és szubakut nephropathiát – azaz a felnőtt törzsállományok brachyspirosisára jellemző elváltozásokat – is megfigyeltünk.

Az eddigi eredmények alapján úgy tűnik, hogy a napos életkorú madarak brachyspirákkal történt fertőződése után a kórokozó kolonizálhatja a vastagbelet és tünetmentes fertőzöttség alakul ki. Növendékkorban az általános ellenállóképességet csökkentő hatások következtében és más betegségekhez társulva a brachyspirák elszaporodhatnak a vastagbelekben, és szerepük lehet vastagbélgyulladás előidézésében, valamint az egyéb eredetű veszteségek mértékének alakításában. Önálló megbetegedéseket és elhullásokat kacsában - hajlamosító tényezők hatására - legkorábban a tojásrakási időszak előtt észleltünk. Ekkor az elhullott állatokban súlyos fokú vastagbél-, és veseelváltozást (a kacsák önálló brachyspirosisára jellemző elváltozásokat) lehetett felismerni.

Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a brachyspira-fertőzöttség kialakulására növendékkacsa állományokban a nem megfelelő tartási körülmények, az etetett takarmány mikotoxinokkal történt szennyeződése, vagy immunszuppresszív hatású (pl. circovírus) fertőzés hajlamosíthat. Az intestinalis spirochaetosis gyakran más betegségekkel együtt fordul elő, emiatt a növendékkori kacsaelhullásokban a kórtani jelentőséget az említett tényezők és az adott állományban jelenlévő egyéb megbetegedések együttes figyelembe vételével célszerű értékelni.

Egyéb állatfajban (csirke és liba) növendék korban nem találtunk eddig brachyspira-fertőzöttséggel összefüggésbe hozható megbetegedést.

6.3 Felnőtt házityúk-állományokban történt megfigyelések

Tojótyúk-állományokban már a 80-as években észleltek AIS-t a világ fejlett baromfitartó országaiban, így az USA-ban, Angliában, Hollandiában, Ausztráliában (Swayne és McLaren 1997). Házityúkban valamennyi, madarakra patogénnek tekintett Brachyspira-faj kimutatásra került, amelyek kórokozó szerepe kísérletes fertőzéssel is beigazolódott (Bano és mtsai 2008, Swayne és McLaren 1997, Hampson és McLaren 1999, Feberwee és mtsai 2008). A további kimutatott törzsek közül a *B. innocens* és a *B. murdochii* kórtani szerepe tisztázatlan (Bano és mtsai 2008; Dwars és mtsai 1989; McLaren és mtsai 1996).

Feberwee és mtsai (2008) széleskörű felmérő jellegű vizsgálataikat 25 megbetegedett tojótyúk-állományban végezték, amelyekből 73 Brachyspira-törzset (*B. intermedia*-t, *B. pilosicoli*-t, *B. alvinipulli*-t, *B. innocens*-t, *B. murdochii*-t és *B. hyodysenteriae*-t) izoláltak. A meghatározás az egyes törzsek biokémiai tulajdonságainak és DNS

szekvenciájának vizsgálatán alapult. Figyelemre méltó, hogy az izolált törzsek kevesebb, mint 50%-át lehetett csupán a biokémiai tulajdonságaik alapján tipizálni. Diagnosztikai szempontból további lényeges megállapítás volt, hogy egy állományon belül, sőt, egy tojóttyúk bélcsatornájából is több különböző *Brachyspira*-fajt sikerült kimutatni, ami a betegség kórhatározása során (kacsákhoz hasonlóan) egyidejűleg több minta vizsgálatának és esetenként hígításának szükségességét támasztja alá.

A tojóttyúkok intestinalis spirochaetosisa során a gazdasági veszteség – a víziszárnyas fajokkal szemben – nem elsősorban az elhullásokból, hanem főként a tojástermelés csökkenéséből, az alom és a környezet bélsárral történő szennyeződéséből, az állomány legyengüléséből adódik. A klinikai tünetek megjelenésének súlyossága összefügg az állomány ellenálló képességét csökkentő különféle hatások mértékével (Bano és mtsai 2008).

Saját eseteinkben a kórhatározás a járványtani adatok, a klinikai tünetek és a kórbonctani elváltozások figyelembevétele mellett a kórokozónak a bélnyálkahártyában történő *in situ* kimutatásán (immunhisztokémia), szelektív táptalajok segítségével történő kitenyésztésen és biokémiai tulajdonságainak, valamint genetikai struktúrájának PCR módszerrel történő meghatározásán alapult. A kitenyésztett törzsek meghatározása során, Feberwee és mtsai (2008) tapasztalataihoz hasonlóan, mi is csak az izolált törzsek egy részét tudtuk biokémiai tulajdonságaik alapján azonosítani. A 22. táblázatban feltüntettük, hogy izolátumaink mely biokémiai tulajdonságokban térnek el az adott faj többségére jellemző viselkedéstől.

Az általunk vizsgált „H” állományban 2 *B. hyodysenteriae* és 1 *B. innocens*, az „I” állományban 3 *B. hyodysenteriae*, a „G” állományban pedig 2 *Brachyspira* spp. és 1 *B. intermedia* törzset határoztunk meg. A „G” állományból izolált két másik *Brachyspira* spp. (a kettő, szekvencia-szinten egymással egyforma) egyikét sem sikerült faji szinten meghatározni, mivel egy eddig ismeretlen RFLP mintázatot mutatnak. Míg a *B. hyodysenteriae*, a *B. innocens*, a *B. intermedia* törzsek faji meghatározását a DNS homológiai vizsgálatokkal kapott magas értékek is alátámasztották, a két *Brachyspira*-törzs esetében ez sem adott további támpontot.

Ez a vizsgálat megerősítette a holland szerzők eredményeit (Feberwee és mtsai 2008), akik természetes körülmények között hasmenésben megbetegedett tojóttyúk-állományban a *B. hyodysenteriae* oktani szerepét a világon elsőként igazolták. A klinikai tünetek, valamint a termelési mutatók alakulása nem tért el a korábban külföldi szerzők által *B. intermedia* (Davelaar és mtsai 1986), *B. pilosicoli* (Stephens és Hampson 2001), és *B. alvinipulli* (Stanton és mtsai 1998) fertőzésben megbetegedett tojóttyúk-állományokban észlelt klinikai tünetektől és termelés-csökkenéstől.

A kórkép kifejlődésében a hajlamosító tényezők szerepét igazolja, hogy az antibiotikumkezelések csak átmeneti javulást eredményeztek, a hasmenés azonban csak a takarmányváltást követően szűnt meg.

Bonyolítja a helyzetet, hogy brachyspirosisban megbetegedett brojler szülőpárállomány által termelt tojásokból kikelt csibékben a takarmányértékesülés állatonként a teljes hizlalás során 180g-ot romlott, a tüneteket nem mutató szülőpárállományból származó keltetett csirkékhez képest (Smit és mtsai 1998). Az utódokban a kórokozót azonban nem sikerült kimutatni. Hasonló jelenséget észleltek Dwars és mtsai (1993), amikor tojtyúkakat kísérletesen fertőztek a tojásrakási szezon előtt és figyelték többek közt a tojások és az utódok (2. és 3. élethetes) súlyát. Azt tapasztalták, hogy a tojások és csirkék tömege egyaránt szignifikánsan elmarad a kontrollcsoporttól. A csibék bélsarának állapotát az ún. fertőző satnyaság esetében látottakhoz hasonlóan írták le. A fiatal állatokból ebben az esetben sem izoláltak kórokozót. A szerzők ezért feltételezték, hogy a megbetegedett tojók bélcsatornájából a tojásszikbe jutó toxinoknak lehet szerepe e jelenség kiváltásában. Ez a téma komoly állategészségügyi-ökonómiai és szavatossági kérdést is felvet, melynek tisztázásához a kórfejlődés mélyebb megértésre irányuló további vizsgálatok szükségesek.

A további járványtani eredményeket tekintve az ismertetett G és H állomány Komárom-Esztergom, az I pedig Bács-Kiskun megyében volt. Budapesti intézetünkben 2008-ban a korábban ismertetett 3 állományt leszámítva, három esetben, 2009-ben pedig egy alkalommal találkoztunk tyúkokban intestinalis spirochaetosissal. A három 2008-as eset Pest, Komárom-Esztergom és Jász-Nagykun-Szolnok megyében, a 2009-es Bács-Kiskun megyében fordult elő. 2010-ben nem volt újabb általunk diagnosztizált eset.

Ezek közül kétszer tojóhibrid állományban állapítottuk meg a betegséget. Ezekben az esetekben a bélelváltozások és a fertőzöttség mértéke jóval enyhébb volt, mint a húshibrid szülőpár állományokban, és a betegség ketrecbénulással ill. colibacillosissal társult.

Utóbbi állományok közül kettőből történt tenyésztéses vizsgálat (Komárom-Esztergom és Pest megye). Fenotípus vizsgálattal a kórokozó mindkét esetben *B. hyodysenteriae*-nek bizonyult. Egy törzsből történt rezisztencia meghatározás (Pest megye), a kórokozó eritromicint leszámítva valamennyi általunk vizsgált antibiotikumra érzékeny volt.

6.4 Kísérletes állatfertőzések

Az AIS kapcsán végzett naposállat fertőzési kísérletek általában egy adott izolátum béltraktusban történő megtelepedési (kolonizációs) képességének megítéléséhez nyújtanak adatot. Számos esetben végeztek pathogenitási vizsgálatokat naposállatokban így

csirkében, nanduban, libában, tőkésrécében stb. (Trott és Hampson 1998, Sagartz és mtsai 1992, Ivanics és mtsai 2007; Jansson és mtsai 2009b). Jansson és mtsai (2009b) vizsgálataikban tőkésréce és sertéseredetű, valamint referencia *B. hyodysenteriae* (B204^R) törzssel fertőztek napos récéket. A sertés és a réceeredetű törzsek szájon át és kloákán át végzett fertőzéssel is kolonizálták az állatok vastagbélszakaszait, míg a referenciatörzs nem telepedett meg az állatokban. A fertőzött állatok közül egy állatban sem mutatkoztak klinikai tünetek.

Vizsgálatainkkal kimutattuk, hogy a beteg állatokból izolált kacsáeredetű *B. pilosicoli*, *B. alvinipulli* és *B. hyodysenteriae* kolonizálta a napos kacsák egy részének a vastagbélét. *In situ* vizsgálatokkal csupán a *B. pilosicoli*-val és *B. alvinipulli*-val fertőzött csoportokban lehetett kolonizációt látni. Hasonlóképpen csak bakteriológiai tenyésztéssel sikerült igazolni a tyúk- és sertéseredetű törzsek esetén a megtelepedést. Az *in situ* (IH) vizsgálatok negatív eredményét az magyarázhatja, hogy az állatok bélszakaszainak egy adott keresztmetszetét néztük, míg a bakteriológiai mintavétel majdnem a teljes vastagbélszakaszt érintette. Csibekísérletünk eredményei arra engednek következtetni, hogy a fajazonos törzsek képesek szájon át és kloákán keresztül is fertőzni az állatokat.

A T-2 toxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó kacsák esetében megjelentek a jellegzetes bőr- és szájnyálkahártya elváltozások (felrakódás, fekélyesedés, elhalások), a bursa Fabricii, a csecsemőmirigy sorvadása, de ez a brachyspira-kolonizáció számarányát nem növelte.

A testtömegmérés eredményei alapján a három kísérlet egybehangzóan az bizonyítja, hogy a brachyspira-fertőzöttség az első négy hétben nem okoz fejlődésben való elmaradást. A T-2 toxinnal szennyezett takarmány etetése viszont komoly testtömeggyarapodás csökkenést okoz, ahogy ezt Rafai és mtsai (2000) is leírták. Kiemelendő, hogy akkor 2mg/kg toxin koncentráció alatt nem találtak bőr- és nyálkahártya elváltozásokat, míg mi 1mg/kg koncentrációban már olyan súlyos tüneteket és elváltozásokat láttunk, mint a korábban említett szerzők 4 mg/kg takarmánykoncentrációnál. Ez felvetheti a kérdést, hogy már az eredeti takarmány szennyezett volt-e trichotecén vázas mikotoxinokkal. A vizsgálatainkkal csupán egy határértéken belüli (1mg/kg) deoxinivalenol (DON) koncentráció emelkedést mutattunk ki. A másik említésre méltó eredmény, hogy statisztikai vizsgálattal testtömegre vonatkoztatva (negatív) interakciót lehetett kimutatni a fertőzöttség és a toxin etetés között, ugyanis amíg a fertőzetlen normál tápot fogyasztó csoportban volt a legnagyobb az átlagos testtömeg, addig az a fertőzetlen T-2 toxint fogyasztó csoportban a legkisebb. Erre a jelenségre, valamint arra a tényre, hogy a T-2 toxinnal etetett csoportokban kevesebb egyedből lehetett visszaizolálni a kórokozót, az elvégzett vizsgálatok eredményei nem szolgáltatnak magyarázatot.

6.5 Összegzés

Kacsaállományokban történt vizsgálataink során egy már ismert betegség (AIS) új madárfajban való megjelenését állapítottuk meg. A kórkép – a sertésdysenteriához és a ludak intestinalis spirochaetosisához hasonlóan – súlyosfokú elhalásos vastagbélgyulladásban és elhullásokban nyilvánult meg, azonban hasmenéssel nem járt. Azonosítottuk a kórokozót, és azzal naposállatokban fertőzési kísérletet végeztünk igazolva az izolált törzsek fertőző képességét. Adatokat szolgáltatunk arról, hogy növendékkorban is jelen lehet a fertőzőtség, és társult betegségként, avagy súlyos higiéniai problémák esetén önállóan is jelentkezhet a betegség ebben a korcsoportban.

Tojtyúk állományok vizsgálatával a betegség hazai megjelenését dokumentáltuk. Megfigyeltük, hogy a kórkép – a külföldi leírásokkal összhangban – elsősorban hasmenéssel és az állatok, a környezet és az alom bélsárral való szennyeződésével jár, az elhullás azonban nem jelentős. Azonosítottuk a kórokozót, és kimutattuk csibékben a fertőző képességét.

Járványtani megfigyeléseink azt mutatják, hogy a megbetegedett kacsaállományok a Duna-Tisza közén és a Tiszántúlon (viziszárnyas tartással foglalkozó országrészekén) voltak, még tyúkállományok szempontjából az ország nyugati, középső, és keleti része egyaránt érintett. A fertőzőtség pedig jelen lehet vadmadarakban is. Rezisztencia monitoring vizsgálatunk azt mutatja, hogy a gyógykezelésben használható szerek közül a legtöbb törzs a tetraciklinnel szemben bizonyult a leggyakrabban érzékenynek (24-ből 21 esetben), ezen túl a tiamulin is gyakran bizonyult eredményesen használható szernek (17/24 esetben érzékeny). Linkomicin (8/24 esetben érzékeny) illetve amoxicillin (12/24 esetben érzékeny) kezelés előtt mindenképpen ajánlott elvégezni a rezisztenciavizsgálatot. Eritromicin kezelés AIS esetén nagy valószínűséggel nem fog eredményre vezetni (csupán 5/24 esetben érzékeny).

A betegség elleni védekezés – az irodalmi adatokat és a saját tapasztalatainkat egybevetve - komplex megközelítésben lehet eredményes. Célszerű figyelembe venni a kórokozók behurcolását megakadályozó általános járványvédelmi tényezők megtartását, az élő állatok, a személyek mozgásának korlátozását, a rágcsáló- és rovarirtás hatékonyságát. A tartási körülményekből adódó, stresszhatással járó tényezők (pl. a zsúfoltság) csökkentése, az alomminőség javítása ugyancsak lényeges. Az eddigi tapasztalatok alapján úgy tűnik, hogy az etetett takarmányok minősége, összetétele lényeges szerepet játszik a betegség klinikai tüneteinek megnyilvánulásában, valamint tojtyúk-állományokban a hasmenés visszatérő jelentkezésében.

7. Új tudományos eredmények

- A nemzetközi szakirodalomban is elsőként számoltunk be a házikacsák intestinalis spirochaetosisáról, amely tojóállományokban – a sertésdysenteriához és a ludak intestinalis spirochaetosisához hasonló – súlyosfokú elhalásos vastagbélgyulladásban és elhullásokban nyilvánul meg.
- Munkatársaimmal megállapítottam, hogy a hazai kacsáállományok megbetegedésében főként a *Brachyspira hyodysenteriae* valamint a *B. pilosicoli* törzsek játszanak oktani szerepet.
- A hazai szakirodalomban elsőként számoltunk be a tojótyúkok intestinalis spirochaetosisáról, és megállapítottuk, hogy a betegséget az általunk vizsgált állományokban elsősorban a *B. hyodysenteriae* törzsek idézik elő.
- Vizsgálatokat végeztem a kacsában és tyúokban előforduló betegség hazai elterjedtségére vonatkozóan.
- Adatokat szolgáltattam a házikacsa és a házityúk intestinalis spirochaetosisának hazai eseteiből izolált *Brachyspira*-törzsek gyógyszerkészítményekkel szembeni rezisztenciájáról.
- Növendék kacsáállományok vizsgálatával igazoltam az ebben a korcsoportban is fellelhető fertőzöttséget, és igazoltam a betegség manifesztációját is.
- A beteg állatokból izolált törzsekkel naposkacsákkal és naposcsibékkel fertőzési kísérleteket végeztem, és tanulmányoztam a különböző *Brachyspira*-törzsek bélcsatornában való megtelepedését.

8. Irodalomjegyzék

1. Adachi, Y., Sueyoshi, M., Miyagawa, E., Minato, H., Shoya, S.: Experimental infection of young broiler chicks with *Treponema hyodysenteriae*. *Microbiol. Immunol.* 29. 683-688. 1985.
2. Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. and Lipman, D.J.: Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.*, 215. 403–410. 1990.
3. Argenzio, R.A., Whipp, S.C., Glock, R.D.: Pathophysiology of swine dysentery: colonic transport and permeability studies. *J Infect Dis.* 142. 676-684. 1980.
4. Bano, L., Meriardi, G., Bonilauri, P., Dall'Anese, G., Capello, K., Comin, D., Cattoli, G., Sanguinetti, V., Hampson, D.J., Agnoletti, F.: Prevalence, disease associations and risk factors for colonization with intestinal spirochaetes (*Brachyspira* spp.) in flocks of laying hens in north-eastern Italy. *Avian Pathol.* 37, 281-286. 2008.
5. 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 fragment length polymorphism analysis of ribosomal DNA encoding 23S rRNA. *Vet Microbiol.* 75. 189-198. 2000
6. Berg, H.C.: How spirochetes may swim. *J Theor Biol.* 56. 269-273. 1976.
7. Buckles, E.L., Eaton, K.A., Swayne, D.E.: Cases of spirochete-associated necrotizing typhlitis in captive common rheas (*Rhea americana*). *Avian Dis.* 41. 144-148. 1997.
8. Burch, D.G., Harding, C., Alvarez, R., Valks, M.: Treatment of a field case of avian intestinal spirochaetosis caused by *Brachyspira pilosicoli* with tiamulin. *Avian Pathol.* 35. 211-216. 2006.
9. Charon, N.W., Greenberg, E.P., Koopman, M.B., Limberger, R.J.: Spirochete chemotaxis, motility, and the structure of the spirochetal periplasmic flagella. *Res Microbiol.* 143. 597-603. 1992.

10. Cwyk, W.M., Canale-Parola, E.: *Treponema succinifaciens* sp. nov., an anaerobic spirochete from the swine intestine. Archives of Microbiol. 122. 231-239. 1979.
11. Dán Á., Molnár T., Biksi I., Glávits R., Shaheim M. and Harrach B.: Characterisation of Hungarian porcine circovirus 2 genomes associated with PMWS and PDNS cases. Acta Vet Hung. 51. 551-562. 2003.
12. Davelaar, F.G., Smit, H.F., Hovind-Hougen, K., Dwars, R.M., Van der Valk, P.C.: Infectious typhlitis in chickens caused by spirochetes. Avian Pathol. 15, 247-258. 1986.
13. Dobos-Kovács M., Fodor L., Ping J., Bata Á., Nyerges A., Kovács L.: Megfigyelések a liba és pulyka intestinalis spirochaetosisáról (Szóbeli közlés). 9. Derzsy napok tudományos konferencia, Kecskemét, 2001. június 13-14.
14. Douglas, J.G., Cruciolli, V.: Spirochaetosis: a remediable cause of diarrhoea and rectal bleeding? Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.). 283. 1362. 1981.
15. Dwars, R.M., Davelaar, F.G., Smit, H.F.: Infection of broiler chicks (*Gallus domesticus*) with human intestinal spirochaetes. Avian Pathol. 21. 559-568. 1992(a)
16. Dwars, R.M., Davelaar, F.G., Smit, H.F.: Infection of broiler parent hens with avian intestinal spirochaetes: effects on egg production and chick quality. Avian Pathol. 22. 693-701. 1993
17. Dwars, R.M., Smit, H.F., Davelaar, F.G.: Influence of infection with avian intestinal spirochaetes on the faeces of laying hens. Avian Pathol. 21. 513-515. 1992(b)
18. Dwars, R.M., Smit, H.F., Davelaar, F.G.: Observations on avian intestinal spirochaetosis. Vet Quart. 12. 51-55. 1990.
19. Dwars, R.M., Smit, H.F., Davelaar, F.G., Veer, W.V.: Incidence of spirochaetal infections in cases of intestinal disorder in chickens. Avian Pathol. 18. 591-595. 1989.
20. Fazekas B., Tanyi J., Sályi G., Kerekes L.: T-2 toxin hatása a pulykatojások keltethetőségére és a napospulykák életképességére. Magy. Állatorv. Lapja 48. 221-225. 1993

21. Feberwee, A., Hampson, D.J., Phillips, N.D., La, T., van der Heijden, H.M., Wellenberg, G.J., Dwars, R.M., Landman, W.J.: Identification of *Brachyspira hyodysenteriae* and other pathogenic *Brachyspira* species in chickens from laying flocks with diarrhea or reduced production or both. J Clin Microbiol. 46. 593-600. 2008
22. Feuerstein, G., Lorenzana, R.M., Beasley, V.R.: Effects of trichotecene mycotoxins on the nervous system. In: Trichotecene Mycotoxicosis: Pathophysiologic Effects. Vol. II. Beasley VR. (ed), CRC Press, INC. Boca Raton, FL., Pages 111-122. 1989.
23. Griffiths, I.B., Hunt, B.W. Lister, S.A., Lamont, M.H.: Retarded growth rate and delayed onset of egg production associated with spirochaete infection in pullets. Vet Rec. 121. 35-37. 1987.
24. Hampson, D.J., Combs, B.G., Harders, S.J, Connaughton, I.D., Fahy, V.A.: Isolation of *Treponema hyodysenteriae* from a wild rat living on a piggery. Aust Vet J. 68. 308. 1991.
25. Hampson, D.J., Fellström, C., Thomson, J.R.: Swine dysentery In: Straw, B.E., Zimmermann, J.J., D'Allaire, S., Taylor, R. (eds.) Diseases of Swine 9th Ed. Blackwell Publishing: Oxford, UK, 785-805. 2006a.
26. Hampson, D.J., McLaren, A.J.: Experimental infection of laying hens with *Serpulina hyodysenteriae* causes reduced egg production and increased faecal water content. Avian Pathol. 28. 113-117. 1999.
27. Hampson, D.J., McLaren, A.J.: Prevalence, genetic relationships and pathogenicity of intestinal spirochaetes infecting Australian poultry. Proc Australian Poultry Sci Symp 9. 108-112. 1997.
28. Hampson, D.J., Stephens, C.P., Oxberry, S.L.: Antimicrobial susceptibility testing of *Brachyspira intermedia* and *Brachyspira pilosicoli* isolates from Australian chickens. Avian Pathol. 35. 12-16. 2006b
29. Hampson, D.J., Swayne, D.E.: Avian Intestinal Spirochaetosis. In: Y.M. Saif (Ed.) Diseases of Poultry. 12th Ed Blackwell Publishing Ltd.: Oxford, UK, 922-940. 2008.

30. Harris, M.B.K.: A study of spirochetes in chickens with special reference of those of the intestinal tract. *Am. J. Hyg.* 12, 537-568. 1930.
31. Harris, D.L., Kinyon, J.M.: Significance of anaerobic spirochetes in the intestines of animals. *Am. J. Clin. Nutrition.* 27. 1297-1304. 1974.
32. Hommeez, J., Castryck, F., Haesebrouck, F., Devriese, L.A.: Identification of porcine *Serpulina* strains in routine diagnostic bacteriology. *Vet Microbiol.* 62, 163-169. 1998.
33. Ivanics É; Dobos-Kovács M; Glávits R; Kaszanyitzky É.; Nemes C; Szeredi L; Beregszászi A., Dencsó L.: Experimental study on the role of *Brachyspira alvinipulli* in intestinal spirochaetosis of geese. *Acta Vet Hung.* 55. 315-326. 2007.
34. Jacques, M., Girard, C., Higgins, R., Goyette, G. Extensive colonization of the porcine colonic epithelium by a spirochete similar to *Treponema innocens*. *J Clin Microbiol.* 27. 1139–1141. 1989.
35. Jamshidi, A., Hampson, D.J.: Zinc bacitracin enhances colonization by the intestinal spirochaete *Brachyspira pilosicoli* in experimentally infected layer hens. *Avian Pathol.* 31. 293-298. 2002.
36. Jamshidi, A., Hampson, D.J.: Experimental infection of layer hens with a human isolate of *Brachyspira pilosicoli*. *J Med Microbiol.* 52. 361-364. 2003.
37. Jansson, D.S.: Genus *Brachyspira* in Birds: Phenotypes, Phylogeny and Pathogenicity. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. 2009(a).
38. Jansson, D.S., Bröjer, C., Gavier-Widén, D., Gunnarsson, A., Fellström, C.: *Brachyspira* spp. (*Serpulina* spp.) in birds: a review and results from a study of Swedish game birds. *Anim Health Res Rev.* 2. 93-100. 2001.
39. Jansson, D.S., Fellström, C., Råsbäck, T., Vågsholm, I., Gunnarsson, A., Ingermaa, F., Johansson, K.E.: Phenotypic and molecular characterization of *Brachyspira* spp. isolated from laying hens in different housing systems. *Vet Microbiol.* 130. 348-362. 2008.

40. Jansson, D.S., Johansson, K.E., Olofsson, T., Råsbäck, T., Vågsholm, I., Pettersson, B., Gunnarsson, A., Fellström, C.: *Brachyspira hyodysenteriae* and other strongly beta-haemolytic and indole-positive spirochaetes isolated from mallards (*Anas platyrhynchos*). J Med Microbiol. 53. 293-300. 2004.
41. Jansson D.S., Råsbäck T., Fellström C., Feinstein R.: Experimental Challenge of Mallards (*Anas platyrhynchos*) with *Brachyspira hyodysenteriae* and “*Brachyspira suanatina*” Isolated from Pigs and Mallards. J. Comp. Path. 141. 211-222. 2009(b).
42. Joens, L.A., Glock, R.D.: Experimental infection in mice with *Treponema hyodysenteriae*. Infect Immun. 25. 757-760. 1979.
43. Joens, L.A., Kinyon, J. M.: Isolation of *Treponema hyodysenteriae* from wild rodents. J Clin Microbiol. 15. 994–997. 1982.
44. Jones, M.J., Miller, J.N., George, W.L.: Microbiological and biochemical characterization of spirochetes isolated from the feces of homosexual males. J Clin Microbiol. 24. 1071–1074. 1986.
45. Kanavaki, S., Mantadakis, E., Thomakos, N., Pefanis, A., Matsiota-Bernard, P., Karabela, S., Samonis, G.: *Brachyspira (Serpulina) pilosicoli* spirochetemia in an immunocompromised patient. Infection. 30. 175-177. 2002.
46. Karlsson M, Fellström C, Gunnarsson A, Landén A, Franklin A.: Antimicrobial susceptibility testing of porcine *Brachyspira (Serpulina)* species isolates. J Clin Microbiol. 41. 2596-2604. 2003.
47. Kassai T., Sréter T., Farkas R., Fok É.: Állatorvosi parazitológiai diagnosztika 2. kiadás. Állatorvostudományi Egyetem Jegyzet. Budapest 18-20. 1994.
48. Kinyon, J.M., Harris, D.L.: *Treponema innocens*, a new species of intestinal bacteria, and amended description of the type strain of *Treponema hyodysenteriae*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 29. 102–109. 1979.
49. Kouwenhoven, B.: Environment, husbandry, genetics and nutritional interactions in infectious diseases in poultry. In: York, J. (ed) Proc 10th Cong. World Vet. Poultry Assoc. Australian Veterinary Poultry Association, Sydney, Australia 113-126. 1993.

50. Körösi L: A baromfi egészséges emésztőszervrendszerének fenntartása (szóbeli közlés). 18. Derzsy Napok tudományos konferencia. Siófok, 2010. június 3-4.
51. Kunkle RA, Kinyon JM.: Improved selective medium for the isolation of *Treponema hyodysenteriae*. J Clin Microbiol. 26. 2357-2360. 1988.
52. La, T., Hampson, D.J.: Serologic detection of *Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae* infections. Anim Health Res Rev. 2. 45-52. 2001.
53. Lee, J.I., Hampson, D.J.: Intestinal spirochaetes colonizing aborigines from communities in the remote north of Western Australia. Epid and Inf. 109. 133–141. 1992.
54. Lee, J.I., Hampson, D.J., Lymbery, A.J., Harders, S.J.: The porcine intestinal spirochaetes: identification of new genetic groups. Vet Microbiol. 34. 273–285. 1993.
55. Lysons, R.J., Kent, K.A., Bland, A.P., Sellwood, R., Robinson, W.F., Frost, A.J.: A cytotoxic haemolysin from *Treponema hyodysenteriae*-a probable virulence determinant in swine dysentery. J Med Microbiol. 34. 97-102. 1991.
56. McLaren, A.J., Hampson, D.J., Wylie, S.L.: The prevalence of intestinal spirochaetes in poultry flocks in Western Australia. Aust Vet J. 74. 319-321. 1996.
57. Mikosza, A.S., Hampson, D.J.: Human intestinal spirochetosis: *Brachyspira aalborgi* and/or *Brachyspira pilosicoli*? Anim Health Res Rev. 2. 101-110. 2001.
58. Miller, D.A., Wilson, N.A., Kirkbride, C.A.: Evaluation of multivalent leptospira fluorescent antibody conjugates for general diagnostic use. J Vet Diagn Invest. 1. 146-149. 1989.
59. Molnár L.: A *Treponema hyodysenteriae* egyes tulajdonságai; kóroktani és járványtani szerepe. Védekezés a sertésdysentéria ellen. Kandidátusi értekezés. Magyar Tudományos Akadémia Tudományos Minősítő Bizottság. Budapest. 1985.
60. Muniappa, N., 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 Pathol. 33. 542-550. 1996.

61. Muniappa, N., Ramanathan, M.R., Tarara, R.P., Weterman, R.B., Mathiesen, M.R., Duhamel, G.E.: Attachment of Human and Rhesus *Serpulina pilosicoli* to Cultured Cells and Comparison with a Chick Infection Model. J. Spiro. Tick-borne Dis. 5. 44-53. 1998.
62. Neef, N.A., Lysons, R.J., Trott, D.J., Hampson, D.J., Jones, P.W., Morgan, J.H.: Pathogenicity of porcine intestinal spirochetes in gnotobiotic pigs. Infect and Immun. 62. 2395–2403. 1994.
63. Nemes Cs., Glávits R., Dobos-Kovács M., Ivanics É., Kaszanyitzky É., Beregszászi A., Szeredi L., Dencső L.: Typhlocolitis associated with spirochaetes in goose flocks. Avian Pathol. 35. 4-11. 2006.
64. Nuessen, M.E, Joens, L.A., Glock, R.D.: Involvement of lipopolysaccharide in the pathogenicity of *Treponema hyodysenteriae*. J Immunol., 131. 997-999. 1983.
65. Oxberry, S.L., Trott, D.J., Hampson, D.J.: *Serpulina pilosicoli*, waterbirds and water: potential sources of infection for humans and other animals. Epidemiol. Infect. 121. 219-225. 1998.
66. Paster, B.J., Dewhirst, F.E.: Phylogenetic foundation of spirochetes. J Mol Microbiol Biotechnol. 2. 341-344. Review. 2000.
67. Phillips, N.D., La, T., Hampson, D.J.: Survival of intestinal spirochaete strains from chickens in the presence of disinfectants and in faeces held at different temperatures. Avian Pathol. 32. 639-643. 2003.
68. 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. 116. 239-245. 2006.
69. Rafai P, Pettersson H, Bata A, Papp Z, Glávits R, Tuboly S, Ványi A, Soós P.: Effect of dietary T-2 fusariotoxin concentrations on the health and production of white Pekin duck broilers. Poult Sci. 79. 1548-1556. 2000.
70. Rasback, T., Johansson, K.E., Jansson, D.S., Fellstöm, C., Alikhani, M.Y., La, T., Dunn, D.S., Hampson, D.J.: Development of a multilocus sequence typing scheme

- for intestinal spirochetes within the genus *Brachyspira*. Microbiol. 153. 4074-4087. 2007.
71. 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. 40. 2598-2600. 2002.
72. Rosenstein, Y., Lafarge-Frayssinet, C.: Inhibitory effect of Fusarium T2-toxin on lymphoid DNA and protein synthesis. Toxicol Appl Pharmacol. 70. 283-288. 1983.
73. 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. 36. 282–289. 1992.
74. Sályi G., Glátvits R.: A barbari kacsza kísérletesen előidézett T-2 toxikózisa. Magyar Állatorv. Lapja. 50. 202-208. 1995.
75. Schiefer, H.B., Beasley, V.R.: Effects of T-2 toxin on the digestive system and energy metabolism. In: Trychotecene Mycotoxicosis: Pathophysiologic Effects. Vol. II. Beasley VR. (ed), CRC Press, INC. Boca Raton, FL. 61-89. 1989.
76. Shlosberg, A., Klinger, Y., Malkinson, M.: Mycotoxin detection using a Muscovy duckling bioassay. Vet Rec. 114. 387. 1984.
77. Smit, H.F, Dwars, R.M., Davelaar, F.G., Wijtten, G.A.: Observations on the influence of intestinal spirochaetosis in broiler breeders on the performance of their progeny and on egg production. Avian Pathol. 27. 133-141. 1998.
78. Sneath, P., Sokal, R.: Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification. W.H. Freeman, San Francisco. 1973.
79. Sorvari, T., Sorvari R., Ruotsalainen P., Toivanen A., Toivanen P.: Uptake of environmental antigens by the bursa of Fabricius. Nature 253. 217–219. 1975.
80. Stanton, T.B, Fournié-Amazouz, E., Postic, D., Trott, D.J., Grimont, P.A., Baranton, G., Hampson, D.J., Saint Girons, I.: Recognition of two new species of intestinal

spirochetes: *Serpulina intermedia* sp. nov. and *Serpulina murdochii* sp. nov. Int J Syst Bacteriol. 47. 1007-1012. 1997.

81. Stanton, T.B., Lebo, D.F.: *Treponema hyodysenteriae* growth under various culture conditions. Vet Microbiol. 18. 177-190. 1988.
82. Stanton, T.B., Postic, D., Jensen, N.S.: *Serpulina alvinipulli* sp. nov., a new *Serpulina* species that is enteropathogenic for chickens. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 48. 669–676. 1998.
83. Stanton, T.B., Rosey, E.L., Kennedy, M.J., Jensen, N.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 Environ Microbiol. 65. 5028-5034. 1999.
84. Stephens, C.P., Hampson, D.J.: Intestinal spirochaete infections in chickens: a review of diseases associations, epidemiology and control. Anim Health Res Rev. 2. 101-110. 2001.
85. Stephens, C.P., Hampson, D.J.: Experimental infection of broiler breeder hens with the intestinal spirochaete *Brachyspira (Serpulina) pilosicoli* causes reduced egg production. Avian Pathol. 31. 169-175. 2002.
86. Stephens, C.P., Oxberry, S.L., Phillips, N.D., La, T., Hampson, D.J.: The use of multilocus enzyme electrophoresis to characterise intestinal spirochaetes (*Brachyspira* spp.) colonising hens in commercial flocks. Vet Microbiol. 107. 149-157. 2005.
87. Stoutenburg, J.: Studies of intestinal spirochetes in avian species. M. S. Thesis, Ohio State University: Coulmbus, OH. 1993.
88. Süveges T.: A sertésdysenteria által okozott veszteségek csökkentésének lehetőségei. Magy. Állatorv. Lapja, 7. 409-415. 2002.
89. 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. 36. 776-781. 1992.

90. 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.* 63. 430-436. 1995.
91. Swayne, D.E., McLaren, A.J.: Avian intestinal spirochaetes and avian intestinal spirochaetosis. In: D.J. Hampson, T.B. Stanton (Eds) *Intestinal Spirochaetes in Domestic Animals and Humans*. CAB International, Wallingford, United Kingdom. 267–300. 1997.
92. Tamura, K., Nei, M., Kumar, S.: Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101. 11030-11035. 2004.
93. Taylor, M.J., Pang, V.F., Beasley, V.R.: The Immunotoxicity of trichotecene mycotoxins. In: *Trichotecene Mycotoxicosis: Pathophysiologic Effects*. Vol. II. Beasley VR. (Ed), CRC Press, INC. Boca Raton, FL., 1-37. 1989.
94. Taylor, D.J., Simmons, R.R., Laird, J.M.: Production of diarrhoea and dysentery in pigs by feeding pure cultures of a spirochaete differing from *Treponema hyodysenteriae*. *Vet Rec.* 106. 324–332. 1980.
95. Townsend, K.M., Giang, V.N, Stephens, C., Scott, P.T. and Trott, D.J.: Application of nox-restriction fragment length polymorphism for the differentiation of *Brachyspira* intestinal spirochetes isolated from pigs and poultry in Australia. *J Vet Diag Invest.* 17. 103–109. 2005.
96. Trampel, D.W., Jensen, N.S., Hoffman, L.J.: Cecal spirochetosis in commercial laying hens. *Avian Dis.* 38. 895-898. 1994.
97. Trivett-Moore, N.L., Gilbert, G.L., Law, C.L., Trott, D.J., Hampson, D.J.: Isolation of *Serpulina pilosicoli* from rectal biopsy specimens showing evidence of intestinal spirochetosis. *J Clin Microbiol.* 36. 261-265. 1998.
98. Trott, D.J., Hampson, D.J.: Evaluation of day-old specific pathogen-free chicks as an experimental model for pathogenicity testing of intestinal spirochaete species, *J Comp Pathol.* 118. 365-381. 1998.

99. Trott, D.J., McLaren, A.J., Hampson, D.J.: Pathogenicity of human and porcine intestinal spirochetes in one-day-old specific-pathogen-free chicks: an animal model of intestinal spirochetosis. *Infect Immun.* 63. 3705-3710. 1995.
100. Ványi A, Glávits R, Bata A, Kovács F.: Pathomorphological changes caused by T-2 trichothecene fusariotoxin in geese. *Acta Vet Hung.* 42. 447-457. 1994.
101. Varga, J: Sertésdysenteria In: Varga J., Tuboly S., Mészáros J. (szerk.): A háziállatok fertőző betegségei. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 228-232. 1999.
102. Whipp, S.C., Robinson, I.M., Harris, D.L., Glock, R.D., Matthews, P.J., Alexander, T.J.: Pathogenic synergism between *Treponema hyodysenteriae* and other selected anaerobes in gnotobiotic pigs. *Infect Immun.* 26. 1042-1047. 1979.
103. Wood, E.J., Seviour, R.J., Siddique, A.B., Glaisher, R.W., Webb, R.I., Trott, D.J.: Spherical body formation in the spirochaete *Brachyspira hyodysenteriae*. *FEMS Microbiol Lett.* 259. 14-19. 2006.

9. A doktori kutatás eredményeinek közzélései

9.1 Lektorált tudományos folyóiratban megjelent publikációk

1. Glávits R., Ivanics É., Nemes Cs., Dán Á., Kaszanyitzky É., Samu P., **Thuma Á.**, Beregszászi A., Simon A., Aladics S., Berta P., Dobos-Kovács M.: Vizsgálatok és megfigyelések a liba, kacsá, és a házityúk intestinalis spirochaetosisáról (brachyspirosisáról) a sertésdysenteriával összehasonlítva. Magyar Állatorvosok Lapja. 2008. 130. 663-670.
2. Ivanics É., Glávits R., **Thuma Á.**, Simon A., Berta P., Kaszanyitzky É., Samu P., Dencső L., Ursu K., Dán Á.: Intestinalis spirochaetosis (Brachyspirosis) hazai tojtyúk-állományokban. Magyar Állatorvosok Lapja. 2009. 131. 323-330.
3. Glávits R., Ivanics É., **Thuma Á.**, Kaszanyitzky É., Samu P., Ursu K., Dencső L., Dán Á.: Typhlocolitis associated with spirochaetes in duck flocks. Avian pathology. 2011. 40(1). 23-31
4. **Thuma Á.**, Dán Á., Kaszanyitzky É., Fazekas B., Tóth Á., Glávits R.: Experimental inoculation of day-old ducks with *Brachyspira pilosicoli* and *B. alvinipulli*. Acta Veterinaria Hungarica. 2011. 59(2). 165-174.
5. **Thuma Á.**, Ivanics É., Kaszanyitzky É., Dán Á., Glávits R.: Brachyspira fertőzöttség vizsgálata növendékkacsa-állományokban. Magyar Állatorvosok Lapja. 2011. 133. 464-470

9.2 Kutatási témában tartott előadások

1. Glávits Róbert, Ivanics Éva, Nemes Csaba, Dán Ádám, Kaszanyitzky Éva, Samu Péterné, **Thuma Ákos**, Beregszászi Anikó, Simon Anna, Aladics Sándor, Dobos-Kovács Mihály: Vizsgálatok és megfigyelések a liba, a kacsá és a házityúk intestinalis spirochaetosisáról (brachyspirosisáról) a sertésdysenteriával összehasonlítva. 16. Derzsy Napok tudományos konferencia. Zalakaros, 2008. június 5-6.
2. **Thuma Ákos**, Dán Ádám, Juhászné Kaszanyitzky Éva, Dencső László, Fazekas Béla, Glávits Róbert: Naposkacsák kísérletes fertőzése *Brachyspira pilosicolival* illetve *B. alvinipullival*. MTA Akadémiai beszámoló. 2010. jan. 26.
3. **Thuma Ákos**, Ivanics Éva, Dán Ádám, Juhászné Kaszanyitzky Éva, Glávits Róbert: Brachyspira fertőzöttség vizsgálata növendékkacsa-állományokban. MTA Akadémiai beszámoló. 2010. jan. 26.

4. Ivanics Éva, Glávits Róbert, Bistyák Andrea, **Thuma Ákos**, Ping József: Víziszárnyasok bélgyulladásai. 18. Derzsy Napok tudományos konferencia. Siófok, 2010. június 3-4.
5. **Thuma Ákos**, Dán Ádám, Juhászné Kaszanyitzky Éva, Samu Péterné, Glávits Róbert: Naposkacsák és naposcsibék kísérletes fertőzése különböző állatfajokból izolált *B. hyodysenteriae* törzsekkel. MTA Akadémiai beszámoló. 2011. jan. 25.
6. **Thuma Ákos**, Ivanics Éva, Dán Ádám, Juhászné Kaszanyitzky Éva, Glávits Róbert: A kacska és a házityúk intestinalis spirochaetosisának (brachyspirosisának) vizsgálata. MOÁE - Baromfiegészségügyi társaság szakülés. 2011. dec. 08.

9.3 Egyéb kutatási témán kívüli publikációk

1. Janzsó G., Valcz G., **Thuma Á.**, Szőke B., Lendvai Zs., Ábrahám H., Kozicz T., Halasy K.: Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptide-immunopositive neuronal elements in the lateral septum: Rostrocaudal distribution in the male rat. *Brain Research*. 2010, 1362, Pages 40-47.

9.4 Egyéb kutatási témán kívüli előadások

1. Ivanics Éva, Makrai László, Bálint Ádám, Punczman Tamás, Szentpáli-Gavallér Katalin, **Thuma Ákos**, Glávits Róbert: Egy hazai csirkeállományban jelentkező tömegesen előforduló conjunctivitis kóroktanának vizsgálata. MTA Akadémiai beszámoló. 2011. jan. 25.
2. Ivanics Éva, Benyeda Zsófia, Benyeda János, Nagy Gyula, Dán Ádám, Tóth Ádám, Bálint Ádám, Palya Vilmos, **Thuma Ákos**, Glávits Róbert: Hepatitis E vírus okozta betegség hazai tojtyúk állományokban. MTA Akadémiai beszámoló. 2011. jan. 25.
3. Ivanics Éva, Makrai László, Bálint Ádám, Szentpáli-Gavallér Katalin, Punczman Tamás, **Thuma Ákos**, Glávits Róbert: Tömeges és tartós conjunctivitis baromfiállományban. 19. Derzsy Napok tudományos konferencia. Sárvár, 2011. június 2-3.

10. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek **Dr. Glávits Róbert**nek, a témában nyújtott segítőkészségéért, hálával tartozom neki és **Dr. Ivanics Évának**, hogy megmutatták a baromfi járványtan szépségeit. Utat mutattak és mutatnak a napi rutin diagnosztikai és az azt kiegészítő alkalmazott kutatói munka során. Köszönöm, hogy megismertették és megszeretették velem a baromfidiagnosztikát.

Köszönöm a **Dr. Tekes Lajos** nyugalmazott, és **Dr. Abonyi Tamás** intézeti igazgatónak, hogy anyagi és szakmai lehetőséget adott a kutatás elvégzéséhez.

Köszönöm laboratórium vezetőmnek **Dr. Fazekas Bélának** az adminisztratív munka és a takarmányozás kísérlet során nyújtott segítséget.

Külön hálámat fejezem ki **Dr. Dán Ádámnak**, hogy megmutatta a molekuláris diagnosztika szépségét, és neki valamint **Ottinger Ernő**nének, hogy a felmerülő nehézségek ellenére magas szakmai színvonalon elvégezték a szükséges vizsgálatokat.

Köszönöm **Dr. Juhászné Kaszanyitzky Éva** és **Dr. Samu Péterné** segítségét a bakteriológiai munka kapcsán.

Köszönetet érdemel **Ráczné Mészáros Ágnes** az immunhisztokémiai reakciók gyors és szakszerű kivitelezéséért.

Hálával tartozom **Kempa-Tóth Angélának**, **Markovics Juditnak** és **Képiróné Szabó Ildikónak**, hogy a kórbonctani és bakteriológiai mintavételekkor segítségemre voltak.

Köszönöm barátomnak **Dr. Szentpáli-Gavallér Katalinnak**, hogy állatfertőzésekkor segített, valamint, hogy rendelkezésemre bocsátott SPF tojásokat a kísérleteimhez.

Dr. Tóth Ádámnak köszönöm a molekuláris biológiai és angol szakfordítói tevékenységét.

Dr. Pogány Károly, **Dr. Simon Anna**, **Dr. Berta Péter**, **Dr. Aladics Sándor**, **Dr. Szilvási György** állatorvosoknak a részletes járványtani adatokért, valamint **Dr. Vass Istvánnak**, hogy teleplátogatással egybekötött konzultációt biztosított. Nélkülük a járványtani vizsgálat elképzelhetetlen lett volna.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm **családomnak** a támogatását.