

Comparative
pathomorphology of
highly pathogenic avian
influenza (H5N8) infection
in Hungary during the
2016-17 outbreak

Á. Thuma*
Á. Dán
Zs. Rónai
K. Ursu
K. Erdélyi
Á. Bálint
D. Szalay
É. Gyuris

NÉBIH-ÁDI,

H-1143 Budapest, Tábornok u. 2.

*e-mail: thuma.akos@gmail.com

A 2016-17-ben Magyarországon előfordult magas patogenitású H5N8 madárinfluenza összehasonlító patomorfológiája

Thuma Ákos*, Dán Ádám, Rónai Zsuzsanna, Ursu Krisztina,
Erdélyi Károly, Bálint Ádám, Szalay Dóra, Gyuris Éva

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők a 2016–2017-ben jelentkező magas patogenitású H5N8 madárinfluenza-járvány során megbetegedett, elhullott, és laboratóriumi körülmények között megvizsgált valamennyi, nagyüzemi körülmények között tartott házibaromfifaj kórbonctani, kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálatának összehasonlító eredményeiről számolnak be. A vizsgálatok során – a nemzetközi szakirodalommal összhangban – megállapították, hogy a megbetegedés a vízibaromfi-fajokban (lúd, kacska) jellegzetes, a tyúkfélékben (házityúk, pulyka) pedig szegényes kórbonctani elváltozásokat eredményez. Kórszövettani vizsgálatokkal valamennyi fajban kimutatható volt a vírusfertőzésre utaló agyvelő-elváltozás. Összességében elmondható, hogy bár a madárinfluenza kórjelzésének alapja a vírus direkt kimutatása, a telepi és a laboratóriumi diagnosztikához is elengedhetetlen a betegség patomorfológiai ismerete.

SUMMARY

Background: Highly pathogenic avian influenza occurs from time to time in Hungary. The latest H5N8 outbreak during 2016-17 was especially devastating for the poultry industry.

Objectives: The aim of this study is to summarize the comparative results of the pathomorphological examinations of infected birds during this outbreak, and also to provide up to date information for field veterinarians and poultry industry vets.

Materials and Methods: Extensive pathological, histopathological and immunohistochemical examinations were carried out on H5N8 highly pathogenic avian influenza cases from each economically important poultry species that were submitted to our laboratory during the 2016-2017 outbreaks in Hungary. A range of organs was tested by PCR for HPAIV presence and sera of infected birds were tested by haemagglutination inhibition.

Results and discussion: The involved H5N8 HPAI strain caused a disease with pronounced pathological lesions in waterfowl (goose, duck) and poor pathological lesions in gallinaceous birds (hen, turkey). The brain lesions related to viral infection were found in every species by histopathological examination and the specific virus protein was detected by immunohistochemistry. Microscopic lesions in the liver and pancreas were of major significance in the post mortem diagnostics of the disease in waterfowl. Viral nucleic acid was detected in every organ examined, but serological examinations yielded negative results in every case as expected. In summary, although the ultimate diagnosis of avian influenza should be based on direct detection of the virus, pathomorphological knowledge of the disease is essential in both field and laboratory diagnostics.

BAROMFI

A magas patogenitású madárinfluenza (highly pathogenic avian influenza; HPAI) egy viszonylag régóta tisztázott kóroktanú, világszerte előforduló, baromfira nézve jellemzően nagy ragályozó képességű betegség. A XXI. században Magyarországon a betegség a figyelem középpontjába 2006–2007-ben került. Abban az időszakban két hullámban jelentkezett a H5N1 madárinfluenza-megbetegedés (AI) házibaromfiban (4). Ezt követően szűk egy évtizedig járványmentes időszak volt, majd a H5N8 vírus okozta betegség először 2015 februárjában jelent meg Békés megyében (1). Jelen dolgozat alapjául az ezt követően másfél évvel, 2016 novemberében induló H5N8 madárinfluenza járvány szolgál. Írásunkkal célul tűztük ki, hogy a gyakorlatban baromfival dolgozó szakemberek diagnosztikai ismereteit és jövőbeli munkáját segítsük.

A H5N8 madárinfluenza-vírus okozta betegség először 2015 februárjában jelent meg Békés megyében

H5N8 madárinfluenzában elhullott házibaromfi-tetemek összehasonlító patológiai vizsgálatát végezték el

Kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálatokat is végeztek

Minden esetben történt molekuláris biológiai és szerológiai vizsgálat is

ANYAG ÉS MÓDSZER

KÓRBONCTAN

A vizsgálatok alapját a 2016. november és 2017. április között a NÉBIH-ÁDI-ba beküldött magas patogenitású H5N8 madárinfluenzában elhullott házibaromfi-tetemek képezték. Az említett időszakban összesen 197 madárinfluenza-pozitív nagyüzemi házibaromfi-eset került feldolgozásra ebből 128 kacsá-, 54 liba-, 4 kacsá- és liba-, 6 pulyka-, 5 tyúkállományból érkezett. Valamennyi vizsgálati eset összes egyedét (esetenként 1–10 állat) a szakma szabályai szerinti kórbonctani vizsgálatnak vetették alá. A kórbonctani eredményként az esetek túlnyomó többségében jelen lévő elváltozásokat mutatjuk be.

KÓRSZÖVETTAN, IMMUNHISZTOKÉMIA

A dolgozatban bemutatott kórszövettani és immunhisztokémiai minták az adott faj első madárinfluenza-járványkitöréséből származó esetek állatmintáiból származnak (fajonként $n = 5$). Esetenként agyvelő-, máj-, szív-, hasnyálmirigy-, vese-, tüdő-, légcső- és éhbélmintákat gyűjtöttünk, amelyeket 10%-os puffertelt formalin-oldatban fixáltuk, paraffinba ágyasztuk és a 4 μm vastagságú metszeteket hematoxilinnel és eozinnel festettük meg.

A madárinfluenza vírusára (AIV) specifikus antigéneket indirekt immunhisztokémiai reakcióval mutattunk ki. Az említett vastagságú, festetlen szervmetszeteket 0,1%-os proteínáz-enzimes feltárást követően 1 : 6000 hígítású nukleoprotein-specifikus monoklonális ellenanyaggal (HYB 340-05, Statens Serum Institut, Denmark) inkubáltuk 12 órán át. Az antigén-ellenanyag reakciót jelölt tormaperoxidáz polimerrel (EnVision™ plus anti-mouse HRP, DAKO) mutattuk ki.

MOLEKULÁRIS BIOLÓGIA

A járvány során a betegség oktani diagnózisának felállításához minden esetben molekuláris biológiai vizsgálatokat végeztünk. A szervekből (agyvelő, máj, hasnyálmirigy, szív, lép, vese, tüdő, légcső, vakbél elágazódásnál található Peyer-plakk, tolltüsző) a virális RNS-t MagAttract Virus Mini M48 Kit használatával (QIAGEN) King Fisher 96 Flex (Thermo Scientific) géppel vontuk ki. A vírus hemagglutinint kódoló génszakaszának kimutatásához valós idejű reverz tranzkriptáz PCR rendszert alkalmaztunk (5, 6).

SZEROLÓGIA

A madárinfluenza vírusa képes agglutinálni a tyúk-vörösvérsejteket, amely jelenség a kórokozó elleni specifikus ellenanyagokkal gátolható. A madarak szervezetében termelődött ellenanyagok kimutatására a Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (OIE 2015) által meghatározott haemagglutináció-gátlási próbát végeztünk. A baromfi-vérsavót a megfelelő haemagglutináló egységnyi refe-

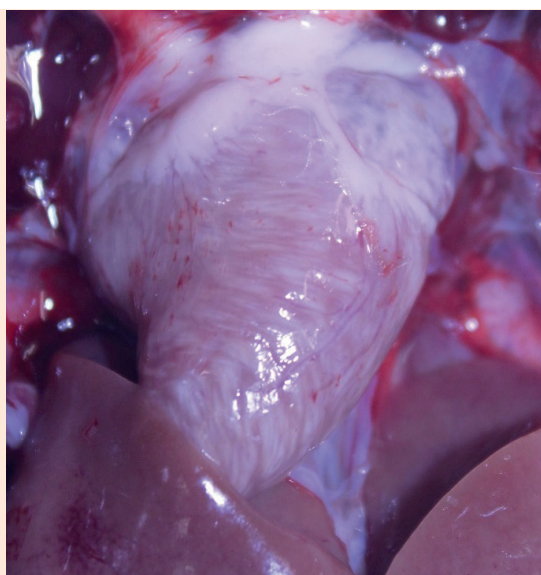
rens H5N8 (APHA, Weybridge, UK) antigénnel és SPF tyúkvörösvérsejt-szuspenzióval reagáltatva vizsgáltuk. A reakció eredményeként kialakuló haemagglutinációból, ill. annak hiányából olvastuk le és számoltuk ki a titerértéket.

EREDMÉNYEK

Kacsákban jellemző volt a „tigrisszív”, a vérzéses jellegű májfajulás és a hasnyálmirigy érintettsége

KACSA

A belső kórbonctani vizsgálat során a leginkább szembevetülő elváltozás a szívizomzat jellemző rajzolatú zonális elfajulása volt az ún. „tigrisszív” (1. ábra). Ezen kívül jellemző volt a máj vérzésekkel tarkított diffúz elfajulása (2. ábra), a hasnyálmirigyben elszórtan megjelenő elhalásos góccok, vagy vérzések, valamint enyhe lépduzzanat, bélhurut és a tüdőödéma. Megjegyzendő, hogy a járvány során a pekingi kacsá, ill. a hibrid mulard kacsák is érintettek voltak, és ezekben az állatokban a kórbonctani kép megegyező volt. Az egyes fajokként talált elváltozásokról és mértékükről az 1. táblázat ad információt.



1. ÁBRA. Házikacsa szívizomzatának multiplex zonális károsodása („tigrisszív”)



2. ÁBRA. Házikacsa májának megnagyobbodása, és a fakó, elfajult területeken különböző méretű vérzések láthatóak

FIGURE 1. Zonal degeneration of the hearth muscle in a domestic duck

FIGURE 2. Pale and enlarged liver with petechial haemorrhages in domestic duck

1. TÁBLÁZAT. Fajonként összefoglalt kórbonctani elváltozások

TABLE 1. Comparative pathological lesions in different poultry species

	Máj	Hasnyálmirigy	Szívburok	Szívizomzat	Bélcsatorna
Tyúk	-	-	-	-	-
Pulyka	-	+/-	+/-	-	-
Lúd	+++	+	++	-	+/-
Kacsa	++	+	+	++	-

Jelmagyarázat:

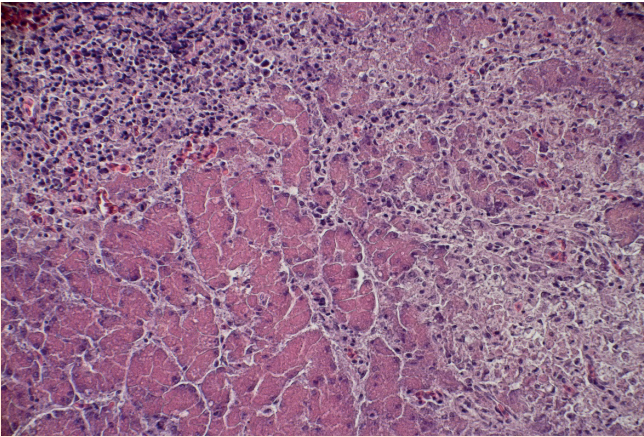
- nincs elváltozás
+/- következtelen elváltozás
+ enyhe/gócos elváltozás
++ közepes mértékű/zonális elváltozás
+++ súlyos fokú/diffúz elváltozás

Legend:

- no lesion
+/- inconsistent lesions
+ mild/focal lesions
++ moderate/zonal lesions
+++ severe/diffuse lesions

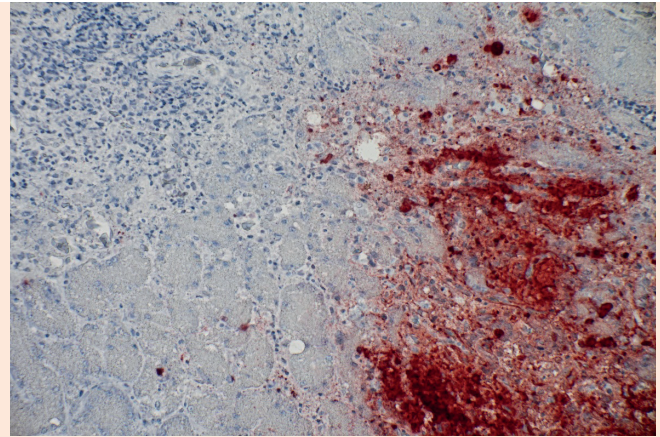
Az agyvelőben fokális gliosissal kísért multiplex gócos lymphohistiocytás meningoencephalitis volt látható

Kórszövettani vizsgálattal az agyvelőben fokális gliosissal kísért multiplex gócos lymphohistiocytás meningo-encephalitist, a májban heveny vérzésekkel, elhalásokkal és lymphohistiocytás beszűrődéssel tarkított savós májgyulladást, a hasnyálmirigyben körülírt elhalásos területeket és lymphohistiocytás beszűrődést (3A. ábra), a szívben egy-egy izomrost-kötegre kiterjedő zonális izomfajulást és csak minimális reaktív gyulladásosejtes beszűrődést lehetett megfigyelni. A vesékben és az éhbélben nem figyeltünk meg specifikus elváltozásokat (egyik vizsgált baromfifajban sem). A fajoként talált mikroszkópos elváltozások mértékéről a 2. táblázat nyújt információt.



3A. ÁBRA. Egyszerre jelentkező gyulladás (bal felső sarok) és elhalás (jobb alsó sarok) házikacsa hasnyálmirigyében
H.-E., 200×

FIGURE 3A. Simultaneous occurrence of inflammation (top left side) and necrotic areas (bottom right) in the pancreas of a domestic duck



3B. ÁBRA. Nagy mennyiségű vírusantigén látható lúd hasnyálmirigyének elhalt területén és minimális a gyulladásosejtes területen
IHC, 200×

FIGURE 3B. Large amounts of viral antigen can be detected in the necrotic areas but minimal amounts are present in areas with inflammation in the pancreas of a goose

2. TÁBLÁZAT. Fajonként összefoglalt kórszövettani elváltozások

TABLE 2. Comparative histopathological lesions in different poultry species

	Agyvelő	Máj	Hasnyálmirigy	Szívizomzat	Tüdő	Légcső
Tyúk	+	-	-	+	+/-	+/-
Pulyka	+	-	+/-	+	+/-	+/-
Lúd	++	+++	+	+	-	-
Kacsa	++	++	+	++	+/-	-

Jelmagyarázat:

- nincs elváltozás
+/- következtelen elváltozás
+ enyhe/gócos elváltozás
++ közepes mértékű/zonális elváltozás
+++ súlyos fokú/diffúz elváltozás

Legend:

- no lesion
+/- inconsistent lesions
+ mild/focal lesions
++ moderate/zonal lesions
+++ severe/diffuse lesions

A legkifejezettebb immunreakciót az agyvelőben, a szívizomrostokban és a tüdőben lehetett látni

A madárinfluenza-vírus antigénjét, ugyan különböző mennyiségben, de az összes vizsgált szervben kimutattuk. A legkifejezettebb reakciót az agyvelőben (a nagyagy- és a kisagyvelő idegsejtjeiben, gliasejtjeiben, ependymasejtjeiben egyaránt), kiterjedten a szívizomrostokban és a tüdőkből lehetett látni. Közepes mennyiségben a májsejtjeiben, a hasnyálmirigy elhalt területein (3B. ábra),

a bélcsatornában, kis mennyiségben pedig a vesében és a légcsövekben volt megfigyelhető vírusantigén. Az egyes szervekben talált antigénmennyiségeket a 3. táblázatban foglaltuk össze.

3. TÁBLÁZAT. Fajonként összefoglalt immunhisztokémiai reakciók

TABLE 3. Comparative immunohistochemical reactions in different poultry species

	Agyvelő	Máj	Hanyálmirigy	Vese	Szívizom	Tüdő	Légcső	Bélcsatorna
Tyúk	++	+	++	+	+++	++	+/-	++
Pulyka	++	+	++	+	+++	+++	-	++
Lúd	++	+++	++	+	++	++	+/-	++
Kacsa	+++	++	++	+/-	+++	+++	+/-	++

Jelmagyarázat:

- nincs reakció
+/- egy-egy esetben látható enyhe reakció
+ enyhe reakció
++ közepes mértékű/zonális reakció
+++ kiterjedt/diffúz reakció

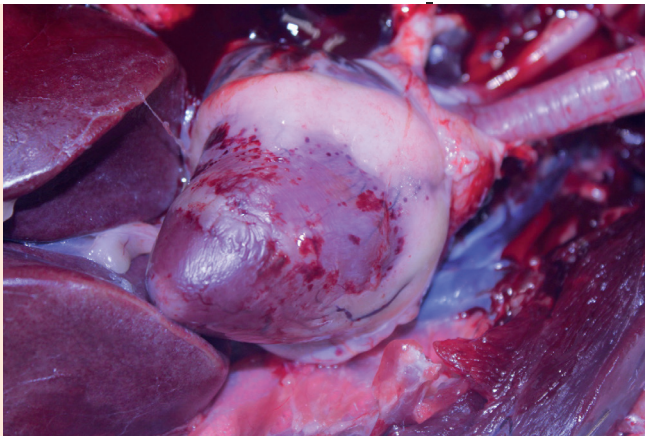
Legend:

- no AIV antigen
+/- sporadic, small amounts of AIV antigen
+ small amounts of AIV antigen
++ moderate AIV visualisation/zonal reaction
+++ large amounts of AIV antigen/diffuse reaction

Háziludakban a szívburok alatti vérzések voltak a legjellegzetesebbek

LÚD

Háziludakban (máj- és húshasznú végtermék-, valamint tenyészállományokban egyaránt) jellemzően a szívburok alatt pontszerű, ritkábban fröcskölésszerű vérzéseket (4. ábra), a duzzadt, fakó májban elszórtan vérzéseket, néhány esetben elhalásokat, a hasnyálmirigyben vérzéseket vagy elhalásokat (5. ábra), továbbá egyes esetekben vérzésses vékonybél-gyulladást, vagy a fej bőr alatti kötőszövetének és a lágyagyburok bővérűségét lehetett látni. Néhány állatban megfigyelhető volt pontszerű vérzés a hasúri zsírszövetben.



4. ÁBRA. Különböző kiterjedésű vérzések házilúd szívburka alatt

FIGURE 4. Haemorrhages under the epicardium in goose



5. ÁBRA. Nagyszámú, összefolyó vérzésses, elhalásos góccok házilúd hasnyálmirigyében

FIGURE 5. Multifocal necrosis in the pancreas of a goose

Kórszövettani vizsgálattal a kacsákhoz hasonlatos mikroszkópos elváltozásokat lehetett megfigyelni

Kórszövettani vizsgálattal a kacsákhoz hasonlatos mikroszkópos elváltozásokat lehetett megfigyelni: lymphohistiocytás meningoencephalitist, elhalásos-vérzésses-savós májgyulladást és hasnyálmirigy-gyulladást. A szívizom kórszövettani képét tekintve – a kacsákban látottakhoz képest jóval enyhébb – elszórtan egy-egy szívizomsejtet érintő elfajulást lehetett csak látni.

A legintenzívebb immunreakciót a májban találták

Pulykában csak jellegtelen kórbonctani elváltozásokat figyeltek meg

Nagy intenzitású immunreakciót lehetett látni a szívizomzatban és a tüdőben

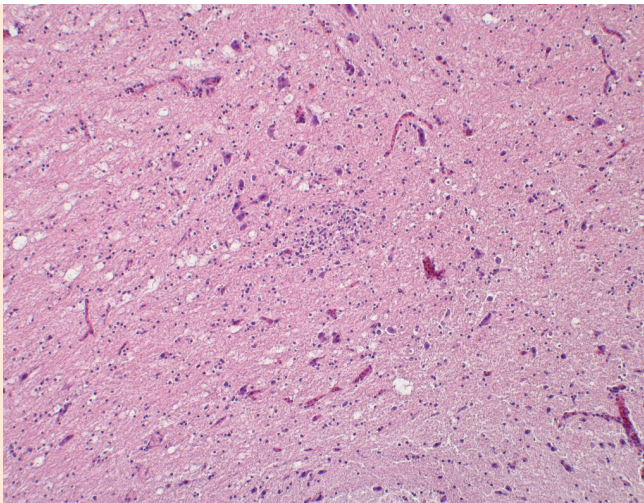
A legintenzívebb immunreakciót a májban találtuk. Közepes reakciót mutatott az agyvelő, a hasnyálmirigy, a vese, a szívizom és a tüdő. A légcsőmintákban elhanyagolható mennyiségben volt jelen a vírusantigén.

PULYKA

A kórbonctani képet a – jellegtelen – heveny általános vérkeringési zavar határozta meg: enyhe lépduzzanat, májduzzanat (felismerhető homogén szerkezettel), veseduzzanat, bélhurut, tüdőödéma. Csupán néhány állatban volt megfigyelhető pontszerű vérzés a szívburok alatt és a hasúri zsírszövetben, szintén csak elvétve látható elváltozásként említhető meg a gócos, elhalásos hasnyálmirigy-gyulladás vagy a fej bőr alatti kötőszövetének bővérősége.

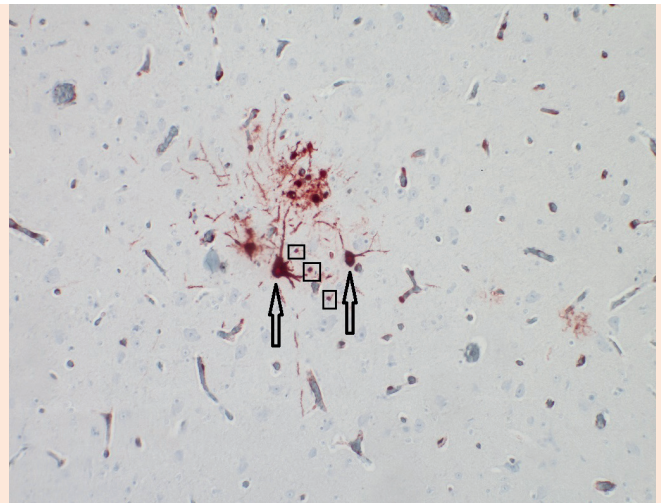
Kórszövettani vizsgálattal – a makroszkópos vizsgálatokat megerősítve – a szervekben erőteljes vérkeringési zavart lehetett látni. Az agyban gliosissal kísért lymphohistiocytás encephalitist (6. ábra), a vesetubulusok és a szívizomzatban a myocyták fokális elfajulását, valamint ritkán enyhe gócos lymphohistiocytás légcső- és interstitialis tüdőgyulladást is meg lehetett figyelni.

Nagy intenzitású immunreakciót lehetett látni a szívizomzatban és a tüdőben. Közepes reakció volt az agyvelőben (7. ábra), májban és hasnyálmirigyben. A légcsőmetszetekben nem találtunk látható reakciót.



6. ÁBRA. Gócos gliasejt-prolifерáció pulyka nagyagyvelőjében H.-E., 100x

FIGURE 6. Focal glial cell proliferation in the cerebrum of a turkey



7. ÁBRA. Nagy számú víruspozitív neuronok (↑) és gliasejtek (□) a pulyka nagyagyvelőjében (IHC, 200x)

FIGURE 7. Large numbers of antigen-positive neurons (↑) and glial cells (□) in turkey cerebrum

Tojótýúkban sem voltak jellegzetes kórbonctani elváltozások

HÁZITYÚK

Madárinfluenzában elhullott, nagyüzemi körülmények között tartott tojótýúkban (egyaránt árutojás hasznosítású és húshasznú tenyészállományokban) specifikus kórbonctani elváltozást nem lehetett látni, csupán heveny általános vérkeringési zavart (sokkot): a parenchymás szervek bővérőségét, tüdőödémát, bélhurutot és az agyburok ereinek a kitágultságát.

Kórszövettani vizsgálatok és az immunhisztokémiai lelet a pulykával közel megegyező volt, azaz vírusos agyvelőgyulladás, szívizomsejt-károsodás, ritkán enyhe interstitialis tüdőgyulladás.

Valamennyi faj esetében, az összes szervből, molekuláris módszerekkel, kimutatható volt a vírusnukleinsav

Kacsában az utóbbi évek három influenza-járványkitörése mindig eltérő patológiai összképet mutatott

Lúdban a kórbonctani lelet hasonló volt a heveny baromfikolera során látottakhoz

Házityúokban és pulykában a makroszkópos elváltozások általában nem utalnak a betegségre

Valamennyi faj esetében, az összes szervből, molekuláris módszerekkel, kimutatható volt a vírusnukleinsav (agyvelő, máj, vese, bélcsatorna, tüdő, légcső, szívizomzat, hasnyálmirigy, tolltüsző). A heveny járványkitörésekből származó szerológiai vizsgálatok minden fajban negatív eredményt adtak.

MEGVITATÁS

Összességében elmondható, hogy az általunk látott madárinfluenza patomorfológiai megfigyelései összhangban állnak a többi európai járványkitörés során látottakkal (2). A laboratóriumunkban megvizsgált baromfitetemek döntő többsége – a járványmenttel összhangban – vízibaromfi volt. Mind kacsá, mind liba esetében elmondható, hogy a kórbonctani elváltozások karakteresek voltak. Tekintettel arra, hogy 2006-ban, 2015-ben és a jelen járványban is voltak házikacsa-esetek, így lehetőség adódott ezek morfológiai összehasonlítására, amelyet a 4. táblázat tartalmaz (1, 3). Gyakorlati szempontból a korábbi járványokkal ellentétben a makroszkópos elváltozások a mostani járvány során egyértelműen utaltak a betegségre, köszönhetően az ún. „tigrisszív” kórformának és az erőteljes vérzéses májelváltozásoknak. A jövőre nézve fontos megállapítás, hogy kacsában az utóbbi évek három influenza-járványkitörése során mindegyik esetben más-más morfológiai jellegzetességeket lehetett az állatokban megfigyelni.

Lúdban a kórbonctani lelet hasonlatos volt a heveny baromfikolera során látottakhoz, így baromfikolera (vagy egyéb túlheveny/heveny vérfertőzés) alkalmával mindig gondolni kell az influenzára is (a telepi diagnózisban segíthet az idegrendszeri tünetek megléte/hiánya).

Házityúokban és pulykában a makroszkópos elváltozások általában nem utalnak a betegségre, így ezekben a fajokban csak a klinikai tünetek és a jelentős arányú elhullás adja meg a telepi gyanú alapját. Pulykában és tyúokban a madárinfluenza morfológiailag nem különíthető el a baromfipestis túlheveny formájától sem, így általában indokolt ebben az irányban is laboratóriumi kizárást végezni.

4. TÁBLÁZAT. a különböző időpontokban lezajlott madárinfluenza összehasonlító klinikopatológiája házikacsában

TABLE 4. Comparative clinicopathology of avian influenza in domestic ducks at different outbreaks

Időpont	2006. július	2015. február	2016. november
Vírustípus	H5N1	H5N8	H5N8
Mortalitás	Nagy	nagy	nagy
Idegrendszeri tünetek	Van	van	van
Vérzések a szívburok alatt	+	+/-	+
Pancreas elváltozások	+	+/-	+
Májelváltozások	-	-	++
Agyvelő-elváltozások	+++	+++	++
Makroszkópos szívizom-elváltozások	-	-	++
Kórszövettani szívizom-elváltozások	++ (P+D)	+ (P)	++ (D)

Jelmagyarázat:

- nincs elváltozás
+/- következtelen elváltozás
+ enyhe/gócos elváltozás
++ közepes mértékű/zonális elváltozás
+++ súlyos fokú/diffúz elváltozás
P proliferatív elváltozások
D degeneratív elváltozások

Legend:

- no lesion
+/- inconsistent lesions
+ mild/focal lesions
++ moderate/zonal lesions
+++ severe/diffuse lesions
P proliferative lesions
D degenerative lesions

Kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálatokkal valamennyi fajban kimutatható volt az agyvelő vírusfertőzésre utaló elváltozása és a vírusantigén

A járványelfojtás után külön figyelmet kell fordítani a tollmaradványok teljes eltávolítására

Kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálatokkal valamennyi fajban kimutatható volt az agyvelő vírusfertőzésre utaló elváltozása és ezzel párhuzamosan a specifikus vírusfehérje is. Minden baromfiban látható volt a szívizomzat enyhébb (tyúk, pulyka, liba), vagy súlyosabb (kacsa) elfajulása, amely nem állt párhuzamban a kimutatott vírusantigén mennyiségével. Vízibaromfiban segítheti a kórjelzést a máj és a hasnyálmirigy mikroszkópos lelete, de pulykában és házityúkban a vírusantigén egyértelmű jelenléte ellenére általában nem látható kórjelző értékű mikroszkópos elváltozás.

Szerológiai vizsgálataink megerősítették, hogy a vérsavók vizsgálata a magas patogenitású madárinfluenza heveny kitörésének kórjelzéséhez nem megfelelő, ahhoz mindenképp direkt víruskimutatást kell alkalmazni. Molekuláris módszerekkel valamennyi vizsgált szervből sikerült a vírus örökítőanyagát kimutatni, külön említendő a tolltüszők ragályhordozó szerepe is, éppen ezért a járványelfojtás után külön figyelmet kell fordítani a tollmaradványok környezetből történő teljes eltávolítására is! Összességében elmondható, hogy bár a World Organization of Animal Health (OIE) ajánlása szerint is a madárinfluenza oktani diagnózisának alapja a vírus direkt kimutatása (<http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/avian-influenza-portal>), a telepi és a laboratóriumi diagnosztikához is elengedhetetlen a betegség patomorfológiai ismerete.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnénk köszönetet mondani MARKOVICS JUDITNAK és KÉPÍRÓNÉ SZABÓ ILDIKÓNAK a kórbonctani munka során nyújtott fáradhatatlan segítségéért. GÉGÉNYINÉ SVEDA ÉVÁNAK és LAKOSI SZILVIÁNAK a szövettani metszetek és immunhisztokémiai reakciók elvégzéséért, TURÁK JULIANNÁNAK az adminisztratív segítségéért.

IRODALOM

- BÁNYAI K. – BISTYÁK T. A. – THUMA Á. – GYURIS É. – URSU K. – MARTON SZ. – FARKAS SZ. – HORTOBÁGYI E. – BACSADI Á. – DÁN Á.: Neuroinvasive influenza virus A(H5N8) in fattening ducks, Hungary, 2015. *Infect. Genet. Evol.*, 2016. 43. 418–423
- BROWN, I. H. – MULATTI, P. et al.: Avian influenza overview October 2016–August 2017. *EFSA Journal*, 2017. 15. (10) e05018
- IVANICS É. – BÁLINT Á. – PÁLMAI N. – MÁRTON L. – DÁN Á. – URSU K. – SZEREDI L. – DEIM Z. – RIGÓ D. – TEKES L. – ZARKA P.: A madárinfluenza erősen virulens (H5N1 altípusú) vírustörzse okozta megbetegedések hazai liba- és kacsaállományokban. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2007. 129. 387–399.
- SZELECZKY Z. – DÁN Á. – URSU K. – IVANICS É. – KISS I. – ERDÉLYI K. – BELÁK S. – MULLER, C. P. – BROWN I. – BÁLINT Á.: Four different sublineages of highly pathogenic avian influenza H5N1 introduced in Hungary in 2006–2007. *Vet. Microbiol.*, 2009. 139. 24–33.
- SLOMKA, M. J. – PAVLIDIS, T. et al.: Validated H5 Eurasian real-time reverse transcriptase–polymerase chain reaction and its application in H5N1 outbreaks in 2005–2006. *Avian Dis.*, 2007. 51. 373–377
- SLOMKA, M. J. – PAVLIDIS, T. et al.: Validated RealTime reverse transcriptase PCR methods for the diagnosis and pathotyping of Eurasian H7 avian influenza viruses. *Influenza Other Respir. Viruses*, 2009. 3. 151–164.

Közlésre érck.: 2019. jan. 25.