

***Mycoplasma iowae* infection
in a commercial turkey farm**

Case report

Cs. Nemes^{1*}
Cs. Schvarcz²
E. Simonyai¹
J. Turbók¹
Yvon C.³
D. Grózner³
M. Gyuranecz^{3,4}

1. NÉBIH ÁDI Kaposvári
Állategészségügyi Diagnosztikai
Laboratórium
H-7400 Kaposvár, Cseri u. 18.

*nemescs@nebih.gov.hu

2. Magánállatorvos, Zalaszentgrót

3. MTA Agrártudományi
Kutatóközpont Állatorvos-
tudományi Intézet
Budapest

4. Állatorvostudományi Egyetem
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék
Budapest

***Mycoplasma iowae* fertőzés előfordulása egy előnevelt pulykaállományban Esetismertetés**

**Nemes Csaba^{1*}, Schvarcz Csaba², Simonyai Erika¹, Turbók Janka¹,
Yvon Cécile³, Grózner Dénes³, Gyuranecz Miklós^{3,4}**

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők egy dunántúli pulyka-előnevelő telepen történt *Mycoplasma iowae* fertőzés előfordulásáról számolnak be. A letelepítést követően a naposkori elhullás igen jelentős volt. Ennek hátterében döntően fejlődésben való visszamaradást, ill. kiszáradást állapítottak meg. Ezt követően már igen fiatal (9 napos) korban, majd végig az előnevelés időszakában csontosodási problémákat, döntően a tarsometatarsus rendellenes fejlődését és csavarodását, fejlődésben való visszamaradást és tollasodási zavart figyeltek meg. Az állományban a 9. naptól igazolták a *M. iowae* jelenlétét.

SUMMARY

Background: *M. iowae* is a well-known pathogen in poultry industry. The main economic loss caused by this pathogen is the reduction of hatchability due to embryonic death. There are few reports that have associated *M. iowae* with stunting, poor feathering and leg abnormalities including chondrodystrophy in commercial turkey farms.

Objectives: The aim of this report was presenting the pathological findings in a *M. iowae* infected commercial turkey farm and collecting data which influence the economic losses.

Materials and methods: The authors dissected turkeys according to laboratory standard method. During necropsy tissue samples were collected for histological examination. Bacteriological culturing was made from bone marrow, heart blood and liver. Faeces samples were examined by flotation technique. Faecal samples were also transferred to mycoplasma culture medium. The species level identification was carried out by real-time PCR.

Results and discussion: After settling the day-old mortality was very high. The poults were stunted and exsiccated. Later bone deformities (mainly the abnormal development and torsion of tarsometatarsus), uneven growth and poor feathering can be observed at the end of the brooding period in the flock. The presence of *M. iowae* can be detected by the ninth day of brooding period (earlier it was not examined). The main economic losses were due to the day-old mortality and the uneven growth. The observed gross lesions were identical as described by other authors.

A *Mycoplasma iowae* egyike a madarakban gazdasági jelentőséggel bíró mycoplasma-fajoknak. A kórokozó első leírása 1962-ből származik (16). Mivel a törzsek között jelentős antigénbeli variációk figyelhetők meg, a ma *M. iowae*-nak tekintett baktériumokat korábban hat külön szerotípusba (I, J, K, N, Q, R) sorolták (7). A molekuláris vizsgálatok kiderítették, hogy ezek a szerotípusok egy csoportot alkotnak, amit végül *M. iowae*-nak neveztek el (9). Egyedülálló abban a tekintetben, hogy predilekciós helye a bélcsatorna és nem a lég-, ill. a nemi utak nyálkahártyája. Természetes megbetegedést eddig csak pulyka-állományokban okozott. Alkalomszerűen más madárfajokból (csirke, lúd, vad és egzotikus madarak) is kimutatásra került, de ezekben való előfordulásának jelentősége nem ismert (1, 2, 12). A fertőzés pulykában bármely életkorban megereged, de klinikai tüneteket csak vertikálisan, vagy nagyon fiatalon, néhány napos korban horizontálisan fertőződött madarakban okoz. A vertikális fertőzés legjelentősebb következménye a keltethetőség romlása, a keltetési periódus végén (18–24 nap) jellemző embriómortalitás miatt. Korábban ezt tekintették a fertőzés egyetlen gazdasági kártételének (4). Kísérleti fertőzések kapcsán azonban a fertőzött állatokban fejlődésben való visszamaradást, tollasodási zavart, csontosodási problémákat is leírtak (3). Később ezeket az elváltozásokat természetes körülmények között is megfigyelték. A *M. iowae* hazai előfordulásáról évek óta rendelkezünk adatokkal. Klinikai tünetekben megnyilvánult jelentős veszteséget okozó fertőzésről, azonban eddig hazánkban nem számoltak be.

A *M. iowae* előnevelt pulykáknak okozhat klinikai megbetegedést

A vertikális, vagy naposkori fertőződés jelentős fejlődési zavarokat okozhat

ANYAG ÉS MÓDSZER

Egy dunántúli pulykanevelő telepről származó mintákat vizsgáltak

Egy dunántúli előnevelő telepre 21 ezer napos pulykát telepítettek. Az első vizsgálati anyagot a letelepítés után 3 nappal kaptuk. Az állományból további minták érkeztek az előnevelés 9. és 27. napján, ill. a nevelés végén a telepre helyszíni kiszállásra is sor került.

Az állatokat a Laboratóriumunkban szokásos protokoll szerint felboncoltuk.

A kórszövettani vizsgálatra gyűjtött szervmintákat 4%-os pufferolt formaldehid-oldatban fixáltuk, majd paraffin beágyazást követően 4 µm vastag metszeteket készítettünk, amelyeket hematoxilinnal és eozinnal festettünk meg.

A bakteriológiai vizsgálat során a napos állatok csontvelejéből, az idősebb állatok szívérből és májából steril oltókaccsal tripton–szója-agar (BIOLAB), Drigalszky-agar (BIOLAB) és Columbia–véresagar (BIOLAB) felületére oltottunk. A tenyészeteket 37°C-on normál, a véresagarokat 5% CO₂-t tartalmazó légkörben 48 órán keresztül inkubáltuk úgy, hogy az első bírálatot 24 óra múlva végeztük. A naposállatok vakbeléből a salmonella kimutatást az MSZ EN ISO 6579-1:2017 szabvány szerint végeztük.

A vizsgált állatokból vett kloákatampon-mintákat 2 ml Mycoplasma-táplevesbe (pH 7,8) oltottuk (Thermo Fisher Scientific Inc./Oxoid Inc., Waltham, MA, USA), és 37 °C-on, 5% CO₂ mellett színváltozásig inkubáltuk. Szilárd Mycoplasma-táptalajra szélesztve (Thermo Fisher Scientific Inc./Oxoid Inc., MA, USA) a látható telepek megjelenéséig tenyésztettük (37 °C, 5% CO₂), majd Mycoplasma-agarról egy telepet levesbe oltva elszaporítottuk a törzset, s így alacsony passzázsszámú színtenyészetet hoztunk létre. Az izolátumokat a DNS-kivonást követően (QIAamp DNA Mini Kit /Qiagen Inc., Hilden, Németország/) valós idejű PCR (polymerase chain reaction) segítségével azonosítottuk (14).

A flotációs parazitológiai vizsgálatához alkalmanként egyesített 3–5 g bélsármintát dúsítóoldattal (1200g/l cink-szulfát [VW International Kft.]) összekevertünk. Az így kapott szuszpenziót 1 mm pórusátmérőjű szitán centrifugacsőbe mostuk. A csövet 1500/perc fordulatszámon három percig centrifugáltuk. A folyadékoszlop tetejéhez üvegbotot érintve, egy folyadékcséppet zsírtalanított tárgyilemez felületére vittünk, majd fedőlemezzel fedve mikroszkóp alatt vizsgáltuk.

Kórszövettani, bakteriológiai és parazitológiai vizsgálatokat végeztek

EREDMÉNYEK

A 3 napos korban boncolt állatokban fejletlenséget, kiszáradást, ill. vakbelükben fibrinkiválást figyeltek meg

A 3 napos korban boncolt állatokban (40 db) fejletlenséget (40–42 g), kiszáradást, az epehólyag teltsége mellett a zúzógyomorban csak kevés darás eleséget, emellett 22 állat vakbelében fibrinkiválást találtunk (1., 2. ábra).

A csontvelőkből elvégzett bakteriológiai vizsgálat negatív eredményre vezetett, míg a vakbél tartalmakból, azok dúsítását követően *Salmonella* sp. baktériumokat tenyésztünk ki.



1. ÁBRA. Gyengén fejlett, kiszáradt napsopulyka

FIGURE 1. Stunted, exsiccated day-old poult



2. ÁBRA. Fibrindugó a vakbélben

FIGURE 2. Fibrin plug in the caecum

A 9 napos korban boncolt állatokban csontelváltozásokat találtak

A bélsármintákból *M. iowae*-t mutattak ki

A 27 napos állatokban ezen túl fejlődésben való visszamaradást és tollasodási zavart figyeltek meg

Az agyvelőkből, tüdőkből, és vesékből készült kórszövettani metszetek mikroszkópos vizsgálatával a hemokoncentráció jelein túl egyéb elváltozást megfigyelni nem tudtunk.

A következő vizsgálatra az állatok kilenc napos korában került sor. Az elhullás már nem volt jelentős, de az állományban mozgásszervi tünetek jelentkeztek. Nyolc heterogén fejlettséget (16–28 dkg) mutató állat került boncolásra, amelyekben a tarsometatarsus megrövidülése, a csontvég proximális részének megszállásbedése (ún. tacskóláb), a csont görbülete és mérsékelt csavarodása mellett négy állatban perózis, egy állatban tibiarotáció is megfigyelhető volt (3., 4., 5. ábra).

A szívvérekből, májából elvégzett bakteriológiai vizsgálat eredménye negatív volt.

A jellegzetes csontelváltozások felkeltették a *M. iowae* fertőzés gyanúját, amit a kórokozó bélsárból történt kimutatása igazolt. Az állatoktól nyert egyesített bélsárminta felszindúsítást követő parazitológiai vizsgálata szintén negatív eredményű volt. Az agyvelőkből, májából, vesékből, vékonybelekből készült kórszövettani metszetekben kórjelző értékű elváltozást megfigyelni nem tudtunk. Az állatok a diagnózist követően komplex ásványianyag-kiegészítést (Tetravit ADE, Fortipan,) kaptak, ami azonban a probléma előfordulását jelentősen nem mérsékelte.

Az állomány 27 napos korában újabb hét állat került vizsgálatra. Ezekben is szórtságot, ill. fejlődésben való visszamaradást (76–120 dkg), emellett tollasodási zavart és az előzőekben már megfigyelt csontdeformitásokat találtuk, az állatok egy részében az ujjak jelentős görbületével együtt (6. ábra).

A szívvérekből, májából elvégzett bakteriológiai, ill. a bélsárból elvégzett parazitológiai vizsgálat eredménye ebben az esetben is negatív volt, míg az állatok bélsarából a *M. iowae*-t továbbra is izolálni lehetett.



3. ÁBRA. A tarsometatarsus megrövidülése, proximális végének görbülete

FIGURE 3. Shortening and bowing of tarsometatarsus



4. ÁBRA. A tarsometatarsus proximális részének megvastagodása, elgörbülése, a csont tengelyének csavarodása

FIGURE 4. Bowing, and thickening in the proximal end of tarsometatarsus with torsion in bone axis



5. ÁBRA. A tibia distalis végének 90-os laterális csavarodása (tibiatorsio)

FIGURE 5. Rotated tibia

6. ÁBRA. A tarsometatarsus tengelyének csavarodás, az ujjak jelentős görbületével

FIGURE 6. Torsion of tarsometatarsal axis with marked toe deviation



Helyszíni kiszállásra az állatok 34 napos korában került sor. Az egyébként egészségesnek látszó állományban a normál fejlettségű madarak között fejlődésben visszamaradt, deformált lábú, tollasodási zavart mutató egyedeket lehetett megfigyelni (7, 8., 9. ábra).

Az előnevelési időszak végére az összes kiesés 27% volt

Az előnevelési időszak végén beszerzett termelési adatok alapján a nevelés alatti összes kiesés 27% (5546 db) volt. Ebből 22% (4568 db) esett az első hétre. Ezt követően a veszteségek, főként a fejlődésben visszamaradt állatok selejtezéséből adódtak (5%) (978 db).

Az állatok testtömege a nevelés alatt végig a technológiai szint alatt maradt (10., 11., 12. ábra). A növekedési zavar a kakasokat jobban érintette, mint a tojókat. A növekedésben való visszamaradás miatt az állatokat csak egyhetes késéssel lehetett az utónevelő telepre kihelyezni.



7. ÁBRA. Jellegzetes csontelváltozást (chondrodystrophia) mutató pulyka a telepen

FIGURE 7. Characteristic bone deformity in the flock



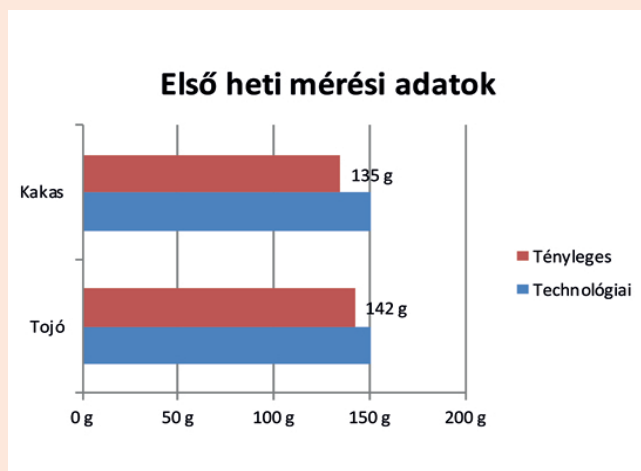
8. ÁBRA. Fejlődésben visszamaradt, tollasodási zavart mutató pulyka

FIGURE 8. Stunted, poor feathered turkey in the flock



9. ÁBRA. Fejlődésben visszamaradt, tollasodási zavart, és jellegzetes csontelváltozást mutató pulyka

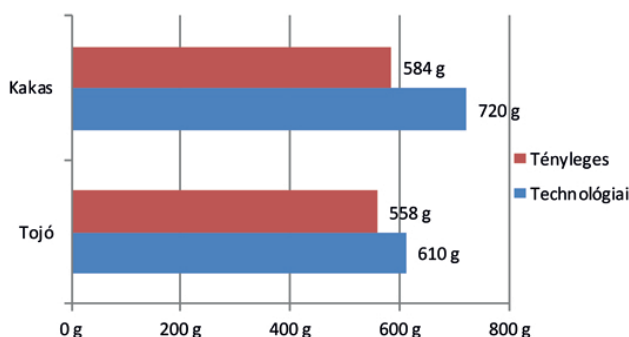
FIGURE 9. Uneven, poor feathered turkey showing characteristic leg deformity in the flock



10. ÁBRA. Első heti testtömegmérési adatok

FIGURE 10. Body weight data of the first week old flock

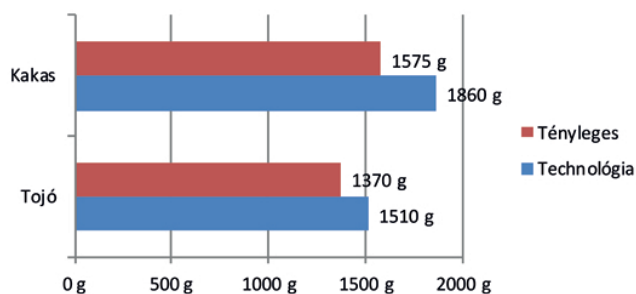
Harmadik heti mérési adatok



11. ÁBRA. Harmadik heti testtömegmérési adatok

FIGURE 11. Body weight data of the third week old flock

Ötödik heti mérési adatok



12. ÁBRA. Ötödik heti testtömegmérési adatok

FIGURE 12. Body weight data of the fifth week old flock

MEGVITATÁS

Cikkünkben előnevelt pulykaállományban lezajlott *M. iowae* fertőzésről számoltunk be. A kiesések mértéke az első héten volt a legnagyobb. Az ekkor vizsgált állatok mindegyikében fejletlenséget, ill. kiszáradást találtunk. A naposkorú állatokból mycoplasma-vizsgálat nem történt. A rendelkezésre álló adatok alapján (jelentős elhullás az első héten megfelelő tartási körülmények mellett, később megjelenő jellegzetes mozgásszervi elváltozások), feltételezhető, hogy már a napos állatok is *Mycoplasma*-fertőzöttek voltak és hogy a fertőzés forrása a szülőpárállomány lehetett. A vakbélből kitenyészett *Salmonella*-törzsek vérfertőzést nem okoztak, jelenlétük a vakbélben, az állatok gyengeségének inkább következménye, mint oka lehet. A *M. iowae* iránt a keltetési periódus végén lévő pulykaembriók a legfogékonyabbak. A fertőzés következménye az embriók elhalása/befulladás. A keltethetőség romlása a fertőző törzs virulenciájától függően széles tartományban szórhat (2–5%). A fertőzött állatok egy része kikelhet, de ezek gyengék és hamarosan elpusztulnak (4). Klinikai tüneteket a vertikális, ill. a nagyon fiatal korban bekövetkező horizontális fertőzés okoz, mert ekkor vannak meg a fertőzés generalizálódásának feltételei. A korai horizontális fertőzés forrása a vertikálisan fertőzött állatok már keletetőben ürülő bélsara lehet. Esetünkben a betegség korai megjelenése, a később tapasztalt jellegzetes csontelváltozások, a fejlődésben való visszamaradás, ill. a tollasodási zavar, megfelel azoknak az elváltozásoknak, amelyekről *in ovo*, ill. 1 napos pulyka pipék kísérleti *M. iowae* fertőzése kapcsán számoltak be (3).

A 9. naptól kezdve minden vizsgálati időpontban megfigyelt tarsometatarsus elváltozások chondrodystrophiának feleltek meg. Ekkortól valamennyi vizsgált időszakban a *M. iowae* jelenléte igazolható volt. A talált csontelváltozások nem különböztek attól, amelyeket természetes fertőzések kapcsán mások is tapasztaltak (5, 11, 15).

A korai *M. iowae* fertőzés forrása a vertikálisan fertőzött állatok már keletetőben ürülő bélsara lehet

A fertőzés nyomán kialakuló csontelváltozások pontos háttere nem ismert

A bélhámhoz tapadó kórokozó felszívódási zavarokat okoz

A bántalom kórfejlődése nem pontosan ismert. Nem tudjuk, milyen folyamatok vezetnek a csontelváltozásokhoz, ill. a fejlődésben való visszamaradáshoz. Növendék pulykák fertőző háttérű csontelváltozásait a szakirodalom pulyka osteomyelitis komplex (turkey osteomyelitis complex) gyűjtőnév alatt tárgyalja (8). Ezekben az esetekben a különböző csontelváltozások valamint az ízületek és az ízületeket környező lágy szövetek elváltozásainak háttérben helyi gyulladási folyamatok állnak. A gyulladási folyamatok előidézésében egyes kórokozók (egyéb baktériumok mellett mycoplasmák: *M. gallisepticum*, *M. synoviae*, *M. meleagridis*) jelenléte deríthető fel (6). Hogy a *M. iowae* képes-e ilyen gyulladási folyamatok kiváltására a csontban, további vizsgálatokat igényel. Az biztos, hogy a törzsek között jelentős virulenciabeli különbségek vannak, amelyek elsősorban a törzs invazivitásával vannak összefüggésben. Az elpusztult embriókban megfigyelhető patológiás elváltozások egy része a szervezet fertőzésre adott gyulladási válaszreakciójának tűnik.

Mivel bizonyos ásványi anyagok és vitaminok (mangán, cink, kolin, biotin, nikotinsav) hiánya a megfigyelthez hasonló csontelváltozásokat idézhetnek elő, feltételezik, hogy a korai fertőzés rontja ezeknek a tápanyagoknak a hozzáférhetőségét. A *M. iowae* esetén is kimutatták azt a terminális organellumot, ami általában szerepet játszik a mycoplasmák hámsejtekhez való tapadásában (10). A kórokozó a bélhámhoz tapadva esetleg felszívódási zavart okozhat.

A *M. iowae* genomjában kimutattak olyan géneket, amelyek szerkezete hasonló a *M. pneumoniae* toxingénjeihez. Ezeknek lényeges szerepe van a *M. pneumoniae* által előidézett elváltozások kórfejlődésében. *M. iowae* esetén ezeknek a géneknek a kifejeződése különbözik a bélben, ami a *M. iowae* predilekciós helye, ill. az egyéb előfordulási helyeken. Ennek a különbségnek a szerepe a *M. iowae* kórfejlődésében még nem tisztázott (13).

Az eset felhívja a figyelmet, hogy *M. iowae* okozta klinikai megbetegedésekkel hazai állományainkban is számolhatunk. A naposkori elhullások egyéb okokkal nem magyarázható jelentős mértéke, főleg ha azt jellegzetes csontelváltozások, ill. fejlődésben való visszamaradás követi, felhívhatja a figyelmet a fertőzésre. Ugyanakkor saját tapasztalataink alapján azt is megjegyezzük, hogy a fentiekhez hasonló csontelváltozások előnevelt és fiatal utónevelés alatti állományokban *M. iowae* fertőzéstől függetlenül is megfigyelhetők ezért, a pontos diagnózis felállítása alapos körütekintést igényel.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A munkát részben a Magyar Tudományos Akadémia Lendület pályázata (LP2012-22), a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal K_16 (119594) és KKP19 (129751) pályázata, továbbá az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíja és az Emberi Erőforrások Minisztériuma Új Nemzeti Kiválóság Programjának Bolyai+ Ösztöndíja támogatták.

IRODALOM

1. BOZEMAN, L. H. – KLEVEN, S. H. – DAVIS, R. B.: Mycoplasma challenge studies in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) and chickens. *Avian Dis.*, 1984. 28. 426–434.
2. BRADBURY, J. M. – MCCARTHY, J. D.: *Mycoplasma iowae* infection in chicks. *Avian Path.*, 1984. 13. 529–543.
3. BRADBURY, J. M. – IDERIS, A. – Oo, T. T.: *Mycoplasma iowae* infection in young turkeys. *Avian Path.*, 1988. 17. 149–171.
4. BRADBURY J. M.: Avian mycoplasmas in: JORDAN, F. – PATTISON, M. – ALEXANDER, D. – FARAGHER, T. (eds): *Poultry diseases* 5th ed, WB Saunders, 2001. 191–193.

5. CATANIA, S. – GOBBO, F. – BILATO, D. et al.: Isolation of *Mycoplasma iowae* in commercial turkey flocks. *Vet. Rec.*, 2012. 170. 107–108.
6. CLARK, S. R. – BARNES, H. J. – BICKFORD, A. A. et al.: Relationship of osteomyelitis and associated soft tissue lesions with green liver discoloration in tom turkeys. *Avian Dis.*, 1991. 35. 139–146
7. DIERKS, R. E. – NEWMAN, J. A. – POMEROY, B. S.: Characterization of avian mycoplasma. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1967. 143. 170–189.
8. HUFF, G. R. – HUFF, W. E. – RATH, N. C. et al.: Turkey osteomyelitis complex. *Poult. Sci.*, 2000. 79. 1050–1056.
9. JORDAN, F. T. W. – ERNO, H. – COTTEW, K. H. et al.: Characterization and taxonomic description of 5 mycoplasma serovars (serotypes) of avian origin and their elevation to species rank and further evaluation of taxonomic status of *Mycoplasma synoviae*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1982. 32. 108–115.
10. JURKOVIC, D. A. – NEWMAN, J. T. – BALISH, M. F.: Conserved terminal organelle morphology and function in *Mycoplasma penetrans* and *Mycoplasma iowae*. *J. Bacteriol.*, 2012. 194. 2877–2883.
11. LEY, D. H. – ROSEMARY, A. – MARUSAK, E. A. et al.: *Mycoplasma iowae* associated with chondrodystrophy in commercial turkeys. *Avian Pathol.*, 2010. 39. 87–93.
12. LIN, M. Y. – LIN, S. S. – SU, W. S. et al.: Isolation and identification of avian mycoplasmas from geese in Taiwan. *J. Chinese Soc. Vet. Sci.*, 1995. 21. 347–353.
13. PRITCARD, R. E. – BALISH, M. F.: *Mycoplasma iowae*: relationship among oxygen, virulence and protection from oxidative stress. *Vet. Res.*, 2015. 46. 36.
14. RAVIV, Z. – KLEVEN, S.H.: The development of diagnostic real-time TaqMan PCRs for the four pathogenic avian mycoplasmas. *Avian Dis.*, 2009. 53. 103–107.
15. TRAMPPEL, D. W. – GOLL, F.: Outbreak of *Mycoplasma iowae* infection in commercial turkey poults. *Avian Dis.*, 1994. 38. 905–909.
16. YODER, H. W. J. – HOFSTAD, M. S.: Previously unreported serotype of avian *Mycoplasma*. *Avian Dis.*, 1962. 6. 147–148.
- Közlésre érk.: 2019. aug. 12.

MEGHÍVÓ

Az Állatorvostudományi Egyetem Baráti Köre Civil Társaság
2019. december 11-én, szerdán 14 órakor
 a Hetzel Henrik előadóban (Bp., VII. István u. 2., L. ép.)
 tartja következő találkozóját.

PROGRAM:

A pajzsmirigyhormon háztartás szabályozásának aktuális kérdései

Előadó:

Dr. Gereben Balázs, az MTA doktora,
 Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet

Az összejövetelre minden érdeklődőt, vendégeket is tisztelettel vár

a Baráti Kör CT