

Data on the occurrence of paratuberculosis in Hungary – diagnostic improvements and results from 2006–2012

Rónai Zsuzsanna<sup>1\*</sup>  
Csivincsik Ágnes<sup>2</sup>  
Szőgyényi Zsuzsanna<sup>3</sup>  
Bacsadi Árpád<sup>1</sup>  
Dán Ádám<sup>1</sup>  
Jánosi Szilárd<sup>1</sup>

Zs. Rónai<sup>1\*</sup>  
Á. Csivincsik<sup>2</sup>  
Zs. Szőgyényi<sup>3</sup>  
Á. Bacsadi<sup>1</sup>  
Á. Dán<sup>1</sup>  
Sz. Jánosi<sup>1</sup>

1. NÉBIH Állategészségügyi  
Diagnosztikai Igazgatóság  
1143 Budapest, Táborkor u. 2.

\*e-mail: ronai.zsuzsanna@gmail.com

2. Somogy megyei Kormányhivatal  
Élelmiszerlánc-biztonsági és  
Állategészségügyi Igazgatóság  
Kaposvár

3. NÉBIH Állategészségügyi és  
Állatvédelmi Igazgatóság  
Budapest

# BAKTERIOLÓGIA

## Adatok a paratuberkulózis hazai előfordulásáról – diagnosztikai fejlesztések és vizsgálati eredmények, 2006–2012

### ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők elsőként számolnak be *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP) kitenyésztéséről vaddisznóból, gímszarvasból, rókából, sertésből és bivalyból Magyarországon. 2006 óta folyamatos fejlesztéseket hajtottak végre, és nagy számban (469 törzs) izoláltak MAP-törzseket Magyarország egész területéről. A kitenyésztett törzseket specifikus PCR-rel identifikálták, és további molekuláris biológiai módszereket honosítottak meg a különböző MAP-típusok elkülönítésére. Új bakteriológiai táptalajok bevezetésével megoldották a speciális növekedési igényű juh típusú MAP-törzsek szilárd táptalajon való tenyésztését.

Eredményeikből kitűnik, hogy a paratuberkulózis igen elterjedt hazánkban. A vizsgált mintákból legnagyobb arányban Komárom-Esztergom megyéből izolálták a kórokozót. A vadon élő állatokból izolált nagyszámú törzs felhívja a figyelmet ezen állatok fertőzést fenntartó (rezervoár) és közvetítő szerepére.

Mivel a MAP-fertőzöttség jelenléte jelentős gazdasági veszteségekkel terheli az állattartókat, a szerzők felhívják a figyelmet, hogy szükséges lenne országos felmérő vizsgálatok segítségével pontosabb képet kapni hazánk MAP-fertőzöttségi helyzetéről.

### SUMMARY

The authors report the first isolation of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP) from wild boar, red deer, red fox, swine, and buffalo in Hungary. Since 2006 continuous improvements were implemented and numerous (469) MAP strains were isolated from the whole geographic region of Hungary. The isolates were identified by a specific PCR, and additional molecular biological methods were introduced to distinguish the different MAP types. With the introduction of new culture media the isolation of sheep type MAP strains on solid media became possible.

Analysing the data on the origin of the strains, the authors confirm the widespread presence of paratuberculosis in Hungary. MAP was isolated with the highest proportion from Komárom-Esztergom County. The numerous isolates from wild animals highlight the importance of their role as reservoir species in the maintenance and spread of the disease.

The authors aim to point out that MAP infection causes significant economic losses to the farmers, which requires measures to get a better understanding of the actual state of paratuberculosis in Hungary.

A paratuberkulózis, vagy ahogy tőlünk nyugatabbra nevezik, a Johne-kór a kérődző állatok idült bélgyulladásban megnyilvánuló, csillapíthatatlan hasmenéssel, fokozatos lesóványodással járó betegsége, amely másodlagos tünetek sorát és jelentős gazdasági veszteségeket okoz (8).

A betegséget 1895-ben HEINRICH ALBERT JOHNE írta le (10), a kórokozót, mai nevén *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) azonban csak 1910-ben, FREDERICK WILLIAM TWORTnak sikerült kitenyészteni (20). A humán Crohn-betegség oktanában már igen korán felmerült a MAP szerepe, így potenciális zoonotikus kórokozóként tartják számon (19).

A molekuláris biológia fejlődésével lehetővé vált az egyes baktériumfajokon belül a különböző törzsek genomszintű vizsgálata, így ma már a MAP-nak 3 altípusát ismerjük, melyeket I-es vagy juh, II-es vagy szarvasmarha és III-as vagy intermedier típusoknak neveznek (4, 5).

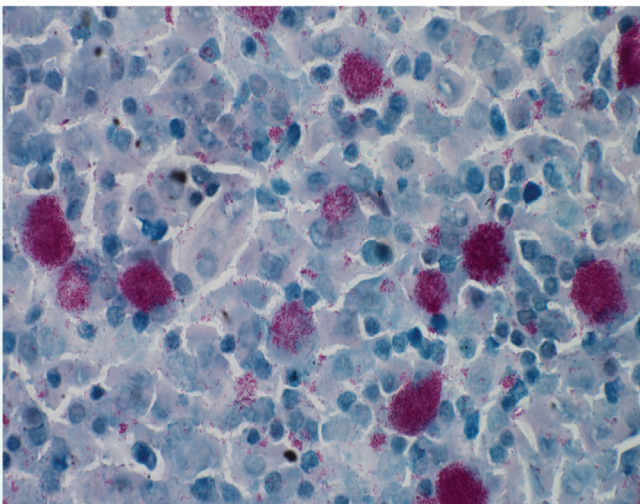
A betegség elsősorban kérődző állatokban fordul elő, de kimutatták már ragadozó állatfajokból, lovakból, sőt madarakból is (1, 14).

*A csillapíthatatlan hasmenéssel, lesóványodással járó paratuberkulózis kórokozóját potenciálisan zoonotikusnak tartják*

A betegség ez egész világon elterjedt. Az Állategészségügyi Világszervezet (The World Organisation for Animal Health, OIE) adatai szerint Ukrajna és Szerbia kivételével minden hazánkkal szomszédos országban kimutatták (9). Magyarországi előfordulását, a betegség által okozott gazdasági veszteségeket és a vakcinázás lehetőségeit az 1980-as 1990-es években KÖRMENDY BÉLA, NAGY GYÖRGY, TUBOLY SÁNDOR és mtsaik vizsgálták behatóan (11, 12, 13). Az elmúlt években alig néhány közlemény látott napvilágot a betegség magyarországi helyzetét illetően. 1999-ben HAJTÓS és mtsai észak-magyarországi juhállományok paratuberkulózis-fertőzöttségéről számoltak be (7), majd 2012-ben BEREGI és mtsai ismertettek egy mufon esetet (2), amelyet tenyésztési eljárással nem vizsgáltak. 2014 elején FODOR

és mtsai a paratuberkulózis-fertőzöttségnek egy hazai szarvasmarha-állományban tapasztalt kártételéről és az ott megkezdett védekezési program eredményeiről számoltak be (6). Habár a betegségre egyre nagyobb figyelem irányul világszerte, és több országban indultak már mentesítési programok (15, 16), hazánkban nem zajlanak országos felmérő vizsgálatok, és csupán állomány szinten találkozunk mentesítési törekvésekkel.

A betegség kórbonctani, kórszövettani, szerológiai, bakteriológiai és molekuláris biológiai módszerekkel – eltérő biztonsággal ugyan – egyaránt diagnosztizálható. A jellegzetes kórbonctani kép, a Ziehl-Neelsen (ZN) szerint festett bélsárkenetben apró vagy nagyobb fészkekbe rendeződött, rövid, vékony, pirosan festődő pálcák jelenléte valószínűsíti a MAP-fertőzöttséget (1. ábra). Szerológiai vizsgálatokkal a szubklinikai paratuberkulózis-esetek csupán töredéke ismerhető fel, míg más *Mycobacterium*-fajok által okozott áthangolódás fals-pozitív eredményt adhat (17, 18). A bakteriológiai tenyésztés időigényes volta (2–5–10 hónap) miatt nincs nagy hasznára a klinikus állatorvosoknak, habár valóban pontos diagnózist csupán a specifikus molekuláris biológiai módszerekkel azonosított, kitenyészített baktériumtörzsek alapján adhatunk. Vizsgálataink célja az volt, hogy az elmúlt években diagnosztizált paratuberkulózis-esetek alapján képet adjunk a betegség hazai előfordulásáról.



**1. ÁBRA.** *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* fertőzött kecske bélnyálkahártya kaparékának Ziehl-Neelsen szerint festett kenete  
ZN, 1000×

**FIGURE 1.** *Intestinal mucosa scraping of a Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* infected goat stained with Ziehl-Neelsen

**1. TÁBLÁZAT.** A *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* diagnosztikájának fejlesztése a NÉBIH ÁDI Bakteriológiai és Molekuláris Biológiai Laboratóriumaiban

**TABLE 1.** Improvements of the *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* diagnostic at the Bacteriological and Molecular Biological Laboratories of the Veterinary Diagnostic Directorate, National Food Chain Safety Office

Év	Fejlesztések
2006	Herrold's táptalaj általános használatának bevezetése
2008	Inkubálási idő meghosszabbítása 1 évre
2010	Molekuláris biológiai identifikáló módszerek bevezetése
2012	Juh és szarvasmarha típusú törzsek elkülönítése
2014	Juh típusú törzsek szilárd táptalajon való tenyésztése

## DIAGNOSZTIKAI FEJLESZTÉSEK

2006 előtt a MAP növekedési igényeinek megfelelő Herrold's szilárd táptalaj nem volt része a rutin *Mycobacterium*-tenyésztési eljárásnak laboratóriumunkban, csupán a célzott paratuberkulózis-vizsgálatoknál (jellegzetes kórbonctani elváltozásokat mutató bélszakaszok, ZN-pozitív bélsárminták tenyésztése) alkalmaztuk. A gümőkórvizsgálatok során mellékleletként, levestáptalajban izolált néhány törzs felhívta a figyelmünket a kórokozó jelenlétére, így bevezettük a Herrold's táptalaj rutinszerű alkalmazását a gümőkór felderítését célzó vizsgálatokban is. Tapasztalataink azt mutatták, hogy a gümőkórvizsgálat 2 hónapos időtartama sokszor rövidnek bizonyul a MAP-törzsek izolálásához, így 2008-tól egy évre növeltük a Herrold's táptalajok inkubálási idejét. Az így izolált nagyszámú törzs azonosítása klasszikus biokémiai és morfológiai módszerekkel megbízhatatlannak bizonyult, így 2010-ben molekuláris diagnosztikai módszereket vezettünk be. 2012-re képessé váltunk a szarvasmarha és juh típusú MAP-törzsek elkülönítésére is. A juh típusú törzsek kitenyésztése igen hosszú, akár 40 hetes inkubációt is igényel, Herrold's táptalajon nem tenyészthetők, így 2014-ben bevezettük a tenyésztésükre alkalmas Middlebrook 7H11 és módosított Middlebrook 7H11 agarokat (1. táblázat).

Mindezzel párhuzamosan környezeti mintákból és 2008-tól a hazai vadállományból származó gümőkór-monitoringmintákból is végeztünk MAP-tenyésztést annak érdekében, hogy minél szélesebb körben nyerjünk adatokat a betegség és a kórokozó hazai előfordulásáról.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatra érkezett szövet- és bélsármintákat (tuberkulin-pozitív állatok diagnosztikai mintái, monitoringminták, kutatási céllal vizsgálat minták) homogenizálást követően 5%-os oxálsavval (15 perc) vagy 0,75%-os hexadecil-piridinium-kloriddal (24 óra) dekontamináltuk, majd 10 percig 3000 ×g-n végzett centrifugálással koncentráltuk. A felülúszó elöntését követően az üledéket 2 ml steril foszfátpuffer-oldatban visszaoldottuk, amellyel mycobactin J (Synbiotics

A NÉBIH ÁDI Bakteriológiai és Molekuláris Biológiai Laboratóriumaiban 2006-tól fejlesztéseket végeztek a MAP-törzsek hatékonyabb kimutatására

A ZN-pozitív  
tenyészeteket molekuláris  
módszerekkel vizsgálták  
tovább

Europe, Lyon, Franciaország) tartalmú Herrold's, Middlebrook 7H11, módosított Middlebrook 7H11 ferdeagarokat és Middlebrook 7H9 levestáptalajokat (BD Difco, Hiedelberg, Németország) oltottunk be. A táptalajokat 12 hónapon át 37 °C-on inkubáltuk, és a baktériumnövekedést havonta vizsgálatuk megtekintésével. A levestáptalajokat 4 havonta ZN-festéssel ellenőriztük.

Minden gyanús tenyészetet megfestettünk ZN szerint, és a pozitív mintákból főzéssel (95 °C, 10 perc) és ultrahangos kezeléssel (80 °C, 15 perc) DNS-t vontunk ki molekuláris biológiai vizsgálatok céljára. 12 000 ×g-n 15 perces centrifugálást követően a felülúszó 2,5 µl-ét használtuk templátként 25 µl reakcióelegyben.

Az izolált törzsek *Mycobacterium avium* komplexbe (MAC) tartozását WILTON és Cousins (21) módszerével vizsgáltuk. A MAP-törzseket az alfajra specifikus IS900 inzerációs elem jelenlétével azonosítottuk (3), míg a szarvasmarha és juh altípusok meghatározását COLLINS és CASTELLANOS (4, 5) módszereivel egyaránt elvégeztük. A primereket és a PCR-kondíciókat a 2. táblázat tartalmazza.

Az izolált törzsek esetén összegyűjtöttük a származási adatokat, és összevetettük az adott régió állatállományi adataival.

## EREDMÉNYEK

2006 és 2012 között összesen 469 MAP-törzset izoláltunk: 424-et szarvasmarhából, 22-t vaddisznóból, 16-ot gímszarvasból, 3-at juhból, valamint egy-egy törzset kecskéből, sertésből, bivalyból és rókából. Környezeti mintákból nem sikerült MAP-t izolálnunk ez idáig.

### 2. TÁBLÁZAT. Az alkalmazott PCR-rendszerek

TABLE 2. PCR assays used in this study

Primer neve	Primer szekvencia 5'-3'	Kapcsolódási hőmérséklet, °C	PCR-termék hossza	Eredmény
MYCGEN-F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	65	1030 bp	<i>Mycobacterium</i> genus
MYCGEN-R	TGCACACAGGCCACAAGGGA			
MYCAV-R	ACCAGAAGACATGCGTCTTG		180 bp	MAC
IS900-F	CCTTTCTGAAGGGTGTTCTG	58	662 bp	MAP
IS900-R	CCACCAGATCGGAACGTC			
DMC529-F1	TTGACAACGTCATTGAGAATCC	60	310 bp	MAP: C-szarvasmarhatípus S-juhtípus
DMC531-F2	TCTTATCGGACTTCTCTGGC			
DMC533-R	CGGATTGACCTGCGTTTCAC		162 bp	
MAP3584-F	GCGTTGGATCCTTTCGTG	59	633 bp	MAP I/II/III típusok
MAP3584-R	TCCAGGCCGTCGAGATAG			
MAV4125-F	TCACCTGTCCAGATCAACGA	59	303 bp	MAP I/II/III típusok
MAV4125-R	CGGGATCAGCTTGAGATACC			

A táblázatban alkalmazott rövidítések: bp – bázispár, MAC: *Mycobacterium avium* komplex, MAP – *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*

**3. TÁBLÁZAT.** *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis (MAP) pozitív minták aránya 2006–2012 között Magyarországon***TABLE 3.** *Proportion of Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis (MAP) positive samples in Hungary between 2006–2012*

	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
<b>Összes vizsgált minta (db)</b>	762	1259	1574	1290	1170	1301	998
<b>Összes pozitív minta (db)</b>	129	262	368	181	352	237	258
<b>Nem MAP-pozitív minták (db)</b>	116	234	250	99	243	161	215
<b>MAP-pozitív minták (db)</b>	13	28	118	82	109	76	43
<b>Pozitivitás (%)</b>	16,93	20,81	23,38	14,03	30,09	18,22	25,85
<b>Nem MAP-pozitivitás (%)</b>	15,22	18,59	15,88	7,67	20,77	12,38	21,54
<b>MAP-pozitivitás (%)</b>	1,71	2,22	7,50	6,36	9,32	5,84	4,31
<b>Pozitívon belüli MAP (%)</b>	10,08	10,69	32,07	45,30	30,97	32,07	16,67

A táblázat felső soraiban a 2006 és 2012 között vizsgált minták számát, az ezen belül *Mycobacterium*ok jelenlétére pozitív minták számát, valamint a pozitív mintákon belül a MAP és egyéb *Mycobacterium*okra pozitív minták megoszlását tüntettük fel. Az alsó sorok ezen adatok százalékos értékei mellett a MAP-pozitív mintáknak az összes *Mycobacterium*-pozitív mintán belüli százalékos arányát is tartalmazza. A MAP-pozitivitás és a *Mycobacterium*-pozitív mintákon belüli MAP-arány legkisebb értékeit világos, míg legnagyobb értékeit sötétszürke színnel emeltük ki.

**Összesen 469  
MAP-törzset izoláltak:  
424-et szarvasmarhából,  
22-t vaddisznóból,  
16-ot gímszarvasból,  
3-at juhból, egyet-egyet  
kecskéből, sertésből,  
bivalyból és rókából**

**A MAP-törzsek gyors  
és pontos azonosítását  
lehetővé tevő molekuláris  
biológiai módszereket  
vezettek be a NÉBIH ÁDI  
laboratóriumaiban**

A molekuláris biológiai vizsgálatokban mind a 469 törzs tartalmazta az alfajra specifikus IS900 szekvenciát. A három juh-, a kecske- és egy szarvasmarhatörzs kivételével, amelyek I-es típusú juhtörzsek voltak, minden izolátum II-es típusú szarvasmarha-MAP-nak bizonyult.

A vadállományból származó minták Baranya, Győr-Moson-Sopron, Heves, Komárom-Esztergom, Somogy, Tolna, Vas és Veszprém megyékből származtak. A juh és kecske eredetű törzseket Hajdú-Bihar és Jász-Nagykun-Szolnok megyékből érkezett mintákból, míg a sertés eredetű törzset Somogyból izoláltuk. Szarvasmarhák esetén mind a 19 megyéből izoláltunk MAP-t.

Az összes vizsgált mintát figyelembe véve meghatároztuk a *Mycobacterium*-pozitív minták, az egyéb *Mycobacterium* (nem MAP) és MAP-pozitivitás, valamint az összes pozitív mintán belüli MAP-pozitivitás százalékos arányát (3. táblázat). Szarvasmarhánál összevetettük a származási megyék átlagos állatlétszámát az adott időszakban beküldött minták és izolált MAP-törzsek számával (4. táblázat).

## MEGVITATÁS

Magyarországon elsőként izoláltunk MAP-törzseket vaddisznóból, gímszarvasból, rókából, sertésből és bivalyból. A NÉBIH ÁDI Bakteriológiai és Molekuláris Biológiai Laboratóriumaiban olyan molekuláris biológiai módszerek rutinszerű alkalmazását vezettük be, amelyekkel a korábbi klasszikus biokémiai identifikálással szemben gyorsan és pontosan azonosíthatók a MAP-törzsek. A pontos meghatározás mellett további molekuláris biológiai tipizálási módszereket is meghonosítottunk, melyek lehetővé teszik a MAP-törzsek juh- és szarvasmarhatípusba, valamint I, II és III-as típusba sorolását.

A tenyésztési idő meghosszabbításával a MAP kitenyésztési aránya 3–5-szörösére emelkedett (vö. 3. táblázat), és az új táptalajok bevezetésével képessé váltunk a korábban csak levestáptalajban tenyésző juh típusú törzsek szilárd

táptalajon való izolálására. Mivel a levestáptalaj könnyen befertőzhető, a törzsek szilárd táptalajon való kitenyésztése nélkülözhetetlen a biztosan tiszta tenyészetek létrehozásához, amely a magasabb szintű molekuláris biológiai tipizáláshoz, szekvenáláshoz elengedhetetlen.

A kitenyésztett törzsek származási helyének vizsgálata jól mutatja hazánk állattenyésztési viszonyait és az ország vadállományának eloszlását, hiszen a juhból és kecskéből izolált törzsek a jelentős kiskérődző-tartási hagyományokkal és állatlétszámmal rendelkező észak-alföldi területről származnak, míg a vaddisznó, gímszarvas és róka eredetű törzsek zömében a gazdag vadállományáról ismert Dunántúli-középhegység és Dunántúli-dombság területeiről kerültek izolálásra. Akárcsak a szarvasmarha-gümőkór esetén, a vadállomány fertőzésfenntartó szerepe itt is kihangsúlyozandó, nem beszélve a szabad tartású szarvasmarha-állományok számára jelentett fertőzőkövető kockázatról.

Szarvasmarhák esetén az ország teljes területéről izoláltuk a kórokozót, amely

*A kitenyésztett törzsek származási helyei jól tükrözik hazánk állattenyésztési viszonyait és a vadállomány eloszlását*

**4. TÁBLÁZAT.** *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis-pozitív szarvasmarhaminták száma a származási megyék állatlétszámának tükrében*

**TABLE 4.** *Number of Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis isolates in cattle presented along with the number of animals of the County of origin*

Megye	Átlagos állatlétszám, 2006–2012 (db)	Vizsgált mintaszám, 2006–2012 (db)	Izolált MAP, 2006–2012 (db)	MAP-kimutatási arány (%)	10 ezer állatra eső MAP-kimutatás (db)
Bács-Kiskun	66 346,43	256	21	8,20	0,45
Baranya	29 263,86	629	15	2,38	0,73
Békés	60 384,43	163	8	4,91	0,19
Borsod-Abaúj-Zemplén	42 561,00	450	57	12,67	1,91
Budapest+Pest	51 248,71	784	46	5,87	1,28
Csongrád	41 392,43	244	21	8,61	0,72
Fejér	44 986,00	193	18	9,33	0,57
Győr-Moson-Sopron	52 800,14	60	6	10,00	0,16
Hajdú-Bihar	90 633,29	311	14	4,50	0,22
Heves	14 774,71	104	8	7,69	0,77
Jász-Nagykun-Szolnok	54 246,57	185	21	11,35	0,55
Komárom-Esztergom	13 702,43	314	49	15,61	5,11
Nógrád	14 751,43	269	20	7,43	1,94
Somogy	33 737,29	574	71	12,37	3,01
Szabolcs-Szatmár-Bereg	40 351,43	154	7	4,55	0,25
Tolna	26 713,57	112	11	9,82	0,59
Vas	29 166,00	55	2	3,64	0,10
Veszprém	40 627,43	132	10	7,58	0,35
Zala	25 078,43	134	19	14,18	1,08

Az egyes oszlopokban a legkisebb értékeket világos, míg a legnagyobb értékeket sötétszürke színnel emeltük ki.



## IRODALOM

1. BEARD, P. M. – DANIELS, M. J. et al.: Paratuberculosis infection of nonruminant wildlife in Scotland. *J. Clin. Microbiol.*, 2001. 39. 1517–1521.
  2. BEREGI A. – ERDÉLYI K. – FODOR K. – CSÁNYI S.: Muflon (*Ovis musimon*) paratuberculosis. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2012. 10. 594–596.
  3. CASTELLANOS, E. – ARANAZ, A. et al.: Single nucleotide polymorphisms in the IS900 sequence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* are strain type specific. *J. Clin. Microbiol.*, 2009a. 47. 2260–2264.
  4. CASTELLANOS, E. – ARANAZ, A. et al.: Discovery of stable and variable differences in the *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* type I, II, and III genomes by pan-genome microarray analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2009b. 75. 676–686.
  5. COLLINS, D. M. – DE ZOETE, M. et al.: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* strains from cattle and sheep can be distinguished by a PCR test based on a novel DNA sequence difference. *J. Clin. Microbiol.*, 2002. 40. 4760–4762.
  6. FODOR I. – MATYOVSKY B. – BICZÓ A. – ÓZSVÁRI L.: A paratuberkulózis kártétele és az ellene való védekezés egy hazai nagyüzemi holsteinférfíz tehenészetben. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2014. 136. 213–222.
  7. HAJTÓS I. – GLÁVITS R. – GALAL, M.: Paratuberculosis észak-magyarországi juhállományokban. *Magy. Állatorv. Lapja*, 1999. 7. 383–390.
  8. HASONOVA, L. – PAVLIK, I.: Economic impact of paratuberculosis in dairy cattle herds: a review. *Vet. Med. Czech*, 2006. 51. 193–211.
  9. [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasetimelines](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasetimelines)
  10. JOHNE, H. J. – FROTHINGHAM, J.: Ein eigentümlicher Fall von Tuberculose beim Rind. *Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin und Vergleichende Pathologie*, 1895. 21. 438–454.
  11. KÖRMENDY, B. – KOPÁL, T. – BÁLINT, T. – SZILÁGYI, M. – BÉKI, L.: Economic losses caused by paratuberculosis in a dairy herd: case report. *Acta Vet. Hung.*, 1989. 37. 45–53.
  12. KÖRMENDY, B. – SZILÁGYI, M. – TUBOLY, S. – NAGY, Gy.: Some diagnostic features of the pathogenesis of bovine paratuberculosis (Johne's Disease) and serum biochemical changes after oral reinfection. *Zbl. Vet. Med. B.*, 1990. 37. 229–235.
  13. KÖRMENDY, B.: The effect of vaccination on the prevalence of paratuberculosis in large dairy herds. *Vet. Microbiol.*, 1994. 41. 117–125.
  14. LARSEN, A. B. – MOON, H. W. et al.: Susceptibility of horses to *Mycobacterium paratuberculosis*. *Am. J. Vet. Res.*, 1972. 33. 2185–2189.
  15. LUYVEN, G. – VOM SCHLOSS, A. et al.: Paratuberculosis eradication programs in Northrhine-Westfalia. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*, 2002. 109. 524–527.
  16. NIELSEN, S. S.: Programmes on paratuberculosis in Europe. *Proceedings of 10<sup>th</sup> International Colloquium on Paratuberculosis*. 2009. 101–108.
  17. OSTERSTOCK, J. B. – ROUSSEL, A. J. et al.: Contribution of atypical mycobacteria to false-positive reactions to serum ELISA test for paratuberculosis. *Proceedings of 8<sup>th</sup> International Colloquium on Paratuberculosis*. 2005. 566.
  18. SOCKETT, D. C. – CONRAD, T. A. et al.: Evaluation of four serological tests for bovine paratuberculosis. *J. Clin. Microbiol.*, 1992. 30. 1134–1139.
  19. TUBOLY S. – KOVÁCS Á. – LAMI E. – NAGY Gy.: Az ember Crohn- és a szarvasmarha Johne-betegsége (paratuberculosis) közötti összefüggések. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2005. 2. 106–112.
  20. TWORT, F. W. – INGRAM, G. L. Y.: A method for isolating and cultivating the *Mycobacterium enteritis chronicae pseudotuberculosis bovis* Johne and some experiments on the preparation of a diagnostic vaccine for pseudotuberculosis of bovines. *Vet. J.*, 1912. 68. 353–365.
  21. WILTON, S. – COUSINS, D.: Detection and identification of multiple mycobacterial pathogens by DNA amplification in a single tube. *Genome Res.*, 1992. 1. 269–273.
- Közlésre érkező: 2014. nov. 25.