

Retrospective examination
of leptospirosis in domestic
animals

Szeredi Levente^{1*}
Lami Erzsébet¹
Stollár Katalin¹
Dénes Béla¹

L. Szeredi^{1*}
E. Lami¹
K. Stollár¹
B. Dénes¹

1. NÉBIH Állat-egészségügyi
Diagnosztikai Igazgatóság
H-1143 Budapest, Tábornok u. 2.

*e-mail: szeredil@nebih.gov.hu

Háziállatok *Leptospira* okozta megbetegedéseinek retrospektív vizsgálata

BAKTERIOLÓGIA

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők az 1999 és 2014 között eltelt 16 év során négy háziállatfajban diagnosztizált, összesen 47 leptospirosis eset retrospektív vizsgálatát végezték el. Sertésben 34, szarvasmarhában 8, lóban 3 és végül kutyában 2 eset fordult elő. Vetélést 43 esetben (33 sertés, 7 tehén, 3 ló), heveny leptospirosist 3 esetben (1 borjú, 2 kölyökkutya), vesegyulladás pedig 1 esetben, vágóhídi sertésben állapítottak meg. Leptospirosisra gyanút keltő makroszkópos vagy mikroszkópos elváltozások 29 (62%) esetben voltak megfigyelhetőek. A leptospirákat immunhisztokémiai (IH) módszerrel mind a 47 esetben, míg a Warthin–Starry-féle ezüstimpregnációs festéssel csupán 43 esetben találták meg a különböző szervekben. Monoklonális ellenanyagra alapozott IH-eljárással a 33 sertésvetelés közül 26-ban (79%) *L. pomona* szerotípust mutattak ki a magzatokban. A szerológiai vizsgálattal 33-ból 29 esetben (88%) sikerült egy vagy több *Leptospira*-szerotípus ellen termelődött ellenanyagot kimutatni a vetélt anyaállatok vérsavójában. Az országos átlagos csapadékmennyiség és a leptospirosis esetek előfordulási gyakorisága között nem találtak összefüggést. A fertőzés eredetét egyik esetben sem sikerült meghatározni. *Leptospira* okozta emberi megbetegedést egyik eset kapcsán sem állapítottak meg.

SUMMARY

The authors examined retrospectively 47 cases of leptospirosis in four different domestic animal species, which were detected during 16 years between 1999 and 2014. Leptospirosis was found in swine, cattle, mares and dogs in 34, 8, 3 and 2 cases, respectively. Abortion was observed in 43 cases (swine 33, cattle 7, mares 3), acute leptospirosis in 3 cases (calf 1, puppy 2), and nephritis in 1 case (finishing pig). Characteristic gross pathological or histological alterations were found in 29 cases (62%). The leptospirae were detected in all cases with immunohistochemical (IHC) method in different tissue samples, but only in 43 cases with Warthin–Starry silver staining. *Leptospira pomona* was evident in foetal tissue samples in 26 of 33 swine abortion cases (79%) with IHC method using specific monoclonal antibody reagent. Antibody production against one or several *Leptospira* serovars was detected in 29 of the 33 aborted dams (88%). No connection was found between the amount of average rainfall and the frequency of *Leptospira* cases. The origin of infection could be identified in none of the cases, and human leptospirosis was not found in connection with the animal leptospirosis cases.

A leptospirosis világszerte előforduló megbetegedés, amely valamennyi emlős fajt érinti. A leptospirákat genetikai sajátosságai alapján jelenleg 21 fajba sorolják. Ebből 14 az ún. fertőző fajok közé tartozik, amelyen belül további két csoport: a patogén (9 faj) és a közepesen patogén fajok (4 faj) különíthetők el. A 9 patogén fajt felületi antigénjeik alapján több mint 250 szerotípusba sorolják. Kórtani jelentősége csak a patogén fajoknak van, mivel a közepesen patogén fajok legfeljebb enyhe lefolyású megbetegedést okoznak, míg az ún. nem fertőző fajok a környezetben előforduló szaprofita baktériumok (11).

A leptospirosis világszerte előforduló megbetegedés, amely valamennyi emlős fajt érinti

Az ún. főntartó gazdafajok a fertőzést követően többnyire nem betegszenek meg, de a leptospirákat a vizeletükkel tartósan ürítik

Az ún. másodlagos gazdafajok megbetegednek vagy tünetmentesen áthangelódnak, de bennük nem alakul ki tartós hordozás, ürítés

A leptospirosis az egyik leggyakoribbnak tartott zoonózis, amely elsősorban gazdasági haszonállatokkal dolgozókat, ill. szabadvízi sportot űző személyeket érint

A szerzők 1999 és 2014 közötti időszakból származó 47 eset retrospektív vizsgálatát végezték el

A fertőzés fönntartásában különféle emlős és egyes kétéltű fajok játszanak szerepet. Ezek az ún. főntartó gazdafajok a fertőzést követően többnyire nem betegszenek meg, de a leptospirákat a vizeletükkel tartósan, sokszor életük végéig ürítik. Néhány gazdafaj különösen hajlamos egy bizonyos szerotípus tartós hordozására (pl. szarvasmarhában a *Hardjo*-szerotípus), ez azonban nem abszolút szabály. Egyes rágcsáló fajok pedig akár több szerotípus főntartó gazdái is lehetnek. Az ún. másodlagos gazdafajok a fertőzést követően az egyedi fogékonyságtól és a *Leptospira*-törzs kórokozó képességétől függően megbetegednek, vagy tünetmentesen áthangelódnak. Ezekben azonban, néhány kivételtől eltekintve, az immunitás kialakulását követő rövid időn belül megszűnik a fertőzöttség, így a fertőzés fönntartásában csupán alárendelt szerepük van. Kivételt emberi fertőzésnél figyeltek meg, amikor a fertőzött személy több mint egy évig ürítette a leptospirákat a vizeletével (11).

A fertőzés következtében a háziállatokban, valamint az emberben kialakuló klinikai tünetek nem kórjelző értékűek, mivel azok számos más betegség esetében is megfigyelhetők (15). A leptospirák háziállatokban heveny és idült megbetegedéseket egyaránt előidézik, amelyek szaporodási zavarokban, vetélésben, tőgygyulladásban, belső szemgyulladásban, vesegyulladásban, esetleg hirtelen elhullásban nyilvánulhatnak meg. A leptospirosis az egyik leggyakoribbnak tartott zoonózis, amely elsősorban gazdasági haszonállatokkal dolgozókat, ill. szabadvízi sportot űző személyeket érint (11, 12, 15). Emberben az influenzaszerű tünetektől a vetélésen át a súlyos, halállal végződő fertőzésig változatos formában jelentkezhet a kórkép (15).

A magyarországi háziállat-állományban előforduló *Leptospira*-fertőzésekről utoljára közel 20 éve jelent meg átfogó ismertetés ezen szakfolyóirat hasábjain (6). Ezért indokoltnak tűnt, hogy áttekintést nyújtsunk a NÉBIH Állat-egészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság budapesti laboratóriumában (ÁDI), ill. jogelődjeinél az elmúlt 16 évben diagnosztizált, *Leptospira* okozta megbetegedésekről.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Az 1999 és 2014 között az ÁDI budapesti laboratóriumaiban leptospirosisra retrospektív vizsgálatát végeztük el. Sertésben 34, szarvasmarhában 8, lóban 3, míg kutyában 2 eset fordult elő a vizsgált időszakban. Kiértékelésre alkalmas kórelőzményi adatok és a megbetegedéssel kapcsolatos klinikai tünetek csupán 15 esetben álltak rendelkezésre (sertés 8, szarvasmarha 3, ló 3 és kutya 1 eset). A leptospirákkal szembeni immunológiai áthangelódást összesen 34 esetben vizsgálatuk. A szerológiai vizsgálathoz az ún. mikroagglutinációs próbát alkalmaztuk (13), amelynek során 26 koca vérének két szerotípus (*L. pomona*, *L. tarassovi*), 5 szarvasmarha vérének hat szerotípus (*L. hardjo*, *L. sejro*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippityphosa*, *L. pomona*, *L. tarassovi*), míg 3 kanca vérének tizennyolc szerotípus (*L. grippityphosa*, *L. hardjo*, *L. sejro*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. tarassovi*, *L. australis*, *L. autumnalis*, *L. ballum*,

A mintákat kórszövet-tannal (hematoxilinnal és eozinnel, valamint Warthin-Starry-féle ezüstimpregnációval festve), továbbá immunhisztokémiai módszerekkel vizsgálták

L. bataviae, *L. bratislava*, *L. canicola*, *L. hebdomadis*, *L. javanica*, *L. mini*, *L. pyrogenes*, *L. saxkoebing*, *L. szwajizak*) felhasználásával vizsgáltuk. A vizsgálati jegyzőkönyvekben rögzített kórbonctani elváltozásokat és a kiegészítő egyéb vizsgálatok eredményeit ugyancsak összesítettük. Az intézet kórszövet-tani archívumában fellelhető, formalinban fixált és paraffinba ágyazott szövetmintákból valamennyi esetben sorozatmetszeteket készítettünk, azokat hematoxilinnal és eozinnel (HE), ill. a vesét, a májat és alkalmanként egyéb szerveket is Warthin-Starry-féle (WS) ezüstimpregnációval megfestettük. Az előbbi metszeteket 100–400×, míg az utóbbiakat 1000× nagyításon fénymikroszkóppal vizsgáltuk. A *Leptospira*-antigének kimutatása céljából valamennyi esetben immunhisztokémiai (IH) vizsgálatot végeztünk a májból, a veséből és alkalmanként egyéb szervekből is a korábban közölt módon (16). Ezen túlmenően megkíséreltük a megbetegedésért felelős leptospirák szerotípusának meghatározását is IH-módszerrel a kereskedelmi forgalomban kapható 6 különböző szerotípus ellen termelt monoklonális ellenanyag felhasználásával (*L. pomona* (F48C6), *L. australis* (F90C6), *L. canicola* (F152C11), *L. copenhageni* (F70C24), *L. hardjo* (F22C6), *L. icterohaemorrhagiae* (F70C14) VMRD, Pullman, USA). Az alkalmazott IH-módszer ezeknél lényegében megegyezett a korábban közölt eljárással (16), változtatást csupán a monoklonális ellenanyagok hígításánál hajtottunk végre. A *L. pomona* esetében rendelkezésre állt pozitív kontrollminta (vetélt sertésmagzatvese), ezért a reagens megfelelő hígítását be tudtuk állítani, amely 1 : 10 000-nél bizonyult a legmegfelelőbbnek. A maradék 5 monoklonális ellenanyag esetében nem volt pozitív kontrollmintánk, így ezeknél minden esetben háromféle hígítást alkalmaztunk (1 : 100, 1 : 1000, 1 : 10 000).

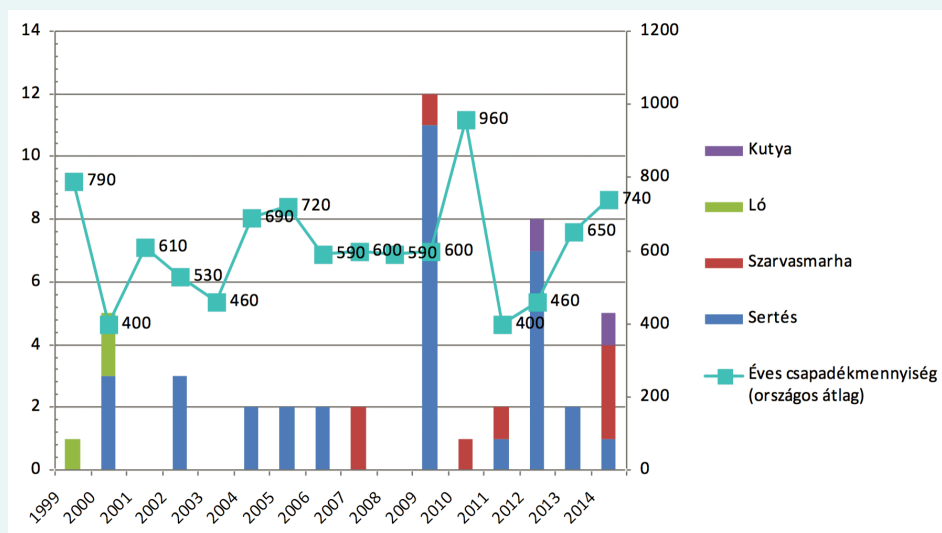
EREDMÉNYEK

KÓRELŐZMÉNY ÉS KLINIKAI TÜNETEK

A 47 leptospirosis eset előfordulását az 1. és 2. ábrán állatfajonként, évre, ill. hónapokra lebontva az átlagos csapadékmennyiséggel együtt mutatjuk be. A talált esetek közül 43-ban (92%) vetéles kapcsán mutattuk ki a megbetegedést. A sertések közül 33 esetben vetélt kocák magzatait (összesen 84 magzat), ill. esetenként magzatburkait, 1 esetben pedig rendes vágásból származó hízósertés veséjét küldték intézeti vizsgálatra. Az esetek 2 kis létszámú állományból (egy-egy

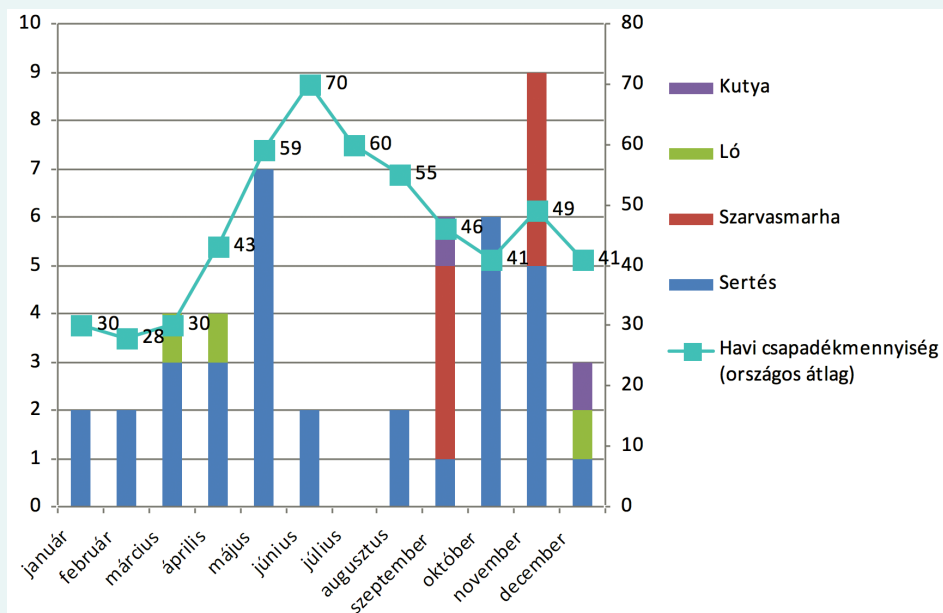
1. ÁBRA. Az országos átlagos csapadékmennyiség mm-ben és a leptospirosis esetek előfordulása állatfajonként éves bontásban (1999–2014)

FIGURE 1. Annual occurrence of leptospira cases in the different animal species and the average rainfall (mm) in the country (1999–2014)



2. ÁBRA. Az országos átlagos havi csapadék-mennyiség mm-ben a legutóbbi 10 év átlagában és a leptospirosis esetek előfordulása állatfajonként havi bontásban (1999–2014)

FIGURE 2. Average monthly rainfall (mm) in the country in the last 10 years and occurrence of leptospirosis cases in the different animal species according to the different month of the year (1999–2014)



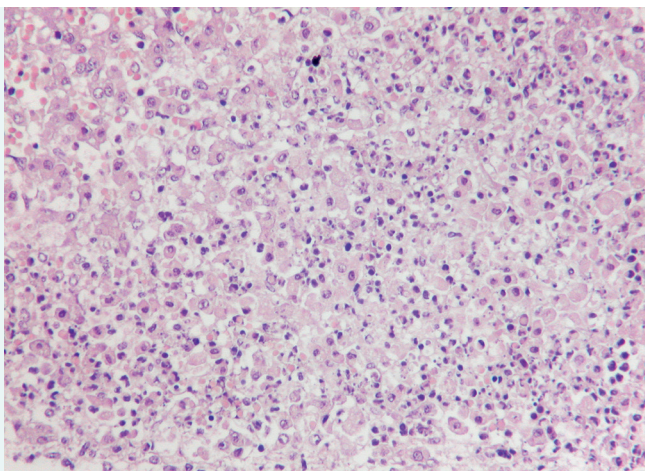
A 47 esetből 34 sertésben, 8 szarvasmarhában, 3 lóban, 2 pedig kutyában jelentkezett

eset) és 16 nagy létszámú telepről származtak (ideértve a vágóhídi vesemintát is). A nagy létszámú állományokból beküldött esetek száma egy és nyolc között változott. Közülük egy állományban 2009 augusztusa és októbere között 7 koca esetében állapítottunk meg *Leptospira* okozta vetélést. Egy másikban visszatérő problémaként 2002-ben és 2011-ben egy-egy, míg 2012 márciusában és májusában még további négy esetben diagnosztizáltunk *Leptospira* okozta vetélést. Egy következő állományban 2009 novemberében 3 kocánál állapítottunk meg *Leptospira* okozta vetélést. Négy állományban két-két *Leptospira* okozta vetélést diagnosztizáltunk, amelyek közül háromban csupán egy alkalommal, míg egyben visszatérő problémaként 2009-ben és 2014-ben is megállapítottuk a betegséget. A kórelőzményi adatok, ill. a megbetegedéssel kapcsolatos klinikai tünetek csupán 8 esetben voltak a kísérőlevélben feltüntetve az alábbiak szerint. Három állományban az utóbbi néhány napban számos koca vetélését figyelték meg. Két állományban a kocák szórványosan vetélni kezdtek, és bennük *Leptospira*-specifikus ellenanyagokat mutattak ki. További két állományban az elmúlt időszakban a vetélések számának növekedését figyelték meg. Végül egy esetben a levágott állatok 70%-ában ún. fehérhólyagos veséket találtak a vágóhídi húsvizsgálat során.

A szarvasmarhánál 7 esetben vetélés kapcsán (2 kis és 3 nagy létszámú állományban), egy esetben pedig borjában (kis létszámú állományban) állapítottunk meg leptospirosist. A kórelőzmény szerint két esetben a vetélések száma az utóbbi időben mindkét érintett állományban növekedett. A borjú esetében, az állattartónál rövid időn belül 3 db egy hónapos korú borjú pusztult el egynapos betegséget követően bágyadság, étvágytalanság és véres vizelet ürítése mellett.

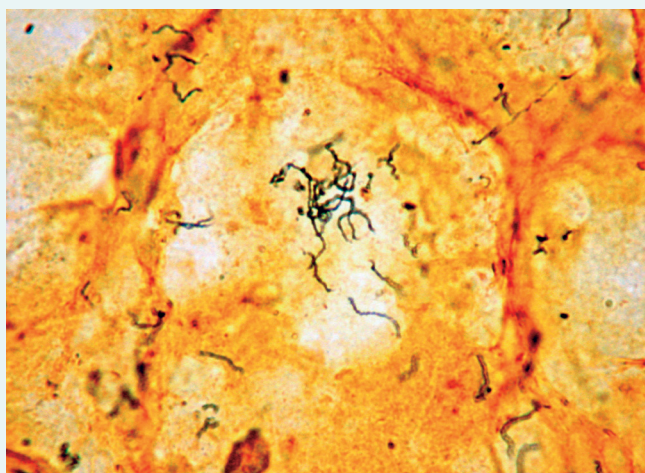
A 3 lóvetelésről egy korábbi cikkben már részletesen beszámoltunk (17). Az esetek három különböző ménesben fordultak elő. Két állományban csak egy-egy, míg egyben 2 vetélést figyelték meg az adott időszakban. A vetélt kancákban betegség tüneteit nem figyelték meg.

A kutyában diagnosztizált két leptospirosis-eset közül az egyik egy 10 hetes, keverék nőtényben fordult elő. A másik esetet egy 8 hetes nőtény labradorban állapítottuk meg, amelyről korábban, ugyanebben a lapban már részletesen beszámoltunk (10). A kórelőzményi adatok csak az utóbbi esetben álltak rendelkezésre, amely szerint az új gazdához került kölyök a parvovírus elleni védőoltást követő egy hét múlva megbetegedett, és az intenzív kezelés ellenére 3 nap után elhullott.



3. ÁBRA. Vetélt sertésmagzat mája
Gyulladásos-elhalásos góc a máj állományában. H.-E., 200×

FIGURE 3. Liver of an aborted swine foetus
Focal necrotic inflammation in the liver



4. ÁBRA. Vetélt sertésmagzat veséje
Számos *Leptospira* egy tubulus üregében és a környező szövetekben. Warthin-Starry-festés, 1000×

FIGURE 4. Kidney of an aborted swine foetus
Large number of *Leptospira* in a tubulus and closed to this area

Az immunhisztokémiai eljárás érzékenyebb volt a Warthin-Starry-féle festésnél

KÓRBONCTANI, KÓRSZÖVETANI ÉS IMMUNHISZTOKÉMIAI VIZSGÁLAT

A kórbonctani vizsgálattal a vetélt sertésmagzatoknál a 33 esetből 22-ben (67%) különböző kombinációban a következő elváltozásokat találtuk: okkersárga máj (16 eset), szürkésfehér gócok a májban (7 eset), az épnek látszó magzatok mellett mumifikált magzatok (4 eset), lépduzzanat (3 eset), sárgaság (1 eset). Ezek közül 15 esetben figyeltünk meg a magzatokban kórszöveti elváltozásokat is, amelyek eltérő kombinációban a következők voltak: a májban gyulladásos-elhalásos gócok (9 eset, 3. ábra), hurutos tüdőgyulladás (5 eset) és savós placentitis (3 eset). A hízósertésből származó vese kéregállományában a kórbonctani vizsgálattal szürkésfehér, elmosódott határu góccokat, míg kórszövettanilag diffúz, félheveny, interstitialis vesegyulladást figyeltünk meg (6. ábra).

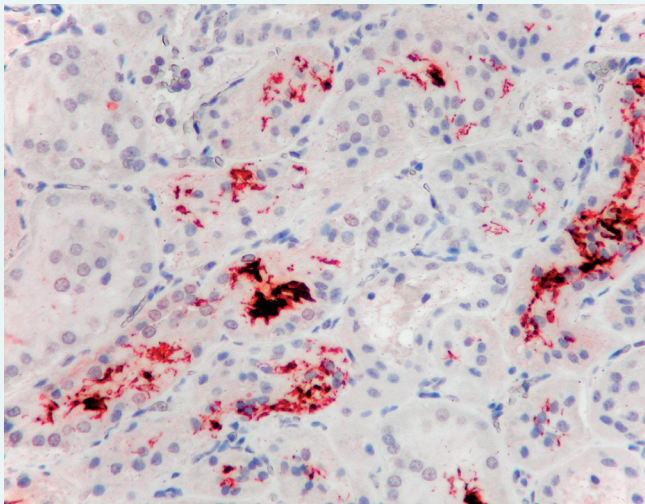
A vetélt szarvasmarhamagzatokban a kórbonctani vizsgálattal kóros elváltozást nem találtunk. A kórszöveti vizsgálattal 2 magzatban félheveny, interstitialis vesegyulladást, 1 esetben pedig félheveny, interstitialis vese- és májgyulladást állapítottunk meg. A borjú esetében csak szervrészeket vizsgáltunk, amelyekben a kórszöveti vizsgálattal epepangással kísért, heveny, savós májgyulladást, heveny tubulonephrosist és végül heveny, savós húgyhólyaggyulladást figyeltünk meg.

A lómagzatokban a kórbonctani vizsgálattal valamilyen esetben sárgaságot és májmegnagyobbodást, egy esetben lépmegegyobbodást, egy továbbiában pedig a májban szürkésfehér gócok előfordulását és a zsigeri nyirokcsomók megegyobbodását figyeltük meg. A kórszöveti vizsgálattal számos szervben találtunk elváltozásokat (17), amelyek közül a legszembetűnőbb a májban volt, ahol egyebek mellett gócos elhalásokat és félheveny, interstitialis gyulladást találtunk.

A leptospirosisban elhullott két kutya kórbonctani vizsgálata során mindkét esetben sárgaságot, lép- és májmegnagyobbodást, valamint a szívburokban pontszerű vérzéseket figyeltünk meg. Az egyik esetben a zsigeri nyirokcsomók, valamint a tüdő megegyobbodott, továbbá az utóbbi kissé tömöttebb és tarkázott volt. A kórszöveti vizsgálattal mindkét kutyában a máj szerkezetének felbomlásával és helyenként a májsejtek elhalásával kísért, félheveny, interstitialis máj- és tüdőgyulladást, a vesében heveny tubulushám-elfajulást találtunk. Ezen felül az

egyikben még félheveny szívizom-, agyburok- és agyvelőgyulladást, valamint a tüdőben friss keletű vérzéseket is megfigyeltünk.

A leptospirák direkt kimutatását célzó WS- és IH-eljárások eredményeit a Táblázatban összesítettük. A WS-festéssel hosszú, hullámos lefutású, a végükön gyakran gömbszerűen megvastagodott baktériumokat figyeltünk meg a máj sinusoidjaiban, a vese tubulusainak üregében és a szervek kötőszöveti állományában vagy parenchymájában (4. ábra). Összevetve az IH-eljárással a WS-festés minden esetben kisebb mennyiségű baktériumot tüntetett fel a vizsgált szervekben. Sőt számos esetben az IH-val pozitív szerv vagy magzat a WS-módszerrel leptospira-fertőzés szempontjából negatív volt (vö. Táblázat).

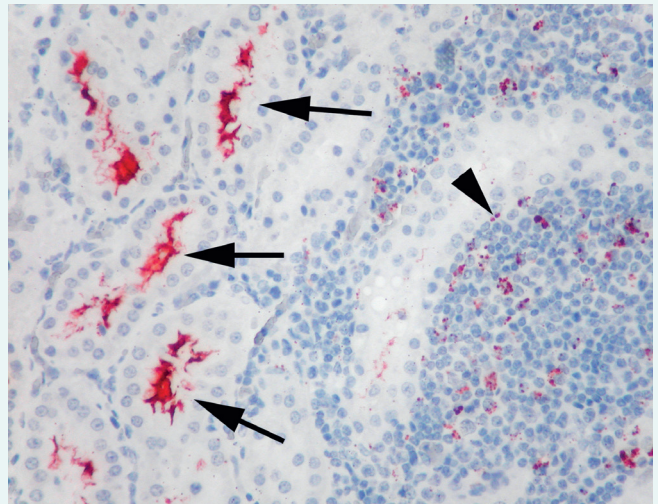


5. ÁBRA. Vágóhídi sertés veséje

A leptospirák többnyire hullámos alakok formájában helyezkednek el a tubulusok üregében és hámljában. IH, 200×

FIGURE 5. *Kidney of finishing pig*

Leptospire are present mainly as wavy rods in the lumen of tubuli and in tubular epithelial cells

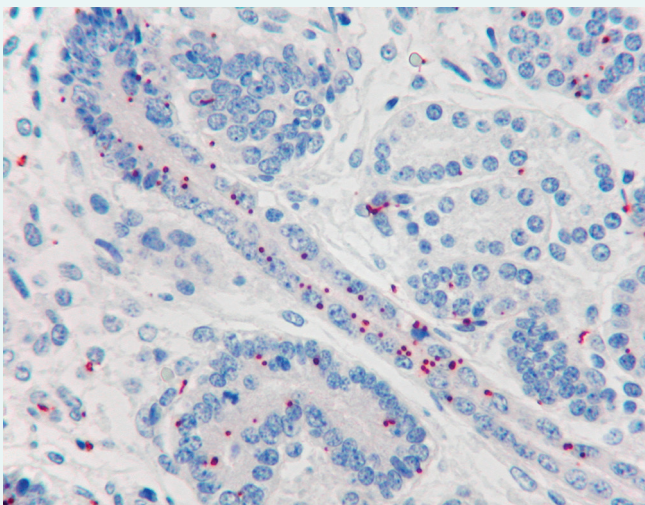


6. ÁBRA. Vágóhídi sertés veséje

A leptospirák nagyrészt összecsapódva helyezkednek el a tubulusok üregében (nyílak). A félheveny interstitialis gyulladás területén a leptospirák többnyire eltérő méretű coccusok formájában láthatóak (nyílfej). IH, 200×

FIGURE 6. *Kidney of finishing pig*

Leptospire are present mostly as aggregates in the lumen of tubuli (arrows). Leptospire are present mainly in form of cocci with different size in the area of subacute interstitial inflammation (arrowhead)

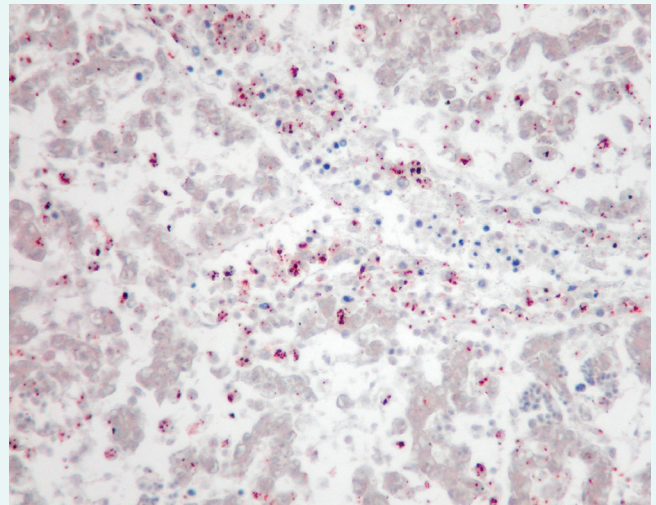


7. ÁBRA. Vetélt sertésmagzat veséje

A leptospirák többnyire eltérő méretű coccusok formájában helyezkednek el a tubulusok hámljában. IH, 400×

FIGURE 7. *Kidney of an aborted swine foetus*

Leptospire are present mainly in form of cocci of different size in the tubular epithelial cells



8. ÁBRA. Vetélt szarvasmarhamagzat mája

A leptospirák többnyire eltérő méretű coccusok formájában helyezkednek el a gyulladásoo sejtekben és a májsejtekben. IH, 200×

FIGURE 8. *Liver of an aborted calf foetus*

Leptospire are present mainly in form of cocci with different size in the inflammatory cells and hepatocytes

TÁBLÁZAT.

A Warthin–Starry-festéssel és az immunhisztokémiai módszerrel *Leptospira*-pozitív esetek száma állatfajonként

TABLE. The number of *Leptospira* cases detected by Warthin–Starry silver staining or immunohistochemistry in the different animal species

Állatfaj	Warthin–Starry festés	Immunhisztokémia
Sertés (n = 34)*	31	34
Szarvasmarha (n = 8)	7	8
Ló (n = 3)	3	3
Kutya (n = 2)	2	2
Összesen	43	47

* A 33 *Leptospira* okozta sertésvetélés esetében összesen 84 magzatot vizsgáltunk kórszövettani és immunhisztokémiai módszerrel. A vizsgált magzatok közül az immunhisztokémiai módszerrel 66 (79%) magzatban, míg a Warthin–Starry-festéssel csupán 54 (64%) magzatban mutattuk ki a leptospirákat.

Az IH-módszerrel a leptospirákat jellegzetes hullámos alakban (5. ábra), és különösen az önmészített szövetekben, különböző méretű, egyneműen festődő coccoid képletek formájában figyeltük meg (6., 7., 8. ábrák). Az IH-módszerrel 10 esetben csak 1 sertésmagzatot, míg 23 esetben 2–4 sertésmagzatot vizsgáltunk almonként. Az utóbbiak közül 13 (57%) esetben a magzatok egy részében nem mutattuk ki a leptospirákat. A monoklonális ellenanyagokkal 26 (79%) koca esetében *L. pomona* szerotípust, 1 (3%) esetben pedig *L. copenhageni* szerotípust (a monoklonális ellenanyag 1 : 100 és 1 : 1000 hígításánál) mutattunk ki IH-eljárással a sertésmagzatokban. A hízóból származó vese és a többi 6 vetélt koca magzatainak esetében a monoklonális ellenanyagokkal negatív eredményt kaptunk. Három állományban, ahol több kocánál is *Leptospira* okozta vetélést diagnosztizáltunk, a *L. pomona* pozitív almok mellett *L. pomona* negatív almokat is találtunk, ami más szerotípusok egyidejű előfordulására utal.

A szarvasmarha, a ló és a kutya esetében is érzékenyebbnek bizonyult az IH-módszer a WS-festésnél, mivel az előbbivel többféle szervben és nagyobb mennyiségben mutattuk ki a leptospirákat. Ezekben az állatfajokban az IH-módszer a monoklonális ellenanyagok alkalmazásával következetesen negatív eredményre vezetett.

SZEROLÓGIAI VIZSGÁLAT

A 26 vizsgált kocavér közül 23-ban (88%) mutattunk ki *L. pomona* ellen termelődött ellenanyagokat 1 : 100 és 1 : 800 közötti titerben. A további három esetben a vetélt kocákban *Leptospira*-specifikus ellenanyagokat nem találtunk.

Négy vetélt tehén szerológiai vizsgálata során két esetben *L. pomona* (1 : 200 ill., 1 : 800), egy esetben pedig mind a *L. pomona* (1 : 800), mind a *L. hardjo* (1 : 100) ellen mutattunk ki ellenanyagokat. A heveny leptospirosisban elhullott borjúban *Leptospira*-specifikus ellenanyagokat nem találtunk.

A vetélt kancák szerológiai vizsgálata során változatos eredményeket kaptunk. Az egyik kancában *L. sejroei* (1 : 1600), *L. pomona* (1 : 800), valamint *L. hardjo*, *L. szwajizak* és *L. mini* (1 : 200) ellen termelődött ellenanyagokat találtunk. A másik kancában *L. sejroei* (1 : 3200), *L. grippotyphosa* (1 : 800), valamint *L. hardjo*, *L. szwajizak* (1 : 400) és *L. mini* (1 : 200) ellen keletkezett ellenanyagokat mutattunk ki. A harmadik kancában *L. hardjo*, *L. sejroei* (1 : 800) és *L. szwajizak*-specifikus (1 : 100) ellenanyagokat találtunk.

A leptospirosis mellett más, a vetélésben, vagy elhullásban szerepet játszó fertőző kórokozót egyik esetben sem mutattunk ki.

A vetélt állatok savóinak szerológiai vizsgálataival sertésben *L. pomona*, szarvasmarhában *L. pomona* és *L. hardjo*, lóban pedig ezeken túl még *L. szwajizak*, *L. mini*, *L. sejroei* és *L. grippotyphosa* ellenanyagokat találtunk

MEGVITATÁS

Az 1999 és 2014 között eltelt 16 év alatt az ÁDI budapesti laboratóriumaiban és jogelődjeinek vizsgálati anyagában négy különféle háziállatfajban diagnosztizáltunk leptospirosist. Idült megbetegedést 43 (92%) vetélés (33 sertés, 7 tehén, 3 ló) és 1 (2%) vesegyulladás (vágóhídi sertés) kapcsán állapítottunk meg. Heveny leptospirosist csupán 3 (6%) esetben (1 borjú, 2 kölyökkutya) találtunk kizárólag fiatal állatokban. A klinikai tünetek valamint a kórbonctani és kórszövet-tani elváltozások valamennyi esetben megegyeztek az irodalomban korábban már közöltekkel. Az egyes éveket külön-külön vizsgálva a betegség többnyire csak kis számban, sőt néhány évben egyáltalán nem fordult elő. Ez alól csak a 2009. és 2012. évek viszonylag kiugró értékei jelentenek kivételt (vö. 1. ábra).

A szerzők nem találtak összefüggést a csapadék mennyisége és a leptospirosis előfordulási gyakorisága között

Számos tanulmányban igazolták, hogy a csapadék mennyisége és a leptospirosis előfordulási gyakorisága között szignifikáns összefüggés van, ami az emberi és az állati megbetegedésekre egyaránt érvényes (1, 19, 20). Az Országos Meteorológiai Szolgálat Magyarországra vonatkozó éves, átlagos csapadékmennyiség-adatait elemezve mi ilyen összefüggést nem találtunk. Így például 2009-ben, amikor a legtöbb esetet diagnosztizáltuk, a magyarországi átlagnak megfelelő 600 mm csapadék esett országos átlagban. A következő, 2010-es évben, amikor az ország az évszázad árvizét élte át, és az éves csapadékmennyiség közel 960 mm volt, csupán egyetlen leptospirosis esetet találtunk. Az ezt követő 2011-es évben pedig, amikor alig több mint 400 mm éves csapadékmennyiség mellett az ország az évszázad aszályát szenvedte meg, két esetben is megállapítottunk leptospirosist. A második legnagyobb esetszámot 2012-ben értük el, amikor szintén aszályos évet tudhattunk magunk mögött 460 mm körüli éves, átlagos csapadékmennyiséggel. A leptospirosis havonkénti előfordulási gyakorisága, hasonlóan az éveshez, nem mutatott egyértelmű összefüggést az átlagos, országos havi csapadékmennyiséggel (vö. 2. ábra). Hazánkban hagyományosan a május, június és július a legcsapadékosabb hónapok. Ennek ellenére nagyobb esetszámmal e három hónap közül csak májusban találkozunk. A három őszi hónapban átlagos mennyiségű csapadék hullik hazánkban, mégis a leptospirosis esetek jelentős részét ebben az időszakban találtuk. Meg kell ugyanakkor jegyezni, hogy Magyarországon a csapadék eloszlása rendkívül szélsőséges, így elképzelhető, hogy ha az érintett állományok közvetlen környezetének csapadékviszonyait külön-külön vizsgálhattuk volna, akkor ettől eltérő eredményre jutunk.

A vizsgált 33 vetélés-esetből 29-ben *Leptospira*-specifikus ellenanyagokat találtak az anyaállatok vérében

Annak ellenére, hogy a *Leptospira* okozta vetélés idült fertőzés eredménye, a vizsgált 33 eset közül 29-ben (88%) *Leptospira*-specifikus ellenanyagokat mutattunk ki az érintett anyaállatok vérében. A szerológiai negatívnak talált 4 esetről lehetséges, hogy a fertőzést olyan *Leptospira*-szerotípus okozta, amely antigénként nem szerepel az intézeti szerodiagnosztikai készletben. Az intézeti szerológiai vizsgálatokhoz jelenleg használt *Leptospira*-szerotípusok a hazai és más európai országok korábbi megfigyelései alapján kerültek kiválasztásra. Fontos azonban kiemelni, hogy egy adott földrajzi területen előforduló szerotípusok felderítése csak azok izolálásával és meghatározásával lehetséges. Ilyen tenyésztésre alapozott, széles körű vizsgálatokról utoljára a múlt század '50-es és '60-as éveiben számoltak be hazánkban. Akkor az alábbi szerotípusokat izolálták állatokból: *L. pomona*, *L. tarassovi*, *L. sejroe*, *L. saxkoebing*, *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. gryppotyphosa* és *L. bratislava* (8). Az azóta eltelt időszakban esetlegesen bekövetkezett változásokról újabb *Leptospira*-izolátumok hiányában nincsenek adataink. A 4 szeronegatív anyaállat esetében ezek alapján biztosan annyi állapítható meg, hogy náluk a vizsgált szerotípusok nem okoztak szerológiai áthango-

A további 4 esetben nem zárható ki, hogy nem vizsgált szerotípusok okozták a vetélést

lódást. Több esetben egynél több szerotípus ellen mutattunk ki az anyaállatok vérében ellenanyagokat, ami a szerotípusok közötti antigénszerkezeti hasonlóság miatt gyakran előforduló keresztreakciókkal magyarázható (1). Hagyományosan ilyenkor a legmagasabb titert kiváltó szerotípust tekintik a fertőzésért felelős kóroknak. A heveny leptospirosisban elhullott borjú esetében a negatív szerológiai lelet a túlságosan rövid ideig tartó betegséggel magyarázható.

A vizsgálataink során a leptospirosist a WS- és/vagy az IH-módszer eredménye alapján állapítottuk meg. Mindkét eljárás a kórokozó szövetekben való közvetlen kimutatására alkalmas, és így kétséget kizáróan képes igazolni a megbetegedés előfordulását. Korábbi kutatásokhoz hasonlóan az IH-módszer a jelen vizsgálatban is érzékenyebb volt a WS-festésnél (14, 18). Az IH-módszer elbírálása mások és saját tapasztalataink alapján is némi gyakorlatot igényel, mivel számos esetben a jellegzetes hullámos *Leptospira*-alakok mellett – sőt az autolizált mintákban szinte kizárólag – különböző nagyságú coccusok formájában figyelhető meg az immunfestődés (vö. 6., 7., 8. ábrák) (4). Az utóbbi években számos PCR-eljárást írtak le, amelyek képesek a patogén leptospirákat kimutatni a legkülönbébb vizsgálati mintákból (2, 3, 15). Ez a módszer ugyan nagyobb érzékenységgel, mint az antigén-kimutatási eljárás (2), de önemésztett minták vizsgálata során alkalmanként fals negatív PCR-eredmények születhetnek (15). Az állati eredetű mintáknál ez a körülmény kiemelten fontos, mivel azok a vizsgáló laboratóriumba sokszor már részben önemésztett állapotban érkeznek. A hazai állatorvosi diagnosztikában a PCR-re alapozott *Leptospira*-kimutatás egyelőre nem áll rendelkezésre. Az előbbieket is figyelembe véve ugyanakkor indokoltnak tűnik, hogy az egyébként számos más fertőzés vonatkozásában rendkívül jól alkalmazható nukleinsav-alapú módszereket, a leptospirosis megállapítására is felhasználjuk a mindennapos diagnosztikai munkában.

A leptospirosisra gyanút keltő makroszkópos vagy mikroszkópos elváltozások 29 (62%) esetben voltak megfigyelhetők. Ilyen elváltozásokat valamennyi lóvetélés esetén és a sertésvetélések 2/3-ában találtunk. A szarvasmarha-vetéléseknél a makroszkópos vizsgálattal kóros elváltozást egyik esetben sem láttunk, a kórszövetteni vizsgálattal azonban a 4-ből 3 esetben *Leptospira*-fertőzésre gyanút keltő elváltozásokat figyeltünk meg. A vágóhídi sertésben észlelt vesegyulladás és a borjában, valamint a két kölyökkutyában talált heveny leptospirosis esetében már a makroszkópos vizsgálattal felmerült a leptospirosis gyanúja, amelyet a kórszövetteni elváltozások valamennyi esetben tovább erősítettek.

Hazánkban sertésvetélésekből eddig a *L. pomona* és a *L. tarassovi* mellett alkalmanként a *L. canicola*, valamint a *L. sejroei* szerotípusokat azonosították (7, 9). A jelen vizsgálatban a 33 sertésvetelésből 26-ban (79%) a *L. pomona* szerotípust mutattuk ki IH-val, amelyet a szerológiai eredmény minden vizsgált esetben megerősített. A *Leptospira*-tenyésztés hiányában is megalapozottnak tűnik, hogy ezeket a vetéléseket valóban a *L. pomona* okozta. Egyetlenegy esetben *L. copenhageni*-t mutattunk ki a vetélt magzatokban. Ez az eredmény ugyanakkor pozitív kontrollminta hiányában fenntartásokkal kezelendő, és az eredmény megerősítésére lenne szükség más laboratóriumi módszer segítségével. Az IH-vizsgálat eredménye szerint 6 sertésvetélést nem a *L. pomona* okozott. Ez annak ellenére is lehetséges, hogy közülük 3-nál *L. pomona*-val szembeni áthangolódást mutattunk ki a kocában. A szerotípusok közötti keresztreakciók miatt ugyanis ezeknél a kocáknál a szerológiai vizsgálattal önmagában nem zárható ki biztosan más szerotípusok oktatni szerepe. Az IH-vizsgálatok alapján három állományban a vetéléseket egynél több *Leptospira*-szerotípus okozhatta, mivel ezeknél *L. pomona* pozitív és negatív vetélt almokat egyaránt találtunk. A többi szerotípus esetében kapott IH-eredmények megítélése ugyanakkor

Az utóbbi években számos PCR-eljárást írtak le, amelyek képesek a patogén leptospirákat kimutatni a legkülönbébb vizsgálati mintákból

Az esetek 62%-ában volt megfigyelhető leptospirosisra gyanút keltő makroszkópos vagy mikroszkópos elváltozás

A betegségért felelős szerotípus(ok) pontos meghatározásához a baktériumtörzs izolálására és meghatározására lenne szükség a kétésetekben

kérdéseket vet fel. Egy korábbi kutatásunkban a mikroagglutinációs próbához előállított, szerotípus-specifikus, poliklonális ellenanyagok az erős keresztreakció miatt nem voltak alkalmasak a *Leptospira*-szerotípusok IH-módszerrel végzett meghatározásához (17). A jelen vizsgálatokhoz a zavaró keresztreakciók kiiktatása céljából monoklonális ellenanyagokat használtunk. Ezeket eredetileg szintén a mikroagglutinációs próbához gyártották, és tudomásunk szerint elsőként próbáltuk ki őket IH-eljárásban. Számos antigén vonatkozásában kimutatták, hogy azok a formalinos fixálás és paraffinos beágyazás során tönkremennek, és így az ellenük termelt monoklonális ellenanyagok már nem képesek kötődni hozzájuk. Elképzelhető, hogy a vizsgálataink során bizonyos esetekben ugyanez történt. A betegségért felelős szerotípus(ok) pontos meghatározásához a baktériumtörzs izolálására és meghatározására lett volna szükség ezekben az esetekben.

A vizsgált időszakban a leptospirosis leggyakrabban sertésben jelentkezett (34 eset, 72%). Ennek egyik magyarázata az lehet, hogy az érintett négy faj közül a sertést hazánkban többnyire nagy létszámú és sokszor túlszűfolt telepeken tartják, amely körülmény nagyban elősegíti mindenféle fertőző megbetegedést, így a leptospirosis terjedését is. A fertőzési forrást egyik esetben sem sikerült felderíteni. Néhány vizsgálatnál a beküldő kollégával folytatott telefonbeszélgetésből a rágcsálók elleni hiányos védekezés merült fel mint lehetséges kockázati tényező. Az érintett telepek döntő többségénél csak egyetlen évben mutattuk ki a leptospirosist. Két telep esetében azonban különböző években vissza-visszatérően jelentkezett a megbetegedés, aminek hátterében a hiányos telepi higiénia és járványvédelem húzódnak meg. A megfelelő járványvédelem (vásárlás fertőzésmentes állományból, karantén, hatékony rágcsálóirtás) a fertőzés behurcolását, a megfelelő higiénia pedig a fertőzés telepen belüli terjedését képes hatékonyan korlátozni. Ilyen higiéniai problémát okozhat a vízzel végzett, nem szakszerű istállótakarítás. Ha ennek következtében ugyanis a padozaton pangó vizek maradnak vissza, vagy a hígtrágyát szakszerűtlenül kezelik, az akár egy aszályos időszakban is kiváló lehetőséget nyújt a patogén leptospirák túléléséhez és a fertőzés telepen belüli terjedéséhez. Az irodalmi adatokkal egybehangzóan a leptospirákat a vetélt alom nem mindegyik egyedéből mutattuk ki (5). Ezért fontos, hogy az intézeti vizsgálatra a vetélt koca vére mellett legalább 4 sertésmagzat kerüljön, amelyek között magzatsor esetén frissen és régebben elpusztult egyedek egyaránt szerepeljenek. A leptospirosis leggyakoribb tünete a szarvasmarhánál is a vetélés volt, amely a sertéshez hasonlóan halmozottan jelentkezett. Lovaknál az előbbiekkal szemben a leptospirosis csak néhány állományban okozott szórványos vetélést. Ebben a kis esetszámban az is szerepet játszhatott, hogy a vizsgálatra küldött lóvetélések száma az adott időszak első éveitől eltekintve mindig igen kicsi volt.

A leptospirosis – eltérő gyakorisággal – rendszeresen előfordult a vizsgált időszakban, leginkább sertésben

Összefoglalva megállapítható, hogy a leptospirosis ugyan eltérő éves gyakorisággal, de rendszeresen előfordult hazánkban az 1999-től vizsgált 16 évben. A megbetegedés leggyakrabban idült formában jelentkezett. A háziállatok közül a sertés volt a legérintettebb faj, amelyet döntően a *L. pomona* betegített meg. A szarvasmarhában, a lóban és a kutyaiban a leptospirosis csak szórványosan fordult elő. A szerzők tudomása szerint *Leptospira* okozta emberi megbetegedés egyik eset kapcsán sem került megállapításra.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők köszönetüket fejezik ki MÉSZÁROS ÁGNESNEK a vizsgálatokhoz nyújtott nélkülözhetetlen segítségért.

IRODALOM

1. BOQVIST, S. – ELIASSON-SELLING, L. et al.: The association between rainfall and seropositivity to *Leptospira* in outdoor reared pigs. *Vet. J.*, 2012. 193. 135–139.
 2. EROL, E. – JACKSON, C. B. et al.: A diagnostic evaluation of real-time PCR, fluorescent antibody and microscopic agglutination test in cases of equine leptospiral abortion. *Equine Vet. J.*, 2014. 47. 171–174.
 3. FERREIRA, A. S. – COSTA, P. et al.: Direct detection and differentiation of pathogenic *Leptospira* species using a multi-gene targeted real time PCR approach. *PLOS ONE*, 2014. 9. e-112312.
 4. GREEN, C. E. – SYKES, J. E. et al.: Leptospirosis. In: Green, C. E. (ed.): *Infectious diseases of the dog and cat*. 4th edition, Elsevier St Louis, Missouri, USA, 2012. 431–446.
 5. HATHAWAY, S. C. – LITTLE, T. W. A. – WRATHALL, A. E.: Experimental infection of pregnant gilts with leptospire isolated from british wildlife. II. Clinical, bacteriological and pathological aspects of infection. *Br. Vet. J.*, 1983. 139. 404–414.
 6. KASZANYITZKY É. – BAJMÓCZY E. – BACSADI Á. – MATIZ K.: A leptospirák okozta vetélésekről hasznos háziállatainkban. *Magy. Állatorv. Lapja*, 1997. 119. 415–419.
 7. KEMENES, F.: Über das Vorkommen von Infektionen mit zwei oder drei verschiedenen Leptospirentypen in Ungarn. *Acta Vet. Hung.*, 1962. 12. 101–109.
 8. KEMENES F.: Vizsgálatok a hazánkban izolálható leptospiráknak fehér egerekhez való adaptálásáról. *Magy. Állatorv. Lapja*, 1972. 27. 46–49.
 9. KEMENES, F. – BOKORI, J. – KARSAI, F. – SURJÁN, J.: *Leptospira canicola* induced abortion in swine in Hungary. *Acta Vet. Hung.*, 1962. 12. 235–247.
 10. KOVÁCS-KOZÁK R. E. – BOGÁR I. – SPROCH Á. – SZEREDI L.: Heveny leptospirosis kölyökkutyában; esetismertetés. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2014. 136. 157–166.
 11. LEHMANN, J. P. – MATTHIAS, M. A. et al.: Leptospiral pathogenomics. *Pathogens*, 2014. 3. 280–308.
 12. LEVETT, P. N.: Leptospirosis. *Clin. Microbiol., Rev.*, 2001. 14. 296–326.
 13. O. I. E.: Leptospirosis. In: *Manual of standards for Diagnostic Tests and vaccines*. 5th edition. Office International des Epizooties. Paris, 2004. 583–585.
 14. SCANZIANI, E. – SIRONI, G. – MANDELLI, G.: Immunoperoxidase studies on leptospiral nephritis of swine. *Vet. Pathol.*, 1989. 26. 442–444.
 15. SHEARER, K. E. – HARTE, M. J. et al.: Detection of *Leptospira* spp. in wildlife reservoir hosts in Ontario through comparison of immunohistochemical and polymerase chain reaction genotyping methods. *Can. Vet. J.*, 2014. 55. 240–248.
 16. SZEREDI L.: Leptospirák kimutatása immunhisztokémiai módszerrel formaldehidoldatban fixált és paraffinba ágyazott szervekben. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2005. 127. 439–443.
 17. SZEREDI, L. – HAAKE, D. A.: Immunohistochemical identification and pathological findings in natural cases of equine abortion caused by leptospiral infection. *Vet. Pathol.*, 2006. 43. 755–761.
 18. YENER, Z. – KELES, H.: Immunoperoxidase and histological examinations of leptospiral nephritis in cattle. *J. Vet. Med. A.*, 2001. 48. 441–447.
 19. WARD, M. P.: Seasonality of canine leptospirosis in the United States and Canada and its association with rainfall. *Prev. Vet. Med.*, 2002. 56. 203–213.
 20. WYNWOOD, S. J. – CRAIG, S. B. et al.: The emergence of *Leptospira bogpetersenii* serovar Arborea as the dominant infecting serovar following the summer of natural disasters in Queensland, Australia 2011. *Trop. Biomed.*, 2014. 31. 281–285.
- Közlésre érkező: 2015. máj. 14.