

Állatorvostudományi Egyetem
Állatorvostudományi Doktori Iskola

**A paratuberculosis állomány-egészségügyi
vonatkozásai nagyüzemi tejtermelő tehenészetekben**

PhD értekezés



dr. Vass-Bognár Barbara

2023

Témavezető:

.....

Dr. Jurkovich Viktor, dipl. ECAWBM

tudományos főmunkatárs

Állatorvostudományi Egyetem

Állatvédelmi Jogi, Elemző- és Módszertani Központ

.....

dr. Vass-Bognár Barbara

Készült 8 példányban ez a sz. példány.

Tartalomjegyzék

1	ÖSSZEFOGLALÁS	4
2	BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK	6
3	IRODALMI ÁTTEKINTÉS	8
3.1	A paratuberculosis története, világszintű elterjedtsége és jelentősége	8
3.2	A betegséget okozó kórokozó bemutatása, mikrobiológiai tulajdonságai	10
3.3	A betegség kórlefolyása és immunológiai háttere	11
3.4	Lehetséges diagnosztikai módszerek	14
3.4.1	A kórokozó kimutatására irányuló diagnosztikai vizsgálatok	14
3.4.2	Az immunválasz kimutatására irányuló diagnosztikai módszerek	17
3.4.3	Egyéb, újabb típusú vizsgálatok	18
3.4.4	Összegzés	20
3.5	A paratuberculosis terjedését elősegítő tényezők	21
3.6	A paratuberculosis kontrollálásának lehetőségei	22
3.7	A paratuberculosis lehetséges közegészségügyi vonatkozásai	24
4	SAJÁT VIZSGÁLATOK	27
4.1	A szubklinikai paratuberculosis fertőzöttség hatása tejelő tehenek egészségére és néhány élettani paraméterére	27
4.1.1	A vizsgálat elvégzésének indoklása	27
4.1.2	Anyag és módszer	27
4.1.3	Eredmények	31
4.1.4	Megbeszélés és következtetések	32
4.2	Az elletési és borjúnevelési technológia és a telepi paratuberculosis fertőzöttség összefüggései magyarországi tejelő tehenészetekben	37
4.2.1	A vizsgálat elvégzésének indoklása	37
4.2.2	Anyag és módszer	37
4.2.3	Eredmények	40
4.2.4	Megbeszélés és következtetések	42
4.3	A paratuberculosis elterjedtségének vizsgálata hazai nagyüzemi tejtermelő állományokban és a mentesítési programok sikerességének vizsgálata négyéves távlatban	46
4.3.1	A vizsgálat elvégzésének indoklása	46
4.3.2	Anyag és módszer	46
4.3.3	Eredmények	48
4.3.4	Megbeszélés és következtetések	51
4.4	A paratuberculosis fertőzöttség kimutatására alkalmas diagnosztikai tesztek érzékenységének vizsgálata a laktáció különböző szakaszaiban	53
4.4.1	A vizsgálat elvégzésének indoklása	53

4.4.2	Anyag és módszer.....	53
4.4.3	Eredmények.....	56
4.4.4	Megbeszélés és következtetések	61
5	KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK	64
6	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	66
7	FELHASZNÁLT IRODALOM	67
8	SAJÁT KÖZLEMÉNYEK.....	80
8.1	Az értekezés témájához kapcsolódó publikációk.....	80
8.1.1	Lektorált, impakt faktorraal bíró tudományos folyóiratban megjelent/elfogadott publikációk.....	80
8.1.2	A kutatás eredményeinek megjelenése nemzetközi tudományos konferenciákon.....	80
8.2	A doktori kutatás témájához nem kapcsolódó tudományos közlemények	82
9	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	83
10	FÜGGELÉK	85

Rövidítések jegyzéke

Rövid név	Jelentés
ALB	albumin
ALT	alanin-aminotranszferáz (alanine aminotransferase)
AST	aszpartát-aminotraszferáz (aspartate aminotransferase)
BCS	kondíciópontszám (body condition score)
BHB	béta-hidroxivajsav (beta-hydroxybutyrate)
CD	Crohn-betegség (Crohn disease)
CFU	telepképző egység (colony forming unit)
CH	koleszterin (cholesterol)
Ct	ciklusszám (cycling treshold)
ELISA	enzimhez kötött immunsorbens próba (enzyme-linked immunosorbent assay)
GGT	gamma-glutamil-transzferáz (gamma-glutamyltransferase)
IFN- γ	gamma-interferon (interferon-gamma)
IL	interleukin
MAP	<i>Mycobacterium avium</i> subspecies <i>paratuberculosis</i>
NÉBIH-ÁDI	Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság
NEFA	nem észterifikált zsírsavak (non-esterified fatty acids)
NSBÜ	nettó sav-bázis ürítés
OD	optikai denzitás (optical density)
OIE	Nemzetközi Járványügyi Hivatal (The World Organization for Animal Health)
PCR	polimeráz-lánreakció (polymerase chain reaction)
PP	ellés után (post partum)
PTB	paratuberculosis
qPCR	kvantitatív valós idejű polimeráz lánreakció
S/P érték	sample-positive ratio
SCC	szomatikus sejtszám (somatic cell count)
SD	szórás (standard deviation)
TG	triglicerid
TMR	teljes takarmánykeverék (Total Mixed Ration)
TP	összfehérje (total protein)

1 Összefoglalás

A paratuberculosis (PTB) a nagyüzemi tejtermelő gazdaságok egyik legnagyobb gazdasági kárral járó fertőző betegsége. A betegségtől való mentesítés akadályai a hosszú lappangási idő és a jelenleg forgalomban lévő diagnosztikai tesztek eltérő érzékenysége, amik miatt a fertőzött állatokat a betegség klinikai szakasza előtt nem tudjuk biztosan azonosítani. Doktori értekezésem célja volt felmérni a magyarországi nagyüzemi tejtermelő tehenészetek fertőzöttségét, nyomon követni és értékelni a jelenleg folyamatban lévő mentesítési programokat, valamint a betegség visszaszorítására tett menedzsment intézkedések és a jelenleg elérhető diagnosztikai tesztek vizsgálatával olyan támpontokat nyújtani a gazdaságoknak, amik segítségükre lehetnek egy sikeres gyérítési program felállításában.

Az első vizsgálat során a betegség szubklinikai formájában lévő teheneket vizsgáltunk azzal a céllal, hogy megállapítsuk, hogy a betegség ezen formájának milyen hatása van a tehenek egészségére, termelésére és metabolikus paramétereire. A metabolikus paraméterekben nem találtunk eltérést, azonban a tőgyegészségügyre és szaporodásbiológiára gyakorolt hatás szignifikáns volt, a tejtermelésben tendenciózus csökkenést figyeltünk meg.

A második vizsgálat során 26 telepen mértük fel személyes teleplátogatások során kérdőív segítségével azokat a menedzsment intézkedéseket, amelyek legjobban befolyásolhatják a betegség terjedését. Eredményeink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a borjak fertőződése szempontjából az anyával töltött idő nagyon fontos befolyásoló tényező. A PTB mentesítési programokban a borjú azonnali elvétele az anyjától nélkülözhetetlen pont, illetve csak MAP negatív állattól származó főcstej itatása javasolható. Azok a telepek, amelyek vizsgálatunk során szigorúbbnak bizonyultak a lehetséges fertőzés megakadályozásában magasabb higiéniai pontszámot kaptak és alacsonyabb MAP látszólagos szeroprevalenciával rendelkeztek.

A harmadik vizsgálat célja 42 magyarországi nagyüzemi Holstein-fríz tehenészet fertőzöttségének és látszólagos szeroprevalencia változásának az értékelése volt 4 éves távlatban. Megállapítottuk, hogy az elletői menedzsment intézkedések nélkül a szeroprevalenciában négy év alatt nem lehet szignifikáns csökkenést elérni. Ha a védekezést csak a pozitív állatokat selejtezésére alapozzák, akkor csak a betegség szinten tartása érhető el. Amennyiben a telepek semmit sem tesznek, már 4 év alatt szignifikáns romlás következik be a látszólagos szeroprevalenciában. A selejtezési döntés megalapozásához a bélsár qPCR vizsgálatokat találtuk a legcélravezetőbbnek.

A negyedik vizsgálat során a jelenleg a gyakorlat számára is elérhető diagnosztikai tesztek, mint a tej és szérummintából történő ELISA vizsgálat és a bélsár qPCR eredményességét vizsgáltuk a laktáció folyamán ismert paratuberculosis pozitív teheneken. Megállapítottuk,

hogy a bélsár qPCR Ct értékei jó korrelációt mutatnak az ELISA tesztek S/P értékeivel. A pozitív esetek diagnosztizálására a laktáció 40-60. napja javasolható, mely alapja lehet a termékenyítésből való kizárás megalapozásának. Megállapítottuk, hogy a tesztek ismételhetősége a laktáció elején a legjobb, és a legmegbízhatóbb módszer a bélsár qPCR. A laktáció elején magas S/P értékkel vagy alacsony bélsár qPCR Ct értékkel rendelkező állatok nagy eséllyel fogják a betegség klinikai tüneteit mutatni a laktáció 40-60. napja körül. A paratuberculosis fertőzöttség visszaszorítása elengedhetetlen a nagyüzemi tejelő gazdaságokban, mind állatjóléti, mind pedig gazdasági szempontból. Már a szubklinikai fertőzöttség is jelentős gazdasági károkkal járhat, a betegség nagy valószínűséggel nem önkorlátozó jellegű, így a gazdaságos és minél kevesebb gyógyszerfelhasználással járó termelés egyik fontos tényezője a paratuberculosis kontrollja az állományokon belül. A kulcsfontosságú menedzsment döntések meghozatalához és a diagnosztikai tesztek alkalmazásához, ezen keresztül pedig a sikeres kontroll programok felállításához kíván jelen dolgozat gyakorlati támpontokat nyújtani.

2 Bevezetés és célkitűzések

A paratuberculosis (PTB) egy fertőző, granulomatózus gyulladással járó krónikus betegség, mely főleg a vékonybeleket és a bélfodri nyirokcsomókat érinti. Kórokozója egy sav és alkoholálló baktérium, a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) (Chiodini és mtsai., 1984). Az állatok hasmenéstől szenvednek, a fehérjevesztés következtében áll alatti oedema alakul ki, normális étvágy mellett is lesoványodnak, majd elpusztulnak (Sweeney, 2011). A betegség jelentős gazdasági veszteségeket okozhat a szarvasmarha-ágazatnak, főként a korai selejtezés, a csökkent tejhozam, a csökkent takarmány-hasznosítás, a termékenységi problémák, a csökkent vágási érték, és az egyéb betegségekre való fokozott fogékonyság miatt (Gonda és mtsai., 2007).

A betegség lappangási ideje hosszú, az állatok 2-6 éves koruk között mutatnak a leggyakrabban klinikai tüneteket. A fő fertőződési út a szájon át, bélsárral vagy tejjel (elsősorban főcstejjel) történő fertőződés, de lehetséges méhen belüli átvitel is (Whittington és Windsor, 2009). Az állatok 6 hónapos korukig a legfogékonyabbak a fertőzésre, ezen belül is az újszülöttkor jelenti a legnagyobb kockázatot. A klinikai tünetek megjelenéséig évek is eltelhetnek, azonban a betegség már szubklinikai stádiumban is hatással van az állatok egészségére, termelékenységére és ezáltal a telep jövedelmezőségére (Johnson-Ifearulundu és mtsai., 2000). Nagyüzemi körülmények között az állatok a legtöbb esetben már a jellegzetes klinikai tünetek megjelenése előtt egyéb okok miatt selejtezésre kerülnek (Bakker és mtsai., 2000).

A betegség főként a szarvasmarhákat, juhokat, kecskéket érinti, de leírták már lovaknál, szarvasoknál, alpakánál, lámánál, bivalynál, tevénél, nyúlnál, rókánál, borznál, menyétnél és hermelinnél is (Beard és mtsai., 2001; OIE, 2014). Magyarországról a vadállományban gímszarvasban és vaddisznóban is kimutatták már a betegséget (OIE, 2014). Egy 2020-ban készült, tejelő állományokat vizsgáló felmérés alapján a magyarországi tehenészetek nagy része fertőzött a paratuberculosis kórokozójával (Ózsvári és mtsai., 2020).

A paratuberculosis és az emberek Crohn-betegsége (CD) közötti kapcsolat jelenleg is egy folyamatban lévő tudományos vita része. Amennyiben a Johne-betegség és a Crohn-betegség közötti összefüggés bizonyítottá válik, az nagy hatással lesz a tejjel és a PTB elleni védekezés világszinten prioritást fog élvezni (McNees és mtsai., 2015). A fogyasztókra jelentett lehetséges zoonózis veszély, az állatok egészségére és jóllétére gyakorolt hatás, valamint a jelentős gazdasági veszteségek miatt számos országban védekezési programokat dolgoztak ki a betegség visszaszorítására, bár az európai harmonizáció még hiányzik. Egyes országokban kötelező a klinikai tüneteket mutató állatok selejtezése, míg a más esetekben a kontroll programok önkéntes alapúak, illetve vannak olyan országok, ahol a részvétel

önkéntes, de központilag meghatározott protokoll felállításával igyekeznek visszaszorítani a betegséget (Whittington és mtsai., 2019). A programok sikerességét jelentősen befolyásolja a jelenleg a gyakorlatban is elérhető diagnosztikai tesztek eltérő szenzitivitása, legfőképp azért, mert jelenleg a betegséget nem lehet nagy biztonsággal kimutatni a baktériumürítés kezdete előtt (Barkema és mtsai., 2018). A betegség kimutatására jelenleg is a baktériumtenyésztés a gold standard vizsgálat, azonban a hosszú tenyésztési idő miatt gyakorlati diagnózisra ritkán alkalmazzák (Bölske és Herthnek., 2010). Állománydiagnosztikára a legegyszerűbb és leggyorsabb vizsgálati módszer az ELISA szérum és tejmintákból (Collins, 2002), azonban az utóbbi években egyre nagyobb teret nyertek a bélsár qPCR vizsgálatok, hiszen ezzel a módszerrel a baktériumürítés már a humorális immunválasz megjelenése előtt is kimutatható (Leite és mtsai., 2013). A kontroll programok sok esetben akadályba ütköznek mind az állatorvosok, mind pedig az állattartók részéről a költségek, a ráfordítandó energia és a hosszú időtartam miatt (Khol és Baumgartner, 2012).

A paratuberculosis egy lassan terjedő endemikus betegség, gyógykezelése nem ismert (Sweeney, 2011). A nagyüzemi tejelő tehenészetek tartási körülményei megfelelő környezetet biztosítanak a betegség terjedéséhez. A kontroll programok sikerességéhez szigorú higiéniai, menedzsment és selejtezési stratégia szükséges, azonban ezek eredménye csak évek múlva érzékelhető és mindeközül nincs egységes szakmai álláspont a sikeres mentesítési stratégiát illetően (Tuberquia-López és mtsai., 2022).

A kutatás célkitűzési a következők voltak:

1. A szubklinikai paratuberculosis fertőzöttség hatásának felmérése a tejelő tehenek egészségére és termelési paramétereire, valamint a biokémiai paraméterek lehetséges változásának a vizsgálata.
2. A tejelő tehenészetekben olyan tartástechnológiai pontok azonosítása, amelyek a legnagyobb mértékben elősegítik a betegség terjedését és az ezeket megelőző menedzsment lehetőségek azonosítása.
3. A paratuberculosis elterjedtségének felmérése hazai nagyüzemi tejtermelő állományokban és a mentesítési programok vagy ezek hiányának értékelése az évek alatt bekövetkezett látszólagos szeroprevalencia változások függvényében.
4. A jelenleg forgalomban lévő diagnosztikai tesztek vizsgálata és ezek alkalmazhatósága a laktáció különböző szakaszaiban, az optimális mintavételi időpont meghatározása érdekében.

3 Irodalmi áttekintés

3.1 A paratuberculosis története, világszintű elterjedtsége és jelentősége

A betegséget 1826-ban fedezték fel, amikor d'Aroval szórványosan előforduló, új típusú hasmenést figyelt meg szarvasmarhákánál. 1881-ben Hansen és Nielsen bélfal megvastagodással és a bél falának hullámosodásával járó hasmenésben elpusztult szarvasmarháról számolt be (Chiodini és mtsai., 1984). A betegség első leírása Johne és Frothingham nevéhez fűződik, akik 1895-ben egy sav- és alkoholálló baktériumot fedeztek fel a betegséggel érintett bélszakaszokban, amit a tuberculosis egy nem tipikus formájának tartottak (Johne és Frothingham, 1895). 1906-ban Bang megállapította, hogy a korábban leírt betegség nem tuberculosis, és pseudotuberculosis enteritisnek vagy Johne-féle betegségnek nevezte el. 1902 és 1908 között a pseudotuberculosis megjelenését jelentették Norvégiából, Belgiumból, Németországból, Franciaországból, Hollandiából és az Egyesült Állomokból (Chiodini és mtsai., 1984). Twort 1910-ben izolálta a baktériumot és *Mycobacterium enteriditis chronicae pseudotuberculosis bovis johne*-nak nevezte el (Twort és Ingram, 1912). Európában a betegség nagymértékű terjedését az 1990-es években kötött szabadkereskedelmi megállapodásokhoz kötik. Mivel a fertőzött állatok a legtöbb esetben nem mutatnak klinikai tüneteket, és a mentesség igazolása nem kötelező, a tünetmentesen fertőzött állatokkal behurcolták a betegséget az addig érintetlen állományokba is (Murray, 2013).

A paratuberculosis jelenléte a jelentős tejjárállal rendelkező országokban nagy valószínűséggel az állományok több, mint 50%-át érinti, ugyanakkor a betegség előfordulását hivatalosan kevés esetben jelentik (Barkema és mtsai., 2018). A PTB prevalenciája a nagylétszámú állományok esetében a kisüzemekkel összehasonlítva jelentősen magasabb (Garcia és Shallo, 2015). Az elterjedtség pontos meghatározása meglehetősen nehéz, mivel a diagnosztikai módszerek alkalmazása és az egyes országokon belül vizsgált populáció nagysága eltérő (Garcia és Shallo, 2015). Egy dániai felmérés szerint az állományok 75-92%-a érintett, míg Írországból ugyanez a szám 23-34% között mozog. Az állományokon belüli valódi prevalencia értéke átlagosan 2,7-15% között változik (Garcia and Shallo, 2015). Egy, az európai adatokat 2010 és 2017 között áttekintő felmérés szerint azon országokban, ahonnan rendszeresen jelentették az OIE felé a paratuberculosis eseteket a szeroprevalencia szignifikánsan emelkedett a 8 éves megfigyelési periódus alatt, átlagosan évente 0,6%-kal (Fanelli és mtsai., 2022).

Hazánkban a NÉBIH ÁDI-ban történt felmérés szerint az 5 évre visszamenően 3029 állatból származó szerológia minta alapján az állatok 12,6%-a bizonyult szeropozitívnak, ez a hazai állomány nagyjából 10%-át tette ki (Rónai és mtsai., 2015). A legfrissebb 2020-as hazai felmérés szerint a paratuberculosis egyre nagyobb problémát jelent a hazai tejtermelő állományokban: a valódi prevalencia állományszinten 89,1%, egyedi szinten pedig 4,4% ill. 10,3% az egyszer- és többször ellett tehenek esetében (Ózsvári és mtsai., 2020).

Napjainkban a paratuberculosis a tejelő ágazat egyik legnagyobb gazdasági károkat okozó fertőző betegségeként tartják számon. Az USA-ban 200 és 1500 millió dollár közé teszik a paratuberculosis által okozott éves veszteséget a tejelő állományokban (Rasmussen, 2021). Egy 2014-ben történt hazai felmérés szerint egy 900 tehenes tejelő állományban a betegség állomány szinten 4 év alatt mintegy 238 000 EUR veszteséget okozott (Fodor és mtsai., 2014). A gazdasági károk legnagyobb része a csökkent tejtermelésből, csökkent vágóértékből és idő előtti selejtezésből adódik. A betegséggel összefüggésbe hozható a csökkent szaporodásbiológiai teljesítmény, és az egyéb betegségekre (pl. lábvégbetegségek, tőgygyulladás) való nagyobb fogékonyság is (Garcia és Shallo, 2015). A gazdasági károk számszerűsítésénél figyelembe kell venni a betegség állományon belüli prevalenciáját, azonban a MAP-prevalencia számítási módszerében jelentős különbségek lehetnek az egyes vizsgálatok között. Ezen kívül a vizsgált régiók gazdasági helyzetében is jelentős eltérések lehetnek, így a pontos gazdasági veszteségeket szinte lehetetlen egységesen meghatározni (Rasmussen, 2021). Általánosságban elmondható, hogy minél nagyobb az állományon belül a „szuperürítők”¹ (Aly és mtsai., 2012) száma, a termelésre gyakorolt negatív hatás annál jelentősebb lesz (Lombard és mtsai., 2005), illetve a termelés kiesés nagyobb a mind PCR-re mind ELISA-ra pozitív állatok esetében a csak ELISA pozitív állatokkal összehasonlítva (Gonda és mtsai., 2007).

A veszteségek mértékét nagymértékben befolyásolja, hogy klinikai vagy szubklinikai fertőzésről van-e szó. A paratuberculosis által okozott tejvesztés egy állatra vetítve átlagosan 250-1400 kg között változik a laktáció során (Rasmussen, 2021). Egy magyarországi felmérés szerint a tejből végzett ELISA vizsgálattal pozitív tehenek átlagosan 4,6 l tejjel termeltek kevesebbet és 160 nappal korábban kerültek levágásra, mint a negatív társaik (Ózsvári et al, 2020). A veszteségek mértékét a legegyszerűbb a klinikai tüneteket mutató állatok esetében meghatározni, ahogy ezt a legtöbb tanulmányban teszik, a szubklinikai fertőzés gazdasági hatásai sokkal nehezebben számszerűsíthetők. Állományszinten azonban a szubklinikailag fertőzött tehenek vannak túlsúlyban, és ezek az állatok az átlagéletkort figyelembe véve sok esetben hamarabb selejtezésre kerülnek,

¹ Szuperürítők a bélsárral több, mint 10⁴ CFU/g baktériumot ürítő állatok.

minthogy a klinikai tünetek kialakulhatnak, így a szubklinikai paratuberculosis gazdasági kártétele hosszútávon meghaladhatja a klinikai formáét (Tiwari és mtsai., 2007).

Egyes vizsgálatok, köztük a magyarországi felmérés is, az első laktációban még nem talált szignifikáns különbséget a tejtermelésben a PTB negatív és a fertőzött állatok között, ugyanakkor a későbbiekben már igen (Aly és mtsai., 2010, Ózsvári és mtsai., 2020). Mások átlagosan napi 1,3 kg tejtermelésbeli csökkenést írtak le az ELISA pozitív állatoknál (MCaloon és mtsai., 2016). A legtöbb esetben a romló tőgyegészségügyi helyzet az oka a MAP+ állatok idő előtti selejtezésének (MCKenna és mtsai., 2006). A legutóbbi hazai felmérésben az ELISA pozitív állatoknál a 3. laktációban magasabb volt a szomatikus sejtszám (Ózsvári és mtsai., 2020). Mivel a betegség során gyengül a sejtes immunválasz, az állatok minden betegsége, így a tőgygyulladásra is fogékonyabbak lesznek, ezáltal hamarabb selejtezésre is kerülnek (Johnson-Ifearegundun and Kaneene, 1997). Szubklinikai esetben több szaporodásbiológiai kezeléssel kell számolni (Garcia és Shallo, 2005), mely jelentősen növeli a telep gyógyszerfelhasználásnak mértékét és az állatorvosi költségeket (Fodor és mtsai., 2014, Benedictus és mtsai., 1987). Szaporodásbiológia mutatók tekintetében a MAP+ állatoknál a két ellés közti idő 27,9 nappal volt hosszabb (Johnson-Ifearegundun és mtsai., 2000). Ezek mellett a paratuberculosis testsúly csökkenést okoz a szarvasmarhában (Fodor és mtsai., 2014).

3.2 A betegséget okozó kórokozó bemutatása, mikrobiológiai tulajdonságai

A kórokozó a *Mycobacterium avium* komplexbe tartozik, mely számos lassan növekvő Gram-pozitív mikroorganizmust foglal magában, patogén és fakultatív patogén fajokat, illetve a talajban és a természetes vizekben gyakran megtalálható egyéb baktériumokat.

A MAP a *Mycobacterium avium*-tól eltérően, melyhez genetikailag 99%-ban hasonlít, obligát patogén baktérium. A MAP-t az egyéb *Mycobacterium* fajoktól megkülönbözteti az extrém lassú növekedés, valamint hogy nem képes mycobaktint termelni, és a genomjában megtalálható az IS900 szekvencia (Collins és mtsai., 1989). A MAP okozta paratuberculosis a kérődző fajokban kísérletes fertőzéssel előidézhető (Begg és mtsai., 2010). A MAP, mivel nem képes mycobaktint termelni, csak a gazdaszervezetben képes szaporodni, ahonnan a növekedéséhez szükséges vasat készen veszi fel (Turenne és Alexander, 2010). Genomszinten a baktériumnak három altípusa ismert az I-es vagy juh, a II-es vagy szarvasmarha és a III-as vagy intermedier típus (Castellanos és mtsai., 2009). Az I-es és III-s típus közti nagyfokú genetikai hasonlóság miatt ezt a csoportot gyakran I/III csoportként is említik. A szarvasmarhák általában a II-es típusal fertőződnek és a vadállatokban is szintén

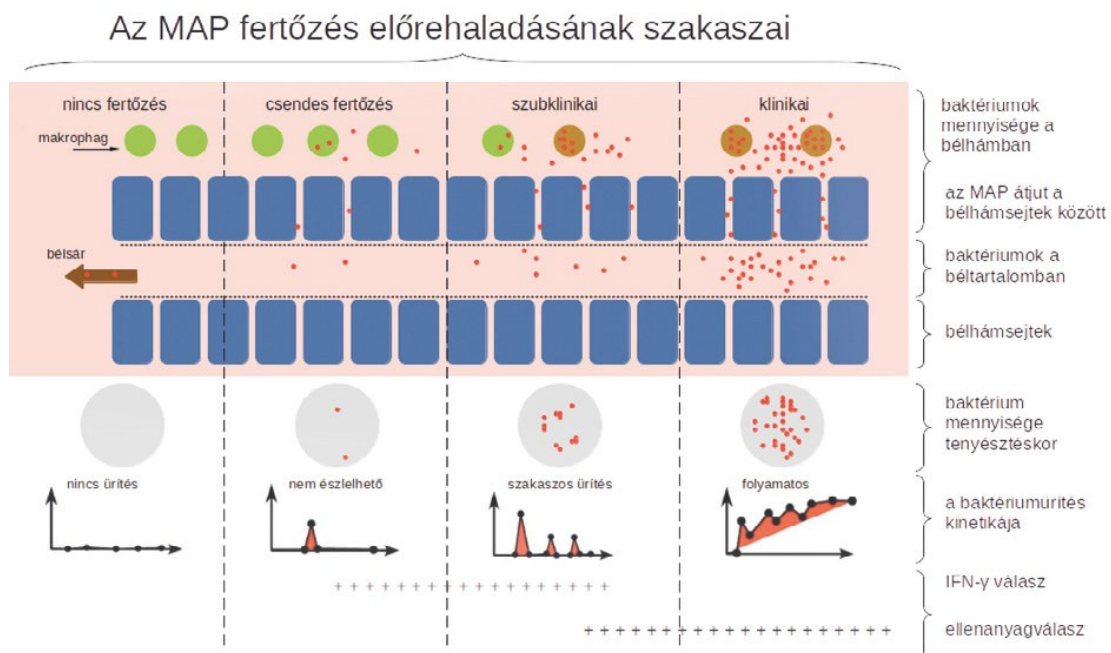
ezt a típust izolálják gyakrabban. A juhok fertőzését az I-es, a kecskékét pedig mindhárom típus előidézheti (de Juan és mtsai., 2006). A MAP fizikai és vegyi hatásoknak ellenálló, sav és alkoholálló baktérium. Száraz, árnyékos környezetben a gazdaszervezeten kívül akár 55 hétig is képes fertőzőképes maradni (Whittington és mtsai., 2004).

A mycobaktériumok növekedéséhez különleges táptalajra van szükség. A tenyésztés szilárd táptalajon (a leggyakrabban Herrold's Egg Yolk [HEYM], Löwenstein–Jensen vagy Middlebrook 7H11 táptalaj) hónapokig is eltarthat (Britton és mtsai., 2016). Folyékony táptalajon (pl. Middlebrook 7H9) a tenyésztés ideje akár 4 hétre rövidíthető (Schwalm és mtsai., 2019), ráadásul a folyékony táptalajokon való tenyésztés alkalmas automatizált módszerek kifejlesztésére (Britton és mtsai., 2016).

3.3 A betegség kórlefolyása és immunológiai háttere

A fertőzés főként borjúkorban történik, az állatok 6 hónapos korukig kifejezetten fogékonyak (Windsor és Whittington, 2010). A kórokozó bélsárral ürül a legnagyobb mértékben, így az elsődleges fertőzési út a közvetlenül bélsárral vagy bélsárral szennyezett felületekkel (pl. szennyezett alom, tőgy, etető és itatóvályúk) való szájon át történő érintkezés, (Sweney, 2011). A fertőzött állatok üríthetik a baktériumot a tejbe, már a kolosztrumba is, így a borjak a főcstej elfogyasztásával is fertőződhetnek (Fecteau, 2018). Leírtak méhen belüli fertőzést is, ez elsősorban a klinikai stádiumban lévő anyáknál fordulhat elő közel 40%-os valószínűséggel, míg a szubklinikai fertőzöttség esetén erre csupán 9% az esély (Whittington és Windsor, 2009). A fertőzés szempontjából legkritikusabb időszak az élet első pár napja. A MAP, feltehetően a bélnyálkahártya immunglobulinok felszívódásához szükséges fokozott átteresztőképessége miatt, könnyen bejut a szervezetbe és a még fejletlen immunrendszer nem tudja elpusztítani. Az egy éves szarvasmarha ellenállóképessége a betegséggel szemben már közel azonos a felnőtt állatokéval. A fertőzés lefolyását az életkoron túl a felvett kórokozó mennyisége is befolyásolja. Általánosságban elmondható, hogy azoknál az állatoknál, melyek nagy mennyiségben veszik fel a baktériumot, rövidebb a lappangási idő és hamarabb kialakul a klinikai stádium, szemben az alacsonyabb fertőzési dózissal kitett társaikkal (Windsor és Whittington, 2010). Felnőtt korban a fertőzés csak extrém magas fertőzési nyomás és legyengült immunrendszer esetén lehetséges, azonban a legtöbb esetben az állatok selejtezésre kerülnek egyéb okok miatt, mielőtt elérnék a hosszú lappangási idő végét és elkezdenék üríteni a baktériumot (Larsen és mtsai., 1975). A fő bejutási kapu az ileum nyálkahártyája, ahol a kórokozó a Peyer plakkok M sejtjein keresztül bejut a szervezetbe, majd a macrophagok bekebelezik. A fertőzés megeredése szempontjából kulcsfontosságú, hogy a macrophagok képesek-e elpusztítani a MAP-t. A Th1 típusú T-helper lymphocyták által termelt

interferon-gamma aktiválja a macrophagokat (Zurbrick és mtsai., 1988), azonban a baktérium befolyásolja a macrophagok anyagcseréjét, elsősorban a zsíryanycserét, és koleszterin felhalmozásra készíti a sejteket. A koleszterin egyrészt tápanyagul szolgál a baktériumnak, másfelől meggátolja a macrophag érését, ezáltal az nem tudja elpusztítani a bejutott baktériumot és előbb-utóbb szétesik, a MAP pedig kiszabadul (De Chastellier és Thilo, 2006). A betegséget klinikai szempontból négy szakaszba sorolhatjuk (**1. ábra**).



1. ábra. A MAP fertőzés előrehaladásának szakaszai (Fecteau és mtsai., 2018 és Magomedze és mtsai., 2017 nyomán).

Az első szakasz, a csendes fertőzés

A fertőződés korai szakaszában a gazdaszervezet még képes lehet meggátolni a MAP szaporodását, így a MAP csak lassan képes terjedni a bélben és a bélhez kapcsolódó nyirokszervrendszerben, és a baktérium az éhbél vagy a csípőbél nyálkahártyájából esetenként kitenyészthető (Wu és mtsai., 2007). A fertőzésnek nincs még semmilyen kimutatható hatása sem a termelésre, sem pedig a súlygyarapodásra (Fecteau, 2018). A MAP elleni antigének jelenléte a submucosában és a mesenterialis nyirokcsomókban gyulladást vált ki. A gyulladás további macrophagokat és lymphocytákat vonz a területre így elkezdnek kialakulni a granulómák (Magomedze, 2017). A lymphocyták proliferációja vagy az interferon-γ szint emelkedése esetenként kimutatható, de nem tekinthető megbízható diagnózisnak. A fertőzés csendes szakasza általában 1-2 évig tart, melyet nagyban befolyásol az állomány MAP terheltsége és az állat immunológiai státusza (Clarke, 1997).

A második szakasz, a fertőzés előrehaladása

Az állatok már elkezdik üríteni a baktériumot, de klinikai tüneteket még nem tapasztalunk. Kialakul egy granulomatosus gyulladáshoz vezető válasz, mely kórszövettani vizsgálattal már kimutatható (Clarke, 1997). Az idő előrehaladtával a fertőzés megfékezéséért felelős sejtmediált immunválasz folyamatosan csökkenni kezd. Immunológiai szempontból a Th1 típusú immunválaszt átveszi a főleg Th2 mediált immunválasz, amelyben az IL-2 és IL-10 citokinek a dominánsak, megkezdődik az ellenanyag termelés, amivel párhuzamosan az IFN- γ válasz megszűnhet (Bassegy és Collins, 1997). Az immunválasz változásának oka jelenleg ismeretlen. Ettől kezdve a betegség előrehaladása jelentősen felgyorsul. Egy elmélet szerint az IL-10 egy fontos citokin, amely a túlzott sejtmediált immunválasz ellen védi a szervezetet, ezen kívül a fagociták érését is lassítja. A MAP serkenti az IL-10 termelését, és ezen keresztül, valamint közvetlenül is a TNF- α termelődését is, amely a programozott sejthalál ellen hat, így életben tartja a MAP-t bekebelezett macrophagokat (Houssain és mtsai., 2016). A sejtes és a humorális immunválasz egyensúlya összefüggésben van a baktériumürítéssel. Azokban az állatokban, amelyekben a Th1-mediált immunválasz jellemző, kisebb a baktériumürítés mértéke, mint amelyekben Th2-mediált immunválasz figyelhető meg (Magombedze és mtsai, 2016). Ahogy az immunrendszer elveszti a „kontrollt” a fertőzés felett, a baktérium egyre nagyobb mértékben és gyakrabban ürül a bélsárral és képes eljutni a méhbe, tőgyszövetbe és akár az izomszövetbe is (Fecteau, 2018). Ebben a szakaszban már jellemző lehet a csökkent tejtermelés, a szaporodásbiológiai zavarok, és egyéb betegségekre, például tőgygyulladásra való nagyobb fogékonyság. Nyilvánvaló, hogy a baktériumürítés kezdete és az ellenanyag válasz megjelenése már hatással van a termelési mutatókra, de ezt a termelők nem minden esetben ismerik fel (Johnson-Ifeareulundu és Kaneene, 1997).

A harmadik szakasz, a klinikai tünetek kezdete

A baktérium bélsárban való ürülése és az ellenanyag válasz kimutathatósága után a betegség klinikai tünetei is megjelennek (Fecteau, 2018). Előfordulhat, hogy az első baktériumürítéstől számított 6 hónapon belül az állat már klinikai tüneteket mutat, de az is lehetséges, hogy a tünetmentes baktériumürítés után csak évek múlva jelennek meg a klinikai tünetek (Whitlock és mtsai, 2000). A MAP fertőzés előrehaladtával a bélben, a mesenterialis nyirokcsomókban kialakult elváltozások egyre súlyosabbak lesznek. A granulomatózus gyulladás már nem csak helyileg, hanem diffúzan is megjelenik és érinti a jejunumot, az ileumot, a caecumot és kisebb mértékben a rectumot is. A vékonybél, ezen belül az ileum nyálkahártyája megvastagszik a sejtes infiltráció következtében. A bélbolyhok is megrövidülnek, megvastagszanak, ezáltal már felszívódási zavarok is kialakulnak és időszakos hasmenés is jelentkezhet, de később a bélsár hetekre vagy akár hónapokra ismét normális lehet. Az állatok étvágyában ekkor még nem látunk változást (Clarke, 1997). A tejtermelésben akár 20%-os csökkenés figyelhető meg és a

szaporodásbiológiai mutatókban is jelentős visszaesés tapasztalható (Sweeney, 2011). Az állatok folyamatosan ürítik a MAP-t és egyre magasabb ellenanyagszintek mutathatóak ki (Magombedze és mtsai., 2016).

A negyedik szakasz, a klinikai stádium

A betegség egyik jellemző tünete az áll alatti vizenyő, ami a fehérjevesztéses enteropathia miatt kialakult hypoproteinaemia következménye. Az állatoknak vízszerű hasmenésük van, melyben nyálkahártyadarabok és vér nem látható. Rövid idő alatt csontsovánnyá fogynak (Clarke, 1997). A baktériumot extrém magas mértékben ürítik a bélsárral, ezzel jelentősen kontaminálva a környezetet (Whitlock és mtsai., 2000). Az állatok általában 1-2 héten belül a kiszáradás, cachexia és a tápanyagfelszívódási zavar következtében elpusztulnak (Clarke, 1997).

3.4 Lehetséges diagnosztikai módszerek

A leggyakrabban alkalmazott vizsgálatok a fertőzött állatok azonosítására és a prevalencia becslésére a kórokozó kitenyésztése bélsár mintákból, a szérum vagy tej ELISA vizsgálata, valamint a bélsár minták qPCR vizsgálata. Jelenleg az egyedi bélsár tenyésztést tartják a betegség gold standard vizsgálatának (Barrett és mtsai, 2011). A tesztek specificitását és szenzitivitását jelentősen befolyásolja a vizsgált populációk közti különbség: az állományon belüli prevalencia, az állat oldaláról pedig az általános immunológiai státusz, az életkor, a kezdeti fertőző dózis, illetve a betegség aktuális szakasza (Magombedze és mtsai., 2017).

3.4.1 A kórokozó kimutatására irányuló diagnosztikai vizsgálatok

Magát a kórokozót tenyésztéssel vagy molekuláris biológiai módszerrel (PCR-rel) mutathatjuk ki, amikkel általános képet kaphatunk az állományon belüli fertőzési nyomásról, az egyedek baktériumürítésének mértékéről (Fecteau, 2018). Ezekkel a módszerekkel a fertőzött állatok már a kimutatható ellenanyagválasz megjelenése előtt jó eséllyel diagnosztizálhatók. A minták a legtöbb esetben egyedileg és poolban is vizsgálhatóak, illetve környezeti minták vizsgálatára is van lehetőség (Field és mtsai., 2022). A PCR alapú vizsgálatok hátránya a tenyésztéssel szemben, hogy nem tudjuk eldönteni, hogy élő baktériumot tartalmazott-e a minta. A PCR vizsgálatok ezen hátrányának a környezeti minták vizsgálata során (pl. hígtrágyatárolóból, itatóvízből) vett minta esetében lehet jelentősége.

3.4.1.1 Baktérium tenyésztés

A bélsárból történő tenyésztés érzékenysége klinikai tüneteket mutató állatoknál mintegy 70%, míg szubklinikai fertőzésnél 23-29%, mivel ezek az állatok szakaszosan vagy kis számban ürítik a MAP-t (Nielsen és Toft, 2008). A béltraktusból, főleg az ileumból származó szövetből történő tenyésztés sokkal érzékenyebb, mivel így a fertőzött, de a baktériumot még nem ürítő állatok is azonosíthatók. McKenna és munkatársai kísérletében 994 vágó tehénből származó mintából 16,1% volt pozitív az ileumból és az ileum környéki nyirokcsomókból történő tenyésztés alapján, míg bélsárból mindösszesen 3,6% (McKenna és mtsai. 2005). A tenyésztéssel történő MAP-kimutatás majdnem 100%-ban specifikus; fals pozitív eredményt egyedül környezetből felvett, a béltraktuson éppen áthaladó, ugyanakkor megbetegedést nem okozó MAP jelenléte okozhat (Whitlock és mtsai., 2000). A hosszú tenyésztési idő miatt a módszer szerepét a gyakorlatban egyre inkább átveszi hasonló érzékenységgel és specificitással bíró PCR (Leite, 2013).

3.4.1.2 Polimeráz láncreakció

A PCR-technika gyors és költséghatékony vizsgálatot tesz lehetővé nagyszámú és különféle minták (szövet, bélsár, tej) esetében (Collins és mtsai, 1993). Nukleotidszinten a MAP 99%-ban megegyezik a *Mycobacterium avium* subsp. *avium* baktériummal. A MAP esetében leginkább az IS900 génszakaszt használják a PCR-vizsgálatok során (Britton és mtsai., 2016), amely 17 másolatban van jelen, és így kimutatása sokkal érzékenyebb, mint az egyszeres kópiában jelen levő egyéb szekvenciák (pl. f57, locus 251 vagy hspX). Az IS900 szekvenciát más mycobacteriumok is hordozhatják, így az erre alapuló PCR-vizsgálat sem mondható 100%-ban specifikusnak. A tenyésztéssel összehasonlítva a bélsár PCR szenzitivitása 70,2%, a specificitása 85,3% (Clark és mtsai., 2008; **1. táblázat**). Egyéb, többszörös másolatban levő szekvenciák (például az IS_MAP02 hatszoros másolatban, IS_MAP04 négyszeres másolatban) is potenciálisan jól használhatók PCR-vizsgálatra, de az ezeket használó módszerek még nem terjedtek el (de Kruijf és mtsai., 2017). A hagyományos PCR-eljárás ritkán használt a paratuberculosis diagnosztikában, napjainkban főként jobb érzékenységük miatt a nested PCR-t és qPCRT-t használják. A nested PCR két reakciót futtat egymás után, két primerpárral, ugyanakkor idő és munkaigényesebb is (Englund és mtsai., 2001). A valós idejű vagy kvantitatív PCR (qPCR) esetében a műszer minden ciklus esetében vizsgálja a reakciót a DNS-hez kapcsolódó fluoreszcens anyag fénykibocsátásának mérésével. A Ct-érték (a ciklusok száma, ami a fluoreszcencia mértékének egy meghatározott határérték eléréséhez szükséges) segítségével a minta DNS-tartalmát számszerűsíthetjük. A qPCR eredménye szemikvantitatív, lehetővé teszi a baktérium-ürítés mértékének hozzátevéleges

meghatározását, mivel az alacsonyabb Ct értékek magasabb MAP DNS koncentrációt jeleznek (Bölske és Herthnek, 2010). Jelenleg a legjobb módszernek tartják a betegség progressziójának meghatározásához, a minták poolozása pedig lehetővé teszi a költségek csökkentését. A környezeti minták (pl. hígtrágya, gumicsizma talpáról vett tampon) vizsgálatára, az állomány MAP-érintettségének gyors felderítésére kiválóan is alkalmas (Serraino és mtsai., 2014; Hahn és mtsai., 2017).

1. táblázat. A paratuberculosis kimutatására alkalmazott PCR és ELISA diagnosztikai módszerek szenzitivitása és specifitása

Teszt	Referenciateszt	Szenzitivitás (%) ¹	Specifitás (%) ¹	Hivatkozás
Szérum ELISA	bélártenyésztés	73,6 (61,9-83,3)	87,5	Hendrick és mtsai., 2005
		16,7 (4,5-28,8)	97,1 (96,0-98,1)	
		13,9 (2,6-25,2)	95,9 (94,6-97,12)	McKenna és mtsai., 2005
		27,8 (13,1-42,4)	90,1 (88,2-92,0)	
Szérum ELISA ¹	bélzövetből történő tenyésztés	8,8 (4,4-13,1)	97,6 (96,6-98,6)	McKenna és mtsai., 2005
		6,9 (3,0-10,8)	96,0 (94,7-97,4)	
		16,9 (11,0-22,7)	90,8 (88,8-92,7)	
Tej ELISA	bélártenyésztés	61,1 (48,9-72,4)	94,7	Hendrick és mtsai., 2005
		28,9	99,7	
Bélártenyésztés	ismételt	38	100	Whitlock és mtsai., 2000
	bélártenyésztés			
Bélártenyésztés	ismételt	70	100	Nielsen és Toft, 2008
klinikai esetben	bélártenyésztés			
Bélártenyésztés	ismételt	29	100	Nielsen és Toft, 2008
szubklinikai esetben	bélártenyésztés			
Bélár PCR	bélártenyésztés	70,2 (57,7-80,7)	85,3 (79,3-90,1)	Clark és mtsai., 2008

¹ A vizsgálatok különböző ELISA tesztekkel végzett specifitást és szenzitivitást mutatnak be

3.4.2 Az immunválasz kimutatására irányuló diagnosztikai módszerek

3.4.2.1 Interferon-gamma (IFN- γ) teszt

Az IFN- γ vizsgálat a sejtmediált immunválasz kimutatására alkalmas. A módszer a MAP-ra adott korai immunválaszt vizsgálja, amikor a MAP-fertőzés még csak az IFN- γ -termelést indukálja. A fertőzött állatoktól származó fehérvérsejtek MAP antigének hatására történő IFN- γ termelése mérhető, az IFN- γ szint emelkedése a fertőzés során feltehetően a baktérium-ürítés kezdetét is jelezheti (Stabel, 2000). Egy dán kutatásban az IFN- γ -pozitív állatok átlagéletkora 27 hónap volt, míg a baktériumtenyésztés átlagosan 37 hónapos korra adott pozitív eredményt (Huda és mtsai., 2003). Az IFN- γ szenzitivitására és specificitására vonatkozó adatok nagyon változóak, azokat nagymértékben befolyásolja az életkor, a környezet mycobacteriumokkal való terheltsége, valamint maga a tisztított fehérjeszarmazék, amit a kimutatás során immunstimulánsként használnak (Dernivoix és mtsai., 2017, Huda és mtsai., 2003). Az IFN- γ mennyiségi kimutatása 1-2 éves állatoknál alkalmazható, korábban, mint egyéb, a gyakorlatban jelenleg használt tesztek, azonban a környezetben megtalálható egyéb mycobacteriumokra adott keresztreakció miatt inkább előszűrésként javasolt a használata. A jelentős költségek, a bonyolult mintafeldolgozás és a gyenge specificitás miatt jelenleg a gyakorlatban kevésbé elterjedt vizsgálati módszer (Stabel, 1996, Britton és mtsai., 2016).

3.4.2.2 ELISA

Az ELISA a paratuberculosis diagnosztikájában a leggyakrabban használt immunológiai teszt, amit a kórokozó ellen termelődött ellenanyagok szérumból vagy tejből történő kimutatására használunk. Az ELISA-módszerek közepes-gyenge, átlagosan mintegy 30% érzékenységűek (Laurin és mtsai., 2017; Collins és mtsai., 2006; **1. táblázat**) a betegség különböző szakaszaira adott eltérő immunválasz miatt.

Az ELISA-vizsgálat eredménye ritkán pozitív 2 évnél fiatalabb, illetve a fertőzés korai szakaszában lévő állatokban, mégis a költséghatékonysága és a módszer gyorsasága miatt a leggyakrabban használt módszer a paratuberculosis állománydiagnosztikájában (Faruk, 2020). Az ellenanyagválasz megjelenése nagyban összefügg a betegség előrehaladásával, a fertőzőképességgel és a kórszövettani elváltozásokkal (Fecteau és mtsai., 2018). A MAP ellen termelődött ellenanyagok mennyiségét az életkor is befolyásolja, azonos telepen vizsgálva alacsonyabb ellenanyag titereket lehet mérni a fiatalabb állatok esetében, mint az idősebbeknél (Nielsen és Toft, 2012). A szérumból végzett ELISA-vizsgálatok érzékenysége

klinikai tüneteket mutató állatok esetében 50–87%, klinikai tüneteket nem mutató, ugyanakkor a baktériumot már ürítő állatoknál 24–94% és a fertőzött, de a baktériumot még nem ürítő, ill. klinikai tünetet sem mutatóknál mindössze 7–22%. A tej vizsgálata esetén az ELISA érzékenysége 21–60% fertőzött állatokban (Nielsen és Toft, 2008). A szérum és tej ELISA vizsgálatok összehasonlításában a szakirodalomban fellelhető szenzitivitás és specificitás adatok nagyban eltérnek (**1. táblázat**). Egy felmérésben az találták, hogy amíg alacsony szérum vagy tej ellenanyagszinteket mérünk, tehát az állat immunrendszere képes kontrollálni a fertőzést, a tejben mért ellenanyagszintek alacsonyabbak a szérumból mérténél és gyakrabban kapunk negatív eredményt (Faruk, 2020). Ezenkívül az alacsony ellenanyag titerrel rendelkező állatok tejtermelése általában nagyobb, ami az ellenanyagok hígulásához vezethet a tejben (Nielsen és Toft., 2012; Beaver és mtsai., 2016). Li és mtsai. (2017) szoros korrelációt írtak le a tej és szérum ELISA titerértékei között, ugyanakkor ők nem sorolták külön csoportba az alacsony és magas ellenanyag titerrel rendelkező állatokat. Az ELISA tesztek specificitása nagyban függ a környezet mycobacteriumokkal való terheltségétől, az esetleges egyidejű *Mycobacterium bovis* fertőzöttségtől, az intradermalis tuberculin próba időpontjától, ill. egy esetleges MAP ellen történő vakcinázástól (Nielsen, 2009). Az ELISA-eredmények mennyiségi értelmezése (OD, S/P arány) sokkal inkább javasolható, mint a minőségi (pozitív/negatív), mivel az előző jobb összefüggést mutat a fertőzés stádiuma és a baktériumürítés mértéke között (Collins, 2002). Az ellenanyagtiterek változékonysága megfigyelhető egy laktáción belül is, melyet nagyban befolyásol a laktáció elején mért S/P érték (Faruk, 2020).

3.4.3 Egyéb, újabb típusú vizsgálatok

A kutatók folyamatosan dolgoznak új, a MAP diagnosztikai lehetőségeit javító pontosabb és érzékenyebb módszereken. Ezek legtöbbje kísérleti fázisban van, vagy inkább a kutatásban használható, mivel komoly laboratóriumi munkát vagy felszerelést igényel, ill. nagyon költséges.

3.4.3.1 Istállópróbák

A fejlesztések logikus iránya, a gyors, akár az istállóban is alkalmazható tesztek előállítására. Egy specifikus fehérje kimutatásán alapuló gyors szerológiai próba fejlesztését és validálását végezték el indiai kutatók, és nagyon jó, 91%-os szenzitivitást, és 98,9%-os specificitást mértek ismert MAP státuszú állatokon (Punati és mtsai., 2019). A módszer további validálása

szükséges telepi körülmények között, ill. egyéb hasonló gyors módszerek fejlesztése is indokolt.

3.4.3.2 *Bakteriofág-vizsgálat*

A bakteriofág-vizsgálat lényege, hogy a mintához fágokat (vírusokat, amik a baktériumokat fertőzik és azokban szaporodnak) adnak. A leggyakrabban használt fág a D29, amely mycobacteriumokra specifikus. A fágok kötődnek a gazda (MAP) sejthez és abban szaporodnak. A szabad, nem kötődő fágokat virucid készítménnyel előlik. Ezek után egy másik, gyorsabban növekvő baktériumot (pl. *Mycobacterium smegmatis*) adnak a rendszerbe, amely szintén érzékeny az adott fagra. Az elpusztuló MAP-ből kiszabaduló fágok a szenzorbaktériumot is elpusztítják, és ezt a plakk képződésként lehet érzékelni, majd PCR-technikával a MAP-t azonosítani (Swift és mtsai., 2013). A fáganalízissel élő MAP-t lehet kimutatni, hasonlóan a tenyésztéshez, csak annál sokkal gyorsabban (akár 2 nap alatt), és érzékenyebben, akár fiatal állatokból is. Fals pozitív eredmények akkor adódhatnak, ha más mycobactériumokat is tartalmazhat a minta. Az is előfordulhat, hogy a célbaktérium rezisztens a fágokkal szemben (Britton és mtsai., 2016).

3.4.3.3 *Új, MAP-specifikus antigének keresése*

Új MAP-specifikus antigének alkalmazása, esetleg egy tesztben több antigén kombinálása javíthatja az ELISA-vizsgálatok érzékenységét. Ezek közül van már piacon levő ELISA-teszt, de a legtöbb még nagyobb mintaszámon történő validálásra vár (Britton és mtsai., 2016). Li és mtsai. (2017) új, rekombináns MAP-antigéneket vizsgáltak multiplex-bead based assay (multiplex-gyöngy alapú vizsgálat) módszerrel, és úgy vélték, hogy további vizsgálatok után ez a módszer alkalmas lesz diagnosztikai munkára azokban az állatokban is, amelyeknél ELISA-vizsgálattal még nem mutatható ki a fertőzés.

3.4.3.4 *A gazdaszervezet fehérjéinek vizsgálata*

A MAP-fertőzés hatására bizonyos fehérjék koncentrációja megváltozhat a vérben (pl. a transferrin, a gelsolin izoform α és β , a komplement szubkomponens C1r és C3, valamint a réztartalmú aminoszavak 3 (AOC3) és a thrombin koncentrációja növekszik, a koagulációs faktor XIII-B polipeptid (COAFXIII) és a fibrinogén γ lánc koncentrációja csökken (You és mtsai., 2012). Kérdés, hogy ez, vagy hasonló változások mennyire specifikusak szarvasmarha paratuberculosisában, így a módszer mindenképpen validálásra szorul.

3.4.3.5 *Mikrobiom-vizsgálat*

A gyomor-bélrendszeri gyulladásos folyamatok esetében a bélcsatornában a mikrobiom összetétele változik, sokfélesége csökken, bár nem tudható, hogy ez a fertőzés oka, vagy következménye (Khanna és Raffals., 2017). A MAP esetében is megfigyelhető különbség a bélsár mikrobiom-összetételében a fertőzött és nem fertőzött állatok között (Kaevska és mtsai., 2016). A módszer ígéretes, bár hátrányként kell említeni, hogy a mikrobiom vizsgálat költséges és eszközigényes, a mikrobiom összetétele más lehet a bélcsatorna egyes szakaszaiban, ill. egyelőre nem tudni, hogy a változások iránya mennyire specifikus MAP esetén.

3.4.3.6 *Mikro RNS vizsgálata*

A mikro RNS-ek stabil, rövid (19–25 nukleotid), nem kódoló RNS-szakaszok, amelyek a testfolyadékokban megtalálhatók, szerepük a génexpresszió transzkripció utáni szabályozása. Több kutatás támasztja alá, hogy bizonyos betegségek, így paratuberculosis esetén diagnosztizálásra alkalmas biomarkerek lehetnek (Britton és mtsai, 2016; Malvisi és mtsai., 2016).

3.4.4 **Összegzés**

A számos, potenciálisan megfelelő új diagnosztikai módszer ellenére a paratuberculosis állomány szintű diagnosztikája a baktériumtenyésztésen, a PCR- és ELISA-vizsgálatokon alapul. A különböző típusú vizsgálatok kombinálása a legjobb módszer arra, hogy javítsuk a diagnosztikai munka hatékonyságát. A különböző szenzitivitású és specifitású módszerek kombinálása lehetővé teszi az állatok és állományok kategóriákba sorolását a MAP-fertőzöttség függvényében (Böttcher és Gangl, 2004), és ennek megfelelő védekezési terv kialakítását. A legnagyobb nehézséget a szubklinikailag fertőzött állatok diagnosztizálása jelenti, mivel ezek az állatok a legtöbb esetben kis mértékben és szakaszosan ürítik a kórokozót, ill. még nem termelnek kimutatható mennyiségű ellenanyagot a MAP ellen. A baktériumürítés mértékének meghatározása jelentős információt szolgáltat a betegség előrehaladását illetően (Gardner és mtsai., 2011; Magombedze és mtsai., 2017).

A paratuberculosis elleni védekezés alapja mindenképpen a pontos diagnózis felállítása, ehhez pedig a diagnosztikai lehetőségeink fejlesztése és az állományok folyamatos

monitorozása szükséges (Baumgartner és Khol, 2008; Barkema és mtsai., 2018; Whittington és mtsai., 2019).

3.5 A paratuberculosis terjedését elősegítő tényezők

A MAP ellenálló a hideggel, a kiszáradással, a savas kémhatással szemben és ellenáll az UV sugárzásnak is (Whittington és mtsai., 2004; Donaghy és mtsai., 2009). Hővel szemben is meglehetősen ellenálló, a magas hőmérsékleten rövid ideig tartó pasztörözés bizonyítottan nem tudja elpusztítani a tejben lévő összes életképes MAP-t (Grant és mtsai., 2002). A baktérium a természetes vizekben 48 hétig is életképes maradhat, ezzel jelentős rezervoárt biztosítva (Whittington és mtsai., 2004). A trágyában 55 hétig képes fertőző maradni, hasonló ideig a talajban is, így a híg trágya szállítása is jelentős biológiai kockázatot jelenthet (AHI, 2013; Elliott és mtsai., 2015). További vizsgálatokra van szükség a környezet közvetítő szerepének meghatározásához (Barkema és mtsai., 2018). A MAP-t sikerült kimutatni tejelő tehenészetben vett pormintákból, ugyanakkor a fertőző dózis mértéke ilyen esetekben nem tisztázott, illetve a baktérium túlélésére végzett vizsgálatokat a legtöbb esetben kísérleti körülmények között végezték (Whittington és mtsai., 2004), így kérdéses mekkora szerepet játszhat a környezetben található MAP az állatok fertőződésében (Barkema és mtsai., 2015). Új állatok vásárlása szintén a PTB szeroprevalanciájának szignifikáns emelkedését okozhatja, mivel a klinikailag egészségesnek tűnő, a jelenleg rendelkezésre álló diagnosztikai tesztekkel negatívnak bizonyuló állat is képes behurcolni a betegséget az addig PTB mentes állományba (Tiwari és mtsai., 2009). A „szuperürítők” jelentik a legnagyobb kockázatot az állományokban, mivel bélsarukkal a környezetüket, a takarmányt, az állatgondozó eszközöket akár a fertőző dózis szintjéig is képesek kontaminálni (Slater és mtsai., 2016).

Johnson-Ifeorulundu és Kaneene (1998) szerint az ellető tisztítása összefüggésbe hozható a MAP-fertőzés kockázatának csökkenésével. A rossz minőségű, szennyezett alom, a zsúfoltság mind hozzájárul a MAP terjedéséhez (Berghaus és mtsai., 2005). Azokban az állományokban, ahol a borjú nemcsak az anyja, hanem más állatok bélsarával is érintkezhet a PTB pozitív állatok aránya jelentősen magasabb volt (Pillars és mtsai., 2011). A kolosztrom is kontaminálódhat MAP-al a nem megfelelő fejési higiénia miatt, vagy pedig a fertőzött anyaállat közvetlenül is ürítheti a baktériumot a tejbe. Egyes kutatások a bélsárral való kontaminációt gyakoribb oknak tartják, mint a tejbe történő direkt ürítést (Barkema és mtsai., 2018). Tejből a legtöbb esetben már klinikai tüneteket mutató, vagy a klinikai stádiumhoz közel álló állatok esetében lehet baktériumot kimutatni, így jelentős fertőzési forrást jelenthet esetlegesen beteg állatoktól származó, de antibiotikummal még nem kezelt elegytej itatása, illetve az elletői tej itatása, amennyiben az állatok biztos MAP-negatív státusza nem tisztázott.

A MAP legnagyobb mennyiségben a nagyüzemi tejtermelő tehenészetek által kibocsátott hígtrágyában van jelen, azonban nem szabad elfeledkezni a vadon élő állatokról sem, mint MAP-ot üríteni képes veszélyforrásokról (Grant és mtsai., 2005). A vadon élő állatok a legtöbb tanulmány szerint inkább a betegség rezervoárjaiként működnek, a kórokozót világszerte kimutatták már pl. rókából, menyétből, vaddisznóból is (Carta és mtsai., 2013). A tenyésztett szarvas populációkban azonban képes feldúsulni a MAP és zártkertekből szabadon engedett fertőzött szarvasok jelentősen növelhetik a környezet terheltségét (Fernández-de-Mera és mtsai., 2009) A bélsárral ürült MAP felhalmozódhat híg trágyával való kezelés után legelőkön vagy a földeken, és a baktérium bemosódhat a talajvizetekbe is (Salgado és mtsai., 2013).

3.6 A paratuberculosis kontrollálásának lehetőségei

Mivel a paratuberculosis komoly gazdasági veszteséget okoz, illetve maga a betegség feltételezhetően nem önkorlátozó, vagy csak nagyon magas körülbelül 66%-os valódi prevalencia esetében válhat azzá (Marcé és mtsai., 2011), a telepek számára fontos, hogy egy költséghatékony és kivitelezhető programot tudjanak felállítani a betegség kontrollálására. Az európai kontroll programok meglehetősen különbözőek. Vannak olyan országok, ahol kötelező mentesítési programok vannak folyamatban, mint Svédország és Ausztria, míg máshol (pl. Spanyolország) akár régióként különbözően és önkéntes alapon zajlik, (Whittington és mtsai., 2019). A paratuberculosis mentesítésre felállított kontroll programok legfőbb nehézségeit a betegség hosszú lappangási ideje, a piacon elérhető diagnosztikai tesztek eltérő érzékenysége és a MAP környezetben való hosszú túlélése jelentik (Kennedy és Benedictus, 2001).

A fertőzési nyomás csökkentése érdekében a kontroll programok egyik sarkalatos pontja a fertőző állatok selejtezése az állományból (Johnson-Ifearulundu és Kaneene, 1998). A higiéniai és menedzsment intézkedések kapcsán a fertőzési lánc megszakítása is kulcsfontosságú, melynek érdekében a borjak nem érintkezhetnek a felnőtt állatok bélsárával. Továbbá fontos, hogy a borjak csak szeronegatív állatoktól származó főcstejet és tejet kaphatnak. A PTB csak egy a számos fertőző betegség közül, amelyek a nem megfelelő higiénia miatt terjednek el nagy mértékben. A MAP-fertőzések megelőzése érdekében a higiénia javítását célzó intézkedések valószínűleg más, a bélsárral terjedő fertőzések előfordulást is csökkentik, mint pl. *Rota-* és *Coronavírus*, *Cryptosporidium parvum* vagy *Escherichia coli*. Gyakran ezek a fertőző kórokozók súlyosabb klinikai tüneteket és egészségügyi kockázatokat okoznak a borjaknál, mint a PTB, és ezek visszaszorítása fokozhatja a gazdák hajlandóságát a szigorú higiéniai előírások betartására, mivel a

befektetett munka eredménye a PTB prevalencia csökkenés tekintetében csak évek múlva érzékelhető (Barkema és mtsai., 2018).

A kolosztrum pasztörözésével is lehet csökkenteni az átvitel kockázatát. A kezdeti baktériumkoncentráció bizonyítottan csökken a hőkezelés során (Eltholth és mtsai., 2009), ugyanakkor a legtöbb tanulmányban árutejet használtak a vizsgálatokhoz és a pasztörözést nem telepi körülmények között végezték (Barkema és mtsai., 2018). A mentesítési programokban jó gyakorlat a negatív diagnosztikai eredménnyel rendelkező állatok főcstejét itatni a borjakkal. A poolozott kolosztrum itatása sem javasolható, mivel ez akár 1,25-szorosára is emelheti a későbbi ELISA szeropozitivitás kockázatát (Nielsen és Toft, 2008). A bélsárral szennyeződhetett takarmány és ivóvíz hozzáférhetőségét is minimalizálni szükséges, mivel ez is jelentősen növeli a szájon át történő fertőződés kockázatát (Klopstein és mtsai., 2021).

Leírtak már MAP ellen különböző vakcinázási stratégiákat is, ezek hátránya, hogy csupán a baktériumürítést csökkentik, a betegség kialakulását hosszú távon nem akadályozzák meg, egyedül a gazdasági károkat képes mérsékelni. Mivel a vakcina keresztreakciót okoz a intradermális tuberculin próbával, a legtöbb országban a vakcinázás nem megengedett (Serrano és mtsai., 2017).

Ezek alapján a mentesítési stratégiák két nagy csoportját lehet elkülöníteni, a tesztelésen és a pozitív állatok selejtezésén alapulót („test and cull”; Kirkeby és mtsai., 2016), valamint a higiéniai és menedzsment intézkedéseket bevezető programokat, illetve ezek kombinációját (Tuberquiai-López és mtsai., 2022). A tesztelés-selejtezés olyan menedzsment intézkedés, ahol a fertőzött állatok mielőbbi selejtezésével igyekeznek minimalizálni a betegség átvitelét az állományon belül (Kirkeby és mtsai., 2016). A mentesítési programok egyik legnagyobb nehézsége, hogy a jelenleg rendelkezésre álló diagnosztikai tesztek csak a baktériumot már nagy valószínűséggel ürítő állatokat tudják kimutatni, a borjúkori fertőződés után a betegség kimutatására irányuló tesztek jelenleg még nem megbízhatóak (Barkema és mtsai., 2018).

Egy 2019-ben készült nemzetközi összefoglaló közlemény szerint a vizsgált országok 46%-a rendelkezett a PTB ellen valamilyen kontroll programmal. A klinikai tüneteket mutató állatokat általában azonnal selejtezik (86,4%), a borjakat igyekeznek PTB mentes környezetben felnevelni a megfelelő higiénia biztosításával (77,3%), a telepi szintű járványvédelem betartásával próbálják elkerülni a MAP további behurcolását a telepekre (77,3%) és a szubklinikai eseteket tesztekkel szűrik, majd a pozitív eseteket selejtezik (72,7%) (Whittington és mtsai., 2019).

Az állomány fertőzöttségének felmérésére lehetséges környezeti minták vizsgálata is, ez azonban csak intenzív tartási viszonyok között, például nagyüzemi tejelő tehenészetekben (Wolf és mtsai., 2017) hatékony. A közlekedőutakról, az istállókból és a hígtrágya tárolóból gyűjtött minták voltak a legjobban hasznosíthatók (Barkema és mtsai. 2015; Wolf és mtsai. 2017). A poolozott környezeti minták PCR-rel történő vizsgálata jelentősen lerövidíti a

vizsgálati időt és sokkal költséghatékonyabb a tenyésztéssel szemben (Bölske és Herthnek, 2010). A tanktejből történő ismételt ELISA vizsgálat is alkalmas lehet az állomány szintű fertőzöttség megállapítására (Nielsen és Toft, 2011), azonban ezt nagyban befolyásolja az állomány mérete és az állományon belüli kezdeti prevalencia mértéke. Alacsonyan fertőzött állományokat ezzel a módszerrel nem lehet kimutatni (Khol és mtsai., 2013).

A technológiai változtatásokon túl az immunológiai és a kórokozó direkt kimutatására irányuló tesztek kombinálása, valamint ezek ismétlése nagyban segíti a betegség visszaszorítását (Pinedo és mtsai., 2008). A fertőzött állatok az egyszeri szűréseknél sok esetben fals negatív eredményt adnak, így folyamatos ellenanyag vizsgálat javasolható (Faruk és mtsai., 2020).

Jóllehet, a paratuberculosis mentesítési programok felállításával közel egy évszázada foglalkoznak, a tejelő ágazatban mindezidáig nem sikerült egységes, egyöntetűen jó eredménnyel alkalmazható protokollt kialakítani (Barkema és mtsai., 2018).

3.7 A paratuberculosis lehetséges közegészségügyi vonatkozásai

A MAP a kérődzők paratuberculosisának kórokozója, azonban az emberi megbetegedések vonatkozásában, különösen a Crohn-betegség kialakításában betöltött lehetséges szerepe folyamatos tudományos vita tárgyát képezi. Több mint száz évvel ezelőtt vetődött fel először a gyanú, hogy a MAP kórokozója lehet az ember idült bélgyulladásának, vagyis a később Crohn-betegségként leírt tünetegyüttesnek. Az összefüggést akkoriban elsősorban a hasonló klinikai (intermittáló hasmenés, fogyás) és kórbonctani (ileocaecalis területen fekélyek és granulomatosus gyulladás) elváltozásokra alapozták (Dalziel, 1913). A 2000-es években egyértelműnek látszó bizonyítékok születtek a két betegség kapcsolatára: Naser és mtsai. (2000) Crohn-betegek macrophagjaiból és két Crohn-betegségben szenvedő nő anyatejéből tenyésztették ki a baktériumot. A CD-ben szenvedők mintáiból a MAP izolálás sikeressége nagyon változó, megállapítható, hogy a MAP a Crohn-betegek 50–100%-ából átlagosan hétszer gyakrabban tenyészthető ki a perifériás mononuclearis sejtekből, mint egészséges személyek esetében (Chiodini és mtsai., 2012; McNeese és mtsai., 2015). A fejlődő diagnosztikai módszerek, PCR-technikák segítségével egyre több egészséges ember mintáiból is sikerül MAP jelenlétét kimutatni. Kérdéses, hogy ez az egyre nagyobb kitétséggel magyarázható, vagy csupán egy újabb bizonyíték arra, hogy a MAP önmagában nem okozója a CD-nek (Nacy és Buckley, 2008). Ez jellemző lehet más bakteriális fertőző betegségek esetében is, amelyeknél csak a fertőzött személyek bizonyos csoportjaiban alakulnak ki klinikai tünetek. A világ népességének mintegy egyharmada fertőzött *Mycobacterium tuberculosis*-sal, de a klinikai betegség a fertőzöttek csak mintegy 5–10%-ában alakul ki (Stewart és mtsai., 2003). Lehet, hogy a MAP nem közvetlen okozója a Crohn-betegségnek,

azonban a baktérium könnyen megtelepszik a már előzetesen gyulladt bélszakaszban és képes ott elszaporodni (Garvey, 2018). A betegség kialakulását befolyásoló tényezők igen sokrétűek. Jelenlegi tudásunk alapján a CD egy összetett oktanú betegség, amelynek kialakulásában jelentős a genetikai háttér, a szervezet immunválaszkészsége, a bélbeli mikrobiom összetétele, és egyéb hajlamosító tényezők (Feuerstein és Cheifetz, 2017; Gajendran és mtsai., 2018; Torres és mtsai., 2017). Az első, Crohn-betegséggel kapcsolatban azonosított és a mai napig legfontosabbnak tartott gén a NOD2/CARD15, amely esetében a mutációk 20-40-szeresére növelik a CD előfordulását (Feuerstein és Cheifetz, 2017; McGovern és mtsai., 2001). Egyes elméletek szerint a NOD2/CARD15 génben bekövetkező bizonyos ritka mutációk hatására Blau-szindróma alakul ki, más, gyakoribb mutációk hatására pedig CD. A Blau szindróma egy ritka autoszomális domináns módon öröklődő genetikai betegség, melyet elsősorban bőrkiütés, ízületgyulladás és uveitisz jellemez (Sechi és Dow, 2015). Egy másik gén, amelynek változását a Crohn-betegséggel összefüggésben leírták, az SLC11A1 gén. Ez a gén a sejtbeli környezetet befolyásolja, így a sejt képes lesz a fagocitózissal a betolakodó kórokozót elpusztítani. A gén mutációja során a fagocitózás működése sérül, vagyis a sejten belül a baktériumok (mint a MAP) nem pusztulnak el. Érdekes, hogy szarvasmarha és kiskérődzők paratuberculosisában az SLC11A1 gén hasonló mutációt szenved, mint emberben a CD esetében (Scanu és mtsai., 2007). Genetikai hajlamosító tényezők jelentős szerepére utalhat, hogy a Crohn-betegek 10–25%-a esetében volt a családban hasonló megbetegedés, vagyis megfigyelhető a CD családon belüli halmozódása (Feuerstein és Cheifetz, 2017). A MAP-fertőzöttség a tejelő állományokat sújtja a legnagyobb mértékben, így a tej és a tejtermékek jelenthetik a legnagyobb kockázatot az élelmiszerláncban (Waddell és mtsai., 2015). A tejben található MAP származhat közvetlenül tejjel történő ürítésből, ill. a fejés során a higiéniai problémákból adódó bélsárszennyeződésből (Clarke, 1997). Sajtok esetében a legnagyobb veszélyforrást feltehetően a házi készítésű, kézműves termékek jelentik, mivel itt a pasztörözés hőmérséklete, a megfelelő pH-n történő érlelés és a sókoncentráció kérdéses lehet, ill. talán a háztáji állományok (kiskérődzők is) MAP fertőzöttségének mértéke a nagyüzemihez képest még kevésbé ismert. Jelentős összefüggést mutattak ki Szardínia szigetén a házi készítésű pasztörözetlen tejből készült sajt fogyasztása és a CD előfordulási gyakorisága között (Scanu és mtsai., 2007). A jelenlegi gyakorlat szerint nemcsak a szubklinikailag fertőzött állatok kerülhetnek vágóhídra (nem feltétlenül PTB, hanem egyéb okok miatt), hanem a klinikai tüneteket mutató állatokat is számos országban rutinszerűen vágóhídra küldik, így feldolgozott termékeik bekerülhetnek az élelmiszerláncba (Grant és mtsai., 2005). Kifejezett kockázatot a perifériás nyirokcsomókat is tartalmazó húskészítmények pl. hamburgerhúsok, illetve a nyers, vagy csak félig átsütött húsok jelentik (Mutharia és mtsai., 2010).

A rendelkezésre álló szakirodalom alapján a CD egy összetett oktanú betegség, aminek kialakulásában a MAP csak egy lehet az okok között, a lehetséges zoonotikus kockázat miatt azonban az állatorvosoknak körültekintőnek kell lenni, ha MAP-al érintett állományban dolgoznak. Állományszintű védekezési programok kidolgozásával és végrehajtásával az állományon belüli MAP-fertőzöttség mértékét, és így a zoonotikus kockázatot a lehetőségekhez képest minimálisra kell szorítani (Waddell és mtsai., 2015).

4 Saját vizsgálatok

4.1 A szubklinikai paratuberculosis fertőzöttség hatása tejelő tehenek egészségére és néhány élettani paraméterére²

4.1.1 A vizsgálat elvégzésének indoklása

Tejelő állományokban a paratuberculosis klinikai tüneteit sok esetben csak a 3. és 4. laktáció környékén látjuk (Sweeney, 2011). A betegség azonban már szubklinikai formában is súlyos veszteségeket okozhat a csökkent tejtermelésből, csökkent takarmányértékesítésből, szaporodásbiológiai problémákból adódóan, valamint a betegség immunszuppresszív jellege miatt (Garcia és Shallo, 2015). Csökkent vágóértékről és idő előtti selejtezésről szintén beszámoltak (Fodor és mtsai., 2014; Pieper és mtsai., 2015). Számos tanulmányban a betegség okozta veszteséget tehenenként 35-135 EUR-ra becsülik (Stott és mtsai., 2005; Tiwari és mtsai., 2007; Fodor és mtsai., 2014), azonban a szubklinikai fertőzés által okozott gazdasági károkat szinte lehetetlen számszerűsíteni. Vizsgálatunkban fel szeretnénk volna mérni egy gazdaságon belül a szubklinikai PTB fertőzöttség hatását a tejelő tehenek egészségére, tejtermelésére és a laktáció különböző szakaszaiban vizsgáltuk a betegség hatását néhány élettani paraméterre is.

4.1.2 Anyag és módszer

4.1.2.1 A tejelő állományok szűrése

2014-ben és 2015-ben MAP PCR-vizsgálat céljából tanktej mintákat gyűjtöttünk 29 magyarországi nagyüzemi tejgazdaságból. Az egyetlen olyan gazdaságot választottuk ki további vizsgálatokra, amelyik tanktej mintája PCR pozitív volt. Az állatok MAP pozitivitását poolozott bélsármintákon vizsgáltuk qPCR vizsgálattal, öt állat mintáját tartalmazta egy pool. Amennyiben a pool pozitívnak bizonyult, egyedileg vizsgáltuk a benne lévő bélsármintákat. A tejből történő DNS kivonáshoz Adiapure Paratb milk kivonó kitet (Bio-X Diagnostics S.A., Rochefort, Belgium) használtunk, a gyártó utasításai alapján. A bélsármintákból a DNS kivonást a Nucleospin Tissue extraction kit (NucleoSpin Tissue kit, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG., Dueren, Németország) segítségével végeztük el, a gyártó utasításai szerint. A

² Jurkovich V., Bognár B., és mtsai.: Effects of subclinical *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* infection on some physiological parameters, health status and production in dairy cows. Acta Veterinaria Hungarica, 64, 301-312, 2016.

bélsárminták kivonása előtt tisztító rendszert (Adiavet Adiafilter (x100), Bio-X Diagnostics S.A., Rochefort, Belgium) használtunk a megfelelő szedimentáció elérése érdekében. Az ülepités után 10 ml felülúszót mértünk az Adiafilter rendszerre. A qPCR futtatáshoz az Adiavet ParaTB Real-Time kitet (Bio-X Diagnostics S.A., Rochefort, Belgium) használtuk a gyártó utasításai alapján, amely a MAP IS900 inzerciós szekvenciáját detektálja (Kim és mtsai., 2002). A reakciót Stratagene RT-PCR rendszeren, MX3000P (Thermo Fisher Scientific, USA) futattuk, a leolvasás Aria Mx 1.8 (Agilent Aria qPcr, USA) történt. A 42 feletti Ct értékeket negatívnak tekintettük.

4.1.2.2 Kísérleti állatok, mintavételi protokoll és adatgyűjtés

Az egészségi és termelési paramétereket az ellés körüli időszakban és a laktáció első felében követtük nyomon. Összesen 15 MAP-pozitív állat került a kísérleti csoportba, egyikük sem mutatott még enyhe klinikai tüneteket sem. A kontroll csoportba szintén 15 db, bélsár PCR-negatív és klinikai tüneteket nem mutató állatot válogattunk. Az állatok MAP státuszát a kísérlet végén újra megvizsgáltuk bélsár PCR-rel. A vizsgálat végén 5 eredetileg MAP- állatot találtunk MAP-pozitívnak, ezek átkerültek a kísérleti csoportba, és az adataikat ennek megfelelően értékeltük. A statisztikai elemzésbe ezért 20 állatot vontunk be MAP-ürítőként (MAP+; kor: $5,6 \pm 1,6$ év; laktáció: $3,5 \pm 1,4$; BCS: $3,0 \pm 0,0$) és 10 állatot kontrollként (KO, kor: $5,2 \pm 2,8$ év; laktáció: $3,4 \pm 2,2$; BCS: $3,5 \pm 0,3$).

A kísérleti és a kontroll teheneket együtt tartották és nem kezelték külön a telep többi állatától a vizsgálati időszak alatt. Az elhelyezési és takarmányozási körülmények a MAP+ és a kontroll tehenek esetében azonosak voltak. A laktáció alatt az állatok naponta kétszer kaptak TMR-t és naponta négyszer fejték őket. Ivóvíz *ad libitum* állt rendelkezésre.

A vér és vizeletmintákat 2015 januárja és júliusa között az ellés várható időpontja előtti 10-14. naptól a laktáció 120. napjáig gyűjtöttük. A mintavételi időpontok tehát a következők voltak: a várható ellés előtt 10-14 nappal, az ellés után 2-5 nappal, majd az ellés utáni 10., 20., 30., 40., 50., 60., 80., 100. és 120. nap. A vér- és vizeletmintákat a reggeli etetés után 3-5 órával vettük. A plazmamintákból összfehérje, albumin, összkoleszterin, triglicerid, béta-hidroxivajsav, nem észterifikált zsírsav, karbamid, teljes kalcium, szervetlen foszfát és karotin-koncentrációt határoztunk meg. Az aszpartát-aminotranszferáz (AST), az alanin-aminotranszferáz (ALT) és a gamma-glutamil-transzferáz (GGT) aktivitását is megmértük. A méréseket BMG Labtech SPECTROstar Nano (BMG Labtech, Németország) biokémiai készülékkel végeztük, kereskedelembe kapható reagenskészletek (a BHB esetében Randox Ltd., Írország; a NEFA esetében a Diagnosticum Ltd., Magyarország; az összes többi esetében Diagon Kft., Magyarország) felhasználásával. A vizeletminták pH-értékét digitális pH-mérővel mértük

(Radelkis OP-211/1, Radelkis Co., Magyarország), a nettó sav-bázis ürítést (NSBÜ) Kutas (1965) módszere szerint határoztuk meg.

2. táblázat. A kondíciópontozás kritériumai (Mulvany, 1997)

Pontszám	Jellemző
1	Sovány kondíció: A faroktő körül mélyedés jelenik meg (besüpped). Nem érzékelhető zsírszövet a bőr alatt a medencecsont felett, a bőr rugalmas. Az ágyékcsigolyák harántnyúlványai éles tapintatúak, felső felületük könnyen tapintható. Mély horpadás van az ágyéktájékon a csípő- és a keresztcsont között.
2	Elfogadható kondíció: Sekély mélyedés rajzolódik ki és kevés zsírszövet tapintható a faroktőnél a bőr alatt. A medencecsont könnyen kitapintható. Az ágyékcsigolyák harántnyúlványainak a vége kerekdednek érezhető, és a felső felületük csak nyomással tapintható. Az ágyékon mélyedés látható a csípő- és a keresztcsont között.
3	Kívánatos (jó, tenyész) kondíció: Az ágyékcsigolyák harántnyúlványainak végei erős tapintásra sem érezhetőek. Nem látható mélyedés az ágyéktájékon a csípő- és a keresztcsont között.
4	Kövér tehén: A faroktőnél zsírredő ráncok láthatók, és zsírpúpok jelennek meg a bőr alatt. A medencecsont csak erős nyomásra tapintható.
5	Nagyon kövér: A faroktő zsírszövetbe ágyazott, a bőr feszes. A medencecsont részei még erős nyomásra sem érzékelhetőek. Az ágyékcsigolyák harántnyúlványai felett zsírredők láthatók.

A vérvételek időpontjában az állatok kondíciópontját 1-től 5-ig terjedő skálán értékeltük a **2. táblázat** szerint (Mulvany, 1977). A bendőteltséget a **3. táblázat** (Zaaijer és Noordhuizen, 2003) a bélsár állagot az **4. táblázat** szerint (Zaaijer és Noordhuizen, 2003) ugyanebben az időpontban szintén pontoztuk. A laktáció során a havi befejési adatokat és néhány egészségügyi, valamint szaporodásbiológiai paramétert a telep adatbázisából (Riská, Systo Kft., Magyarország) gyűjtöttük.

3. táblázat. A bélsár pontozás kritériumai (Zaaijer és Noordhuizen, 2003)

Pontszám	Jellemző
1	Nagyon híg konzisztenciájú, borsóleveshez hasonló bélsár.
2	Híg konzisztenciájú, halmot, lepényt nem formáló bélsár.
3	Zabkásához hasonló konzisztenciájú bélsár. Huppanó hangot hallani, amikor az a földre, vagy az istálló padozatára esik. Ez a konzisztencia úgy is megállapítható, hogy a gumicsizma elejét belemártva, a bélsár a csizmára ragad.
4	Közepesen száraz bélsár esetén megfigyelhető, hogy eléggé száraz, ezért hozzáérintve a gumicsizmát nem ragad az elejére, de még eléggé nedves és nem gurul el.
5	Szilárd bélsárlabda.

4. táblázat. A bendőteltség pontozás kritériumai (Zaaijer és Noordhuizen, 2003)

Pontszám	Jellemző
1	A paralumbális fossa az utolsó borda mögött több mint egy tenyérnyi szélességgel, valamint a harántnyúlványok alatt is egy tenyérnyire tapintható, nagyon üresnek látszik.
2	A paralumbális fossa egy tenyérnyi szélességben az utolsó borda mögött, és kisebb mértékben a harántnyúlványok alatt domborodik. A tehén bal oldaláról nézve a terület háromszög alakúnak tűnik.
3	A paralumbális fossa az utolsó borda mögött kevesebb, mint egy tenyérnyi szélességben található, és körülbelül egy tenyérnyi szélességben függőlegesen lefelé esik a harántnyúlványoktól, majd kidudorodik.
4	A paralumbális fossa bőre az utolsó borda mögötti területet fedi, és közvetlenül a harántnyúlványok alatt kívülre ível, a kitled bendő miatt.
5	A bendő meglehetősen kitled és szinte teljesen eltakarja a fossa-t, az utolsó borda és a harántnyúlványok nem láthatók.

4.1.2.3 Statisztikai elemzés

A statisztikai elemzést az R 3.2.3 statisztikai szoftverrel végeztük (R Core Team, 2022). A termelési tulajdonságok elemzése során a Shapiro-Wilk-tesztet alkalmaztuk az adatok normalitásának ellenőrzésére, normál eloszlás esetén párosított t-próbát, míg nem normális eloszlás esetén a Wilcoxon rangsorösszeg-tesztet használtuk a csoportok közötti különbség vizsgálatára. Az anyagcsere-paraméterek, a BCS, a bendőteltség és a bélsár pontszámok esetében általános lineáris modellt alkalmaztunk a csoportok, egyedek és mintavételek közötti különbségek kiszámítására. Egyes paraméterek közötti összefüggés meghatározására Pearson-korrelációt alkalmaztunk. A szignifikancia szintje $p < 0,05$ volt.

4.1.3 Eredmények

4.1.3.1 Metabolikus paraméterek

A vér- és vizeletparaméterek, a kondíciópontozás, a bendőteltség és a bélsár pontozás eredményei a **5. táblázatban**, valamint a **Függelék F1 és F2** táblázatában találhatóak. A kondíciópont, a bendőteltség és a bélsár pontszámai szignifikánsan különböztek a két csoport között, mindegyik alacsonyabb volt a MAP+ teheneknél. A plazma és a vizelet paraméterekben nem volt szignifikáns különbség a két csoport között. Mérsékelt, de szignifikáns korreláció volt a BCS és a bendőteltség ($r = 0,23$; $p = 0,001$), valamint a BCS és a bélsárpontszám között ($r = 0,41$; $p < 0,001$). A BCS és a BHB ($r = -0,14$; $p = 0,059$) vagy a NEFA ($r = 0,07$; $p = 0,307$) közti korreláció alacsony volt és nem szignifikáns.

5. táblázat. A metabolikus paraméterek, a kondíciópontszám (BCS), a bendőteltség és a bélsárpontszám átlagos (\pm SD) értékei a MAP-ürítő (MAP+) és a kontroll (KO) csoportokban.

Paraméter	MAP+ n=20	KO n=10	p érték
BCS	2,3 \pm 0,5	2,8 \pm 0,3	<0,001
Bendőteltség	2,4 \pm 0,6	2,7 \pm 0,5	<0,001
Bélsárpontszám	2,0 \pm 0,6	2,5 \pm 0,5	<0,001
Vérplazma			
BHB (mmol/l)	0,7 \pm 0,4	0,6 \pm 0,3	0,405
NEFA (mmol/l)	0,3 \pm 0,2	0,3 \pm 0,2	0,775
AST (U/l)	39 \pm 15,0	37 \pm 17,0	0,445
GGT (U/l)	19 \pm 8,0	18 \pm 5,0	0,057
ALT (U/l)	17 \pm 6,0	18 \pm 6,0	0,392
Total protein (g/l)	101 \pm 14,0	94 \pm 14,0	0,215
Albumin (g/L)	34 \pm 4,0	34 \pm 4,0	0,939
Koleszterin (mmol/L)	5,3 \pm 1,7	5,7 \pm 2,2	0,057
Triglicerid (mmol/L)	0,11 \pm 0,1	0,12 \pm 0,1	0,737
Ca (mmol/L)	2,1 \pm 0,4	2,1 \pm 0,4	0,580
Anorganikus P (mmol/L)	1,8 \pm 0,4	1,9 \pm 0,3	0,075
Karbamid (mmol/L)	7,8 \pm 2,2	8,0 \pm 1,6	0,407
Karotin (μ mol/L)	2,7 \pm 0,9	2,8 \pm 1,4	0,483
Vizelet			
pH	8,4 \pm 0,2	8,4 \pm 0,1	0,515
NSBÜ (mmol/L)	186 \pm 62,0	199 \pm 56,0	0,135

4.1.3.2 Termelési és egészségügyi paraméterek

A termeléssel és az egészségügyi paraméterekkel kapcsolatban kapott eredményeket a **6. táblázat** és a **Függelék F3 táblázat** foglalja össze. A tejhozam és a laktóztartalom tendenciózusan alacsonyabb volt ($p = 0,074$ és $0,077$), illetve a szomatikus sejtszám (SCC) tendenciózusan magasabb volt ($p = 0,097$), míg a tej zsírtartalma szignifikánsan magasabb volt ($p = 0,006$) a MAP+ teheneknél, mint a kontroll csoportban. A tejfehérje-tartalom nem különbözött a csoportok között. Minden más egészségügyi és termelési paraméter, kivéve a vemhesülési arányt, szignifikánsan jobb volt a kontroll csoportban.

6. táblázat. A termelés és az egészségügyi mutatók átlaga (\pm SD) MAP-ürítő (MAP+) és kontroll (KO) csoportokban

Mutató	MAP+ n=20	KO n=10	p érték
Termelési mutatók			
Tejhozam (L)	47,5 \pm 12,3	51,9 \pm 9,3	0,074
Tejzsír (%)	3,6 \pm 0,7	3,2 \pm 0,7	0,006
Tejfehérje (%)	3,1 \pm 0,3	3,1 \pm 0,3	0,509
Laktóz (%)	4,9 \pm 0,2	5,0 \pm 0,2	0,077
Szomatikus sejtszám (10^3 /ml)	1036 \pm 1077	697 \pm 1162	0,097
Egészségügyi és szaporodásbiológiai mutatók			
Szaporodásbiológiai kezelések száma	5,7 \pm 4,3	2,4 \pm 1,9	<0,001
Tőgykezelések száma	2,9 \pm 2,5	0,6 \pm 0,7	0,003
Termékenyítési index	2,8 \pm 1,6	1,4 \pm 0,5	0,015
Két ellés közti idő (napok)	437 \pm 66	365 \pm 33	0,006
Szerviz periódus (napok)	168,9 \pm 72,3	84,6 \pm 33,1	0,003
Vemhesülési arány (%) az első AI-ra	22,5 \pm 27,2	37,2 \pm 31,8	0,114

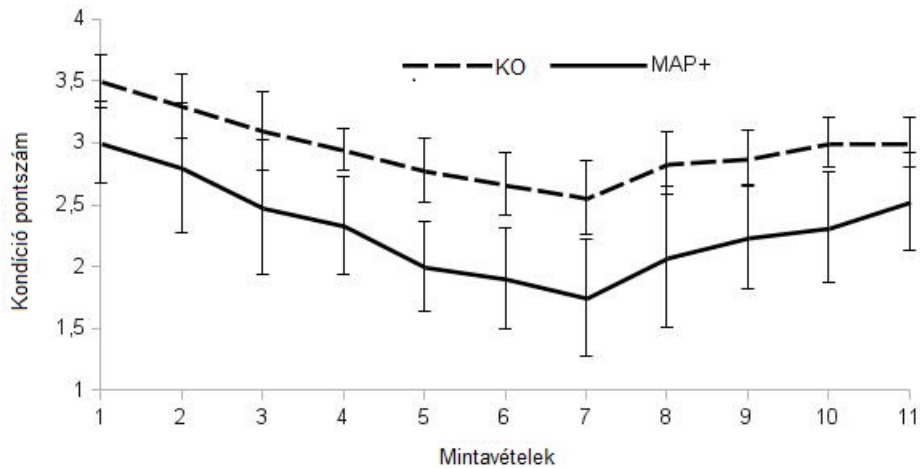
4.1.4 Megbeszélés és következtetések

Rónai és mtsai. (2015) 2,4-14,1% egyedi látszólagos, Ózsvári és mtsai. (2020) 4,4-10,3% valódi prevalenciáról számoltak be Magyarországon. A MAP az egész országban jelen van a tehénállományokban, valamint vadon élő állatokban (vaddisznó, gímszarvas, vörös róka, vízibivaly) is (Rónai és mtsai., 2015). A tanktejmintákból PCR vizsgálattal igazolható MAP

pozitivitás sikeressége változó (Sweeney és mtsai., 2012). Khol és mtsai. (2013) nem találtak MAP-pozitív tanktej mintát, míg mások a mi eredményeinkhez hasonló arányról számoltak be (3,4%; Beaver és mtsai., 2016), vagy akár 52%-os pozitivitási arányt is találtak (Stabel és mtsai., 2002).

A szubklinikai fertőzések általában diagnosztizálatlanok maradnak. A szubklinikai tüneteket mutató állatok nem kerülnek selejtezésre, és tovább terjesztik a kórokozót, így növelve a fertőzési arányt az állományon belül (Clarke, 1997). Emellett sok MAP-fertőzött állat látenszen vagy időszakosan üríti a baktériumot, ami a jelenlegi diagnosztikai módszerekkel nem mutatható ki (Schukken és mtsai., 2015). Ez a mi vizsgálatunkban is megfigyelhető volt, nevezetesen, hogy néhány MAP-negatív állat átkerült a kísérleti időszak végén a MAP+ csoportba. A jelen vizsgálatban nem volt különbség a metabolikus paraméterekben a MAP+ és a kontroll tehének között. Ez az eredmény meglepő volt, mivel eltérő metabolikus állapotot, hipoproteinaemiát vagy az energiaegyensúly felborulásának jeleit feltételeztük a MAP+ csoportban, különösen, mivel a két csoport között különbségek voltak a BCS, a bendőteltség és a bélsárpontszámok tekintetében (**5. táblázat**). Úgy gondoljuk, hogy ez az eredmény a MAP fertőzés korai stádiumának tulajdonítható és annak, hogy fertőzés korai szakaszában, a bélnyálkahártyán még nincs jelentős morfológiai elváltozás. A szakirodalomban kevés információ áll rendelkezésre a metabolikus státuszról és a vér vagy vizelet biokémiai paramétereinek változásáról a MAP-ot ürítő teheneknél. Eredményeinkkel ellentétben Donat és mtsai. (2014a) a szérummintákban csökkent TP szintről számoltak be a MAP+ tehének esetében, beleértve azokat is, amelyek alacsony számban ürítették a baktériumot és a paratuberculosis szubklinikai fázisában voltak. Eredményeinkkel összhangban, nem találtak különbséget a BHB-, a bilirubin- és koleszterinszintekben, valamint az ALT aktivitásban a MAP-ot ürítő és a kontroll tehének között. Korábbi tanulmányok szintén alacsonyabb TP szintről számoltak be a szubklinikailag fertőzött borjakban (Szilágyi és mtsai., 1989; Körmendy és mtsai., 1990). McGregor és mtsai. (2015) arról számoltak be, hogy számos biokémiai paraméter, kivéve a szérum albumint, hasonlóak voltak a MAP-pozitív és a MAP-negatív merino juhokban. A szérumalbumin-koncentráció alacsonyabb volt azokban a juhokban, amelyekben súlyosabb kórszövettani elváltozást találtak és alacsonyabb testsúllyal rendelkeztek. A klinikai eseteket vizsgálatukban nem zárták ki, és a szérum albumin szint hasonló volt az enyhe bélsárpontszámokat (1 és 2) mutató (talán szubklinikai paratuberculosisban szenvedő) juhoknál, mint a kontroll csoportban. Fodor és mtsai. (2014) a MAP+ tehének körében magasabb arányú korai selejtezésről számoltak be, főként metabolikus problémák miatt; ezt a megállapítást azonban nem igazolták vérvétellel és biokémiai vizsgálatokkal. Az elléskor a tehének elfogadható BCS értéke 3,0-3,5 (egy 5 pontos skálán), amely a korai tejtermelési időszak során várhatóan egy ponttal csökken (Roche és mtsai., 2009). A kondíciópontok az ideális 3,0-3,5 közötti értéktől indultak a vizsgálatunkban,

de a kondíciópontok csökkenésének mértéke a két csoportban eltérő volt (**2. ábra**). Arról mások is beszámoltak, hogy a PTB jelentős testtömegcsökkenést okoz a teheneknél (Fodor és mtsai., 2014) és juhoknál (McGregor és mtsai., 2015), azonban nincsenek korábbi adatok a szubklinikai MAP-fertőzés hatásáról BCS tekintetében a tejelő teheneknél.



2. ábra. A vizsgált tehenek kondíciópontszámának alakulása a mintavételek alatt

A bélsárpontszám alacsonyabb volt a MAP-ot ürítő állatoknál, bár hasmenést egyik vizsgált állatnál sem figyeltünk meg. A legalacsonyabb bélsárpontszám értékeket a harmadik mintavételkor kaptuk (ellés utáni 10. nap), de ezt valószínűleg az abraktakarmányok viszonylag magas aránya okozta. A vizsgált szaporodásbiológiai paraméterek mindegyike különbözött a MAP+ és a kontroll csoportban, ami arra utal, hogy még a szubklinikai MAP-fertőzés is jelentősen befolyásolja az állomány szaporodásbiológiai állapotát. A kontroll csoportban a szaporodásbiológiai paraméterek jobbak voltak az állományátlagnál (termékenyítési index: 2,7; két ellés közti idő: 410 nap; szerviz periódus: 149 nap), míg a MAP+ csoportban rosszabbak voltak (**6. táblázat**). Hasonlóképpen, Johnson-Ifearulundu és mtsai. (2000) tanulmányában a két ellés közti idő átlagosan 27,9 nappal hosszabb volt a MAP+ teheneknél, mint a kontroll csoportban. A szaporodásbiológiai kezelések száma magasabb volt a MAP+ teheneknél, ami magasabb állatorvosi és kezelési költségeket eredményezett a PTB esetében (Benedictus és mtsai., 1987; Fodor és mtsai., 2014), bár vizsgálatunkban nem számszerűsítettük a szubklinikai MAP-fertőzés gazdasági hatásait. Weiss és munkatársai (2006) tanulmánya szerint a sejtes immunválasz általános gyengülése figyelhető meg a MAP-fertőzött tehenekben. Az antitestek termelése is erősen csökken a fertőzött állatokban (Kreeger és mtsai.; 1991). A károsodott sejtes immunválasz miatt a szubklinikai paratuberculosis fogékonyabbá teszi az állatokat a fertőzésekre. A MAP fertőzés és az

immunhiány együttesen fogékonyabbá teszi az állatokat másodlagos fertőzésekre, mint a tőgygyulladás vagy szaporodásbiológiai problémák, melyek gyakran az állatok selejtezéséhez vezetnek (Johnson-Ifearulundu és Kaneene, 1997).

A tejhozam tendenciózusan alacsonyabb volt a MAP+ csoportban (**6. táblázat**). Több tanulmányban vizsgálták a MAP fertőzés hatását a tehenek tejtermelésére és általában csökkent termelésről számoltak be (Benedictus és mtsai., 1987; Wilson és mtsai., 1993; Nordlund és mtsai., 1996). A tejtermelés csökkenése a szubklinikailag fertőzött tehenek esetében általában progresszív, de a statisztikai különbségek csak a negyedik vagy későbbi laktációban igazolhatóak (Tiwari és mtsai., 2007, 2009). Azonban más szerzők nem találtak különbséget (Johnson és mtsai., 2001), sőt, megnövekedett tejhozamról számoltak be a MAP-fertőzött teheneknél (McNab és mtsai., 1991). McAloon és mtsai. (2016) metaanalízise szerint a tejtermelés csökkenés a MAP-fertőzés hatása -1,87 kg tej/tehen/nap volt, ami a becslések szerint a tejhozam 5,9%-os csökkenésének felel meg, ami alacsonyabb a jelen vizsgálatban kapott eredményeinkhez képest. Donat és mtsai. (2014b) szerint a tejtermelés csökkenése a MAP-pozitív szarvasmarhák esetében az állományon belüli prevalenciától is függ, minél magasabb az állományszintű szeroprevalencia mértéke egyed szinten is nagyobb termelékieséssel kell számolni. A MAP+ csoport magasabb tejsírszázalékát nem lehet megmagyarázni a betegség ismert patogenezisével és a feltételezett emésztőszervi és anyagcsere-rendellenességekkel sem. A fertőzésnek a tej összetételére gyakorolt hatása nem teljesen tisztázott. Gonda és mtsai. (2007) megállapították, hogy a MAP+ tehenek kevesebb tejsírt és tejfehérjét termelnek, míg Pillars és mtsai. (2011) és Donat és mtsai. (2014b) nem tudtak kimutatni ilyen hatást.

A MAP+ tehenek tőgyegészségügyi állapotát a tőgykezelések emelkedett száma és a tendenciózusan magasabb szomatikus sejtszám tükrözi. A kezelések száma 4,8-szorosa volt a MAP+ teheneknél a kontroll csoporthoz képest a laktáció első 120 napjában (**6. táblázat**). Számos tanulmány kimutatta, hogy a krónikus tőgygyulladás az egyik leggyakoribb oka a MAP+ tejelő tehenek korai selejtezésének (Dufour és mtsai., 2004; McSpadden és mtsai., 2013; Garcia és Shalloo, 2015); más szerzők azonban nem találtak összefüggést a MAP-státusz és az SCC között (Gonda és mtsai., 2007; Donat és mtsai., 2014b). Ezek az ellentmondásos eredmények valószínűleg a diagnosztikai tesztek pontatlanságából adódnak (Pillars és mtsai., 2011). Ha nagyobb számú állat üríti a kórokozót az állományon belül, akkor a termelésre kifejtett negatív hatások kifejezettebbek (Lombard és mtsai., 2005; Raizman és mtsai., 2009). Smith és mtsai. (2016) szerint a betegség kezdeti stádiumában lévő állatok (amelyeknek csak egy pozitív tenyésztési vagy ELISA-eredményük volt) képesek voltak a termelés fokozására, míg a betegség előrehaladottabb fázisában lévő állatok (legalább egy erősen pozitív tenyésztés) folyamatos termelés-csökkenést mutattak.

Megállapítható tehát, hogy a MAP-fertőzés még szubklinikai formában is, jelentős hatással van a termelésre, egyes reprodukciós paraméterekre és a tőgyegészségügyre. A betegség gazdasági hatásának pontosabb becslése hozzájárulhatna ahhoz, hogy a szubklinikai fertőzések szűrését is költséghatékonyan tartásák a gazdaságok, ami segítené megelőzni az új fertőzéseket és javítaná az állomány egészségét és termelékenységét.

4.2 Az elletési és borjúnevelési technológia és a telepi paratuberculosis fertőzöttség összefüggései magyarországi tejelő tehenészetekben³

4.2.1 A vizsgálat elvégzésének indoklása

Vizsgálatunk céljaként tűztük ki, hogy felmérjük azokat a tényezőket, melyek a legnagyobb mértékben elősegítik a PTB terjedését a hazai nagyüzemi tejtermelő állományokban és amelyek bevezetésével a mentesítési programok előrehaladását segíthetjük. Amint már említettük, a mentesítési programok gyakori korlátja, hogy a gazdák belefáradnak a szigorú protokollba és a csak évek múltán jelentkező eredmények miatt nincs türelmük az elkezdett programok befejezéséig (Khol és Baumgartner, 2008). Vizsgálatunkkal így azokat a tényezőket szeretnénk azonosítani, aminek betartásával hatékony eredmény érhető el. A felmérést személyes teleplátogatás keretében végeztük, hogy a kérdésekre adott válaszokat objektíven tudjuk értékelni. A hazai tartástechnológiai viszonyokat figyelembe vevő, a paratuberculosis terjedését vizsgáló felmérő vizsgálat elvégzését azért is láttuk indokoltnak, mert ilyen jellegű vizsgálat ezidáig hazánkban nem készült.

4.2.2 Anyag és módszer

4.2.2.1 Állatok és szerológiai vizsgálatok

A szerológiai eredmények az éves kötelező vérvétel szérum mintáiból származtak. A minták feldolgozása a Eurofins Vet Control laboratóriumban történt ELISA módszerrel (IDEXX Paratuberculosis Screening Ab Test, IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, ME, USA), az eredményeket a telepek hozzájárulásával használtuk fel a vizsgálathoz. Az ELISA eredményeit a gyártó utasítása alapján értékeltük, a „kétes” tartományba eső eredményeket negatívként kezeltük. A nagylétszámú (150 tehen feletti tehenállomány) holstein fríz állományokat, amelyekben legalább egy állat MAP pozitív volt ELISA vizsgálattal, megkerestük, hogy működjenek közre a MAP terjedésével kapcsolatos telepi menedzsment felmérésében. A vizsgálatra olyan telepeket választottunk ki, ahol az állománymenedzsment jól dokumentált, a PTB visszaszorítására már legalább 2 éve kontroll programot állítottak fel és ezen nem változtattak. Ezen kritériumok alapján 26 telepet vontunk be a vizsgálatba (az

³ Vass-Bognár B., Bakony M., Baumgartner W., Khol J. L., Jurkovich V.: Association between calf rearing technology and farm-level paratuberculosis infection in Hungarian dairy farms. Preventive Veterinary Medicine, 207, 105719, 2022.

átlagos állomány méret: 909 tehén; min.: 152; max.: 2200), mely összesen 23 659 állatot jelent, ami a magyar fejőstehén-állomány 11,2%-a (KSH, 2020).

4.2.2.2 Teleplátogatások

A kérdőívek kitöltését személyesen a telep állatorvosával vagy a telepvezetővel együtt végeztük, hogy minimalizáljuk a telepen dolgozók válaszaiból származó szubjektivitást. A kérdőívet Berghaus és mtsai. (2005) és Donat és mtsai (2016) következtetési alapján állítottuk össze. A kérdőív 10 kulcsfontosságú kérdésre terjedt ki, amik az eddigi tapasztalatok alapján nagyban elősegítik a MAP terjedését a felnőtt állatokról a borjakra (**7. táblázat**).

7. táblázat. A paratuberculosis tehenekről a borjakra való átterjedését leginkább befolyásoló tényezők (Berghaus és mtsai. [2005] és Donat és mtsai. [2016] nyomán)

A tényező neve	Definíció	Lehetséges válaszok	Pontozás	Gazdaságok aránya [%; (db/összes)]
Anyával töltött idő	Mennyi időt tölt a borjú az anyjával az ellés után?	Azonnal elveszik.	1	38,5 (10/26)
		Nem veszik el azonnal.	0	61,5 (16/26)
PTB pozitív kolosztrum kezelés	A PTB+ tehenek kolosztrumát felhasználják?	A kolosztrumot megsemmisítik.	1	46,2 (12/26)
		A kolosztrumot megkaphatta újszülött.	0	53,8 (14/26)
Ellető-betegistálló távolság	Milyen távolságra van egymástól a beteg csoport és az ellető?	A beteg csoport teljesen el van különítve az ellető istállótól.	1	42,3 (11/26)
		A beteg és ellető istálló vagy egy csoportban vagy pedig ugyanabban az épületben található.	0	57,7 (15/26)
Választás előtti takarmányozás	A borjak a tejtetés ideje alatt tejpótlón és árutejen kívül kaptak másféle tejet is?	Csak tejpótló vagy tejpótló és árutej keveréke.	1	38,5 (10/26)
		Egyéb (kaphattak elletői vagy beteg tejet is).	0	61,5 (16/26)
Elletés módja	Az elletés módja (csoportosan, vagy egyéb).	Egyedi elletés (az éppen ellő állat egyedül van, elkülönítve a többiekétől).	1	38,5 (10/26)
		Kiscsoportos (az ellő állat több ellésre váró vagy frissen ellett tehén között van).	0	61,5 (16/26)
Kolosztrum itatás	A kolosztrum típusa, amit az újszülöttek kapnak.	Fagyasztott, egyedi.	1	23,1 (6/26)
		Poolozott / saját anyja kolosztruma.	0	76,9 (20/26)
Elletői higiénia	Milyen gyakran távolítják el az almos trágyát az elletőből?	Naponta rendszeresen.	1	19,2 (5/26)
		Alkalomszerűen.	0	80, (21/26)

A tényező neve	Definíció	Lehetséges válaszok	Pontozás	Gazdaságok aránya [%; (db/összes)]
Borjú-tehén találkozás	A borjak előtt elhaladnak-e a tehenek a fejőházba menet, tehát előfordulhat felnőtt állatoktól származó bélsár kontamináció?	nem	1	76,9 (20/26)
		igen	0	23,1 (6/26)
PTB+állatok kezelése	Van kezelési / selejtezési protokoll az ismert PTB+ tehenek esetében?	Azonnal vagy a laktáció végén selejtezik.	1	50,0 (13/26)
		Nincs protokoll.	0	50,0 (13/26)
PTB+ tehén elletés	Van külön leírt protokoll a PTB+ tehenek elletésére?	PTB+ tehén külön boxban, egyedül ellik.	1	42,3 (11/26)
		PTB+ tehenek nincsenek elkülönítve a társaiktól az ellés során.	0	57,7 (15/26)

4.2.2.3 Statisztikai elemzés

A MAP látszólagos szeroprevalenciáját a pozitív állatok és az összes vizsgált állat hányadosaként számítottuk ki. A „higiéniai pontszáma” az egyes kérdésekre adott pontszámok összege. A „higiéniai pontszám” és a látszólagos szeroprevalencia közti összefüggést a Spearman-féle rangkorrelációval számítottuk ki. A 0-1 pontozás egyenlő súllyal kezeli a hátrányosnak vélhető szempontokat, így szerettük volna megvizsgálni, hogy létezik-e rangsor a leírt szempontok között és ez milyen mértékben befolyásolja a szeroprevalenciát. Két megközelítést alkalmaztunk erre a célra. Először létrehoztunk egy adathalmazt, ahol minden sor egy telepre vonatkozott, tartalmazta a MAP szeroprevalenciát valamint mind a 10 szempont pontszámait dichotomizált (0/1 szint) kategorikus változóként. Ezután a „random forest classification” módszert használtuk a látszólagos prevalencia (outcome) előrejelzésére a dichotomizált kategorikus (magyarázó) változók alapján. Az algoritmus úgy működik, hogy számos döntési fát állít fel a megfigyelések véletlenszerűen kiválasztott részhalmazaira és a magyarázó változók részhalmazaira, majd teszteli az előrejelzés pontosságát a fennmaradó, az előrejelzéshez nem használt megfigyeléseken. Azonosítani tudja azokat a változókat, amelyek a legfontosabbak az eredmény előrejelzésében. A teszt olyan helyzetekben is alkalmazható, amikor a megfigyelések száma viszonylag alacsony a magyarázó tényezők nagy számához képest. A változók fontosságát Breiman (2001) által leírt permutációs módszer alapján rangsoroltuk, ami az előrejelzési hiba növekedésének hatását vizsgálja az adott magyarázó változó permutációjának hatására. A változó fontossága arányos az előrejelzési hiba növekedésének nagyságával. Mivel a „random forest classification” módszer nem illeszt statisztikai modellt az adatokra, általánosított lineáris kevert modellt használtunk a kategorikus változók hatásának számszerű becslésére. Létrehoztunk egy adathalmazt, amelyben minden sor egy tehennek felel meg és a szeropozitivitást tartalmazta célváltozóként (0 a negatív vagy

kétes PTB ELISA eredmény esetén, és 1 pozitív teszt eredmény esetén), és a gazdaság pontszámait a 10 szempont mindegyikére vonatkozóan dichotomizált (0/1 szint) kategorikus változóként (amelyek dummy-változóknak tekinthetők, ahol a referenciaszint a 0). Annak vizsgálatára, hogy a kategorikus változók hogyan hatnak a pozitív ELISA teszteredmény valószínűségére, általánosított lineáris kevert modellt illesztettünk a szeropozitivitásra, mint függő (kimeneti) változóra és a dichotomizált magyarázó változókat fix hatásként, a gazdaságot pedig random hatásként vizsgáltuk.

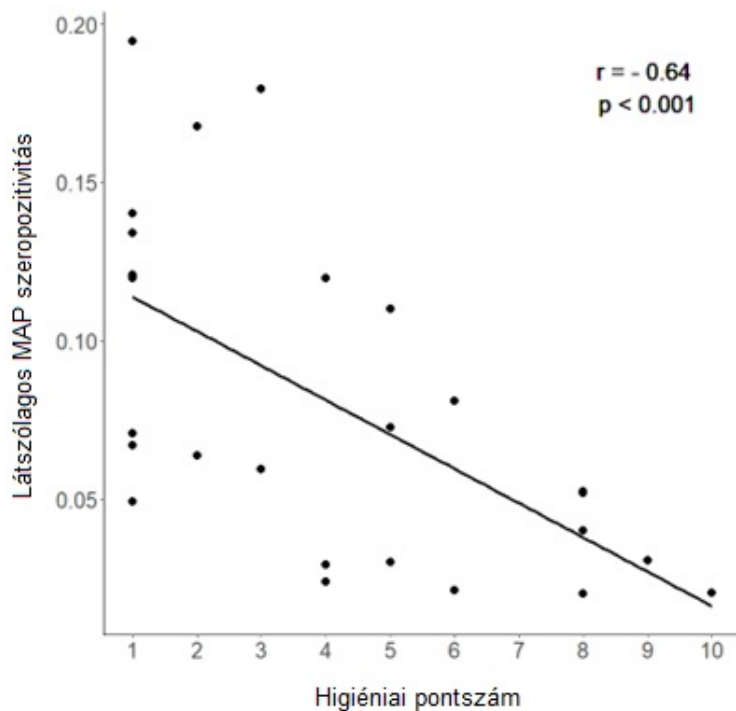
Az általánosított lineáris kevert modell képlete a következő volt:

$$\text{logit}(P(Y)) = \beta_0 + \sum \beta_i * X_{ij} + \eta_k + \varepsilon$$

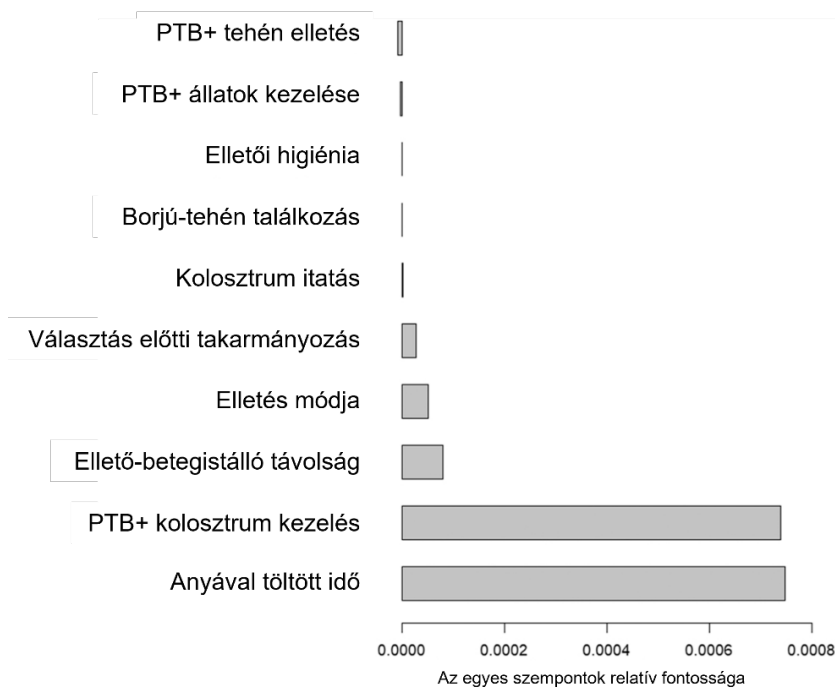
Ahol Y a pozitív teszteredmény eredménye, β_0 a metszéspont, β_i az i-edik fix hatás j-edik szintjének együtthatója, η_k a k-adik gazdaságra vonatkozó random hatás és ε a hibatag. A modellszelekció a statisztikailag nem szignifikáns tagok egyenkénti eltávolításával és az Akaike információs kritériumok (AIC) és a Bayes-i információs kritériumok (BIC) figyelembevételével történt. A legalacsonyabb AIC- és BIC-értékkel rendelkező modellt választottuk ki végleges modellnek. Az előnyös menedzsmenthez kapcsolódó kockázatcsökkentő intézkedések hatását esélyhányadosokkal és 95%-os konfidencia intervallumokkal fejeztük ki. Minden statisztikai elemzést R 3.2.3. szoftverrel végeztünk (R Core Team, 2022). A statisztikai szignifikanciát $p < 0,05$ -nél állapítottuk meg.

4.2.3 Eredmények

A vizsgált állományokban az átlagos látszólagos PTB-szeroprevalencia 8,3% volt (min.: 2,0%; max.: 19,5%). A látszólagos MAP szeropozitivitás az általános higiéniai pontszámokhoz viszonyítva a **3. ábrán** látható. Szignifikáns negatív korreláció volt a higiéniai pontszám és az adott gazdaság látszólagos MAP szeropozitivitása ($r = -0,64$; 95%CI: - 0.30; - 0.84; $p < 0,001$) között. A „random forest classification” algoritmus alapján a „PTB+ kolosztrum” és az „anyával töltött idő” változó bizonyult a leginkább informatívnak a MAP-szeroprevalencia előrejelzésében. Az egyes telepek részletes higiéniai pontszámát a **Függelék F4 táblázata** tartalmazza.



3. ábra. Összefüggés a higiéniai pontszám (a kedvező menedzsment gyakorlatok a 10 vizsgált közül) és a látszólagos MAP szeropozitivitás között a vizsgált gazdaságokban.



4. ábra. A változók jelentősége a látszólagos MAP szeropozitivitás előrejelzésében. A sávok hossza a változók permutációjával a találati arány pontosságában bekövetkezett változást mutatja.

A **4. ábra** a változók fontosságának rangsorát mutatja a telepek látszólagos szeropozitivitásának függvényében. A végleges általánosított lineáris kevert modell esetében is „az anyával töltött idő” és a „PTB+ kolosztrumkezelés” mutatott szignifikáns eredményt. A borjú elvétele közvetlenül a születés után („az anyával töltött idő” = 1) a szeropozitivitás esélyének átlagosan 55%-os csökkenésével járt az anyával töltött hosszabb időhöz képest (OR: 0,45; 95%CI: 0,30; 0,69; $p < 0,001$). A kolosztrum megsemmisítése a PTB+ tehének ellése után („PTB+ kolosztrum kezelés”) a szeropozitivitás esélyének átlagosan 48%-os csökkenésével jár együtt, azokhoz a gazdaságokhoz képest, ahol a PTB+ tehének kolosztrumát vagy tejét nem semmisítették meg, hanem a megitták a borjakkal (OR: 0,52; 95%CI: 0,34; 0,78; $p < 0,01$).

4.2.4 Megbeszélés és következtetések

Vizsgálatunkban egy kockázat alapú kérdőív segítségével a tartástechnológiát és a menedzsment különböző elemeit vizsgáltuk a paratuberculosis terjedésével kapcsolatban 26 nagyüzemi holstein fríz tejtermelő tehenészetben. Az átlagos látszólagos állomány szintű prevalencia értékek (átlagosan 8,3%; min.: 2,0%; max.: 19,5%) hasonlóak voltak egy korábbi, magyarországi vizsgálatban közölt adatokhoz (Ózsvári és mtsai., 2000).

Eredményeink alapján a legkritikusabb pontok a telepi menedzsmentben a PTB-fertőzési lánc megszakítása érdekében a következők: a borjú azonnali eltávolítása az anyjától születés követően és kizárólag MAP negatív állatoktól származó kolosztrum itatása. Számos korábbi tanulmány hasonló következtetésre jutott, miszerint a borjú azonnali eltávolítása az anyjától fontos tényező a fertőzési lánc megszakítása érdekében (Wells és Wagner, 2000; Donat és mtsai., 2016). Eredményeinket alátámasztják Patterson és mtsai. (2020) vizsgálatai, akik bizonyítékot szolgáltatott arra, hogy az első ellésig fellépő szeropozitivitás magasabb azoknál a borjaknál, amelyek olyan anyáktól születtek, amelyek az ellés idején negatívak voltak ugyan, de az ellés utáni 12 hónap bármelyikében pozitívvá váltak, az egész vizsgált idő alatt negatív anyák borjaihoz képest. A hivatkozott vizsgálat is alátámasztja annak a tényezőnek a fontosságát, hogy a borjakat a lehető leghamarabb el kell távolítani születés után az anyjuktól, függetlenül a szerológiai státusztól (Patterson és mtsai., 2020). Egy ír vizsgálat kimutatta, hogy a tehének és a borjak elkülönítése a legelőn hatékony védekezési stratégia, amely csökkenti az állományon belüli szeroprevalenciát (Biemans és mtsai., 2021).

A csoportos elletés (amikor az ellő tehen több, még ellés előtt álló vagy éppen frissen ellett tehénnel egy boxban található) meglehetősen gyakori a magyar tejelő tehenészetekben. Az is elég gyakori, hogy a beteg állatok nem külön istállóban, hanem az elletőben, a frissen ellett és az ellés előtt álló tehének mellett vannak elhelyezve. Bár kisebb mértékben, de ez a két

gyakorlat is kockázatosnak bizonyult a vizsgálatunkban. A felnőtt állatokkal való érintkezés fontos átviteli út a fogékony időszakban (Nigsch és mtsai., 2021). Ha a frissen ellett tehenek a betegekkel együtt vagy közvetlenül a beteg állatok (különösen a hasmenéses állatok) mellett vannak, a MAP átvitele a tehénről a borjúra szintén valószínűbb. Kimutatták, hogy a látszólagos állományszintű MAP szeroprevalencia összefüggésbe hozható volt olyan tartástechnológiával, ahol egynél több tehenet tartottak az ellett boxban (Puerto-Parada és mtsai., 2018). Az újszülöttkori környezet kulcsfontosságú eleme a MAP átvitelének, mivel a fiatal állatok fogékonyabbak a fertőzésre (Windsor és Whittington, 2010). A csoportos elletés során az újszülött borjak több tehen bélsarával kerülhetnek kapcsolatba. Kimutatták, hogy amennyiben a borjak több, mint 10%-át a saját anyjuk vagy más tehenek szoptathatták, nagyobb volt a MAP pozitivitás esélye (Puerto-Parada és mtsai., 2018).

A fertőzés legfontosabb módja a szájon át bélsárral történő baktériumfelvétel (Sweeney, 2011). Ugyanakkor a tejből történő baktériumfelvételt sem zárhatjuk ki teljesen. Vizsgálatunkban kimutattuk, hogy az ismert fertőzött tehenek kolosztrumának vagy tejének itatása vagy egy ismert fertőzött állományban teljes tej vagy tej és tejpótló keverékének az itatása választás előtt a betegség átvitelének egy jelentős forrása lehet. A MAP túlélheti a pasztörözés hőmérsékletét (Gerrard és mtsai., 2018), ezért a fertőzött állományban biztonságosabb csak negatív állatoktól származó tejet vagy tejpótlót itatni a borjakkal. Steuer és mtsai. (2021) által végzett kísérletben a MAP kimutatható volt azon borjak bélsárában, melyek a baktériummal természetesen kontaminált tejet fogyasztottak. A MAP-t mindezidáig nem sikerült kimutatni sem tejpótlóból sem pedig UHT tejből (Khol és mtsai., 2017, Steuer és mtsai., 2021).

A borjak csoportos elhelyezésének hatását a szeroprevalenciára nem vizsgáltuk, mivel minden vizsgálatba bevont telep egyedi ketrecben tartotta a borjakat (maximum 60 napos korig). Az egyedi ketrecben való tartás, ami az Európai Unióban választásig engedélyezett, egy lehetséges megoldás a borjúról-borjúra történő átvitel megelőzésében. A magyarországi tejelő tehenészetekben választás után a borjakat kis csoportokban tartják. Corbett és mtsai. (2019) szerint a MAP fertőzés megelőzése érdekében a csoportos tartásban elengedhetetlen a tisztán tartott környezet, ami magában foglalja a szennyezett alományag minél gyakoribb eltávolítását és az istálló oldalfalainak rendszeres fertőtlenítését is. Ezenkívül a fiatal állatokat is érdemes bevonni az állományszintű MAP vizsgálatokba, mivel több, mint 2%-uk MAP ürítőnek bizonyulhat a fertőzött állományokban (Wolf és mtsai., 2015). A csoportosan tartott választott borjak fertőzési láncban betöltött szerepének tisztázásához további vizsgálatokra van szükség.

A telepek selejtezési stratégiája a PTB pozitív állatok tekintetében kevésbé tűnik fontosnak, mint az anya-borjú kapcsolat. Ezt a megállapítást több modellezésen alapuló tanulmány is alátámasztja (Kudahl és mtsai., 2007; Camanes és mtsai., 2018). Camanes és mtsai. (2018)

kimutatták, hogy a leghatékonyabb eredményt a borjak fertőződésének minimalizálásával, az elvégzett diagnosztikai tesztek gyakoriságának növelésével és a lehető legnagyobb selejtezési aránnyal lehet elérni (a közepesen pozitív állatok 50%-ának selejtezésével). Vizsgálatukban az alacsony fertőzöttségi státusz 0-3,5% látszólagos szeroprevalenciát jelent egyedszinten, ugyanez 3,5-10,5% közé esik a közepesen fertőzött, 10,5-30% közé a magasan fertőzött állományokban.

Azt is kimutatták, hogy a hatékony tesztelési és selejtezési stratégia alapvető fontosságú a közepes vagy magas PTB-prevalenciával rendelkező állományoknál, mely összhangban van több, már elvégzett vizsgálattal (Baumgartner és Khol, 2008). A mi esetünkben a vizsgálati gyakoriság elfogadható volt (évente egyszer), de a selejtezési stratégia kevésbé tűnt hatékonynak (Kudahl és mtsai., 2007 szerint), és relatíve kevésbé fontosnak bizonyult (**4. ábra**). Az adatok azt sugallják, hogy egyetlen intézkedés (például a tesztelés és selejtezés, ami a leggyakoribb a magyarországi állományoknál) nem képes számottevően megakadályozni a betegség terjedését (Kudahl és mtsai., 2007; Steuer és mtsai., 2021). Hosszú távon a tesztelés és selejtezés stratégiát sokkal eredményesebbé tehetjük, ha a borjak minél kevésbé tudnak a felnőtt állatok fertőzött környezetével érintkezni, ez pedig a pozitív állatok nagyobb arányú selejtezésével és a tesztelés gyakoriságának növelésével tudjuk a legkönnyebben elérni (Kudahl és mtsai.; 2007; Camanes és mtsai., 2018). Több további tanulmány is bizonyítja, hogy a MAP pozitív állatok időben történő selejtezése, különösen a baktériumot nagy mennyiségben ürítő állatoké, jelentősen hozzájárulnak a prevalencia csökkentéséhez a szarvasmarha állományokban (Khol és mtsai., 2007).

Eredményeink alapján az alacsonyabb szeroprevalenciához két fő és számos kisebb menedzsment intézkedés kapcsolható. A jobbra értékelt gazdaságok (melyek egyúttal magasabb higiéniai pontszámot kaptak) több intézkedést vezettek be a MAP terjedésének visszaszorítására és alacsonyabb szeropozitivitással is rendelkeztek (**3. ábra**). A PTB visszaszorítására felállított kontroll programok általában önkéntes alapon működnek és a siker nagy mértékben függ a gazdálkodók motivációjától és a telepet ellátó állatorvosok aktív részvételétől és ösztönzésétől (Barkema és mtsai., 2018; Whittington és mtsai., 2019). Robinson (2020) tanulmánya szerint a MAP fertőzés csökkentéséből adódó gazdasági hatásokat és az állatok egészségére gyakorolt pozitív hatásokat az állatorvosok nem kommunikálják megfelelően a gazdálkodók felé, vagy a gazdálkodók egész egyszerűen nem vesznek tudomást a betegség hatásairól. Egyes gazdálkodók úgy vélték, hogy az állatorvosok kérései a PTB visszaszorításával kapcsolatban irreálisak és kivitelezhetetlenek voltak, ami a programhoz való teljes negatív hozzáálláshoz vezetett (Robinson, 2020). Egy svájci vizsgálatban a kitűzött három fő lépést (a pozitív állatok selejtezése, az utolsó ellésből származó borjú selejtezése és az új állatvásárlás korlátozása) a gazdák nehezen tudták betartani, pedig kezdetben kifejezetten érdeklődtek a mentesítés iránt (Klopfstein és mtsai.,

2021). Összességében a végrehajtott gazdaságspecifikus intézkedések a következők voltak: az ajánlott intézkedések 13%-át hajtották végre teljes mértékben, 47%-ot részben, 39%-nál pedig semmilyen intézkedés nem valósult meg (Klopfstein és mtsai., 2021). Barkema és mtsai. (2018) számos hiányosságot azonosítottak, amik hátráltatják a MAP fertőzés kontrollját és megelőzését. Ezek között volt a gazdák motivációja az önkéntes megelőzési és kontroll stratégiákba való bekapcsolódáshoz. Az állatorvosok bevonása a kontroll programok népszerűsítésébe, beleértve a gazdákkal való folyamatos kommunikációt is, a mentesítési programok egyik meghatározó eleme. Néhány higiéniai intézkedés bevezetése, a sok, gyakran fáradságos menedzsment stratégia helyett jobban hozzájárulhat ahhoz, hogy a gazdák ne veszítsék el a lelkesedésüket már a legelején a kontroll programok iránt (Khol és Baumgartner, 2012). Kimutatták, hogy a megfelelő menedzsment gyakorlatok végrehajtása csökkenti a MAP terjedését az állományon belül és ezáltal a szeroprevalencia csökkenéséhez vezetnek (Wells és Wagner, 2000; Kudahl és mtsai., 2007; Donat és mtsai., 2016). Arról is beszámoltak, hogy a paratuberculosis kis mértékben önkorlátozó lehet egyes állományokban, ami a szeroprevalencia spontán csökkenéséhez vezethet (Marcé és mtsai., 2011). Bár adataink nem teszik lehetővé ennek teljeskörű bizonyítását, mégis feltételezhető, hogy az általunk azonosított menedzsment intézkedések hozzájárulnak a MAP szeroprevalencia csökkenéséhez. Ezt a megállapítást az is alátámasztja, hogy a tesztelési és selejtezési stratégia, kombináltan néhány kritikus higiéniai intézkedés szigorú végrehajtásával, hatékony az új fertőzések megelőzése érdekében, és a MAP fertőzöttség jelentős csökkenéséhez vezethet egy állományon belül (Baumgartner és Khol, 2008; Khol és Baumgartner, 2012).

A vizsgálat egyik fő limitációja az, hogy míg a szerológiai eredmények állat szinten 23 659 tehén eredményét tartalmazták, a menedzsment szempontok csak állományszinten álltak rendelkezésre. A minta nagysága a magyarázó változók különböző kategóriáiban gyakran alacsony volt. A vizsgálatunk másik korlátja az, hogy keresztmetszeti típusú vizsgálat volt, így nem tartalmazta a szeroprevalencia időbeli változásait a hatás megbízható becsléséhez.

A borjú menedzsment a paratuberculosis kontroll programok egyik kulcsa. A mentesítési programok egyik nélkülözhetetlen eleme a borjú azonnali eltávolítása az anyjától és MAP negatív állattól származó kolosztrum itatás. Eredményünk azt sugallja, hogy amennyiben a gazdaságoknak sikerül a helyes menedzsment gyakorlatot bevezetni és betartani, a paratuberculosis fertőzés mértéke alacsonyabb lesz, mint azon gazdaságokban, melyek semmiféle ilyen jellegű intézkedést nem tesznek.

4.3 A paratuberculosis elterjedtségének vizsgálata hazai nagyüzemi tejtermelő állományokban és a mentesítési programok sikerességének vizsgálata négyéves távlatban

4.3.1 A vizsgálat elvégzésének indoklása

A vizsgálat célja a paratuberculosis elterjedtségének vizsgálata volt nagyüzemi tejtermelő tehenészetekben szerológiai eredmények alapján. Tejtermelő tehenészetekben szeretnénk volna nyomon követni a mentesítési programok alakulását, illetve megfigyelni olyan telepeket is, ahol nincsenek intézkedések a paratuberculosis visszaszorítására. Vizsgálatunkkal célunk volt bemutatni a magyarországi trendeket és összehasonlítani a hazai telepeken alkalmazott mentesítési / gyérítési programok sikerességét, mind egymással, mind pedig a nemzetközi szakirodalmi adatokkal. A tapasztalatokat összegyűjtve szeretnénk egy általánosan alkalmazható ajánlást felállítani, amivel a hazai telepek segítségére lehetünk a mentesítési programok elkezdésében és kivitelezésében. Mivel a kiindulási fertőzöttségtől függően (Kudahl és mtsai., 2007) a szeroprevalenciában érzékelhető csökkenés több évet is igénybe vehet, így az adatokat 4 éven keresztül gyűjtöttük, hogy a mentesítési programok sikerességét, illetve a betegség terjedésének következményeit hosszú távon tudjuk elemezni.

4.3.2 Anyag és módszer

4.3.2.1 A vizsgálatba bevont telepek

Vizsgálatunkban 2018 és 2021 között 42 magyarországi nagyüzemi holstein fríz telep adatait dolgoztuk fel. Évente átlagosan 32 009 (min.: 31 702; max.: 32 207) állat mintája került vizsgálatra, mely a hazai tejelő szarvasmarha állomány 15%-ának felel meg (KSH, 2020). A telepek átlagos állatlétszáma 739 (min.: 208; max.: 2 064; szórás: 459) tejelő tehén volt. Magyarországon 2022 augusztusáig a paratuberculosis ellenanyag vizsgálat költsége államilag támogatott volt, de ugyanakkor a vizsgálat elvégzése nem volt kötelező. A vizsgált telepek önkéntesen vettek részt a támogatott vizsgálatokban, és hozzájárultak, hogy adataikat anonimizált formában felhasználjuk.

Az adatok összehasonlíthatósága érdekében kizárólag a Eurofins Vet-Control Kft. (Budapest) laboratóriumi eredményeit használtuk fel. Az éves látszólagos szeroprevalencia számításhoz az évenként kötelezően elvégzett *brucellózis* állományvérvétellel párhuzamosan végzett MAP vizsgálat adatait használtuk fel, egyéb év közbeni kiegészítő paratuberculosis vizsgálat

eredményeit nem értékeltük, hogy az év közben elvégezett telepenként nem azonos arányú, illetve esetlegesen ismételt mintavételek ne torzítsák az eredményeinket. A szerológiai vizsgálat minden esetben szérumból, 2 évnél idősebb állatok mintájából történt, az IDEXX Paratuberculosis Screening Ab Test (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, ME, USA) ELISA kittel. Mivel az állatok pontos életkora, laktációs száma, illetve klinikai adatok nem álltak maradéktalanul rendelkezésünkre, így valódi prevalencia számítására nem volt lehetőségünk. A vizsgált telepekkel folyamatosan tartottuk a kapcsolatot annak érdekében, hogy nyomon követhessük az alkalmazott MAP gyérítési protokollban bekövetkező esetleges változásokat. Az elemzés során az állományokat két nagy csoportba soroltuk: 1) paratuberculosisal súlyosan fertőzött (>5% látszólagos szeroprevalencia) és 2) enyhén fertőzött (<5% látszólagos szeroprevalencia; Serriano és mtsai., 2014). A mentesítést nem folytató telepek esetében a szeroprevalencia növekedésének ütemét vizsgáltuk. A mentesítést folytató telepeket alcsoportokba osztottuk a szerint, hogy csak tesztelés és selejtezés történik, vagy egyéb menedzsment intézkedéseket is tesznek a betegség visszaszorítására. Értékeltük a selejtezési döntés érdekében végzett diagnosztikai módszerek hatását, vagyis, hogy feltehetően melyik módszer alkalmazásával értek el a selejtezést folytató telepek nagyobb mértékű szeroprevalencia csökkenést. Csak akkor értékeltük a programot teljesnek, ha azt a négy év alatt folyamatosan betartották és lényegi módosítás nem történt. Mivel a két nagy csoporton belül mind a selejtezés, mind pedig a menedzsment tekintetében különféle stratégiák voltak, ezeket csupán figyelemfelhívás miatt táblázatban rendszereztük, de az elemzésnél nem vettük figyelembe. A menedzsment intézkedéseket akkor tekintettük teljesnek, ha azok a borjúnevelés tekintetében a legfontosabb kritériumokat tartalmazták, úgymint az elkülönített elletés, paratuberculosis pozitív állat esetén a borjú azonnali eltávolítása az anyjától és a csak MAP-negatív állattól származó főcstej itatása (Berghaus és mtsai., 2005). Azon telepeket, ahol a felsorolt higiéniai és menedzsment intézkedéseket nem teljeskörűen tartották be, illetve elmondásuk szerint a menedzsment intézkedések betartása nem volt rendszeres és következetes, a tesztelést és selejtezést folytató telepek csoportjába soroltuk. Azokat a telepeket, ahol nem vizsgáltatták a betegség előfordulását mind a 4 éven keresztül, illetve a vizsgálati periódus alatt abbahagyták a mentesítési programot, kizártuk az elemzésből.

4.3.2.2 *Statisztikai elemzés*

Kevert Poisson-regressziós modelleket használtunk, a különböző védekezési módszerek szeroprevalenciára gyakorolt hatásának vizsgálata céljából. Mivel a telepek egyedi hatásait nem tudjuk kiküszöbölni, ezért kevert modellt használtunk. A függő változók a fertőzött tehének száma, az offset a logaritmus mintanagyság volt. A fix faktor az években kifejezett idő, a

védekezési módszer jelenléte/nemléte a gazdaságokban és ezek interakciói voltak. A gazdaságok hatását egyedi meredekséggel és metszésponttal vettük figyelembe. Az éves változást kontrasztok segítségével számoltuk ki. A statisztikai szignifikancia szintje $p < 0,05$ volt. Minden statisztikai számítást az R 3.2.3. statisztikai programmal végeztünk (R Core Team, 2022).

4.3.3 Eredmények

Az országos látszólagos szeroprevalencia 2018 és 2021 között 5,1%-ról 5,6%-ra emelkedett. Amennyiben az elemzés során nem vesszük figyelembe a 8 db higiéniai és menedzsment intézkedést és tesztelés-selejtezés stratégiát is alkalmazó telepet, 5,3%-ról 6,4%-ra emelkedett átlagosan a látszólagos szeroprevalencia.

A vizsgált telepek közül 15 telepen nem volt semmilyen intézkedés a paratuberculosis visszaszorítására. A kezdeti prevalencia alapján ezek közül hat telep tekinthető jelentősen fertőzöttnek, 5% feletti kiindulási látszólagos szeroprevalenciával. Ezeken a telepeken a négy év alatt átlagosan 3,1%-kal növekedett a látszólagos szeroprevalencia (min.: 1,1%; max.: 5,4%; szórás 1,6%). A maradék kilenc, enyhébben (<5% szeroprevalencia) fertőzött telep esetében átlagosan 1,8%-os (min.: 0,2; max.: 5,1%; szórás: 1,4%) szeroprevalencia növekedést figyeltünk meg a vizsgált időszakban. Az alkalmazott kevert Poisson-regressziós modell alapján azonban nincs statisztikai különbség a 15 nem mentesítő telep között, átlagosan évente 13%-kal nő a fertőzöttség akkor is, ha enyhén, vagy súlyosabban fertőzöttek a telepek. Logikus, hogy ez az érték abszolút értékben annál nagyobb emelkedést jelent évenként, minél nagyobb a kiindulási fertőzöttség.

A mentesítést végző és nem végző telepek között a látszólagos szeroprevalencia növekedés közti különbség szignifikánsnak bizonyult ($p < 0,001$). A statisztikai elemzés során 2018-ban nem találtunk szignifikáns különbséget a csoportok látszólagos szeroprevalenciája között, így elmondhatjuk, hogy a kiindulási szeroprevalencia nem torzította az eredményeinket.

A továbbiakban az egyes mentesítési stratégiák hatását vizsgáltuk az évenkénti fertőzés növekedésének vagy csökkenésének függvényében. Eredményeinket az **8. táblázat** és a **Függelék F5 táblázata** tartalmazza.

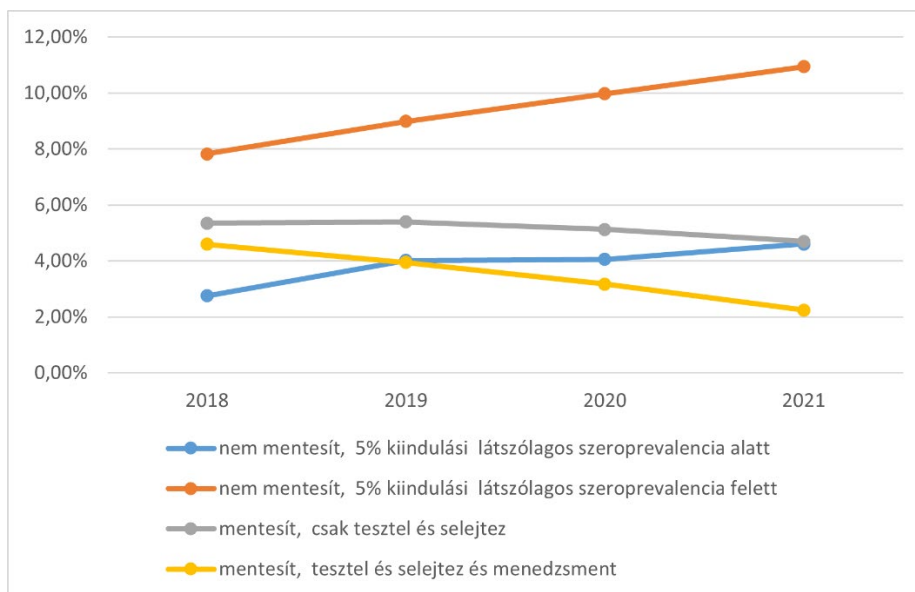
A vizsgált telepek közül 27 telep végzett valamilyen formában mentesítést, ebből csupán 8 telep tartotta be maradéktalanul a négyéves periódus alatt a higiénia és menedzsment előírásokat, a többi telep a tesztelés-selejtezés stratégia valamely formáját alkalmazta. Azon mentesítő telepek esetében, ahol csak tesztelés-selejtezés programot végeztek nem volt szignifikáns különbség a szeroprevalencia évenkénti változásában (2,7%; 95% CI: -3,3%; 9,0%; $p = 0,528$). A mentesítést folytató telepek esetében, ahol a selejtezés mellett a

menedzsment stratégiákat is betartották évente arányosan 20%-kal csökkent a látszólagos szeroprevalencia (95% CI: -27,6%; -12,1%; p<0,001).

8. táblázat. A fertőzés arányának változása az évek függvényében a különböző stratégiák figyelembe vételével

Stratégia	Telepi döntés	Évenkénti változás %-os aránya	95% CI		p-érték
			alsó (%)	felső (%)	
Mentesítés	igen	-5,1	-11,0	1,0	0,107
	nem	+12,1	5,0	22,0	0,007
Év közben kiegészítő ELISA	igen	-7	-13,0	0,0	0,063
	nem	+10	2,7	18,0	0,004
Kiegészítő bélsár qPCR vizsgálat	igen	-10,9	-20,0	0,0	0,042
	nem	+ 5,5	-4,0	12,0	0,081
Menedzsment	igen	-22,8	-28,0	-12,0	p<0,001
	nem	+7,5	3,0	13,0	p<0,001
PTB+ állat selejtezése	igen	-4,6	-10,0	1,0	0,150
	nem	+13,3	6,0	24,0	p<0,001

Eredményeinkből az látszik, hogy a csak tesztelés-selejtezés stratégiát alkalmazó telepek a négy év alatt gyakorlatilag nem tudtak előrehaladást elérni, átlagosan 0,1% (min.: -5,1%; max.: +3,5%; szórás 1,8%) a szeroprevalencia növekedés a négy év alatt. A csak tesztelés-selejtezés módszer alkalmazásakor egy telep kivételes volt, ők saját magukhoz képest 5,1%-os szeroprevalencia csökkenést értek el. Ez a telep az éves vizsgálaton felül évente kétszer (az ellés utáni 10-14. nap körül és szárazraállításkor) alkalmazott kiegészítő szerológia mintavételt és a magas S/P-vel rendelkező állatok, amennyiben nem voltak vemhesek, azonnal selejtezésre kerültek, a többi állat pedig nem került termékenyítésre. Ez a hagyományos tesztelés és selejtezés módszerhez képest egy gyakoribb vizsgálati, és szigorúbb selejtezési protokoll. Az egyes kontroll programok alkalmazásával elért eredményeket a **5. ábra** szemlélteti. A selejtezési döntés megkönnyítése érdekében sok esetben protokollba illesztetten kiegészítő diagnosztikai vizsgálatot végeztek a telepek, ami lehetett kiegészítő ELISA (23/26 telep), illetve bélsár PCR vizsgálat (7/26 telep). A telepek által végzett selejtezési stratégiák eloszlását a **9. táblázat** mutatja be. Azon 2 telep adatát, ahol ugyan alkalmaznak kiegészítő ELISA-t, de emellett nem rendszeresen selejteznek a táblázatban nem szerepeltettük (**Függelék, F5 táblázat**).



5. ábra. A magyarországi telepek látszólagos szeroprevalenciájának változása négyéves periódus alatt, a kontroll programok alapján

9. táblázat. A telepek által alkalmazott selejtezési stratégiák és ezek sikeressége 2018 és 2021 között

Selejtezés alapja	Telepek száma	A 4 év alatti változás mértéke%-ban
ELISA magas S/P ¹ értékek alapján kiegészítő PCR vizsgálat, majd a PCR pozitív állat kerül selejtezésre	1	-1,7
ELISA pozitív állat nem termékenyítendő, a laktáció végén selejtezésre kerül	9	1,1 (min.: -6,9; max. 3,5)
Bélsár PCR magas szinten ürítő (Ct érték alapján)	4	-0,3 (min.: -1,1; max.: 1,4)
Minden bélsár PCR pozitív ellés után	1	-5,0%
ELISA S/P érték alapján, magas S/P értékkel rendelkező állat kerül hamarabb selejtezésre	3	-1 (min.: -0,9; max. -1,0)
ELISA magas S/P esetén és ellés után kiegészítő PCR pozitív	1	-2,0
ELISA pozitívitas és termelés alapján	7	-1 (min.: -1,5; max -0,4)

¹A magas S/P érték mindig a telepi átlaghoz viszonyítva értendő.

4.3.4 Megbeszélés és következtetések

A vizsgált telepek átlagában a négy év alatt az éves szeroprevalencia emelkedés alig haladta meg a 0,5%-ot. Ez az eredmény összhangban van Fanelli és mtsai. (2022) felmérésével, akik egy nyolcéves periódus alatt évente 0,6%-os szeroprevalencia növekedésről számoltak be Európa olyan országaiban, ahonnan rendszeresen jelentették a paratuberculosis előfordulását. Eredményeink valószínűleg jobb eredményt mutatnak a valódi magyar átlagnál, mivel a vizsgált telepek közül 26 telepen volt valamiféle mentesítési program, igaz ez a legtöbb esetben csak a betegség szinten tartására volt elegendő. A legtöbb PTB kontroll program sikerességének megítélése a szakirodalom szerint öt év után lehetséges (Caldow és Gunn, 2002; Nielsen és Toft, 2011). Esetünkben a 2022-es év elemzése már nem volt lehetséges, mivel az állami támogatás megszűnésével a legtöbb telep vagy abbahagyta, vagy teljesen átalakította az elkezdett mentesítési programokat, azért, hogy a diagnosztikai költségeket csökkenteni tudják.

Vizsgálatunkból egyértelműen látszik, hogy a paratuberculosis mentesítés sikeressége nagyban függ a menedzsment intézkedések betartásától, a csak tesztelés-selejtezés programokkal hosszú távon általában nem lehet jelentős eredményeket elérni. Ezen eredményünk összhangban van több jelentős nemzetközi publikációval: ugyan a mentesítési programok és a tesztelési stratégiák és módszerek sok esetben eltérőek, a csak tesztelésen és selejtezésen alapuló módszereket mások sem találták hosszú távon célravezetőnek (Groenendaal és mtsai., 2003, Kudahl és mtsai., 2008., Barkema és mtsai., 2018). Ezen stratégiák közül vizsgálatunkban a fertőzött állatok kizárólag termelési adatok alapján történő selejtezése bizonyult a legkevésbé hatékonynak, ezen telepek javulást nem, inkább csak a betegség szinten tartását, vagy enyhe szeroprevalencia növekedést tudtak elérni. Sajnos voltak olyan selejtezési stratégiák a vizsgálatunkban, amiket csak 1-1 telep használt, így a módszerek statisztikai összehasonlítása nem minden esetben volt lehetséges. Ugyanakkor az eredmények összhangban vannak a nemzetközi ajánlásokkal, ami szerint a baktériumot ürítő állatok eltávolítása az elsődlegesen fontos cél a selejtezési programokban (Pillars és mtsai., 2011). Ez alapján jó gyakorlat a selejtezési listát az ELISA S/P értékei alapján összeállítani, mivel ez korrelációt mutat a baktériumürítés mértékével (Collins, 2002). Ezen kívül célszerű kiegészítő vizsgálatként bélsár PCR-t végezteni és a Ct értékek alapján megállapítani a selejtezési sorrendet (Bölske és Herthnek, 2010). Az ELISA pozitív állatok nem termékenyítése, de állományon belül tartása szintén gazdaságilag hasznos stratégia lehet, hiszen a felnőtt állatok egymást gyakorlati körülmények között csak nagyon erős fertőzési nyomás mellett tudják megfertőzni és a hosszú lappangási idő miatt nagy valószínűséggel előbb selejtezésre kerülnek, mintsem elkezdhetnék üríteni a baktériumot (Whitlock és mtsai.,

2000). Ez alól kivételt egyedül a baktériumot nagy számban ürítő tehének képeznek, az ő állományban tartásuk semmilyen körülmények között nem kívánatos a fertőzési nyomás jelentős mértékű növelése miatt (Slater és mtsai., 2016). Egy tavaly készült összefoglaló közlemény alapján a nemzeti kontroll programok jelentős része a higiénia és menedzsment programok szigorú betartásán alapul (Tuberquia-López és mtsai., 2022). A felmérésünkből az látszik, hogy itthon sokkal több telep inkább a tesztelés-selejtezés stratégiát választja (20/26). A menedzsment intézkedések betartása a négy év alatt a legtöbb esetben nem volt sikeres, melynek okaként a telepvezetők és állatorvosok is a megfelelő munkaerő hiányát jelölik meg. Az egyes tesztelés-selejtezés stratégiák különféle változatainak összehasonlítására a kevés mintaszám miatt nem volt lehetőségünk, ugyanakkor az elmondható, hogy amennyiben sikerül egy, a telep által betartható és kivitelezhető programot kialakítani négyéves távlatban már jelentős előrelépést lehet tenni a betegség visszaszorítására. A selejtezési stratégia kiválasztása nagyban függ a kiindulási látszólagos szeroprevalenciától, hiszen egy erősen fertőzött telep esetében a pozitív állatok nagy száma miatt az azonnali selejtezés gazdaságilag lehetetlen. Erre a célra a telepi lehetőségek függvényében protokoll szinten több mintavétel beiktatása alkalmazható, vagy bélsár PCR-t alkalmaznak kiegészítő diagnosztikaként. Vizsgálatunkban azt is kimutattuk, hogy a bélsár PCR-t kiegészítésként alkalmazó telepeknek sikerült szignifikáns csökkenést elérni a négyéves periódus alatt, míg a kiegészítő ELISA alkalmazással és egyéb selejtezési stratégiáknál nem sikerült szignifikáns csökkenést kimutatnunk (**8. táblázat**). A bélsár qPCR vizsgálat a magas költsége miatt kevésbé elterjedt, azonban nagy segítség a „szuperürítők” felderítésében és a selejtezési döntés meghozatalában (Leite és mtsai., 2013).

Összességében vizsgálatainkból arra a következtetésre jutottunk, hogy a mentesítési program előrehaladásának értékelése céljából 2-4 évente szükséges állományszintű felmérést végezni a látszólagos szeroprevalencia megállapítására, ugyanakkor fontos, hogy erre az értékelésre mindig azonos módszert válasszunk (Garcia és Shallo, 2015). Első lépésben az elletői higiénia és a borjak fertőzésmentes felnevelésére szükséges a telep által kivitelezhető módszert kialakítani. Enélkül hosszabb távon sem a saját tapasztalatunk, sem pedig a nemzetközi szakirodalom alapján nem lehet sikeres gyérítési / mentesítési programot felállítani (Kudalh és mtsai., 2008; Barkema és mtsai., 2018; Tuberquia-López és mtsai., 2022). A tesztelés-selejtezés programok tervezésében figyelembe kell venni a kiindulási prevalenciát és az alapján kockázatbecslésen alapulva a „szuperürítők” mielőbbi eltávolítása a cél. A súlyosan fertőzött egyedek felderítésére protokollba illesztetten ismételt ELISA vagy bélsár PCR vizsgálat javasolható az S/P és Ct értékek figyelembevételével. Alacsony szinten fertőzött állományok esetében szintén javasolható év közbeni kiegészítő diagnosztikai vizsgálat és amennyiben a gazdasági környezet lehetővé teszi a pozitív állatok azonnali selejtezése vagy termékenyítésből való kizárása javasolható.

4.4 A paratuberculosis fertőzöttség kimutatására alkalmas diagnosztikai tesztek érzékenységének vizsgálata a laktáció különböző szakaszaiban⁴

4.4.1 A vizsgálat elvégzésének indoklása

A sok láthatatlan veszteség miatt és mivel a PTB feltételezhetően nem önkorlátozó betegség, a telepeknek olyan kontroll programokat kell kialakítani, amelyek költséghatékonyak és a napi rutinba is beilleszthetőek. A MAP mentesítési programok legnagyobb korlátja, hogy jelenleg nem áll rendelkezésre a betegséget minden életszakaszban nagy biztonsággal kimutatni képes diagnosztikai teszt (Barkema és mtsai., 2018). A menedzsment változtatások mellett az immunológiai és a kórokozó kimutatására irányuló tesztek együttes alkalmazása jelentősen javíthatja a pozitív állatok felderítését (Pinedo és mtsai., 2008), így vizsgálatunkban indokoltnak láttuk a jelenleg hazánkban is elérhető szérum és tej ELISA, illetve bélsár qPCR vizsgálatok elvégzését a laktáció különböző szakaszaiban, ezzel segítséget nyújtva a telepeknek az optimális tesztelési időpont kiválasztásában. A MAP+ állatok könnyen kimaradhatnak az egyszeri szűrésekből, így a MAP ellenanyag vizsgálat az állatok egész életében szükséges (Faruk és mtsai., 2020). Célunk az volt, hogy megtaláljuk a diagnosztikai módszerek és a laktáció alatti mintavételi időpontok leginkább gyakorlatias kombinációját a fertőzött állatok azonosítására, ezért MAP+ állatok baktérium ürítésének és ellenanyag válaszána mértékét vizsgáltuk a laktáció alatt.

4.4.2 Anyag és módszer

4.4.2.1 Az állatok kiválasztása és a mintavételek

A szérum ELISA (DEXX Paratuberculosis Screening Ab Test ELISA kit; Idexx Laboratories Inc., Westbrook, ME, USA) vizsgálatok eredményei alapján nagyüzemi MAP-fertőzött gazdaságokat kerestünk. Az ELISA vizsgálatokat a Eurofins Vet-Controll Kft. (Budapest) laboratóriumában végezték, a magyarországi önkéntes paratuberculosis kontroll program részeként. Minden adatot a telepek beleegyezésével használtunk fel.

Négy olyan tejtermelő tehenészetet (átlagos állományméret: 513 ± 237 tehén; min.: 284, max.: 840) választottunk ki a vizsgálathoz, ahol a látszólagos MAP szeroprevalencia 4-5% volt. A

⁴ Vass-Bognár B., Bakony M., Fornyos K., Baumgartner W., Khol, J.L., Jurkovich V.: When is the best time to test paratuberculosis positivity? Experiences of a follow-up study in Hungarian dairy herds. Közlésre beküldve a Prev. Vet. Med folyóirathoz

kiválasztási kritériumok a következők voltak: a gazdaságoknak közel azonos látszólagos szeroprevalenciával (1%-os különbségen belül) kellett rendelkezniük, közel kellett lenniük a laboratóriumhoz, hogy a mintavételt és a minták laboratóriumba szállítását ugyanazon a napon lehessen elvégezni, és a gazdaság saját protokollja szerint a MAP+ teheneket a vizsgálat során csak akkor selejteztek le, ha súlyos klinikai tüneteket mutatnak. A vizsgálatához 52, az ellés előtt 3 héttel lévő, szárazonálló, vemhes tejelő tehenet (kor: $4,1 \pm 0,8$ év; laktáció: $2,9 \pm 0,7$) választottunk ki (13 állatot minden gazdaságból). Valamennyi kiválasztott tehen esetében a vizsgálatot megelőző laktációban már két vagy három szérums ELISA eredmény igazolta a MAP fertőzöttséget. A kiválasztott állatok nem mutattak klinikai tüneteket, nem voltak egyéb súlyos egészségügyi problémáik és a telepeken továbbra is tenyésztésben szerették volna őket tartani. A kiválasztott gazdaságok mindegyike követte a saját protokollját, amely szerint a MAP+ teheneket a gazdaságban tartották mindaddig, amíg a PTB klinikai tüneteit nem mutatták, még akkor is, ha az állatok qPCR vagy ELISA eredményei pozitívak voltak.

Hat alkalommal, 1-5, 10-14, 40-60, 90-120, 180-200 és 280-300 nappal az ellés után (DIM) gyűjtöttünk egyedi bélsár-, vér- és tejmintákat a vizsgálatba vont tehenektől. A bélsármintákat steril, eldobható kesztyűvel vettük a vizsgált tehenek végbélnyílásából, majd a mintákat (tehenenként kb. 50 g-ot) 250 ml-es, csavaros kupakkal ellátott steril műanyag csövekbe helyeztük. Ezzel egyidejűleg natív csövekbe (Monovette, Sarstedt AG & Co. KG., Nümbrecht, Németország) vérmintát vettünk a *vena coccygeából*. Ezen kívül minden állattól a négy tőgynegyedből elegytej mintát vettünk, a tőgybimbók 70% alkoholos fertőtlenítő kendővel való megtisztítása után. A bélsár-, vér- és tejmintákat azonnal 4 °C-ra hűtöttük és a mintavételt követő két órán belül a laboratóriumba szállítottuk. Közvetlenül a mintavétel után elvégeztük a kondíció (BCS; 1-5 pont; Mulvany, 1977) és a bélsár pontozását (1-5 pont; Zaaijer és Noordhuizen, 2003).

4.4.2.2 Laboratóriumi eljárások

Az egyes szérums- és tejmintákat az IDEXX Paratuberculosis Screening Ab Test ELISA kittel (Idexx Laboratories Inc., Westbrook, ME, USA) vizsgáltuk a gyártó utasításainak megfelelően. Az optikai denzitás értékeit minta-pozitív (S/P) arányra transzformáltuk (Collins, 2002). A gyártó utasításai szerint pozitívnak tekintettük az $S/P \geq 55\%$ értékű szérumsmintákat és az $S/P \geq 30\%$ értékű tejmintákat.

A bélsármintákból a DNS kivonást a Nucleospin Tissue extraction kit (NucleoSpin Tissue kit, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG., Dueren, Németország) segítségével végeztük el, a gyártó utasításai szerint. A bélsárminták kivonása előtt ún. tisztítórendszert (Adiavet Adiafilter (x100), Bio-X Diagnostics S.A., Rochefort, Belgium) használtunk a megfelelő szedimentáció elérése érdekében. Az üleptetés után 10 ml felülúszót mértünk az Adiafilter rendszerre. A qPCR

futtatáshoz az Adiavet ParaTB Real-Time kitet (Bio-X Diagnostics S.A., Rochefort, Belgium) használtuk a gyártó utasításai alapján, amely a MAP IS900 inzerciós szekvenciáját detektálja (Kim és mtsai., 2002). A reakciót Stratagene RT-PCR rendszeren, MX3000P (Thermo Fisher Scientific, USA) futattuk, a leolvasás Aria Mx 1.8 (Agilent Aria qPcr, USA) történt. A 42 feletti Ct értékeket negatívnak tekintettük.

4.4.2.3 Statisztikai elemzés

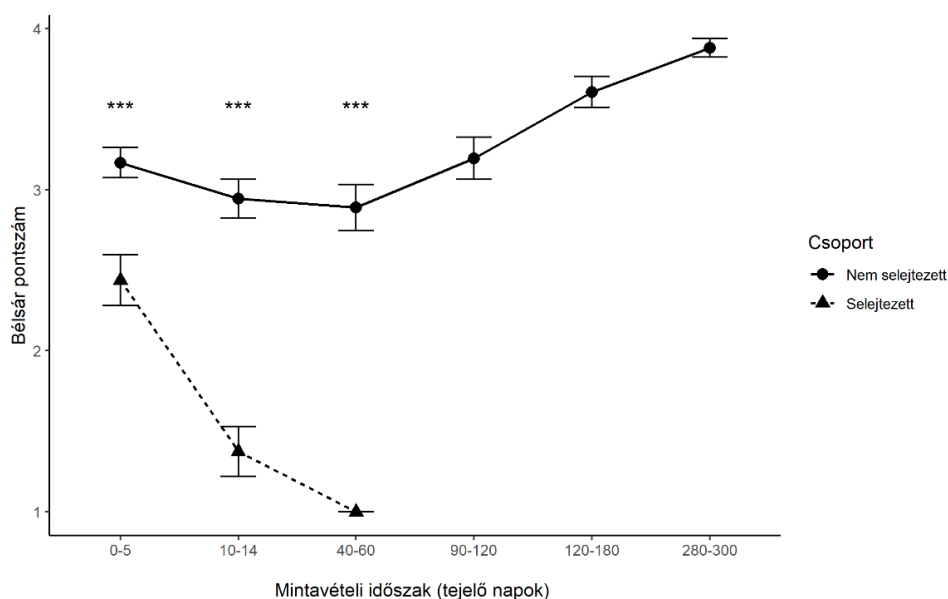
Célunk korábban MAP-szeropozitívnak diagnosztizált állatok nyomon követésével a szeropozitivitási arány és a bélsár qPCR-pozitivitás esetleges változásainak vizsgálata a laktációs időszak során. A diagnosztikai módszerek egyezőségét is vizsgáltuk az egyes mintavételi intervallumokban, vagyis elemeztük, hogy a laktáció során melyik lehet az az időpont, ahol a legnagyobb eséllyel tudjuk az állatok MAP fertőzöttségét igazolni. 16 állat került selejtezésre a laktáció 60-90. napja között klinikai tünetek miatt. Mivel a betegség előrehaladtával, a klinikai tünetek megjelenésével az általunk vizsgált diagnosztikai tesztek érzékenysége javul, két ugyanolyan statisztikai elemzést végeztünk úgy, hogy először bevontuk a vizsgálatba a selejtezett állatok bélsár-, szérum- és tejmintáinak adatait (1. elemzés), másodszer pedig kizártuk ezeket az adatokat (2. elemzés).

A diagnosztikai módszerek közötti egyezést minden egyes mintavételi intervallumra vonatkozóan kiszámítottuk. A pozitív diagnózisra vonatkozó átlagos egyezést vizsgáltuk, és McNemar-tesztel hasonlítottuk össze a különböző módszerek pozitív diagnózisának valószínűségét ugyanazon állaton. A többszörös páronkénti összehasonlítások (tej ELISA : szérum ELISA; tej ELISA : bélsár qPCR; szérum ELISA : bélsár qPCR) eredményeit a false discovery rate módszerrel korrigáltuk.

A *Cohen-féle kappa* értékét minden egyes diagnosztikai módszer esetében két egymást követő mintavétel között számítottuk ki, hogy értékeljük az adott diagnosztikai módszerrel történő ismételt vizsgálat megbízhatóságát a laktáció során. A Spearman-féle korreláció vizsgálattal értékeltük a szérum és a tej ELISA S/P eredményei és a bélsár qPCR Ct-értékei közötti korrelációt. A szérum és tej ELISA eredmények (S/P), a bélsár qPCR Ct értékek és a bélsár pontszámok megoszlását összehasonlítottuk a harmadik mintavétel után selejtezett és nem selejtezett állatok között. A vizsgált változók nem normál eloszlása miatt az összehasonlításokhoz a Mann-Whitney-tesztet használtuk. A statisztikai szignifikancia szintje $p < 0,05$ volt. Minden adatmegjelenítést és statisztikai eljárást az R 3.2.3. statisztikai programmal végeztünk (R Core Team, 2022).

4.4.3 Eredmények

A vizsgálat során 52 állatot követtünk nyomon, amelyek közül 16 állat a laktáció 60 és 90. napja között selejtezésre került klinikai PTB miatt, egy állat esetében a 90 napos mintavétel még megtörtént, a többi esetben az utolsó mintavételt a 40-60. nap között végeztük el. Ezeknél az állatoknál a bélsárpontszám változása egyértelműen mutatta a betegség klinikai stádiumba való átmenetét (6. ábra, F6. és F7. táblázat).



6. ábra. Az ellés utáni 60-90 nap között selejtezett és a nem selejtezett állatok átlagos bélsárpontszámai a mintavételi időintervallum szerint. A hibasávok a standard hibát jelzik. A csillagok a csoportok közötti szignifikáns különbséget jelzik ($p < 0,001$). A könnyebb ábrázolás érdekében az ábrán átlagok vannak feltüntetve, azonban az elemzést a mediánokon végeztük el.

10. táblázat. A pozitív MAP-diagnózisra vonatkozó összefüggések a módszerek között

Mintavétel ideje (ellés utáni napok)	A pozitív diagnózissal kapcsolatos egyezés (mindhárom módszerrel pozitív diagnózissal rendelkező állatok száma ¹ / állatok száma összesen)	
	Elemzés 1 (selejtezett állatokkal)	Elemzés 2 (selejtezett állatok nélkül)
0-5	13/52 (25%)	2/36 (5,6%)
10-14	23/52 (44,2%)	7/36 (19,4%)
40-60	25/52 (48,1%)	12/36 (33,3%)
90-120	11/37 (29,7%)	10/36 (27,8%)
180-200	0/33 (0,0%)	0/33 (0,0%)
280-300	4/33 (12,1%)	4/33 (12,1%)

¹szérum ELISA, tej ELISA és bélsár qPCR

A vizsgálat alatt egyéb okok miatt 3 állat került selejtezésre (egy esetben lábszétcsúszás, két esetben súlyos klinikai mastitis), azonban az ő esetükben hasmenés nem volt megfigyelhető.

Egy esetben súlyos hemolízis miatt a 90-120. napi szérumban ELISA eredményt nem tudtuk értékelni.

A három diagnosztikai módszer közötti, pozitív diagnózisra vonatkozó egyezés nagymértékben változott a laktáció során: az 1. elemzésben 0-33,3%, a 2. elemzésben 0-48,1% között a különböző mintavételi intervallumokban (**10. táblázat**). Mindkét elemzésben a pozitív diagnózisra vonatkozó legnagyobb egyezést az ellés utáni 40-60 nap közötti mintavételi intervallumban kaptunk (25/52 állat, illetve 12/36 állat).

A különböző diagnosztikai módszerekkel kapott pozitív diagnózisok számát a **11. és 12. táblázat** mutatja.

11. táblázat. A MAP-pozitív állatok aránya a diagnosztikai módszer és a mintavételi időpont szerint. Az elemzés a selejtezett állatok adatait (n=16) is tartalmazza

Mintavétel időpontja (ellés utáni napok)	Szérumban ELISA (pozitív állatok aránya, %)	Tejben ELISA (pozitív állatok aránya, %)	Bélsárban qPCR (pozitív állatok aránya, %)
0-5	33/52 (63,5%) ^a	13/52 (25,0%) ^b	39/52 (75,0%) ^a
10-14	33/52 (63,5%) ^a	27/52 (51,9%) ^a	42/52 (80,8%) ^b
40-60	40/52 (76,9%)	32/52 (61,5%)	42/52 (80,8%)
90-120	23/36 (63,9%)	18/37 (48,7%)	18/37 (48,7%)
180-200	8/33 (24,2%)	2/33 (6,1%)	7/33 (21,2%)
280-300	13/33 (39,4%) ^a	5/33 (15,2%) ^b	12/33 (36,4%) ^a

^{a,b} A soron belüli különböző felsőjelek a pozitív diagnózisok aránya közötti szignifikáns különbséget jelzik a páronkénti McNemar-tesztek alapján ($p < 0,05$);

12. táblázat. A MAP-pozitív állatok aránya a diagnosztikai módszer és a mintavételi időpont szerint. Az elemzés a selejtezett állatok adatait (n=16) nem tartalmazza

Mintavétel időpontja (ellés utáni napok)	Szérumban ELISA (pozitív állatok aránya, %)	Tejben ELISA (pozitív állatok aránya, %)	Bélsárban qPCR (pozitív állatok aránya, %)
0-5	18/36 (50,0%) ^a	2/36 (5,6%) ^b	23/36 (63,9%) ^a
10-14	18/36 (47,2%) ^{ab}	11/36 (30,6%) ^a	26/36 (72,2%) ^b
40-60	27/36 (75,0%)^{ab}	17/36 (47,2%)^c	26/36 (72,2%)^{ac}
90-120	22/35 (62,9%)	17/36 (47,2%)	17/36 (47,2%)
180-200	8/33 (24,2%)	3/33 (9,1%)	7/33 (21,2%)
280-300	13/33 (39,4%) ^a	5/33 (15,2%) ^b	12/33 (36,4%) ^a

^{a,b} A soron belüli különböző felsőjelek a pozitív diagnózisok aránya közötti szignifikáns különbséget jelzik a páronkénti McNemar-tesztek alapján ($p < 0,05$)

A pozitív diagnózisok aránya változott a laktáció során, a laktáció elején magasabb, a laktáció végén pedig alacsonyabb volt. A legmagasabb arányú pozitív diagnózist minden módszernél a laktáció 40 és 60. napja között figyeltük meg. A pozitív diagnózis valószínűsége jelentősen különbözött az egyes diagnosztikai technikák között az ellés utáni 0-5, 10-14 és 280-300 napos időszakban vett minták esetében. A pozitív diagnózisok aránya szignifikánsan

magasabb volt a szérum ELISA és a bélsár qPCR esetében az ellés utáni 0-5 nap között, mint a tej ELISA esetében. A 10-14. napon vett mintáknál azonban a pozitív diagnózisok aránya a bélsár qPCR esetében magasabb volt, mint a szérum és a tej ELISA módszerrel. A 280-300 nap közötti mintavétel időpontokban a bélsár qPCR és a szérum ELISA esetében ismét nagyobb volt a pozitív aránya, mint a tej ELISA vizsgálatnál.

13. táblázat. A Cohen-féle kappa és az egyes diagnosztikai módszerek konfidenciahatárai a MAP-fertőzés két egymást követő intervallumban történő ismételt vizsgálata között. Az elemzés a selejtezett állatok (n=16) adatait is tartalmazza

Módszer	Egymást követő mintavételek párosítása				
	0-5 / 10-14	10-14 / 40-60	40-60 / 90-120	90-120 / 180-200	180-200 / 280-300
Szérum	0.67	0.15	0.097	0.29	0.25
ELISA	(0.46-0.88)	(-0.12-0.41)	(-0.23-0.42)	(0.078-0.5)	(-0.074-0.58)
Tej	0.47	0.5	0.44	0.012	0.22
ELISA	(0.27-0.67)	(0.26-0.73)	(0.68-0.91)	(-0.17-0.19)	(-0.23-0.66)
bélsár	0.28	0.0095	0.2	0.18	0.5
qPCR	(-0.02-0.58)	(-0.27-0.28)	(-0.076-0.47)	(-0.11-0.46)	(0.19-0.8)

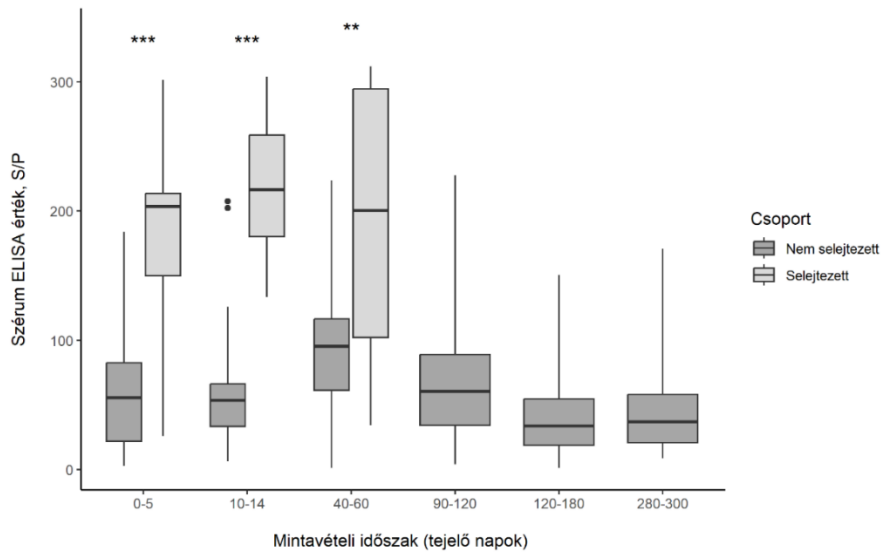
14. táblázat. Cohen-féle kappa és az egyes diagnosztikai módszerek konfidenciahatárai a MAP-fertőzés két egymást követő intervallumban történő ismételt vizsgálata között. Az elemzés a selejtezett állatok (n=16) adatait nem tartalmazza

Módszer	Egymást követő mintavételek párosítása				
	0-5 / 10-14	10-14 / 40-60	40-60 / 90-120	90-120 / 180-200	180-200 / 280-300
Szérum	0,61	0,14	0,086	0,29	0,25
ELISA	(0,35-0,87)	(-0,13-0,41)	(-0,24-0,41)	(0,078-0,5)	(-0,074-0,58)
Tej	0,24	0,32	0,67	0,021	0,22
ELISA	(-0,04-0,51)	(0,025-0,61)	(0,42-0,91)	(-0,17-0,21)	(-0,23-0,66)
Bélsár	0,18	-0,11	0,19	0,18	0,5
qPCR	(-0,15-0,5)	(-0,41-0,2)	(-0,091-0,46)	(-0,11-0,46)	(0,19-0,8)

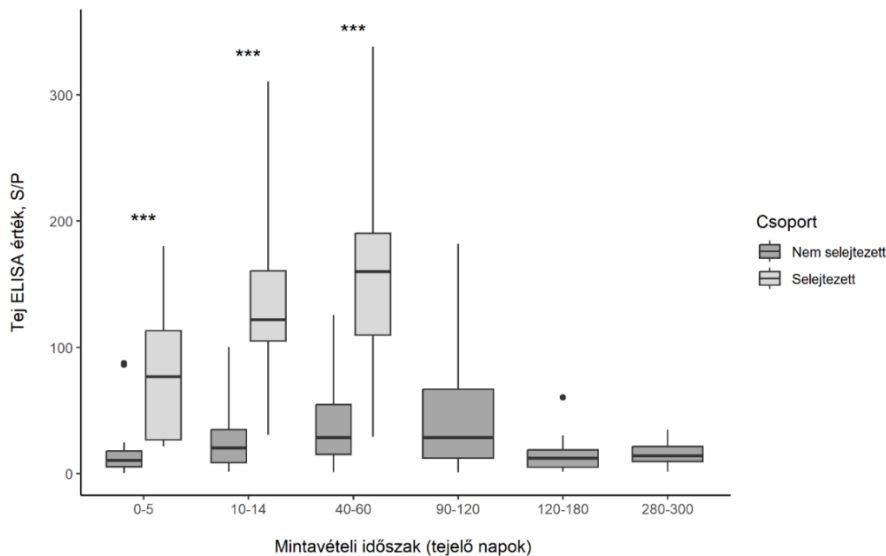
A Cohen-féle kappa értékét Landis és Koch (1977) szerint értelmeztük, ahol a <0 érték azt jelenti, hogy nincs egyezés, 0-0,20 csekély, 0,21-0,40 gyenge, 0,41-0,60 közepes, 0,61-0,80 jelentős, 0,81-1,0 pedig szinte tökéletes egyezést jelent. Megfigyeltük, hogy egy adott diagnosztikai módszerrel való egyezés jelentősen változik a laktáció során. A legtöbb egyezést a laktáció elején végzett mintavételi intervallumoknál figyeltük meg. A Cohen-féle kappa használatának korlátja, hogy nagyon magas százalékos egyezés esetén (egy állapot nagyon magas vagy nagyon alacsony prevalenciája) a kappa érték alacsony lehet, ahogyan ez a bélsár qPCR 10-14 és 40-60 nap közötti egyezés esetében megfigyelhető volt (az 1. elemzésben a pozitív állatok aránya 80,8%-a mindkét intervallumban, a 2. elemzésben pedig a pozitív állatok aránya 72,2%-a mindkét intervallumban; **11, 12, 13. és 14. táblázat**).

A szérum és tej ELISA S/P értékek és a bélsár Ct értékek változásai a laktáció során a **6., 7. és 8. ábrán** láthatók. A szérum ELISA S/P értékek minden mintavételi időszakban

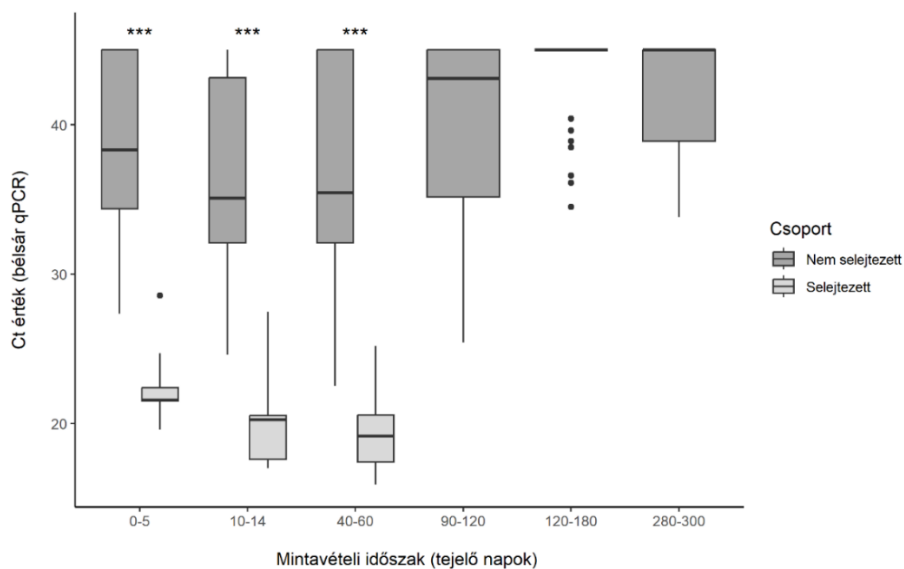
szignifikánsan magasabbak voltak a 60-90. laktációs nap között selejtezett teheneknél, mint a nem selejtezett állatoknál. A nem selejtezett állatok szérum ELISA értékei 40-60 napig növekednek, majd a laktáció végéig csökkennek (7. ábra). Hasonló mintázat figyelhető meg a tej ELISA S/P értékei esetében is (8. ábra).



7. ábra. A MAP szérum ELISA-eredmények boxplotja az ellés után 60-90 nap között selejtezett és nem selejtezett állatok esetében, a különböző mintavételi intervallumokban. A csillagok a csoportok mediánjai közötti szignifikáns különbséget jelzik ($p < 0,001$).



8. ábra. A MAP tej ELISA-eredmények boxplotja az ellés után 60-90 nap között a selejtezett és a nem selejtezett állatok esetében, a különböző mintavételi intervallumokban. A csillagok a csoportok mediánjai közötti szignifikáns különbséget jelzik ($p < 0,001$).



9. ábra. A MAP bélvár qPCR Ct -eredmények boxplotja az ellés után 60-90 nap között a selejtezett és a nem selejtezett állatok esetében, a különböző mintavételi intervallumokban. A csillagok a csoportok mediánjai közötti szignifikáns különbséget jelzik ($p < 0,001$).

A bélvár qPCR Ct-értékek tekintetében a tendencia ellentétes (**9. ábra**). A selejtezett állatok Ct-értékei szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint a nem selejtezett állatoké, vagyis MAP DNS nagyobb kópiaszámban volt jelent az alacsonyabb Ct értékekkel rendelkező állatok mintáiban. A nem selejtezett állatok Ct-értékei a laktáció kezdetén az ellés utáni 40-60. napig csökkennek, majd emelkedni kezdtek, vagyis a mintáikban detektálható MAP DNS mennyisége folyamatosan csökkent.

Az egyes diagnosztikai módszerek korrelációját illetően több elemzést is végeztünk, amelyek a kiegészítő ábrákon láthatók. A selejtezett állatok eredményeinek a figyelembevételével a szérum és a tej ELISA eredményei minden egyes mintavételi időszakban szignifikáns korrelációt mutatnak (**Függelék, F1. ábra**), a korreláció a laktáció 80-120. napjáig jó, a legerősebb korreláció az ellés utáni 10-14 nap között történő mintavételkor volt kimutatható (**F1. ábra**). A bélvár qPCR és tej ELISA eredményei erős, szignifikáns (negatív) korrelációt mutatnak az összes mintavételi intervallumban, kivétel a 90-120. nap közötti mintavétel, ahol a korreláció nem szignifikáns (**Függelék, F5. ábra**). A selejtezett állatok kizárásával a szérum és tej ELISA eredmények között a 0-5 DIM mintavételi időpontban nem találtunk szignifikáns korrelációt (**Függelék, F2. ábra**), a többi esetben szignifikáns a korreláció, ugyanakkor gyengébb, mint a selejtezett állatok bevonásával történt elemzés esetében (**Függelék, F3. ábra**). A bélvár qPCR és a szérum ELISA között sokkal gyengébb a korreláció, a 10-14. nap között ez még csak nem is szignifikáns (**Függelék, F4. ábra**). A bélvár qPCR és a tej ELISA

között szintén gyenge a korreláció, amely még az ellés utáni 0-5., 80-120. és 180-200. nap közötti mintavétel esetében sem szignifikáns (**Függelék, F6. ábra**).

4.4.4 Megbeszélés és következtetések

A paratuberculosis jelentős gazdasági veszteséget okozó fertőző betegség a tejelő állományokban. A betegség megfékezése hatalmas kihívást jelent az érintett állományokat ellátó állatorvosok számára. A jelenleg rendelkezésre álló diagnosztikai teszteknek jelentős korlátai vannak; a betegség kontrollálásához azonban elengedhetetlen a vizsgálati és menedzsment protokollok kidolgozása (Whittington és mtsai., 2019). A diagnosztikai tesztek érzékenységének vizsgálata a laktáció folyamán fontos annak a döntésnek a meghozatalában, hogy milyen időpontban érdemes az állatokat vizsgálni. A diagnosztikai költségek szempontjából is fontos, hogy olyan időpontot válasszunk az állatok vizsgálatára, amikor a legnagyobb valószínűséggel azonosíthatók a pozitív állatok.

A vizsgálatra kiválasztott 52 tehénből 16-ot a PTB súlyos klinikai tünetei miatt selejtezték. A betegséget a klinikai tünetek alapján diagnosztizálták, és a selejtezési döntést a telepek állatorvosai hozták meg. A telepvezetőket és az állatorvosokat a vizsgálat során nem tájékoztattuk az ELISA és a qPCR eredményeiről. A selejtezett állatok baktériumot nagy mértékben ürítőknek vagy progresszoroknak, míg a többiek alacsony ürítőnek vagy nem progresszoroknak (Schukken és mtsai., 2015; Navarro-Gonzalez és mtsai., 2019) tekinthetők. A vizsgálat során az 1. és 2. elemzés és mindhárom diagnosztikai módszer esetében a pozitív állatok legnagyobb arányban a laktáció 40-60. napja között voltak felderíthetők (a selejtezett állatok bevonásával, illetve kizárásával); azonban ez az arány sem volt 100%-os. Itt szeretnénk kiemelni annak a jelentőségét, hogy annak ellenére nem volt 100% a felderítési arány, hogy a vizsgálatba ismerten pozitív állatokat vontunk be. Az eredményeink alapján a laktáció eleje, leginkább a 40-60 nap közé eső időszak lehet a legalkalmasabb a mintavételezésre és a pozitív állatok felderítésére. Az ebben az időszakban kapott pozitív eredmény esetén az érintett tehén az önkéntes várakozási idő alatt kikerülhet a termékenyítésre szánt állatok közül, és a laktáció végén selejtezésre kerülhet, így megelőzhető, hogy a következő elléskor az újszülött borjak számára fertőzési forrássá váljon (Wells és Wagner, 2000; Kudahl és mtsai., 2007; Donat és mtsai., 2016; Camanes és mtsai., 2018).

Ami a különböző tesztekkel illeti, a tej ELISA-pozitivitásának aránya a laktáció elején volt magas, ahogy azt már korábban kimutatták (Beaver és mtsai., 2017), és esetünkben is jól korrelált a szérumvizsgálattal, kivéve közvetlenül az ellés után (0-5 nap között). A kevesebb pozitív tej ELISA eredmény magyarázata lehet 0-5 nap között a kolosztrom magas

zsírtartalma, ami csökkentheti az ELISA-módszer hatékonyságát (Rainard, 2010). Eredményeink részben ellentmondanak Nielsen nagyszámú állaton végzett vizsgálatának, amely szerint a laktáció elején vett tejminták esetében magasabb az ELISA-pozitivitási arány, míg a szérumminták esetében a laktáció végén mutatkozik nagyobb arányú pozitivitás (Nielsen, 2002). A vizsgálatot azonban különböző állatokon végezték, ismételt mérések nélkül. Esetünkben a szérumminták megbízhatóbbnak bizonyultak az ELISA-vizsgálat során, mint a tejminták, és nagyobb arányban mutattak pozitivitást.

Vizsgálatunk azt is bizonyítja, hogy az antitestek szintje a laktáció során változik, amint azt korábbi tanulmányok is kimutatták. A szérum és a tej ELISA-pozitivitása az ellés utáni 40-60. napig nőtt, majd csökkent. Beaver és mtsai. (2017) szintén azt találták, hogy a tej ELISA-pozitivitása magasabb a laktáció korai szakaszában, Faruk és mtsai. (2020) pedig az ELISA-minták laktáció alatti ingadozását mutatták ki, az adott állat pozitivitásának szintjétől függően. A vizsgálatba bevont, ismert pozitív állatok esetében a qPCR-pozitív minták aránya a laktáció kezdetétől a 60. napig volt a legmagasabb (75% és 80,8% az 1. elemzésben; és 63,9% és 72,2% a 2. elemzésben). Az ellés, amely jelentős stresszor, növeli a baktériumürítés mértékét (Jorgensen, 1977). Laurin és mtsai. (2015) a qPCR érzékenységét magasabbnak találták a szárazonállás időszakában, mint az ellés után 14 nappal gyűjtött bélsárminták esetében, de nem találtak statisztikailag szignifikáns különbséget a két csoport között. Mi a szárazonállás időszakát nem vizsgáltuk, csak a laktáció végén, a szárazra állításkor vettünk mintát az állatokból. A szárazonállás időszakában történő mintavételt kevésbé találtuk praktikusnak telepi körülmények között, mivel a jelen vizsgálat célja az volt, hogy a mintavételi ütemterv később a gyakorlatba is beilleszthető legyen. A qPCR pozitivitás valószínűsége a laktáció végén volt a legalacsonyabb a fenti tanulmányban (Laurin és mtsai., 2015), hasonlóan a mi eredményeinkhez.

A **9. ábra** azt mutatja, hogy a laktáció elején vett bélsárminták Ct-értékei abban a csoportban a legalacsonyabbak, amelyet selejtezni kellett, a nem selejtezett állatokban pedig szignifikánsan magasabbak. A Ct érték a nem selejtezett csoportban a laktáció előrehaladtával növekszik, ami azt jelenti, hogy a baktériumürítés a laktáció elején a legjelentősebb, majd csökken. Tesztjeink eredményei ebben az esetben sem mutattak 100%-os pozitivitást. Ezért a laktáció elején ismételt mintavétel szükséges az érzékenység növeléséhez, amely a selejtezési döntés alapjául szolgálhat. Továbbá eredményeink azt mutatják, hogy a laktáció vége felé végzett ismételt vizsgálat során nagyobb az esélye a fals negatív eredménynek. Korábbi vizsgálatok azt is kimutatták, hogy az ELISA S/P értékei korrelációt mutatnak a baktériumürítéssel (Collins, 2002). Vizsgálatunk bebizonyította, hogy a laktáció során ingadozó baktériumürítés mértékét qPCR-rel is jól lehet vizsgálni, a Ct-értékek változásának követésével.

Amikor a vizsgálati protokollt terveztük, a mintavételezés egyszerűségére törekedtünk. A mintavételi időpontokat úgy választottuk ki, hogy később a telepi gyakorlatba is könnyen beilleszthető legyen. A protokoll szerint a telepeken minden egyes kiválasztott időpontban végeznek valamilyen vizsgálatot (pl. involúció ellenőrzése, vemhességvizsgálat stb), az állatokat ezért kiválogatják, így a mintavétel egyszerű és praktikus. A már amúgy is zsúfolt telepi menetrendhez további időigényes feladatokat a telepi dolgozók nem fogadnának szívesen a gyakorlatban (Imada és mtsai., 2023). Eredményeink szerint a legjobb időpont a mintavételre a szérum-ELISA esetében az ellés utáni 40-60. nap között van. Ha a telep egy laktációban több vizsgálatot is tud végezni, akkor a második legjobb időpont a mintavételre ellés után 0-14 nap között van, ha az állományban sok a MAP-t nagy számban ürítő egyed, vagy 90-120 nap között, ha a MAP-t kisebb mértékben ürítők vannak túlsúlyban. Tej ELISA esetén a legjobb időpont a mintavételre a 40-60 nap között van, de a 10-14 vagy a 90-120 nap között is lehet második mintavételi időpont. A bélsár qPCR tekintetében a legjobb mintavételi időpont az ellés utáni 10-14. vagy a 40-60. nap között van.

Vizsgálatunk elsődleges célja az volt, hogy megvizsgáljuk, a laktáció mely szakaszában és milyen mintát kell venni a PTB diagnosztizálásához, hogy minél több pozitív állatot kimutassunk. A laktáció kezdetén ismételt mintavételeket érdemes végezni a fertőzött állatok hatékony kimutatása érdekében, ami később a selejtezési döntés és az új generáció fertőzésmentes felnevelésének alapjául szolgálhat. Vizsgálatunk alapján a legmegfelelőbb időszak erre az ellést követő 40-60 nap, azaz a termékenyítés előtti időszak, amely könnyen beilleszthető egy MAP-mentesítési programba. A módszerek közül a vizsgálat során a qPCR bizonyult a legmegbízhatóbb vizsgálati módszernek. Az ELISA S/P értékek azonban mindig korrelálnak a bélsár qPCR Ct értékével, a szérum ELISA valamivel érzékenyebb, mint a tej ELISA.

5 Következtetések, javaslatok

A paratuberculosis diagnosztizálása és kontrollja a nagyüzemi tejelő tehenészetekben egy rendkívül nehéz és összetett folyamat. Doktori értekezésemben a szubklinikai paratuberculosis, mint a betegség egyik leggyakrabban előforduló és valószínűleg a legnagyobb gazdasági kárt okozó formájának hatását vizsgáltuk az állatok egészségére és termelésére hazai gazdaságokban. Megállapítottuk, hogy a betegség már szubklinikai formában is jelentős állategészségügyi problémákkal jár, így a gazdaságos termelés érdekében a gazdaságok nem hagyhatják figyelmen kívül a betegség jelenlétét az állományokban. A betegség általi immunszuppresszió miatt az állatok fogékonyabbak mind a tőgygyulladásra, mind pedig a szaporodásbiológiai problémákra, ami emelheti a telepek gyógyszer és antibiotikum felhasználását.

A mentesítés vagy gyérítés során nem elegendő csupán tesztelés-selejtezés programok alkalmazása, mivel ezzel legfeljebb a betegség előfordulásának szinten tartása érhető el. Eredményeink alapján az intézkedések legfontosabb pontja az elletői higiénia maradéktalan betartása és az elletői menedzsment. Javasoljuk a borjak ellés utáni azonnali elvételét az anyjuktól, PTB+ állatok esetén az egyedi, elkülönített elletést és az ellető minél gyakoribb tisztítását, az alom gyakori cseréjét, ezzel is csökkentve a felnőtt ürítő állatok bélsarával történő kontamináció esélyét. A borjakkal csak MAP negatív állatok főcsteje, illetve teje itatható, az ismerten pozitív állatok tejét meg kell semmisíteni. Nem javasoljuk elletői elegytej itatását sem, mivel ezzel kockáztatjuk, hogy esetlegesen fertőzött tejet juttathatunk egyszerre több borjúhoz is.

A dolgozat további részében megoldást kerestünk a hazai telepek számára egy kivitelezhető kontroll program felállításához. Eredményeink alapján a hatékony kontroll programok kialakítása elengedhetetlen, hiszen ezek nélkül a kiindulási látszólagos szeroprevalenciától függően arányosan évente 13%-kal is nőhet a fertőzöttségi százalék, így jelentősen nőni fog a fertőzött állatok aránya, ezzel egyre nagyobb állategészségügyi problémát és gazdasági veszteséget okozva a telepeknek.

A jelenleg rendelkezésre álló diagnosztikai tesztek tekintetében a betegség kimutatására a laktáció 40-60. napja közötti mintavételt javasoljuk, mind ELISA, mind pedig bélsár PCR esetében. Amennyiben a telepnek lehetősége van többszöri mintavételre a mintavételek ismétlését a laktáció elején javasoljuk, kivéve tej ELISA esetében, amit az ellés utáni kb. 5 napban nem javasolunk a betegség kimutatására. Az ELISA S/P értékei jó korrelációt mutattak a bélsár PCR Ct értékeivel, így az S/P érték alkalmas lehet a betegség prognózisára, ugyanakkor vizsgálatunkban a bélsár PCR bizonyult a leghatékonyabb módszernek a betegség kimutatására. A Ct értékek változása jól jelezte a klinikai PTB felé történő átmenetet.

A klinikailag fertőzött és a baktériumot nagy számban ürítő állatokat minél hamarabb szükséges eltávolítani az állományból a fertőzési lánc megszakítása érdekében. Erre alkalmas lehet a bélsár PCR Ct értéke alapján történő döntés.

Összességében vizsgálataink alapján egy sikeres mentesítési program véghezvitelében elengedhetetlen az elletői menedzsment intézkedések maradéktalan betartása és selejtezési programok kialakítása is. A selejtezési program azonban nagyban telepspecifikus, és függ a kiindulási fertőzöttség mértékétől, hiszen a legjobb lenne minden azonosított pozitív állatot selejtezni, azonban ez gazdaságilag nem minden esetben lehetséges.

Véleményünk szerint erre kockázat alapú döntési rendszert érdemes kialakítani, aminek az alapja a baktériumot nagy mértékben ürítő állatok mielőbbi eltávolítása az állományból. Vizsgálataink alapján erre a legalkalmasabb a kiegészítő bélsár PCR vizsgálatok elvégzése lehet, akár ismertén pozitív állatok esetében is. A laktáció 40-60. napja közötti (vagy korábbi) tesztelést azért is javasoljuk, mert ebben az esetben az állat még termékenyítés előtt selejtlistára kerülhet, így az elletőben már nem fog fertőzési forrást jelenteni. Ugyanakkor, ha megfelelő a tejtermelése, akkor állományban tartható, ezzel csökkentve a gazdasági veszteségeket. Az állatok állományban tartását alacsony Ct értékek, magas S/P értékek, illetve a klinikai tünetek lehetőségének felmerülése esetén nem javasoljuk.

A gazdaságoknak fontos egy olyan programot bevezetni, amit éveken keresztül be tudnak tartani, a szeroprevalancia változások alapján pár évente felülvizsgálják, és az addigi intézkedéseket, legfőképp a tesztelésre és selejtezésre vonatkozó protokolljaikat ennek megfelelően időről-időre módosítják.

6 Új tudományos eredmények

1. Hazai körülmények között a vizsgált 4 éves távlatban csak tesztelés-selejtezés stratégiával nem lehetett számottevő eredményt elérni a paratuberculosis mentesítésben. Azon mentesítő telepek esetében, ahol csak tesztelés-selejtezés programot követtek nem volt szignifikáns különbség a szeroprevalencia évenkénti változásában, a mentesítést folytató telepek esetében, ahol a selejtezés mellett a menedzsment lépéseket is betartották évente arányosan 20%-kal csökkent a látszólagos szeroprevalencia.
2. Amennyiben a telepek nem folytatnak paratuberculosis ellen mentesítést, négy év alatt évente átlagosan 13%-os szignifikáns látszólagos szeroprevalencia növekedés figyelhető meg a kiindulási látszólagos szeroprevalenciától függetlenül. Megállapítottuk, hogy 2018 és 2021 között a vizsgált telepeken a látszólagos szeroprevalencia 5,1%-ról 5,6%-ra emelkedett.
3. A hazai nagyüzemi tejtermelő tehenészetekben a paratuberculosis visszaszorítására tett menedzsment intézkedések közül a borjú azonnali elvétele az anyjától 55%-kal, a PTB+ tehenek kolosztrumának megsemmisítése pedig 48%-kal csökkentette a szeropozitivitás esélyét, így ez a két tényező bizonyult a legfontosabbnak a paratuberculosis állományon belüli terjedésének megakadályozásában.
4. A paratuberculosis kimutatására a jelenleg forgalomban lévő diagnosztikai tesztek közül a qPCR bizonyult a legmegbízhatóbb módszernek, azonban a tej és szérum ELISA S/P értékei jó korrelációt mutatnak a bélsár qPCR Ct értékeivel. A szérum ELISA érzékenyebbek bizonyult a tej ELISA-nál a laktáció első 5 napjában.
5. A paratuberculosis diagnosztizálására a legnagyobb esély az ellés utáni 40-60. nap között van, laktáció 40 és 60. napja között paratuberculosis miatt selejtezett állatok tej és szérum ELISA értékei szignifikánsan magasabbak, bélsár PCR Ct értékeik pedig szignifikánsan alacsonyabbak, mint a klinikai tüneteket nem mutató, de fertőzött állatoké. Vizsgálataink alapján a módszerek alkalmasak lehetnek a klinikai paratuberculosis előrejelzésére a laktáció elején.

7 Felhasznált irodalom

1. AHI (Animal Health Ireland): **Purchasing Stock: Reducing Disease Risks**. Biosecurity leaflet series, vol 3, accessed 2 Aug 2021; <https://animalhealthireland.ie/assets/uploads/2021/06/BS-Purchasing-Stock-2021.pdf>
2. Aly, S.S., Anderson, R.J., Adaska, J.M., Jiang, J., Gardner, I.A.: **Association between *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection and milk production in two California dairies**. J. Dairy Sci., 93. 1030–1040, 2010.
3. Aly, S.S., Anderson, R.J., Whitlock, R.H., Fyock, T.L., McAdams, S.C., Byrem, T.M., Jiang, J., Adaska, J.M., Gardner, I.A.: **Cost-effectiveness of diagnostic strategies to identify *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* super-shedder cows in a large dairy herd using antibody enzyme-linked immunosorbent assays, quantitative real-time polymerase chain reaction, and bacterial culture**. J. Vet. Diagn. Investig., 24. 821–832, 2012.
4. Bakker, D., Willemsen, P.T.J., van Zijdelverd, F.G.: **Paratuberculosis recognized as a problem at last: A review**. Vet. Quart., 22. 200-204, 2000.
5. Barkema, H.W., Orsel, K., Nielsen, S.S., Koets, A.P., Rutten, V.P., Bannantine, J.P., Keefe, G.P., Kelton, D.F., Wells, S.J., Whittington, R.J., Mackintosh, C.G., Manning, E.J., Weber, M.F., Heuer, C., Forde, T.L., Ritter, C., Roche, S., Corbett, C.S., Wolf, R., Griebel, P.J., Kastelic, J., Buck, J.: **Knowledge gaps that hamper prevention and control of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection**. Transbound. Emerg. Dis., 65. 125–148, 2018.
6. Barkema, H.W., von Keyserlingk, M.A.G., Kastelic, J.P., Lam, T.J.G.M., Luby, C., Roy, J.P., LeBlanc, S.J., Keefe, G.P., Kelton, D.F.: **Invited review: Changes in the dairy industry affecting dairy cattle health and welfare**. J. Dairy Sci. 98. 7426-7445, 2015.
7. Barrett, D.J., Mee, J.F., Mullaney, P., Good, M., McGrath, G, Clegg, T., More, S.J.: **Risk factors associated with Johne's disease test status in dairy herds in Ireland**. Vet. Rec., 168. 410, 2011.
8. Bassey, E.O., Collins, M.T.: **Study of T-lymphocyte subsets of healthy and *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*-infected cattle**. Infect. Immun., 65. 4869–4872, 1997.
9. Baumgartner, W., Khol, J.L.: **Paratuberculosis – potentials and limits of surveillance programs**. Magy. Állatorvosok Lapja, 130. 7–10, 2008.
10. Beaver, A., Cazer, C., Ruegg, P., Gröhn, Y., Schukken, Y.: **Implications of PCR and ELISA results on the routes of bulk-tank contamination with *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis***. J. Dairy Sci., 99. 1391–1405, 2016.
11. Beaver, A., Sweeney, R.W., Hovingh, E., Wolfgang, D.R., Gröhn, Y.T., Schukken, Y.H.: **Longitudinal relationship between fecal culture, fecal quantitative PCR, and milk ELISA in *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*-infected cows from low-prevalence dairy herds**, J. Dairy Sci., 100. 7507–7521, 2017.
12. Begg, D.J., De Silva, K., Fiore, L., Taylor, D.L., Bower, K., Zhong, L., Kawaji, S., Emery, D., Whittington, R.J.: **Experimental infection model for Johne's disease using a lyophilised,**

- pure culture, seedstock of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis.** *Vet. Microbiol.*,141. 301–311, 2010.
13. Benedictus, G., Dijkhuizen, A.A., Stelwagen, J.: **Economic losses due to paratuberculosis in dairy cattle.** *Vet. Rec.* 121. 142–146, 1987.
 14. Berghaus, R.D., Lombard, J.E., Gardner, I.A., Farver, T.B.: **Factor analysis of a Johne's disease risk assessment questionnaire with evaluation of factor scores and a subset of original questions as predictors of observed clinical paratuberculosis.** *Prev. Vet. Med.*, 72. 291–309, 2005.
 15. Biemans, F., Ben Romdhane, R., Gontier, P., Fourichon, C., Ramsbottom, G., More, S.J., Ezanno, P.: **Modelling transmission and control of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis within Irish dairy herds with compact spring calving.** *Prev. Vet. Med.*,186. 105228, 2021.
 16. Bölske, G., Herthnek, D.: **Diagnosis of paratuberculosis by PCR.** in Behr M.A., Collins, D.M. (Eds.) *Paratuberculosis: Organism, Disease, Control.* CAB International, Cambridge, MA. pp. 267–283, 2010.
 17. Böttcher, J., Gangl, A.: ***Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis – combined serological testing and classification of individual animals and herds.** *J. Vet. Med.*, 51. 443–448, 2004.
 18. Breiman, L.: **Random forests.** *Mach. Learn.* 45. 5–32, 2001.
 19. Britton, L.E., Cassidy, J.P., O'Donovan, J., Gordon, S.V., Markey, B.: **Potential application of emerging diagnostic techniques to the diagnosis of bovine Johne's disease (paratuberculosis).** *Vet. J.*, 209. 32–39, 2016.
 20. Caldow, G., Gunn, G. J.: **Assessment of surveillance and control of Johne's disease in farm animals in Great Britain.** SAC Veterinary Science Division, https://johnes.org/wp-content/uploads/2018/11/Scottish_Report_JD-245-pages_2002.pdf, 2002
 21. Camanes, G., Joly, A., Fourichon, C., Romdhane, R.B., Ezanno, P.: **Control measures to prevent the increase of paratuberculosis prevalence in dairy cattle herds: an individual-based modelling approach.** *Vet. Res.*, 49. 60, 2018.
 22. Carta, T., Álvarez, J., Pérez de la Lastra, J.M., Gortázar C.: **Wildlife and paratuberculosis: A review.** *Res. Vet. Sci.*, 94. 191-197, 2013.
 23. Castellanos, E., Aranaz, A., Gould, K.A., Linedale, R., Stevenson, K., Alvarez, J., Dominguez, L., de Juan, L., Hinds, J., Bull, T.J.: **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.*,75. 676–686, 2009.
 24. Chiodini, R.J., Chamberlin, W.M., Sarosiek, J., McCallum, R.W.: **Crohn's disease and the mycobacterioses: a quarter century later. Causation or simple association?** *Crit. Rev. Microbiol.*, 38. 52–93, 2012.
 25. Chiodini, R.J., Kruijning, H., Merkal, R.S.: **Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): The current status and future prospects.** *The Cornell Vet.*, 74. 218-262, 1984.

26. Clark, D.L., Koziczkowski, J.J., Radcliff, R.P., Carlson, R.A., Ellingson, J.L.E.: **Detection of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis: Comparing fecal culture versus serum enzyme-linked immunosorbent assay and direct fecal polymerase chain reaction.** *J. Dairy Sci.*, 91. 2620–2627, 2008.
27. Clarke, C.J.: **The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species.** *J. Comp. Pathol.*, 116. 217–261, 1997.
28. Collins, D.M., Gabric, D.M., de Lisle, G.W.: **Identification of a repetitive DNA sequence specific to *Mycobacterium paratuberculosis*.** *FEMS Microbiol. Lett.*, 51. 175–178, 1989.
29. Collins, M.T., Gardner, I.A., Garry, F.B., Roussel, A.J., Wells, S.J.: **Consensus recommendations on diagnostic testing for the detection of paratuberculosis in cattle in the United States.** *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 229. 1912–1919, 2006.
30. Collins, M.T.: **Interpretation of a commercial bovine paratuberculosis enzyme-linked immunosorbent assay by using likelihood ratios.** *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 9. 1367–1371, 2002.
31. Collins, M., Stephens, M., Lisle, G.W.: **Comparison of polymerase chain reaction tests and faecal culture for detecting *Mycobacterium paratuberculosis* in bovine faeces.** *Vet. Microbiol.*, 36. 289–299, 1993.
32. Corbett, C.S., de Jong, M.C.M., Orsel, K., De Buck, J., Barkema, H.W.: **Quantifying transmission of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis among group-housed dairy calves.** *Vet. Res.*, 50. 60, 2019.
33. Dalziel, T.K.: **Chronic interstitial enteritis.** *Br. Med. J.*, 2. 1068–1070, 1913.
34. De Chastellier, C., Thilo, L.: **Cholesterol depletion in *Mycobacterium avium*-infected macrophages overcomes the block in phagosome maturation and leads to the reversible sequestration of viable mycobacteria in phagolysosome-derived autophagic vacuoles.** *Cell. Microbiol.*, 8, 242–256. 2006.
35. de Juan, L., Alvarez, J., Aranaz, A., Rodriguez, A., Romero, B., Bezos, J., Mateos, A., Dominguez, L.: **Molecular epidemiology of Types I/III strains of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis isolated from goats and cattle.** *Vet. Microbiol.*, 115. 102–110, 2006.
36. de Kruijf, M., Govender, R., Yearsley, D., Coffey, A., O'Mahony, J.: **A comparative study evaluating the efficacy of IS_MAP04 with IS900 and IS_MAP02 as a new diagnostic target for the detection of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis from bovine faeces.** *Vet. Microbiol.*, 204. 104–109, 2017.
37. Dernivoix, K., Roupie, V., Welby, S., Roelandt, S., Viart, S., Letesson, J., Wattiez, R., Huygen, K., Govaerts, M.: **Field performance of six *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis antigens in a 20 h interferon gamma release assay in Belgium.** *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 189. 17–27, 2017.
38. Donaghy, J., Keyser, M., Johnston, J., Cilliers, F.P., Gouws, P.A., Rowe, M.T.: **Inactivation of *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis in milk by UV treatment.** *Lett. Appl. Microbiol.*, 49. 217–211, 2009.

39. Donat, K., Schmidt, M., Köhler, H., Sauter-Louis, C.: **Management of the calving pen is a crucial factor for paratuberculosis control in large dairy herds.** *J. Dairy Sci.*, 99. 3744–3752, 2016.
40. Donat, K., Erhardt, G., Soschinka, A., Brandt, H.R.: **Decreased serum protein associated with *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis shedding in German Holstein cows.** *Vet. Rec.* 174. 408, 2014a
41. Donat, K., Soschinka, A., Erhardt, G., Brandt, H.R.: **Paratuberculosis: decrease in milk production of German Holstein dairy cows shedding *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis depends on within-herd prevalence.** *Animal*, 8. 852–858. 2014b
42. Elliott, N.G., Hough, R.L., Avery, L.M., Maltin, C.A., Campbell, C.D.: **Environmental risk factors in the incidence of Johne's disease.** *Critical Reviews. Microbiol.*, 41. 488–507, 2015.
43. Eltholth, M.M., Marsh, V.R., Van Winden, S., Guitian, F.J.: **Contamination of food products with *Mycobacterium avium* paratuberculosis: a systematic review.** *J. Appl. Microbiol.*, 107. 1061-1071, 2009.
44. Englund, S., Bölske, M., Ballagi-Pordány, A. Johansson, K.E.: **Detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in tissue samples by single, fluorescent and nested PCR based on the IS900 gene.** *Vet. Microbiol.*, 81. 257–271, 2001.
45. Fanelli, A., Galgano, M., Sposato, A., Buonavoglia, D.: **Assessment of Paratuberculosis international official reporting in Europe using the information supplied to the WOAHP by the National Veterinary Services (NVS).** *Vet. Ital.*, 58. 215-224, 2022.
46. Faruk, M.S.A., Jung, Y., Hur, T.-y., Lee, S.-s., Cho, Y.-i.: **Longitudinal study of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis antibody kinetics in dairy cattle using sera and milk throughout the lactation period.** *Vet. Sci.* 7. 81, 2020.
47. Fecteau, M.E.: **Paratuberculosis in cattle.** *Vet. Clin. Food Anim.*, 34. 209–222, 2018.
48. Fernández-de-Mera, I.G., Vicente, J., Höfle, U., Fons, F.R., Ortiz, J.A., Gortázar, C.: **Factors affecting red deer skin test responsiveness to bovine and avian tuberculin and to phytohaemagglutinin.** *Prev. Vet. Med.*, 90. 119–126, 2009.
49. Feuerstein, J.D., Cheifetz, A.S.: **Crohn Disease: Epidemiology, Diagnosis, and Management.** *Mayo Clin. Proc.*, 92. 1088–1103, 2017.
50. Field, N.L., Mee, J.F., McAloon, C.G.: **Characteristics (sensitivity and specificity) of herd-level diagnostic tests for *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in cattle - A systematic review.** *Vet. J.*, 279. 105786, 2022.
51. Fodor I., Matyovszky B., Biczó A., Ózsvári L.: **A paratuberkulózis kártétele és az ellene való védekezés egy hazai nagyüzemi holstein-fríz tehenészetben.** *Magy. Állatorv. Lapja*, 136. 213–22, 2014.
52. Gajendaran, M., Logonathan, P. Catinella, A.P., Hashash, J.G.: **A comprehensive review and update on Crohn's disease.** *Disease-a-Month*, 64. 20–57, 2018.
53. Garcia, A.B., Shalloo, L.: **The economic impact and control of paratuberculosis in cattle.** *J. Dairy Sci.*, 98. 5019–5039. 2015.

54. Gardner, I.A., Nielsen, S.S., Whittington, R.J., Collins, M.T., Bakker, D., Harris, B., Sreevatsan, S., Lombard, J.E., Sweeney, R., Smith, D.R., Gavalchin, J., Eda, S.: **Consensus-based reporting standards for diagnostic test accuracy studies for paratuberculosis in ruminants.** *Prev. Vet. Med.*, 101. 18–34, 2011.
55. Garvey, M.: **Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis: A possible causative agent in human morbidity and risk to public health safety.** *Open Vet. J.*, 8. 172–181, 2018.
56. Gerrard, Z.E., Swift, B.M.C., Botsaris, G., Davidson, R.S., Hutchings, M.R., Huxley, J.N., Rees, C.E.D.: **Survival of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in retail pasteurised milk.** *Food Microbiol.*, 74. 57–63, 2018.
57. Gonda, M.G., Chang, Y.M., Shook, G.E., Collins, M.T., Kirpatrick, B.W.: **Effect of Mycobacterium paratuberculosis infection on production, reproduction, and health traits in US Holsteins.** *Prev. Vet. Med.*, 80. 103–119, 2007.
58. Grant, I.R.: **Zoonotic potential of Mycobacterium avium ssp paratuberculosis: the current position.** *J. Appl. Microbiol.*, 98. 1282–1293, 2005.
59. Grant, I.R., Ball, H.J., Rowe, M.T.: **Incidence of Mycobacterium paratuberculosis in bulk raw and commercially pasteurized cows' milk from approved dairy processing establishments in the United Kingdom.** *Appl. Environ. Microbiol.*, 68. 2428–2435, 2002.
60. Groenendaal, H., Nielen, M., Hesselink, J.W.: **Development of the Dutch Johne's disease control program supported by a simulation model.** *Prev. Vet. Med.*, 60. 69–90, 2003.
61. Hahn, N., Failing, K., Eisenberg, T., Schlez, K., Zschöck, M., Donat, K., Einax, E., Köhler, H.: **Evaluation of different diagnostic methods for the detection of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in boot swabs and liquid manure samples.** *BMC Vet. Res.*, 13. 259, 2017.
62. Hendrick, S., Duffield, T., Kelton, D.E., Leslie, K.E., Lissemore, K.D., Archambault, M.: **Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays performed on milk and serum samples for detection of paratuberculosis in lactating dairy cows.** *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 226. 424–428, 2005.
63. Houssain, T., Shah, S.Z.A., Zhao, D., Sreevatsan, S., Zhou, X.: **The role of IL-10 in Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection.** *Cell Comm. Signal.*, 14. 29, 2016.
64. Huda, A., Jungersen, G., Christoffersen, A.B., Lind, P.: **Diagnosis of bovine paratuberculosis by interferon-gamma (IFN γ) test.** *Acta Vet. Scand.*, 44. 281, 2003.
65. Imada, J.B., Roche, S.M., Thaivalappil, A., Bauman, C.A., Kelton, D.F.: **Investigating Ontario dairy farmers motivations and barriers to the adoption of biosecurity and Johne's control practices,** *J. Dairy Sci.* 106, 2449–2460, 2023.
66. Johne, H.A., Frothingham, L.: **Ein eigenthümlicher Fall von Tuberkulose beim Rind.** *Dtsch. Ztschr. Tiermed.*, 21. 438–454, 1895.
67. Johnson-Ifeorulundu, Y.J., Kaneene, J.B., Sprecher, D.J., Gardiner, J.C., Lloyd, J.W.: **The effect of subclinical Mycobacterium paratuberculosis infection on days open in Michigan, USA, dairy cows.,** *Prev. Vet. Med.*, 46. 171–181, 2000.

68. Johnson-Ifeorunlu, Y.J., Kaneene, J.B.: **Epidemiology and economic impact of subclinical Johne's disease: A review.** Vet. Bull., 67. 437–447, 1997.
69. Johnson-Ifeorunlu, Y.J., Kaneene, J.B.: **Management-related risk factors for M. paratuberculosis infection in Michigan, USA, dairy herds.** Prev. Vet. Med., 37. 41-54, 1998.
70. Jorgensen, J.B.: **Survival of Mycobacterium paratuberculosis in slurry.** Nord Vet. Med., 29. 267-270, 1977.
71. Kaevska, M., Videnska, P, Sedlar, K., Bartejsova, I., Kralova, A., Slana, I.: **Faecal bacterial composition in dairy cows shedding Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in faeces in comparison with nonshedding cows.** Can. J. Microbiol., 62. 538–541, 2016.
72. Kennedy, D.J., Benedictus, G.: **Control of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection in agricultural species.** Rev. Sci. Tech. (OIE). 20. 151-179, 2001.
73. Khanna, S., Raffals, L. E.: **The microbiome in Crohn's disease. role in pathogenesis and role of microbiome. Replacement therapies.** Gastroenterol. Clin. N. Am., 46. 481–492, 2017.
74. Khol, J.L., Wassertheurer, M., Sodoma, E., Revilla-Fernandey, S., Damoser, J., Osterreicher, E., Baumgartner, W.: **Long-term detection of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in individual and bulk tank milk from a dairy herd with a low prevalence of Johne's disease.** J. Dairy Sci., 96, 3517–3524, 2013.
75. Khol, J.L., Baumgartner, W.: **Examples and suggestions for the control of paratuberculosis in European cattle.** Jap. J. Vet. Res., 60. S1–S7, 2012
76. Khol, J.L., Braun, A.L., Slana, I., Kralik, P., Wittek, T.: **Testing of milk replacers for Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis by PCR and bacterial culture as a possible source for Johne's disease (paratuberculosis) in calves.** Prev. Vet. Med, 144. 53–56, 2017.
77. Khol, J.L., Damoser, J., Dünser, M., Baumgartner, W.: **Paratuberculosis, a notifiable disease in Austria – current status, compulsory measures and first experiences.** Prev. Vet. Med., 82. 302–307, 2007.
78. Kim, S.G., Shin, S.J., Jacobson, R.H., Miller, L.J., Harpending, P.R., Stehman, S.M., Rossiter, C.E., Lein, D.A.: **Development and application of quantitative polymerase chain reaction assay based on the ABI 7700 system (TaqMan) for detection and quantification of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis.** J. Vet. Diagn. Invest., 14. 126–131, 2002.
79. Kirkeby, C., Græsbøll, K., Nielsen, S.S., Christiansen, L.E., Toft, N., Rattenborg, E., Halasa, T.H.: **Simulating the epidemiological and economic impact of paratuberculosis control actions in dairy cattle.** Front. Vet. Sci., 3. 90, 2016.
80. Klopstein, M., Leyer, A., Berchtold, B., Torgerson, P.R, Meylan, M.: **Limitations in the implementation of control measures for bovine paratuberculosis in infected Swiss dairy and beef herds.** PLoS One, 16. e0245836, 2021.
81. 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.** J. Vet. Med. B, 37. 229–235, 1990.

82. Kreeger, J.M., Snider, T.G., Olcott, B.M.: **Spontaneous murine thymocyte comitogenic activity consistent with interleukin-1 in cattle naturally infected with *Mycobacterium paratuberculosis***. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 28. 317–326, 1991.
83. Kudahl, A.B., Nielsen, S.S., Ostergaard, S.: **Economy, efficacy, and feasibility of a risk-based control program against paratuberculosis**, *J. Dairy Sci.*, 91. 4599–4609. 2008.
84. Kudahl, A.B., Østergaard, S., Sørensen, J.T., Nielsen, S.S.: **A stochastic model simulating paratuberculosis in a dairy herd**. *Prev. Vet. Med.* 78. 97–117, 2007.
85. Kutas F.: **The measurement of net acid base excretion in the urine of cattle (A method for the estimation of acid–base equilibrium)** *Magy. Allatorv. Lapja*, 20. 104–107, 1965.
86. Larsen, A.B., Merkal, R.S.: **Age of cattle as related to resistance to infection with *Mycobacterium paratuberculosis***. *Am. J. Vet. Res.*, 36. 255–257, 1975.
87. Laurin, E.L., Sanchez, J., Chaffer, M., McKenna, S.L.B.: **Assessment of the relative sensitivity of milk ELISA for detection of *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis infectious dairy cows**. *J. Dairy Sci.*, 100. 598–607, 2017.
88. Laurin, E.L., Chaffer, M., McClure, J.T., McKenna, S.L., Keefe, G.P.: **The association of detection method, season, and lactation stage on identification of fecal shedding in *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis infectious dairy cows**. *J. Dairy Sci.*, 98. 211–220, 2015.
89. Leite, F.L., Stokes, K.D., Robbe-Austerman, S., Staber, J.R.: **Comparison of fecal DNA extraction kits for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis by polymerase chain reaction**. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 25. 27-34, 2013.
90. Li, L., Wagner, B., Freer, H., Schilling, M., Bannantine, J.P., Campo, J.J., Katani, R., Grohn, Y.T., Radzio-Basu, J., Kapur, V.: **Early detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis infection in cattle with multiplex-bead based immunoassays**. *PLoS ONE*, 12. 1–16, 2017.
91. Lombard, J.E., Garry, F.B., McCluskey, B.J., Wagner, B.A.: **Risk of removal and effects on milk production associated with paratuberculosis status in dairy cows**. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 227. 1975–1981, 2005.
92. Magombedze, G., Eda, S., Koets, A.: **Can immune response mechanisms explain the fecal shedding patterns of cattle infected with *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis?** *PLOS One*, 11. e0146844, 2016.
93. Magombedze, G., Shiri, T., Eda, S., Stabel, J.R.: **Inferring biomarkers for *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis infection and disease progression in cattle using experimental data**. *Sci. Rep.*, 7. 44675, 2017.
94. Malvisi, M., Palazzo, F., Morandi, N., Lazzari, B., Williams, J.L., Pagnacco, G., Minozzi, G.: **Responses of bovine innate immunity to *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis infection revealed by changes in gene expression and levels of microRNA**. *PLOS One*, 11. e0164461, 2016.

95. Marcé, C., Ezanno, P., Seegers, H., Pfeiffer, D.U., Fourichon, C.: **Predicting fadeout versus persistence of paratuberculosis in a dairy cattle herd for management and control purposes: a modelling study.** *Vet. Res.*, 42. 36, 2011.
96. McAloon, C.G., Whyte, P., More, S.J., Green, M.J., O'Grady, L., Garcia, L., Doherty, M.L.: **The effect of paratuberculosis on milk yield – A systematic review and meta-analysis.** *J. Dairy Sci.* 99. 1449–1460, 2016.
97. McGovern, D., Van Hell, D. A.: **NOD2 (CARD15), the first susceptibility gene for Crohn's disease.** *Gut*, 49. 752–754, 2001.
98. McGregor, H., Abbott, K.A., Whittington, J.R.: **Effects of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection on serum biochemistry, body weight and wool growth in Merino sheep: A longitudinal study.** *Small Rumin. Res.*, 125. 146–153, 2015.
99. McKenna, S.L.B., Keefe, G.P., Tiwari, A., VanLeeuwen, J., Barkema, H.W.: **Johne's disease in Canada part II: disease impacts, risk factors, and control programs for dairy producers.** *Can Vet J.*, 47.1089–99, 2006.
100. McKenna, S.L.B., Keefe, G.P., Barkema, H.W., Sockett, D.C.: **Evaluation of three ELISAs for Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis using tissue and fecal culture as comparison standards.** *Vet. Microbiol.*, 110. 105–111, 2005.
101. McNab, W.B., Meek, A.H., Martin, S.W., Duncan, J.R.: **Associations between dairy production indices and lipoarabinomannan enzyme-immunoassay results for paratuberculosis.** *Can. J. Vet. Res.*, 55. 356–361, 1991.
102. McNees, D.M., Markesich, D., Zayyani, N.R., Graham, D.Y.: **Mycobacterium paratuberculosis as a cause of Crohn's disease.** *Exp. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 9. 1523–1534, 2015.
103. McSpadden, K., Caires, K., Zanella, R.: **The effect of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis exposure on animal health.** *Acta Sci. Vet.*, 41. 1095, 2013.
104. Mulvany, P.: **Dairy cow condition scoring.** NIRD Paper No. 4468, National Institute for Research in Dairying, Reading, UK., 1977.
105. Murray, G.: **Considerations on the most effective use by the Department of Agriculture, Food and Marine (DAFM) of government resources to improve the viability of industry-led animal disease control programmes.** 2013.
106. Mutharia, L. M., Klassen, M.D., Fairles, J., Barbut, S., Gill, C.O.: **Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in muscle, lymphatic and organ tissues from cows with advanced Johne's disease.** *Int. J. Food Microbiol.*, 136. 340–444, 2010.
107. Nacy, C., Buckley, M.: **Mycobacterium avium paratuberculosis: Infrequent human pathogen or public health threat?** *American Academy of Microbiology*, 1–37, 2008.
108. Naser, S.A., Schwartz, D., Shafran, I.: **Isolation of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis from breast milk of Crohn's disease patients.** *Am. J. Gastroenterol.*, 95. 1094–1095, 2000.
109. Navarro-Gonzalez, N., Fourichon, C., Blanquefort, P., Delafosse, A., Joly, A., Ngwa-Mbot, D., Biet, F., Boichard, D., Schibler, L., Journaux, L., Meens, E., Guatteo, R.: **Longitudinal study**

- of *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis fecal shedding patterns and concurrent serological patterns in naturally infected dairy cattle**, *J. Dairy Sci.* 102. 9117–9137, 2019.
110. Nielsen, S.S., Toft, N.: **A review of prevalences of paratuberculosis in farmed animals in Europe**. *Prev. Vet. Med.*, 88. 1–14, 2009.
 111. Nielsen, S.S, Toft, N.: **Effect of management practices on paratuberculosis prevalence in Danish dairy herds**. *J. Dairy Sci.*, 94. 1849–1857. 2011.
 112. Nielsen, S.S., Toft, N.: **Effect of days in milk and milk yield on testing positive in milk antibody ELISA to *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in dairy cattle**. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 149. 6–10, 2012.
 113. Nielsen, S.S., Toft, N.: **Ante mortem diagnosis of paratuberculosis: A review of accuracies of ELISA, interferon- γ assay and faecal culture techniques**. *Vet. Microbiol.*, 129. 217–235, 2008.
 114. Nielsen, S.S.: **Use of diagnostics for risk-based control of paratuberculosis in dairy herds**. *Farm Anim. Pract.*, 31. 150–154, 2009.
 115. Nigsch, A., Robbe-Austerman, S., Stuber, T.P., Pavinski Bitar, P.D., Gröhn, Y.T., Schukken, Y.H.: **Who infects whom? – reconstructing infection chains of *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis in an endemically infected dairy herd by use of genomic data**. *PLoS One*, 16. e0246983, 2021.
 116. Ózsvári L., Lang Zs, Monostori A., Kostoulas, P., Fodor I.: **Bayesian estimation of the true prevalence of paratuberculosis in Hungarian dairy cattle herds**. *Prev. Vet. Med.*, 183. 105-124, 2020.
 117. Patterson, S., Bond, K., Green, M., van Winden, S., Guitian, J.: ***Mycobacterium avium* paratuberculosis infection of calves – the impact of dam infection status**. *Prev. Vet. Med.*, 181. 104634, 2000.
 118. Pieper, L., Sorge, U.S., DeVries, T.J., Godkin, A., Lissemore, K., Kelton, D.F.: **Evaluation of the Johne's disease risk assessment and management plan on dairy farms in Ontario, Canada**. *J. Dairy Sci.*, 98. 6792–6800. 2015.
 119. Pillars, R.B., Grooms, D.L., Gardiner, J.C., Kaneene, J.B.: **Association between risk assessment scores and individual-cow Johne's disease-test status over time on seven Michigan, USA dairy herds**. *Prev. Vet. Med.*, 98. 10–18, 2011.
 120. Pinedo, P.J., Rae, D.O., Williams, J.E., Donovan, G.E., Melendez, P., Buergelt, C.D.: **Association among results of serum ELISA, faecal culture and nested PCR on milk, blood and faeces for the detection of paratuberculosis in dairy cows**. *Transbound. Emerg. Dis.*, 55. 125-133, 2008.
 121. Puerto-Parada, M., Arango-Sabogal, J.C., Pare, J., Dore, E., Cote, G., Wellemansm, V., Buczinski, S., Roy, J.P., Labrecque, O., Fecteau, G.: **Risk factors associated with *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis herd status in Quebec dairy herds**. *Prev. Vet. Med.*, 152. 74–80, 2018.
 122. Punati, R.D., Mallepaddi, P.C., Poonati, R., Maity, S.N., Sohal, J.S., Polavarapu, K.K.B., Polavarapu, R.: **Development and evaluation of LAMP-coupled lateral flow device for the**

- detection of MAP in livestock at point of care resource-limited areas.** *Curr. Trend. Biotechnol. Pharm.*, 13. 232–242, 2019.
123. R Core Team: **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/> 2022
 124. Rainard, P.: **Consequences of interference of milk with chemoattractants for enzyme-linked immunosorbent assay quantifications.** *Clin. Vaccine Immunol*, 17. 848–852, 2010.
 125. Raizman, E.A., Fetrow, J.P., Wells, S.J.: **Loss of income from cows shedding *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis prior to calving compared with cows not shedding the organism on two Minnesota dairy farms.** *J. Dairy Sci.*, 92. 4929–4936, 2009.
 126. Rasmussen, P., Barkema, H.W, Mason, S., Beaulieu, E., Hall D.C.: **Economic losses due to Johne's disease (paratuberculosis) in dairy cattle,** *J. Dairy Sci.*, 104. 3123-3143, 2021.
 127. Robinson, P.A.: **“They’ve got to be testing and doing something about it”: farmer and veterinarian views on drivers for ‘Johne’s disease control in dairy herds in England.** *Prev. Vet. Med.*, 182. 105094, 2020.
 128. Roche, J.R., Friggens, N.C., Kay, J.K., Fisher, M.W., Stafford, K.J., Berry, D.P.: **Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare.** *J. Dairy Sci.*, 92. 5769–5801, 2009.
 129. Rónai Zs., Csivincsik Á., Szőgyényi Zs., Bacsadi Á., Dán Á., Jánosi, Sz.: **Adatok a paratuberkulózis hazai előfordulásáról – diagnosztikai fejlesztések és vizsgálati eredmények, 2006–2012.** *Magy. Állatorv. Lapja*, 137. 211–218, 2015.
 130. Salgado, M., Alfaro, M., Salazar, F., Troncoso, E., Mitchell, M., Ramirez, L., Naguil, A., Zamorano, P., Collins, M.T.: **Effect of soil slope on the appearance of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in water running of grassland soil after application of contaminated slurry.** *Appl. Environ. Microbiol.*, 79. 3544–3552, 2013.
 131. Scanu, A.M., Bull, T.J. Cannas, S., Sanderson, J.D., Sechi, L.A., Dettori, G., Zanetti, S., Hermon-Taylor, J.: ***Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infection in cases of irritable bowel syndrome and comparison with Crohn’s disease and Johne’s disease. Common neural and immune pathogenicities.** *J. Clin. Microbiol.*, 2045. 3883–3890, 2007.
 132. Schukken, Y.H., Whitlock, R.H., Wolfgang, D., Grohn, Y., Beaver, A., VanKessel, J., Zurakowski, M., Mitchell, R.: **Longitudinal data collection of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infections in dairy herds: The value of precise field data.** *Vet. Res.*, 46. 65, 2015.
 133. Schwalm, A.K., Metzger-Boddien, C., Seemann, G., Mandl, J., Obiegala, A., Pfeffer, M., Sting, R.: **Field study on bovine paratuberculosis using real-time PCR and liquid culture for testing environmental and individual fecal samples implemented in dairy cow management.** *J. Dairy Sci.*, 102. 11260–11267, 2019.
 134. Sechi, L.A., Dow, C.T.: ***Mycobacterium avium* ss. paratuberculosis Zoonosis – The Hundred Year War – Beyond Crohn’s Disease.** *Front. Immunol.*, 6. 96. 2015.

135. Serraino, A., Arrigoni, N., Ostanello, F., Ricchi, M., Marchetti, G., Bonilauri, P., Giacometti, F.: **A screening sampling plan to detect *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis-positive dairy herds.** *J. Dairy Sci.*, 97. 3344–3351, 2014.
136. Serrano, M., Elguezabal, N., Sevilla, I.A., Geijo, M.V., Molina, E., Arrazuria, R., Urkitza, A., Jones, G.J., Vordermeier, M., Garrido, J.M., Juste, R.A.: **Tuberculosis detection in paratuberculosis vaccinated calves: New alternatives against interference.** *PLoS One* 12. e0169735, 2017.
137. Slater, N., Mitchell, R.M., Whitlock, R.H., Fyock, T., Pradham, A.K., Knupfer, E., Schukken, Y.H., Louzoun, Y.: **Impact of the shedding level on transmission of persistent infections in *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis (MAP).** *Vet. Res.*, 47. 38, 2016.
138. Smith, R.L., Gröhn, Y.T., Pradhan, A.K., Whitlock, R.H., Van Kessel, J.S., Smith, J.M., Wolfgang, D.R., Schukken, Y.H.: **The effects of progressing and nonprogressing *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis infection on milk production in dairy cows.** *J. Dairy Sci*, 99. 1383–1390, 2016.
139. Stabel, J.R., Wells, S.J., Wagner, B.J.: **Relationships between fecal culture, ELISA, and bulk tank milk test results for Johne's disease in US dairy herds.** *J. Dairy Sci*, 85. 525–531, 2002.
140. Stabel, J.R.: **Production of gamma-interferon by peripheral blood mononuclear cells: an important diagnostic tool for detection of subclinical paratuberculosis.** *J. Vet. Diagn. Invest.*, 8. 345–350, 1996.
141. Stabel, J.R.: **Transitions in immune responses to *Mycobacterium paratuberculosis*.** *Vet. Microbiol.*, 77. 465–473, 2000.
142. Steuer, P., Tejada, C., Moroni, M., Verdugo, C., Collins, M.T., Salgado, M.: **Attempted control of paratuberculosis in dairy calves by only changing the quality of milk fed to calves.** *Animals*, 11. 2569, 2021.
143. Stewart, G.R., Robertson, B.D., Young, D.B.: **Tuberculosis: a problem with persistence.** *Nat. Rev. Microbiol.*, 1. 97–105, 2003.
144. Stott, A.W., Jones, G.M., Humphry, R.W., Gunn, G.J.: **Financial incentive to control paratuberculosis (Johne's disease) on dairy farms in the United Kingdom.** *Vet. Rec.*, 156. 825–831, 2005.
145. Sweeney, R.W., Collins, M.T., Koets, A.P., McGuirk, S.M., Roussel, A.J.: **Paratuberculosis (Johne's disease) in cattle and other susceptible species.** *J. Vet. Intern. Med.*, 26. 1239–1250, 2012.
146. Sweeney, R.W.: **Pathogenesis of paratuberculosis.** *Vet. Clin. Food. Anim.*, 27. 537–546, 2011.
147. Swift, B.M.C., Denton, E.J., Mahendran, S.A., Huxley, J.N., Rees, C.E.D.: **Development of a rapid phage-based method for the detection of viable *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in blood within 48 h.** *J. Microbiol. Methods.*, 94. 175–179, 2013.

148. Szilágyi M., Körmendy B., Suri A., Tuboly S., Nagy Gy.: **Experimental paratuberculosis (Johne's disease) – studies on biochemical parameters in cattle**. Arch. Exper. Vet. Med. 43. 463–470, 1989.
149. Tiwari, A., Van Leeuwen, J.A., Dohoo, I.R., Keefe, G.P., Haddad, J.P., Tremblay, R., Scott, H.M., Whiting, T.: **Production effects of pathogens causing bovine leu-kosis, bovine viral diarrhea, paratuberculosis, and neosporosis**. J. Dairy Sci., 90. 659–669, 2007.
150. Tiwari, A., Vanleeuwen, J.A., Dohoo, I. R., Keefe, G.P., Haddad, J.P., Scott, H.M., Whiting, T.: **Risk factors associated with Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis seropositivity in Canadian dairy cows and herds**. Prev. Vet. Med., 88. 32-41, 2009.
151. Torres, J., Mehadru, S., Colombel, J.F., Peyrin-Biroulet, L.: **Crohn's disease**. Lancet, 389. 1741–1755, 2017.
152. Tuberquia-López, B.C., Correa-Valencia, N.M., Hernández-Agudelo, M., Fernandez-Silva, J., Ramírez-Vásquez, N.F.: **Paratuberculosis control strategies in dairy cattle: A systematic review**. Open Vet. J., 12. 525-539, 2022.
153. Turenne, C.Y., Alexander, D.C.: **Mycobacterium avium Complex**. In Paratuberculosis: Organism, Disease, Control (eds. M. A. Behr and D. M. Collins). CABI, Wallingford, UK., 60-69, 2010.
154. Twort, F.W., Ingham, G.L.Y.: **The method for isolating and cultivating the Mycobacterium enteritidis chronicae pseudotubercuosa bovis johne and some experiments on the preparation of a diagnostic vaccine for pseudo-tuberculosis enteritis of bovines**. Proc. Royal. Soc. London, 84. 517-543, 1912.
155. Waddel, L., Rajic, A., Stark, K.D.C., McEwen, S.A.: **The zoonotic potential of Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis: systematic review and meta-analyses of the evidence**. Epidemiol. Infect., 143. 3135–3157, 2015.
156. Weiss, D.J., Evanson, O.A., Souza, C.D.: **Mucosal immune response in cattle with subclinical Johne's disease**. Vet. Pathol., 43. 127–135, 2006.
157. Wells, S.J., Wagner, B.A.: **Herd-level risk factors for infection with Mycobacterium paratuberculosis in US dairies and association between familiarity of the herd manager with the disease or prior diagnosis of the disease in that herd and use of preventive measures**. J. Am. Vet. Med. Assoc., 216. 1450–1457, 2000.
158. Whitlock, R.H., Wells, S.J., Tiem, J.V.: **ELISA and fecal culture for paratuberculosis (Johne's disease): Sensitivity and specificity of each method**. Vet. Microbiol., 77. 387–398, 2000.
159. Whittington, R.J., Marshall, D.J., Nicholls, P.J., Marsh, I.B., Reddacliff, L.A.: **Survival and dormancy of Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis in the environment**. Appl. Environ. Microbiol., 70. 2989–3004, 2004.
160. Whittington, R.J., Windsor, P.A.: **In utero infection of cattle with Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis: a critical review and meta-analysis**. Vet. J., 179. 60–69, 2009.
161. Whittington, R., Donat K., Weber, M.F., Kelton, D., Nielsen, S.S., Eisenberg, S., Arrigoni, N., Juste, R., Luis Saez, J., Dhand, N., Santi, A., Michel, A., Barkema, H., Kralik, P., Kostoulsa, P.,

- Citer, L., Griffin, F., Barwell, R., Moreira, M.A.S., Slana, I., Momotani, E., Heuer, C., Norton, S., Cadmus, S., Agdestein, A., Kampen, A., Sztejn, J., Frössling, J., Schwan, E., Carter, M., Wolf, R., Gurung, R., Fourichon, C., Yamamoto, T., Ekgatit, M., Gil, A., Piaggio, J., Suanes, A., de Waard, J.H.: **Control of paratuberculosis: who, why and how. A review of 48 countries.** BMC Vet. Res., 15, 19, 2019.
162. Wilson, D.J., Rossiter, C., Han, H.R., Sears, P.M.: **Association of Mycobacterium paratuberculosis infection with reduced mastitis, but with decreased milk production and increased cull rate in clinically normal dairy cows.** Am. J. Vet. Res., 54. 1851–1857, 1993.
163. Windsor, P.A., Whittington, R.J.: **Evidence for age susceptibility of cattle to Johne's disease.** Vet. J., 184. 37–44, 2010.
164. Wolf, R., Orsel, K., De Buck, J., Barkema, H.W.: **Calves shedding Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis are common on infected dairy farms.** Vet. Res. 46. 71, 2015.
165. Wolf, R., Donat, K., Khol, J.L., Barkema, H.W., Kastelic, J., Wagner, P.: **Detection of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis infected cattle herds using environmental samples: a review.** Berl. Munch. Tierarz. Wochenschr., 130. 4-12, 2017.
166. Wu, C.W., Livesey, M., Schmoller, S.K., Manning, E.J.B., Steinberg, H., Davis, W.C., Hamilton, M.J., Talaat, A.M.: **Invasion and persistence of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis during early stages of Johne's disease in calves.** Infect. Immun., 75. 2110–2119, 2007.
167. You, Q., Verschoor, C.P., Pant, S.D., Macri, J., Kirby, G.M., Karrow, N.A.: **Proteomic analysis of plasma from Holstein cows testing positive for Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis (MAP).** Vet. Immunol. Immunopathol., 148. 243–251, 2012.
168. Zaaijer, D., Noordhuizen, J.P.T.M.: **A novel scoring system for monitoring the relationship between nutritional efficiency and fertility in dairy cows.** Ir. Vet. J. 56. 145–151, 2003.
169. Zurbrick, B.G., Follet, D.M., Czuprynsky, C.J.: **Cytokine regulation of the intracellular growth of Mycobacterium paratuberculosis in bovine monocytes,** Infect. Immun., 56. 1692-1697, 1988.

8 Saját közlemények

8.1 Az értekezés témájához kapcsolódó publikációk

8.1.1 Lektorált, impakt faktossal bíró tudományos folyóiratban megjelent/elfogadott publikációk

1. Vass-Bognár B., Bakony M., Baumgartner W., Khol J. L., Jurkovich V.: **Association between calf rearing technology and farm-level paratuberculosis infection in Hungarian dairy farms.** Prev. Vet. Med., 207. 105719, 2022.
2. Vass-Bognár B., Jánosi Sz., Baumgartner W., Khol J. L., Jurkovich V.: **A paratuberculosis diagnosztizálásának lehetőségei szarvasmarhában** Magy. Állatorv. Lapja, 142. 579-592, 2020.
3. Bognár B., Farkas K., Fornyos K., Zrúfkó R., Baumgartner W., Khol J.L., Jurkovich V.: **A szarvasmarhák paratuberculosisa és az ember Crohn-betegsége közötti lehetséges kapcsolat.** Magy. Állatorv. Lapja, 141. 659-675, 2019.
4. Jurkovich V., Bognár B., Balogh Krisztián, Kovács-Weber M., Fornyos K., Szabó R., Kovács P., Könyves L., Mézes M.: **Effects of subclinical Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis infection on some physiological parameters, health status and production in dairy cows.** Acta Vet. Hung., 64. 301-312, 2016.

8.1.2 A kutatás eredményeinek megjelenése nemzetközi tudományos konferenciákon

1. Vass-Bognár B., Baumgartner W., Fornyos K., Jurkovich V.: **Prediction of clinical paratuberculosis with RT-qPCR.** In: Abstract book of the 15th Congress of International Association for Paratuberculosis, 12-16 June 2022, Dublin, Ireland, p. 224
2. Jurkovich V., Bakony M., Vass-Bognár B.: **Factors associated with the spread of paratuberculosis in Hungarian dairy cattle herds.** In: Abstract book of the 15th Congress of International Association for Paratuberculosis, 12-16 June 2022, Dublin, Ireland, p. 225
3. Vass-Bognár B., Fornyos K., Jurkovich V.: **Measuring environmental faecal samples on dairy farms infected with paratuberculosis.** In: Abstract book of the 31st World Buiatrics Congress, Vol. 2., 4-8 Sept 2022, Madrid, Spain, p. 136.

4. Bognár, B., Fornyos, K., Jurkovich, V.: **A klinikai paratuberculosis előrelépése bélsár Rt-PCR vizsgálattal - előzetes eredmények** In: Szenci, Ottó; Brydl, Endre (szerk.) A Magyar Buiatrikus Társaság 29. nemzetközi kongresszusa: Proceedings Hévíz, Magyar Buiatrikusok Társasága pp. 57-60, 2019.
5. Bognár B., Jurkovich V.: **Major risk factors for environmental and farming technology involved in the spread of paratuberculosis in Hungarian dairy herds.** In: Sebastian Opaliński (szerk.) Proceedings of the XIXth International Congress of International Society for Animal Hygiene, Wrocław, Poland, 2019.09.08-2019.09.12. pp 56-57.
6. Bognár B., Fornyos K., Jurkovich V.: **A kérődzők paratuberculosisának kimutatására szolgáló újabb diagnosztikai módszerek.** In: A Magyar Buiatrikus Társaság 29. nemzetközi Kongresszusa, Proceedings, 2019. 11. 13-16., Hévíz, pp. 210-213, 2019.
7. Bognár B., Fornyos K., Jurkovich V.: **Paratuberculosis, mint lehetséges közegészségügyi veszélyforrás.** In: 18. Közép-Európai Buiatrikus Kongresszus, 2018. 05. 30 - 06. 02., Eger, Magyar Állatorvosok Lapja, 140 (Suppl. 1.), 259-262, 2018.
8. Bognár B., Jurkovich V.: **A paratuberculosis terjedésében szerepet játszó fontosabb környezeti és tartástechnológiai kockázati tényezők hazai tehenészetekben– előzetes eredmények.** In: 18. Közép-Európai Buiatrikus Kongresszus, 2018. 05. 30 - 06. 02., Eger, Magyar Állatorvosok Lapja, 140 (Suppl. 1.), 36-40, 2018.
9. Bognár B., Jurkovich V.: **A paratuberculosis diagnosztikai lehetőségei.** In: A Magyar Buiatrikus Társaság 27. nemzetközi Kongresszusa, Proceedings, 2017. 11. 15-18., Hévíz, pp. 194-197, 2017.
10. Jurkovich V., Bognár B., Balogh K., Kovacs-Weber M., Szabo R.T., Kovacs P., Könyves L., Fornyos K., Mézes M.: **The effects of subclinical M. avium ssp. paratuberculosis infection on the health and production parameters of dairy cows.** In Proceedings of the 29th World Buiatrics Congress, Dublin, Ireland, 3-8 July 2016. pp 529.
11. Bognár B., Balogh K., Mézes M., Kovács-Weber M., Szabó Rubina T., Könyves L., Jurkovich V.: **Szubklinikai Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis fertőzöttség hatása tejelő tehenek egészségére és teljesítményére – előzetes eredmények.** In: A magyar Buiatrikus Társaság 25. Jubileumi Nemzetközi Kongresszusa, 2015. 09. 13-16., Budapest. Magyar Állatorvosok Lapja, 137 (Suppl. 1) 21-25., 2015

8.2 A doktori kutatás témájához nem kapcsolódó tudományos közlemények

1. Sáfár J., Hejel P., Vass-Bognár B., Kiss L., Seregi B., Könyves L.: **The impact of environmental factors on bovine respiratory disease complex in dairy calves - a review.** Acta Vet. Brno, 92. 213-231, 2023.
2. Losonczy E., Vass-Bognár B., Lang Zs., Könyves L.: **A vakcinázás hatékonyságának és a malacok maternalis immunitásának vizsgálata egy hazai nagyüzemi sertésállományban.** Magy. Állatorv. Lapja, 145. 195-210, 2023.
3. Hejel P., Jurkovich V. Bognár B., Kovács P., Brydl E., Könyves L.: **Monitoring the redox status in dairy cows by using plasma dROMs, PAT, and OSI biomarkers.** Acta Vet. Brno, 90. 125-134, 2021.
4. Hejel P., Sáfár J., Bognár B., Kiss L., Jurkovich V., Brydl E., Könyves L.: **The impact of the oxidative status on the reproduction of cows and the calves' health – a review.** Acta Vet. Brno, 90. 3-13, 2021.
5. Hejel P., Jurkovich V., Bognár B., Kovács P., Brydl E., Könyves L.: **Az oxidatív stressz jelentősége és a monitoring lehetősége tejhasznú szarvasmarha-állományokban: Irodalmi összefoglaló.** Magy. Állatorv. Lapja, 141. 471-480, 2019.

9 Köszönetnyilvánítás

Szeretném első sorban megköszönni családom bátorítását és támogatását a doktori tanulmányaim és az értekezés megírása alatt. Férjem Koppány, és gyermekünk Richárd megértését és türelmét és szüleink állandó támogatását, ami nélkül ezen dolgozat nem jöhetett volna létre.

Külön szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek Dr. Jurkovich Viktornak, aki a kezdetektől fogva hasznos szakmai tanácsaival és kitartó támogatásával segítette e dolgozat létrejöttét. Nem feledkezhetek meg Prof. Mézes Miklósról és Dr. Kovács-Wéber Máriáról, akik PhD tanulmányaim megkezdése előtt bátorítottak a felvételire és az elkezdett téma folytatására.

Köszönettel tartozom Prof. Walter Baumgartnernek és Dr. Johannes Khol-nak, a cikkírásban nyújtott segítségükért és hogy a témabizottság tagjaként értékes véleményükkel segítették dolgozatom vizsgálatának kialakítását.

Köszönet illeti az ÁTE Állathigiénia, Állomány-egészségtani Tanszék és Mobilklinika valamennyi munkatársát, akik PhD munkám alatt folyamatosan támogattak, továbbá hálával tartozom Dr. Bakony Mikoltnak és Abonyi-Tóth Zsoltnak a statisztikai elemzésekben nyújtott segítségért.

Szeretném megköszönni dr. Lebard Károlynak, Lebardtné Szilvási Anikónak és Branduse Lászlónak, hogy a korábbi M.A.H. Food Controll Kft. majd mostani Eurofins Vet-Controll Kft. laboratóriumában az ELISA és PCR vizsgálatokat elvégezhetjük és Fornyos Kingának a mérések helyes kivitelezésében nyújtott segítségét.

Köszönöm az ÁTE Állathigiénia, Állomány-egészségtani Tanszék és Mobilklinika laboratóriumában dolgozó kollégáknak (Brydlné Németh Erzsébet, Rössler Károlyné biokémiai mérések elvégzésében).

Nem utolsó sorban pedig köszönet illeti a dolgozatban meg nem nevezett állattartó telepek állatorvosait és telepvezetőit, hogy adataikat rendelkezésünkre bocsájtották, helyszínt biztosítottak a mintavételekhez és minden látogatás során 1-2 jó szóval vagy kellemes kávéval bíztattak a vizsgálatok folytatására.

A munkát az alábbi projektek támogatták:

- EFOP-3.6.1-16-2016-00024 „Intelligens szakosodást szolgáló fejlesztések az Állatorvostudományi Egyetem és a Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának együttműködésében”

- EFOP-3.6.2-16-2017-00012 „Funkcionális, egészséges és biztonságos élelmiszer termékpálya modell kidolgozása a szántóföldtől az asztalig elv alapján, tematikus kutatási hálózatban”
- EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005 „Tudományos utánpótlás erősítése a hallgatók tudományos műhelyeinek és programjainak támogatásával, a mentorálás folyamatának kidolgozásával.

10 Függelék

F1. táblázat: A szubklinikai paratuberculosis stádiumában lévő és a kontroll csoport anyagcsere paramétereinek átlaga és szórása mintavételeként

Mintavétel	TP átlag	TP szórás	Alb átlag	Alb szórás	karbamid	karbamid szórás	CH	CH szórás	TG	TG szórás	BHB	BHB szórás	NEFA	NEFA szórás
Kontroll csoport														
ellés előtt 10-14 nap	92,8	17,0	31,7	3,3	7,6	1,1	2,5	0,9	0,3	0,2	0,5	0,2	0,4	0,2
ellés után (e.u.) 2-5 nap	83,9	18,0	31,7	5,0	7,4	1,1	2,2	0,4	0,1	0,0	0,9	0,3	0,7	0,3
e.u. 10. nap	94,2	16,7	32,1	2,8	6,9	1,7	2,7	0,9	0,1	0,1	0,5	0,1	0,7	0,4
e.u. 20. nap	95,3	12,2	33,3	2,8	8,4	0,8	4,5	1,6	0,1	0,0	0,6	0,2	0,3	0,2
e.u. 30. nap	88,0	10,6	32,9	2,1	8,1	1,2	4,8	1,6	0,2	0,2	0,8	0,3	0,3	0,2
e.u. 40. nap	87,4	16,7	31,5	3,1	7,8	1,5	5,1	1,8	0,1	0,1	0,8	0,4	0,2	0,1
e.u. 50. nap	94,8	14,9	33,2	2,3	8,2	1,5	4,8	1,9	0,1	0,0	0,5	0,2	0,3	0,2
e.u. 60. nap	97,9	13,6	34,7	2,6	7,3	1,5	6,3	1,9	0,1	0,0	0,7	0,2	0,2	0,1
e.u. 80. nap	98,2	11,1	35,1	1,6	7,6	1,4	6,1	1,6	0,1	0,0	0,6	0,3	0,3	0,1
e.u. 100. nap	98,5	11,9	37,4	2,7	9,3	1,2	7,1	2,0	0,1	0,1	0,7	0,3	0,3	0,3
e.u. 120. nap	101,0	8,3	37,9	3,0	8,3	2,4	7,3	2,4	0,2	0,2	0,7	0,3	0,2	0,1
PTB+ csoport														
ellés előtt 10-14 nap	101,0	22,2	32,4	3,0	7,5	1,9	2,7	0,5	0,3	0,5	0,5	0,2	0,2	0,1
ellés után (e.u.) 2-5 nap	96,8	15,3	32,9	2,1	7,0	1,3	2,7	0,6	0,2	0,2	0,8	0,3	0,8	0,6
e.u. 10. nap	102,3	17,5	31,8	3,5	7,4	1,2	3,4	1,2	0,1	0,1	0,6	0,2	0,6	0,4
e.u. 20. nap	99,1	17,8	32,5	2,6	7,2	1,3	4,3	1,1	0,1	0,1	0,7	0,3	0,6	0,4
e.u. 30. nap	99,7	14,9	32,6	3,6	7,6	1,8	4,9	1,2	0,1	0,1	0,8	0,4	0,4	0,2
e.u. 40. nap	98,7	12,4	33,4	3,2	7,5	1,5	5,6	1,6	0,2	0,1	0,7	0,3	0,3	0,2
e.u. 50. nap	102,0	12,2	33,9	3,8	8,4	1,9	5,7	1,2	0,1	0,1	0,6	0,3	0,3	0,1
e.u. 60. nap	100,5	14,3	34,4	2,9	9,3	1,7	6,2	1,6	0,1	0,1	0,8	0,4	0,2	0,1
e.u. 80. nap	105,6	12,9	36,1	3,7	8,3	2,3	6,4	1,6	0,1	0,1	0,5	0,2	0,2	0,1
e.u. 100. nap	103,3	12,4	36,6	3,2	7,8	2,7	5,7	1,7	0,2	0,1	1,0	0,7	0,3	0,1
e.u. 120. nap	103,9	10,6	36,6	4,0	6,8	3,1	6,1	1,9	0,1	0,1	0,8	0,4	0,2	0,1

Mintavétel	Ca	Ca szórás	anorg P	anorg P szórás	karotin	karotin szórás	AST	AST szórás	ALT	ALT szórás	GGT	GGT szórás	vizelet pH	vizelet pH szórás	vizelet NSBÜ	vizelet NSBÜ szórás
Kontroll csoport																
ellés előtt 10-14 nap	2,3	0,6	1,5	0,7	2,2	1,2	35,4	13,9	19,6	8,1	14,0	4,4	8,4	0,0	217,5	10,6
ellés után (e.u.) 2-5 nap	2,1	0,7	1,7	0,6	1,5	0,7	41,5	16,3	17,7	9,2	17,8	9,2	8,4	0,1	233,1	29,3
e.u. 10. nap	2,3	0,5	1,8	0,8	1,4	0,7	32,3	9,6	17,4	9,7	14,0	2,2	8,4	0,1	209,1	49,4
e.u. 20. nap	2,3	0,4	2,0	0,4	2,6	1,6	26,4	4,2	19,5	4,9	14,6	3,0	8,4	0,1	221,4	55,7
e.u. 30. nap	2,0	0,3	1,9	0,5	2,0	0,9	30,0	4,7	16,1	3,9	14,9	1,6	8,4	0,1	230,4	36,4
e.u. 40. nap	1,9	0,3	1,7	0,3	2,3	0,7	28,1	5,2	17,8	6,4	15,0	2,8	8,4	0,1	209,6	44,4
e.u. 50. nap	2,3	0,3	1,7	0,2	2,4	1,1	33,2	7,3	16,0	7,1	16,8	2,8	8,4	0,1	206,3	50,5
e.u. 60. nap	2,2	0,5	1,9	0,2	3,2	1,5	37,4	13,8	17,9	5,2	17,8	4,6	8,3	0,2	186,9	48,4
e.u. 80. nap	2,0	0,1	1,9	0,3	3,0	1,5	37,9	17,7	17,9	9,4	18,2	5,4	8,4	0,1	211,4	42,8
e.u. 100. nap	1,8	0,4	2,2	0,3	3,7	1,4	53,4	33,5	22,9	4,2	21,6	7,0	8,4	0,1	156,6	90,5
e.u. 120. nap	1,8	0,4	2,0	0,3	3,7	1,4	47,4	15,1	21,0	4,1	21,3	8,4	8,4	0,2	173,0	54,8
PTB+ csoport																
ellés előtt 10-14 nap	2,4	0,3	1,5	0,5	2,2	0,8	36,7	13,0	19,4	13,4	18,3	8,2	8,4	0,1	172,0	40,7
ellés után (e.u.) 2-5 nap	2,3	0,4	1,4	0,5	1,7	0,4	34,3	16,9	16,3	4,9	17,5	11,0	8,3	0,3	168,8	83,8
e.u. 10. nap	2,2	0,3	1,4	0,4	2,0	0,8	31,7	11,5	17,9	11,5	21,0	12,5	8,4	0,1	178,8	51,9
e.u. 20. nap	2,2	0,4	1,6	0,6	2,3	1,0	28,0	7,9	21,9	17,4	18,6	9,5	8,4	0,1	200,5	55,2
e.u. 30. nap	2,2	0,3	1,9	0,5	2,3	0,7	30,3	13,1	14,2	4,6	16,4	5,7	8,3	0,3	190,2	63,8
e.u. 40. nap	2,2	0,5	1,7	0,5	2,8	0,9	32,1	10,2	17,0	5,9	18,3	6,8	8,3	0,3	196,3	69,3
e.u. 50. nap	2,1	0,3	1,8	0,3	2,8	1,1	31,6	8,8	17,6	7,1	17,9	7,4	8,4	0,2	203,8	52,3
e.u. 60. nap	2,2	0,5	1,9	0,4	3,1	1,1	44,1	20,9	19,0	5,0	19,6	7,4	8,4	0,1	180,9	62,4
e.u. 80. nap	1,9	0,5	1,8	0,3	2,9	0,9	45,3	12,6	18,1	6,0	21,7	8,2	8,3	0,2	163,6	52,9
e.u. 100. nap	1,9	0,5	1,9	0,5	2,7	0,9	46,4	23,1	19,0	5,6	19,4	5,5	8,3	0,2	180,9	62,7
e.u. 120. nap	1,9	0,3	1,8	0,3	3,1	0,9	47,6	13,3	20,3	9,5	22,8	6,7	8,4	0,2	174,6	63,5

F2. táblázat: A vizsgálatba bevont állatok bélsár, kondíciópont és bendőteltségének átlaga és szórása a különböző mintavételi időpontokban

Mintavétel	BCS	BCS szórás	Bélsárpontszám	Bélsárpontszám szórás	Bendőteltség	Bendőteltség szórás
Kontroll csoport						
ellés előtt 10-14 nap	3,6	0,2	3,0	0,0	4,0	1,4
ellés után (e.u.) 2-5 nap	3,3	0,3	2,5	0,7	3,5	2,1
e.u. 10. nap	3,1	0,3	2,0	0,0	1,7	0,6
e.u. 20. nap	2,9	0,2	2,0	0,0	2,6	0,5
e.u. 30. nap	2,8	0,3	2,4	0,5	2,6	0,5
e.u. 40. nap	2,7	0,3	2,4	0,5	2,6	0,5
e.u. 50. nap	2,6	0,3	2,7	0,5	2,7	0,5
e.u. 60. nap	2,8	0,3	2,6	0,5	2,8	0,4
e.u. 80. nap	2,9	0,2	2,6	0,5	3,0	0,0
e.u. 100. nap	3,0	0,0	2,5	0,5	2,8	0,5
e.u. 120. nap	3,0	0,0	2,7	0,5	2,8	0,4
PTB+ csoport						
ellés előtt 10-14 nap	3,0	0,3	2,8	0,4	3,7	0,8
ellés után (e.u.) 2-5 nap	2,8	0,5	1,3	0,5	1,3	0,5
e.u. 10. nap	2,5	0,5	1,5	0,5	1,9	0,4
e.u. 20. nap	2,3	0,4	1,6	0,7	1,7	0,8
e.u. 30. nap	2,0	0,4	1,9	0,8	2,3	0,6
e.u. 40. nap	1,9	0,4	1,9	0,7	2,4	0,6
e.u. 50. nap	1,8	0,5	2,0	0,5	2,7	0,6
e.u. 60. nap	2,1	0,6	2,1	0,6	2,4	0,5
e.u. 80. nap	2,2	0,4	2,1	0,6	2,5	0,5
e.u. 100. nap	2,3	0,4	2,1	0,7	2,7	0,6
e.u. 120. nap	2,5	0,4	2,0	0,7	2,4	0,5

F3. táblázat: A vizsgálatba bevont állatok tejtermelési és tej-beltartalmi értékeinek átlaga és szórása a különböző dekád (10 napos) tejmintavételi időpontokban

Mintavétel	Tejhozam (L)	Tejhozam(L) szórás	Zsír%	Zsír% szórás	Fehérje%	Fehérje% szórás	SCC	SCC szórás
Kontroll csoport								
1. dekád	47,2	11,1	3,7	0,9	3,3	0,4	620,9	978,5
2. dekád	53,4	9,1	3,3	0,7	3,0	0,2	232,5	312,1
3. dekád	52,2	8,7	2,9	0,5	3,0	0,2	459,4	1221,2
4. dekád	50,2	6,2	3,0	0,9	3,1	0,2	535,8	989,6
5. dekád	47,4	7,1	3,1	0,5	3,1	0,3	598,7	642,1
6. dekád	45,1	4,2	3,2	0,8	3,3	0,3	148,0	115,0
7. dekád	44,5	3,9	2,8	0,7	3,3	0,3	347,8	539,2
8. dekád	43,9	4,8	3,4	0,4	3,4	0,4	160,2	116,3
9. dekád	40,0	7,6	3,7	0,6	3,6	0,3	360,6	173,9
10. dekád	37,1	8,8	4,3	0,5	3,6	0,3	270,8	256,7
11. dekád	48,5	8,4	3,6	0,6	3,2	0,3	107,0	110,6
PTB+ csoport								
1. dekád	44,4	8,6	3,9	0,8	3,2	0,3	714,7	1971,3
2. dekád	49,9	9,5	3,5	0,6	3,0	0,3	605,3	1124,9
3. dekád	48,2	10,4	3,4	0,6	3,1	0,3	607,5	1008,5
4. dekád	47,8	8,5	3,4	0,7	3,2	0,2	680,6	1039,6
5. dekád	44,5	11,8	3,4	0,8	3,3	0,3	445,0	647,8
6. dekád	41,0	8,3	3,5	0,6	3,3	0,2	308,3	318,0
7. dekád	42,0	6,8	3,5	0,6	3,4	0,2	528,5	743,0
8. dekád	38,9	7,2	3,6	0,8	3,4	0,3	367,1	354,0
9. dekád	35,7	10,0	4,1	0,9	3,6	0,3	673,7	1136,6
10. dekád	33,2	8,8	3,8	0,8	3,7	0,3	518,7	728,8
11. dekád	37,3	3,5	4,2	0,6	3,6	0,3	763,7	1234,6

F4. táblázat: A higiéniai pontszámok alakulása telepenként

Telep	Állatlétszám	Látszólagos MAP szeropozitivitás	Higiénia pontszám	Anyával töltött idő	Borjú-tehén találkozás	PTB pozitív kolosztrom kezelés	Választás előtti takarmányozás	Kolosztrom itatás	Elletés módja	Ellető-betegistálló távolság	PTB+ tehén elletés	Elletői higiénia	PTB+ állatok kezelése
1	<500	2,10%	6	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1
2	<500	4,91%	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
3	<500	7,05%	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
4	<500	8,10%	6	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1
5	<500	13,38%	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
6	>500	2,00%	8	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1
7	>500	2,02%	10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8	>500	2,36%	4	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1
9	>500	2,92%	4	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0
10	>500	2,99%	5	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0
11	>500	3,05%	9	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
12	>500	4,01%	8	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1
13	>500	5,18%	8	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1
14	>500	5,22%	8	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
15	>500	5,92%	3	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0
16	>500	6,35%	2	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
17	>500	6,69%	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
18	>500	7,24%	5	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1
19	>500	10,93%	5	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
20	>500	11,96%	4	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0
21	>500	11,96%	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
22	>500	12,08%	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
23	>500	14,02%	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
24	>500	16,75%	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
25	>500	17,93%	3	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1
26	>500	19,46%	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

1: A betegség terjedésének megakadályozása szempontjából helyes gyakorlat

0: A betegség terjedésének szempontjából nem előnyös gyakorlat

F5. táblázat: A 4 éves látszólagos szeroprevalencia változása és az alkalmazott mentesítési stratégiák telepenként

Telep	Kimondási szeroprevalencia (2018)	2019	2020	2021	4 év alatti változás	Mentesít? Évközből	Kiegészítő ELISA	Kiegészítő PCR	Mendement	Selejtez?	Selejtezés alapja
1	10,90%	11,60%	10,60%	10,30%	-0,60%	igen	igen	igen	nem	igen	belső PCR magas úntó (Ct érték alapján)
2	8,30%	7,16%	6,80%	7,20%	-1,10%	igen	igen	igen	nem	igen	belső PCR magas úntó (Ct érték alapján)
3	4,16%	6,44%	5,27%	5,60%	1,44%	igen	igen	igen	nem	igen	belső PCR magas úntó (Ct érték alapján)
4	2,49%	2,38%	1,65%	1,55%	-0,94%	igen	igen	igen	igen	igen	belső PCR magas úntó (Ct érték alapján)
5	3,60%	4,00%	2,80%	1,89%	-1,71%	igen	igen	igen	igen	igen	ELISA magas S/p alapján PCR pozitív
6	0,24%	0,88%	0,37%	0,48%	-0,23%	nem	nem	nem	nem	igen	ELISA poz. (nem rendszeres)
7	3,96%	6,86%	4,28%	5,20%	1,24%	nem	nem	nem	nem	igen	ELISA poz. (nem rendszeres)
8	8,60%	8,60%	2,80%	3,40%	-3,40%	igen	nem	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
9	3,09%	3,10%	2,70%	6,60%	3,51%	igen	nem	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
10	7,52%	9,81%	11,60%	7,90%	0,38%	igen	igen	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
11	11,47%	10,40%	6,41%	4,58%	-6,89%	igen	igen	nem	igen	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
12	8,24%	11,80%	14,75%	10,03%	1,79%	igen	nem	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
13	14,53%	10,20%	11,02%	9,40%	-5,13%	igen	igen	igen	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
14	1,62%	1,70%	2,10%	1,90%	0,28%	igen	igen	igen	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
15	1,04%	1,2%	0,99%	0,84%	-0,20%	igen	igen	nem	igen	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
16	1,45%	1,50%	1,33%	1,20%	-0,25%	igen	igen	igen	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
17	8,11%	8,44%	9,00%	8,50%	-0,39%	igen	igen	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
18	7,17%	7,2%	7,14%	7,50%	-1,30%	igen	igen	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
19	2,20%	2,30%	2,80%	2,70%	-1,51%	igen	nem	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
20	2,94%	3,00%	3,20%	3,40%	-0,84%	igen	nem	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
21	6,12%	6,48%	6,55%	5,98%	-1,17%	igen	igen	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
22	3,41%	3,20%	3,50%	3,44%	-0,67%	igen	igen	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
23	2,19%	2,33%	2,20%	2,40%	-0,79%	igen	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
24	2,06%	2,11%	3,31%	3,91%	-0,86%	igen	igen	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
25	3,25%	4,93%	4,80%	4,62%	-0,94%	igen	igen	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
26	3,40%	1,95%	1,13%	1,33%	-1,01%	igen	igen	nem	igen	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
27	4,72%	5,46%	6,72%	2,68%	-2,03%	igen	igen	igen	igen	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
28	6,64%	2,96%	2,19%	1,62%	5,02%	igen	igen	igen	igen	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
29	6,26%	6,76%	6,85%	7,10%	-0,84%	igen	nem	nem	nem	igen	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
30	5,91%	8,05%	10,47%	11,26%	-5,35%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
31	3,13%	6,83%	7,75%	8,20%	-5,07%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
32	5,83%	7,73%	8,17%	10,16%	-4,33%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
33	0,55%	1,46%	1,16%	2,00%	-1,45%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
34	2,24%	2,30%	2,45%	3,00%	-0,76%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
35	12,02%	12,50%	13,80%	14,50%	-2,48%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
36	2,54%	2,66%	3,04%	3,45%	-0,91%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
37	4,26%	5,20%	5,54%	6,70%	-2,44%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
38	6,32%	6,77%	7,50%	8,20%	-1,88%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
39	3,34%	4,50%	5,20%	5,40%	-2,06%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
40	10,53%	11,40%	12,00%	14,05%	-3,52%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
41	6,37%	7,50%	7,90%	7,50%	-1,13%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó
42	4,56%	5,50%	6,70%	6,99%	-2,43%	nem	nem	nem	nem	nem	ELISA pozitív nem termékeny/terdó

F6. táblázat: A paratuberculosis klinikai tünetei miatt kiesett állatok adatai

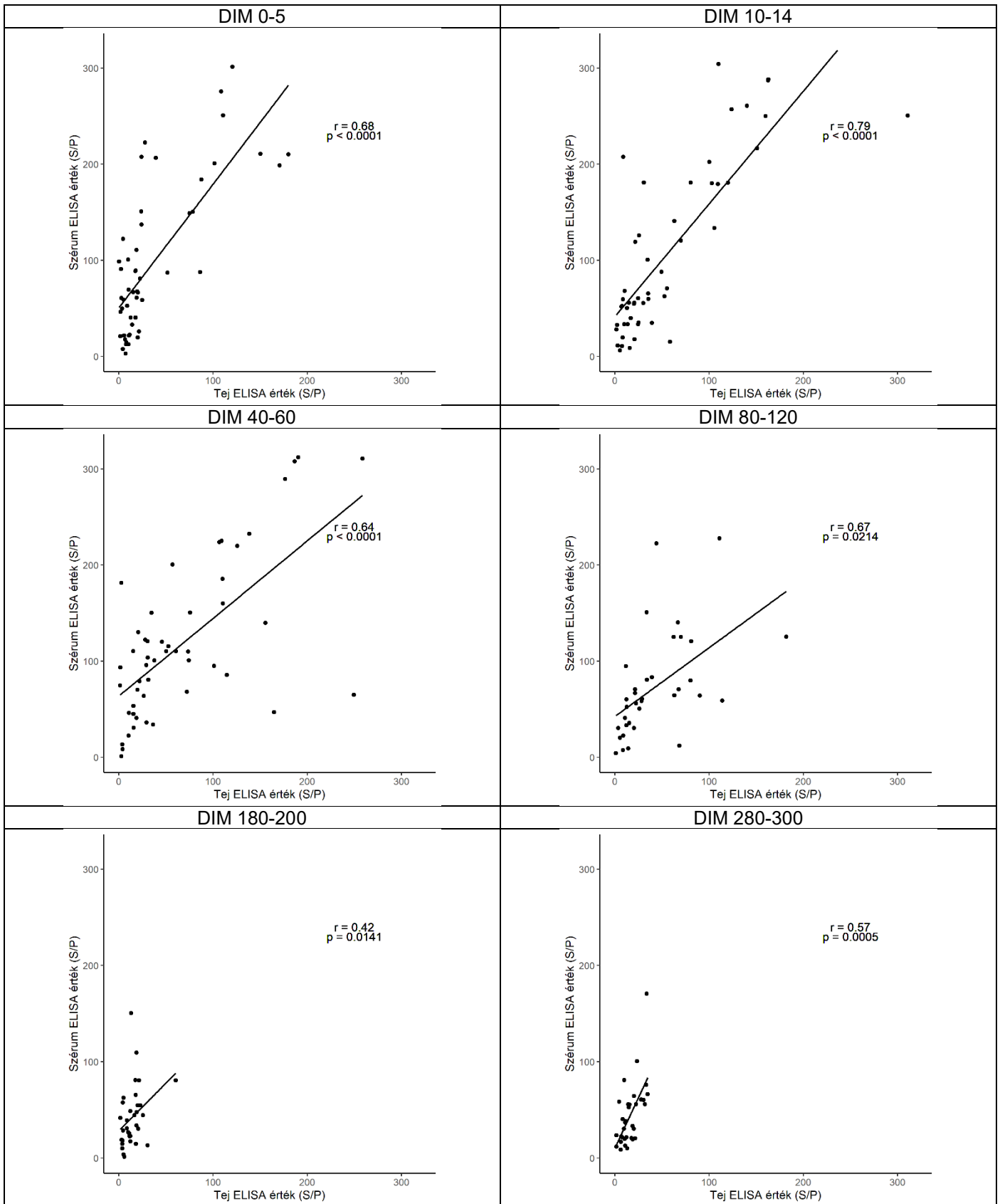
Azonosító	0-5. nap	10-14. nap	40-60. nap	90-120. nap	
PTB1	150,67	180,85	200,46	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB1	23,66	30,67	56,87	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB1	28,57	27,47	25,18	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB1	2	1	1	NA	bélsár pontszám
PTB2	150,43	180,77	185,65	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB2	78,6	80,56	110,11	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB2	22,1	17,54	23,58	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB2	3	2	1	NA	bélsár pontszám
PTB3	149	180	225	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB3	75	103	109	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB3	24	26	22	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB3	2	1	1	NA	bélsár pontszám
PTB4	210,65	260,79	312,02	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB4	150,22	140,11	190,45	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB4	22,4	20,2	17,99	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB4	3	3	1	NA	bélsár pontszám
PTB5	210,02	250,03	No Calc	No Calc	ELISA -szérum (S/P)
PTB5	180	160	190,3	198,65	ELISA -tej (S/P)
PTB5	22	17	19,02	18,55	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB5	3	1	1	1	bélsár pontszám
PTB6	250,652	180,545	160,327	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB6	110,763	120,164	110,487	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB6	24,7	22	21,7	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB6	3	1	1	NA	bélsár pontszám
PTB7	275,68	No Calc	289,464	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB7	108,65	266,498	176,33	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB7	22,4	17,5	19,3	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB7	2	2	1	NA	bélsár pontszám
PTB8	222,36	287,154	299,76	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB8	27,762	162,52	337,84	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB8	21,5	17,3	16,2	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB8	3	1	1	NA	bélsár pontszám
PTB9	207,48	288,17	307,87	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB9	24,049	162,78	186,55	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB9	21,6	19,5	18,9	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB9	3	1	1	NA	bélsár pontszám
PTB10	198,55	216,51	46,665	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB10	170,532	150,66	164,66	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB10	20,7	17,6	16,4	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB10	1	1	1	NA	bélsár pontszám
PTB11	301,33	250,56	36,143	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB11	120,44	310,6	29,27	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB11	21,5	17,8	15,9	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB11	2	1	1	NA	bélsár pontszám
PTB12	200,75	304,17	310,77	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB12	101,58	109,845	258,6	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB12	21,5	20,3	19,4	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB12	2	2	1	NA	bélsár pontszám
PTB13	206,46	133,42	64,71	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB13	39,356	105,64	249,55	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB13	19,6	20,5	20,2	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB13	2	1	1	NA	bélsár pontszám
PTB14	87,092	179,24	34,061	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB14	51,442	109,22	36,216	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB14	21,5	20,6	17,5	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB14	3	1	1	NA	bélsár pontszám
PTB15	137,12	257,07	232,32	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB15	24,1	123,88	138,44	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB15	21,2	20,4	20,1	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB15	3	2	1	NA	bélsár pontszám
PTB16	25,928	140,84	139,76	NA	ELISA -szérum (S/P)
PTB16	21,456	63,14	155,46	NA	ELISA -tej (S/P)
PTB16	21,5	20,4	17,2	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
PTB16	2	1	1	NA	bélsár pontszám

F7. táblázat: A vizsgálatba bevont, a paratuberculosis tüneteit nem mutató állatok adatai

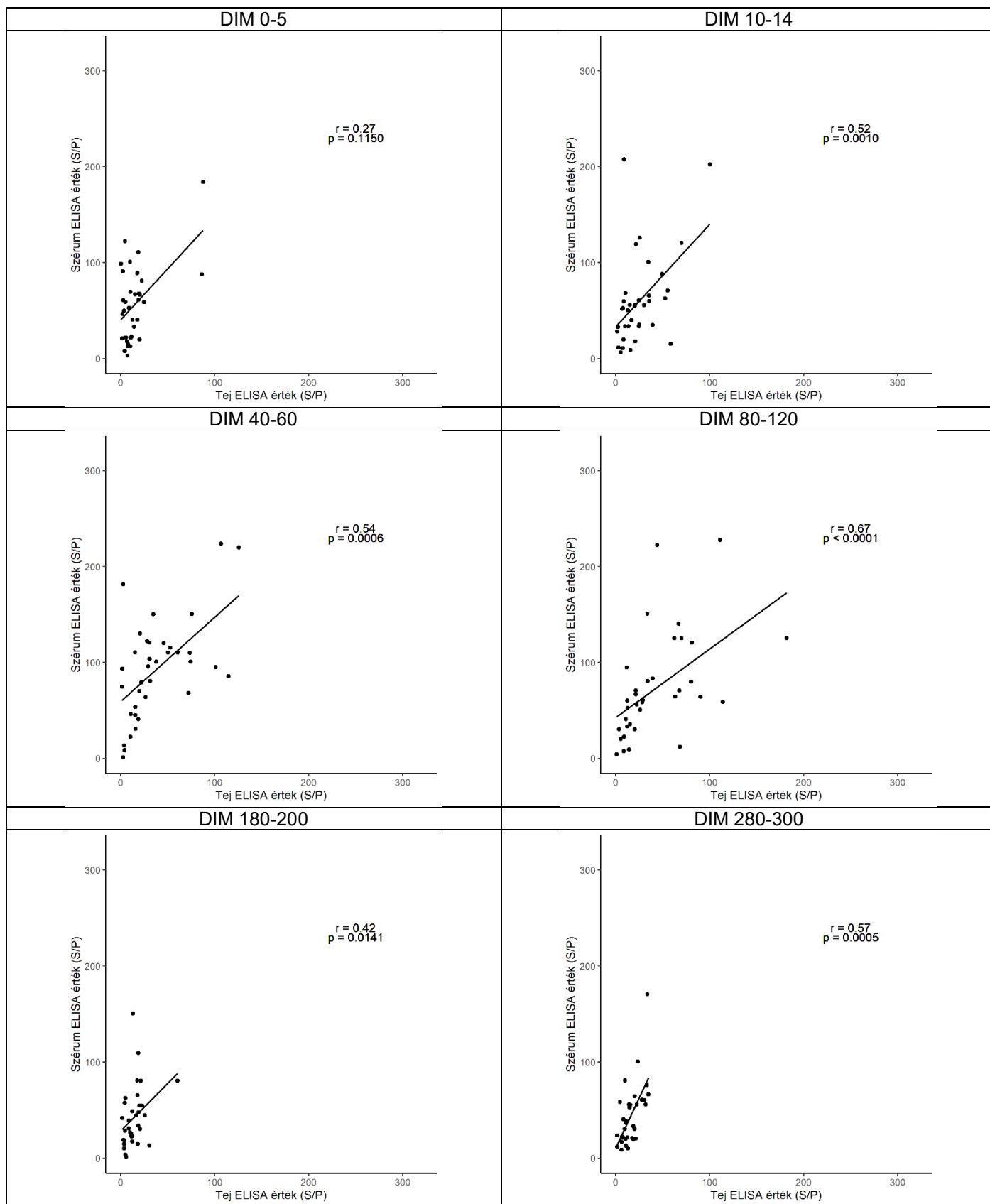
Azonosító	0-5. nap	10-14. nap	40-60. nap	90-120. nap	180-200. nap	Százraaállítás	
K1	80,77	100,4	120,14	70,66	80,54	21,33	ELISA -szérum (S/P)
K1	22,4	34,6	45,6	67,54	60,43	12,3	ELISA -tej (S/P)
K1	No Ct	42,51	33,65	39,66	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K1	3	3	2	3	4	4	bélsár pontszám
K2	12,4	33,5	110	125	54,6	55,7	ELISA -szérum (S/P)
K2	10,22	24,67	50,23	62,34	20,14	22,5	ELISA -tej (S/P)
K2	No Ct	34,13	32,1	37,4	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K2	3	3	4	4	4	4	bélsár pontszám
K3	12,4	33,5	110	125	54,6	60,7	ELISA -szérum (S/P)
K3	7,8	9,8	60,65	70	22,7	27,9	ELISA -tej (S/P)
K3	No Ct	33,23	29,94	30,4	38,9	35,6	RT-PCR - bélsár (Ct)
K3	4	4	3	3	4	4	bélsár pontszám
K4	66,5	55,48	40,67	60,54	44,5	38,12	ELISA -szérum (S/P)
K4	20,3	30,12	18,6	28,9	16,5	11,4	ELISA -tej (S/P)
K4	No Ct	34,13	32,1	37,4	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K4	4	4	4	4	4	4	bélsár pontszám
K5	100,65	120,45	150,42	120,66	80,6	100,34	ELISA -szérum (S/P)
K5	9,76	70,12	75,65	80,9	21,3	23,6	ELISA -tej (S/P)
K5	27,34	34,69	23,3	37,7	38,5	39,5	RT-PCR - bélsár (Ct)
K5	3	3	2	2	4	3	bélsár pontszám
K6	22,4	33,5	130,15	94,7	150,5	80,8	ELISA -szérum (S/P)
K6	11,4	13,6	20,6	11,76	12,96	9,87	ELISA -tej (S/P)
K6	30,8	30,97	32,71	35,7	39,6	38,9	RT-PCR - bélsár (Ct)
K6	3	3	4	4	4	4	bélsár pontszám
K7	21,6	10,67	22,45	55,8	33,67	12,7	ELISA -szérum (S/P)
K7	5,678	7,453	10,482	22,398	18,765	11,06	ELISA -tej (S/P)
K7	37,73	No Ct	37,78	30,72	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K7	3	4	4	3	4	4	bélsár pontszám
K8	60,78	55,65	63,78	22,45	30,67	40,33	ELISA -szérum (S/P)
K8	18,9	20,45	26,5	8,76	8,43	8,22	ELISA -tej (S/P)
K8	39,85	no Ct	33,81	No Ct	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K8	3	4	4	4	4	4	bélsár pontszám
K9	67,55	54,6	70,12	40,7	38,96	22,12	ELISA -szérum (S/P)
K9	19,6	20,34	19,66	10,56	8,43	6,55	ELISA -tej (S/P)
K9	29,3	35,82	38,5	No Ct	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K9	3	3	4	4	4	4	bélsár pontszám
K10	110,65	125,76	103,45	80,66	65,4	30,27	ELISA -szérum (S/P)
K10	18,7	25,6	30,6	34	17,9	20,1	ELISA -tej (S/P)
K10	32,4	30,3	35,2	37,9	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K10	3	3	3	3	4	4	bélsár pontszám
K11	19,5	60,4	120,5	150,7	80,9	55,4	ELISA -szérum (S/P)
K11	20,1	24,5	30,5	33,77	17,6	15,4	ELISA -tej (S/P)
K11	37,8	35,5	32,4	30,9	38,9	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K11	2	2	2	3	3	3	bélsár pontszám
K12	88,6	50,1	110,4	30,2	44,5	55,7	ELISA -szérum (S/P)
K12	17,6	12,7	15,1	20,4	25,6	14,1	ELISA -tej (S/P)
K12	38,2	39,8	34,4	41,2	36,6	33,8	RT-PCR - bélsár (Ct)
K12	3	3	4	4	4	4	bélsár pontszám
K13	89,24	118,9	150,3	140,2	48,7	33,2	ELISA -szérum (S/P)
K13	17,8	21,6	34,6	66,9	12,3	18,7	ELISA -tej (S/P)
K13	35,75	34,3	35,7	33,4	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K13	4	3	3	4	4	4	bélsár pontszám
K14	183,87	202,4	223,7	70,54	22,4	30,3	ELISA -szérum (S/P)
K14	87,6	100,22	106,54	21,3	11,4	9,65	ELISA -tej (S/P)
K14	33,69	25,74	29,4	30,4	No Ct	38,7	RT-PCR - bélsár (Ct)
K14	3	3	3	4	4	4	bélsár pontszám
K15	40,33	59,2	53,4	33,2	26,7	21,4	ELISA -szérum (S/P)
K15	17,6	8,5	15,43	12,34	9,76	7,65	ELISA -tej (S/P)
K15	No Ct	38,9	No Ct	No Ct	40,4	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K15	3	4	4	4	4	4	bélsár pontszám
K16	40,32	39,6	45,01	60,12	25,6	19,4	ELISA -szérum (S/P)
K16	17,8	16,9	15,6	12,3	11	18,9	ELISA -tej (S/P)
K16	35,6	No Ct	37,9	33,18	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K16	3	3	4	4	4	4	bélsár pontszám
K17	40,12	55,6	219,8	227,6	30,2	20,6	ELISA -szérum (S/P)
K17	12,6	14,9	125,64	110,9	20,5	17,6	ELISA -tej (S/P)
K17	37,6	35,8	24,13	25,42	No Ct	37,9	RT-PCR - bélsár (Ct)
K17	3	3	3	3	4	4	bélsár pontszám
K18	87,676	65,465	30,498	66,543	22,656	36,887	ELISA -szérum (S/P)
K18	86,365	35,376	15,638	21,462	12,394	10,954	ELISA -tej (S/P)
K18	29,6	37,15	38,9	No Ct	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K18	2	2	3	4	4	4	bélsár pontszám

Azonosító	0-5. nap	10-14. nap	40-60. nap	90-120. nap	180-200. nap	Szárazraállítás	
K19	20,824	27,862	45,981	52,312	41,653	23,543	ELISA -szérum (S/P)
K19	1,537	1,498	10,565	12,432	1,676	1,643	ELISA -tej (S/P)
K19	No Ct	No Ct	39,4	No Ct	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K19	3	3	4	4	4	4	bélsár pontszám
K20	60,75	70,54	95,6	50,417	47,542	58,229	ELISA -szérum (S/P)
K20	2,5057	55,4023	29	25,934	188,67	4,4052	ELISA -tej (S/P)
K20	34,6	33,2	No Ct	35,4	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K20	3	2	2	2	3	3	bélsár pontszám
K21	32,787	52,185	80,594	64,349	NA	NA	ELISA -szérum (S/P)
K21	14,12	7,7612	31,271	62,958	NA	NA	ELISA -tej (S/P)
K21	No Ct	33,2	No Ct	No Ct	NA	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
K21	2	2	3	3	NA	NA	bélsár pontszám
K22	90,643	34,833	85,461	222,36	18,679	64,329	ELISA -szérum (S/P)
K22	2,4423	39,168	114,63	44,16	3,0393	20,308	ELISA -tej (S/P)
K22	33,2	24,6	22,5	No Ct	No Ct	37,4	RT-PCR - bélsár (Ct)
K22	3	2	2	1	2	4	bélsár pontszám
K23	98,54	207,48	100,68	64,061	28,446	170,72	ELISA -szérum (S/P)
K23	0,33252	8,843	37,76	90,097	4,5628	33,731	ELISA -tej (S/P)
K23	32,1	28,6	No Ct	34,5	No Ct	39,8	RT-PCR - bélsár (Ct)
K23	4	4	3	3	3	4	bélsár pontszám
K24	2,8092	6,2781	13,356	4,0937	18,057	16,737	ELISA -szérum (S/P)
K24	7,273	5,422	3,7416	1,1519	3,887	6,514	ELISA -tej (S/P)
K24	No Ct	No Ct	No Ct	No Ct	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K24	4	3	3	4	4	4	bélsár pontszám
K25	7,6121	8,4772	93,364	11,904	1,1535	8,4772	ELISA -szérum (S/P)
K25	4,3719	15,742	1,6162	68,334	5,7699	6,1901	ELISA -tej (S/P)
K25	36,8	No Ct	33,5	No Ct	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K25	4	3	2	3	3	4	bélsár pontszám
K26	49,685	51,608	78,938	7,1493	14,621	19,892	ELISA -szérum (S/P)
K26	3,53	6,8759	21,888	8,534	3,763	10,28	ELISA -tej (S/P)
K26	No Ct	29,8	33,4	No Ct	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K26	3	3	3	3	4	4	bélsár pontszám
K27	21,738	19,565	74,522	9,0773	9,8621	52,617	ELISA -szérum (S/P)
K27	10,55	8,359	1,3598	14,028	3,7615	14,581	ELISA -tej (S/P)
K27	39,66	33,4	31,2	No Ct	34,5	36,9	RT-PCR - bélsár (Ct)
K27	4	3	2	3	3	4	bélsár pontszám
K28	17,543	32,511	0,976	20,11	17,14	9,77	ELISA -szérum (S/P)
K28	6,65	2,334	2,7634	5,3686	12,21	12,951	ELISA -tej (S/P)
K28	No Ct	No Ct	No Ct	No Ct	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K28	4	4	3	3	3	4	bélsár pontszám
K29	58,543	87,746	109,96	NA	57,42	55,76	ELISA -szérum (S/P)
K29	24,741	49,379	73,382	42,588	4,2399	31,678	ELISA -tej (S/P)
K29	36,7	No Ct	29,6	No Ct	No Ct	39,2	RT-PCR - bélsár (Ct)
K29	4	3	3	2	4	4	bélsár pontszám
K30	122,23	17,704	181,47	58,86	NA	NA	ELISA -szérum (S/P)
K30	4,4426	20,807	2,6096	113,99	NA	NA	ELISA -tej (S/P)
K30	No Ct	32,1	No Ct	No Ct	NA	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
K30	3	2	2	3	NA	NA	bélsár pontszám
K31	58,86	67,85	122,23	83,149	62,354	20,332	ELISA -szérum (S/P)
K31	4,99	10,463	28,165	39,366	5,155	21,405	ELISA -tej (S/P)
K31	38,7	35,6	37,4	No Ct	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K31	3	3	2	2	3	4	bélsár pontszám
K32	14,419	11,258	8,327	58,369	3,59	11,683	ELISA -szérum (S/P)
K32	8,0996	2,7768	3,9861	28,381	5,0834	1,6646	ELISA -tej (S/P)
K32	No Ct	No Ct	37,6	No Ct	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K32	3	3	2	3	3	4	bélsár pontszám
K33	69,367	62,557	100,63	35,479	13,099	75,908	ELISA -szérum (S/P)
K33	10,474	52,725	74,42	15,262	30,376	32,995	ELISA -tej (S/P)
K33	38,6	32,1	No Ct	37,6	No Ct	No Ct	RT-PCR - bélsár (Ct)
K33	3	3	2	3	3	4	bélsár pontszám
K34	46,358	35,108	68,001	30,393	NA	NA	ELISA -szérum (S/P)
K34	1,756	25,13	72,237	3,363	NA	NA	ELISA -tej (S/P)
K34	No Ct	37,6	No Ct	No Ct	NA	NA	RT-PCR - bélsár (Ct)
K34	3	1	3	4	NA	NA	bélsár pontszám
K35	66,658	59,718	115,44	79,703	14,493	59,995	ELISA -szérum (S/P)
K35	15,262	35,405	52,725	80,141	18,037	30,376	ELISA -tej (S/P)
K35	33,2	31,3	No Ct	No Ct	No Ct	38,5	RT-PCR - bélsár (Ct)
K35	3	2	2	3	3	3	bélsár pontszám
K36	52,567	15,153	94,994	125,33	109,34	66,243	ELISA -szérum (S/P)
K36	8,84	58,45	101,13	181,83	18,572	34,86	ELISA -tej (S/P)
K36	38,4	30,11	26,3	34,5	36,1	36,2	RT-PCR - bélsár (Ct)
K36	3	3	1	2	3	4	bélsár pontszám

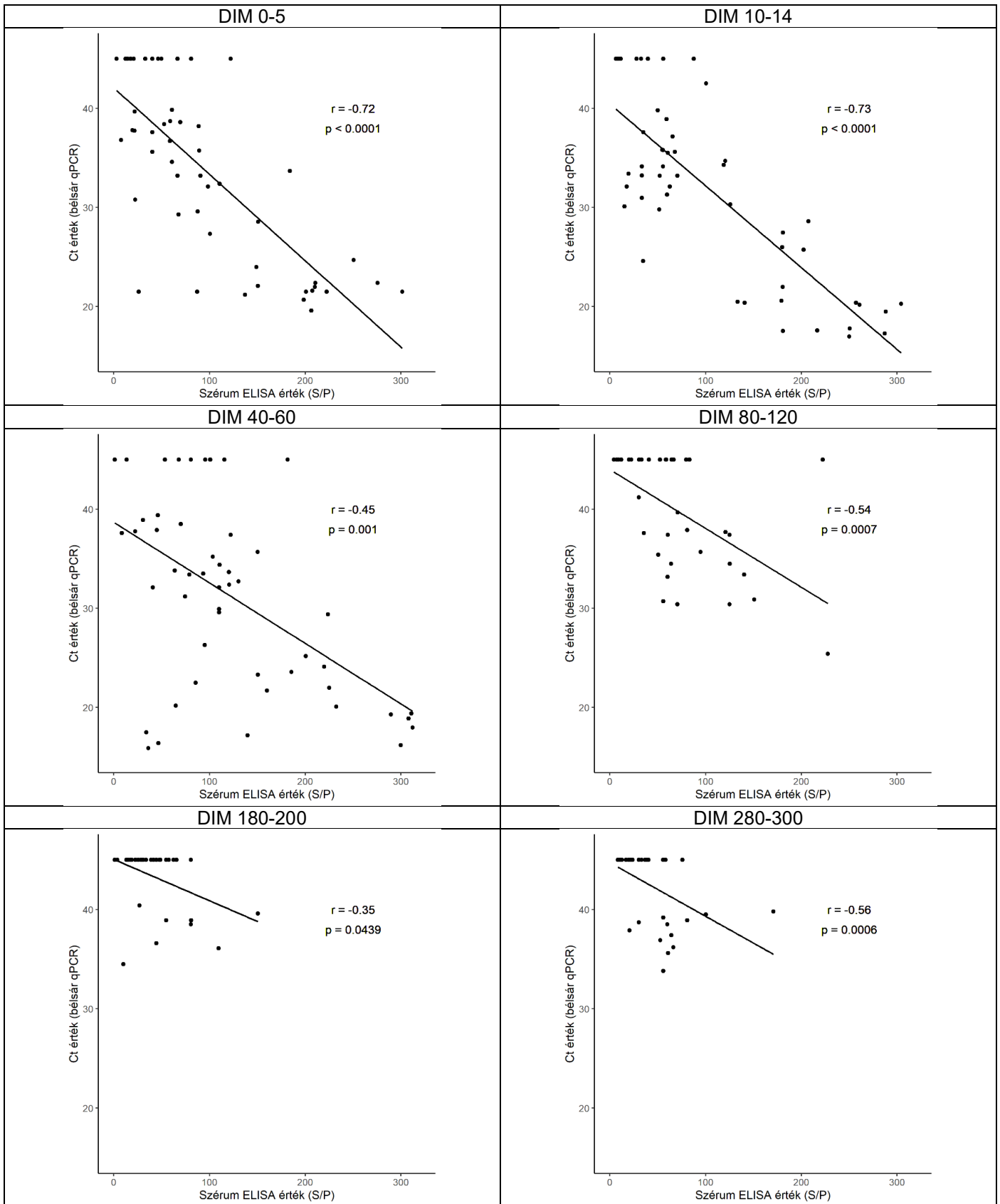
F1. ábra. Tej és szérums ELISA korreláció mintavételi időszakonként (selejtezett állatok értékeit is tartalmazza)



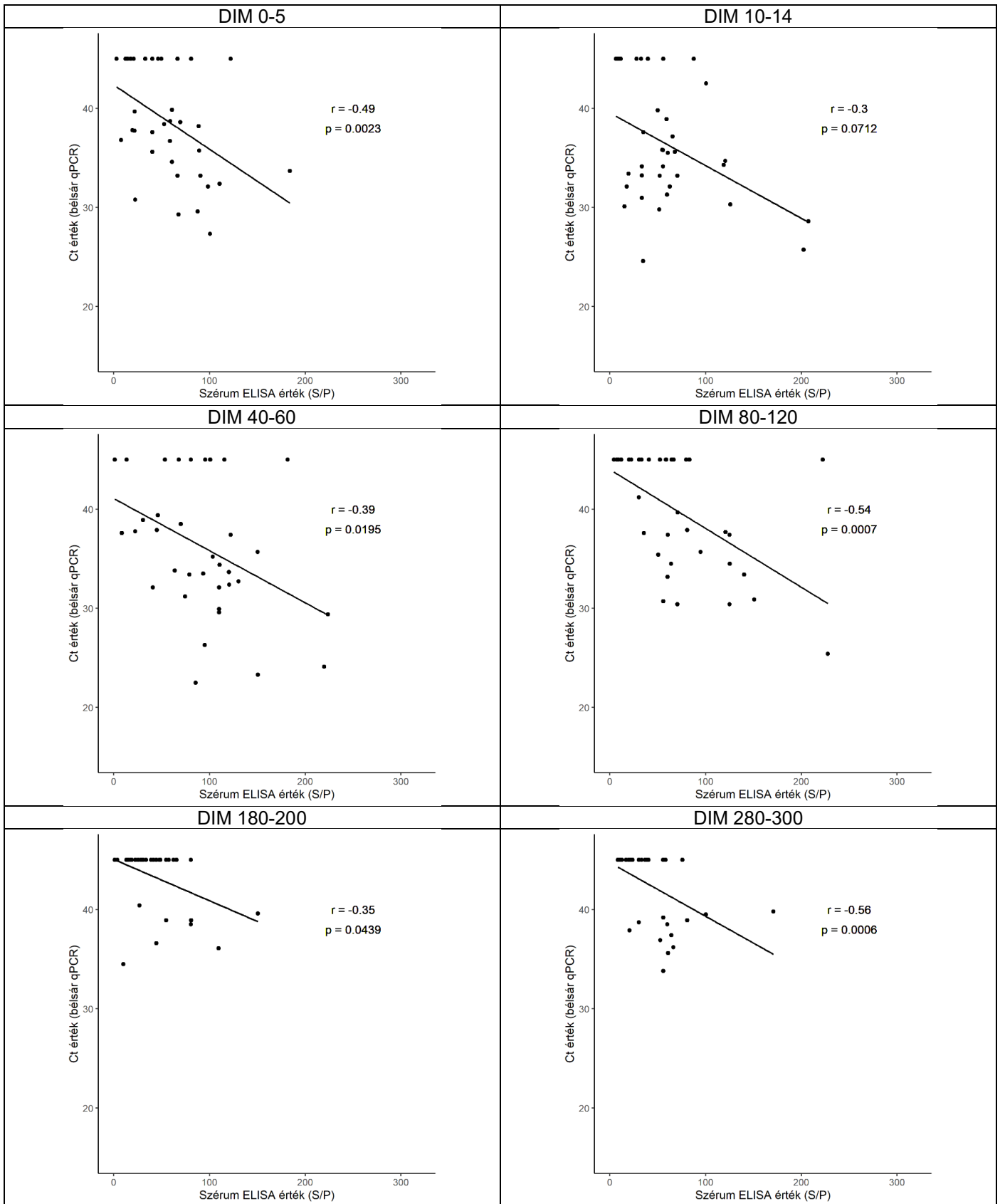
F2. ábra. Tej és szérum ELISA korreláció mintavételi időszakonként (selejtezett állatok értékeit nem tartalmazza)



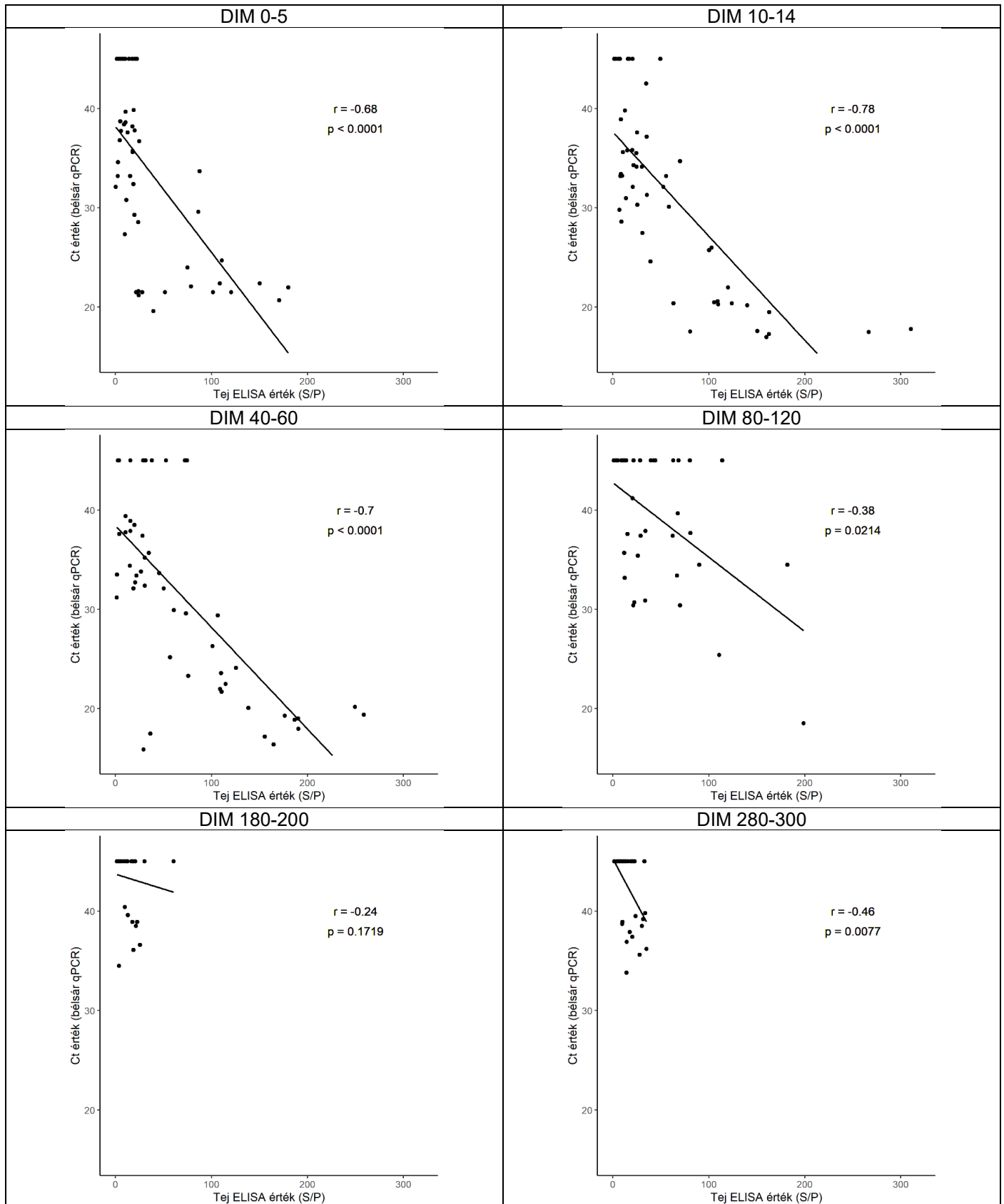
F3. ábra. Korreláció a szérumban ELISA és bélsár qPCR között (selejtezett állatok eredményeit is tartalmazza)



F4. ábra. Korreláció a szérumban ELISA és bélsár qPCR között (selejtezett állatok eredményeit nem tartalmazza)



F5. ábra. Korreláció tej ELISA és a bélsár qPCR eredmények között (a selejtezett állatok értékeit tartalmazza)



F6. ábra. Korreláció tej ELISA és a bélsár qPCR eredmények között (a selejtezett állatok értékeit nem tartalmazza)

