

Állatorvostudományi Egyetem
Törvényszéki Állatorvostani és Gazdaságtudományi Tanszék

***A Lawsonia intracellularis* előfordulása nagylétszámú
hazai sertéstelepeken**

**Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in large
Hungarian swine farms**

Készítette: Kondor Patrik Raul

Témavezető: Dr. Ózsvári László

Tanszékvezető egyetemi tanár

Társtémavezető: Dr. Búza László

Egyetemi adjunktus

Budapest

2023

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke.....	3
2. Irodalmi áttekintés.....	5
2.1. Az emésztő szervrendszeri megbetegedés sertésekben (PPE).....	5
2.2. PPE patogenezise	5
2.3. Kórokozó terjedése.....	6
2.4. Klinikai tünetek	7
2.5. Prevalencia.....	8
2.6. A PPE termelési mutatókra gyakorolt hatásai	9
2.7. Diagnosztikai lehetőségek	10
2.8. Védekezési lehetőségek.....	11
2.8.1. Antibiotikus kezelés.....	12
2.8.2. Vakcinázás	12
3. Anyag és módszer	14
3.1. Kvantitatív PCR vizsgálat bélsárból.....	14
3.2. Szerológia vizsgálat.....	15
3.3. Vágóhídi bélvizsgálat	15
4. Eredmények	17
4.1. Az állományok fertőzöttsége	17
4.2. Vágóhídi vizsgálatok eredményei	18
4.3. Szerológia vizsgálatok eredményei.....	19
4.4. Bélsár vizsgálatok eredményei.....	20
4.5. A három vizsgálat eredményeinek összehasonlítása.....	22
4.6. A bélsár és a szerológiai vizsgálatok eredményeinek összehasonlítása	23
4.7. A bélsár és a vágóhídi vizsgálatok eredményeink összehasonlítása	24
5. Következtetések	26
6. Összefoglalás	27
7. Summary.....	28
8. Irodalomjegyzék.....	29
9. Köszönetnyilvánítás	32

1. Rövidítések jegyzéke

ADG (Average Daily Gain) -átlagos napi testtömeggyarapodás

FCE (Feed Conversion Efficiency) -takarmányhasznosulás

LAMP: (Loop-mediated isothermal amplification) -hurkok által közvetített izoterm amplifikáció

LFD (Lateral Flow Test) -oldalirányú áramlási vizsgálat

PCR (Polymerase Chain Reaction) - polimeráz-láncreakció

PCV-2 (Porcine circovirus 2) - sertés circovírus 2

PHE (Proliferatív Hemorrhagiás Enteropathia) - sertés vérzéses bélgyulladás

PIA (Porcine Intestinal Adenomatosis) - sertés bél adenomatosis

PPE (Porcine Proliferatív Enteropátia)Enteropátia) - sertések emésztőszervrendszeri megbetegedése

RPA (Recombinase Polymerase Amplification) - rekombinááz polimeráz amplifikáció

Bevezetés

A nagyüzemi sertéstartásban elengedhetetlenek a fertőző kórokozók jelenlétéről készülő vizsgálatok, csak így alkalmazhatunk megfelelő intézkedéseket, amelyekkel garantálni lehet a profitábilis termelést. A sertéstartás költségeinek nagyrészét a takarmány költségek teszik ki. Emiatt elengedhetetlen, hogy a sertések emésztőszervrendszerének egészséges működést biztosítsuk. A patogén baktériumok elszaporodása jelentősen befolyásolhatja a termelési mutatókat, mint például a fajlagos takarmány-felhasználás, napi testtömeggyarapodás és az elhullási arány. E három termelési mutatót nagymértékben tudják befolyásolni a PPE (proliferatív enteropathia) kórképek, amelyek közül a szubklinikai forma diagnosztizálása nehezen kivitelezhető. Sok kórokozó esetében lehetőség van mentesítési tervek létrehozására, azonban egyes baktériumoknál, mint a *Lawsonia intracellularis* ma még ezek nem kivitelezhetők. Ezért szükség van ezen baktérium által okozott megbetegedés monitorozására és kezelésére. Ezért kutatásunk célja az volt, hogy többféle diagnosztikai módszer alkalmazásával felmérjük a *Lawsonia intracellularis* fertőzés mértékét hazai nagylétszámú sertéstelepeken.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Az emésztő szervrendszeri megbetegedés sertésekben (PPE)

A különböző emésztőszervi betegségeknek nagy jelentősége van a sertéstartásban. Az emésztő szervrendszert érintő betegségek negatív irányba mozdítják el a termelési mutatókat (napi testtömeg-gyarapodás, fajlagos takarmány-értékesülés, mortalitás), ezáltal jelentős gazdasági kárt okoznak a sertéstartóknak [1]. A PPE (Porcine Proliferatív Enteropátia) hasonló patogenezissel rendelkező állapotok egy csoportját foglalja magába (elhalásos enteritis, regionális ileitis, PHE és sertés bél adenomatosis). Ezek súlyos, patológiásan megvastagodott nyálkahártya formájában jelentkeznek a vékonybél distalis részén és a proximális vastagbélben [2]. Az obligát intracelluláris baktérium, a *Lawsonia intracellularis* a PPE minden formájának etiológiai ágense [1]. BIESTER & SCHWARTE írta le először a proliferatív enteropathiát 1931-ben, mint bélrendszeri adenómát [3]. EMSBO ezt az állapotot vágóállatoknál írta le 1951-ben [4]. Utólag figyelemre méltó, hogy BIESTER & SCHWARTE 1931-ben megkísérelték a baktérium tenyésztését, és sikerült reprodukálniuk a proliferatív változásokat néhány kísérleti sertésben [2]. Ezek után több 10 évnél kellett eltelnie, mire ezt megismételték és megerősítették [2].

2.2. PPE patogenezise

A *Lawsonia intracellularis* a *Lawsonia* baktériumnemzetség egyetlen faja, és a proliferatív enteropathia (PE) kórokozója. A *Lawsonia intracellularis* obligát intracelluláris baktérium, amelyet makroszkóposan a bélnyálkahártya – burjánzás miatti – megvastagodása jellemez. Ennek eredményeként az enyhétől a súlyosig terjedő hasmenés jelenti az érintett állatoknál leírt fő klinikai tünetet. Az 1990-es évek óta a PPE endémiás a sertésállományokban, és alkalmanként számos más fajban is felfedezték [5].

Mivel a baktériumok sem a sejtfelszínen, sem intracellulárisan nem figyelhetők meg 5 nappal a szájon át történő fertőzés után, ezért kevés információ áll rendelkezésre a fertőzés korai szakaszáról. A baktériumok nagyon hamar, már 10 perccel a fertőzés után megfigyelhetők a tenyésztett patkány enterocitáiban. Ezen kívül a baktériumnak a patkány bélhámsejtjeibe való bejutása nem függött az életképességétől, ugyanakkor kimutatták, hogy a bejutás a gazdasejt aktivitásától viszont függ. A sejtmetabolizmust és a citoskeleton-átrendeződéseket a citokalazin-D blokkolja. Azonban a citokalazin-D-vel végzett kezelés ellenére is sok sejt megfertőződött, ami azt jelzi, hogy az aktin átrendeződésén kívül más mechanizmusok is részt vehetnek a baktériumnak a bélhámsejtbe való bejutásban [6].

A kriptasejtek fiziológiásan osztódnak és vándorolnak, hogy benépesítsék a hámot, továbbá a fertőzött sejtek is folyamatos növekednek és mozognak, ezzel a mechanizmussal kolonizálják az epitéliumot a baktériumok. A sejtenyészetből származó további adatok arra utalnak, hogy az osztódó sejtek jobban elősegítik a baktériumok növekedését, mint a nem osztódó sejtek [7]. PE esetén a sejtzaporodás csak a baktériumok által fertőzött sejteket érinti. Fertőzött sejteket jelöl, ahol hiperpláziás szigetek fordulnak elő a normál hám között. Súlyosan érintett hámban a bakteriális parazitizmus és a sejtburjánzás a kripták aljától a hám felszínéig terjedhet. Hörcsögökön szerzett bizonyítékok arra utalnak, hogy a kriptasejtek megnövekedett sebességgel (akár négyszer gyorsabban) kezdenek osztódni 2 nappal a bakteriális fertőzés után. A megnövekedett mitózis akár háromszorosára növeli a sejtek populációját a „normál” nyálkahártyához képest. A baktériumok sejtosztódásra kifejtett serkentő hatása az intracelluláris organizmusok folyamatos jelenléte ellenére sem marad fenn, ha a lézió teljesen kifejlődött [8].

A sejtproliferáció – ami a PE fontos jellemzője – nem reprodukálható in vitro, ezért az in vivo vizsgálatok során érthető meg csak az elváltozás körfejlődése. Fokozott antiapoptotikus génexpressziót és csökkent proapoptotikus génexpressziót találtak a fertőzés után 21 nappal. A *L. intracellularis* fertőzés által kiváltott apoptózis átmeneti csökkenése okozza az enterociták proliferációját. A fertőzés késői szakaszában a baktériumok eltűnhetnek az enterocitákból, ami az apoptotikus események újraindulásával járhat, és a bélnyálkahártya szövettani megjelenése normalizálódhat [9].

2.3. Kórokozó terjedése

A PPE előfordulása szegregált korai elválasztási rendszerekben arra utal, hogy a malacok a koca elválasztása előtt a környezetből, a kocától vagy más állatfajokkal, madarakkal, rovarokkal való érintkezésből veszik fel a kórokozót. Az érintkező sertések közötti fertőzésátvitelt a PPE természetes előfordulása során mutatták ki, amikor az állatokat újracsoportosították vagy új egyedeket vittek be egy adott csoportba, de mesterséges fertőzési kísérletekben is megfigyelték [10]. A nem fertőzött sertések elsősorban szennyezett ürülék lenyelésén keresztül fertőződnek meg *L. intracellularissal*. A PPE-vel érintett sertések nagyszámú *L. intracellularis*-t ürítenek, ami elegendő ahhoz, hogy megfertőzze a velük érintkező többi sertést [11]. A sertések gyakori keveredése, újracsoportosítása és a tenyésztés- és hízóállatok egy helyen tartása a PPE hajlamosító tényezőinek tekinthető [12].

A kocák maternális immunitása védelmet tud nyújtani a malacoknak a *L. intracellularis* fertőzéssel szemben. Ennek mértéke a kocák antitest szintjétől, valamint a malacoknak

átadott immunanyagok mennyiségétől függ. Ezért a maternális immunitást a megfelelő időben és a megfelelő mennyiségű kolosztrum elfogyasztása által kapja meg az újszülött malac. A fertőzésen átesett kocák három hetes malacai immunisak voltak a *L. intracellularis*. Azonban a választás után négy héttel képesek voltak megfertőződni. Míg a választás előtt fertőzésen áteső malacok négy héttel a választás után immunisak voltak a betegségre. Ez azt jelenti, hogy a sertések passzív védelme a választás után nem maradt fenn [13]. Azok a kocák, amelyeknél nem volt kimutatható *L. intracellularis* antitest fialáskor, de egy fertőzött állományból származtak, csak részben tudták megvédeni utódaikat. A klinikai tünetek csökkentek, de a malacok *L. intracellularis*-t ürítettek, és szignifikánsan csökkent a szérum IgG szintje [13]. A magasabb *L. intracellularis* antitest szintű kocák növelték azon képességüket, hogy megvédjék szopós malacaikat. 20 szeropozitív és 20 szeronegatív koca utódait kéthetes korukban fertőzték *L. intracellularis*-szal, a kocák további három hétig szoptatták malacaikat. A szeropozitív kocasüldők által felnevelt malacok mindössze 21%-ánál mutaták ki a *L. intracellularis* antitesteket, három héttel a fertőzés után, szemben a szeronegatív kocasüldőkből származó malacok 86%-ával [14]. A kórokozó köztigazdával való terjedése is nagy kockázatot jelent, mert fertőzött sertéstelepeken elfogott patkányok nagy része ($\geq 70,6\%$) *L. intracellularis*-t ürített. Még ennél is jelentősebb, hogy ezeknek a patkányoknak egy kis része rendkívül sok *L. intracellularis* (10^{10} baktériumok/g széklet) tartalmazott a székletében. A rágcsálók ezért az *L. intracellularis* fontos terjesztői lehetnek a sertéstelepeken [15].

2.4. Klinikai tünetek

A *L. intracellularis* okozta betegségnek két klinikailag elkülönülő formája van: a sertés intestinalis adenomatosisa (PIA) és a proliferatív hemorrhagiás enteropathia (PHE). Ezek az elváltozások mértékében, klinikai tüneteiben és az érintett állatok életkorában különböznek. A PIA a proliferatív enteropathia leggyakoribb formája. Ez egy krónikus fertőzés, amelyet a baktériától a hizlaldáig diagnosztizálnak, általában 6 és 20 hetes kor között. A legfőbb klinikai tünet a hasmenés, amelynek mértéke széles skálán mozoghat egészen a véres hasmenésig. További tüneti jellemzői a gyenge növekedés és az étvágytalanság. Egyes állatoknál, leggyakrabban tenyész sertéseknél előfordulhat a betegség szubklinikai formája is, amelyet általában csak a vágóhídon azonosítanak. A PIA súlyos patológiás elváltozásait elsősorban az ileum és a jejunum bélnyálkahártyájának megvastagodása jellemzi. A mikroszkópos vizsgálatok során megfigyelt az éretlen enterociták proliferációja és a fertőzött kripták körüli gyulladásos sejtek relatív hiánya [16].

Súlyos esetekben a PIA végstádiuma nekrotizáló bélgyulladásához vezethet, amelyet az adenomatosus nyálkahártya koagulációs nekrozisa jellemez. A PHE főként hízósertéseket érint 4-12 hónapos kor között. Ez a sertések hirtelen pusztulásával járhat a bélrendszerben bekövetkezett súlyos akut vérzés következtében [17]. A vérzéses formát, a PHE-t gyakran figyelik meg a jó egészségi állapotú állományokból származó sertéseknél, amelyeket új telephelyre visznek be. A PHE fertőzött sertések akut, véres, laza vagy vizes hasmenést mutatnak, és gyakran előzetes klinikai tünetek nélkül, perianális bélsárszennyeződéssel elhullva találják őket. A differenciál diagnózis magában foglalja a sertésdizentériát, a szalmonellózist, a gyomorfekélyt és a vérzéses bélszindrómát [5].

2.5. Prevalencia

A PPE (Porcine Proliferativ Enteropátia) világszerte elterjedt a sertésállományokban tartástechnológiától függetlenül. A kórképet okozó baktérium izolálása, illetve igazolása óta nagyléptékű fejlődés történt a *Lawsonia intracellularis* elleni védekezésben. Ehhez nagymértékben hozzájárult a diagnosztikai módszerek fejlődése, mellyel képet kaphatunk a hazai és a külföldi sertéstartó telepek fertőzöttségi állapotáról [18].

Bár Magyarországon már korábban gyanították a PPE komplex jelenlétét, először 1998-ban igazolták a *Lawsonia intracellularis* jelenlétét hazai sertéstelepen. A *L. intracellularis* kimutatása korábban az ezüst-impregnálási technikán alapult. Sajnos ez a módszer nem teszi lehetővé az ante mortem diagnózist, friss diagnosztikai anyagot igényel és kevésbé pontos, ha nincs jól látható adenomás bélhám proliferáció. A rendkívül specifikus és szenzitív PCR lehetővé teszi az állat fertőzöttségének igazolását patognomikus elváltozás hiányában vagy előrehaladott autólízis esetén is. Korábbi magyarországi kutatásban 11 db sertéstelepet mértek fel, és 8 db telepről származó, összesen 28 db mintában mutatták ki a kórokozót (6 egyedi és 22 pool minta) [19].

A 2000-es évek elején reprezentatív felmérés készült a hazai sertésállományokban fellelhető enteropatogén baktériumokból azzal a céllal, hogy átfogó képet kaphassanak a termelők és az állatorvosok a kórokozók kilétéről, illetve a vegyes fertőzések létezéséről. A felmérésben 31 db nagyüzemi sertéstelep vett részt. A telepeken a mintagyűjtés 18 véletlenszerűen kiválasztott, 5-6 hónapos korú hízósertések, ill. tenyészállatok végbeléből történt. Ezeket a mintákat 6 pool-ba gyűjtötték össze. A kutatás során törekedtek a hasmenéses minták begyűjtésére, amennyiben rendelkezésre álltak a telepen. A *L. intracellularis* PCR tesztjéhez pozitív kontrollként korábban izolált *L. intracellularis* DNS-t használtak. Az eredmények azt mutatták, hogy 31 telepről gyűjtött mintából 29-ben (93,6%), valamint a 186 mintából

108-ban (58.1%) találtak *L. intracellularis*. Ez megerősítette a korábbi hazai sertésállományokban végzett felmérések prevalencia eredményeit [20].

A *L. intracellularis* az Amerikai Egyesült Államokban nagyon elterjedt, 96%-os a sertésállományok fertőzöttsége. Európában valamivel alacsonyabb az állományfertőzöttség mértéke, de így is 50% és 90% közé tehető. Frissebb európai vizsgálatok szerint 10 hetes malacok körében a fertőzöttség 40% feletti, ami a hizlalási szakasz végére elérheti a 96%-ot. A telepek tekintetében megállapítható, hogy minél idősebb egy sertéstelep állománya, annál nagyobb a fertőzöttség mértéke is [18].

Arnold és mtsai. 2017-2018 között végeztek felmérést európai országokban (Németország, Spanyolország, Dánia, Egyesült Királyság, Franciaország), hogy átfogó képet kaphassanak a *L. intracellularis* prevalenciájáról különböző életkorú sertéseknél. Egy állományt akkor határoztak meg pozitívnak, ha *L. intracellularis*-ra specifikus genomot vagy megfelelő antitesteket mutattak ki legalább egy mintában qPCR, illetve ELISA vizsgálattal. A látszólagos qPCR és ELISA állományprevalenciát ezután a pozitív állományok országonkénti számának felhasználásával számították ki, elosztva az országonként mintavételezett állományok számával. A tanulmány kiterjedt a különböző életkorú sertések fertőzöttségi mértékére is, ami azt mutatta, hogy Németország (16,5% min: 2%, max:26%), Hollandia (11,0%, min: 3%, max: 28%) és az Franciaország (10,0%, min: 2%, max: 28%) esetében nem volt a korcsoportok között szignifikáns különbség a prevalenciában. Az érintett korosztályokat tekintve 381 egyed (17,7%) választási malac, 710 egyed (33,0%) battériás malac és 597 egyed (27,8%) hízósertés mintája volt pozitív. Egymáshoz viszonyítva mindhárom korkategóriában különbözött a pozitív állatok száma: legkevesebb a választási malacoknál, legtöbb a battériás malacoknál volt pozitív minták aránya. Országos szinten ez nem egyezik a Dániában tapasztaltakkal, ahol az választási malacok gyakrabban voltak pozitívak ($p < 0,001$), mint a battériás malacok és a hízósertések. Továbbá Dániában szignifikánsan több választási malac volt pozitív mint az összes többi országban [21].

2.6. A PPE termelési mutatókra gyakorolt hatásai

A *L. intracellularis* fertőzöttség a takarmányhasznosulást (FCE) akár 50%-kal is ronthatja. Szignifikáns eltéréseket figyeltek meg a PPE-ben érintett sertések súlygyarapodásában is, az ADG 17-84%-kal csökkent a nem érintett sertések napi súlygyarapodásához képest. A csökkent ADG egy csoporton belül a vágásig eltelt napok jelentős megnövekedéséhez vezethet, ami végső soron gazdasági veszteség a termelő számára [1]. A *L. intracellularis* bélsárban való ürülésének mértéke (\log_{10} baktériumok/g) szignifikáns összefüggést mutatott

a napi súlygyarapodás csökkenésével a választás utáni malacoknál ($P < 0,001$). Emellett szignifikáns összefüggés volt megfigyelhető a bélsárban lévő *L. intracellularis* baktériumok száma (\log_{10} baktériumok/g) és a bélsár szárazanyag százaléka között is ($P < 0,01$). Ugyanakkor azt is megfigyelték, hogy bizonyos körülmények között a sertések kimutatható mennyiségű *L. intracellularis*-t üríthetnek a bélsárral anélkül, hogy az ADG csökkenne. Az ADG csökkenése és a *L. intracellularis* baktériumok száma közötti kapcsolat még szubklinikai fertőzésben szenvedő, hasmenés nélküli sertéseknél is jelentősnek bizonyult, ha a bélsár szárazanyag-tartalma $\geq 18\%$ volt [22]. Összességben, amennyiben választott malacoknál a bélsár grammonként 10^4 és 10^9 közötti *L. intracellularis*-t tartalmaz, akkor várható az ADG csökkenése. Az ADG szignifikánsan csökken, ha a bélsár grammonként több mint 10^7 *L. intracellularis*-t tartalmaz, és ez a negatív korreláció erősödik, ha a bélsár szárazanyag-tartalma is csökken. A klinikailag érintett sertések jellemzően legalább 10^8 *L. intracellularis*/g bélsár értéket meghaladó baktériumürítést produkáltak [23].

A termelési mutatókat nem csak az ürített baktériumok száma és a *L. intracellularis* fertőzöttség mértéke befolyásolja, hanem a következő tényezők is hatással vannak rájuk: bakteriális virulenciagének expressziója, környezeti tényezők, takarmányozás, bélmikroflóra egészsége, a sertés immunrendszere. A *L. intracellularis* által okozott gazdasági károkat Ausztráliában 8,3 ausztrál dollárra becsülték vágósertésenként egy olyan állományban, ahol a sertések 80%-a szubklinikailag terhelt volt és egyáltalán nem védekeztek a fertőzéssel szemben [1].

2.7. Diagnosztikai lehetőségek

L. intracellularis fertőzés kimutatása továbbra is kihívást jelent a sertésekkel foglalkozó szakemberek számára. A fertőzés lehet szubklinikai is, de még ha a klinikai tünetek meg is jelennek, a PE diagnosztizálása bonyolult lehet, mivel számos kórokozó hasonló szimptomákat eredményez (pl. *Brachyspira hyodysenteriae*, *Salmonella enterica* Typhi szerotípus és sertés cirkovírus 2 [PCV-2]). A megfelelően validált kimutatási módszerek szűkössége, a patognomikus klinikai tünetek hiánya és a baktériumok időszakos ürülése, továbbá ha a PE-t más betegségek, például szalmonellózis vagy sertésdizentéria eltakarja, vagy egyszerre van jelen több kórokozó, ez mind megnehezíti a diagnózis felállítását [17]. A *L. intracellularis* kimutatható immunhisztokémiai módszerekkel. Ebben az esetben post mortem állapotban vett csípőbél mintát kell formalinnal fixálni majd a későbbi vizsgálatokhoz parafinba ágyazni. A *L. intracellularis* külső membránfehérjéit vizsgálták monoklonális antitestek (MAb) felhasználásával. Kórszöveti vizsgálatokban

hematoxillin-eozin és Warthin-Starry (WS) ezüst festéssel szintén kimutatható a kórokozó. Hátránya, ha a kórokozó nem megfelelő mennyiségben van jelen, a minta negatív lehet. A WS ezüsfestés azonban alacsonyabb specificitású lehet, mivel más szervezetek hasonló morfológiájúak lehetnek [24]. Lehetőség van indirekt immunfluoreszcens assay vizsgálatra (IFA), amely képes kimutatni a *L. intracelluláris*-ra specifikus IgG antitesteket. IFA-nál figyelembe kell venni, hogy a korábbi fertőzést detektálja, nem az aktív fertőzést. PCR vizsgálattal a bélsárral történő *L. intracelluláris* ürítését vizsgálhatjuk. A kórokozó ürítése szakaszos ezért csak az éppen ürítő vagy klinikai tünetekkel rendelkező sertés vizsgálata ad pozitív eredményt [25].

A LAMP módszer intracelluláris DNS kimutatására alkalmas, primerek használatával, amelyek a 16S riboszomális RNS (rRNS) gén konzervált régióját célozzák meg. A LAMP kimutatási határa $1,4 \times 10^{-1}$ pg volt, amelynek analitikai érzékenysége összevethető a valós idejű PCR-rel és körülbelül 100-szor érzékenyebb, mint a korábban leírt hagyományos PCR. A *L. intracelluláris* DNS kimutatási aránya valós idejű LAMP-ban (44,1%) magasabb volt, mint a hagyományos PCR-ben (36,8%). Ezek az adatok arra utalnak, hogy a LAMP hasznos volt a *L. intracelluláris* alacsony szintjének kimutatására, és hasznos a *L. intracelluláris* fertőzés korai stádiumának megerősítésére is [26].

A recombinase polymerase amplification (RPA) egy új izotermikus párosításos technológia. RPA reakciók érzékenyek, specifikusak, gyorsak és állandóan alacsony hőmérsékleten is alkalmazhatók. A lateral flow test (LFD) egy gyors diagnosztikai eszköz, amelyet kombináltak a nukleinsav felismerését lehetővé tevő eszközzel. A RPA-LFD technika alkalmas telepi körülmények között a *L. intracelluláris* fertőzöttség alakulásának nyomon követésére [27].

Szerológiai vizsgálatokat a *L. intracelluláris* elleni vakcinázás hatékonyságának mérésére, a fertőzés időpontjának és az állományon belüli prevalencia meghatározására lehet alkalmazni [17].

2.8. Védekezési lehetőségek

A *L. intracelluláris* legalább két hétig életképes az állatok környezetében 9°C és 18°C közötti hőmérsékleten [28]. A padozat nem befolyásolja a *L. intracelluláris* túlélését, vagy a fertőződés mértékét: mind mélyalmos tartástechnológián, mind beton padozatos rendszeren is hasonló a fertőzöttség aránya. Azonban a részben betonrácsos padozaton nagyobb volt a hasmenés kockázata, mint a tömör beton padozaton [12]. A beton padozat tisztítására hatékony a kálium-monoperszulfát, amely jelentősen csökkenti a kórokozó

életképességét a környezetben. A povidone-jód és a kvarterner ammóniumvegyületek hatékonyságát in vitro vizsgálatokon tesztelték bélsár szennyezettség nélkül és egyaránt hatékonyak bizonyultak [29]. A *L. intracellularis* számának csökkentése az ólakban csökkenti a betegség súlyosságát a következő sertéscsoportokban. De a cél nem az összes *L. intracellularis* eltávolítása, különben teljesen védetlen állományok alakulhatnak ki, amelyek nagyon fogékonyak a PHE kitörésére, a PPE akutabb formájára. A PPE klinikai tüneteinek felszámolása lehetségesnek tűnik a sertéstelepeken, ugyanakkor nagyon kevés tanulmány tudta igazolni a *L. intracellularis*-tól mentességet az állományban, ill. a környezetében, mivel a *L. intracellularis*-tól való mentesítés sikeres végrehajtásához nagyon magas szinten kell a járványvédelmi intézkedéseket fenntartani. Emellett *L. intracellularis*-tól mentes állományokba, ha behurcolásra kerül a baktérium, akkor gyakran súlyos klinikai formában jelenik meg a fertőzőtség, nagyon jelentős gazdasági károkat okozva. A *L. intracellularis* állományon belüli prevalenciáját ugyanakkor kellően alacsony szintre tudjuk visszazsorítani következetesen alkalmazott állományegészségügyi módszerekkel, pl. az „all in all out” módszerrel, vagy a különböző sertéscsoportok keveredésének minimalizálásával [1].

2.8.1. Antibiotikus kezelés

Az antibiotikumok felhasználása egyre szigorúbb szabályokhoz kötött és egyre nagyobb állat- és közegészségügyi kockázatot jelent, ezért törekedni kell az antibiotikumok prudens használatára. Csak olyan antibiotikum lehet hatásos, ami az enterocytákban nagy mennyiségben tud felhalmozódni. Mesterséges fertőzési kísérletekben kimutatták, hogy a tiamulin, a tilozin, a klórtetraciklin és a linkomicin nagy dózisaik képesek kezelni a PPE-ben szenvedő sertéseket, csökkentve ezzel a klinikai tüneteket, a PPE okozta szövettani elváltozásokat és a *L. intracellularis* ürítésének időtartamát a bélsárban. A tiamulin, tilozin és klórtetraciklin a *L. intracellularis* fertőzést is megakadályozhatja, ha folyamatosan adagolják őket a takarmányban. Miután azonban az antibiotikumok takarmányban való preventív felhasználását betiltották az Európai Unióban, ez jelenleg már nem járható út, az esetleges antibiotikum rezisztencia kialakulásának veszélyéről nem is beszélve [1].

2.8.2. Vakcinázás

A kereskedelemben kapható avirulens élő *L. intracellularis* vakcinával végzett orális immunizálás megvédi a sertéseket a klinikai betegségektől és szignifikánsan csökkenti a PPE mikroszkópikus elváltozásait a *L. intracellularis* fertőzést követően. A kórokozó fertőzése

specifikus humorális (IgA, IgG) és celluláris (IFN- γ) immunválaszt is indukál a vérben és a bélnyálkahártyában.[30] Az intramuszkuláris és az orális vakcinák vizsgálatánál kiderült, hogy általában az intramuszkuláris vakcinák hatékonyabban indukálják a szérum antitestek magas koncentrációját, amelyek képesek szisztémásan hatni, de nem érik el a bélnyálkahártyát. Ezzel ellentétben az orális vakcina nem váltott ki szisztémás antitestválaszt, csak helyi immunitást indukált. A szisztémás ellenanyag hiánya összhangban van RIBER és mtsi. eredményeivel, akik nem tudták kimutatni az ellenanyagválaszt orális vakcina után. Azonban az kimutatható volt, hogy az intramuszkulárisan beadott inaktív vakcina hatékonyabb védelmet nyújt, mint egy élő vakcina, bár a pontos védekezési mechanizmus nem ismert [31].

A legújabb fejlesztések (IDAL) lehetővé tették az intradermális vakcinázást tű használata nélkül. Intradermális vakcinázás során nyomás segítségével az intradermális régióba injektálja az oltóanyagot az oltópisztoly. Ezáltal csökkenthetjük betegségek iatrogén úton történő átadásának kockázatát, mivel a tűket biztosan nem használjuk újra. További előnye, hogy a bőrben található dendritikus sejtek elősegítik az immunizálást. Statisztikailag szignifikánsan jobb súlygyarapodást, csökkenő kórokozó ürítést a bélsárban (qPCR), kisebb baktériumterhelést (qPCR, ileum mucosa) és alacsonyabb makroszkopikus és mikroszkopikus csípőből elváltozásokat mutattak az orálisan vakcinázott sertések a kontroll csoportban lévő állatokhoz képest [32]. Az orális és az intramuszkuláris vakcináknak dózisfüggő a hatása, vagyis fokozott lokális és szisztémás IgG és IgM válasszal, valamint az elváltozások számának és mértékének, tovább a *L. intracellularis* ürülésének csökkenésével kell számolni a dózisuk növelésével [33].

Gazdaságilag a legrosszabb forgatókönyv egy gazdálkodó számára, ha a hizlaldán PHE miatt magas a mortalitás, mivel az elhullás ekkor már igen nagy gazdasági kárral jár. Az eddigi vakcinázási tapasztalatok azt mutatták, hogy az oltások megkezdése után a *L. intracellularis*-szal összefüggő mortalitás és az összesített mortalitás szignifikáns csökkenést mutatott a vakcinázott állatok körében [32].

3. Anyag és módszer

A kutatásunk célja az volt, hogy többféle diagnosztikai módszer alkalmazásával felmérjük a *Lawsonia intracellularis* fertőzés mértékét hazai nagylétszámú sertéstelepeken. 2019 júliusa és 2022 májusa között összesen 44 db magyarországi sertéstelepen végeztünk felméréseket, amelyek 5 régióból származtak. A dél-dunántúli és az alföldi régiókban elhelyezkedő telepek adták az összes vizsgált telep 74%-át (**1. táblázat**). A felmérés során összesen 2525 állat egyedi fertőzöttségi állapotáról kaptunk információt.

1. táblázat: A felmért sertéstelepek régióként való elhelyezkedése (n=44)

Régiók	Telepszám (db)	Megoszlás (%)
Közép-Dunántúl	5	11
Dél-Dunántúl	16	36
Nyugat-Dunántúl	4	9
Észak-Alföld	9	20
Dél-Alföld	8	18
Észak-Magyarország	2	5
Összesen	44	100

A prevalencia felmérésére három különböző módszerrel folytak a vizsgálatok: bélsár mintából qPCR vizsgálat, vérből szerológiai vizsgálat és vágóhídi bélpontozás. A 44 db telepen összesen 67 db vizsgálatot végeztünk el. Hat db sertéstelepen mindhárom vizsgálatot elvégeztük, amely nem csak a *L. intracellularis* előfordulásának felmérésére ad lehetőséget, hanem a vizsgálati módszerek össze hasonlítására is. Az állatalunk vizsgált sertésállományok egyike sem volt vakcinázva, így reális képet kaphattunk az átfertőződés mértékéről.

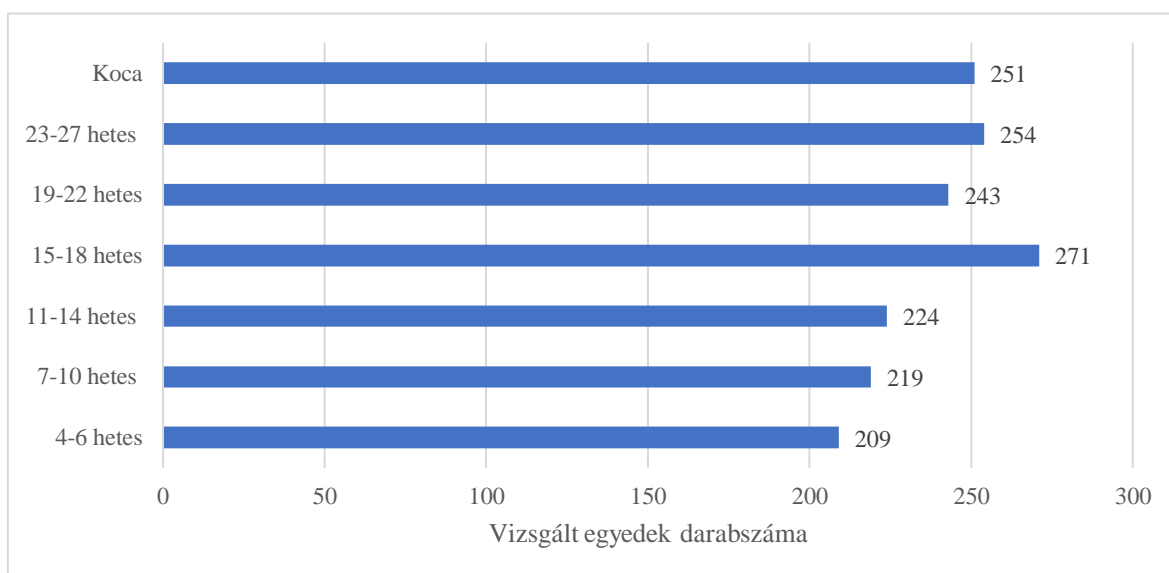
3.1. Kvantitatív PCR vizsgálat bélsárból

A felmérésben 194 db tampon mintát vettünk a sertések végbeléből. A mintákat egyesével vettük, ezek után küldtük a hollandiai Boxmeer-i laboratóriumba kvantitatív PCR vizsgálatra. A laborban qPCR-LAW(INGENETIX) tesztel (ingenetix GmbH, Bécs, Ausztria) végezték el a vizsgálatokat. Ebben a tesztben a *L. intracellularis* 16S rRNS génjének kimutatására került sor. A teszt három részből tevődik össze: egy pozitív kontrollból, egy belső pozitív kontrollból (IPC), illetve a tesztanyagból. A PCR-keresztzennyeződés minimalizálása érdekében a reakcióelegy dUTP-t és uracil-N-glikozilázt (UNG) tartalmazott.

3.2. Szerológia vizsgálat

A vizsgálat alatt 1671 darab sertés vérmintáit vizsgáltuk meg. A sertések nagyrésze végtermék előállító telepekről származott, és a felmérés során vizsgáltuk a különböző életkorú malacokat, illetve a koca állományt is (**1. ábra**). A mintavételezés a véna jugularisból történt steril vérvételicsőbe, 18G tűvel. A mintákat ezután a hollandiai Boxmeer-i laboratóriumba küldtük szerológiai vizsgálatra. A minták vizsgálata a SVANOVIR L. intracellularis/ Ileitis-Ab teszttel történt (INDICAL Sweden AB, Uppsala, Svédország). Ez a típusú ELISA teszt a baktériumsejt antigénjének a blokkolásán alapul. A tesztek vérszérumból végezték el. A vizsgálatok során előfordultak kétes, elégtelen, szennyezett és nem meggyőző minták is. A nem pozitív és a nem negatív mintákat az értékelés során figyelmen kívül hagytuk.

1. ábra: Szerológiai minták életkor szerinti megoszlása



3.3. Vágóhídi bélvizsgálat

A vágóhídi bélvizsgálatokat MSD Animal Health EnteriPig projektjéhez kapcsolódva volt lehetőségünk végrehajtani. Összesen 660 db belet vizsgáltunk meg és bíráltunk el hazai sertésvágóhidakon. A vágóhidakon a bélüzemben összegyűjtöttük a vizsgálatra kijelölt hízóállományokból a csípőbeleket és eltávolítottuk az emésztőtraktusból. Kritérium, hogy a bélszakaszt az ileocecalis billentyűvel együtt kell eltávolítani. Ezután a beleket vizuálisan és tapintással értékeltük, majd a bél lefutásával párhuzamosan felvágtuk őket. Ezt követően tapintásos vizsgálatnak vetettük alá őket. A végrehajtásnál figyelni kell a zsírlerekódásokra, amelyek téves értékelést eredményezhetnek. A csípőbél nyálkahártya elváltozásának

mértékével megállapítható a sertés *L. intracellularis*-szal való fertőzöttségének súlyossága. Ezt egy 0-3 ig tartó skálán lehet pontozni (**2. táblázat**). A vizsgálat segít a szubklinikai fertőződés felderítésében és súlyosságának megállapításában. A módszer előnye, hogy nem igényel nagy anyagi ráfordítást és gyors indikatív választ kapunk a fertőzöttségről, illetve egyszerűsíthető a vakcinák hatékonyságának az ellenőrzése [34].

2.táblázat: A csípőbél pontozás skálája *L. intercellularis* vizsgálat során

Érték	Csípőbél állapota
0	Normál rigiditású és vastagságú bélfal
1	Kissé megvastagodott bélfal és megjelenő el nem simítható gurdély
2	4 mm-ig megvastagodott és rideg bélfal, ödéma a nyiroktüszők megnagyobbodása, az izom réteg megvastagodása, több el nem simítható gurdély
3	4 mm-nél jobban megvastagodott bélfal, részleges elhalásokkal és vérzéssel

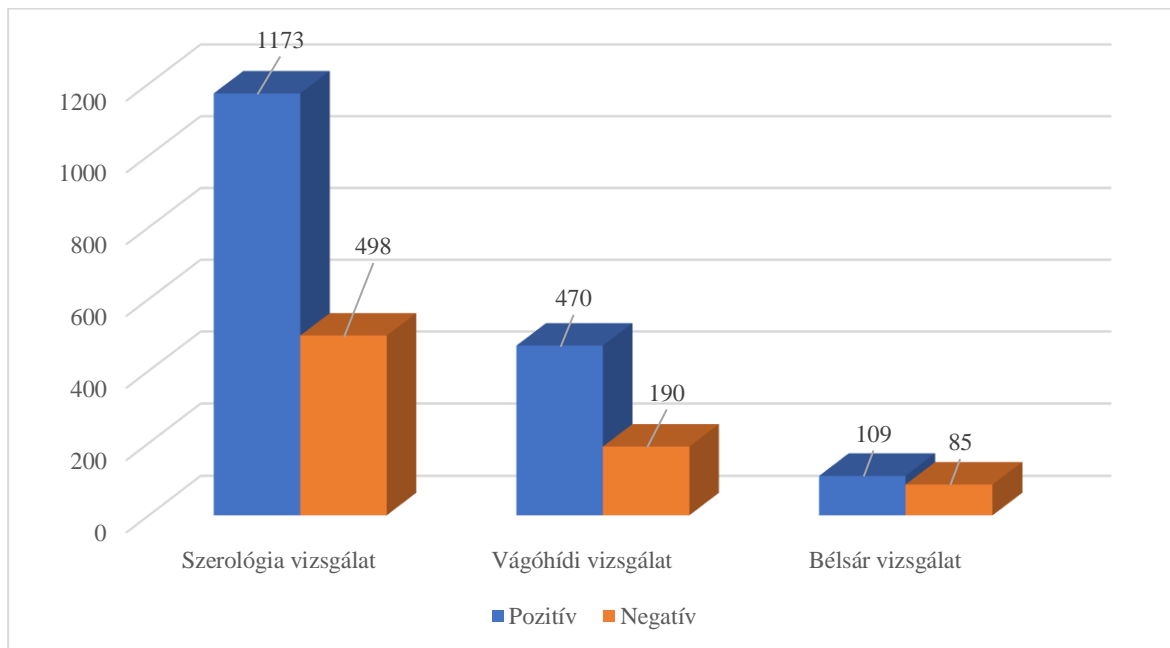
A statisztikai elemzés során az R-statisztikai programot (The R Foundation for Statistical Computing, Bécs, Ausztria) használtuk a Pearson-féle, a Spearman-féle és a Kendall-féle korreláció analízis elvégzéséhez.

4. Eredmények

4.1. Az állományok fertőzöttsége

A 44 db telepen végzett vizsgálatok során kiderült, hogy az állományok 97,7%-a fertőzött volt *Lawsonia intracelluláris*-szal, de a fertőzöttség mértéke állományonként változott (a vizsgálatban csak olyan állományok vettek részt, amelyek nem voltak vakcinázva *L. intracelluláris* ellen). A vizsgálatunk során a pozitivitás 69,4%-os (1752/2525) volt az összes egyedi minta alapján. A különböző vizsgálatokat tekintve eltérő volt a pozitivitás: míg a bélsár vizsgálat során 56,2%-os (109/194), addig a szerológiai vizsgálatnál 70,2%-os (1173/1671), a vágóhídi vizsgálatnál pedig 71,2%-os (470/660) volt a pozitivitás (2.ábra).

2. ábra: *Lawsonia intracellularis* pozitív és negatív minták vizsgálatonkénti eloszlása (n=2525)



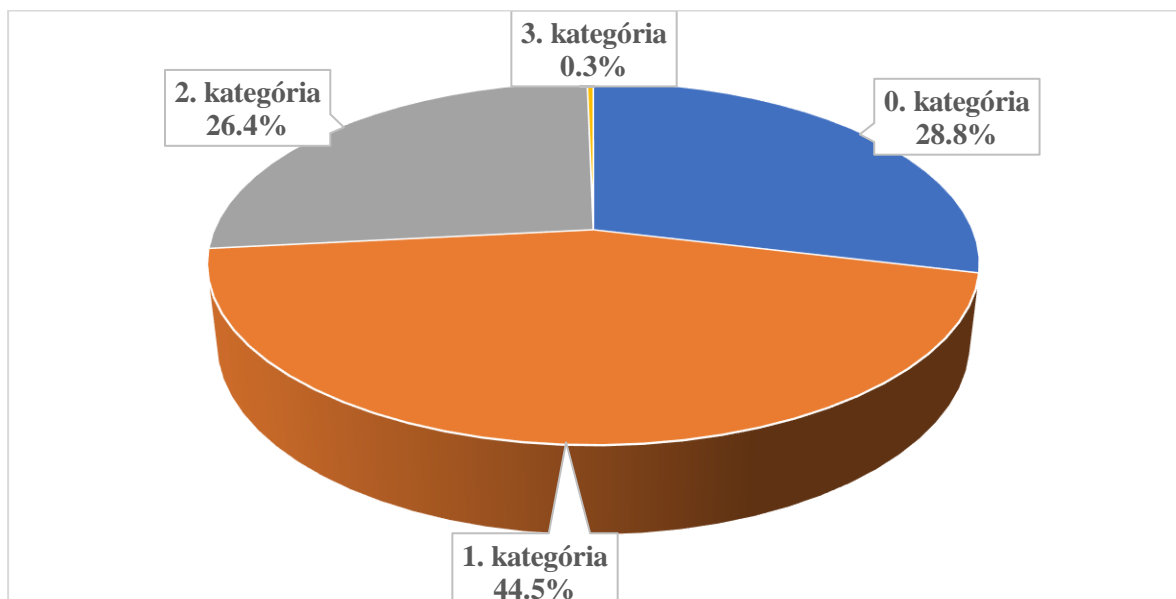
Egy Nyugat-Európában végzett felmérés során a sertésstelepek 90,3%-ában találtak pozitív mintákat, azonban a minták összeségét tekintve csak 26,2%-uk mutatott pozitivitást [21]. Más európai országok adataiból lehet következtetni, hogy a hazai prevalencia magasnak számít. Lengyelországban 2015-ben 70 állományt vizsgáltak, és az állományok fertőzöttsége 65,7%-os volt, ami hazai fertőzöttségi adatokhoz hasonló mértékű [35]. Magyarországon 2006-ban készült egy szélesebb körű felmérés a *L. intracellularis* elterjedéséről. Az akkori adatok azt mutatták, hogy a vizsgált 29 sertésállomány 93,6%-a volt fertőzött és a 108 vizsgált mintának a 58,1%-a volt pozitív [20]. Tehát az állományok fertőzöttsége akkor is

nagyon magas, 90% feletti volt, viszont az egyedi minták esetében a pozitivitás közel 70%-ra nőtt.

4.2. Vágóhídi vizsgálatok eredményei

Vágóhídi vizsgálatoknál 25 telepről gyűjtöttünk mintákat, összesen 660 darabot. A vágóhídi vizsgálatok nagyrészt Kaposváron, Mohácson és Kiskunfélegyházán történtek. A csípőbeleket tapintáson alapuló vizsgálatnak vetettük alá. Ezzel a módszerrel nem csak a pozitivitást tudtuk meghatározni, hanem a bél falának minőségét is ezáltal azonnali képet kaptunk az elváltozásokról. A skálázási módszert használva 0-tól 3-ig osztályoztuk a csípőbeleket. 0. kategóriába tartoznak azok minták, amelyek teljesen egészségesek így feltételezhető, hogy nem fertőződtek *Lawsonia intracellularissal* [34]. A 0. kategóriába sorolt belek száma 190 darab volt, amely az összes vizsgált belek 28,8%-a. A vizsgált csípőbelek 44,5%-a tartozott az 1. kategóriába, vagyis szubklinikai fertőzésről beszélhetünk: tüneteket nem mutattak az állatok, de a termelési mutatók már romlottak. A 2. kategóriába tartozott a belek 26,4%-a, ahol már jelentősen csökken a bélfal rugalmassága, jelentős a bélfal megvastagodása, és ennek következtében a termelési mutatókra gyakorolt hatás is nagyobb. A 3. kategóriába csak 2 db bélmintát soroltunk be a kutatásunk során, ami az összes vizsgált csípőbél 0,3%-a (**3. ábra**). Ebben a két esetben a vizsgált bélszakaszon elhalások és vérzések voltak megfigyelhetők, ami miatt gyorsan bekövetkezhet egy bélvérzés, az állat pusztulását okozva. Általában az ilyen súlyos fertőzöttségben szenvedő állatok nem élik meg a hizlalás végét.

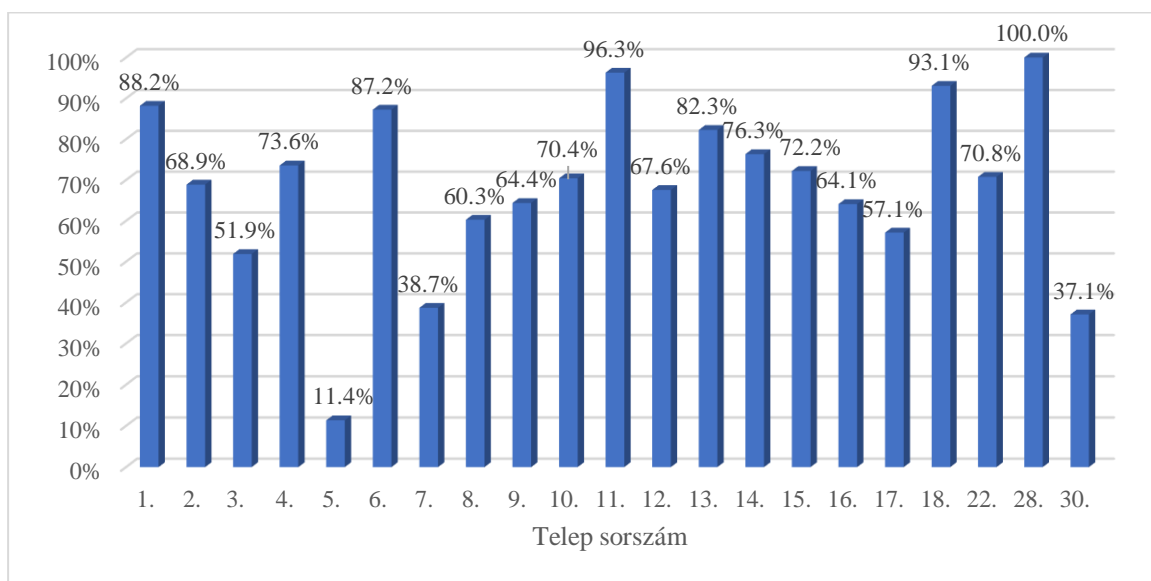
3. ábra: A csípőbél vizsgálat kategóriánkénti megoszlása (n=660)



4.3. Szerológia vizsgálatok eredményei

A szerológiai vizsgálatok során 21 db sertéstelepről történt a mintavételezés, és összesen 1671 minta került feldolgozásra. Az összes vizsgált telepen a minták átlagos pozitivitása 70,2% volt. A vizsgát állományok 86%-ában a pozitív minták aránya 50% felett volt. Három olyan telepet találtunk, ahol a vizsgált vérminták kevesebb mint 50%-a lett pozitív (5. 7. és 30. sorszámú telepek). A 28. számú telepen az össze vizsgált minta pozitív volt. Ettől csak pár százalékkal tért el a 11. és a 18. sz. telep. A legkisebb látszólagos fertőzöttségi szintet a 5. sz. állományban találtunk, itt a szerológiai minták 11%-a bizonyult pozitívnek. További két db sertéstelep esetében kaptunk az egyedi mintáknál 50% alatti pozitív eredményeket, a 30. sz. állomány esetében 37%-os, míg a 7. sz. állomány esetében 39%-os volt a pozitív minták aránya. A felmért sertéstelepek 40%-ban a szerológiai minták pozitivitása 60% és 75% közé esett (4. ábra).

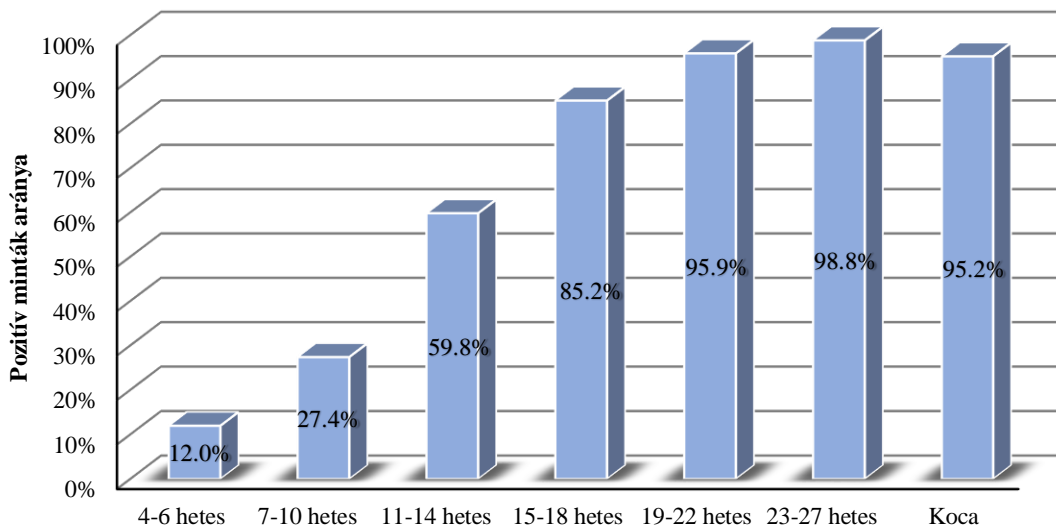
4. ábra: A pozitív szerológiai minták aránya telepenként (n=1671)



Megjegyzés: Összesen 21 db telepről vettünk szerológiai mintát a 44 db felmért állomány közül

A szerológiai eredményeket összesítettük életkor szerint is. A 4-6 hetes malacok mintáinak 12,0%-a lett pozitív. Növekvő tendenciát követve 7-10 hetes malacoknál 27,4%, a 11-14 heteseknél 59,8%, 15-18 heteseknél pedig már 85,2% a pozitív minták aránya. A 19 hetes kortól kezdődően a kocákig bezárólag a fertőzöttségi arány 95% felett van minden korosztályban (5. ábra).

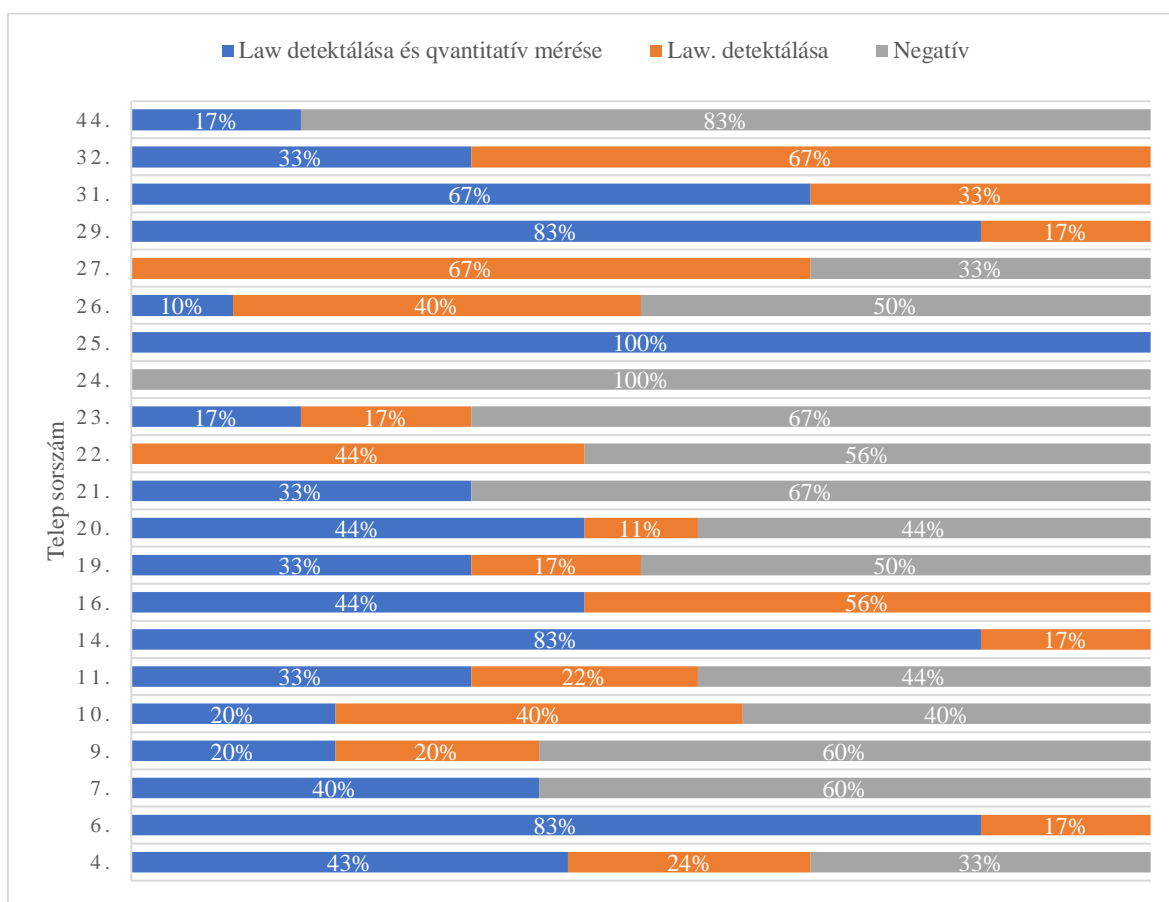
5. ábra: A pozitív szerológiai minták életkor szerinti megoszlása (n=1671)



4.4. Bélsár vizsgálatok eredményei

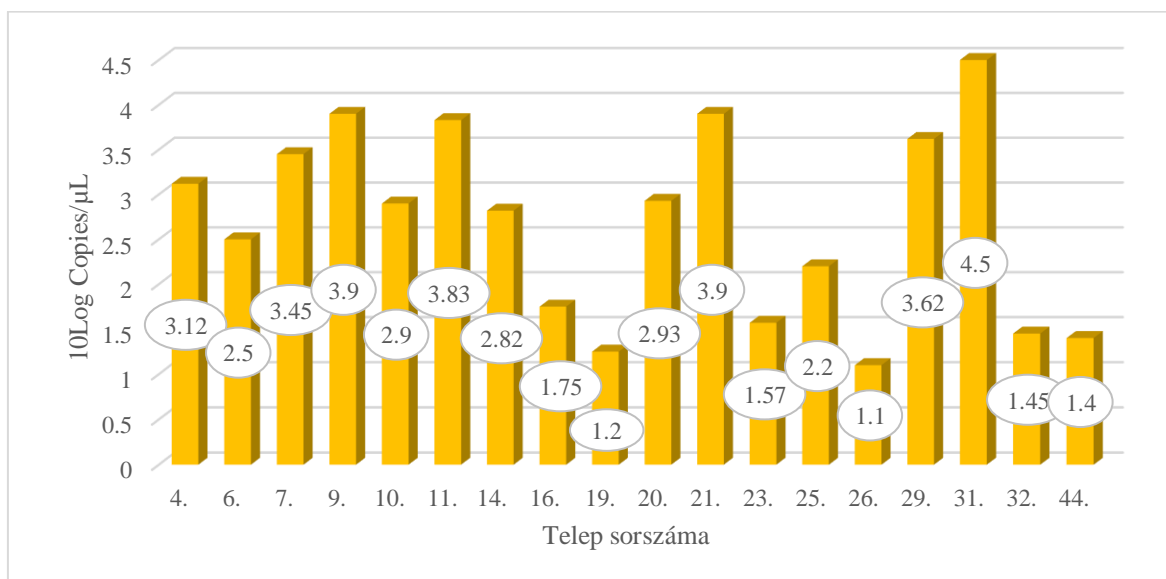
A 21 db sertéstelepen elvégzett 194 db végbél tampon vizsgálatból a 24. sorszámú telep esetében nem találtunk a 18 db megvizsgált tampon mintából pozitívat. A bélsár vizsgálatok alapján elmondható, hogy a vizsgált állományok 95,2% fertőzött *Lawsonia intracellularissal*. A bélsár vizsgálatok eredménye három kategóriába sorolható: negatív; pozitív (tehát a kórokozót detektálták), de a kvantitatív PCR vizsgálat nem vezetett eredményre; illetve pozitív, amelyet sikeresen vizsgáltak kvantitatív PCR-rel is (**6. ábra**). Összesen hét db (6.,14.,16.,25.,29.,31. és 32.) olyan telepet mértünk fel, amelyekről nem származott negatív bélsár minta. Átlagosan a bélsár minták 38,3%-ban a pozitivitás mellett kvantitatív eredményt is kaptunk a bélsárban található *L. intracelluláris*-ről, és a 29. és a 6. sorszámú telepek esetében ez az arány elérte a 83%-ot. A 22. és a 27. sorszámú telepnél nem kaptunk mennyiségileg értékelhető pozitív mintákat. Továbbá öt telep esetében a mintáknak kevesebb mint 20%-nál kaptunk mennyiségileg értékelhető mintát. A 25. telepnél a vizsgált minták 100% megfelelő volt a kvantitatív mérések elvégzésére is.

6. ábra: Bélsár vizsgálatok eredményeinek telepenkénti megoszlása (n=194)



A kvantitatív méréseknél a legnagyobb mért ürített mennyiség $7 \cdot 10^{\text{Log}} \text{Copies}/\mu\text{L}$ volt a 31. sorszámú telep esetében. A 6. telep esetében mértük a legkisebb ürített baktériummennyiséget: $1 \cdot 10^{\text{Log}} \text{Copies}/\mu\text{L}$ -t. Az egyedi bélsárminták kvantitatív baktérium mennyiségeit állományonként átlagoltuk és a legnagyobb mért baktérium szám a 31. sorszámú telephez tartozik: $4,5 \cdot 10^{\text{Log}} \text{Copies}/\mu\text{L}$ volt az ürített baktériumszám. A 19. sz. sertéstelepen mértük a legkisebb átlagosan ürített baktérium számot: $1,25 \cdot 10^{\text{Log}} \text{Copies}/\mu\text{L}$. Az állományok 71,4%-ában az ürítés mértéke nagyobb volt mint $2 \cdot 10^{\text{Log}} \text{Copies}/\mu\text{L}$ és az összes bélsár mintát figyelembe véve az átlagos ürítés $2,29 \cdot 10^{\text{Log}} \text{Copies}/\mu\text{L}$ volt a hazai telepeken (**7. ábra**).

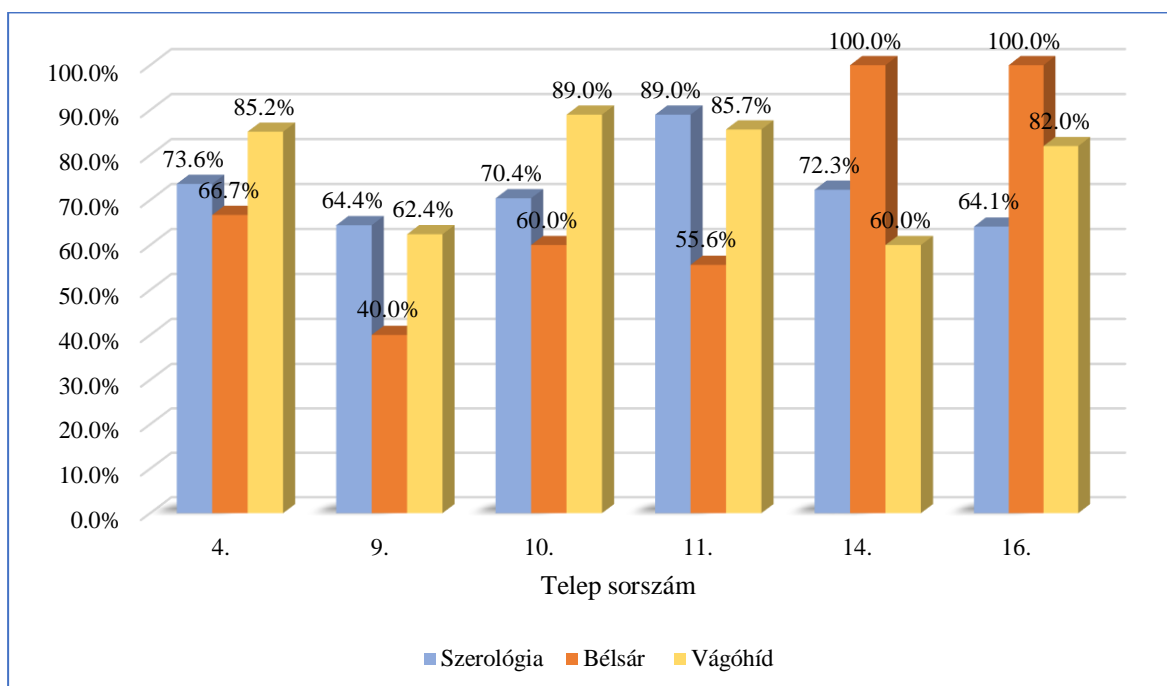
7. ábra: Bélsár vizsgálatok kvantitatív eredményei telepenként (n=194)



4.5. A három vizsgálat eredményeinek összehasonlítása

Kutatásunk során hat állományt párhuzamosan vizsgáltunk mind a három diagnosztikai módszerrel. Méréseinkről elmondható, hogy a 14. és a 16. telepnél láthatjuk a vizsgálati módszereinknél a legnagyobb eltérést, ami akár 40 százalékpontos is lehet (**8. ábra**). Ebben szerepet játszhatott a két szóban forgó telep esetében a kicsi bélsár mintaszám: a 14. sz. telep esetén öt db, míg a 16. sz. telep esetében kilenc db bélsár mintát dolgoztunk fel. Azonban megfigyelhető, hogy a szerológiai és a vágóhídi vizsgálatok eredményei egymáshoz nagyon hasonlóak. Az átlagos eltérés a pozitív szerológiai és vágóhídi vizsgálati eredmények között 13% volt. A legnagyobb eltérés a két vizsgálat típusnál 19%, míg a legkisebb eltérés 2% volt. Ez alapján elmondhatjuk, hogy egy egyszerűbb, gyors vágóhídi vizsgálattal is elég reális képet kaphatunk állományunk fertőzöttségi szintjéről. A 4. sz. telep esetében a bélsár minták 67%-a volt pozitív, ugyanakkor a vágóhídi vizsgálatok 85%-a, míg a szerológiai vizsgálatok 74%-a bizonyult pozitívnek. A 9. sorszámú telepen mértük a legkisebb fertőzöttségi szintet: a bélsár minták 40%-a, a szerológiai minták 64%-a és a vágóhídi minták 62%-a volt pozitív. A legtöbb pozitív mintát a 16. sorszámú telepen találtuk, ahol a bélsár vizsgálat mintái 100%-ban, a szerológiai vizsgálatoké 64%-ban, míg a vágóhídi vizsgálatoké 82%-ban bizonyultak pozitívnek.

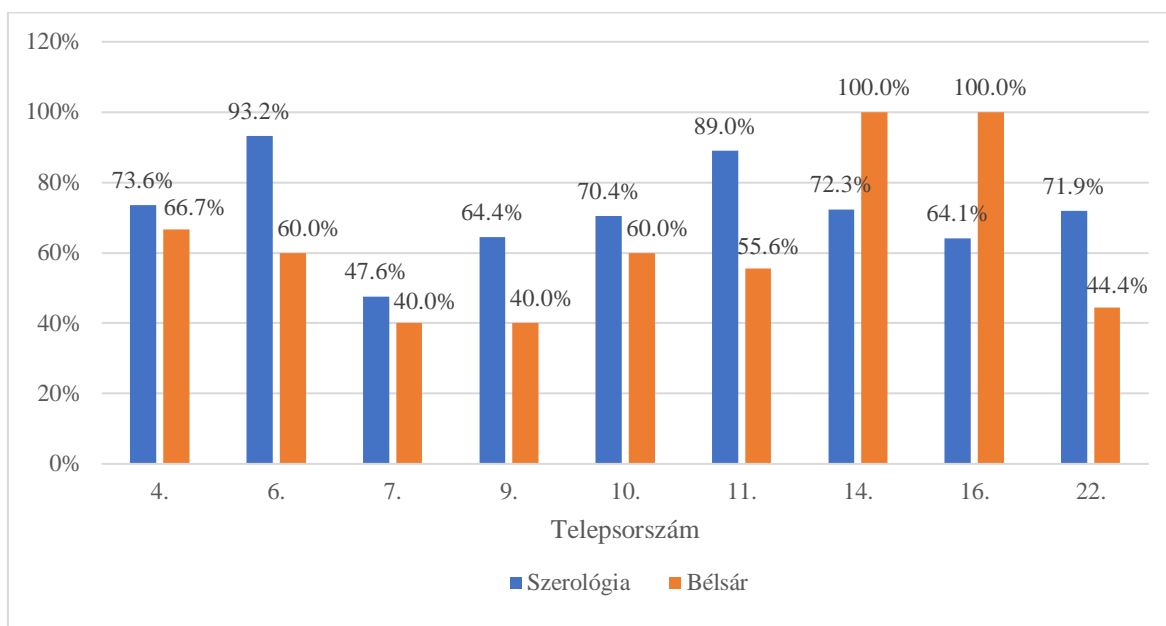
8. ábra: A három diagnosztikai módszerrel vizsgált minták pozitivitásának összehasonlítása a felmért sertéstelepeken (n=765)



4.6. A bélsár és a szerológiai vizsgálatok eredményeinek összehasonlítása

Vizsgálataink során kilenc telepen vizsgáltuk a *L. intracellularis* jelenlétét bélsár és szerológiai vizsgálattal (**9. ábra**). A két vizsgálat során a pozitív minták arányában a legnagyobb eltérést a 16. sorszámu telepnél találtuk, 36%-ot, míg a 7. telepnél az eltérés csak 1% volt. A 6. sorszámu telepen mértük a legnagyobb pozitívást a vizsgált mintáknál: a bélsár minták 100%-a és a szerológiai vizsgálatok 87%-a volt pozitív. A legkisebb pozitívítási szintet a 7. sz. telepnél kaptuk, ahol a szerológiai minták 39%-a, míg a bélsár minták 40%-a bizonyult pozitívnak. Szintén alacsony pozitívítási értékeket találtunk mind a szerológiai, mind a bélsár minták esetében a 9. sz. (64% vs. 40%) és a 22. sz. telepnél (71% vs. 44%).

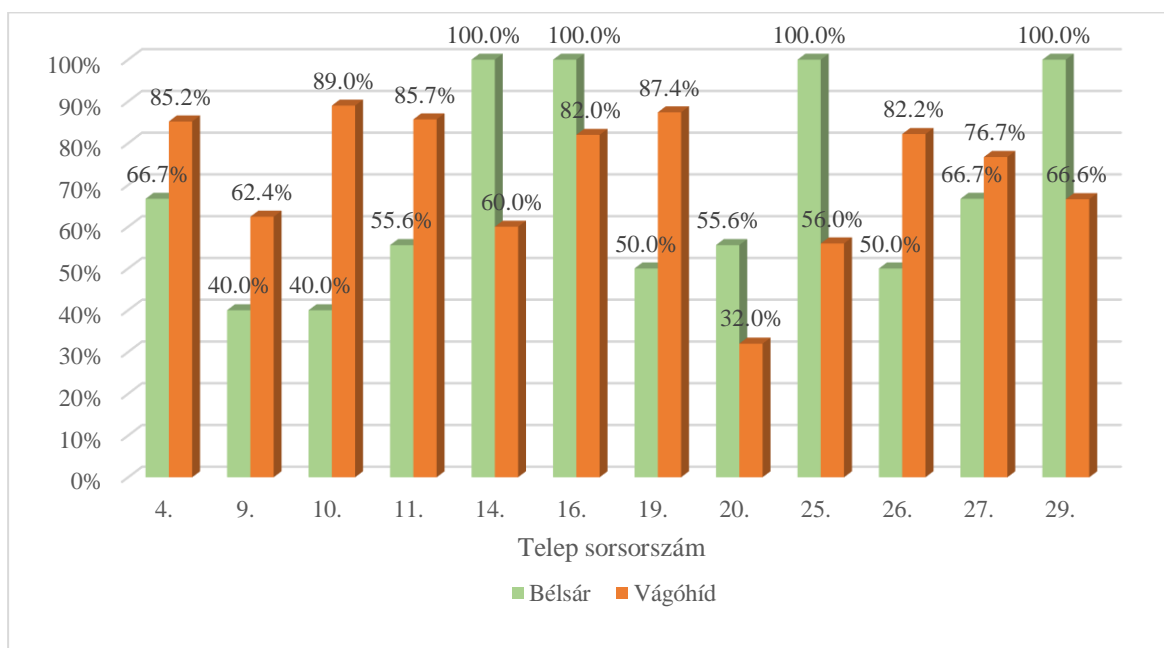
9. ábra: A bélsár és szerológiai minták pozitívításának összehasonlítása a felmért sertéstelepeken (n=824)



4.7. A bélsár és a vágóhídi vizsgálatok eredményeink összehasonlítása

A felmérésünk összehasonlítottuk a bélsármintákból és a vágóhídi vizsgálatokból kapott eredményeket is, összesen 12 db telep esetében. Az esetek 58%-ban fordult elő, hogy a vágóhídi vizsgálatok magasabb fertőzöttségi szintet mutattak, mint a bélsárvizsgálatok. Az átlagos eltérés az eredmények között 28 százalékpont volt, de a 27. sz. telepnél csak 10 százalékpont. A legnagyobb eltérést a 14. sz. állománynál kaptuk: 44 százalékpontot. A 14., 16., 25. és 29. sz. állományok esetében a bélsár minták 100%-a pozitív lett, de ezen telepek mintaszámai 6-12 db közé tehetők. A legkisebb pozitívítást a 20. telepnél találtuk, vágóhídi minták esetében nem érte el az 50%-ot (**10. ábra**).

10. ábra: A bélsár és a vágóhídi minták pozitivitásának összehasonlítása a felmért sertéstelepeken (n=427)



Ezen túlmenően megvizsgáltuk, hogy a kvantitatív bélsár és a vágóhídi vizsgálatok eredményei között van-e összefüggés. Alapfelvetésünk az volt, hogy a kvantitatív bélsárvizsgálatok és a vágóhídi vizsgálatok eredményei között pozitív korreláció van. Ennek bizonyítására statisztikai elemzést végeztünk el hat sertéstelep (4., 14., 16., 20., 25. és 29. sorszámu telep) releváns vizsgálati eredményeit figyelembe véve. Az elemzés során az állományonként kapott átlagosan ürített baktériumszámmal és a vágóhídi vizsgálatokból kapott értékek átlagával számoltunk, és három különböző statisztikai módszerrel elemeztük az adatainkat. A Pearson-féle korrelációs vizsgálattal kapott p-érték=0,5408 volt, a becsült korreláció pedig -0,3167497. A Spearman-féle korreláció analízis p értéke 0,4972, becsült korrelációs koefficiense pedig -0,3714286 volt. A Kendall-féle korreláció analízissel a p-érték=0,4694, míg a becsült korreláció -0,3333333 volt. Vagyis a három statisztikai módszer egyike se igazolta feltevésünket, a kvantitatív bélsárvizsgálatok és a vágóhídi vizsgálatok eredményei között nincs pozitív korreláció ($P > 0,05$). Ennek lehetett az oka, hogy a bélsár és a vágóhídi vizsgálati minták nem egyazon állatokból származtak az adott telepekről és a mintavételezések időpontja sem minden esetben esett egy időszakra. Továbbá a bélsár vizsgálatok esetében sokszor nem kaptunk kvantitatív eredményt, így csökkent a rendelkezésünkre álló adatok száma. A várható jövőbeli vizsgálatok majd lehetőséget adnak a bélsár és vágóhídi vizsgálati módszer összefüggéseinek további elemzésére.

5. Következtetések

Eredményeink azt mutatják, hogy a *Lawsonia intracellularis* szinte az összes hazai, kutatásban szereplő sertéstartó telepen előfordult. A vizsgált állatok többsége a mintavétel időpontjában klinikailag egészséges volt, tüneteket nem mutatott, de – szakirodalmi adatok alapján – már a szubklinikai fertőzés is jelentősen ronthatja a fertőzött sertésállomány termelési mutatóit és így a jövedelemtermelő képességét.

A hazai nagylétszámú sertésállományok magas *L. intracellularis* fertőzöttsége miatt rendszeres diagnosztikai vizsgálatok bevezetése javasolt. A szerológiai és bélsárvizsgálatok alkalmasak lehetnek az állatok fertőződési időszakának megtalálására és így az állomány-egészségügyi, tartástechnológiai hiányosságok kiküszöbölésére. A tömeges fertőzések időszakainak a megállapítása segíthet az állatorvosoknak is a *L. intracellularis* elleni hatékony vakcinázási és kezelési protokollok megtalálásában, finomhangolásában.

A bevezetésre került új vágóhídi vizsgálati módszerrel költséghatékonyan és gyorsan képet kaphatunk egy állomány fertőzöttségének mértékéről, így a jövőbeli tájékoztató vizsgálatok elvégzésére ezt a módszert javasolni lehet. Ezen kívül a csípőbél állapotából nem csak a fertőzöttség jelenlétéről, hanem annak súlyosságáról is adatokat kapunk, amelyeket a főbb termelési mutatókkal összevetve, várhatóan lehetőségünk nyílik a telepeken a *L. intracellularis* által okozott gazdasági kártétel mértékének a megbecsülésére is. Így kiszámítható például, hogy a vakcinázásra vagy más beavatkozásra szükség van-e az állományban, megéri-e az gazdaságilag.

A sertésállományok *L. intracellularis* mentesítése nem tűnik reális célnak, így a különböző védekezési, kezelési protokollokat tudjuk használni a kórokozó állományon belüli visszaszorítására. Az eddigi tapasztalok alapján a vakcinák sem képesek teljes mértékben eliminálni a fertőzést, azonban jelentős mértékben csökkentik a fertőzött állatok kórokozó ürítését, az állományon belüli fertőzöttség mértékét és a klinikai tünetek súlyosságát. A csípőbelek vágóhídi vizsgálatával pedig új eszközt kaptunk a vakcinázások eredményességének ellenőrzésére is.

6. Összefoglalás

A XXI. században a nagyüzemi sertéstartásban jelentősen szigorodtak az antibiotikumok felhasználási lehetőségei. Ennek köszönhetően megnőtt a felmérő vizsgálatok és a fertőző betegségek elleni vakcinázások jelentősége.

Kutatásunk során 2019 júliusa és 2022 májusa között 3 különböző kimutatási módszerrel térképeztük fel 44 darab hazai nagylétszámú sertésállomány *Lawsonia intracellularis* fertőzöttségét. Összesen 2525 db mintavételt végeztünk el, amelyből 1671 db volt szerológiai mintavétel. A vágóhídi vizsgálat során 660 db csípőbél traktust vizsgáltunk meg, amely során nem csak a minták pozitivitását, hanem a fertőződés mértékét is megállapítottuk. Vágóhídi vizsgálatok során 0-3 skálás pontozási rendszerrel vizsgáltuk a csípőbelek fertőzöttségi szintjét, amelynek hátránya, hogy csak post mortem kivitelezhető, azonban kis anyagköltséggel azonnal átfogó képet kaphatunk a fertőzöttség mértékéről. Továbbá elvégeztünk 194 db bélsár mintavételt is, amelyeket qPCR vizsgálatnak vetettük alá. Hat telepnél párhuzamosan alkalmaztuk mindhárom vizsgálati módszert.

A felmért telepek 97,7%-a fertőzött volt *Lawsonia intracellularis*sal, vagyis 1 (!) sertéstelep volt, ahol nem detektáltuk a baktériumot. A szerológiai minták 70,2% és a vágóhídi vizsgálatok mintáinak 71,2%-a volt pozitív. Ennél kisebb prevalencia eredmények születtek a bélsár vizsgálatnál, a minták 56%-a mutatott pozitivitást. A vágóhídi vizsgálatok során 0-3 skálás pontozási rendszerrel vizsgáltuk a csípőbelek fertőzöttségi szintjét. A vágóhídi vizsgálatok során a belek 28,8% tartozott a 0. kategóriába, ezek tekinthetők negatív mintának. A minták 44,5%-a tartozott az 1. kategóriába, ahol az ileumon csak kis mértékű proliferatív elváltozás volt megfigyelhető. A bélminták további 26,4%-a 2. kategóriába, 0,3% pedig a 3. kategóriába volt sorolható. A vizsgált bélsár mintákból átlagosan 2,29 10Log Copies/μl volt kimutatható. A bélsár vizsgálatok 14%-nál nem kaptunk kvantitatív eredményeket.

A felmérések eredményei azt mutatják, hogy a hazai sertésállományok jóval nagyobb mértékben fertőzöttek *Lawsonia intracellularis*-szal, mint Nyugat-Európában, így fontos lenne a fertőzöttség elleni védekezés. A bemutatott felmérő vizsgálatok, különösen az újonnan bevezetett, költségghatékony vágóhídi vizsgálati módszer, segíthetnek a fertőzöttség mértékének gyors megállapításában és a *Lawsonia intracellularis* elleni vakcinázás hatékonyságának ellenőrzésében.

7. Summary

In the 21st century, the use of antibiotics in the intensive pig production has become much more restricted. This has increased the importance of monitoring programmes and vaccination against infectious diseases.

In our study we surveyed the prevalence of *Lawsonia intracellularis* in 44 large Hungarian swine herds between July 2019 and May 2022, by using 3 different test methods. A total of 2525 samples were collected, of which 1671 were serological samples. During the slaughterhouse examination, 660 ileal tracts were examined, from which not only the positivity of samples but also the extent of infection was determined. Slaughterhouse checks were performed by using a 0-3 scale scoring system to assess the level of infection in the ileum, which has the disadvantage that it can only be performed post mortem, but a comprehensive picture of the level of infection can be obtained immediately at a low material cost. In addition, 194 faecal samples were taken and tested by qPCR. All three test methods were used parallelly in 6 farms.

97.7% of the surveyed farms were proved to be *Lawsonia intracellularis* positive, which means that there was only 1 (!) swine farm where the pathogen was not detected. 70,2% of the serological and 71,2% of the slaughterhouse samples were positive. Lower prevalence values were obtained for faecal samples, with 56% of samples showing positivity. In the slaughterhouse tests, a 0-3 scale scoring system was used to assess the level of infection in the ileum. 28.8% of the examined ileums belonged to Category 0 which can be regarded as a negative sample. 44.5% of the samples were in Category 1, showing only minor proliferative lesions in the ileum. A further 26.4% of intestinal samples were classified as Category 2 and 0.3% as Category 3. An average of 2.29 10Log Copies/ μ l was detected in the tested faecal samples. No quantitative results were obtained for 14% of faecal samples.

The survey results show that the Hungarian swine herds had much higher *Lawsonia intracellularis* prevalence than the Western European ones, and the control of the infection would be important. The presented test methods, particularly the newly introduced cost-effective slaughterhouse test method, can help to rapidly assess the extent of infection and to monitor the effectiveness of vaccination against *Lawsonia intracellularis*.

8. Irodalomjegyzék

1. Collins A (2013) Advances in Ileitis Control, Diagnosis, Epidemiology and the Economic Impacts of Disease in Commercial Pig Herds. *Agriculture* 3:536–555. <https://doi.org/10.3390/agriculture3030536>
2. Lawson GHK, Gebhart CJ (2000) Proliferative Enteropathy. *Journal of Comparative Pathology* 122:77–100. <https://doi.org/10.1053/jcpa.1999.0347>
3. Biester HE, Schwarte LH (1931) Intestinal Adenoma in Swine. *Am J Pathol* 7:175-185.6
4. Emsbo, P. (1951). Terminal or regional ileitis in swine. *Nordisk Veterinaer Medicin*, 3, 1–28.
5. Vannucci FA, Gebhart CJ (2014) Recent Advances in Understanding the Pathogenesis of *Lawsonia intracellularis* Infections. *Vet Pathol* 51:465–477. <https://doi.org/10.1177/0300985813520249>
6. Ward ME, Murray A (1984) Control Mechanisms Governing the Infectivity of *Chlamydia tuachomatis* for HeLa Cells: Mechanisms of Endocytosis. *Microbiology* 130:1765–1780. <https://doi.org/10.1099/00221287-130-7-1765>
7. Smith DGE, Lawson GHK (2001) *Lawsonia intracellularis*: getting inside the pathogenesis of proliferative enteropathy. *Veterinary Microbiology* 82:331–345. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00397-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00397-2)
8. Barthold SW, Coleman GL, Jacoby RO, Livstone EM, Jonas AM (1978) Transmissible Murine Colonic Hyperplasia. *Vet Pathol* 15:223–236. <https://doi.org/10.1177/030098587801500209>
9. Guedes RMC, Machuca MA, Quiroga MA, Pereira CER, Resende TP, Gebhart CJ (2017) *Lawsonia intracellularis* in Pigs: Progression of Lesions and Involvement of Apoptosis. *Vet Pathol* 54:620–628. <https://doi.org/10.1177/0300985817698206>
10. Rowland A, Rowntree P (1972) A haemorrhagic bowel syndrome associated with intestinal adenomatosis in the pig. *Veterinary Record* 91:235–241. <https://doi.org/10.1136/vr.91.10.235>
11. Collins AM, Love RJ (2007) Re-challenge of pigs following recovery from proliferative enteropathy. *Veterinary Microbiology* 120:381–386. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.11.004>
12. Pearce GP (1999) Epidemiology of enteric disease in grower.finisher pigs: a postal survey of pig producers in England. *Veterinary Record* 144:338–342. <https://doi.org/10.1136/vr.144.13.338>
13. Pozo, J.; Collins, A.M.; Rubio, P.; Love, R.J. Maternal Immunity to *Lawsonia intracellularis* Infection. In Proceedings of the 16th International Pig Veterinary Society Congress, Melbourne, Australia, 17–21 September 2000; Cargill, C., McOrist, S., Eds.; Causal Productions Pty Limited: Melbourne, Australia, 2000; p. 108.

14. Starek M, Bilkei G (2004) Sows Seropositive to *Lawsonia intracellularis* (LI) Influence Performance and LI Seropositivity of their Offspring. *Acta Vet Brno* 73:341–345. <https://doi.org/10.2754/avb200473030341>
15. Collins AM, Fell S, Pearson H, Toribio J-A (2011) Colonisation and shedding of *Lawsonia intracellularis* in experimentally inoculated rodents and in wild rodents on pig farms. *Veterinary Microbiology* 150:384–388. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.01.020>
16. Obradovic MR, Wilson HL (2020) Immune response and protection against *Lawsonia intracellularis* infections in pigs. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 219:109959. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2019.109959>
17. Campillo M, Smith SH, Gally DL, Opriessnig T (2021) Review of methods for the detection of *Lawsonia intracellularis* infection in pigs. *J VET Diagn Invest* 33:621–631. <https://doi.org/10.1177/10406387211003551>
18. Steinheuer R, Bubikat A, Hardge T, Keller C (2007) Vizsgálatok a *Lawsonia intracellularis* elterjedtségéről és a fertőzöttséget befolyásoló tényezőkről. *Magyar Állatorvosok Lapja* 129:661-666
19. Biksi I, Kacs Kovics I, Mándoki M, Iván J, Horváth-Papp I, Makay G, Vetési F (1998) Detection of *Lawsonia intracellularis* in Hungarian swine herds by polymerase chain reaction. *Acta Vet Hung* 46:415–420
20. Biksi I, Lőrincz M, Molnár B, Kecskés T, Takács N, Mirt D, Cizek A, Pejsak Z, Martineau G, Sevin J, Szenci O (2007) Prevalence of selected enteropathogenic bacteria in Hungarian finishing pigs. *Acta Veterinaria Hungarica* 55:219–227. <https://doi.org/10.1556/avet.55.2007.2.8>
21. Arnold M, Crien A, Swam H, von Berg S, Jolie R, Nathues H (2019) Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in pig herds in different European countries. *Porc Health Manag* 5:31. <https://doi.org/10.1186/s40813-019-0137-6>
22. Pedersen KS, Skrubel R, Stege H, Angen Ø, Ståhl M, Hjulager C, Larsen LE, Nielsen JP (2012) Association between average daily gain, faecal dry matter content and concentration of *Lawsonia intracellularis* in faeces. *Acta Vet Scand* 54:58. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-54-58>
23. Collins AM, Barchia IM (2014) The critical threshold of *Lawsonia intracellularis* in pig faeces that causes reduced average daily weight gains in experimentally challenged pigs. *Veterinary Microbiology* 168:455–458. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.12.003>
24. Kim J, Choi C, Cho W-S, Chae C (2000) Immunohistochemistry and Polymerase Chain Reaction for the Detection of *Lawsonia intracellularis* in Porcine Intestinal Tissues with Proliferative Enteropathy. *J Vet Med Sci* 62:771–773. <https://doi.org/10.1292/jvms.62.771>
25. Hagen B, Bilkei G (2003) Seroprevalence of *Lawsonia intracellularis* in large pig production units. *Acta Veterinaria Hungarica* 51:165–170. <https://doi.org/10.1556/avet.51.2003.2.4>

26. Li Y, Wang J, Wang J, Liu L, Zhang R, Shi R, Han Q, Sun J, Yuan W (2018) A real-time loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of *Lawsonia intracellularis* in porcine fecal samples. *Journal of Microbiological Methods* 151:62–65. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.06.002>
27. Wu Y, Tian K, Zhang Y, Guo H, Li N, Wang Z, Zhao J (2019) Rapid and visual detection of *Lawsonia intracellularis* with an improved recombinase polymerase amplification assay combined with a lateral flow dipstick. *BMC Vet Res* 15:97. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1841-9>
28. Collins, A.; Love, R.J.; Pozo, J.; Smith, S.H.; McOrist, S. Studies on the ex vivo survival of *Lawsonia intracellularis*. *Swine Health Prod.* 2000, 8, 211–215.
29. Wattanaphansak, S.; Singer, R.S.; Gebhart, C.J. Evaluation of in vitro bactericidal activity of commercial disinfectants against *Lawsonia intracellularis*. *J. Swine Health Prod.* 2010, 18, 11–17.
30. Guedes RMC, Gebhart CJ (2010) Evidence of cell-mediated immune response and specific local mucosal immunoglobulin (Ig) A production against *Lawsonia intracellularis* in experimentally infected swine. *Can J Vet Res* 74:97–101
31. Jacobs AAC, Harks F, Hazenberg L, Hoeijmakers MJH, Nell T, Pel S, Segers RPAM (2019) Efficacy of a novel inactivated *Lawsonia intracellularis* vaccine in pigs against experimental infection and under field conditions. *Vaccine* 37:2149–2157. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.02.067>
32. Jacobs AAC, Harks F, Pauwels R, Cao Q, Holtslag H, Pel S, Segers RPAM (2020) Efficacy of a novel intradermal *Lawsonia intracellularis* vaccine in pigs against experimental infection and under field conditions. *Porc Health Manag* 6:25. <https://doi.org/10.1186/s40813-020-00164-0>
33. Nogueira MG, Collins AM, Donahoo M, Emery D (2013) Immunological responses to vaccination following experimental *Lawsonia intracellularis* virulent challenge in pigs. *Veterinary Microbiology* 164:131–138. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.02.004>
34. Jensen TK, Møller K, Christensen G, Leser TD, Jorsal SE (1999) Monitoring ileitis and *Lawsonia intracellularis* in abattoir pigs. *Veterinary Record* 145:613–615. <https://doi.org/10.1136/vr.145.21.613>
35. Dors A, Pomorska-Mól M, Czyżewska E, Wasyl D, Pejsak Z (2015) Prevalence and risk factors for *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae* and *Salmonella* spp. in finishing pigs in Polish farrow-to-finish swine herds. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 18:825–831. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2015-0107>

9. Köszönetnyilvánítás

Ezutón szeretnék köszönetet mondani Dr. Ózsvári László témavezetőmnek, aki megteremtette a lehetőséget a dolgozatom elkészítéséhez, és a munka során elengedhetetlen szakmai tanácsokkal látott el.

Továbbá szeretnék köszönetet mondani Dr. Búza László társtémavezetőnek támogatásáért és a lehetőségért, amellyel bevezetett a sertéstartás szakmai világába.

Köszönöm Dr. Máté Péter és Dr. Makkai István állatorvosoknak a telepekkel való kapcsolattartásban való segítséget és a jó hangulatú közös vizsgálatokat.

Köszönöm az MSD AH vállalatnak, hogy a partnereknél gyűjtött adatokat felhasználhattuk.

A projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-22-2 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.



Diplomamunka konzultációs lap állatorvostan hallgatók részére

A hallgató neve: Kondor Patrik Raul
 Neptun-kódja: UURRVU
 A témavezető neve és beosztása: Dr. Ózsvári László tanszékvezető egyetemi tanár
 Tanszék: Törvényszéki Állatorvostani és Gazdaságtudományi Tanszék
 A diplomadolgozat címe: Lawsonia intracellularis előfordulása nagylétszámú hazai sertésstelepeken.

Konzultáció - 1. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2021	09	01	a kutató megismerése, projektterv ellenőrzése	<i>[Signature]</i>
2.	2021	09	15	projektterv jóváhagyása	<i>[Signature]</i>
3.	2021	10	20	a kutatóval kötött kérdőív elfogadása	<i>[Signature]</i>
4.	2021	11	04	kérdőív kitöltésével lezárta a résztvevői tevékenység	<i>[Signature]</i>
5.	2021	12	17	addig meggyújtott adatok feldolgozása	<i>[Signature]</i>

Érdemjegy az első félév végén: *jóles (5)*

Konzultáció - 2. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2022	02	07	irodalmat felkutatás az új félévben	<i>[Signature]</i>
2.	2022	03	14	az utolsó irodalmat elvégzése	<i>[Signature]</i>
3.	2022	05	10	a begyűjtött adatok feldolgozása anyag és módszerben rész megírása	<i>[Signature]</i>
4.	2022	07	20	irodalmi áttekintés, saját eszébejuttatás kiemelkedéséről és összegezéséről megírása	<i>[Signature]</i>
5.	2022	08	08	a dolgozat végleges formájában a megírása	<i>[Signature]</i>

Érdemjegy a második félév végén: *jóles (5)*

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül nem érvényes. A konzultációs lap a diplomamunka mellékletét képezi!



A diplomamunka - a szakra vonatkozóan - a Tanulmányi- és Vizsgaszabályzatban, valamint az Útmutató a szakdolgozatok/diplomamunkák készítéséhez című mellékletében leírt követelményeknek megfelel.
A diplomamunka befogadható, védeésre alkalmasnak találtam.

Hallgató aláírása: *Bochn Dalma Dora*

[Handwritten signature]

témavezető aláírása

Tanszéki előadó aláírása: *Balogh Kriszta*

Átvétel dátuma: *2023. 11. 02.*

NYILATKOZAT

Alulírott Kondor Patrik Raul nyilatkozom, hogy diplomamunkám, melynek címe *A Lawsonia intracellularis előfordulása nagylétszámú hazai sertéstelepeken* tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2022. évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2023.10.30.

Kondor Patrik Raul
.....

Kondor Patrik Raul