

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

Alacsony patogenitású madárinfluenza vírus kórfejlődésének vizsgálata baromfiban

Dr. Bóna Márta

Témavezetők:

Prof. Dr. Mándoki Míra PhD

Dr. Kiss István PhD



ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2024.

Témavezetők és témabizottsági tagok:

Prof. Dr. Mándoki Míra

Tanszékvezető, egyetemi tanár
Állatorvostudományi Egyetem
Patológiai Tanszék
belső témavezető

Dr. Kiss István PhD

Ceva-Phylaxia Zrt.
Tudományos Támogató Igazgatóság
külső témavezető

Prof. Dr. Rusvai Miklós DSc

nyugalmazott egyetemi tanár
opponens

Dr. Thuma Ákos PhD

Kórbontan Osztályvezető
Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal
Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság
opponens

Készült 8 példányban. Ez a sz. példány.

.....
Dr. Bóna Márta

BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Az elmúlt években a magas patogenitású madárinfluenza vírus (HPAIV) rendszeres jelenléte nehéz helyzetbe sodorta a világ, így Magyarország baromfi ágazatát is. Korábban a vadmadarak által behurcolt HPAIV-k (H5 és H7) az alacsony patogenitású madárinfluenza vírusokból (LPAIV) mutáció révén váltak magas patogenitásúvá baromfiban. A vadmadarakban nagy genetikai változatosságot mutató LPAIV-k között zajló génátrendeződés jelentősen hozzájárult a baromfiállományokban felbukkanó vírusok sokféleségéhez. Éppen ezért az LPAIV-k is a tudományos kutatás középpontjába kerültek az elmúlt 20 évben.

Megbetegítő képessége alapján a H9N2 altípus az LPAIV-k közé tartozik, így a fertőződés lehet tünetmentes, de enyhébb-súlyosabb klinikai tünetekkel vagy akár elhullással is végződhet. A H9N2 azért figyelemre méltó altípus, mert jól példázza, hogy kialakulhat emberre átvihető madár eredetű vírus, közvetítő emlős faj (pl. sertés) jelenléte nélkül. Az AIV-k által okozott humán megbetegedések kis részében mutatható ki a H9N2 altípus. Zoonotikus jelentőségét főleg az adja, hogy a halálos kimenetelű humán fertőzéseket előidéző AIV-k esetében (akár H5N1/H5N6, akár H7N9 altípusról legyen szó),

az ún. belső gének legalább részben a H9N2 AIV-ből származnak.

A H9N2 fertőzések baromfiban az esetek többségében nem önállóan, hanem egyéb légúti, vagy immunszuppresszív hatású kórokozók (pl. csirkék fertőző bronchitis vírusával, metapneumovírusokkal, Mycoplasmákkal, *Ornithobacterium rhinotracheale*-val) társfertőzésben okoznak klinikai tünetekben is megnyilvánuló megbetegedéseket, elhullást, illetve jelentős gazdasági károkat.

Kutatómunkám jelentőségét és aktualitását a zoonotikus és állategészségügyi (gazdasági) szempontból egyaránt fontos H9N2 LPAIV-k kórokozóképességének (patogenitás) alaposabb megismerése adja. Ezek az ismeretek hozzájárulnak a hatékonyabb védekezési módszerek (pl. vakcinák) kidolgozásához.

Munkám átfogó célja a H9N2 madárinfluenza vírusok kórokozó képességének, az általuk okozott betegség kórfejlődésének, kórtanának alaposabb megismerése volt mesterséges fertőzésnek kitett brojlercsirkében.

Konkrét célok az alábbiak voltak:

- különböző földrajzi eredetű H9N2 vírustörzsek kórokozó képességének, szöveti megoszlásának, kórfejlődési jellegzetességeinek felmérése, az általuk okozott elváltozások leírása
- egy adott H9N2 vírustörzssel, különféle ráfertőzési módok esetén az előző pontban megfogalmazott célok vizsgálata
- egyidejű IBV társfertőzés esetén a H9N2 fertőzés lefolyásának vizsgálata, mivel a gyakorlatban a légzőszervi kórokozók legtöbbször társfertőzőként vannak jelen és a kórokozó panel egyik leggyakoribb szereplője az IBV.
- a H9N2 vírus ürités vizsgálata a kórfejlődés során
- patológiai módszertan fejlesztése a H9N2 okozta elváltozások pontosabb/mélyebb megismeréséhez
- több diagnosztikai módszer együttes alkalmazásával nyert eredmények értelmezése: klinikum, kórbonctan, kórszövettan, immunhisztokémia, PCR
- ráfertőzési modell kialakítása vakcinás védekezés hatékonyságának bírálatához.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatba vont 100 db, 21 napos, vegyes ivarú brojlersirkét (Ross 308) izolátorban helyeztük el. A csoport létszámokat (18 db/ fertőzött csoport) a még értékelhető legkisebbre korlátoztuk és több, egyidejű kezelt csoport mellett egyetlen kontrollcsoportot használtunk 10 madárral.

A kórfejlődés heveny és idült szakaszának vizsgálatára az 5. és a 11. mintavételi napot választottuk az irodalom alapján.

Kísérleteinkben genom szekvenálással azonosított, G1-lineage-be tartozó, természetes fertőzésekből izolált H9N2 vírus törzseket A/chicken/Middle East/8616/2016 ('A'), A/chicken/Middle East/4531/2016 ('B'), and A/chicken/North Africa/2021/2016 ('C') használtunk. A brojlersirkéket 10^8 EID₅₀ vírus mennyiséggel fertőztük 0.2 ml térfogatban minden ráfertőzési mód esetén. A kontroll csoportot 0.2 ml PBS pufferral kezeltük intranasal & intratrachealisan (IN&IT).

A vírustörzsek patogenitását az alábbi módszerekkel vizsgáltuk: (a) klinikai tünetek, (b) kórbonctani elváltozások, (c) általános kórszövettan, (d) immunhisztokémia, (e) valós idejű PCR. A céljaink megvalósítása érdekében több vizsgálati elrendezést alkalmaztunk: azonos ráfertőzési mód mellett a különböző földrajzi eredetű törzsek összehasonlítása, majd azonos törzs szöveti tropizmusának vizsgálata különböző ráfertőzési mód (IN&IT versus IV) mellett, valamint H9N2

vírus szöveti tropizmusának vizsgálata egyidejű IN&IT fertőző bronchitis (IBV) társfertőzés mellett.

A madarakat naponta megfigyeltük a klinikai tünetek és az elhullás rögzítése céljából a megfigyelési időszak alatt (D0-D11). Oronazális és kloáka tamponokat az élő madaraktól gyűjtöttünk, az 5. és 11. napon minden csoportból, az 'A' törzssel fertőzött csoportban minden megfigyelési napon. További tamponmintát boncolás során a légcsákoból vettünk PCR vizsgálat céljára. Légcső, tüdő, vese, lép, hasnyálmirigy és agyvelő mintákat kórszövettani, IHC és PCR vizsgálatokhoz gyűjtöttünk. A természetes elhullásokat is ugyanígy mintáztuk.

Az IHC vizsgálatok során a HPAIV esetében alkalmazott *indirekt kétlépéses immunreakciót adaptáltuk a H9N2 vírusra* a protokoll módosításával.

A statisztikai értékelés során is módszertani újítást vezettünk be: a szakirodalomban hagyományosan alkalmazott tesztek mellett a Continuation Ratio mixed effect (CR) modellt és a Cumulative link modellt (más néven arányos oddsz modell) alkalmaztuk. Ezek használata nemcsak azért előnyös, mert kifejezetten ordinális adatok elemzésére optimalizáltak, hanem azért is, mert megfelelőbbek az ismételt mérésekből (nem független megfigyelésekből) származó adatok helyesebb modellezésére is.

EREDMÉNYEK

1. Általános kórtani ismertető

Klinikai tünetek

Általában légúti tüneteket, szipogást, gurgulázást, tüszögést, ziháló légzést és esetenként nehézlégzést figyeltünk meg a legtöbb fertőzött madárnál.

A közel-keleti törzsekkel ráfertőzött csoportok kórfejlődése közel azonos módon alakult a klinikai tünetek súlyosságát tekintve. Az Észak-Afrika törzs kiugróan súlyosabb klinikai tüneteket okozott elsősorban a kórfejlődés heveny szakaszában, ami az idült időszakra lecsendesedett a többi törzsnél tapasztalt mértékre.

Elhullás

Az „A-Közel-Kelet 1.” csoportból egy csirke (5,5%) és a „C-Észak-Afrikai” csoportból négy madár (22%) pusztult el a fertőzést követő 4–6. napon (továbbiakban: dpi), míg a „B-Közel-Kelet 2.” csoportban (0%) nem fordult elő elhullás. Az elhullási arányok nem mutattak szignifikáns különbséget (Fisher egzakt teszt $p = 0,113$).

Kórbonctan

Makroszkópos elváltozásokat észleltünk a légutakban, beleértve a vöröses vagy lilás-piros légcső nyálkahártyáját, a

légzsákokon lévő erezetes belövelltséget és a tüdőben pangást, esetenként fibrindugót a bifurkációnál.

A boncolás során az 'A-Közel-Kelet 1.' és a 'B- Közel-Kelet 2.' törzs esetén az 5. dpi-n a kiirtott egyedekben helyenként kipirult légsövet, enyhén beszűrődött légzsákokat figyeltünk meg. Az elpusztult madarakban a légcső nyálkahártya teljes hosszában haragosvörös, a mellkasi légzsákban erezetes belövelltség és opálos beszűrődést, a hasi légzsákban enyhe beszűrődést, és haragos vörös, néhol ödémás tüdőt figyeltünk meg. A 'C-Észak-Afrika' törzs esetében az elhullott madarak légsövében fibrindugót, a nagy légutakban fibrin kiválást és az általa okozott eltömődést figyeltünk meg. Súlyos esetben a hasi légzsákokra is kiterjedő erezetes belövelltség és opálos beszűrődés, valamint az intrapulmonális légutakban fibrindugó volt látható. A leölt madarakban a fent leírt folyamatok enyhébb mértékben voltak megfigyelhetőek. Dpi 11-en a boncolás során a légcső és a tüdő elváltozások eltűntek, csak a légzsákokban találtunk erezetes belövelltséget és opálos beszűrődést a csoportokban.

Kórszövettani eredmények

A légcsőben, a tüdőben és a vesében kórszövettani elváltozásokat figyeltünk meg, míg lépben, hasnyálmirigyben és agyban nem találtunk elváltozást.

A légső elváltozásokat limfocitás gyulladás jellemezte. Az elváltozások súlyossága szignifikánsan csökkent dpi 11-re dpi 5-höz képest (OR (dpi11/dpi5): 262), és szignifikáns különbségeket tudtunk kimutatni az „A-Közel-Kelet 1” és a „C-Észak-Afrika” törzsek között (OR (A-Közel-Kelet 1/ C-Észak-Afrika): 8,36, $p = 0,0116$).

A tüdőelváltozások közé tartozott az interstitialis tüdőgyulladás, valamint hurutos hörgőgyulladás. Az elváltozások súlyossága dpi 11-en szignifikánsan csökkent az 5 dpi-hez képest (OR (dpi11/dpi5): 281, $p < 0,0001$), de a három törzs között nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni.

Kórszövettani elváltozásokat a vesében csak az 5 dpi-n vett mintákban észleltünk. Az elváltozásokat főként tubulonefrózis és glomerulonefritis jellemezte, néhány esetben enyhe limfocitás gyulladást figyeltünk meg. Szignifikáns különbséget csak a tubulonefrózis esetében találtunk az „A-Közel-Kelet 1.” és a „C-Észak-Afrika” törzs (OR (A-Közel-Kelet 1/ C-Észak-Afrika): 31,95, $p = 0,0026$), valamint a „B-Közel-Kelet 2.” és a „C-Észak-Afrika” törzs (OR (B-Közel-Kelet 2/ C-Észak-Afrika): 248,25, $p = 0,0002$) között.

Immunhisztokémiai eredmények

Vírusantigént a fertőzött madarak légső-, tüdő- és vesemintáinak 30-50 %-ában azonosítottuk. Pozitív IHC eredményeket csak a fertőzött csirkéktől az 5 dpi-n vett

mintákban találtunk, azaz minden kontroll állat mindkét mintavételi napon, illetve a 11 dpi-n vett minták negatívak voltak. A pozitív IHC festődés nagyon kontrasztos, jól látható sötétvörös precipitátumként jelenik meg a légcsőben leváló hámsejtek magjában, a tüdő alveoláris hámsejtjeiben valamint a vese kefeszegély (tubuláris epithelium) citoplazmájában. A vesében nagyobb arányban volt megfigyelhető a teljes sejtes festődés, míg a légutakban a sejtmagok festődése jellemző. Alkalmanként a lépben a csirkék 8 %-ban találtunk vírus antigént mindhárom fertőzött csoportban. A hasnyálmirigyben és az agyban nem volt kimutatható a vírusantigén.

PCR eredmények

IN&IT ráfertőzés után az oronazális tamponból már a 2. napon kimutatható a vírus. A felső légutakból a 4. nap után drasztikusan csökken a vírusürítés, ami a 8. naptól már szinte minimálisnak, a 10. naptól negatívnak tekinthető. A kloákán át történő vírusürítés a 4. naptól észlelhető alacsony kópiaszámmal, ami a megfigyelési időszak előrehaladtával kismértékben emelkedik, majd a 9. naptól megszűnik.

Különböző diagnosztikai módszerekkel kapott eredmények összehasonlítása

A Spearman-féle rangkorrelációs együtthatókat (r_s) számoltunk a kórszövetten és az IHC, valamint a kórszövetten és a PCR összehasonlítására a légcsőben, a tüdőben és a vesében.

Statisztikailag szignifikáns ($p < 0,0500$), de mérsékelt pozitív korrelációt mutattunk ki a kórszöveti és az IHC eredmények között ($r_s = 0,37$ a légcső és a tüdő esetében; $0,47$ a vese esetében). Hasonlóképpen szignifikáns és mérsékelt, de negatív korrelációt mutattunk ki a kórszöveti pontszámok és a PCR Ct-értékei között ($r_s = [-0,39]$ a vesére, $[-0,48]$ a tüdőre és $[-0,6]$ a légcsőre).

2. Különböző földrajzi eredetű törzsek kórfejlődésének vizsgálata

Klinikai tünetek

Szignifikáns különbség volt megfigyelhető az 'A – Közel-Kelet 1.' és a 'C- Észak-Afrika' törzs között ($p = 0,011$), valamint a 'B- Közel-Kelet 2.' és a 'C- Észak-Afrika' törzs között ($p = 0,0055$). Azonban a statisztikai elemzés nem mutatott ki szignifikáns különbséget az 'A- Közel-Kelet 1.' és a 'B- Közel-Kelet 2.' törzs között ($p = 0,8078$). A „C-Észak-Afrika” törzs okozta a legsúlyosabb tüneteket. A kórfejlődés heveny (5 dpi) és idült (11 dpi) szakasza klinikai tünetekben is markánsan különbözött.

Kórbonctan

A légcső elváltozások alapján a három törzs között nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni.

A légsákok elemzése során szignifikáns különbségeket tudunk kimutatni az 'A- Közel-Kelet1' és a 'B-Közel-Kelet2.' törzs (OR (A/B): 10,34, $p = 0,0199$) és az 'A-Közel-Kelet1' és a 'C-Észak-Afrika' törzs között. (OR (A/C): 33,97, $p = 0,0003$). A „B-Közel-Kelet2.” és a „C-Észak-Afrika” törzs esetében súlyosabb légsák elváltozásokat figyeltünk meg, mely 11 dpi-re csökkenő tendenciát mutatott.

Kórszövettan

A kórszövetani elváltozások elemzése során nem lehet egyértelmű sorrendiséget felállítani a törzsek között.

Immunhisztokémia

Szignifikáns különbségeket mutattunk ki a törzsek között a tüdő és a vesetropizmus esetében ($p = 0,0065$ and $0,0008$). A „C-Észak-Afrika” törzssel fertőzött madaraktól származó tüdőminták felfelé elmozdulást mutattak a „B-Közel-Kelet 2.” törzssel fertőzöttekhez képest ($p = 0,0045$).

Veseminták tekintetében a „C-Észak-Afrika” törzs virulensebbnek bizonyult, mint az „A-Közel-Kelet 1.” és a „B-Közel-Kelet 2.” törzs, amit a szignifikánsan magasabb medián IHC pontszám jelez ($p = 0.0008$ and $p = 0.0166$). Az összesített IHC pontszámok mediánja szintén szignifikáns összefüggést mutatott a törzs típusával ($p=0,0028$), vagyis a vírus antigén mennyisége magasabb volt a „C-Észak-Afrika” törzssel fertőzött madarakban, mint az „A-Közel-Kelet 1.” és a „B-

Közel-Kelet 2.” törzsek esetén ($p=0,0215$ és $p=0,0042$). A légső- és a lépminták esetében nem mutattunk ki szignifikáns különbséget a törzsek között.

PCR

A víruskiválasztást oronazális és kloáka-tamponokból vizsgáltuk. Egy kivételével ("A-Közel- Kelet 1." csoport) minden csirke ürítette a ráfertőzött vírust a dpi 5-ön, az oronazális tamponon keresztül; azonban 11 dpi-n jelentősen csökkent a vírusürítés ($p < 0,0001$). Szignifikáns különbséget tapasztaltunk az „A-Közel- Kelet1.” és a „C-Észak-Afrika” törzsek között ($p = 0,0175$). A kloákatampon minta esetében a dpi változó nem volt szignifikáns, és nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni a törzsek között. Az agyvelőben egyik H9N2 vírustörzs sem volt kimutatható.

A PCR eredmények alapján a törzsek közötti patogenitás különbség is látszik: a „C-Észak-Afrika” törzs jelent meg legtöbbször a legnagyobb mértékben, a szervekben és tampon mintákban. Figyelemreméltó, hogy a kloáka tampon mintákban csak a „C-Észak-Afrika” törzset; a lép és vese mintákban a „B-Közel-Kelet 2.” és a „C-Észak-Afrika” törzseket mutattuk ki.

3. Különböző ráfertőzési módok hatása a kórfejlődésre

Klinikai tünetek

Az IN&IT ráfertőzés során a klinikai tünetek az idő előrehaladtával enyhén súlyosbodtak, de 1 pontozási érték alatt

maradtak. Az IV ráfertőzés esetén a klinikai tünetek 2 nappal később érték el az IN&IT ráfertőzés okozta pontozási értéket, de hamarabb, és magasabb pontozási értéket mutattak a 7 és 8 dpi-n, majd csökkenő értékeket mutattak.

Kórbonctan

Kórbonctani elváltozások esetében az IV ráfertőzési mód esetében 5 dpi-n enyhébb elváltozásokat láttunk a légzsákok bírálata során, míg 11 dpi-n azonos mértékben alig láttunk elváltozásokat.

Kórszövettan

Az IV ráfertőzés esetén 5 dpi-n enyhébb mértékű kórszövettani elváltozásokat láttunk a légcsőben és a tüdőben, míg a vesében súlyosabb elváltozásokat. A lépben, agyban és pancreasban egyik ráfertőzési mód mellett sem találtunk elváltozást.

11 dpi-n a légcsőben az IV ráfertőzési mód esetében a légcső limfociták gyulladása nagyobb pontszámot kapott, míg a tüdőben az IN&IT ráfertőzési mód esetén láttunk súlyosabb elváltozásokat. Ez a megfigyelés a vírus szöveti tropizmusára ad információt: ráfertőzési módtól függetlenül a felső légutakban és a tüdőben található meg a H9N2 vírus.

Immunistokémia

Az IV ráfertőzés több antigén kimutatást eredményezett a vesében (50% vs. 18%), a lépben (20% vs. 9%), és kevesebbet

a tüdőben (20% vs. 36%). A légcsőminták pozitív aránya meglehetősen hasonló volt (60% vs. 55%). A számszerű trendek ellenére a Mann-Whitney U-teszt nem mutatott szignifikáns eltéréseket a fertőzési módok között ($p > 0,05$ szövetenként és az összesített pontszámokban).

PCR

Az IV ráfertőzés esetén olyan mintákban (kloáka tampon és a lép) is kimutatható a vírus, ami a természetes fertőzési mód (IN&IT) esetén nem. Az IV ráfertőzés esetén a légzsák tampon, légcső és tüdő esetében azonos mértékben, az oronazális tampon esetében nagyobb mértékben mutatható ki a vírus, mint IN&IT ráfertőzési mód esetén. A PCR eredmények is alátámasztják, hogy a vírus szerv tropizmusa a felső légutak és a tüdő. A 11 dpi-n vett minták PCR eredménye azt mutatja, hogy a természetes ráfertőzési mód (IN&IT) esetén a vírus szinte teljes mértékben kiürül a szervezetből, csak a légcső mintákból mutatható ki. Az IV ráfertőzés esetén a légcsőből, az oronazális tamponból és kis mértékben a tüdőből kimutatható a vírus.

4. IBV társfertőzés hatása a H9N2 kórfejlődésére

Klinikai tünetek

A klinikai tüneteket tekintve a társfertőzések csoportjánál egy nappal később jelentkeznek magasabb arányban enyhe és közepes légúti tünetek, melyek a 7-8, 10 dpi-n is magasabb

arányban fordulnak elő, mint csak a H9N2-vel fertőzött csoportban. A társfertőzéses csoportban elhullás nem fordult elő.

Kórbonctan

A boncolás során a társfertőzéses csoportban a légzsák elváltozások növekvő tendenciát mutatnak 11 dpi-n, 5 dpi-hez képest. A csak H9N2-vel fertőzött csoportokban a légzsák elváltozások pontozása csökkenő mértéket mutat 11 dpi-re.

Kórszövettan

A társfertőzéses csoportban az elváltozás közepes mértékben volt jelen. Az 5 dpi-n vett minták kiértékelése alapján elmondható, hogy a H9N2 fertőzés a légutakban önmagában súlyosabb elváltozásokat okozott, mint társfertőzéssel. A vesében az IBV társfertőzés súlyosabb elváltozásokat mutatott. Az idült fázisban súlyosabb elváltozások láthatók az IBV társfertőzéses csoportban a légső limfocitás gyulladása és metapláziája, valamint bronchitis tekintetében.

Immunhisztokémia

A nefropatogén IBV-vel és az „A-Közel-Kelet1.” törzssel való együttes fertőzés lényegesen gyakrabban mutatta ki az AIV-t a vesében (60% vs 18%). Érdekes módon kevesebb vírust találtunk a tüdőben és a légsőben (30% vs 36% illetve 20% vs 55%). A statisztikai összehasonlítás azt mutatta, hogy a vese

IHC pontszámok szignifikánsan magasabbak voltak a nefropatogén IBV-vel társfertőzött csoportban, mint az egyszeri H9N2-fertőzötteknél ($p=0,0449$). Más szövetek esetében nem volt szignifikáns a különbség.

PCR

Az 5 dpi PCR eredmények alapján a H9N2 vírust a légcsőben azonos mértékben, a légzsák tampon és tüdő esetében nagyobb mértékben, az oronazális tampon esetében kisebb mértékben mutattuk ki a társfertőzéses csoporthoz képest. A lépben csak a társfertőzéses csoport esetében mutattuk ki a H9N2 vírust. A kloáka tamponban, az agyban és a vesében nem mutattunk ki H9N2 vírust egyik csoportban sem.

A kórfejlődés idült fázisát jelző 11 dpi-n mért PCR eredmények azt mutatják, hogy a H9N2 vírus fertőzés már lezajlott, csupán a légcsőben találtunk vírust, míg a társfertőzéses csoportban az oronazális tamponban, a légcsőben és a tüdőben találtunk H9N2 vírust, tehát elhúzódott a kórlefolyás a társfertőzés jelenlétében.

KÖVETKEZTETÉSEK

Megfigyeléseink megerősítették a H9N2 LPAIV törzsek egyértelmű szöveti tropizmusát a légutakhoz, valamint változó mértékben a veséhez. A vizsgált AIV törzsek nem

mutattak replikációt a központi idegrendszerben. A vírusok jelenléte és az általuk okozott elváltozások túlsúlyban voltak a fertőzés akut fázisában (dpi 5.), illetve szignifikánsan csökkentek vagy eltűntek a szubakut, krónikus szakaszban (dpi 11.). Több paraméterben statisztikailag szignifikáns, egyértelmű virulenciabeli különbséget mutattunk ki az eltérő földrajzi eredetű H9N2 izolátumok között, amelyek azonos altípusba (H9N2) és azonos lineageba (genetikai vonalba) (G1) tartoztak: a „C-Észak-Afrika” törzs szignifikánsan virulensebbnek bizonyult, mint a közel-keleti („A” és „B”) törzsek, melyek nem mutattak figyelemre méltó eltérést. További vizsgálatok szükségesek a H9N2 törzsek virulencia növekedését feltehetőleg magyarázó genetikai változatosság feltérképezéséhez.

Az IN&IT fertőzés kisebb gyakorisággal, ámde súlyosabb tüneteket, illetve elváltozásokat okozott, míg IV ráfertőzési mód esetén a klinikai tünetek nagyobb gyakorisággal, de enyhébb megnyilvánulási formában jelentkeztek, ugyanakkor ezek az eltérések statisztikailag nem szignifikánsak.

A megbetegedés az LPAIV és IBV társfertőzést követően a tünetek és az elváltozások szignifikáns különbsége nélkül a légutakra lokalizálódik, és időben elhúzódóbb jelleget mutat.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A különböző földrajzi eredetű (Közel-Keletről, valamint Észak-Afrikából származó) H9N2 LPAIV törzsek között statisztikailag szignifikáns virulenciabeli különbség állapítható meg. A „C-Észak-Afrika” törzs virulensebbnek bizonyul, mint az „A-Közel-Kelet 1.” és a „B-Közel-Kelet 2.” törzsek.
2. A H9N2 vírusok szöveti tropizmusa elsősorban a felső légutakhoz és a tüdőhöz kötődik, de a vesében is megjelenik.
3. A H9N2 vírus hajlamosító tényező nélkül, önmagában is képes súlyos lefolyású betegséget kialakítani, alkalmanként elhullást is okozva. A klinikai tünetek tág határok között változnak: a bágyadtságtól a fibrindugó okozta fulladásig.
4. IHC módszer újítás: a HPAIV-k esetén használt indirekt kétlépéses immunreakció adaptálása H9N2 LPAIV-ra.
5. Újabb statisztikai módszer alkalmazása. A szakirodalomban hagyományosnak tekinthető nemparametrikus tesztek mellett/helyett ordinális változókra adaptált regressziós modelleket alkalmaztunk, amelyek az influenzavírus kutatások adat elemzésében teljesen új megközelítést jelentenek.

**A DOKTORI KUTATÁS EREDMÉNYEINEK
TUDOMÁNYOS KÖZLÉSEI**

Bóna Márta, Tatár-Kis Tímea, Mándoki Míra, Farsang Attila,
Kiss István: **A H9N2 altípusú madárinfluenza-vírus növekvő
jelentősége a világban** Irodalmi összefoglaló Magyar
Állatorvosok Lapja 145./19-36.
<https://doi.org/10.56385/magyallorv.2023.01.19-36>

Bóna, M.; Kiss, I.; Dénes, L.; Szilasi, A.; Mándoki M. **Tissue
tropism of H9N2 Low Pathogenic Avian Influenza virus in
broiler chickens by Immunohistochemistry.** Animals 2023,
13 (6), 1052; <https://doi.org/10.3390/ani13061052>

Bóna, M.; Földi, J.; Dénes, L.; Harnos A.; Paszerbovics, B.;
Mándoki, M. **Evaluation of the Virulence of Low Pathogenic
H9N2 Avian Influenza Virus Strains in Broiler Chickens.**
Veterinary Sciences 2023, Volume 10, Issue 12, 671
<https://doi.org/10.3390/vetsci10120671>

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom **Dr. Palya Vilmosnak**, hogy olyan témát biztosított, amely igen sokszínű és fontos az állatorvosi területen. A téma kapcsán sokrétű és színes tapasztalatra tettem szert a diagnosztikai módszerek területén is.

Hálásan köszönöm témavezetőim, **Mándoki Míra** és **Kiss István** kitartó szakmai támogatását e sokrétű munkánk során. Mindig tudták mivel tudnak motiválni.

Köszönettel tartozom a Ceva-Phylaxia Zrt. Tudományos Támogató Igazgatóság csapatának, a Patológiai Tanszék munkatársainak, valamint a Biostatistika Tanszéknek.

Hálásan köszönöm **Földi József** kollégámnak, hogy kitűnő meglátásaival segítségemre volt az angol cikkek megvalósítása kapcsán. Hálás szívvel gondolok mindazon kollégáimra, akikhez segítségül fordulhattam elakadásaim során.

Végül, de nem utolsó sorban hálával és köszönettel tartozom családomnak, elsősorban **férjemnek, Schmidt Attila Ádámnak**, amiért támogatott és biztatott munkám során.