

Állatorvostudományi Egyetem

Patológiai Tanszék

**Chicken Proventricular Necrosis Vírus (CPNV) okozta mirigyesgyomor-
gyulladás,
irodalmi áttekintés és saját vizsgálatok**

**Proventriculitis Caused by Chicken Proventricular Necrosis Virus
(CPNV),
Literature Review and Own Examinations**



Rákóczi Anna

Témavezető:

Dr. Dobra Péter Ferenc, tanszéki állatorvos, PhD hallgató

Patológiai Tanszék

2024

Absztrakt:

A tanulmány központi témája a csirkék átoltható mirigyesgyomor-gyulladásának (transmissible viral proventriculitis; TVP) a szakirodalmi áttekintése, főként a csirkék mirigyesgyomor-elhalását okozó birnavírusra (Chicken Proventricular Necrosis Vírus; CPNV) koncentrálni. 2023-2024 között mirigyesgyomor mintákat gyűjtöttünk az Állatorvostudományi Egyetem Patológiai Tanszékén. A minták elsősorban olyan brojlercsirke, extenzíven tartott őshonos házi tyúk, árutojó, tojóhibrid szülőpár és tenyész-állományokból érkeztek, ahol megfigyelhető volt az állomány szétnövése, hasmenés, a mirigyesgyomor megnagyobbodása, kitágulása, illetve falának megvastagodása. Emellett néhány esetben olyan állományokból is végeztünk szűrővizsgálatokat, ahol nem figyeltek meg klinikai tüneteket. A 27 mintából 19 esetben sikeresen kimutattuk a CPNV-t a VP1 gén reverz transzkriptáz polimeráz-láncreakcióval (RT-PCR) történő amplifikálásával, valamint a kórszövettani vizsgálat a TVP-re jellemző tipikus elváltozásokat (a mirigyhám degenerációját és nekrozisát, a mirigyhám hyperpláziáját és mérsékelt vagy súlyos lymphocytás infiltrációt) tárt fel. Legjobb tudomásunk szerint a mi vizsgálataink igazolták először házi tyúkban (*Gallus gallus domesticus*) a csirkék mirigyesgyomor-elhalását okozó birnavírusának jelenlétét Magyarországon.

Abstract:

The theme of this study is a literature review of transmissible viral proventriculitis (TVP) in chickens, focusing on the Chicken Proventricular Necrosis Virus (CPNV). Between 2023 and 2024, proventricular samples were collected at the Department of Pathology at the University of Veterinary Medicine Budapest. The samples came primarily from broiler chickens, extensively kept native domestic hens, commercial laying hens, hybrid parent stock, and breeding flocks where symptoms of stunting, diarrhea, proventricular enlargement, dilation, and thickening of their wall were observed. In addition, in some cases, we also conducted screening tests on flocks where no clinical symptoms were observed. In 19 out of 27 samples, we successfully detected CPNV by amplification of the VP1 gene by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR), and histopathological examination revealed typical changes characteristic of TVP (degeneration and necrosis of the glandular epithelium, hyperplasia of the glandular epithelium, and moderate to severe lymphocytic infiltration). To the best of our knowledge, our examinations have confirmed the presence of Chicken Proventricular Necrosis Virus in domestic chickens (*Gallus gallus domesticus*) in Hungary for the first time.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	5
2. Szakirodalmi áttekintés	6
2.1. Csirkék átoltható mirigyesgyomor-gyulladása (transmissible viral proventriculitis; TVP).....	6
2.2. Története.....	6
2.3. TVP előfordulása, klinikuma	8
2.4. TVP patológiája (makroszkópos és kórszövettani elváltozások)	9
2.5. Transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálatok (TEM)	13
2.6. Kimutatott vírusok	15
2.7. Chicken Proventricular Necrosis Vírus (CPNV)	15
3. Anyag és Módszer	19
3.1. Minták forrása, gyűjtése	19
3.2. Minták feldolgozása	19
3.3. CPNV vírus izolálása	19
3.4. RT-PCR	20
3.5. Gélelektroforézis, szekvenálás.....	20
3.6. Kórszövettan	21
4. Eredmények	22
5. Megbeszélés.....	30
6. Összefoglalás	33
7. Irodalomjegyzék	35
8. Köszönetnyilvánítás	39

1. Bevezetés

A csirkék átoltható mirigyesgyomor-gyulladásáa sporadikusan előforduló, kevésé ismert, bár jelentős gazdasági károkat okozó kórkép. Elsősorban 2-8 hetes brojlercsirkékben okoz mirigyesgyomor-gyulladást, mely következtében a mirigyesgyomor megnagyobbodik, világosabbá, törékenyebbé válik, az isthmus kitágul és elgyengül. Elhullást ritkán okoz, kártétele a takarmányértékesítő-képesség romlásában, a csökkent súlygyarapodásban és az állomány szétnövésében nyilvánul meg. A gyulladás miatt a megnagyobbodott mirigyesgyomor törékennyé válik, ami a vágóhídi feldolgozás során, az emésztőtraktus eltávolításakor kiszakadhat, ezzel kontaminálva a testüreget. Ennek következménye a tetemek kobzási arányának növekedése.

A transmissible viral proventriculitis (TVP) egy multifaktoriális kórkép, melynek hátterében számos vírus kóroki szerepe felmerült. Többek közt a fertőző buristis vírusa, a ferőző bronchitis vírusa, adenovírus, reovírus, picornavírus, illetve a 2010-es leírása óta egyre gyakrabban a csirkék mirigyesgyomor-elhalását okozó birnavírusa (chicken proventricular necrosis virus /CPNV/).

Ezen kutatás célja a kórkép szakirodalmi áttekintése, valamint a hazai baromfi-állományok vizsgálata. A mirigyesgyomor-gyulladás kórszövettani megállapításához formalin-fixált mintákat, a vírus örökítő-anyagának reverz transzkriptáz PCR-rel (RT-PCR) történő kimutatásához natív vagy fagyasztott, illetve néhány esetben formalin-fixált, paraffinba ágyazott (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded; FFPE) blokkokat, vagy ún. FTA (Flinders Technology Associates) kártyákat használtunk.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. Csirkék átoltható mirigyesgyomor-gyulladás (transmissible viral proventriculitis; TVP)

A csirkék átoltható mirigyesgyomor-gyulladását házi tyúkban (*Gallus gallus domesticus*), elsősorban 2-8 hetes brojlerszárnyakban írták le, de a jellegzetes kórszövettani elváltozásokat – klinikai tünetek nélkül – tenyész- és árutőjés-termelő állományokban is megfigyelték, 9-20 hetes korig. Erre a kórképre jellemző a mirigyesgyomor-gyulladás és megnagyobbodása, halvány színe, néhány esetben szabad szemmel látható, világosabb elhalásos területekkel, ennek következtében alacsonyabb tápanyag-hasznosítás, valamint a madarak növekedésben való elmaradottsága [1].

A mirigyesgyomor része a madarak emésztőtraktusának, mely a begy és a zúzógyomor között található mirigyes szerv. Feladata a sósav és a pepszinogén termelése, melyek szerepe a takarmány kémiai emésztése. Ha a gyulladás okozta elhalás miatt a mirigyesgyomor csökkent mennyiségű sósavat és enzimeket tud szekretálni, az negatívan hat a takarmány emészthetőségére és későbbi felszívódására. Ezek következménye a csökkent táplálékhasznosítás, növekedésben való visszamaradás, valamint az állomány szétnövése [2].

A TVP sporadikus megjelenése komoly gazdasági károkat tud okozni a vágóhídi feldolgozás során, ugyanis a proventriculitis miatt a megnagyobbodott mirigyesgyomor törékennyé válik, mely az emésztőtraktus eltávolítása során (zúzakombájn) kiszakadhat, ezzel kontaminálva a testüreget. Ennek következtében a kobzás aránya nő [3, 4].

2.2. Története

A brojlerszárnyak mirigyesgyomor megnagyobbodását először Hollandiában írták le 1978-ban [5, 6]. Számos esetben ezt a kórképet a mirigyesgyomor megnagyobbodásával és gyulladásával tudták összekapcsolni. Az egyik kísérletes fertőzés során, a tüneteket mutató mirigyesgyomorból készített homogenizátumot átszűrték 450 és 100 nm nagyságú szűrőn. Az ezzel megfertőzött brojlerszárnyakban a tünetek ugyanúgy jelentkeztek, emiatt azt feltételezték, hogy a fertőző ágens vírus lehet. Némelyik állatból adenovírusokat izoláltak, de etiológiai szerepüket nem tudták egyértelműen bizonyítani. A kórképről ekkor még „infectious proventriculitisként” írtak [5].

1995-ben BAYYARI és mtsai az Egyesült Államokban szintén bizonyították a kórkép átolthatóságát mirigyesgyomor-gyulladást mutató csirkék mirigyesgyomor homogenizátumával fertőzött brojlercsirkékkel. Tehát a 0,2 mikrométeres szűrőn átszűrt homogenizátum ugyanolyan tüneteket produkált, mint a termelésben megfertőződött állatok [7].

Egy évvel később GOODWIN & HAFNER mutattak ki először vírusrészecskéket az elváltozásokból, ezután már „viral proventriculitisként” hivatkoztak rá. Transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) vizsgálatok során a sejtmagban és a citoplazmában található hexagonális vírusrészecskék mérete szignifikánsan eltért egymástól, emiatt arra a következtetésre jutottak, hogy vagy több vírus játszott szerepet a kórkép kialakításában, vagy a formalinos fixálás és a szerves oldószerek használata a feldolgozás és festés során műtermékek kialakulásához vezetett. A vírusrészecskék adeno-, polyoma vagy birnavírusokra hasonlítottak. Az elektronmikroszkóppal megfigyelt vírust nem tudták meghatározni, ugyanis a DNS *in situ* hibridizációs vizsgálatok negatívak lettek a feltételezett polyoma és adenovírusokra egyaránt [8].

2001-ben HUFF és mtsai hasonló megjelenésű, 100–120 nm átmérőjű vírusokat figyeltek meg a fertőzött sejtek sejtmagjában. Annak ellenére, hogy a kórokozó pontos azonosítására nem került sor, a megfigyelt morfológia és a sejten belüli helyeződés alapján adenovírusnak feltételezték [9].

Romániai, TVP-s klinikai tüneteket mutató brojlercsirkékből származó mirigyesgyomor mintákból baromfi reovírust mutattak ki [10, 11].

Kínában fertőző bronchitis ellen oltott, légzőszervi és emésztőszervi tüneteket mutató fiatal tojó állomány megnagyobbodott mirigyesgyomor mintáiból új IBV törzseket (Q1, J2, T3) mutattak ki. Az új izolátumokkal SPF csirkéket fertőztek intranasalisan, amivel sikeresen előidézték a telepi körülmények között megfigyelt tüneteket és elváltozásokat, mint a bágyság, borzolt tollazat, légzési nehézség, hígabb bélsár, megnagyobbodott mirigyesgyomor, elvékonyodott duodenum, továbbá gyulladásos izzadmány a légcsőben [12].

A Gumboró betegség vírusának (IBDV) esetleges szerepét is vizsgálták és arra a következtetésre jutottak, hogy az IBDV ugyan részt vehet a TVP kialakításában, de közvetlenül mirigyesgyomor-gyulladást nem tud kiváltani [4]. Egy kísérletes fertőzés során 28 napos SPF fehér Plymouth Rock csirkéket fertőztek meg különböző fertőző bursitis

(IBDV) vírustörzsekkel, de a fertőzést követő 4. és 6. napon sem alakult ki proventriculitis, és a mirigyesgyomorból sem tudták kimutatni a vírust. A szerzők nem zárták ki, hogy az általuk nem vizsgált törzsek esetleg közvetlen okozhatnak proventriculitist, vagy hogy az IBDV okozta immunszuppresszió súlyosbíthatja a mirigyesgyomor-gyulladást [13].

2005-ben GUY és mtsai egy új vírustörzset izoláltak az USA-ban, mint a TVP kialakításában fontos szerepet játszó vírust. A törzsre kezdetben „adenovirus-like” vírusként (AdLV R11/3) hivatkoznak [14], de 2010-ben birnavírusként azonosították és Chicken Proventricular Necrosis Vírusnak (CPNV) nevezték el [15].

Retrospektív vizsgálatok alapján a TVP 1994 óta, a CPNV 2009 óta jelen van az Egyesült Királyságban a brojler állományokban [16].

2011-ben Nyugat-Franciaországban mutatták ki klinikai tüneteket mutató brojlerállományokban a CPNV-t RT-PCR módszerrel [17].

2.3. TVP előfordulása, klinikuma

A TVP-t számos országban kimutatták, például az USA-ban [18], Kínában [10], Dél-Koreában [19], Hollandiában [5], Spanyolországban [20], Franciaországban [17], Brazíliában [21] az Egyesült-Királyságban [14, 22], Lengyelországban [23, 24], Romániában [10, 25, 26] és Irakban [27] is.

A kórkép jellemzően 2-8 hetes brojlercsirkékben fordul elő, de leírták 9-20 hetes tenyész- és tojóállományokban is [1]. A fiatalabb (4-5 hetes) korban súlyosabb tüneteket tud okozni, mely következménye a termelés, a súlygyarapodás és a táplálék hasznosító képesség csökkenése, mely az állomány szétnövéséhez vezet [7]. A Nyugat-franciaországi brojler állományokban a mortalitás mérsékelten növekedett (2-5%), különösen a fiatal 1-2 hetes korú állatokban [17].

A proventriculitis természetes fertőzésének útjai nem ismertek; azonban a csirkék kísérletesen megfertőzhetők homogenizált mirigyesgyomorral szájon át történő beadással és szembe cseppentéssel. Mivel a betegség 0,2 mikrométeres szűrőn átszűrt mirigyesgyomor homogenizátummal is képes fertőzni, feltételezhető, hogy egy vagy több vírus okozza [7, 8]. Azonban a szűretlen homogenizátummal kezelt madarakban az elváltozások és a termelésre gyakorolt hatások súlyosabbak, ami a nagyobb fertőző ágensek miatti additív hatásra utal [9]. Korábbi leírás szerint, ha az állománysűrűséget 20 madár/m²-re csökkentették a betegség előfordulása kisebb lett, bár járványos kitörések továbbra is megfigyelhetők voltak [5]. A

betegség, amely gyakran akár az állomány 50%-át is érinti, jelentősen csökkentheti a termelés költséghatékonyságát [23].

Egy fertőzéses kísérletben, ahol proventriculitist mutató állatok mirigyesgyomorjának homogenizátumával orálisan fertőzték a kísérleti állatokat, a fertőzött állatok testtömege a fertőzés utáni 21. napon tért el szignifikánsan a kontroll csoportétól [28].

Lengyelországban 28 napos brojlercsirkéket kísérletesen fertőztek meg 5 ml TVP-pozitív mirigyesgyomor homogenizátummal begyszondával. A fertőzést követő 14 napon a TVP pozitív csoportba tartozó madarak testtömeg-gyarapodása körülbelül 30,38%-kal volt alacsonyabb a kontroll csoporthoz képest. Ennél a kísérletnél már a fertőzés utáni 14. napon szignifikáns eltérés volt a madarak átlagos testtömegében a két csoport között [23].

A kísérletesen szondával 1 ml pozitív mirigyesgyomor homogenizátummal fertőzött brojlercsirkék a fertőzés utáni 7., 14. napon sem mutattak klinikai tüneteket, viszont a 21. napon a testtömeg gyarapodás szignifikánsan csökkent a kontroll csoporthoz képest [28]. Egy másik kísérletben, ahol kereskedelmi és specifikus kórokozó mentes (Specific Pathogen Free /SPF/) brojlereket fertőztek meg beteg állatok mirigyesgyomor homogenizátumával, csak az utóbbiak esetében figyeltek meg enyhe depressziós tünetek a 2 hetes kísérlet végéig [4].

A kísérletes fertőzésekből következtetni lehet a TVP és a CPNV gazdasági hatására, de sajnos a rendelkezésre álló információk nagyon korlátozottak, mivel a kísérletek általában alacsony mintaszámmal történtek és a céljuk a kórokozók kimutatása volt és nem a gazdasági mutatók megfigyelése [16].

2.4. TVP patológiája (makroszkópos és kórszöveti elváltozások)

A TVP makroszkópos elváltozásai a megnagyobbodott, atóniás, folyadékkal és takarmánnyal telt, halványabb, törékenyebb mirigyesgyomor [1, 9, 17, 29]. Egyes esetekben a nyálkahártyát fibrines-elhalásos anyag fedi, míg más esetekben vérzések borítják [29]. A zúzógyomor ernyedtt, vízszerű folyadékkal telt, a belek részben megemésztett takarmányt tartalmaznak, a vakbél sárgás, kellemetlen szagú [5]. Lengyelországban 28 napos brojlercsirkéket kísérletesen fertőztek meg begyszondával korábbi esetből készített 5 ml TVP-pozitív mirigyesgyomor homogenizátummal. A fertőzést követő 14 napon a TVP pozitív csoportba tartozó madarak 75%-ában (6/8) a mirigyesgyomor megnagyobbodott és törékennyé vált, a csoport 62,5%-ában (5/8) pedig elszíneződés is megfigyelhető volt. A mirigyesgyomron kívül más szervekben elváltozásokat nem figyeltek meg [23].

BAYYARI és mtsai a mirigyesgyomor makroszkópos pontozását a következőképpen végezték: 0 pont a normális mirigyesgyomor; 1 pont az enyhe elváltozások a mirigyesgyomron, mint az enyhe megvastagodás, foltok, plakkok jelenléte a külső felületén, enyhe elváltozások a nyálkahártyán; 2 pont a közepes mértékű megnagyobbodás és megvastagodás, az isthmus egyértelmű kitágulásával; 3 pont az extrém megnagyobbodás és megvastagodás, amikor a mirigyesgyomor és a zúógyomor közötti isthmus alig, vagy egyáltalán nem különül el. Kiegészítő segítségként a nyálkahártya állapotát használták. Figyelembe vették, ha a nyálkahártya megvastagodott, hámlott, a papillák ellaposodtak és a rámetzés során tejszerű váladék jelent meg [7].

Elváltozásokat mutató mirigyesgyomor homogenizátummal napos korban begyszondával fertőzött brojlercsirkék mirigyesgyomrának relatív tömege szignifikánsan nagyobb volt a fertőzést követő 2., 3. és 4. héten, mint a kontroll csoporté. A kísérletben kétféle homogenizátumot használtak: az egyiket szűrés nélkül, míg a másikat egy 0,2 mikrométeres szűrőn átszűrték. A mirigyesgyomor relatív tömege a szűrés nélküli csoportban a 3. héten szignifikánsan magasabb volt, mint a filtrált homogenizátummal fertőzött állományban [7].

Egy északnyugat arkansasi vágóhídról gyűjtött 4 hetes brojlercsirkék proventriculitises mirigyesgyomrából (Hom.1), és az ezzel egy naposan fertőzött mirigyesgyomor-gyulladást mutató brojlercsirkék mirigyesgyomraiból (Hom.2) készített 1-1 ml homogenizátummal fertőztek napos SPF csirkéket és nem vakcinázott napos kereskedelmi brojlercsirkéket is. Ebben a kísérletben a mirigyesgyomorból származó kórszövettani mintákat a következőképpen pontozták: 1 pont a normális, elváltozást nem mutató mirigyesgyomor, 2 pont a mirigy lumenének enyhe tágulata, 3 pont a mirigy tágulata, a mirigyhámsejtek enyhe elhalásával és lymphoid beszűrődéssel a mirigyek közti interstitiumban, 4 pont a mirigyhámsejtek kiterjedt, heveny elhalása vagy súlyos fibrózis lymphoid beszűrődéssel. A Hom.2-vel fertőzött kereskedelmi brojlereknél a mirigyesgyomor/testtömeg aránya szignifikánsan nőtt a fertőzést követő 7. és 14. napon. A fertőzést követő 14. napon a Hom.1-et kapó kereskedelmi brojlercsirkékben és a Hom.2-t kapott SPF-csirkékben a mirigyesgyomor/testtömeg aránya szintén szignifikáns növekedést mutatott [4]. A mirigyesgyomor elváltozásainak kórszövettani vizsgálati pontszáma szignifikánsan megnőtt azoknál a kereskedelmi brojlereknél a fertőzést követő 7. és 14. napon, amelyek akár a Hom.1-et, akár a Hom.2-t kapták. A Hom.2-vel fertőzött SPF csirkékben szintén szignifikáns volt a mirigyesgyomor elváltozások pontszámának növekedése a fertőzést követő 14. napon. A kontroll csoportoknál nem figyeltek meg elváltozásokat [4].

A kórszövettani vizsgálatok során a fertőzést követő 7. napon a proventriculáris mirigyhám akut nekrozisát írták le a kereskedelmi és a SPF csirkékben is. A proventriculáris mirigyek sinusai kitágultak és levált hámsejteket tartalmaztak. A súlyosan érintett mirigyek pedig összeolvadtak. A mirigyhámsejtek sejtmagjai nagyok és halványak voltak, marginális kromatinnal. A nyálkahártya lamina propria-jában és az érintett mirigyek interstitiumában lymphocytás beszűrődés volt látható [4].

A fertőzést követő 14. napon a mirigyesgyomor elsődleges, másodlagos és harmadlagos csatornáit hyperplastikus és hypertrófiás hengerhám sejtek bélelték. Halvány, bazofil és kifejezetten vakuolizált, a ductusokra jellemző köbhám és alacsony hengerhám sejtek, helyettesítették az elhalt alveoláris szekréciós sejteket. A mirigyekben és a nyálkahártyában lymphoid gócok alakultak ki [4].

A kereskedelmi brojlereknél a teljes testtömeghez viszonyítva a bursa és a thymus relatív tömege nem változott, de a lép tömege nőtt. Az SPF brojlerekben a bursa és a thymus relatív tömegének csökkenését lehetett megfigyelni a kontroll csoporthoz képest a fertőzés utáni 14. napon [4, 7].

Az Egyesült Királyságban végzett retrospektív vizsgálat során a kórszövettani metszetek vizsgálatát a következőképpen végezték. A mirigyesgyomor metszeteiken 3 kórszövettani elváltozást értékelték: a lymphocytás beszűrődést; a hám hyperpláziát és metapláziát, valamint az oxinticoeptikus (mirigyhám) sejtek elhalását. Ezeket a paramétereket szemikvantitatív módon a következőképpen határozták meg: 0 (nincs elváltozás), 1 (a mirigyek 0-10%-a érintett), 2 (a mirigyek 10-50%-a érintett) és 3 (a mirigyek >50%-a érintett). „1” –re értékelték, ha csak néhány (<10) apró multifokális follikuláris lymphocytá aggregátum vagy kevés (<10) multifokális nekrotikus sejtcsoport volt elszórtan a multifokális follikuláris lymphocytá mirigyekben, még akkor is, ha az egész mirigyesgyomor több mint 10%-a volt érintett. A kórszövettani eredmények alapján az egyes metszeteket a következők szerint osztályozták: „TVP”, ha lymphocytá infiltráció és nekrozis is jelen volt a proventriculusban; „LP”, ha lymphocytá infiltráció volt nekrozis nélkül a proventriculusban; „WP”, ha sem lymphocytá infiltráció, sem nekrozis nem volt jelen a mirigyesgyomorban [16].

GUY és mtsai által végzett mirigyesgyomor kórszövettani pontozási módszer pedig a következő szempontok alapján történt: 0 pont a normális mirigyesgyomor. A nyálkahártyában helyenként lymphoid gócok vagy diffúz lymphoid infiltráció, a

proventriculáris mirigyekben ritkán előforduló lymphoid gócok, hámelváltozás, gyulladás vagy nekrosis nélkül. 1 pont, ha a mirigyesgyomor minimálisan érintett. A metszetben legalább 1 mirigyben előfordultak a telepi fertőzések során megfigyelt, illetve a kísérleti úton előidézett TVP-re jellemző elváltozások (megnövekedett lymphoid szövet, különösen a proventriculáris mirigyek interstitiumában, a mirigyhám nekrosis, a ductális epithelium proliferációja, valamint a mirigyhám ductális hámrá cserélődése). 2 pont enyhe elváltozások esetén, ha a metszetben több, mint 1 mirigy, de a mirigyek kevesebb mint 25%-a érintett a TVP-re jellemző elváltozásokkal. 3 pont mérsékelt elváltozások esetén, ha a mirigyek 25–50%-ában figyelhetők meg a TVP-nek megfelelő elváltozások. 4 pont a súlyos elváltozások esetén, ha a mirigyek több, mint 50%-ában a TVP-re jellemző elváltozások láthatók [30].

Az 1991. január 1. és 1995. június 30. közötti időszakban a georgiai baromfi laboratóriumba beküldött, a boncoláskor megnagyobbodott és szürkés-fehéren tarkázott mirigyesgyomor mintákat vizsgáltak. A fénymikroszkópos vizsgálatok során az esetek 49,5%-ban a mirigyesgyomor mély rétegeinek nem gennyes gyulladása volt megfigyelhető adenoepitheliális hypertrófiával és hyperpláziával. A gyulladást kísérte a pepszinogént és a sósavat termelő alveoláris/ oxinticoeptikus sejtek elhalása [8]. Heveny esetben a mély propriamirigyek gyűjtőcsatornája a levált mirigyhámsejtektől kitágult. A súlyosan érintett mirigyek néha összeolvadtak. Az elhalás jeleit mutató hámsejtek citoplazma szerkezete amorffá, szemcsézetté vagy vakoulizálttá vált. A sejtmagok általában összezsugorodtak, töredezetek vagy lizáltak lettek, de egyes sejtmagok duzzadtakká váltak, feltisztult középpel és marginális chromatinnal. Hyalin vagy bazofil zárványtestek nem voltak felfedezhetők. A lymphocytás beszűrődés a nyálkahártya lamina propriájában és a mirigyhám elváltozásokkal érintett mirigyek interstitiumában volt megfigyelhető. Később a mirigycsatornákra jellemző köbös vagy alacsony oszlopos, halvány, kifejezetten vakuolizált hámsejtek helyettesítették az elveszett alveoláris szekréciós sejteket [4, 8].

A kórszövettani mirigyesgyomor metszetek kötőszöveti strómájában lokális vagy diffúz lymphocytás, makrofágos és plazmasejtes beszűrődést írtak le [4, 8, 17]. Kísérletes fertőzés után megvizsgálták a lymphocyták szöveti eloszlását immunhisztokémiai vizsgálatokkal. Ennek során a heveny stádiumban a lymphocyták nagy számban, lemezek formájában jelentek meg a nyálkahártya lamina propriájában és az infiltráció által érintett mirigyekben. A fertőzés későbbi szakaszában a lymphocyták aggregátumokat képeztek a nyálkahártya lamina propriájában, és a proventriculáris mirigyek mélyebb részein. A krónikus elváltozásokra kevésbé voltak jellemzőek az elhalások, helyette ductális meta- és

hyperpláziát figyeltek meg. A lymphocyták immunhisztokémiai festése azt mutatta, hogy proventriculitis során mind a B-, mind a T-sejtek száma megnövekedett, de a betegség stádiumától függően a lokalizációjuk a mirigyesgyomorban eltért. A gyulladás korai szakaszában a nyálkahártya lamina propriájában a CD4+ T-sejtek fordultak elő legnagyobb mennyiségben, míg az érintett mély propriamirigyek hámjában a hámsejtek elhalása után a CD8+ sejtek domináltak. Később, az idült esetekben, enyhébb elváltozások mellett B sejtekből álló germinális centrumok képződését, illetve ezek környezetében CD4+ T-sejteket figyeltek meg [28].

A CPNV-vel (AdLV [R11/3]) beoltott SPF és kereskedelmi brojlercsirkék proventriculáris mirigyeinek mikroszkópos vizsgálata során a mirigyhám multifokális nekrozisát, a ductális hám proliferációját, az elhalt mirigyhám ductális epitheliummal való pótlását, valamint az interstitium megszélesbedését (az ödémától, a fehérjetartalmú folyadék felhalmozódásától, illetve a makrofágos vagy lymphocytás beszűrődéstől) írtak le. A legjellemzőbb elváltozás a mirigy interstitiumának mérsékelt-súlyos fokú lymphocytás infiltrációja volt a mirigyek centrális másodlagos csatornát borító epitheliuma alatti intermediér területén. A proventriculáris mirigyek nem voltak egyenletesen érintettek; az elváltozásokat mutató mirigyeket gyakran az elváltozásokat nem mutató mirigyek mellett észlelték. Az elváltozások jellemzően a központi csatorna közelében helyezkedtek el, esetenként a mirigy perifériájára is kiterjedtek. Mind a másodlagos, mind a harmadlagos mirigyek csatornái időnként kitágultak, és leváló sejteket vagy fehérjeszerű cseppeket tartalmaztak [30].

A TVP kórkép esetén a mirigyesgyomron kívül, más szervekben elváltozásokat nem figyeltek meg [4, 7, 28, 30].

2.5. Transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálatok (TEM)

GOODWIN és mtsai 5 darab, 1992-1995 között gyűjtött, nem gennyes, elhalásos mirigyesgyomor-gyulladást mutató archivált mirigyesgyomrot vizsgáltak. A vizsgálat során a degenerálódott alveoláris hámsejtekben ép sejtmagot, marginális kromatinnal rendelkező sejtmagot, vagy elektrondenz anyagú foltokat tartalmazó (amelyeket kondenzált kromatinnak értelmeztek) sejtmagot figyeltek meg. A citoplazma vakuolizált volt, a normálisnál kevesebb szekréciós granulumot tartalmazott, a sejtorganellek pedig fregmentáltak voltak. A mirigyesgyomor glanduláris sejtjeiben számtalan hexagonális vírusrészecskét találtak ép sejtmagokban (amelyek kondenzált kromatinhoz kapcsolódtak), illetve a citoplazma vakuolizált tereiben. A sejtmagban megfigyelt vírusrészecskék átlagos

mérete (68,9 nm) szignifikánsan nagyobb volt, mint a citoplazmában található vírusrészecskék átlagos mérete (62,3 nm). Ezen kívül a sejtmagban, illetve a citoplazmában lévő vírusrészecskék méretei szignifikáns különbséget mutattak az egyes esetek között is [8].

2001-ben HUFF és mtsai gyulladás jeleit mutató mirigyesgyomrokból készített homogenizátummal kísérletesen fertőzött brojlercsirkék mirigyesgyomor mintáiban 7 nappal a fertőzés után vírusszerű részecskéket láttak a hámsejtek sejtmagjaiban. A részecskék 100-120 nm átmérőjűek, burok nélküliek, gömbölyűek és kissé hexagonális alakúak voltak, parakristályos tömbökbe rendeződve, vagy elszórtan a kromatin közelében. A citoplazmában nem voltak kimutathatók részecskék. Az SPF fehér Leghorn embriók májeltávolításából 7 nappal a fertőzés után mintát vettek. Csak a máj citoplazmájában fordultak elő 60-70 nm átmérőjű, nem burkos, gömbölyű vírusszerű részecskék nagyobb szabálytalan aggregátumokként. Ezek az aggregátumok gyakran nagy lizoszómaszerű struktúrákban voltak láthatók más struktúrákkal, mint például lipidcseppekkel, degenerálódott mitokondriumokkal és membrán maradványokkal [9].

2005-ben GUY és mtsai kísérletesen fertőztek SPF brojlercsirkéket *in-ovo* (az amnionba fecskendezve), az akkor még „adenovirus-like” vírusnak (AdLV R11/3 izolátumnak) nevezett vírussal, amit később CPNV-nek neveztek el. A fertőzést követő 5. és 7. napon a vírus jelenléte csak a mirigyesgyomor mirigyhámsejtjeinek sejtmagjaiban volt kimutatható. A virionok ikozaéder alakúak és körülbelül 70 nm átmérőjűek voltak. A vírusrészecskék a sejtmagokban jellemzően véletlenszerűen elszórva, esetenként azonban kristályos tömbökbe rendeződve voltak megfigyelhetők [14]. Később ezt tovább vizsgálták részlegesen tisztított CPNV készítményben negatív-festésű elektronmikroszkóppal, mely során ikozaéder alakú, körülbelül 75 nm átmérőjű vírusrészecskéket írtak le. A vírus a kloroformos kezelésnek ellenállt, ami arra utal, hogy nem rendelkezik lipidtartalmú burokkal [15].

2014-ben Dél-Koreában TVP-s tüneteket mutató elhullott madarak mirigyesgyomrából készült minták vizsgálatával, negatív-kontrasztos elektronmikroszkóppal 60-62 nm átmérőjű, ikozahedrális, burok nélküli vírusrészecskéket találtak [19].

2.6. Kimutatott vírusok

Az eddigi kutatások során számos vírust összefüggésbe hoztak a TVP-vel. A baromfi adenovírust (FadV) a klinikai tüneteket mutató csirkék májából és lépéből mutatták ki PCR vizsgálattal [2, 4, 23, 31], valamint szerológiai vizsgálattal az ellenanyagok szignifikáns emelkedését írták le a fertőzés napja és a fertőzést követő 14. nap között [23, 31].

A fertőző bursitis vírusát (IBDV) RT-PCR vizsgálattal [4], immunfluoreszcens festéssel (IFA) [32], DOT-ELISA vizsgálattal [32] kimutatták és a szerológia vizsgálat szignifikáns emelkedését írták le a fertőzés napja és a fertőzést követő 14. nap között [23], bár a szerepével kapcsolatos legújabb vizsgálatok azt mutatták, hogy a betegség IBDV hiányában is előfordulhat [4].

A fertőző bronchitis vírusát (IBV) indirekt ELISA vizsgálattal [12], szekvenálással [12] és a mirigyesgyomorból RT-PCR-rel sikerült kimutatni [4, 12].

A baromfi reovírust (ARV) is kimutatták mirigyesgyomor mintákból RT-PCR vizsgálattal [10], a 21 és 35 napos állomány szerológiai vizsgálatával pedig az ellenanyagok emelkedését tapasztalták [26].

Metagenomikai elemzéssel picornavírust, parvovírust, astrovírust és calicivírust is kimutattak TVP-s mirigyesgyomor mintákból [19].

A csirkék mirigyesgyomor-elhalását okozó birnavírust (CPNV) RT-PCR vizsgálattal [1, 2, 14–17, 21–23, 27, 30, 31, 34–36], immunfluoreszcens festéssel [2, 36], szekvenálással [22] is kimutatták.

2.7. Chicken Proventricular Necrosis Vírus (CPNV)

1996-ban GOODWIN és mtsai írták le elsőként vírusok jelenlétét klinikai tünetekkel megjelenő mirigyesgyomor-gyulladásban szenvedő csirkékből származó mirigyesgyomor mintákban. A vírus partikulák 50-70 nanométer átmérőjűek és hexagonális alakúak voltak és mind a sejtmagban, mind a cytoplazmában előfordultak. Az elektronmikroszkópos képük alapján polyoma-, adeno- vagy birnavírusnak gondolták őket. DNS *in situ* hibridizációs próbákkal a polyoma- vagy az adenovírus örökítőanyagának jelenlétét nem tudták igazolni [8].

2005-ben GUY és mtsai TVP-s tüneteket mutató kereskedelmi brojlercsirkékből származó mirigyesgyomor minták elektronmikroszkópos vizsgálatával hasonló megjelenésű, adenovírusra emlékeztető („adenovirus-like” vírus; AdLV), 70 nm átmérőjű vírusokat

észleltek a mirigyhám sejtmagjaiban. Ebből az állományból hetente mintákat gyűjtöttek kórszövettani vizsgálat céljából, illetve a 3. héten gyűjtött mintákkal később fertőzéses kísérletet végeztek SPF csirkéken. Erre a mintára R11/3-ként hivatkoztak, ahol az R/11 a farm megjelölése, a 3-as szám pedig a 3 hetes korú brojlerszárnyakból gyűjtött mirigyesgyomor mintára utal. A TVP-s mirigyesgyomor homogenizátummal végzett, kéthetes kísérlet során előidézték a jellegzetes makroszkópos és kórszövettani elváltozásokat. Elektronmikroszkópos vizsgálattal a mirigyhámsejtek magjában újra kimutatták a 70 nm átmérőjű, ikozahedrális virionokat. Sikeresen izolálták az AdLV (R11/3) törzset és embrionált tojások amnionzsákjába történő oltással, többszöri passzálás után sikeresen szaporították azt. A különböző adenovírusok kimutatására irányuló PCR vizsgálatok negatívak lettek [14].

GUY és mtsai által végzett további vizsgálatok alapján az R11/3 izolátumot később a Birnaviridae családba sorolták be [15]. A Birnaviridae család hét nemzetségre osztható. Három nemzetség gerinceseket fertőz, az Avibirnavirus madarakat (például a fertőző bursitis vírusa), az Aquabirnavirus és a Blosnavirus pedig halakat. Az Entomobirnavirus és a Dronavirus nemzetségek ízeltlábúakból, míg a Ronavirus kerekesszárnyakból, a Telnavirus pedig puhatestűekből mutatható ki. A CPNV-t egyelőre nem tudták besorolni ezek egyikébe sem [37].

A csirkék mirigyesgyomor-elhalását okozó birnavirusa (CPNV) ikozaéder alakú, megközelítőleg 75 nm átmérőjű, cézium-kloridban 1,32 g/ml sűrűségű, burok nélküli, két szegmensű, kettősszálú RNS genomot tartalmazó vírus [15].

A birnavírusok esetében a genom nagyobb „A” szegmense körülbelül 3-3,4 kilobázispárt (kbp-t) tartalmaz. Ez egy nagy polypeptidot kódol, mely szerepet játszik a VP2 (Viral Protein-2) és a VP3 kapszidfehérjék kialakításában. A „B” szegmens mérete 2,7-3,2 (kbp), ami a VP1-et, azaz az RNS-függő RNS polimerázt (RdRp-t) kódolja [38].

Az RdRp-ket kódoló gének filogenetikai elemzésén alapul az RNS vírusok azonosítása és csoportosítása. A „B” szegmens szekvenálása egyetlen nagy nyitott leolvasási keretet (ún. ORF-et) azonosított, amely egy 903 aminosavból álló fehérjét kódolt. A 903 aminosavból álló fehérjét, más birnavirus VP1 fehérjékkel való szekvenciahomológiák alapján a feltételezett RNS-függő RNS polimerázként (RdRp-ként), vagyis a VP1 fehérjeként azonosították. A CPNV VP1-et kódoló szekvenciája rendelkezett a birnavirusokra jellemző egyedi permutált RdRp szekvencia-motívummal; azonban a VP1-en alapuló filogenetikai

elemzések kimutatták, hogy a CPNV nagyban eltér más birnavírusoktól. A CPNV VP1-ének és egyéb birnavírusok VP1-ének bázispáronkénti illesztése csak 12–16%-os azonosságot mutatott ki, jóval kevesebbet, mint a többi birnavírus VP1-ének bázispáronkénti egyezése (24-51%) [15].

A CPNV méretében (75 nm) is eltér a legtöbb birnavírustól (60 nm), de a BÖTTCHER és mtsai által számított 70nm-től kevésbé [39].

Egy az USA-ban végzett kísérletes fertőzés során 2 hetes kereskedelmi brojlercsirkéket fertőztek meg CPNV vírus izolátummal, mindkét szembe cseppentéssel (1500 ID₅₀/madár). A mirigyesgyomrok makroszkópos, és mikroszkópos vizsgálatai a TVP-re jellemző elváltozásokat mutattak. A fertőzést követő hetedik naptól írták le a mirigyesgyomor makroszkópos elváltozásait, vagyis annak megnagyobbodását és elszíneződését. A mikroszkópos elváltozásokat a fertőzés utáni 5.–35. napon észlelték. TVP–pozitívnak azokat az eseteket tekintették, ahol az alábbi elváltozásokat figyelték meg: a mirigyhám nekrozisát, a ductális epitheliális sejtek degenerációját és hyperpláziáját, az interstitium lymphocytás beszűrődését, valamint a mirigyhámsejtek helyettesítését hyperlasztikus ductális epitheliális sejtekkel. A 14. nap után néhány madárban multifokálisan lymphoid sejtes góccokat tapasztaltak a proventriculáris mirigyekben, mirigyhámsejtek elhalása és heveny interstitiális elváltozások nélkül [36]. Ennek oka feltehetően a gyulladásos folyamat idültté válása volt [30].

Egy másik, USA-ban végzett, két hetes SPF és kereskedelmi brojlercsirkéket felhasználó kísérletben az állatok egy részét AdLV-t (R11/3) tartalmazó, másik részét fertőzőanyagtól mentes készítménnyel kezelték szembe cseppentéssel. Szövettani elváltozásokat csak az AdLV-vel fertőzött állatok mirigyesgyomraiban figyelték meg, az egyéb szervekben (a májban, a hasnyálmirigyben, a zúzógyomorban, a duodenumban, a jejunumban, a caecumban, a vesében, a lépben, a bursában és a tüdőben), illetve a fertőzőanyagot nem tartalmazó készítménnyel kezelt kontrollcsoport mintáiban nem. A szövettani elváltozások a mirigyhám multifokális elhalása, a ductális hám proliferációja, az elhalt és levált mirigyhám ductális hámmal történő pótlása (hám metaplázia), illetve az intra- és interglanduláris interstitium gyulladásos ödéma miatti megszélesbedése voltak. A legjellemzőbb elváltozás a mirigyek centrális, másodlagos csatornáját borító hám alatti területen az interstitium lymphocytás beszűrődése volt. A mirigyek nem voltak egységesen érintettek. Mind a másodlagos, mind a harmadlagos csatornák esetenként kitágultak és levált sejteket tartalmaztak. Az AdLV-vel (R11/3) fertőzött csirkék proventriculusainak szövettani

elváltozásait először a fertőzést követő 3. napon azonosították néhány madárnál. Súlyosságuk fokozódott SPF csirkékben a fertőzést követő 10. napig, kereskedelmi brojlerszárnyakban pedig a fertőzést követő 14. napig. Ezt követően az interstitiális gyulladás gyorsan alábbhagyott, és lymphoid góccokká tömörült. A hyperplastikus ductális hám és a lymphoid góccok az érintett mirigyekben a kísérlet végén, a fertőzést követő 21. napon is megfigyelhetők voltak [30].

A CPNV izolálása a fertőzést követő 1.–14. napon volt lehetséges, a fertőzés napján és a 14. nap után nem tudták kimutatni [36].

Immunhisztokémiai vizsgálattal, indirekt immunfluoreszens antitest (IFA) kimutatással a fertőzés utáni 3.–10. napon a CPNV antigénjét kimutatták, viszont a fertőzést követő 0.–1. napon és a 10. naptól nem volt jelen az antigén. A specifikus IFA reakció jól látható sárgászöld elszíneződést mutat a mirigyesgyomor glanduláris, ductális és a nyálkahártya epitheliális sejtjeiben. Az IFA festődés a fertőzés korai szakaszában (a fertőzés utáni 3. napon) először a nyálkahártya epitheliumában, később (az 5.–10. napon) a ductális hámsejtekben volt detektálható. Ebben a vizsgálatban a CPNV antigéneket immunhisztokémiai festéssel csak mirigyesgyomorban mutatták ki; más szövetekben nem voltak láthatók [36]. A CPNV-t korábban fertőzött csirkék bélsarából mutatták ki negatív festésű elektronmikroszkóppal; azonban immunhisztokémiai festéssel a vírus nem volt kimutatható az enterocytákban [14]. Ennek magyarázata lehet az, hogy a levált mirigyesgyomor hámsejtek (benne a replikálódó vírussal) a gyomortartalommal együtt a bélbe továbbjutottak [36].

A 171 bázispár (bp) méretű RT-PCR termék direkt nukleotid szekvenálása kimutatta, hogy a nukleotid szekvencia a CPNV VP1 génjében található régióknak felel meg. A frissen gyűjtött mirigyesgyomor mintákból az RT-PCR vizsgálat érzékenysége 88%, specificitása 83%; a formalin-fixált paraffinba ágyazott (FFPE) mirigyesgyomor minták esetén a vizsgálat érzékenysége 100%, specificitása 86% volt. A telepi fertőzésekből gyűjtött FFPE mirigyesgyomor minták vizsgálatakor az összefüggés a CPNV jelenlétének RT-PCR-rel történő detektálása és a TVP-re jellemző elváltozások megléte között rendkívül szignifikánsnak bizonyult ($P=0,0014$), ami további bizonyíték a CPNV szerepére a TVP etiológiájában [36].

TVP-pozitív mirigyesgyomor homogenizátummal kísérletesen fertőzött brojlerszárnyakban ELISA teszttel erős szerokonverzációt tapasztaltak az IBDV-re. Viszont a

vizsgálatok során az IBDV jelenlétét sem a TVP fertőzött, sem a kontroll csoportban nem tudták kimutatni. Ez az eredmény megkérdőjelezi a gyakorlatban használt IBDV ELISA tesztek alkalmasságát, ugyanis a CPNV vírus jelenléte befolyásolhatja az eredményeket. Másik oldalról felveti a lehetőséget a CPNV kimutatására gyakorlati körülmények között [31].

3. Anyag és Módszer

3.1. Minták forrása, gyűjtése

Kutatásunk során a 2023-as és 2024-es évben, az Állatorvostudományi Egyetem Patológiai Tanszékére beérkező mirigyesgyomor mintákat dolgoztuk fel. A mintákon kórszövettani és RT-PCR vizsgálatokat végeztünk. A mintavételezés során egyrészt 10%-os pufferolt formalinban, másrészt fagyasztott állapotban tárolták a mintákat beküldésig. Néhány esetben FTA kártyát vagy kész FFPE (formalin-fixált paraffinba ágyazott) blokkot küldtek be vizsgálatra.

3.2. Minták feldolgozása

Az RT-PCR vizsgálatokhoz a minták feldolgozását három különböző módszerrel végeztük, attól függően, hogy a beküldés mely formája valósult meg. A fagyasztott mirigyesgyomor minták homogenizálását QIAGEN TissueLyser LT szövethomogenizátorral végeztük, kétszer 2 percig, 30/s oszcillációval, majd 5 percig, 3000 rpm fordulatszámon centrifugálás következett, végül a felülúszóval dolgoztunk tovább. Az FTA kártyán beérkező mintákat VTM (Virus Transport Medium) oldatban feloldottuk és centrifugáltuk hasonlóan az előzőekben leírtakhoz. Abban az esetben, ha csak formalinos szövet állt rendelkezésünkre, a paraffinba ágyazott minták blokkjaiból AllPrep RNA FFPE Kit (Qiagen) felhasználásával, gyártói utasítás alapján, xilolos deparaffinálást követően, RNS kivonást végeztünk.

3.3. CPNV vírus izolálása

Az RNS-t 200 µl mintából vontuk ki a MagCore® Plus II nukleinsav-kivonó automata (RBC Bioscience, Taiwan) és a MagCore® Viral Nucleic Acid Extraction Kit 202 (RBC Bioscience) segítségével, a gyártó protokollja szerint. Az RNS-mintákat –80 °C-on tároltuk a további vizsgálatokig.

3.4. RT-PCR

A mintákat RT-PCR módszerrel vizsgáltuk, a CPNV VP1 génje jelenlétének kimutatása céljából a 2011-ben GUY és mtsai által leírtak alapján [36]. A vizsgálatokat QIAamplifier 96 műszeren (Qiagen) futtattuk OneStep RT-PCR Kit (Qiagen) és specifikus primerek segítségével (1. táblázat). Az RT-PCR reakciók során használt reagenseket a 2. táblázat, az alkalmazott hőmérsékleti profilt a 3. táblázat tartalmazza.

1. táblázat: Az RT-PCR reakciók során használt specifikus primerek.

Forward: B2F 5'-CGTAGACCTCGTCCTTCTGC-3'
Reverse: B2R 5'-GGGCGGTAACCATTCAGATA-3

2. táblázat: Az RT-PCR reakciók során használt reagensek és azok mennyisége.

	Térfogat 1 mintára (μ l)	Végő koncentráció
H2O: MilliQ DEPC	8,9	-
Qiagen 1Step RT-PCR buffer (5 $\times$)	5	1
dNTP (10mM) Qiagen	1	0,4 mM
F primer (10 μ M)	2	0,8 μ M
R primer (10 μ M)	2	0,8 μ M
RNAse inhibitor	0,1	-
Qiagen RT-PCR enzyme mix (25 $\times$)	1	-
templát RNS	5	
	20+5	

3. táblázat: Az RT-PCR reakciók során alkalmazott hőmérséklet profil.

50 °C 30 perc	
95 °C 15 perc	
95 °C 30 másodperc	45 ciklus
55 °C 1 perc	
72 °C 1 perc	
72 °C 10 perc	

3.5. Gélelektroforézis, szekvenálás

A PCR termékeket agaróz gélelektroforézissel tettük láthatóvá. A gélelektroforézis 1,8%-os TopVision Agarose gélen (Thermo Scientific) történt, 120 V feszültségen, átlagosan 30 percig. Pozitív kontrollként egy általunk mesterségesen szintetizáltatott 171 bázispár méretű

oligonukleotidot használtunk. Az RNS fragmentumokat a Cleaver Scientific DuoVIEW Transilluminator gél dokumentációs rendszerrel detektáltuk. A megfelelő méretű amplikonokat steril szikével manuálisan vágtuk ki, majd a tisztítási folyamatot a QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen) segítségével a gyártó protokollja szerint hajtottuk végre. A kapilláris elektroforézist egy kereskedelmi szolgáltatónál (Eurofins BIOMI Kft., Gödöllő, Magyarország) végezték.

A kromatogramok megjelenítéséhez a Chromas 2.6.6 szoftvert (Technelysium Pty Ltd, South Brisbane, Ausztrália) használtuk. A forward és reverse szekvenciákat a MAFFT verzió 7 online szoftver segítségével, E-INS-I módszerrel illesztettük össze.

3.6. Kórszövettan

A szobahőmérsékleten, 10%-os pufferolt formalinban fixált mirigyesgyomor mintákat szövettani kazettákba vágtuk, majd szövetfeldolgozó automatában etanollal és xylollal víztelenítettük. A dehidratált szövetmintákat paraffin blokkokba ágyasztuk, majd 4 µm-es metszeteket készítettünk és azokat üveg tárgylemezekre rögzítettük. A rutin hematoxilin-eozin (H&E) festést festő-automatával végeztük. A mirigyesgyomor metszeteket GRAU-ROMA és mtsai által használt csoportosítás alapján 3 különböző csoportba soroltuk: „TVP”, ha lymphocyta infiltráció és nekrosis is jelen volt; „LP”, ha lymphocyta infiltráció volt látható nekrosis nélkül a proventriculusban; „WP” ha sem lymphocyta infiltráció, sem nekrosis nem volt jelen a mirigyesgyomorban [16]. Azokban az esetekben, ahol több szövetmintát is kaptunk, a legsúlyosabb elváltozásokat mutató mintát értékeltük.

4. Eredmények

Kutatásunk során összesen 27 beküldött mirigyesgyomor mintát vizsgáltunk meg RT-PCR vizsgálattal és 23 mirigyesgyomor mintából készítettünk kórszövettani metszetet, melyek közül az egyik minta autolízis miatt nem volt értékelhető.

A beküldött minták (4. táblázat) faj és hasznosítási irány szerint következőképpen oszlottak meg 19/27 (70,4%) brojler, 4/27 (14,8%) extenzíven tartott őshonos házi tyúk, 2/27 (7,4%) árutojó, 1/27 (3,7%) tojóhibrid szülőpár, 1/27 (3,7%) tenyészállomány. Az állatok kora 16-630 nap (2-90 hét) között változott, a leggyakoribb a 6 hetes kor volt.

A beérkezett mintákhoz csatolt kísérőlapon az állományok kórelőzményei között szerepeltek az estek 29,6 %-ában (8/27) a szétnövés, a fejlődésben visszamaradás; 26 %-ában (7/27) a megnagyobbodott, kitágult mirigyesgyomor, a mirigyesgyomor falának megvastagodása; 3,7 %-ában (1/27) a mirigyesgyomor vérzés/gyulladás; 18,5 %-ában (5/27) az étvágytalanság; 14,8%-ában (4/27) a takarmányfogyasztás csökkenése, emésztetlen ürülék; 11,1 %-ában (3/27) a hasmenés, 7,4 %-ában (2/27) a gubbasztás, 3,7 %-ában (1/27) a coccidiosis.

4. táblázat: A beérkezett minták legfontosabb adatai.

Minta sorszáma	Faj, hasznosítási irány	Állomány mérete	Életkor	Kórelőzmény
1.	brojler	300 000	6 hetes	szétnövés, megnagyobbodott mirigyesgyomrok
2.	brojler	300 000	6 hetes	szétnövés, megnagyobbodott mirigyesgyomrok
3.	brojler	300 000	6 hetes	szétnövés, megnagyobbodott mirigyesgyomrok

Minta sorszama	Faj, hasznosítási irány	Állomány mérete	Életkor	Kórelőzmény
4.	végtermék tojó (jérce)	99 360	8 hetes	szűrővizsgálat
5.	brojler	25 000	26 napos	mirigyesgyomor vérzés/gyulladás
6.	árutojó	800	18 hetes	gubbasztás, hasmenés, coccidiosis
7.	brojler	160 000	22 napos	szétnövés, kitágult mirigyesgyomrok
8.	extenzíven tartott őshonos házi tyúk	2 500	15 hetes	nem fejlődnek
9.	extenzíven tartott őshonos házi tyúk	2 500	16 hetes	nem fejlődnek, magnagyobbodott mirigyesgyomor
10.	brojler	118 000	41 napos	szűrővizsgálat
11.	brojler	68 000	38 napos	szűrővizsgálat
12.	brojler	30 000	42 napos	szűrővizsgálat
13.	tenyészállomány	48 000	90 hetes	szűrővizsgálat
14.	brojler	120 000	32 napos	szűrővizsgálat
15.	brojler	120 000	36 napos	szűrővizsgálat
16.	brojler	120 000	32 napos	enyhe hasmenés
17.	brojler	82 000	39 napos	hasmenés, Salmonella- pozitív állomány

Minta sorszama	Faj, hasznosítási irány	Állomány mérete	Életkor	Kórelőzmény
18	extenzíven tartott őshonos házi tyúk	2 000	29 hetes	nem fejlődnek
19.	brojler	327 600 (27300/istálló)	27 napos	étvágytalanság, takarmányfogyasztás csökkenése, emésztetlen ürülék
20.	brojler	327 600 (27300/istálló)	40 napos	étvágytalanság, takarmányfogyasztás csökkenése, emésztetlen ürülék
21	brojler	327 600 (27300/istálló)	28 nap	étvágytalanság, takarmányfogyasztás csökkenése, emésztetlen ürülék
22.	brojler	273 000	20 napos	étvágytalanság, takarmányfogyasztás csökkenése, emésztetlen ürülék
23.	extenzíven tartott őshonos házi tyúk	2 000	30 hetes	kb. 10% lemaradt a növekedésben
24.	brojler	100 860	23 napos	étvágytalanság, emelkedett elhullás (2 turnussal korábban kifejezett mirigyegysígyomor megvastagodás és vérzések)

Minta sorszáma	Faj, hasznosítási irány	Állomány mérete	Életkor	Kórelőzmény
25.	brojler	270 000	16 napos	kitágult mirigyesgyomrok
26.	brojler	270 000	34 napos	kitágult mirigyesgyomrok
27.	tojóhibrid szülőpár	11 194	40 napos	gubbasztás, hasmenés, mirigyesgyomor falának megvastagodása

Az RT-PCR-alapú vizsgálatok eredménye az 5. táblázatban látható. A 27 vizsgált minta 70,3 %-a (19/27) pozitívnak bizonyult CPNV-re. A fajt, hasznosítási irányt figyelembe véve 13/19 brojler, 2/4 extenzíven tartott őshonos házi tyúk, 2/2 árutojó, 1/1 tojóhibrid szülőpár, 1/1 tenyészállomány a pozitív RT-PCR eredmények megoszlása. Az állatok életkorát nézve a CPNV-re pozitív minták közül a legfiatalabb 16 napos, míg a legidősebb 90 hetes.

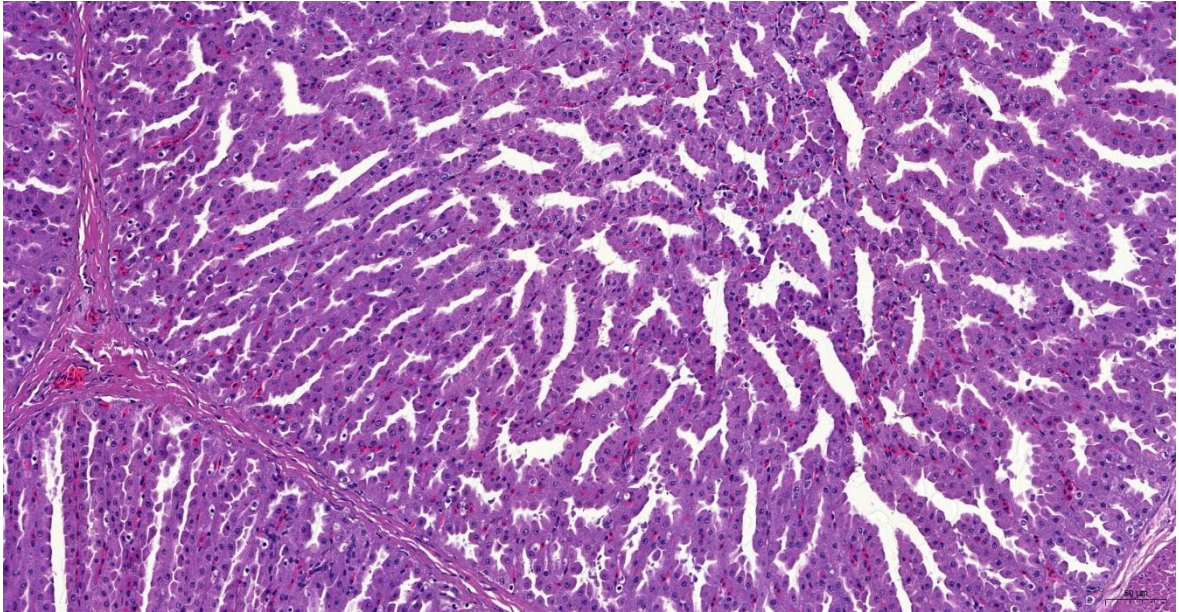
A mirigyesgyomrokból készült metszetek kórszövettani vizsgálatával elváltozásokat nem mutató mintákat a WP csoportba soroltuk (1. ábra). A betegség heveny formájára jellemző elváltozások, mint a mirigyhám elhalása és leválása, valamint az interstitium diffúz lymphoid sejtes beszűrődése esetén a minta a TVP csoportba került (2.-4. ábra). Míg az idült formára jellemző, multifokális lymphoid sejtes beszűrődés, valamint a hámsejtek hypertrófiája és hyperpláziája esetén az LP csoportba soroltuk (5. ábra). Az egyes mintákban a proventriculáris mirigyek nem egyenletesen érintettek; az elváltozásokat mutató mirigyeket gyakran az elváltozásokat nem mutató mirigyek mellett észleltük.

A kórszövettani vizsgálatok alapján (5. táblázat) a már leírt rendszerezés szerint a minták 59,1%-a (13/22) a TVP csoportba, 36,4%-a (8/22) az LP csoportba és 4,5%-a (1/22) a WP csoportba került. Az RT-PCR-vizsgálattal CPNV-pozitív minták közül kórszövettani eredmények alapján 56,3% (9/16) mutatott TVP-s, míg 43,7% (7/16) LP-s elváltozásokat. Az RT-PCR-vizsgálattal CPNV-negatív eredményű minták kórszövettani vizsgálata során 66,7%-nál (4/6) volt megfigyelhető TVP-s elváltozás és 16,6%-nál (1/6) LP-s elváltozás, míg 16,6% (1/6) negatívnak bizonyult.

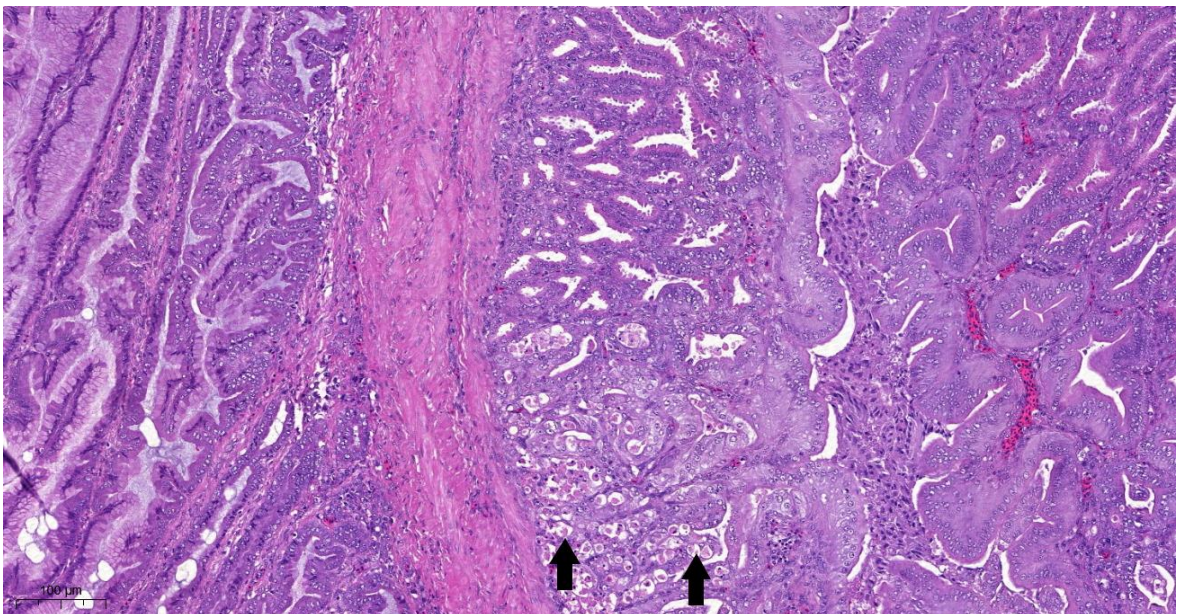
5. táblázat A CPNV kimutatására irányuló RT-PCR-vizsgálatok és kórszövettani vizsgálatok összefoglalása

Minta sorszáma	RT-PCR minta (mirigyesgyomor)	CPNV RT-PCR eredmény	Kórszövettani minta (mirigyesgyomor)	Kórszövettani eredmény
1.	11 fagyasztott poolozva	-	-	-
2.	2 fagyasztott poolozva	-	1 formalin-fixált	TVP
3.	2 fagyasztott poolozva	-	3 formalin-fixált	TVP
4.	1 FFPE blokk	+	2 formalin-fixált	LP
5.	1 FFPE blokk	+	1 FFPE blokk	TVP
6.	1 FFPE blokk	+	1 FFPE blokk	LP
7.	4 fagyasztott poolozva	+	-	-
8.	1 fagyasztott	-	-	-
9.	1 fagyasztott	+	-	-
10.	4 fagyasztott poolozva	+	4 formalin-fixált	LP
11.	5 fagyasztott poolozva	+	5 formalin-fixált	LP
12.	3 fagyasztott poolozva	+	3 formalin-fixált	TVP
13.	4 fagyasztott poolozva	+	4 formalin-fixált	autolizált

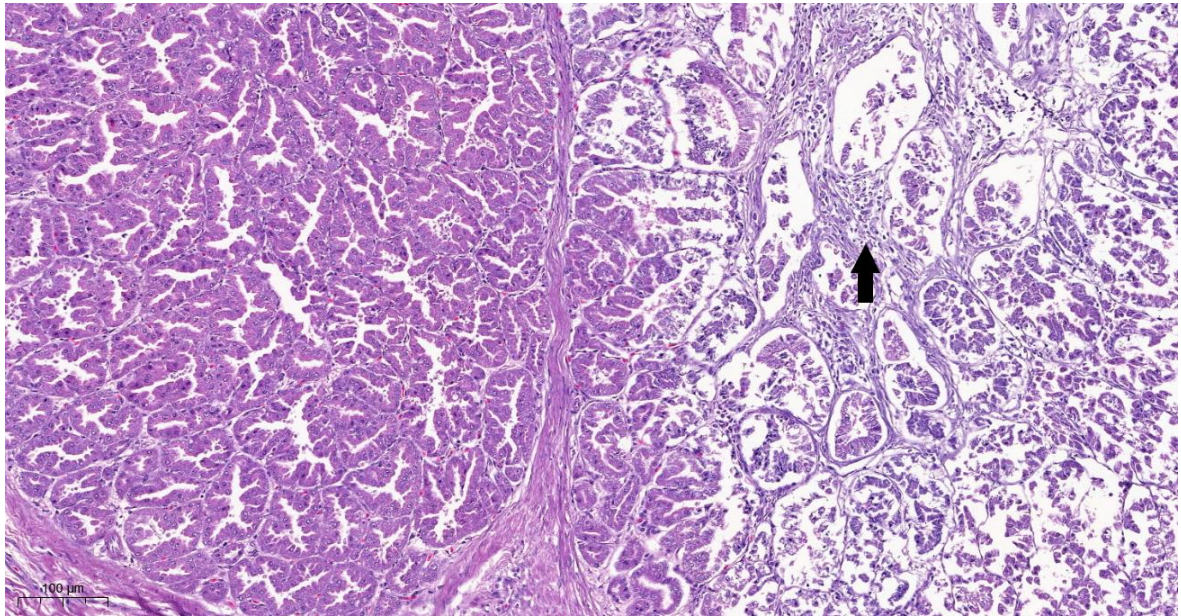
Minta sorszáma	RT-PCR minta (mirigyesgyomor)	CPNV RT-PCR eredmény	Kórszövettani minta (mirigyesgyomor)	Kórszövettani eredmény
14.	6 fagyasztott poolozva	+	6 formalin-fixált	TVP
15.	2 fagyasztott poolozva	+	2 formalin-fixált	TVP
16.	6 fagyasztott poolozva	+	6 formalin-fixált	TVP?
17.	3 fagyasztott poolozva	-	3 formalin-fixált	LP
18.	2 fagyasztott poolozva	-	2 formalin-fixált	WP
19.	1 fagyasztott	+	3 formalin-fixált	TVP
20.	4 fagyasztott poolozva	-	4 formalin-fixált	TVP
21.	1 FFPE blokk	+	7 formalin-fixált	LP
22.	1 fagyasztott	-	1 formalin-fixált	TVP
23.	5 fagyasztott poolozva	+	5 formalin-fixált	LP
24.	1 FTA kártya	+	1 formalin-fixált	LP
25.	1 FFPE blokk	+	5 formalin-fixált	TVP
26.	1 FFPE blokk	+	5 formalin-fixált	TVP
27.	1 FTA kártya	+	8 formalin-fixált	TVP



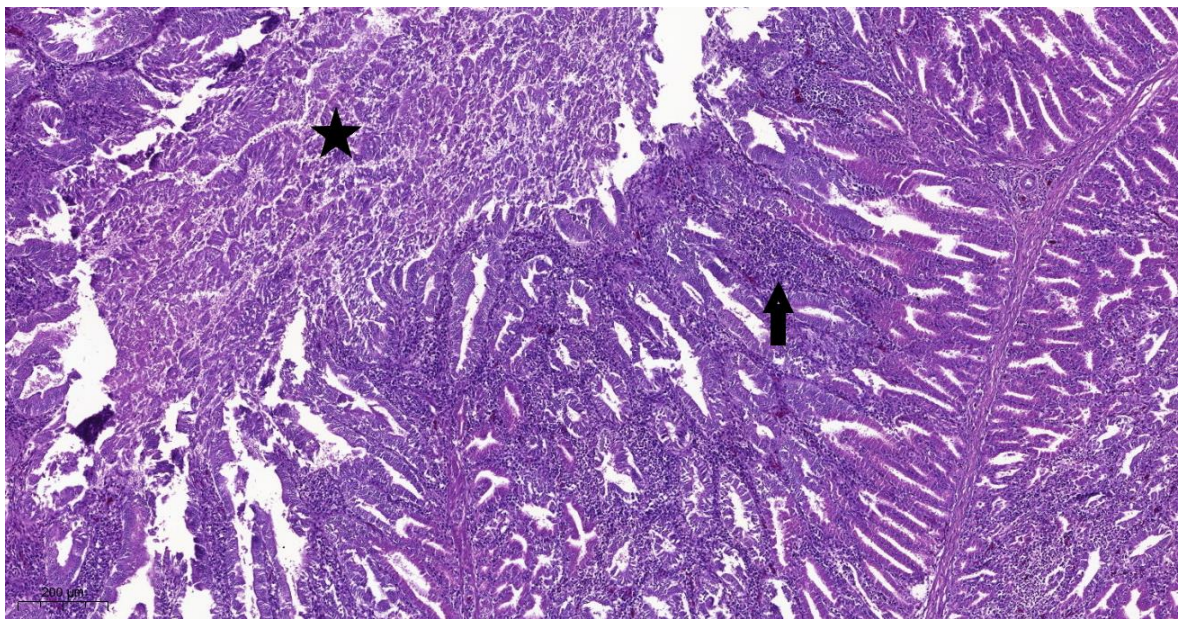
1. ábra. Egészséges, jól strukturált mély propriamirigyek a mirigyesgyomorban, házi tyúk, H.-E., 200X



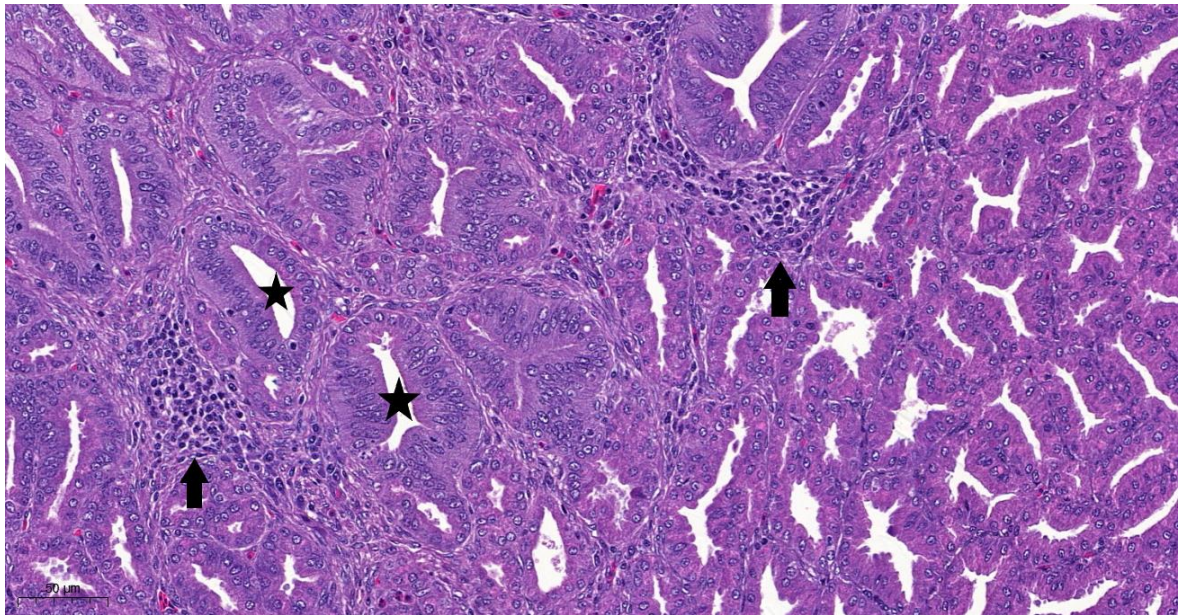
2. ábra. A mirigyhámsejtek multifokális elhalása, házi tyúk, H.-E., 100X



3. ábra. A jobboldali mirigyben a mirigyhámsejtek diffúz elhalása és az interstitium lymphoid sejtes beszűrődése (nyíl), házi tyúk, H.-E., 100X



4. ábra. A mirigyesgyomor interstitiumának diffúz lymphoid sejtes beszűrődése (nyíl), elhalt és levált mirigyhámsejtek (csillag) a mirigy kitágult kivezetőjáratában, házi tyúk, H.-E., 50X



5. ábra. A mirigyesgyomor interstitiumának multifokális lymphoid sejtes beszűrődése (nyíl), a mirigyhám hypertrófiája és hyperplázája (csillag), H.-E., 200X

5. Megbeszélés

A csirkék átoltható mirigyesgyomor-gyulladás a sporadikusan előforduló, kevésbé ismert, bár jelentős gazdasági károkat okozó kórkép, mely kártétele a táplálékhasznosítás romlása, növekedésben való visszamaradás, az állomány szétnövése és vágóhídi feldolgozás során jelentkezett. [2–4]. Viszont a TVP gazdasági hatására csak következtetni lehet, mert a rendelkezésre álló információk nagyon korlátozottak, mivel a kísérletek általában alacsony mintaszámmal történtek és a céljuk a kórokozók kimutatása volt és nem a gazdasági mutatók megfigyelése [16].

A TVP előfordulását általában 2-8 hetes brojlercsirkékben írták le, de a jellegzetes kórszövettani elváltozásokat - klinikai tünetek nélkül - tenyész- és árutójás-termelő állományokban is megfigyelték, 9-20 hetes korig [1]. Ezen tanulmányban 2-6 hetes brojlercsirkéket, 8-18 hetes árutójókat, 15-30 hetes extenzíven tartott őshonos házi tyúkokat és 5 hetes tojóhibrid szülőpárokat vizsgáltunk, melyek többnyire klinikai tüneteket, kórszövettani elváltozásokat mutattak, valamint a többségükből a CPNV vírus jelenlétét igazoltuk RT-PCR vizsgálattal. A CPNV vírus jelenlétét egy 90 hetes, klinikai tüneteket nem mutató tenyészállományban is igazoltuk RT-PCR vizsgálattal. Sajnos a kórszövettani vizsgálatra beküldött minta autolízis miatt alkalmatlan volt az elváltozások értékeléséhez. A TVP természetes fertőzésének útjai nem ismertek; azonban a csirkék kísérletesen

megfertőzhetők homogenizált mirigyesgyomorral szájon át történő beadással és szembe cseppentéssel [7, 8, 30].

Az TVP-t összefüggésbe hozták a növekedés visszamaradásával, az állomány szétnövésével, a rossz takarmány-értékesítéssel és a takarmány emésztésének zavarával, mirigyesgyomor-megnagyobbodással [5, 8, 9, 30]. Ebben a tanulmányban a beérkezett mintákhoz csatolt kísérőlapon voltak állományok, melyek kórelőzményei között szerepelt a szétnövés, a fejlődésben való visszamaradás, étvágytalanság, takarmányfogyasztás csökkenése, emésztetlen ürülék, a hasmenés, a gubbasztás, a mirigyesgyomor megváltozása, illetve coccidiosis.

A TVP feltételezhetően egy multifaktoriális kórkép, melynek hátterében számos vírus kóroki szerepe felmerült. Többek közt a baromfi adenovírus (FadV) [2, 4, 23, 31], fertőző buristis vírusa [4, 23, 32], a fertőző bronchitis vírusa [4, 12], a baromfi reovírus (ARV) [10, 26], picornavírus [19], parvovírus [19], astrovírus [19], calicivírus [19], illetve a 2011-es leírása óta egyre gyakrabban a CPNV [1, 2, 12–15, 21, 22, 23, 27, 30, 31, 34–36]. A CPNV patogenezisének más ágensekkel és környezeti tényezőkkel való lehetséges kölcsönhatásainak részletesebb értékeléséhez további vizsgálatokra van szükség.

A TVP makroszkópos elváltozásai a megváltozott, atóniás, folyadékkal és takarmánnyal telt, halványabb, törékenyebb mirigyesgyomor [1, 9, 15, 29]. Egyes esetekben a nyálkahártyát fibrines-elhalásos anyag fedi, míg más esetekben vérzések borítják [29]. A mirigyesgyomron kívül, más szervekben elváltozásokat nem figyeltek meg [4, 7, 28, 30].

A kórszövettani vizsgálatok során a fertőzés korai szakaszában inkább a degeneratív folyamatok dominálnak: mirigyhámsejtek elhalnak, leválnak, és a mirigyek kitágult közös kivezető-járataiban figyelhetők meg, emellett diffúz lymphoid sejtes beszűrődés látható [4, 30]. A súlyosan érintett mirigyek összeolvadhatnak [4, 30, 40]. A fertőzés későbbi, idősebb szakaszában pedig a regeneratív folyamatok jelennek meg: a mirigyesgyomor elsődleges, másodlagos és harmadlagos csatornáit hyperplastikus és hypertrófiás hengerhám sejtek bélelik, az elhalt alveoláris szekréciós sejteket a ductusokra jellemző hengerhámsejtek helyettesítik. A mirigyekben és a nyálkahártyában lymphoid góccok alakulnak ki [4]. A proventriculáris mirigyek nem egyenletesen érintettek; az elváltozásokat mutató mirigyek gyakran az elváltozásokat nem mutató mirigyek mellett találhatók [30].

Az Egyesült Királyságban az 1994-2015 között beérkezett, brojlercsirkékből származó mirigyesgyomor mintákon végzett retrospektív kutatás során a korábban említett

csoportosítás alapján (TVP, LP, WP) végeztek kórszövettani vizsgálatokat, és a CPNV szerepét vizsgálták a kórkép kialakításában. Az összesen 135 vizsgált mintából 99-et a TVP és 36-ot az LP csoportba soroltak. A 99 TVP elváltozásokat mutató minta közül 22 (22%), és az LP elváltozásokat mutató 36 mintából 4 (11%) RT-PCR-rel pozitív eredményt adott CPNV-re [16]. Egy másik kutatás során 2014-2015 között gyűjtött 44 mintából CPNV-re összesen kilenc RT-PCR-rel pozitívat találtak. Ebből a kilenc csirkéből hét (78%) a TVP csoportba, a maradék kettő (22%) pedig az LP csoportba tartozott. Az egyes csoportokat tekintve a 15 TVP esetből 7 (47%) és a 18 LP minta közül 2 (11%) volt pozitív CPNV-re RT-PCR vizsgálattal. A WP csoportba tartozó csirkékből származó mirigyesgyomrok egyike sem adott pozitív eredményt CPNV-re [22]. A saját vizsgálataink alapján a kórszövettani vizsgálat eredménye alapján 59,1%-a (13/22) TVP csoportba 36,4%-a (8/22) LP csoportba a 4,5%-a (1/22) WP csoportba került. Az RT-PCR pozitív minták közül kórszövettani eredmények alapján 56,3% (9/16) mutatott TVP-s elváltozásokat és 43,7% (7/16) LP-s elváltozásokat. A RT-PCR vizsgálattal negatív eredményű minták kórszövettani vizsgálata során 66,7%-nál (4/6) volt megfigyelhető TVP-s elváltozás, 16,6%-nál (1/6) LP-s elváltozás, míg 16,6% (1/6) negatívnak bizonyult. Ezek alátámasztják a CPNV és a TVP közötti kapcsolatot, és megerősítik, hogy a CPNV alacsony arányban van jelen olyan mirigyesgyomrokban, amelyek nem felelnek meg a TVP-diagnosztikai kritériumainak [16].

A TVP elváltozásokat mutató, de CPNV-re negatív RT-PCR vizsgálat oka lehet, hogy más vírus felelős a kórkép kialakításáért [4, 10, 12, 19, 23, 31] vagy a mintavétel időpontja nem megfelelő, ugyanis a kísérletesen fertőzött csirkékben a fertőzés utáni 5.–35. napokon a TVP-re jellemző mikroszkópos elváltozások voltak megfigyelhetők, viszont a CPNV-t RT-PCR-rel FFPE mirigyesgyomor mintákból a fertőzést követő 1.–14. napig, frissen gyűjtött mirigyesgyomor mintákból 3–14. napig, poolozott bélsármintákból pedig az 5.–14. napig tudták kimutatni. A CPNV izolálása a fertőzést követő 1.–14. napig, az IFA kimutatása a 3.–10. napig volt lehetséges. Ez azt jelenti, hogy ugyan megfigyelhető a mirigyesgyomorgyulladás, de a vírus jelenlétét nem lehet kimutatni [36].

A CPNV nehezen tanulmányozható vírus, mivel a vírus szaporítására történő kísérletek nem jártak sikerrel a következő sejtenyészeteken: csirke embrió fibroblaszt (chicken embryo fibroblasts /CEF/), csirke embrió vese (chicken embryo kidney /CEK/), és csirke embrió máj (chicken embryo liver /CEL/), valamint emlős sejtenyészeteken: emberi végbél tumor (human rectal tumor /HRT/), afrikai szavannacerkóf vese (African green monkey kidney cells/Vero/), sertés vese (pig kidney /PK/), Crandell-Reese féle macska vese (Crandell-Reese

feline kidney /CRFK/), és Madin-Darby féle kutya vese (Madin-Darby canine kidney /MDCK/). A négy-hat passzálás során a sejtenyészeten nem figyeltek meg citotpatogén elváltozásokat, valamint az AdLV (R11/3) specifikus antiszérummal végzett indirekt fluoreszcens antitest vizsgálaton (Indirect Fluorescent Antibody /IFA /Assay) nem észleltek vírus antigéneket [14].

A vírus szaporítása az embrionált tojásoltások során a szikbe, allantoisba vagy chorioallantois membránra (CAM) oltva sikertelenek voltak: a négy-öt embrió-passzálás során nem figyeltek meg embrióelhalást, valamint az AdLV (R11/3) specifikus antiszérummal végzett indirekt fluoreszcens antitest vizsgálat során (Indirect Fluorescent Antibody /IFA /Assay) nem észleltek vírus antigéneket az embrió szövetekben. Az amnionba oltva az első három passzálás során nem tudták kimutatni a vírust, viszont a negyedik passzálást követően a mirigyesgyomor jelentősen megnagyobbodott és halvány volt a nem oltott csibékhez képest, az AdLV (R11/3) specifikus antiszérummal végzett indirekt fluoreszcens antitest vizsgálat (Indirect Fluorescent Antibody /IFA /Assay) kimutatta a hasonló intranukleáris festődést a proventriculáris epitéliumban [14].

6. Összefoglalás

A csirkék átoltható mirigyesgyomor-gyulladás egy kevésbé ismert kórkép, mely kártétele elsősorban gazdasági jellegű. A takarmányértékesítő-képesség romlása, csökkent súlygyarapodás, az állomány szétnövése jellemzi. A mirigyesgyomor-gyulladás következtében a mirigyesgyomor halványabb színű, megnagyobbodott, törékenyebb, az isthmus elgyengül. A betegség kóroktana a mai napig nem teljesen tisztázott. A baromfi adenovírus, a fertőző buristis vírusa, a ferőző bronchitis vírusa, a baromfi reovírus, a picornavírus, a parvovírus, az astrovírus és a calicivírus mellett egyre több publikációban merül fel a birnavírusként besorolt CPNV lehetséges szerepe, amit a mi vizsgálataink is alátámasztanak.

A TVP-t Európa, Észak- és Dél-Amerika, illetve Ázsia számos országban leírták már. Emellett egyre több publikációban írnak a TVP-s tüneteket mutató állatok mirigyesgyomor mintáiból a CPNV sikeres kimutatásáról, például Spanyolországban, Franciaországban, az Egyesült-Királyságban és Lengyelországban. Ebben a szakdolgozatban írtuk le először Magyarországon a TVP kórképet, illetve a Chicken Proventricular Necrosis Vírus jelenlétét brojlerszárnyakban, árutójában, extenzíven tartott őshonos házi tyúkban, tojóhibrid

szülőpárban, valamint tenyészállományban. A hagyományos RT-PCR technika alkalmas volt a CPNV kimutatására.

A mirigyesgyomor minták kórszövettani vizsgálata során TVP-re jellemző elváltozásokat figyeltünk meg. A mirigyhám elhalása és leválása, valamint az interstitium diffúz lymphoid sejtes beszűrődése, a betegség heveny formájára jellemző, míg az idült formát a mirigyesgyomor multifokális lymphoid sejtes beszűrődése, valamint a hámsejtek hipertrófiája és hyperpláziája jellemzi. A proventriculáris mirigyek nem minden esetben egyenletesen érintettek; az elváltozásokat mutató mirigyeket gyakran az elváltozásokat nem mutató mirigyek mellett észleltük. A mirigyesgyomron kívül, más szervekben elváltozások nem jellemzőek.

7. Irodalomjegyzék

1. Marusak RA, West MA, Davis JF, Fletcher OJ, Guy JS (2012) Transmissible Viral Proventriculitis Identified in Broiler Breeder and Layer Hens. *Avian Dis* 56:757–759. <https://doi.org/10.1637/10216-042412-Case.1>
2. Noiva R, Guy JS, Hauck R, Shivaprasad HL (2015) Runting Stunting Syndrome Associated with Transmissible Viral Proventriculitis in Broiler Chickens. *Avian Dis* 59:384–387. <https://doi.org/10.1637/11061-031115-Case.1>
3. Pantin-Jackwood MJ, Brown TP, Kim Y, Huff GR (2004) Proventriculitis in Broiler Chickens: Effects of Immunosuppression. *Avian Dis* 48:300–316. <https://doi.org/10.1637/7099>
4. Pantin-Jackwood MJ, Brown TP, Huff GR (2005) Reproduction of Proventriculitis in Commercial and Specific-Pathogen-Free Broiler Chickens. *Avian Dis* 49:352–360
5. Kouwenhoven B, Davelaar FG, Van Walsum J (1978) Infectious proventriculitis causing runting in broilers. *Avian Pathol* 7:183–187. <https://doi.org/10.1080/03079457808418269>
6. Martland MF (1989) Advances in stunting and runting syndrome research. *Prog Vet Microbiol Immunol* 1989:109–133 ref. 66
7. Bayyari GR, Huff WE, Balog JM, Rath NC, Beasley JN (1995) Experimental Reproduction of Proventriculitis Using Homogenates of Proventricuiar Tissue. *Poult Sci* 74:1799–1809. <https://doi.org/10.3382/ps.0741799>
8. Goodwin MA, Hafner S, Bounous DI, Latimer KS, Player EC, Niagro FD, Campagnoli RP, Brown J (1996) Viral proventriculitis in chickens. *Avian Pathol* 25:369–379. <https://doi.org/10.1080/03079459608419147>
9. Huff GR, Zheng Q, Newberry LA, Huff WE, Balog JM, Rath NC, Kim KS, Martin EM, Goeke SC, Skeeles JK (2001) Viral and Bacterial Agents Associated with Experimental Transmission of Infectious Proventriculitis of Broiler Chickens. *Avian Dis* 45:828. <https://doi.org/10.2307/1592863>
10. Coman A, Rusvai M, Demeter Z, Palade EA, Cătană N (2012) Vírusos kórokozók kimutatása fertőző mirigyesgyomorgyulladásra jellemző tüneteket mutató brojlercsirkeállományokban. *Magy Állatorvosok Lapja* 2012/10:588–593
11. Cătană N, Coman A, Fodor I (2012) Research on the role of avian reovirus in transmissible viral etiology proventriculitis
12. Yu L, Jiang Y, Low S, Wang Z, Nam SJ, Liu W, Kwangac J (2001) Characterization of three infectious bronchitis virus isolates from China associated with proventriculus in vaccinated chickens. *Avian Dis* 45:416–424
13. Pantin-Jackwood MJ, Brown TP (2003) Infectious Bursal Disease Virus and Proventriculitis in Broiler Chickens. *Avian Dis* 47:681–690. <https://doi.org/10.1637/7018>

14. Guy JS, Barnes HJ, Smith L, Owen R, Fuller FJ (2005) Partial Characterization of an Adenovirus-Like Virus Isolated from Broiler Chickens with Transmissible Viral Proventriculitis. *Avian Dis* 49:344–351. <https://doi.org/10.1637/7352-030205R.1>
15. Guy JS, West MA, Fuller FJ (2011) Physical and Genomic Characteristics Identify Chicken Proventricular Necrosis Virus (R11/3 Virus) as a Novel Birnavirus. *Avian Dis* 55:2–7
16. Grau-Roma L, Schock A, Nofrías M, Ali Wali N, De Fraga AP, Garcia-Rueda C, De Brot S, Majó N (2020) Retrospective study on transmissible viral proventriculitis and chicken proventricular necrosis virus (CPNV) in the UK. *Avian Pathol* 49:99–105. <https://doi.org/10.1080/03079457.2019.1677856>
17. Marguerie J, Leon O, Albaric O, Guy JS, Guerin J (2011) Birnavirus-associated proventriculitis in French broiler chickens. *Vet Rec* 169:394–396. <https://doi.org/10.1136/vr.d6412>
18. Hauck R, Stoute S, Senties-Cue CG, Guy JS, Shivaprasad HL (2020) A Retrospective Study of Transmissible Viral Proventriculitis in Broiler Chickens in California: 2000–18. *Avian Dis* 64. <https://doi.org/10.1637/aviandiseases-D20-00057>
19. Kim H-R, Yoon S-J, Lee H-S, Kwon Y-K (2015) Identification of a picornavirus from chickens with transmissible viral proventriculitis using metagenomic analysis. *Arch Virol* 160:701–709. <https://doi.org/10.1007/s00705-014-2325-7>
20. Grau-Roma L, Marco A, Martínez J, Chaves A, Dolz R, Majó N (2010) Infectious bursal disease-like virus in cases of transmissible viral proventriculitis. *Vet Rec* 167:836–836. <https://doi.org/10.1136/vr.c6561>
21. Leão PA, Amaral CI, Santos WHM, Moreira MVL, De Oliveira LB, Costa EA, Resende M, Wenceslau R, Ecco R (2021) Retrospective and prospective studies of transmissible viral proventriculitis in broiler chickens in Brazil. *J Vet Diagn Invest* 33:605–610. <https://doi.org/10.1177/10406387211004106>
22. Grau-Roma L, Reid K, De Brot S, Jennison R, Barrow P, Sánchez R, Nofrías M, Clark M, Majó N (2017) Detection of transmissible viral proventriculitis and chicken proventricular necrosis virus in the UK. *Avian Pathol* 46:68–75. <https://doi.org/10.1080/03079457.2016.1207751>
23. Śmiałek M, Gesek M, Dziwulska D, Samanta-Niczyporuk J, Koncicki A (2020) Chicken proventricular necrosis virus related transmissible viral proventriculitis in broiler chickens in Poland. In Review
24. Śmiałek M, Gesek M, Śmiałek A, Koncicki A (2017) Identification of Transmissible Viral Proventriculitis (TVP) in broiler chickens in Poland. *Pol J Vet Sci* 20:417–420. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2017-0050>
25. Coman A, Rusvai M, Demeter Z, Palade EA, Cătană N (2011) Histopathological Changes of Transmissible Viral Proventriculitis in Broiler Flocks

26. Cătană N, Popa V, Coman A (2011) Etiology research in a transmissible viral proventriculitis outbreak. *Sci Works - Univ Agron Sci Vet Med Buchar Ser C Vet Med* 2011: No. 2, 44-48 ref. 10
27. Allawe AB, Abbas AA, Taha ZH Detection of transmissible viral proventriculitis in Iraq. *J Entomol Zool Stud*
28. Pantin-Jackwood MJ, Brown TP, Huff GR (2004) Proventriculitis in Broiler Chickens: Immunohistochemical Characterization of the Lymphocytes Infiltrating the Proventricular Glands. *Vet Pathol* 41:641–648. <https://doi.org/10.1354/vp.41-6-641>
29. Dormitorio TV, Giambrone JJ, Hoerr FJ (2007) Transmissible proventriculitis in broilers. *Avian Pathol* 36:87–91. <https://doi.org/10.1080/03079450601142588>
30. Guy JS, Smith LG, Evans ME (2007) Experimental Reproduction of Transmissible Viral Proventriculitis by Infection of Chickens with a Novel Adenovirus-Like Virus (Isolate R11/3). *Avian Dis Vol.* 51:58–65
31. Śmiałek M, Gesek M, Dziewulska D, Niczyporuk JS, Koncicki A (2020) Transmissible Viral Proventriculitis Caused by Chicken Proventricular Necrosis Virus Displaying Serological Cross-Reactivity with IBDV. *Animals* 11:8. <https://doi.org/10.3390/ani11010008>
32. Elkady MF, Ali AA, Abdel-Moneim AS The role of infectious bursal disease virus (IBDV) in induction of proventriculitis in broiler chickens
33. Dormitorio TV, Giambrone JJ, Hoerr FJ (2006) Experimental reproduction of transmissible proventriculitis in broilers. *Avian Dis*
34. Śmiałek M, Gesek M, Dziewulska D, Koncicki A (2023) Relationship between chicken proventricular necrosis virus prevalence and transmissible viral proventriculitis in broiler chickens in Poland. *Pol J Vet Sci.* <https://doi.org/10.24425/pjvs.2021.138729>
35. Marguerie J, Leon O, Albaric O (2013) Proventriculite à birnavirus chez le poulet de chair : suivi clinique et virologique de cas en France
36. Guy JS, West MA, Fuller FJ, Marusak RA, Shivaprasad HL, Davis JL, Fletcher OJ (2011) Detection of Chicken Proventricular Necrosis Virus (R11/3 Virus) in Experimental and Naturally Occurring Cases of Transmissible Viral Proventriculitis with the Use of a Reverse Transcriptase-PCR Procedure. *Avian Dis* 55:70–75. <https://doi.org/10.1637/9586-102110-Reg.1>
37. Delmas B, Attoui H, Houssam S, Malik YS, Mundt E, Vakharia VN Family: Birnaviridae. <https://ictv.global/report/chapter/birnaviridae/birnaviridae>
38. Von Einem UI, Gorbalenya AE, Schirrmeier H, Behrens S-E, Letzel T, Mundt E (2004) VP1 of infectious bursal disease virus is an RNA-dependent RNA polymerase. *J Gen Virol* 85:2221–2229. <https://doi.org/10.1099/vir.0.19772-0>
39. Böttcher B, Kiselev NA, Stel'Mashchuk VY, Perevozchikova NA, Borisov AV, Crowther RA (1997) Three-dimensional structure of infectious bursal disease virus

determined by electron cryomicroscopy. J Virol 71:325–330.
<https://doi.org/10.1128/jvi.71.1.325-330.1997>

40. Kotsyumbas GI, Zhyla MI, Tyshkivska AM, Kalinina OS, Khmil EP, Shkil MI, Mysiv OV, Tyshkivsky MY (2023) Structural-functional changes in the proventriculus of poultry infected with transmissible viral proventriculitis. Regul Mech Biosyst 14:173–179. <https://doi.org/10.15421/022326>

8. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani elősorban témavezetőmnek, Dr. Dobra Péter Ferencnek a rengeteg segítségért, folyamatos figyelmességért és támogatásáért, amelyek hozzájárultak ennek a szakdolgozatnak a létrejöttéhez.

Hálás vagyok Szigeti-Schönhardt Kittinek a laborban való segítségéért, támogatásáért, a Patológiai Tanszék dolgozóinak a munkámban való segítségért.

Végül szeretnék köszönetet mondani a családomnak, különösképpen édesanyámnak a sok gondoskodásért, a türelemért, a támogatásért, ami elkísért a tanulmányaim során.