

MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA

Hungarian Veterinary Journal
Established by Prof. B. Nádaskay, 1878

Az újra önállóvá váló Állatorvostudományi Egyetem
zászlaja (Dr. Perényi János felvétele)

ALMA MATER

Újra önálló az Állatorvostudományi
Egyetem

SZARVASMARHA

Kockázati tényezők az ellés körüli
időszakban

KISÁLLAT

Mesenchymalis őssejtek állatorvosi
alkalmazása
Kollíziós vegyes bőrdaganat kutyában

TAKARMÁNYOZÁSTAN

Színválogatás hatása a melléktermék
DON-toxin-tartalmára

VIROLÓGIA

A nyugat-nílusi vírus elterjedtsége
hazánkban

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK

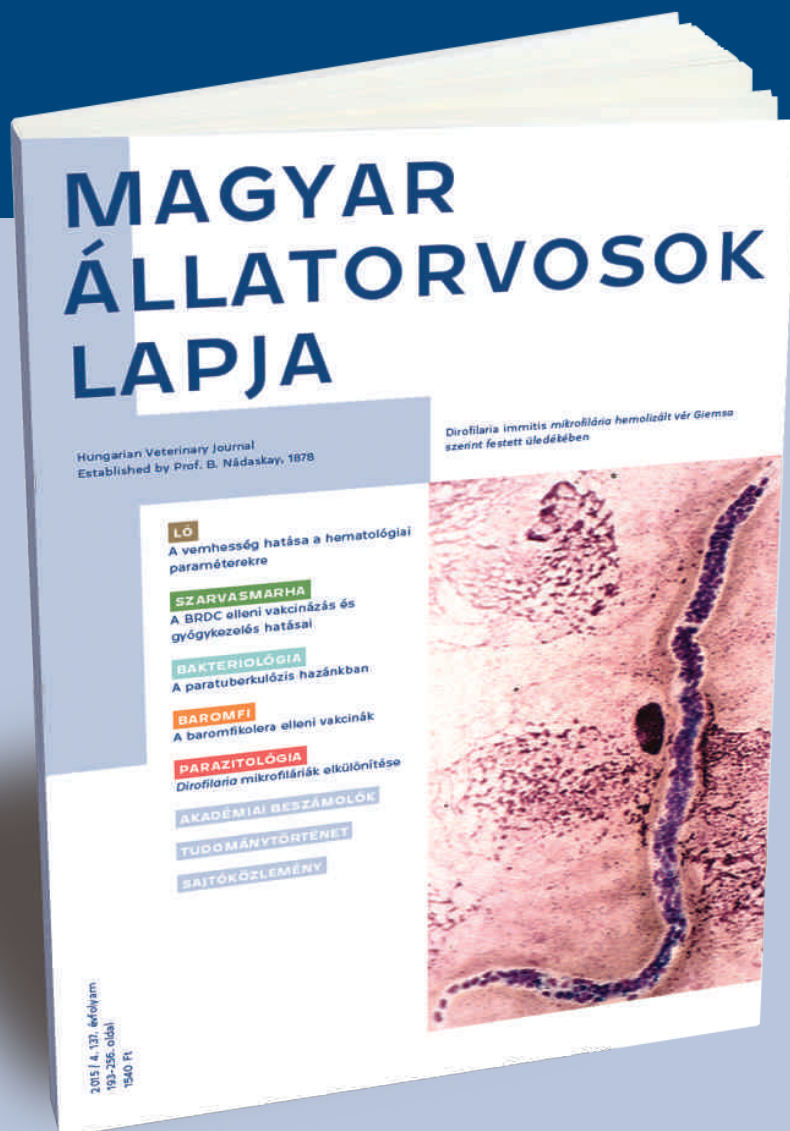
Bakteriológia
Állathigiéniá, állattenyésztés, genetika,
takarmányozástan
Viroológia

RENDEZVÉNY

Rudnai–Kemenes Tudományos Ülés
Beszámoló a II. Bayer Dirofilaria Napról



Rendelje meg 2016-ban is a megújult Magyar Állatorvosok Lapját!



Ha most előfizet, a 2015. évben megjelent cikkekből álló tematikus különszámot digitális formában ingyen kaphatja meg.

Küldje el nekünk e-mail címét az info@agrarlapok.hu-ra és írja meg, melyeket szeretné megkapni!

- | | | |
|---|--|--|
| <input type="checkbox"/> kisállat | <input type="checkbox"/> ló | <input type="checkbox"/> mikrobiológia |
| <input type="checkbox"/> kedvenc állat | <input type="checkbox"/> szarvasmarha | |
| <input type="checkbox"/> baromfi, sertés, hal | <input type="checkbox"/> parazitológia | |

www.agrarlapok.hu/elofizetes

ALMA MATER

387. Újra önálló az Állatorvostudományi Egyetem

SZARVASMARHA / BOVINE

391. Hejel P., Csorba Cs., Gubik Z., Jónás S., Könyves L.: A gyakoribb takarmányozási, állomány-egészségügyi és tartástechnológiai kockázati tényezők az ellés körüli időszakban tejelő teheneekben
Irodalmi összefoglaló
P. Hejel, Cs. Csorba, Z. Gubik, S. Jónás, L. Könyves: Frequent nutritional-, herd-health- and management risk factors in transition period for dairy cows
Review

KISÁLLAT / SMALL ANIMALS

401. Kovács-Haász V., Dulka B., Pöstényi Z., Polyák A., Matula Zs., Szigeti A., Ivanovska, Thuróczy J., Uher F., Német K., Balogh L.: A mesenchymalis őssejtek felhasználásának lehetőségei az állatorvosi kutatásokban és gyógyításban - II. rész
Saját vizsgálatok
V. Kovács-Haász, B. Dulka, Z. Pöstényi, A. Polyák, Zs. Matula, A. Szigeti, A. Ivanovska, J. Thuróczy, F. Uher, K. Német, L. Balogh: The possibility of using mesenchymal stem cells for veterinary research and medicine - Part 2
Own examinations

413. Tilinger I., Jakab Cs.: Hepatoid-sejtes adenoma és malignus melanoma komponensű kollíziós vegyes bőrdaganat kutyában
I. Tilinger, Cs. Jakab: A case of collision mixed skin tumour with hepatoid-gland adenoma and malignant melanoma components in a dog

TAKARMÁNYOZÁSTAN / ANIMAL NUTRITION

421. Kecskésné Nagy E., Tima H., Korzenszky P., Sembery P.: Színválogatás után keletkezett malmi melléktermék DON-toxin-tartalmának vizsgálata takarmányként való felhasználás szempontjából
E. Kecskésné Nagy, H. Tima, P. Korzenszky, P. Sembery: DON toxin content examination of after color sorting procedure generated milling byproduct's in terms of nutritional utilization

VIROLÓGIA / VIROLOGY

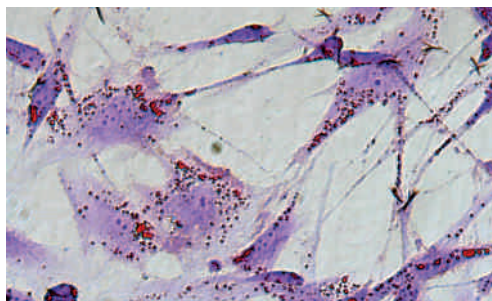
431. Szentpáli-Gavallér K., Dán Á., Erdélyi K., Bálint Á., Somhegyiné Barna M., Bakonyi T.: A nyugat-nílusi vírus hazai előfordulása szúnyog-vektorokban és gerinces gazdáiban
K. Szentpáli-Gavallér, Á. Dán, K. Erdélyi, Á. Bálint, M. Somhegyiné Barna, T. Bakonyi: Occurrence of West Nile virus in mosquito vectors and vertebrate hosts in Hungary

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK

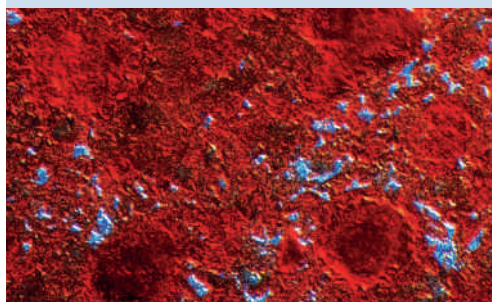
440. Bakteriológia
444. Élettan – Biokémia – Kórtan – Gyógyszertan és toxikológia – Morfológia

RENDEZVÉNY

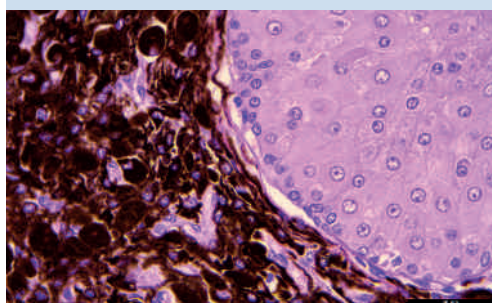
412. Rudnai-Kemenes tudományos ülése
420. Beszámoló a II. Bayer Dirofilaria Napról



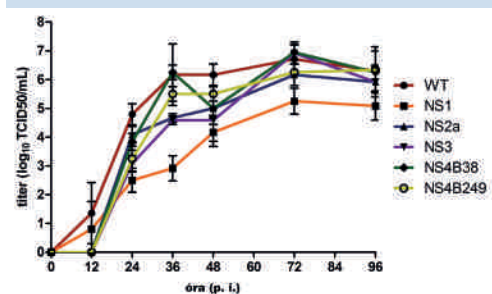
406. Zsíriányba differenciált kutya-MSC-k



409. Csontirányba differenciált kutya-MSC-k



416. Malignus kollíziós vegyes bőrtumor kórszövettani felvétele



435. Nyugat-nílusi vírusok növekedési görbéi

A folyóiratot indexeli és referálja/The journal is indexed and abstracted by: CAB Abstracts (CABI), Science Citation Index Expanded, Zoological Record, BIOSIS previews (Thomson Reuters), Scopus (Elsevier).

Tartalom/Contents: Current Contents – Agriculture, Biology & Environmental Sciences (Thomson Reuters)

Ingyenes mutatószám kérhető a főszerkesztőtől/Free sample copies are available from the editor-in-chief: H-1078 Budapest, István utca 2. Hungary

Megrendelhető a fenti címen a szerkesztőségtől/Subscription orders to the Editorial Office (address above)

*** Internet address
(English contents pages, subscription price, etc.)
<http://www.univet.hu/mal>



Vejsze

Természetes vízből származó hal ritkán kerül az asztalunkra, és az állatorvos is inkább csak a boncasztalon találkozik vele, ha olyan katasztrófa történik, mint az 1991-es balatoni angolnapusztulás, vagy a 2000-ben bekövetkezett tiszai cián- és nehézfém-szennyezés. A természetes vizek szabályozása, az erőművek, tározók építése, az ipari, közösségi és mezőgazdasági szennyezés, a partok beépítése, a vizek üdülési célú használata mind hozzájárultak az egykori halbőség megszűnéséhez.

Míg az ősi vadászati módok közül néhány reneszánszát éli, a halászat a gazdaságokba szorul, és hagyományos eszközei közül jó néhány múzeumi érdekességgé válik. Ezek közé tartozik a rekesztő halászat Eurázsia-szerte használt egyik legősibb eszköze, a vejsze is. HERMANN OTTÓ a 12–13. századi iratokat vizsgálva meglepődött a halastó gyakori említésén. Nehezen volt hihető, hogy ilyen sűrűséggel forduljanak elő. Hamarosan fel is ismerte, hogy a fordítás pontatlan: a latin szövegkörnyezetben többféle alakban emlegetett „vejsz” a „nádból vagy vesszőből készült, falakat és tévesztőket alkotó halfogó szerszámmra” utal. Ezzel az alkalmatossággal ugyanis kis tavakat lehetett elrekeszteni folyó- vagy állóvizekben az ún. vejszehelyeken. A hal iránytartó tulajdonságára építő szerszám terelője elzárta a hal útját, amely így a tágasabb benti „tévesztőkbe” jutott. Az átbújót kereső hal egyre szűkebb csatornákon végül a kürtőbe szorult, onnét nem tudott kiszabadulni.

A vejsze ősi voltát és elterjedtségét bizonyítja az is, hogy bár nevét leginkább a Volga-menti finnugor múlthoz kötik, török eredete is felmerült, és egyes vidékeken a részeit jelölő kifejezéseket (pl. lészta, pelőce) a szlávoktól kölcsönözték. A vejsz(e) szó már az ómagyar oklevelekben is előfordul hely megjelölésére, és később gyakran – főként a mai Győr-Moson-Sopron megye területén – helységnevekben is, hiszen ez a vidék kiemelkedően jó halászati lehetőségeket kínált. A képen látható eszközt azonban nem itt, hanem a Békés megyei – és nevét a vejszéről nyerő – Vésztő szomszédságában fekvő Mágor történelmi emlékhelyén építették meg.

A vejsze nemcsak nálunk, hanem az oroszoknál is uralkodó ajándékká emelkedett, hiszen aki használta, az rendelkezett birtokkal és mellette joggal arra, hogy a vizek hasznát élvezze, jelen legyen a vejsze kürtőjének kiürítésekor, ami szákkal történt, és hazavigye a gazdag zsákmányt.

Orbán Éva

FŐSZERKESZTŐ / EDITOR-IN-CHIEF

Dr. BALKÁ Gyula

SZERKESZTŐBIZOTTSÁG / EDITORIAL BOARD

Dr. Abonyi Tamás
 Dr. Balka Gyula (elnök), Dr. Bíró Ferenc
 Dr. Búza László, Dr. Dunay Miklós
 Dr. Farkas Róbert, Dr. Fekete Sándor György
 Dr. Fodor László, Dr. Gál János
 Dr. Gálfi Péter, Dr. Gönczi Gábor
 Dr. Jakab Csaba, Dr. Jerzsele Ákos
 Dr. Laczay Péter, Dr. Manczur Ferenc
 Dr. Molnár Viktor, Dr. Nagy Béla
 Dr. Nemes Imre, Dr. Németh Tibor
 Dr. Ózsvári László, Dr. Sályi Gábor
 Dr. Seregi János, Dr. Solti László
 Dr. Sótonyi Péter, Dr. Szieberth István
 Dr. Tóth Balázs, †Dr. Tuboly Tamás
 Dr. Varga János, Dr. Vetési Ferenc
 Dr. Visnyei László, Dr. Vörös Károly

OLVASÓSZERKESZTŐ

Sík Júlia

SZERKESZTŐSÉGI TITKÁR

Tóth Zsuzsanna

SZERKESZTŐSÉG / EDITORIAL OFFICE

H-1078 Budapest, István u. 2. Hungary
 Levélcím: 1400 Budapest 7. Pf. 2.
 Telefon/fax: (36-1) 341-3023
 Internet: <http://www.univet.hu/mal>
 E-mail: mal@aotk.szie.hu

KIADÓ / PUBLISHER

Herman Ottó Intézet
 H-1223 Budapest, Park u. 2.
 Telefon: (36-1) 36-28-100
 Telefax: (36-1) 36-28-104
 Internet: www.agrarlapok.hu
 E-mail: info@agrarlapok.hu
 Felelős kiadó:
 DR. MEZŐSZENTGYÖRGYI Dávid főigazgató

HIRDETÉSEK FELVÉTELE

Telefon: 06-20 996-9239, 06-13 628 114
 Telefax: (36-1) 470-0410
 E-mail: info@agrarlapok.hu

Minden jog fenntartva. A lapból értesüléseket átvenni csak a Magyar Állatorvosok Lapjára való hivatkozással lehet. A hirdetések és egyéb reklámkiadványok tartalmáért a kiadó felelősséget nem vállal.

LAPTERV

made by zwoelf – www.zwoelf.hu

TERVEZŐSZERKESZTŐ

Borbola Viktória

NYOMÁS

Generál Nyomda Kft.
 6728 Szeged, Kollégiumi út 11/H

INDEX: 25531
 HU ISSN 0025-004X

LAPTULAJDONOS

KIADÓ



ÚJRA ÖNÁLLÓ AZ ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Az Emberi Erőforrások Minisztériumának döntése értelmében és a felsőoktatási struktúra átalakításának lépéseként 2016. július 1-jétől az Állatorvostudományi Kar kivált a Szent István Egyetemből, és Állatorvostudományi Egyetem (ÁTE) néven újból önálló egyetemmé alakult. A „rég-új” Állatorvostudományi Egyetem így nemzetközileg jegyzett, a hazai és a nemzetközi felsőoktatási piacon jobban látható, mérhető és pozícionálható felsőoktatási intézménnyé vált, amely elismert oktatókat és kutatókat ad hazánk és a világ állatorvos-tudományának. Az ÁTE újbóli önállósá válását 2016. június 30-án ünnepelte az egyetem a Budapest VII. kerületi székhelyén.

A már most is az ország legjobb felsőoktatási intézményei közé tartozó Állatorvostudományi Egyetem (ÁTE) 2016. július 1-jétől teljes felhatalmazással rendelkező gazdája az állatorvosképzésnek és az állatorvos-tudományi kutatásnak – fogalmazott BALOG ZOLTÁN, az oktatásügyért felelős emberi erőforrások minisztere. Az ÁTE önállósá válása mögötti széles körű szakmai, politikai és társadalmi támogatottságot mutatja, hogy az ünnepségen részt vett SCHMITT PÁLNÉ MAKRAY KATALIN asszony zászlóánya, SÜLLEI LÁSZLÓ érseki helynök a Budavári Nagyboldogasszony templom kanonok plébánosa, STEINBACH JÓZSEF a Dunántúli Református Egyházkerület püspöke, az Ökumenikus Tanács elnöke, Őexcellenciája DR. GORDAN GRILIĆ RADMAN a Horvát Köztársaság nagykövete, DR. ASHABER WANNA Etiópia tiszteletbeli konzulja, JAKAB ISTVÁN az Országgyűlés alelnöke, DR. HÁMORI JÓZSEF nyugalmazott miniszter, L. SIMON LÁSZLÓ akkor még a Miniszterelnökség állam-

titkára, DR. KOVÁCS ZOLTÁN a Miniszterelnökség államtitkára, DR. PALKOVICS LÁSZLÓ oktatásért felelős államtitkár, DR. NAGY ISTVÁN a Földművelésügyi Minisztérium parlamenti államtitkára, DR. VÍZKELETY MARIANN az Igazságügyi Minisztérium államtitkára, DR. KOVÁCS ÁRPÁD a Költségvetési Tanács elnöke, DR. MARUZSA ZOLTÁN az Oktatási Hivatal elnöke, DR. FRIEDLER FERENC a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal elnökhelyettese, DR. GYURICZA CSABA a Mezőgazdasági és Vidékfejlesztési Hivatal elnöke, DR. BOGNÁR LAJOS országos főállatorvos, DR. ORAVECZ MÁRTON a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal elnöke, DR. TŐZSÉR JÁNOS a Szent István Egyetem rektora, DR. MOCSAI LAJOS a Testnevelési Egyetem rektora, DR. PATYI ANDRÁS a Nemzeti Közszolgálati Egyetem rektora, DR. SZÉL ÁGOSTON a Semmelweis Egyetem rektora, DR. ZOLTAYNÉ DR. PAPIKA ZITA dékánasszony a Corvinus Egyetem képviselője, DR. NÁRAY-SZABÓ GÁBOR a Professzorok Batthyány Körének elnöke és DR. JANZA FRIGYES állatorvos ny. rendőr vezérőrnagy.

Az ünnepséget megtisztelték jelenlétükkel még mások is. Rector emeritusok: DR. HORN PÉTER a Kaposvári Egyetemről, DR. MOLNÁR JÓZSEF és DR. SZENDRŐ PÉTER a Szent István Egyetemről, valamint helyettes államtitkárok, miniszteri biztosok, kormány megbízottak, kancellár urak, dékánok, polgármesterek, a nagykövetségek munkatársai, a szakmai, kamarai és kulturális intézmények megjelent vezetői, állatorvos olimpiai és világbajnokok, valamint az ÁTE nyugalmazott vezetői, rendes és címzetes egyetemi tanárai, oktatói, hallgatói, dolgozói és számos határon innen és határon (akár az óceánon) túlról érkező gyakorló állatorvos kolléga.

DR. SÓTONYI PÉTER dékán úr köszöntette először a megjelenteket a következő szavakkal:

„Tisztelt Katalin Asszony,
tisztelt Miniszter Úr,
Elnök Úr,
Püspök Úr,
Érseki Helynök Úr!

Kedves Vendégeink, Hölgyeim és Uraim!

A mai napon egyetemi életünk meghatározó és fel-emelő pillanatához érkezve, az újra önálló Állatorvostudományi Egyetem ünneplésére gyűltünk egybe az ősi Alma Mater falai között, ahol évszázados hagyományok és őseink hagyatéka él tovább. Mi itt elődeink tapasztalatait átvéve megértettük – ez különlegessé



Dr. Perényi János felvétele

is tesz bennünket a magyar felsőoktatásban –, hogy az értelem és az érzelem együtt jelenti az embert. Így nem szégyellünk érzelmeinknek is tág teret engedni. Szeretnénk hinni, hogy ebben a sokszor értéket vesztő világban is emberek tudtunk maradni. Így a mai nap sikere – mert úgy gondolom, e napot mindnyájan sikerként éljük meg – egyszersmind a közös akarat, a közös vágyak beteljesedésének dicsérete is.

Nem leplezhető meghatottsággal állok Önök előtt, hiszen a világon elsők közt alapított 229. éves magyar állatorvos oktatás számunkra óriási felelősséggel is jár. Felelősség a múlt és a jövő iránt.

A hagyomány érték és közösségteremtő erő. Büszkék lehetünk, hogy azokban az épületekben tanulhatunk, oktathatunk – és reméljük, hogy még sok állatorvos generáció tanulhat –, ahol olyan személyiségek dolgoztak, akik legyőzték az előttük tornyosuló akadályokat. E nagy egyéniségek és a körülöttük kialakult tudományos iskolák tagjai közül számosan beírták nevüket a világ egyetemese állatorvos-tudományának történetébe azzal, hogy felfedezéseik soha el nem évülő nemzetközi figyelmet élveznek. Az ő szellemi kisugárzásuk hat a jellemre, és kell, hogy meghatározza a jövőt, az egész állatorvosi kar magatartását, hivatástudatunkat.

Sokszor ér az a vád, hogy mi a múltunkból akarunk megélni. Kérdezik is, hogy miért száguldunk visszafelé a történelem időlagútjában. Csakhogy nem visszafelé, hanem éppen ellenkezőleg, előre haladtunk és haladunk. Azok a fák nőnek magasra és állnak ellen a legvadabb viharoknak is, amelyek gyökere a lehető legmélyebbre nyúlik.

Állatorvosképző intézményünk a legnehezebb egyetemek közé tartozik, szinte minden magyar állatorvos itt végzett, így az itt megalapozott barátságok, közös élmények részei annak a kari összefogásnak, szakmai összetartozásnak, amelyre még ma is irigykedve tekintenek a kívülállók.

Képzésünkre mindnyájan büszkék lehetünk, amely nem az igazi munka és teljesítmények nélkül kiadott bizonyítványok csaloéka világát tartja fontosnak. Mi mindig törekedtünk, hogy az érték legyen az érték-mérő. Itt a sikerért, a tudásért mindig meg kellett dolgozni, de ez adja meg igazán az örömét is, mint ahogy WASS ALBERT írja: »Megtanultam, hogy mindenki a hegytetőn akar élni, anélkül, hogy tudná, hogy a boldogság a meredély megmászásban rejlik.« Mi sikerrel küzdöttük le a nehézségeket, és ma megelégedetten nézhetünk vissza az elmúlt időszakra.

Az elmúlt évtizedek sok változást hoztak, de 229 éve töretlenül vallott alapelveink nem változtak. A képzés célja ma is az, hogy olyan állatorvosokat képezzünk, akik az állatorvosi hivatás bármely területén megállják a helyüket. Kezdetben a hadászati szempontból stra-

tégiai jelentőségű lóállomány egészségvédelme állt az állatorvoslás homlokterében, később a súlypont fokozatosan áttevődött az élelmiszertermelő állatokra. Bár az utóbbi 25 évben egyre nagyobb hangsúlyt kapnak a kedvtelésből tartott állatok, az elmúlt 10 évben a szakma figyelve az élelmiszerlánc biztonsága felé fordult.

Az állatorvosok tevékenységükből kifolyólag az élelmiszer-előállítás középpontjában állnak, ami abban is megnyilvánul, hogy a hazai egységes élelmiszerlánc-felügyelet a korábbi állat-egészségügyi szolgálatból nőtte ki magát, a jelenleg hatályos élelmiszerlánc-törvényt szintén állatorvosok alkották.

Az elmúlt években több szervezeti egységet is érintő változást hajtottunk végre, több új tanszéket alapítottunk. Az oktatás és kutatás nemzetközi színvonalának fenntartására számos önerőből, saját bevételeink terhére végrehajtott nagyberuházás is történt: jelentős tanszéki felújítások, bővítések, vagy talán a leglátványosabb, a kertrendezés. Méltán érdemeltük ki a »Budapest lehangulatosabb Campusa« címet, és ez a mai naptól a kilenc őshonos magyar kutyafajta szobrának átadásával még inkább így lesz. Köszönet érte BALOG miniszter úrnak. Ugyancsak kormányzati támogatással két hét múlva adjuk át a Bethlen Gábor utcai oldalon épült 4 új, a XXI. század követelményeinek megfelelő előadótermet.

A hazai állatorvosképzés – egyedülálló módon, három nyelven – a magyar mellett angolul és németül is folyik, a világ közel 40 országából érkezett idegen nyelven tanuló hallgatók száma messze meghaladja a magyar hallgatókét. Idegen nyelvű hallgatóink komoly és felelősségteljes missziót töltenek be, mivel a Karunkon folyó oktatás színvonalát az ő tudásuk alapján fogják megítélni hazájukban. Eddigi munkájukkal elismerést és megbecsülést szereztek maguknak és intézményünknek. Jelenlétük sokszínű, többnyelvű közeggé tette Alma Materünket, ahol igazi nemzetközi környezetben kultúrákat lehet megismerni és életre szóló barátságokat lehet kötni. Hazatérve munkájukkal nagykövetek lesznek a világban.

Alma Materünkben mindig megbecsülték a munkát, itt kézzel tapintható a tudomány, a siker, a fejlődés. Ennek köszönhető, hogy az Európai Állatorvosképző Intézmények Egyesülete döntéshozó testületének határozata értelmében intézményünk Európában a 97 állatorvosképző intézmény közül hetedikként elnyerte a teljes (oktatási és minőségbiztosítási) akkreditációt, ez azt jelenti, hogy az általunk kiadott állatorvosi diplomát az európai országok minden további honosítási eljárás nélkül továbbra is automatikusan elfogadják. A vizsgálat nagyra értékelte a Kar nemzetközi összehasonlításban is kiemelkedő tudományos teljesítményét, amit az is jelez, hogy a Kormányzat »kutató karrá« minősített minket.

Ezúton is köszönöm valamennyi kollégámnak azt a hozzáállást, amellyel felsorakoztak a magyar állatorvosképzés ügye mellett, különös tekintettel a mintegy másfélezer magyar, német és angol nyelvű hallgató rendkívüli elkötelezettségére Alma Materünk irányában. Ez az összefogás nemcsak a magyar felsőoktatásban, de a világban is példaértékű, és ezt a bizottság is elismerte, ugyanakkor egybehangzó véleményként fogalmazódott meg, hogy a hazai állatorvosképzés jövőbeli fejlődése szempontjából, annak speciális jellegéből fakadóan, az önálló egyetemi státusz elsődleges jelentőségű.

Amikor a magyar egyetemek óriási erőfeszítéseket tesznek, hogy felküzdjék magukat a világ élvonalába, az akkreditációnk által Alma Materünk már ma is az európai elit körhöz tartozik. Ezt elismerve a Kormányzat támogatta a Felsőoktatási Államtitkárság javaslatát, így a 2015. évi CCVI. törvény értelmében ez év július 1-jétől, a holt naptól, mint Állatorvostudományi Egyetem, önálló intézménnyé válunk, amely a magyar állatorvos-társadalom egyöntetű örömet és lelkesedését váltotta ki.

Köszönet érte mindazoknak, akik segítették és támogatták az önálló Állatorvostudományi Egyetem létrejöttét, akik velünk együtt lelkesedtek, és akik bízunk jövőnkben. Sokan felismerték, hogy nekünk önálló arculattal kell megjelenünk, mivel Magyarországon egyetlen állatorvosképző intézmény vagyunk, szakmailag csak a világ állatorvosképző intézményeihez hasonlíthatjuk magunkat. Az önálló arculathoz tartozik az is, hogy mint egyetlen állatorvosképző intézmény Magyarország valamennyi agráregyetemével, a Szent István Egyetemmel, Kaposvárral, Debrecennel, Mosonmagyaróvárral, Keszthellyel is egyenrangú szakmai kapcsolatokat szükséges ápolnunk. Ugyanígy – mivel az orvosegyetemekkel is kiváló tudományos együttműködések kialakítására törekszünk.

Lényegesnek tartjuk, hogy mint önálló Állatorvostudományi Egyetem Európa más állatorvosképző intézményeivel közösen könnyebben tudunk uniós projektekben részt venni. Célul tűztük ki az amerikai akkreditáció elérését, ami nemcsak szakmai, de anyagi előnyökkel jár, így tovább tudjuk növelni saját bevételeinket, ami már jelenleg is költségvetésünk több mint 80%-át teszi ki.

Végül szeretném leszögezni, hogy a Szent István Egyetemen kiváló kollégákkal ismerkedtünk meg, és köszönöm az Egyetem vezetésének támogatását, és bízom benne, hogy nemcsak a személyes jó barátságok, hanem az intézményeink közötti jó viszony is folytatódni fog.

Kívánom valamennyiünknek, ha egyszer befejezzük pályánkat, hitvallásként mondhatjuk el Széchenyi István szavait: »A kevés, mit végbe vittem, kötelesség. Elmulasztása szégyen és gyalázat lett volna, ám teljesítése sem érdemel dicséretet.«

Isten áldását kérem régi-új Egyetemünkre.”

Dékán úr után BALOG ZOLTÁN miniszter úr köszöntötte az egybegyűlteket, hangsúlyozva, hogy alapítanak egy egyetemet, ami azt jelenti, nemcsak a múltban bízunk, hanem a jövőben is. Ezt követően DR. PARRAGH LÁSZLÓ, a Magyar Kereskedelmi és Iparkamara elnöke, köszöntőjében az egyetem és a gyakorlat közötti szoros és a jövőben vélhetően tovább erősödő kapcsolatot méltatta. LEZSÁK SÁNDOR úr, az országgyűlés alelnöke bár nem tudott személyesen jelen lenni, de Dékán úrhoz intézett köszöntő szavai tolmácsolásra kerültek:

„A Kárpát-medencei történelmi erőterben fölhalmozott tapasztalati és elméleti, a gyakorlatban is hasznosítható nevelő tudásokat olyan csúcsteljesítmény, amely nemcsak a magyar, de a világörökség része is. A Professzor hölgyeknek és uraknak, a néhány óra múlva immár az Állatorvostudományi Egyetem minden munkatársának szívből gratulálok.”

A „Syrinx Állatorvosi Kamarakórus”, BÁRDOS LAJOS: Széles a Duna c. művének előadása után egy régi állatorvosi hagyomány folytatása, az Állatorvostudományi Egyetem zászlóavatása következett. SCHMITT PÁLNÉ MAKRAY KATALIN asszony, aki a zászlóanyaságot vállalta, tette fel az első szalagot az ÁTE zászlajára. A szalagon az alábbi mondat szerepel: „Biztos tudással az állatokért és az emberekért.” Ezt követően BALOG ZOLTÁN miniszter úr, az Emberi Erőforrások Minisztériumának, DR. SÓTONYI PÉTER dékán úr pedig az Állatorvostudományi Egyetemnek a szalagját kötötte fel, majd SÜLLEI LÁSZLÓ esztergomi érseki helynök úr felszentelte és STEINBACH JÓZSEF református püspök úr áldását adta a zászlóra.

120 évvel ezelőtt már szenteltek zászlót Alma Materünkben. 1896. december 19-én az Állatorvosi Akadémia zászlószentelési ünnepségén DR. RÁCZ ISTVÁN elnök megnyitó beszédének kezdő sorai a következők voltak:



Dr. Perényi János felvétele

„Minden zászló egy eszmét képvisel és a kik a zászló alá sorakoznak, kötelességet vállalnak magokra, a melynek teljes odaadással kell megfelelni, ha a zászlóhoz hívek akarnak maradni.”

E ma felszentelt zászló az állatorvosi tudomány szeretetének legyen a jelképe, annak a tudomány szeretetének, a mely a mezőgazdaságnak és ennek előmozdításával a hazának anyagi érdekeit is hivatott szolgálni.”

DR. HUTYRA FERENC, az Állatorvosi Akadémia igazgatója ünnepi beszédében kiemelte: „Pedig hogy ez ifjúság hevül és lelkesedik a magas erkölcsi eszményekért, arról a mai ünnepélyével szép tanúságot tesz. Egy zászló körül csoportosul, mely jelezze komoly elhatározását, hogy kartársi összetartozással közös munkálkodásra egyesülve céltudatosan törekszik az eléje tűzött célok felé és hogy ismereteivel, munkájával a hazának szolgálni óhajt.”

A 120 éve avatott zászló megsemmisült, de a HUTYRA FERENCNÉ által ajándékozott szalag megmaradt! DR. LAMI GYULA professzor úr, az állatorvosi egyetemünk doyenje ezt, a már 120 évvel ezelőtt felszentelt szalagot kötötte fel a zászlóra. A világoskék brokátselyemből készült szalag egyik részén a zászlóanya neve és az ünnepély ideje, másik részén a jelszó: „A hazáért és tudományért” látható. HUTYRA FERENCNÉ zászlóanya, ma napig ható és érvényes szavai a zászlón történő szögbeveréskor a következők voltak: „Isten áldása kísérje e zászlót és az alatta gyülekező ifjúságot.”

A zászlószentelés után DR. TŐZSÉR JÁNOS rektor úr a Szent István Egyetem nevében – a példaértékű tudományos, oktatási és kutatói együttműködés elismeréseként – díszoklevelet adott át DR. SÓTONYI PÉTER dékán úrnak.

Végezetül a magyar állatorvos-társadalom, az Állatorvostudományi Kar dolgozói és hallgatói virágcsokorral köszönték meg SÓTONYI PÉTER dékán úrnak azt a hatalmas szervezőmunkát, azt a fertőző lelkesedést, amellyel önállósodásunk gondolatát felkarolva tántoríthatatlanul haladt előre közös célunk irányába, így Alma Materünk bejáratára az a tábla kerülhetett fel, ami leginkább megilleti: Állatorvostudományi Egyetem.

Az ünnepség után az ÁTE parkjában a kilenc őshonos magyar kutyafajta szobrát L. SIMON LÁSZLÓ államtitkár úr és DR. SÓTONYI PÉTER dékán úr avatta fel, amit állófogadás követett.

Dr. Balka Gyula
a Magyar Állatorvosok Lapja főszerkesztője



Dr. Perényi János felvétele

Frequent nutritional-, herd-health- and management risk factors during transition period in dairy cows

Review

Hejel Péter^{1*}
Csorba Csaba²
Gubik Zoltán³
Jónás Sándor⁴
Könyves László⁵

P. Hejel^{1*}
Cs. Csorba²
Z. Gubik³
S. Jónás⁴
L. Könyves⁵

1. Vet-Produkt Kft.
2943 Bábolna, Mészáros u. 2/B.

* e-mail: peter.hejel@vetprodukt.hu

2. Hód-Mezőgazda Zrt.
Hódmezővásárhely

3. Dél-Pest Megyei Mg. Zrt.
Cegléd

4. Kasz-Farm Kft.
Derecske

5. SZIE ÁOTK Állathigiéniai,
Állomány-egészségügyi és Állatorvosi
Etológiai Tanszék
Budapest

A gyakoribb takarmányozási, állomány-egészségügyi és tartástechnológiai kockázati tényezők az ellés körüli időszakban tejelő tehenekben

Irodalmi összefoglaló

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők a rendelkezésre álló hazai és nemzetközi szakirodalmak segítségével áttekintik a tejelő tehenállományok egészségét leginkább veszélyeztető ellés körüli rendellenességek, betegségek kialakulásához vezető takarmányozási, tartástechnológiai és más környezeti kockázati tényezőket. Bemutatják azokat a menedzsmentvonatkozású intézkedéseket, amelyekkel megóvható az állatok egészsége, így javítható az állományok termelési és szaporodási teljesítménye, biztosítható a gazdaságos tejtermelés. Kitérnek munkájukban az állomány szintű állatorvosi gondolkodás térhódításának időszerűségére, felhívják a figyelmet a legfontosabb monitoring jellegű állománydiagnosztikai módszerekre, és felvilágitanak néhányat a legkorszerűbb monitoringeszközökből és eljárásokból.

SUMMARY

Based on the available national and international literature, the authors review the nutritional, feeding, management and other environmental predisposing factors leading to periparturient disorders and diseases, the most relevant risk to the health of dairy cattle herds. Management related actions are presented to help preserving the health of the animals which help improving the production and reproduction performance of the herds. It is pointed out that it is high time that herd-level veterinary approach spread among professionals, the most important monitoring herd diagnostic methods are highlighted and some of the most up-to-date monitoring tools and practices are mentioned.

SZARVAS-
MARHA

Az angol irodalomban *transition periodnak*, a magyar szaknyelvben pedig *ellés körüli időszaknak* nevezett időszakban – a tehének megfelelő energia- és immunológiai státusza – meghatározó jelentőségű a soron következő laktáció sikeressége szempontjából (67). A tejtermelő tehénekre veszélyt jelentő állomány-egészségügyi problémák javarészt ebben az időszakban jelentkeznek (11, 12, 49).

Az ellést megelőző 2–3 héttel csökkenni kezd a progeszteron mennyisége a vérben, ami miatt csökken a szárazanyag-felvétel és a kérődzési aktivitás

Ennek számos élettani magyarázata van. A vemhesség a kezdeti, lassú magzati növekedéssel jellemezhető szakasza után, a vemhesség utolsó trimeszterében a tehén szervezetét több élettani tényező terheli meg. Ilyenek többek között az ugrásszerűen felgyorsuló magzati növekedés és annak megnövekedett táplálékanyag-igénye, ill. az ezzel összefüggésben végbemenő számos élettani (neurohormonális, metabolikus, immunológiai stb.) és anatómiai változás (5, 24, 49).

A tehéneknél a várható ellést megelőző két-három héttel, a sárgatest regresz-sziója következtében a vemhességet fenntartó progeszteronhormon mennyisége csökkenni kezd a vérben, és így az ösztrogénhormon relatív mennyisége megemelkedik (42, 43). Ennek hatására a napi szárazanyag-felvétel 10–30%-kal csökken (24, 30), továbbá jelentősen csökken a kérődzési aktivitás (10). Az ellés után a napi szárazanyag-felvétel lassan növekszik, de messze elmarad a meginduló tejtermelés szükségletétől (5, 24). Következésképpen ebben az időszakban a tehén energiamérlege negatív (Negative Energy Balance, NEB). A máj energiaktárainak állapota a takarmányfelvétel jelentős szabályozó tényezője. Amikor a máj energetikai állapota pozitív, a hypothalamusban lévő étvágyközpont csökkenti a takarmányfelvételt. Ezt bizonyítja, hogy a glükoneogenetikus propionátot kapó tehéneknél általában csökken a takarmányfelvétel. Ellés után a tejtermelés szükségleteinek kielégítésére a máj energiaigénye jelentősen megnő, ekkor azonban a kiegészítésként adott propionát takarmányfelvételt csökkentő hatása nem érvényesül (60).

Az ellés utáni negatív energiamérleg kompenzálására a zsírszövetben fokozott mobilizáció indul meg

A NEB kompenzálására a máj glikogéntartalékainak kimerülését követően a zsírszövetben fokozott zsírmobilizáció indul meg. A lipolízis-lipogenezis folyamata bonyolult neuroendokrin szabályozás alatt áll. A lipolízis megindulásának kiváltója, hogy a vérben a növekedési hormon inzulinhoz viszonyított aránya megnő, és ez a hosszú szénláncú zsírsavak mobilizációját serkenti (49). A folyamat előrehaladtával a máj oxidációs kapacitása kimerül, és a lipolízis során felszabaduló nem észterifikált zsírsavak (NEFA) oxidációja nem lesz teljes, így jelentős mennyiségben ketonanyagok képződnek. Súlyos szövődményként a májsejtek zsírosan infiltrálódhatnak, és kialakulhat az ún. zsírmájbetegség (51).

Mivel az energiamérleg több héten át negatív, jelentős mértékű kondícióvesztés következik be, aminek többek között az ellenálló képességre, a szaporodásra és egészségi állapotra gyakorolt negatív hatása jól ismert (38, 54).

Minden olyan tartástechnológiai és menedzsmenthiba, amely a napi szárazanyag-felvételt korlátozza, fokozott zsírmobilizációhoz vezet, ami kiemelt kockázati tényező egyes ellés körüli szövődmények és más szaporodási zavarok kialakulásában (55, 56).

METABOLIKUS ÉS TAKARMÁNYOZÁSI KOCKÁZATOK

A tehének termelési ciklusa tejtermelési szakaszra és a szárazonállási időszakra osztható. Itt érdemes megemlíteni, hogy bár vannak próbálkozások a szárazonállás idejének lerövidítésére, úgy tűnik, hogy a szárazonállási idő drasztikusan csökkentése (< 30nap) negatívan hat a tejtermelésre a következő laktációban. Két hónap körüli pihenési, regenerálódási időre szüksége van a tehéneknek (31, 77).

Nem helyes az a nézet, hogy a szárazonállás egy nem produktív életszakasz, ezért gazdaságossági megfontolásokból erősen visszafogott takarmányozás és kedvezőtlenebb környezeti tartási feltételek is elegendőek a tehenek számára (23).

Az ellés körüli időszakban az energiaellátás kiemelten fontos. A szárazonálló tehenek számára elfogadott napi 63–71 MJ tejtermelési nettó energiaszükséglet (NE_e) az ellés után csaknem megduplázódik, amelyben meghatározó szerepe van a meginduló és gyorsan emelkedő tejtermelésnek (24, 25, 70).

A tej a tejmirigy alveolusainak epithelsejtjeiben képződik (29). Egy naponta 50 kg tejet termelő tehen megközelítőleg 2 kg tejszírt, 1,6 kg tejfehérjét, 2,5 kg laktózt, 65 g kalciumot, 50 g foszfort és 8 g magnéziumot választ ki, amihez jelentős táplálóanyag-szükséglet társul (49).

A magas tejtermelés fenntartásához a tejcukor (laktóz) termeléséhez szükséges glükózmennyiséget biztosítani kell. A tejcukor koncentrációja szűk határok között mozog, és viszonylag állandó, 48 g/l (63). Ha nincs elegendő glükóz a tejcukor szintéziséhez, az limitálja a tejtermelést. Ez lehet az egyik magyarázata annak, hogy a szubklinikai ketosisban szenvedő tehenek mintegy 126–534 kg-mal kevesebb tejet termelnek az érintett laktációban (72). A kérődzők vérében a monogasztrikus állatokhoz viszonyítva alacsony a glükózkoncentráció, mivel az a tehen takarmányában csak kis mennyiségben található. A glükóz nagyjából a májban termelődik a glükoneogenezis során (29). A glükoneogenezis fő alapanyagaiként a máj a propionsavat és a glükoneogenetikus aminosavakat használja fel. A glükoneogenezist hatékonyan támogathatjuk különböző glükózprekurzorok, mint a hozzáadott propionátok, propilén-glikol, glicerin vagy monenzin alkalmazásával (26, 73, 74, 79).

Nagy jelentősége van a megfelelő fehérjeellátásnak is. A nyersfehérje helyett inkább metabolizálható fehérjével indokolt számolni. A szervezetnek saját fehérjéi felépítéséhez közvetlenül nem fehérjemolekulákra, hanem aminosavakra van szüksége. A metabolizálható fehérje az a tényleges fehérjemennyiség, amely posztruminális fehérjék (mikrobafehérje + bypass fehérje) lebomlását követően aminosavként szívódik fel a vékonybélből. A bendőben lebomló fehérje mennyisége annyi legyen, ami a bendőben élő mikroorganizmusok számára szükséges nitrogénmennyiséget fedezi. Ezt a mennyiséget nem célszerű meghaladni, mert az már negatívan befolyásolja a termelést és a szaporodási teljesítményt (80).

Az előrehaladottan vemhes teheneknél, a szárazonállás alatt 1000 g/nap (5, 70), míg az előkészítés időszakában 1200 g/nap metabolizálható fehérjére van szükség (69, 70). A fehérjeszükséglet számításakor figyelembe kell venni az életkort, a tejtermelést és a laktációs, ill. a vemhességi stádiumot. Figyelemmel kell lenni az esszenciális és limitáló aminosavakra, elsősorban a metioninra és a lizinre, azok 1 : 3 arányára, mert közvetlen hatással vannak a tejtermelésre (80). Ezért a laktációban a fehérjebevitel számításakor a rendelkezésre álló takarmányok aminosavkészletét is figyelembe vevő takarmányozási szoftverek alkalmazása javasolható.

Az előkészítés időszakában – 3 héttel az ellés előtt – el kell kezdeni a bendőflóra hozzászoktatását a következő időszak takarmányadagjához. A NEB kialakulásában a bendő sav-bázis anyagcsere zavarái is szerepet játszhatnak. A zsírmobilizáció mértéke és a bendőacidózis között szignifikáns negatív összefüggés van, azaz minél kifejezettebb a bendőacidózis, annál intenzívebb a zsírmobilizáció (55). Az ellés körüli időszakban a bendőacidózis kialakulásáért gyakran a kellő fokozatosságot nélkülöző és a bendőflóra és -hám adaptációs folyamatokat figyelembe nem vevő takarmányozási gyakorlat okolható (10, 22, 44).

Az előkészítés időszakában fontos a tehenek makroelem-háztartásának felkészítése a tejtermeléssel együtt meginduló változásokra. A kalciummobilizáció stimulálása meghatározó jelentőségű. A kalcium fontos szerephez jut számos élettani folyamatban, mint az izomműködés, tejtermelés, immunműködés, idegi

A nagy tejtermeléshez szükséges glükóz nagyjából a májban termelődik a glükoneogenezis során

Nagy jelentőségű a megfelelő fehérjeellátás is

A fehérjeszükséglet kiszámításánál figyelembe kell venni:

- az életkort
- a tejtermelést
- a laktációs és a vemhességi stádiumot

folyamatok, metabolikus folyamatok szabályozása stb. A legutóbbi kutatások szoros kapcsolatot tártak fel mind a klinikai, mind a szubklinikai hypocalcaemia, a magzatburok-visszamaradás és a méhgyulladások között (59). Szubklinikai hypocalcaemiáról beszélünk, ha a vér Ca^{2+} -koncentrációja a normál tartomány (2,1–2,5 mmol/l) alatt van, míg a klinikai forma jellemzője a $< 1,4$ mmol/l Ca^{2+} -koncentráció. Az első laktációs tehenek 25%-a, míg az idősebbek 50%-a szenved szubklinikai hypocalcaemiában (37).

A hypocalcaemia elkerülése érdekében már a szárazonállás alatt nagy hangsúlyt kell fektetni a kalciumellátásra. Hagyományos szakmai nézet során korlátozott kalciumbevittet alkalmaznak, serkentvén ezzel a mellékpajzsmirigy parathormon elválasztását és az osteoclast sejtek aktivitását.

Másik szemlélet az ún. DCAD (Dietary Cation Anion Difference) számításán alapuló takarmányozás (47). Ha a vérbe sok anion jut a takarmányokból, és eltolódik a kation/anion arány, az savas irányba tolja el a vér pH-értékét. Ekkor a parathormon hatása mellett a csontokból kalciummobilizációval kompenzál a szervezet. Az 1,25-dihidroxi-kolekalciferol (1,25-(OH) $_2$ -D $_3$) szerepe is fontos, mivel ez szabályozza a Ca^{2+} -ionoknak a belekből történő felszívódását. A többletkalcium megjelenik az extracelluláris térben, majd a vesével választódik ki. Anionokban gazdag takarmányon tartott teheneknél mesterségesen előidézett hypocalcaemia esetén a szervezet képes drasztikusan csökkenteni a vese által kiválasztott kalcium mennyiségét, ami így a hypocalcaemia kompenzálására fordítódik. Bizonyított, hogy ezzel szemben, alkalosis esetén, a tehenekben gyakrabban alakul ki hypocalcaemia (36).

Igaz, hogy az előbbieken vázolt takarmányozási rendszerrel indukált folyamatos Ca-mobilizáció következtében jóval kevesebb Ca^{2+} szabadul fel, mint amennyi a tejjel kiürül, ez mégis elegendő a hypocalcaemia megelőzéséhez. Ezt igazolhatja a tény, hogy pl. az ellési bénulás kezelési protokollja alapján 8–12 g Ca-ot kell adni intravénásan, ami hatékonyan javítja a tehen állapotát (36).

Az előkészítés időszakában a DCAD negatív értéke (–10 – –15 mEq/100 g takarmány-szárazanyag) segít az ellési bénulás, az oltógyomor-helyzetváltozás, ill. a magzatburok-visszamaradás megelőzésében. A laktáció alatt azonban pozitív érték (25–30 mEq/100 g takarmány-szárazanyag) a kívánatos, aminek jótékony hatása van a tejtermelésre, különösen szélsőségesen hideg vagy hőstresszes időszakokban (57).

A Ca-n kívül a Mg és P is jelenős szerephez jut a hypocalcaemia körfejlődésében. Bizonyított a Mg szerepe, mivel szabályozó hatással bír a parathormon felszabadulásban és az 1,25-dihidroxi-kolekalciferol szintézisében. Egy vizsgálat megállapította, hogy az ellés előtt adott takarmányok magas P-koncentrációjának hajlamosító hatása volt a Ca-homeosztázis felborulására (15).

Nemcsak a takarmányadagok helyes összetétele és szükségletet kielégítő beltartalma a fontos. A takarmányozási gyakorlat nagyban befolyásolja a tehenek takarmányfelvételét. A felhasznált takarmány-alapanyagoknak kiváló minőségűnek kell lenniük. Az egyes komponenseket tartalmazó teljes takarmánykeverék (TMR) homogén legyen, és az állat által ne legyen válogatható. A megfelelő takarmánykiosztási és jászolgondozási gyakorlattal is nagyban segíthetjük a tehenek szárazanyag-felvételét. Alapvető hiba, ha nincs elegendő takarmány a tehenek előtt, vagy ha egyszerre túl nagy mennyiséget osztanak ki és az romlásnak indul, ami negatívan befolyásolja a takarmányfelvételt. Cél, hogy az előző kiosztásból 2–3% takarmány maradjon a jászolban a következő kiosztás előtt. A tehenek által szétűrt takarmányt napjában többször is vissza kell tolni az állatok elé (4, 39), hisz ha a tehen nem éri el a takarmányt, nem is tudja megenni azt. A takarmány gyakori visszatolásának takarmányfelvételt stimuláló hatását egyes szerzők csak kisebb jelentőségűnek találták, mint magát a friss takarmány kiosztását (20).

A szárazonállás alatt nagy hangsúlyt kell fektetni a kalciumellátásra

Ellési bénulás esetén 8–12g Ca-ot kell adni iv.

Fontos a megfelelő Mg- és P-ellátás

Fontos a megfelelő takarmánykiosztási és jászolgondozási gyakorlat az optimális szárazanyag-felvétel szempontjából

**Jelentőséggel bír
a takarmánykiosztás
időzítése és napi
gyakorisága is**

A takarmánykiosztás időzítése és napi gyakorisága is fontos. A tehén természetes körülmények között, több részletben, kb. napi 4–9 órát tölt takarmányfelvétellel. Hosszabb táplálkozási időt mértek kora reggel és késő délután (45). A takarmányfelvételek ritkábbá váltak, és napi összes időtartamuk kb. 6 óra hosszúságúra tehető (17). Az ellés körüli kritikus időszakban ajánlatos minél több részletben etetni az állatokat. A napi kétszeri vagy még többszöri etetés az egyszerihez képest csökkentette a válogatás mértékét, továbbá kiegyenlítettebbé tette az egyes etetések felvett takarmánymennyiségét. Ez a gyakorlat enyhíti a rangsorban alárendelt tehenekre nehezedő stresszt és végső soron pozitívan hat a termelésre (19, 27).

TARTÁSTECHNOLÓGIAI KOCKÁZATOK

Gyakran tapasztalható a férőhelyek túlzott kihasználása, a zsúfoltság (stresszor), ami tovább ronthatja az ellés körüli időszakban a tehenek egészségi állapotát. A tehenek törzsféjődésük során a nagy csoportokban való együttéléshez alkalmazkodtak. A tehenek között bonyolult hierarchián alapuló szociális rangsor alakul ki, amiben vannak domináns és alárendelt tehenek. Jelentős versengés folyik a forrásokért (2, 40, 46, 48), így pl. az etetőért folytatott verseny nagyban csökkenthető az egy tehenre jutó etetőhossz megfelelő méretezésével. Az etetőhosszra vonatkozó ajánlás 0,6–0,76 m/tehen (40, 65).

A napi szárazanyag-felvételt közvetlenül is befolyásolja, de ezen kívül még számtalan szempontból is fontos a megfelelő minőségű és fizikai állapotú ivóvíz biztosítása. Egy tejtermelő kifejlett tehén nyáron akár 130–150 l vizet iszik naponta (82). BÉRI adatai jól szemléltetik, hogy a napi ivóvízszükséglet jelentősen változik a környezeti hőmérséklet, ill. a napi tejtermelés függvényében (7). Iváskor egy tehén 4–15 l vizet vesz fel percenként (58). Ezeket az adatokat az itatók méretezésénél célszerű figyelembe venni. A legfontosabb vízfelvétel közvetlenül a fejés után van, így a fejőházi kijáratnál nyílt vízfelszínű itatókat ajánlott beállítani. Egy egységet képező – azaz térelválasztókkal határolt – istállórészben minimum kettő itatót kell elhelyezni, szabad hozzáférést biztosítva a rangsorban alárendelt tehenek számára is. Egy tehenre minimum 3–6 cm, de inkább 10 cm lineáris itatóhosszt kell számolni (76).

Itt kell megemlíteni az egyre nagyobb kihívást jelentő hőstressz elleni védekezés szükségességét. Ennek ma már hatalmas szakirodalmi háttere van, így itt elegendő csupán csak megemlíteni, hogy a helyesen megválasztott, méretezett és telepített hőleadást segítő technológiai berendezéseken túl egyéb módon, mint pl. takarmányozástechnikai intézkedésekkel, különböző kiegészítőkkel, mint pl. a probiotikus hatású, élő, e célra szelektált élesztőgombákat tartalmazó takarmánykiegészítővel is segíthetünk a teheneknek átvészelné ezt az időszakot (16).

A megfelelő csoportosítási gyakorlat, a férő- és etetőhely kihasználtság mértéke, a csoportváltás gyakorisága befolyásolhatja, hogy milyen interakciók történnek a csoporton belül (40).

A csoportstabilitás fontos. Különösen az előkészítőben, a frissen ellett és a fogadó csoportban minél kevesebb legyen az állatmozgatás. A gyakori csoportosítás negatív hatása a fekvéssel, pihenéssel töltött idő csökkenése, zavart takarmányfelvétel, csökkent tejtermelés, ami különösen a rangsorban alacsony helyen álló tehenek esetében érvényesül (33, 46). Hetente maximum egyszeri alkalomra célszerű csökkenteni a csoportosítások számát. Lehetőleg legalább 7–10, korábban együtt tartott tehenből álló csoport kerüljön az új helyre. Mivel a rangsorviták elszenvetői rendszerint az újonnan érkező állatok közül kerülnek ki, e gyakorlat adhat némi szociális stabilitást a fiatal vagy a rangsorban hátul álló állatok számára (65).

**Egy tejtermelő tehén
nyáron naponta 130–150 l
vizet iszik, percenként
pedig 4–15 litert**

Kevésbé ismert, hogy a megszerzett dominancia nem állandó. A korábban domináns tehén új csoportba kerülve elveszíti korábbi helyét a rangsorban, és előfordulhat, hogy az új csoportban már nem válik dominánssá (2). Az alárendelt tehenek inkább a fiatalabb állatok közül kerülnek ki. Az állatsűrűség (tehenek száma/hasznos etetőfelület) jelentős hatással van az etetőkért folytatott versengés mértékére és magára a takarmányfelvételre is (18, 48). Ha az istálló zsúfolt, és/vagy a rendelkezésre álló hasznos etetőfelület nem elegendő, akkor először a domináns állatok esznek, csak őket követhetik az alárendeltek. Ha nem elegendő az egyszerre kiosztott takarmány, akkor gyakorlatilag ugyanazon helyen, egy istállóban két takarmányozási csoport lesz. Az először táplálkozó tehenek felveszik az előírányozott takarmánymennyiséget, sőt akár még többet is, míg az alárendeltek nem jutnak hozzá a szükséges mennyiséghez (21). Ezen csak tovább ront, ha a takarmány-előkészítés nem volt megfelelő, és az adag válogathatóvá válik.

Az alárendelt tehenek ún. alcsoportot képeznek a nagy csoporton belül, mert hozzáférésük a takarmányhoz, ivóvízhez és a pihenőhelyhez korlátozott (8). Az ily módon alárendelt teheneknél sokkal nagyobb valószínűséggel alakul ki számos, az ellés körüli időszakban jellemző rendellenesség, betegség, mint pl. a hyperketonaemia, oltógyomor-helyzetváltozás, magzataburok-visszamaradás, metritis, mastitis stb. Az ilyen tehenek napi időbeosztása is jóval kedvezőtlenebbül alakul, mint domináns társaiké (24, 26).

A tehenek számára nagyon fontos a megfelelő pihenés, a fekvő testhelyzetben eltöltött idő hossza. Az alárendelt státuszban lévő teheneknél ez akár napi hat órára is lecsökkenhet (75), ami hajlamosít a sántaság kialakulására. A megrövidült fekvési idő egyik oka, hogy sokáig kell várakozniuk a takarmányhoz való hozzáférésre. Ugyanakkor azt is megfigyelték, hogy az alárendelt tehén kerüli azokat a fekvőhelyeket, amelyeket korábban domináns állat használt. Ezért nagyon fontos, hogy az ellés körüli időszakban maximum 80%-os férőhely-kihasználtságot engedjünk meg (8, 65). Szintén gyakori probléma, hogy ha nem figyelnek oda az istálló tervezésekor, vagy a későbbiekben megváltoztatják a belső elrendezést, és különböző zugok, zsákutcák alakulnak ki az istállón belül. Az ilyen, csupán egy be- és kijáratú zárványok csapdába ejtik az alárendelt teheneket, akik kerülve a konfliktus lehetőségét, inkább ott ácsorognak (64). Az alárendelt teheneket, különösképpen az első borjas állatokat gyakran láthatjuk az istálló egy-egy félreeső részében álldogálni, hiszen igyekeznek elkerülni a konfliktust domináns társaikkal (68).

Vannak olyan technológiai hibák is, amelyek rangsortól függetlenül károsítanak. Ilyen hiba pl. ha a kötetlen istállóban nem megfelelő a telepített berendezések mérete, kialakítása. Egy átlagos holstein tehennek szánt pihenőboksza méretezésére javasolt, hogy 1,27–1,32 m széles (50–52 inch) és \geq 1,77 m (70 inch) hosszú legyen. Fontos ismérve egy jó pihenőboxnak, hogy elegendő ún. fejtér vagy nyújtózkodási tér (*lunge space*) áll a tehén rendelkezésére a felálláshoz. A tehén természetes körülmények között, a fej előrenyújtásával, testének súlypontját áthelyezve emelkedik mellső végtagjaira, majd áll fel. A felállás helyigénye kb. a tehén törzshosszúságánál egy harmadnyival hosszabb, – ez egy ~228 cm hosszú tehén esetében ~300 cm –, így a szükséges fejtér kb. 71–72 cm (13). Elégtelen fejtér esetén fontos, hogy legalább oldalirányban legyen lehetősége a tehennek a nyújtózkodásra. Ebben az esetben ajánlott, hogy az alsó elválasztó elem a szügytámasz pozíciójában a padozattól mérve ne legyen magasabban, mint 28 cm. Az alsó elválasztó cső és a szügytámasz teteje között 12–13 cm távolságot célszerű hagyni, hogy a tehén szabadon használhassa a lábával ezt a teret (14). Ugyancsak nehezíti a felállást a rosszul elhelyezett marrúd is. A marrúd ideális helye a pihenőbokszküszöbtől mérve 173–178 cm (1).

A rosszul kialakított pihenőboksztokat a tehenek nem használják szívesen, ill. elkerülik azokat.

Fontos a megfelelő pihenés, a fekvő testhelyzetben eltöltött idő hossza

Jelentőséggel bír a megfelelő közlekedő felületek kialakítása, tisztántartása

A tehenek a gumi járófelületet részesítik előnyben

A kavicsos-köves felület hajlamosít a csülökszarusérülésekre, sántaságra

Fontos szempont a biztonságos járáshoz a közlekedőfelületek megfelelő kialakítása és tisztántartása. Ellenkező esetben a sántaság kialakulásának kockázata nő. A nagy tehenforgalommal terhelt területeken, ill. az etetőhelyeknél a megfelelően megválasztott, szabályosan összeillesztett gumipadozat telepítése ajánlott. A tehen evolúciója során a szilárd, de rugalmas talajon való járáshoz alkalmazkodott. A gumipadozat kellően szilárd, csúszásmentes, ugyanakkor a talajhoz hasonlóan minimális benyomódásra képes, rugalmas felületet ad. A tehenek az ilyen felületen magabiztosabban közlekednek, valamint jelentősen csökken a különböző csülöksérülések előfordulása is a betonfelülettel összehasonlítva. A tehenek láthatóan a gumi járófelületet részesítik előnyben, ha módjukban áll választani (78, 81). Ha gumipadozat nem biztosítható, akkor a megfelelően bordázott betonfelület lehet az alternatíva, amelynek a bordázata 6,5–9 cm osztással, párhuzamosan, a trágyalehúzó mozgási irányával, vagy az öblítővíz lefolyásának irányával megegyezően futó 1 cm széles és 1 cm mély profilú (61). Jobb minőségű bordázat készíthető utólag bemaressal, mint a képlékeny betonba benyomással. A betonfelület két bordázat közé eső felszíne sima legyen. A bordázat lehet gyémánt alakú is, amelynél az alakzat közepén mérve kb. 7–12 cm legyen a szemben lévő oldalak közötti távolság (61).

Az egyenetlen, kavicsos-köves felület nem megfelelő, nagyban hajlamosít a csülökszarun keletkező sérülések nyomán kialakuló sántaságra. Az állandóan nedves, trágyás felületek hajlamosítanak a digitalis dermatitis és a sarokvánkös-erózió kialakulására (6, 83).

A MONITORING JELENTŐSÉGE A KOCKÁZATOK FELDERÍTÉSÉBEN

Nagyüzemi haszonállattartásban az összetett okú és állományszinten jelentkező megbetegedések és zavarok hatékony kontrollja és megelőzése érdekében az egyedszintű állatorvosi gondolkodásmódról váltani kell az állományszintű gondolkodás és preventív szemlélet irányába (62).

A leginkább az ellés körüli időszakban jelentkező anyagforgalmi rendellenességek elsősorban szubklinikai formában vannak jelen. Ezeket tünetek hiányában különféle anyagcsere-paraméterek, mint ún. biomarkerek mérésén alapuló, rendszeres és megalapozott protokoll szerint elvégzett metabolikus vizsgálatokkal lehet diagnosztizálni (50, 84). A reprezentatív, egyedi minták analízisének alapuló eredmények interpretációja során figyelembe kell venni a telepi adatgyűjtés és a helyszíni állományvizsgálat során szerzett tapasztalatokat is (9, 53).

A monitoringvizsgálat végrehajtásához számos állománydiagnosztikai eszköz és módszer áll rendelkezésre. A teljesség igénye nélkül az alkalmazható módszerek több csoportba sorolhatók.

1. A helyszínen alkalmazható állomány- és környezetdiagnosztikai módszerek, mint pl. a kondíciópontosítás (28); a bendőtélítettségs-pontosítás (3); mozgásképpontosítás (71); trágyakonzisztencia-pontosítás (41); trágyamosás (41); a kérődzés intenzitásának mérése (41); takarmánykomponens- és TMR-vizsgálatok; ultrahangvizsgálatok.
2. A biológiai minták helyszíni vizsgálatára alkalmas istállópróbák és egyszerűsített laboratóriumi vizsgálatok, mint pl. a béta-hidroxi-vajsav mérése a szubklinikai ketosis ellenőrzésére (66); bendőtartalom-vizsgálat (34); korai vemhesség (üresség) tesztek (32).
3. Részletes laboratóriumi vizsgálatok, mint pl. komplex anyagcsereprofil-vizsgálatok (12); termelés-ellenőrzéshez kapcsolódó diagnosztikai szolgáltatások (52).
4. Újabb technikai lehetőségek, mint pl. komplex digitális kockázatelemző eszközök és alkalmazások, mozgásértékelő szenzorokon alapuló ivarzás-

megfigyelő, ill. egyéb rendszerek, intraruminális adatrögzítő és továbbító eszközök (35), telepírányító rendszer által gyűjtött összes termelési és tenyésztési adat, fénykép alapú automatikus kondíciópontozás stb.

Látható, hogy számos eszköz áll a folyamatos állományvizsgálat, az ún. monitoring szolgálatában, amelyek csak akkor lesznek hasznosak és hatékonyak, ha megfelelő protokollok alapján alkalmazzuk is őket a gyakorlatban.

KÖVETKEZTETÉSEK

A tejhasznú tehenek termelését, teljesítményét, egészségi állapotát számos tényező befolyásolja, különösképpen az ellés körüli időszakban. A kockázati tényezők ismerete, folyamatos nyomon követése, az állomány monitoringvizsgálata meghatározó az állományszintű zavarok korai felismerése és a megelőzési stratégiák kidolgozása érdekében. A tejágazat előtt álló kihívások, a jó minőségű, biztonságos és gazdaságos élelmiszeralapanyag-előállítás megköveteli az állomány-egészségügyi menedzsment terület tudományos alapokon nyugvó folyamatos fejlődését és az új ismeretek gyakorlatba történő hatékony átültetését.

IRODALOM

- ANDERSON, N.: Free Stall Dimensions. Livestock Technology, Info Sheet. Ministry of Agriculture. *Food and Rural Affairs*, 2007. www.omafr.gov.on.ca
- ARAVE, C. W – ALBRIGHT, J. L.: Cattle Behavior. *J. Dairy Sci.*, 1981. 64. 1318–1329.
- ATKINSON, O.: *A cross-sectional survey to investigate prevalence of and clinical indicators for Subacute Ruminal Acidosis (SARA) in lactating cows on UK dairy farms.* A dissertation for RCVS diploma in cattle health and production. 2013.
- BACH, A. – VALLS, N. – SOLANS, A. – TORRENT, T. et al.: Associations between nondietary factors and dairy herd performance. *J. Dairy Sci.*, 2008. 91. 3259–3267.
- BELL, A.W.: Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.*, 1995. 73. 2804–2819.
- BERGSTEN, C. – HERLIN, A. H.: Sole haemorrhages and heel horn erosion in dairy cows: the influence of housing system on their prevalence and severity. *Acta vet.scand.*, 1996. 37. 395–408.
- BÉRI, B.: *Tartástechnológia. Az itatás technológiája a szarvasmarha-tenyésztésben.* Debreceni Egyetem, Nyugat-Magyarországi Egyetem, Pannon Egyetem, 2011. 24–25.
- BIAGIOTTI, P. R.: *Doppelganger herds are a scary reality.* Hoard's Dairyman, W. D. Hoard's & Son Company. Milwaukee, US, January, 2015.
- BRYDL E.: Nagyüzemi szarvasmarha-állományok átfogó, komplex takarmányozási és állategészségügyi értékelési rendszere. *Magy. Állatorv. Lapja*, 1989. 44. 121–122.
- BRYDL E.: Elléskörüli anyagforgalmi zavarok és megelőzésük lehetősége többfázisú előkészítéssel tejhasznú tehenekben. *Magy. Állatorv. Lapja*, 1995. 50. 600–607.
- BRYDL E. – JURKOVICH V. – KÖNYVES L. – TEGZES L. – KÁLMÁN I.: Szubklinikai anyagforgalmi zavarok előfordulása tejhasznú tehenekben Magyarországon 2001-ben. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2003. 125. 393–400.
- BRYDL, E.– KÖNYVES, L. – TEGZES, L. – JURKOVICH, V. – TIRIÁN, A.: Incidence of subclinical metabolic disorders in Hungarian dairy herds during the last decade. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2008. 130. Suppl. I. 129–134.
- CEBALLOS, A. – SANDERSON, D. et al.: Improving Stall Design: Use of 3-D Kinematics to Measure Space Use by Dairy Cows when Lying Down. *J. Dairy Sci.*, 2004. 87. 2042–2050.
- COOK, N. B. – NORDLUND, K. V.: An update on dairy cow freestall design. *Bov. Pract.*, 2005. 39. 29–36.
- DEGARIS, P. J. – LEAN, I. J.: Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *Vet. J.*, 2008. 176. 58–69.
- E ONDARZA, M. B. – SNIFFEN, C. J. et al.: *Live yeast aids rumen function, milk yield.* *Feedstuffs.* Reprinted with permission from 2011. 83. 04.
- DEVRIES, T. J. – VON KEYSERLINGK, M. A. G. – BEAUCHEMIN, K. A.: Diurnal feeding pattern of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2003. 86. 4079–4082.
- DEVRIES, T. J. – VON KEYSERLINGK, M. A. G. – WEARY, D. M.: Effect of feeding space on the inter-cow distance, aggression, and feeding behavior of free-stall housed lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2004. 87. 1432–1438.
- DEVRIES, T. J. – VON KEYSERLINGK, M. A. G.: Feed stalls affect the social and feeding behavior of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2006. 89. 3522–3531.
- DEVRIES, T. J. – VON KEYSERLINGK, M. A. G.: Making the Most of Your Dairy Rations through Feed Bunk Management and Design. *WCDS Advances in Dairy Technology*, 2008. 20. 329–340.
- DEVRIES, T. J. – DOHME, F. – BEAUCHEMIN, K. A.: Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: Feed sorting. *J. Dairy Sci.*, 2008. 91. 3958–3967.
- DIRKSEN, D. H. – LIEBICH, H. G. – MAYER, E.: Adaptive changes of the ruminal mucosa and their functional and clinical significance. *Bov. Pract.*, 1999. 20. 116–120.

23. DRACKLEY, J. K.: Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J. Dairy Sci.*, 1999. 82. 2259–2273.
24. DRACKLEY, J. K. – DANN, H. M. et al.: Physiological and pathological adaptation in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. A review article. *Ital. J. Anim. Sci.*, 2005. 4. 323–344.
25. DRACKLEY, J. K. – JANOVICK, N. A.: *Controlled energy diets for dry cows*. Paper presented at: Western Dairy Management Conference, Reno, NV. 2007.
26. DUFFIELD, T. – BAGG, R. et al.: Prepartum monensin for the reduction of energy associated disease in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2002. 85. 397–405.
27. ENDRES, M. I. – DEVRIES, T. J. et al.: Effect of feed barrier design on the behavior of loose-housed lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2005. 88. 2377–2380.
28. FERGUSON, J. D. – GALLIGAN, D. T. – THOMSEN, N.: Principal descriptor of body condition score in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 1994. 77. 2695–2703.
29. FRANDSON, R. D. – WILKE, W. L. – FAILS, A. D.: *Anatomy and Physiology of Farm Animals*. 7th ed. A John Wiley & Sons, Inc. Publication. 2013. 528.
30. FRIGGENS, N. C.: Body lipid reserves and the reproductive cycle: towards a better understanding. *Livest. Prod. Sci.*, 2003. 83. 219–236.
31. FUNK, D. A. – FREEMAN, A. E. – BERGER, P. J.: Effects of previous days open, previous days dry, and present days open on lactation yield. *J. Dairy Sci.*, 1987. 70. 2366–2373.
32. GÁBOR GY. – TÓTH F. – GARTH S. – SZÁSZ F. – BÁRÁNY I. – WÖFLING A. – VÖLGYI–CSÍK J.: A két ellés közti idő csökkentésének lehetősége tejelő szarvasmarha-állományban. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2004. 126. 459–464.
33. GALINDO, F. – BROOM, D. M.: The relationships between social behaviour of dairy cows and the occurrence of lameness in three herds. *Res. Vet. Sci.*, 2001. 69. 75–79.
34. GARRETT, E. F. – PEREIRA, M. N. et al.: Diagnostic methods for the detection of subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1999. 82. 1170–1178.
35. GASTEINER, J. – BOSWERGER, B. – GUGGENBERGER, T.: *Long-term measurement of reticuloruminal pH value in dairy cows under practical conditions by an indwelling and wireless data transmitting unit*. Magyar Buiatrikus Társaság XXIII. Nemzetközi Kongresszusa, 2013. okt. 16–19. Siófok. Előadások, 33–39.
36. GOFF, J. P. – HORST, R. L.: Role of acid-base physiology on the pathogenesis of parturient hypocalcaemia (milk fever) – the DCAD theory in principal and practice. *Acta Vet. Scand. Suppl.*, 2003. 97. 51–56.
37. GOFF, J. P.: The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet. J.*, 2008. 176. 50–57.
38. GOFF, J. P.: Immune suppression around the time of calving and the impact of metabolic disease. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2008b. 130. (suppl. I.) 39–41.
39. GRANT, R. J. – ALBRIGHT, J. L.: Feeding behaviour and management factors during the transition period in dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, 1995. 73. 2791–2803.
40. GRANT, R. J. – ALBRIGHT, J. L.: Effect of animal grouping on feeding behavior and intake of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2001. 84. 156–163.
41. GROVE-WHITE, D.: Rumen healthcare in the dairy cow. *In Practice*, 2004. 26. 88–95.
42. GRUMMER, R. R.: Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1993. 76. 3882–3896.
43. GRUMMER, R. R.: Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Anim. Sci.*, 1995. 73. 2820–2833.
44. GRUMMER, R. R. – MASHEK, D. G. – HAYRILL, A.: Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin. Food Anim. Sci.*, 2004. 20. 447–470.
45. HAFEZ, E. S. E. – BOUISOUS, M. F.: *The behavior of cattle. The behavior of domestic animals*. 3rd ed. E. S. E. Hafez (ed.). Bailliere Tindall. London, UK, 1975. 203–245.
46. HASEGAWA, N. – NISHIWAKI, A. et al.: The effects of social exchange between two groups of lactating primiparous heifers on milk production, dominance order, behavior and adrenocortical response. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 1997. 1951. 15–27.
47. HORST, R. L. – GOFF, J. P. et al.: Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 1997. 80. 1269–1280.
48. HUZZEY, J. M. – DEVRIES, T. J. et al.: Stocking density and feed barrier design affect the feeding and social behavior of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2006. 89. 126–133.
49. INGVATSEN, K. L.: Feeding- and management-related diseases in the transition cow Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *Anim. Feed Sci. and Techn.*, 2006. 126. 175–213.
50. INGVATSEN, K. L., – MOYES, K. M.: Factors contributing to immunosuppression in the dairy cow during the periparturient period. *Jpn. J. Vet. Res.*, 2015. 63. 15–24.
51. KAPP P.: Újabb adatok a kérődzők zsírmáj-szindrómájának patomorphogeneziséhez. *Magyar Állatorv. Lapja.*, 1989. 44. 157–168.
52. KOWALSKI, Z. M.: *Monitoring of subclinical ketosis in Poland, based on monthly milk recording*. Magyar Buiatrikus Társaság XXIII. Nemzetközi Kongresszusa, 2013. okt. 16–19. Siófok. Előadások, 166–188.
53. KÖNYVES L.: *Tejhasznú tehenek egészségi állapotát és szaporodási teljesítményét és tejtermelését befolyásoló kockázati tényezők vizsgálata az ellés körüli időszakban*. PhD értekezés. Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Doktori Iskola, Budapest, 2008. 76–77.
54. KÖNYVES, L. – SZENCI, O. – JURKOVICH, V. – TEGZES, L. – TIRIÁN, A. – SOLYMOSSI, N. – GYULAY, GY. – BRYDL, E.: Risk assessment of postpartum uterine disease and consequences of puerperal metritis for subsequent metabolic status reproduction and milk yield in dairy cows. *Acta Vet. Hung.*, 2009. 57. 1. 157–169.
55. KÖNYVES, L. – SZENCI, O. – JURKOVICH, V. – TEGZES, L. – TIRIÁN, A. – SOLYMOSSI, N. – GYULAY, GY. – BRYDL, E.: Risk assessment and consequences of retained placenta for uterine health reproduction and milk yield in dairy cows. *Acta Vet. Brno*, 2009. 78. 163–172.
56. KÖNYVES L. – SZENCI O. – JURKOVICH V. – TEGZES L. – BECKERS J. F. – BRYDL E.: Egyes szaporodásbiológiai jellemzők vizsgálata az ellés körüli időszak energiaforgalmának függvényében tejhasznú tehenekben. *Magy. Állatorv. Lapja*. 2009. 131. 259–268.
57. LINN, J. – RAETH-KNIGHT, M.: Dietary Cation and Anion Difference Update. *Dairy Star*, June 2007. <http://www.extension.umn.edu/agriculture/dairy/feed-and-nutrition/dietary-cation-anion-difference-update/>
58. LOOPER, M. L. – WALDNER, D. N.: *Water for Dairy Cattle. The College of Agriculture and home Economics*. <http://cahe.nmsu.edu>. 2002. 1–8.

59. MARTINEZ, N. – RISCO, C. A. et al.: Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *J. Dairy Sci.*, 2012. 95. 7158–7172.
60. MCCARTHY, M. M. – OVERTON, T. R. – MECHOR, G. D.: *Help fresh cows clear their energy hurdles*. Hoard's Dairyman, W. D. Hoard's & Son Company, Milwaukee, US, January, 2015.
61. MCFARLAND, D. F.: *Dairy facility design and management factors that may cause or contribute to lameness*. Paper presented at: Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop, Grantville, PA., USA, 2010
62. MCLAREN, C. J. – LISSEMORE, K. D. et al.: The relationship between herd level disease incidence and a return over feed index in Ontario dairy herds, *Can. Vet. J.*, 2006. 47. 767–773.
63. MCGUFFEY, R. K. – RICHARDSON, L. F. – WILKINSON, J. I. D.: Ionophores for Dairy Cattle: Current Status and Future Outlook. *J. Dairy Sci.*, 2001. 84. 194–203.
64. NÆSS, G. – BØE, K. E. – ØSTERÅS, O.: Layouts for small freestall dairy barns: Effect on milk yield for cows in different parities. *J. Dairy Sci.*, 2011. 94. 1256–1264.
65. NORDLUND, K. – COOK, N. – OETZEL, G.: Commingling Dairy Cows: Pen Moves, Stocking Density, and Health. 39th *Proceedings of American Association Bovine Practitioners*. St. Paul, MN., USA, Sept. 20–24, 2006. 36–42.
66. OETZEL, G. R.: Herd-level ketosis: diagnosis and risk factors. *Dairy Herd Probl. Investig. Strateg. Transit. Cow Troubl.*, 2007. 67–91.
67. OPSOMER, G.: Interaction between metabolic challenges and productivity in high yielding dairy cows. *Jpn. J. Vet. Res.*, 2015. 63. 1–14.
68. OVERTON, M. W. – SISCHO, W.M. et al.: Using time-lapse video photography to assess dairy cattle lying behavior in a free-stall barn. *J. Dairy Sci.*, 2002. 85. 2407–2413.
69. OVERTON, M. W. – BOOMER, W. G.: Transition management checklist. Paper presented at: *Proceedings of the Western Dairy Management Conference*, Reno, NV, USA. 2009.
70. OVERTON, T. R.: Keys to transition success. http://www.ccenny.com/wp-content/uploads/2011/12/Keys-to-transition-success-Overton-6_111.pdf.
71. PHILLIPS, C. J. C.: *Principles of cattle production*. CAB International. 2001. 147–148
72. RAJALA-SCHULTZ, P. J. – GRÖHN, Y. T. – MCCULLOCH, C. E.: Effects of milk fever, ketosis, and lameness on milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1999. 82. 288–294.
73. RICHARDSON, L. F. – RAUN, A. P. et al.: Effect of monensin on rumen fermentation in vitro and in vivo. *J. Animal Sci.*, 1976. 43. 657–664.
74. RICO, D. E. – CHUNG, Y. H. et al.: Effects of partially replacing dietary starch with dry glycerol in a lactating cow diet on ruminal fermentation during continuous culture. *J. Dairy Sci.*, 2012. 95. 3310–7.
75. SINGH, S. S. – WARD, W. R. et al.: Behavior of first lactation and adult dairy cows while housed and at pasture and its relationship with sole lesions. *Vet. Rec. Housing Behav.*, 1993. 133. 469–474.
76. SMITH, J. F. – BROUK, M. J. et al.: *Issues with Dairy Facilities Located in the High Plains*. Paper presented at: High Plains Dairy Conference, Amarillo, TX., USA. 2006.
77. SØRENSEN, J. T. – ENEVOLDSEN, C.: Effect of Dry Period Length on Milk Production in Subsequent Lactation. *J. Dairy Sci.*, 1991. 74. 1277–1283.
78. VANEGAS, J. – OVERTON, M. et al.: Effect of rubber flooring on claw health in lactating dairy cows housed in free-stall barns. *J. Dairy Sci.*, 2006. 89. 4251–4258.
79. VAN MAANEN, R. W. – HERBEIN, J. H. et al.: Effects of monensin on in vivo rumen propionate production and blood glucose kinetics in cattle. *J. Nutrition*, 1978. 108. 1002–1007.
80. VARGA, G.: *Why use metabolizable protein for ration balancing*. eXtension.org. at: www.extension.org/pages/26135/why-use-metabolizable-protein-for-ration-balancing#.UqDduZWA1dg
81. VOKEY, F. J. – GUARD, C.L. et al.: A controlled study on the effect of free-stall alley surface and stall bedding on hoof and hock lesions in lactating Holstein Dairy cattle. *J. Animal Sci.*, 2000. 78. 233.
82. WARD, D. – MCKAGUE, K.: *Water Requirements of Livestock*. *Agric. Commun.*, 2005. 7. 4.
83. WELLS, S. J. – GARBER, L. P. – WAGNER, B. A.: Papillomatous digital dermatitis and associated risk factors in US dairy herds. *Prev. Vet. Medicine*, 1999. 38. 11–24.
84. ZHANG, Z. – LIU, G. et al.: Detection of subclinical ketosis in dairy cows. *Pak. Vet. J.*, 2012. 32. 156–160.

Közlésre érkező: 2015. június 23.

The possibility of using
mesenchymal stem cells
for veterinary research
and medicine

Part 2

Own examinations

Kovács-Haász Veronika^{1*},
Dulka Bettina², Pöstényi Zita¹,
Polyák András¹, Matula Zsolt³,
Szigeti Anna³, Ana Ivanovska⁴,
Thuróczy Julianna², Uher Ferenc⁵,
Német Katalin⁶, Balogh Lajos¹

V. Kovács-Haász^{1*}, B. Dulka²,
Z. Pöstényi¹, A. Polyák¹,
Zs. Matula³, A. Szigeti³,
A. Ivanovska⁴, J. Thuróczy²,
F. Uher⁵, K. Német⁶, L. Balogh¹

1. OKK Országos Sugárbiológiai és
Sugáregészségügy Kutató
Igazgatóság
1221 Budapest, Anna u. 5.

* e-mail: haaszvera@yahoo.com

2. SZIE ÁOTK
Budapest

3. MTA TTK
Budapest

4. University of Parma
Olaszország

5. Országos Vérellátó Szolgálat
Budapest

6. Creative Cell Kft.
Budapest

A mesenchymalis őssejtek felhasználásának lehetőségei az állatorvosi kutatásokban és gyógyításban

II. rész

Saját vizsgálatok

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők e közleménysorozat első felében ismertették a mesenchymalis őssejtek orvosi, de főként állatorvosi hasznosíthatóságáról szóló ismereteket. Ebben a részben bemutatják saját eredményeiket, amelyeket különböző korú kutyák zsírszövetéből izolált mesenchymalis őssejtek (MSC) *in vitro* szaporodási és csontirányú differenciáltatása során nyertek. Kísérleteikhez beagle kutyák bőralatti zsírszövetéből nyert MSC-készítményeket hoztak létre, amelyeket szaporítottak, a nemzetközi előírásoknak megfelelően jellemeztek, differenciáltattak, majd későbbi felhasználás céljára lefagyasztottak. Megfigyeléseik azt mutatták, hogy az idős és fiatal beagle kutyákból izolált MSC-k *in vitro* körülmények között jól szaporodnak, az MSC-kre jellemző morfológiát mutatják, valamint képesek zsír-, porc- és csontirányba is differenciálódni. A csontirányú differenciálódást az alkalikus foszfatáz enzimaktivitásával és a kalciumfelhalmozás mennyiségével mérték. A fiatalabb állatokból nyert sejtek differenciáltatása során mindkét meghatározott paraméter jelentősebb emelkedést mutatott, mint az idősebb kutyából származó MSC-k esetén.

SUMMARY

In the first part of the two-part article series the authors introduced the possibility of the application of mesenchymal stem cell (MSC) in the field of human and principally veterinary medicine. In this second article they present their own results of the *in vitro* proliferative capacity and osteogenic differentiation potential of adipose tissue MSCs isolated from dogs of different ages. MSC cells were isolated from canine subcutaneous adipose tissue which were proliferated, characterized according to the international standard, differentiated and frozen for following experiments. Their observation revealed that MSCs from old and young donor Beagle dogs proliferated properly *in vitro* and they were able to show the required fibroblast-like morphology and differentiated into adipo-, chondro- and osteogenic lineages. The osteogenic differentiation of MSCs was followed by the measurement of alkaline phosphatase activity and calcium accumulation. Both of the determined parameters were higher in the case of younger donors compared to the old donor dog.

KISÁLLAT

Munkacsoportunk e kétrészes közleménysorozat második részében fiatal és idős kutyákból származó mesenchymalis őssejtek csontirányú differenciáltatásával kapott saját eredményeiket foglalják össze.

ANYAG ÉS MÓDSZER

SEJT- ÉS SZÖVETMINTÁK

Zsírszövetminták gyűjtése és az MSC-k izolálása

Kísérleteinket beagle (testtömeg: 14 ± 2 kg) kutyákon végeztük az OKK Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Igazgatóságon (OKK OSSKI). Az állatokat *ad libitum* víz és táp, normál, ill. 12 órás fény-sötét ciklusú standard (hőmérséklet: $22\text{--}24$ °C; páratartalom: $55 \pm 6\%$) körülmények között tartottuk az állatvédelmi és tartási szabályok betartásával (etikai engedély száma: 22.1/4200/003/2009).

A zsírszövetmintákat három 6 hónapos és egy 12 éves egészséges beagle kutya mellkasi területének bőr alatti zsírszövetéből nyertük steril sebészeti beavatkozás során. Az MSC-szeparálást már korábban ismertetett módon végeztük (75), kisebb módosításokkal.

A szövetdarabokat 1% penicillin/sztreptomocint (DE17-602E, Lonza) tartalmazó szobahőmérsékletű PBS-sel (BE17-516F, Lonza) 2–3 alkalommal átmostuk, míg a folyadék feltisztult. Ezt követően a zsírszövetet szikével és ollóval 1–2 mm-es darabokra feldaraboltuk és 1 mg/ml kollagenáz- (C 1-22, Biochrom) oldattal megemésztettük. Centrifugálás (5 perc, $300 \times g$) után eltávolítottuk a felülúszót, a visszamaradt sejtes üledéket, az ún. stromalis vascularis frakciót szobahőmérsékletű PBS-sel többször mostuk, majd DMEM-HG-t (32430, Gibco), 10% FBS-t (A15-151, PAA) és penicillin/sztreptomocint tartalmazó tápfolyadékban tenyésztettük őket 5% CO_2 -koncentráción, 37 °C-os termosztátban. 48–72 órás inkubációt követően PBS-sel lemostuk a tenyészetet, ekkor szabadultunk meg a vörösvérsejtektől, a le nem tapadt sejtektől és törmeléktől.

IN VITRO TENYÉSZTÉS OPTIMALIZÁLÁSA

A tenyésztőedény (4420200N, Orange Sci) aljára letapadt sejteket Tripszin-EDTA-val (L11-002, PAA) szedtük fel. A passzálások során egy flaskába 5000 sejt/cm² sűrűségben helyeztük el a sejteket.

Az első passzálást követően a sejtek egy részét DMEM-HG/10%DMSO (A3672, Applichem)/ 20% FBS-t tartalmazó, jéghideg médiumban felfuszpendáltuk, 1×10^6 /ml koncentrációban és fagyasztócsövekbe (Z353353, Sigma-Aldrich) pipettáztuk. A csöveket izopropilént tartalmazó fagyasztódobozba (55710-200, Thermo Sci,) helyeztük -70 °C-ra, majd egy hét elteltével, további felhasználásig folyékony nitrogént tartalmazó tartályban tároltuk.

A megfelelő sejtenyésztési feltételek kidolgozása érdekében vizsgáltuk a passzálások során a bFGF hatását a populáció megkettőződésének számításával. 1 ng/ml koncentrációjú humán, bázikus fibroblast növekedési faktorral (bFGF) (130-093-837, Miltenyi Biotec) egészítettük ki a DMEM-HG (10% FBS/penicillin/sztreptomocin) tápoldatot.

A populáció megkettőződésére a következő formulát használtuk (48): $pd = \ln(N_f/N_i) \ln 2$, ahol N_f az egy passzálás során nyert sejtszám, N_i a kiindulási sejtszám, \ln a természetes log. A populáció megkettőződési idejét pedig a $pdt = CT/pd$ képlettel számoltuk, ahol CT a kiültetés és a passzálás között eltelt időt jelöli.

MSC-K SEJTFELSZÍNI ANTIGÉNEK SZERINTI JELLEMZÉSE

A kutyák zsírszövetéből szeparált MSC-eket a második passzálást követően vizsgáltuk. 1×10^5 sejtet helyeztünk a FACS csőbe, 1 ml PBS-t, 0,5% BSA-t (9048-46-8, Sigma-

Az MSC-tenyészetekhez a zsírszövetmintákat beagle kutya mellkasi területének bőr alatti zsírszövetéből nyerték steril sebészeti beavatkozás során

Aldrich) és 2 mM EDTA-t tartalmazó pufferoldattal feltöltöttük, 10 percig 300× g-n centrifugáltuk. A felülúszó leöntése után 50 µl hCD90-PE (130-097-932, Miltenyi Biotec), mCD44-PE (553134, BD Pharmingen, Ausztria), hCD105-PE (130-094-941, Miltenyi Biotec) és hCD73-PE (130-095-182, Miltenyi Biotec) antitestet használtunk. 37 C°-os vízfürdőben harminc percig történő inkubálás után pufferes mosást alkalmaztunk.

A méréseket áramlási citométer (FACSCalibur, BD) segítségével végeztük el. Izotípuskontrollként a humán antitestek esetében mIgG1-PE antitestet (130-092-212, Miltenyi Biotec), a CD44-PE esetében patkány IgG2b-PE (553989 BD Pharmingen) egérelles antitestet használtunk.

DIFFERENCIÁLTATÁS ZSÍR-, PORC- ÉS CSONTIRÁNYBA

A kinyert összejeteket zsír-, porc-, ill. csontirányba differenciáltatták

ZSÍRIRÁNYÚ DIFFERENCIÁLTATÁS

Az MSC-eket a zsírszövetből történt kivonás után háromszor passzáltuk a differenciáltatás előtt, hogy homogén MSC-kultúrákat kapjunk, majd 24 lyukú sejtenyésző lemezre (5530300, Orange Sci.) helyeztünk 40 000 sejt/cm² sűrűségben. Amikor a sejtek elérték a 90–100%-os konfluenciát, differenciáltató médiumot helyeztük rájuk: DMEM-HG, 10% FBS, 10 µM inzulin (12643, Sigma-Aldrich), 0,1 µM dexametazon (D49-02, Sigma-Aldrich), 0,5 mM izobutil-metil-xantin (I5879, Sigma-Aldrich) és penicillin/sztreptomycin. 14 napig hetente 2× cseréltük a differenciáltató tápot a sejteken, majd 4% paraformaldehid- (PFA) (158127, Sigma-Aldrich)/PBS oldattal fixáltuk, és 0,2%-os Oil-red-O (O0625, Sigma-Aldrich) festéssel mutattuk ki a sejtekben felhalmozódó zsírcseppeket, a sejtek morfológiáját 1,9-dimetilén-metilénkéssel (341088, Sigma-Aldrich) tettük láthatóvá.

PORCIRÁNYÚ DIFFERENCIÁLTATÁS

2,5 × 10⁵ sejtet 96 lyukú, U alakú, nem letapadó tenyésztőedényben (M8060, Sigma-A) centrifugálással „mikromass”-kultúrát hoztunk létre, és differenciáltató médiumot helyeztünk rá. A chondrogenezist indukáló tápfolyadékot három hétig hetente kétszer cseréltünk teljes egészében, ami a következő összetevőket tartalmazta: DMEM-HG, 10 ng/ml humán TGFβ-3 (100-36E, Peprotech), 100 nM dexametazon, 50 µg/ml aszkorbinsav (49752, Sigma-A), 40 µg/ml prolin (PO380, Sigma-A), 10 µl ITS (51300-044). Három hét tenyésztés után a mintákat kriosztáttal metsztük, 0,1%-os dimetilén-metilénkéssel 10 percig festettük.

CSONTIRÁNYÚ DIFFERENCIÁLTATÁS

A csontirányú differenciációt több módszerrel is bizonyítottuk. Az immuncitokémiai festéshez 96 lyukú sejtenyésző lemezt (M0187, Greiner) használtunk, lyukanként 3000 sejtet helyeztünk el. Az ALP kvalitatív és kvantitatív méréséhez, valamint a kalciumkiválás kvalitatív és kvantitatív méréséhez 24 lyukú sejtenyésző lemezt használtunk, amire 40000 sejt/cm² sűrűségben helyeztük ki a sejteket. A csontosodást elősegítő tápfolyadékot három hétig heti kétszer cseréltük. A DMEM-HG tápfolyadékot az alábbi összetevőkkel egészítettük ki: 10% FBS, 0,1 mM 2-merkaptóetanol (ES-007-E, Millipore), 10 mM β-glicerofoszfát (G9422, Sigma-Aldrich), 50 µg/ml aszkorbinsav, 100 nM dexametazon, penicillin/sztreptomycin. Hetente 2× cseréltük teljes egészében a tápfolyadékot. A csontképzés lépéseinek nyomon követésére, valamint a csontosodás mértékének meghatározására szolgáló méréseket a differenciálódás kezdetekor, 1 hét után és a kísérlet lezárásakor végeztük el.

IMMUNCITOKÉMIAI JELÖLÉS (RUNX2)

A RUNX2 transzkripció faktor a csontirányú differenciálódás beindulásának „vezérlőgénje”. A RUNX2 fehérje megjelenését a sejtmagban, a differenciálódás

első napján, az első héten és a harmadik hét végén vizsgáltuk immuncitokémiai módszerrel. 4% PFA/PBS-sel fixáltuk a tenyészetet, majd permeabilizáló és blokkolóoldatot (1%-os BSA/PBS, 4% kecskeszérum (G9023, Sigma-A), 0,1% Triton-X-100 (T8787, Sigma-A) helyeztünk rá.

A festéshez anti-h/mRUNX2/CBFA1 Purified Rat Monoclonal IgG2B antitestet (MAB0061, R&D System), Alexa Fluor 568, goat anti-rat IgG (H+L) (A11077, Invitrogen) antitestet és végül 4',6-diamidino-2-fenilindolt (DAPI) (D8417, Sigma-A) használtunk. A jelölt sejteket 0,5%-os BSA/PBS-sel mostuk szobahőmérsékleten.

ALKALIKUS FOSZFATÁZ HISZTOKÉMIAI KIMUTATÁSA

Az ALP-aktivitás hisztokémiai kimutatásához 2% BCIP (5-bromo-4-kloro-3'-indolil-foszfát) (B6149, Sigma-A) és 70% DMSO- (dimetil-szulfoxid) oldatban 3% NBT (nitro blue tetrazolium) (11585029001, Roche) használtunk, amit 100-szorosára hígítottuk ALP-pufferben [100 mM TRIS bázis (T-1378, Sigma-A), 100 mM NaCl (30423, Lach-Ner), 5 mM MgCl₂ (13007-1-30, Reanal)]. Az oldatot 10 percig, 37 °C-on a sejteken hagytuk, majd PBS-sel átmostuk a tenyészeteket. Az oldat enzim jelenlétében kékesfekete színreakciót ad.

ALKALIKUS FOSZFATÁZ ENZIMAKTIVITÁSÁNAK MÉRÉSE

A sejteket lízispuffer (pH 9,5) (50 mM TRIS bázis, 150 mM NaCl, 0,1% Triton X-100) segítségével felszedtük, és a mérésig -20 °C-on tároltuk. Kiolvasztás után háromszor 5 másodpercig jégben szonikáltuk, majd 10 percig 12000× g fordulatszámra centrifugáltuk. Az így kapott felülúszót használtuk a továbbiakban. 96 lyukú plétbe mértük a következőket: 10 µl mintához 90 µl lízispuffert, 100 µl ALP-puffert és 5 µl Sigma 104 2×-os foszfatáz szubsztrátot (121H-50301, Sigma-A).

37 °C-os termosztátban egy órán át inkubáltuk a mintákat, majd 50 µl 1 N NaOH-oldattal állítottuk le a reakciót. A mérést Victor X3 Multilabel Readerrel (PerkinElmer) 405 nm hullámhosszúságon végeztük. A kapott abszorbanciaértékeket egy mg fehérjére normalizáltuk, amit Lowry-módszerrel számítottunk ki.

KALCIUM MINŐSÉGI ÉS MENNYISÉGI KIMUTATÁSA

A különböző időpontokban 4%-os PFA/PBS-sel fixált sejtenyészeteket szobahőmérsékleten PBS-sel átmostuk, 10 percig a sejteken hagytuk a 2% alizarinvörös festéket (pH 4,3) (A-3757, Sigma-A), majd PBS-sel történő többszöri mosás után mikroszkóppal megvizsgáltuk a tenyészetet. A kalciumlerakódás narancsvörös színben festődött. A kalciumkiválás mennyiségi méréséhez a sejteket 0,5% HCl-oldattal felszedtük, majd Calcium liquicolor kit-et (0150-250, Stanbio) használtunk a használati utasításnak megfelelően. A mérést Victor X3 Multilabel Readerrel 540 nm-en végeztük.

MIKROSKÓPOS VIZSGÁLATOK

A fénymikroszkópos és fluoreszcens mikroszkópos vizsgálatokat IX51 INVERTED MICROSCOPE (Olympus) mikroszkóppal végeztük, ill. SPOT RT3TM (Diagnostic Instruments) kamerával rögzítettük a felvételeket.

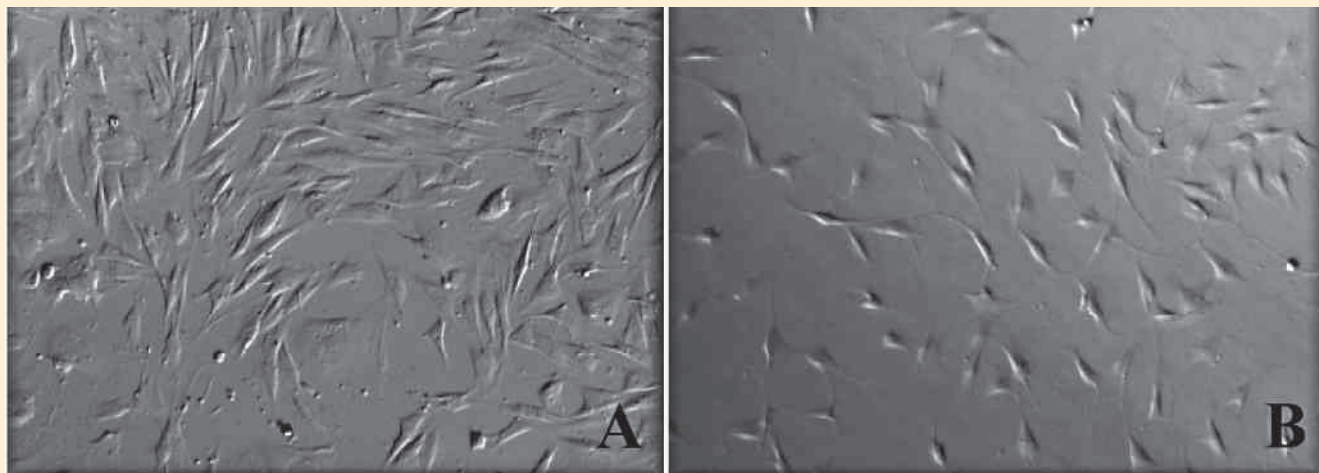
EREDMÉNYEK

ZSÍRSZÖVETBŐL SZEPARÁLT MSC-K IN VITRO TENYÉSZTÉSE

Mind a fiatal, mind az idősebb kutyákból sikerült MSC-eket izolálnunk és *in vitro* szaporítanunk 10% FBS-sel és bázikus fibroblast növekedési faktoral (bFGF) kiegészített DMEM-ben. Az idősebb kutyából származó MSC-k is hasonlóan jól szaporodtak, mint a fiatalabb állatokból kinyertek, 1 hét tenyésztés után elérték a 80–90%-os konfluenciát és fibroblast jellegű morfológiát mutattak (1. ábra).

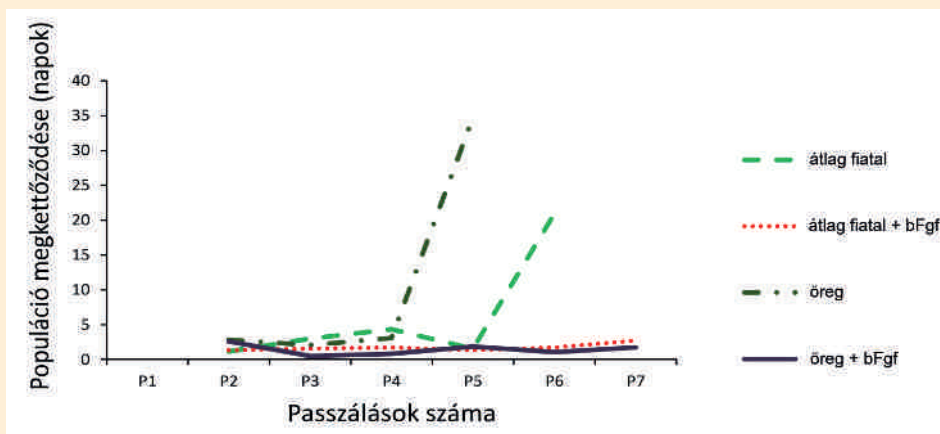
1. ÁBRA. Fibroblastszerű őssejtek fiatal (A) és idős (B) kutya zsírszövetéből
Fáziskontraszt-mikroszkópos felvétel, 100×

FIGURE 1. MSCs from young (A) and old (B) canine adipose tissue show fibroblast-like morphology
Phase contrast microscopy, 100×



2. ÁBRA. Bázikus fibroblast növekedési faktor (bFGF) hatása a fiatal és idős kutyaiból származó MSC-k populációjának megkettőződési idejére (P1, P2 ... Pn: passzálások száma)

FIGURE 2. Effect of bFGF on population doubling time of old and young canine MSC (P1, P2 ... Pn: number of passages)



Néhány passzálás után az öregebb állatból származó sejtek ellapultak, méretük megnövekedett és szaporodásuk lelassult

Az öreg és a fiatal kutyaiból nyert sejtészítmények mikroszkópos megfigyeléssel hasonló morfológiát mutattak a tenyésztés kezdetén, majd néhány passzálás után az öregebb állatból származó sejtek ellapultak, méretük megnövekedett és szaporodásuk lelassult.

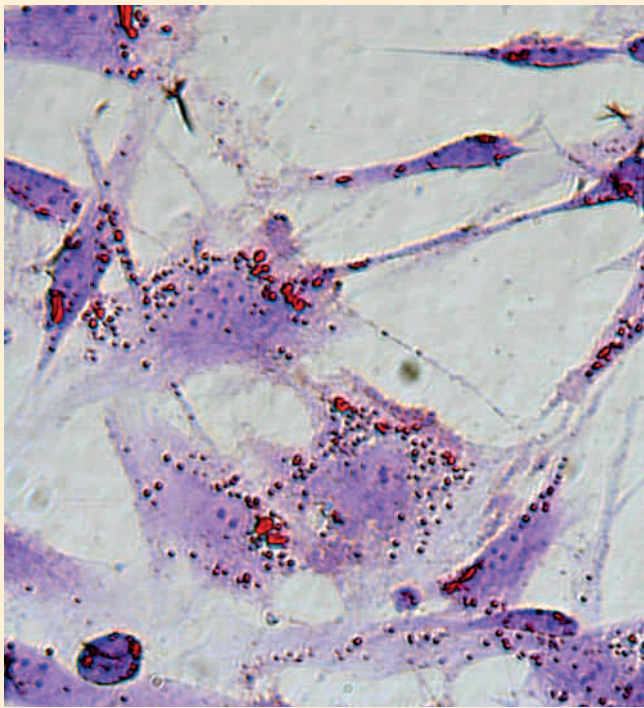
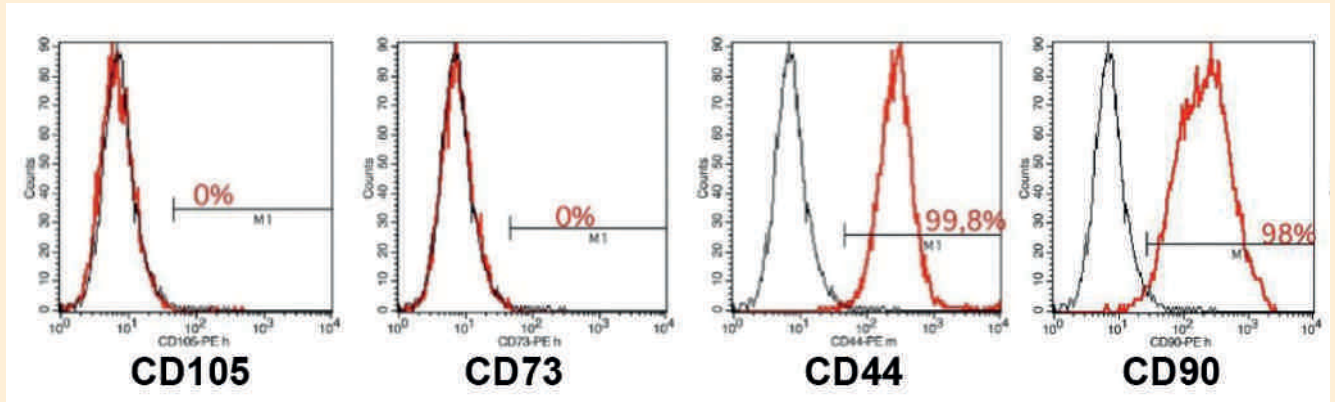
A fiatal és öreg donor állatokból származó MSC-populációk megkettőződésének ideje az átoltások során egyre növekedett mind a fiatal, mind az öreg állatból kivett MSC-k esetében. A sejtek növekedése jelentősen lelassult, több esetben megállt a negyedik passzálásnál. A tenyésztőtáphoz adagolt bFGF-fel azonban gyorsabb szaporodást figyeltünk meg, és mind a fiatal, mind az öreg állatból származó MSC-k tovább fenntarthatóak voltak *in vitro* körülmények között, valamint tovább megtartották fibroblastszerű alakjukat is a 7–8. passzálásig (2. ábra).

MSC-K SEJTFELSZÍNI ANTIGÉNEK JELENLÉTE SZERINTI JELLEMZÉSE

Az áramlási citométerrel végzett mérések során az egérellenes CD44-PE antitest 99,8%-ban hozott pozitív eredményt, az anti-humán CD90-PE antitest pedig 98%-ban (3. ábra). Az anti-humán CD73-PE és anti-humán CD105-PE antitesttel történő jelölés negatív eredményt hozott. Véleményünk szerint ez nem feltétlenül

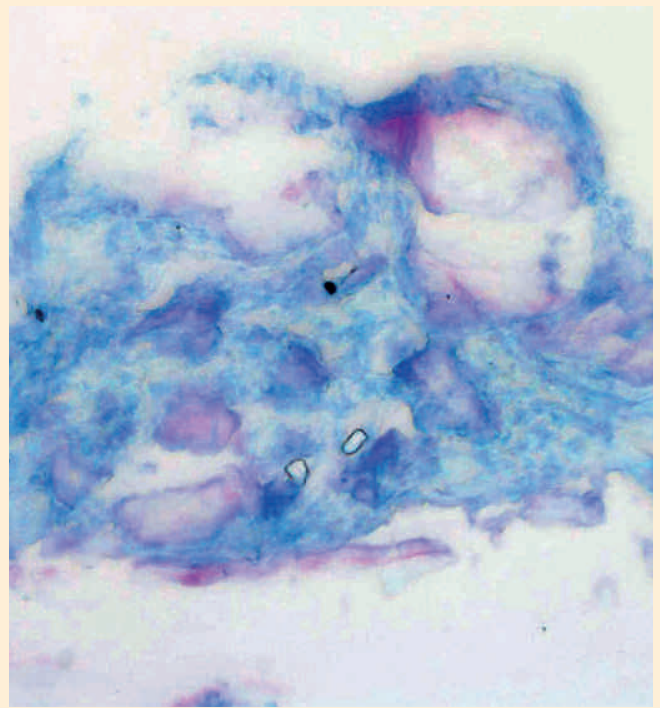
3. ÁBRA. Kutya-*MSC*-k sejtfelszíni antigénprofil kimutatása áramlási citométerrel (FACS): a *CD105* és *CD73* antigén nem volt kimutatható, míg a *CD44* és *CD90* antigének a sejtek közel 100%-án jelen voltak (balról jobbra: *CD105*, *CD73*, *CD44* és *CD90*)

FIGURE 3. Profile of cell surface antigens on *cAD-MSCs* by FACS measurement (from left to right: *CD105*, *CD73*, *CD44*, and *CD90*). The cells were negative for *CD105* and *CD73* antigens but for *CD44* and *CD90* they were almost 100% positive



4. ÁBRA. Zsírsejtek kimutatása Oil Red O festéssel: a kutya zsírszövetből izolált *MSC*-k két hét zsírirányú differenciálása után
A festék a citoplazmában felhalmozódó zsírcseppeket pirosra festi (400 \times), a sejtek morfológiáját dimetil-metilénkék festéssel tettük láthatóvá

FIGURE 4. *MSCs* separated from canine adipose tissue differentiated into adipose lineage show red coloured fat droplets in the cytoplasm by Oil Red O staining (400 \times), cells were stained with dimethyl methylene blue dye to show cell morphology



5. ÁBRA. Porc kimutatása kutya zsírszövetéből izolált *MSC*-k háromheti porcirányú differenciálása után
A porcirányba differenciálódott kutya-*MSC* dimetil-metilénkékkel metakromáziát mutat, a rózsaszín-lila színű festődés porcsejtek jelenlétére utal (200 \times)

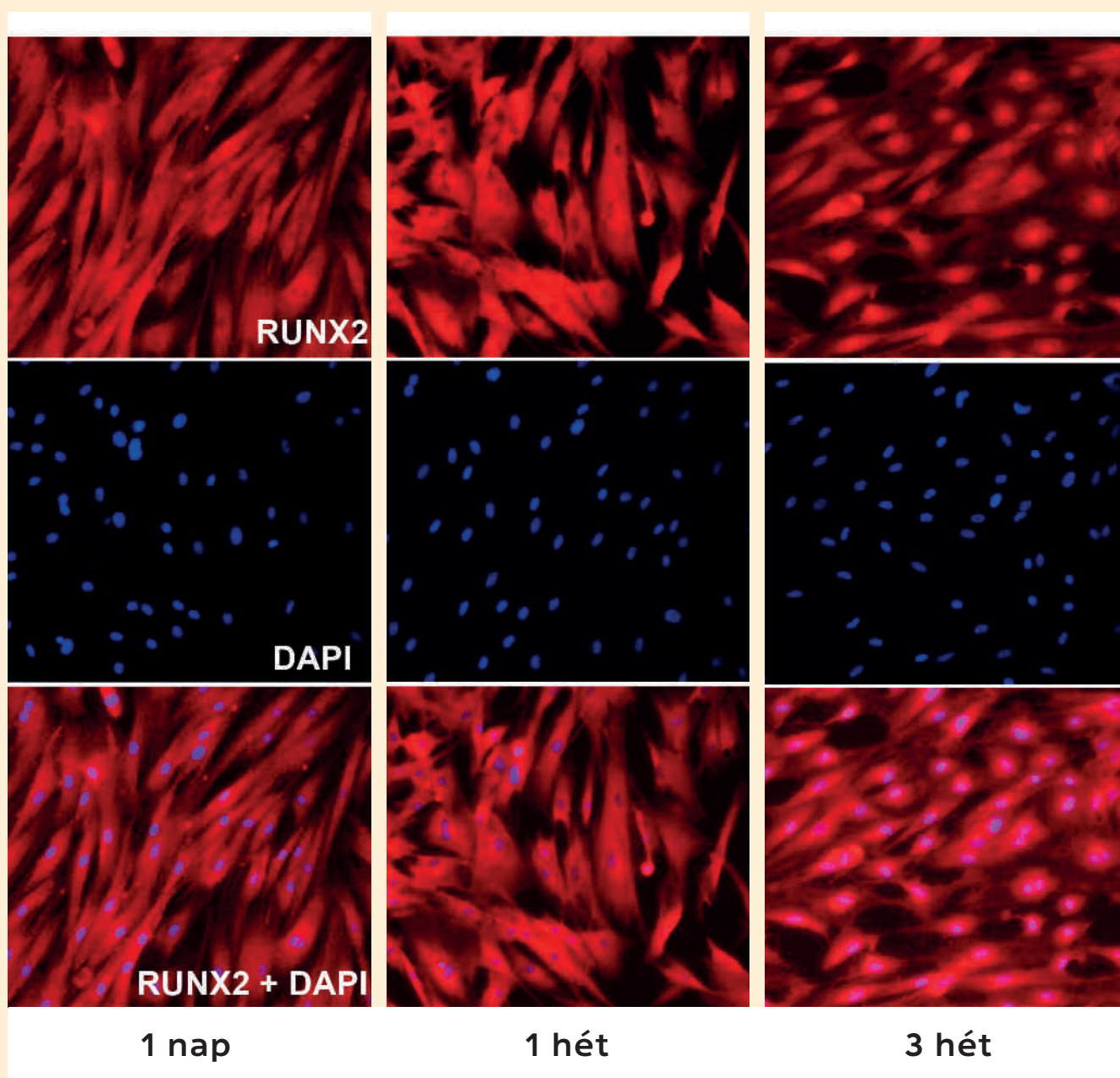
FIGURE 5. Cartilage detection of canine adipose derived *MSCs* after three weeks of chondrogenic differentiation
The differentiated *cAD-MSCs* show metachromasia staining with dimethyl methylene blue. The pink-violet staining is cartilage specific (200 \times)

6. ÁBRA. Csontirányú differenciálódás követése a „vezérlőgén” termékeként jellemzett RUNX2 kimutatásával, immuncitokémiai eljárással

Első oszlop egynapos, második oszlop egyhetes, harmadik oszlop háromhetes osteogen tápban való tenyésztés után. RUNX2 festés: 1. antitest: anti-h/mRUNX2/CBFA1, 2. antitest: Alexa Fluor 568, Rat IgG2B, a DAPI festés a sejtmagokat jelöli. Első sor RUNX, második sor DAPI, harmadik sor RUNX + DAPI. Az első napon és az első héten a RUNX2 fehérje főleg a citoplazmában található, a 3. hétre főként a sejtmagban és a sejtmagok körül lokalizálódik

FIGURE 6. Immunocytochemical labelling of RUNX2, the key regulatory gene of osteogenic differentiation

CAD-MSCs were differentiated into osteo lineage in one day (first column), one week (second column) and three weeks (third column). Staining with RUNX2 (first row), DAPI (second row) and RUNX2 + DAPI (third row). RunX2 staining: primary antibody: anti-h/mRUNX2/CBFA, secondary antibody: Alexa Fluor 568, rat IgG2B, DAPI: nuclei staining. During osteogenic differentiation, the localization of RUNX2 protein has changed: in early stage, the protein can be found in cytoplasm but from the third week, RUNX2 is mainly visible in nuclei and perinuclei



jelenti azt, hogy ez a két sejtfelületi marker nincs rajta az általunk izolált MSC-ken, hanem azt feltételezzük, hogy a rendelkezésünkre álló anti-humán antitestek nem voltak elég specifikusak a kutya-MSK-re.

Az irodalmi adatokban is találunk hasonló eredményeket: VIERA és mtsainak amellet, hogy a kutya zsír eredetű MSC-ken CD29, CD44, és CD90 pozitivitást sikerült kimutatniuk, addig az anti-humán antitestekkel (CD13, CD73 és CD105) történő jelölés negatív maradt (75). Egy másik kísérletben a kutya köldökzsinórvérből izolált MSC-k esetében anti-kutya antitesteket használva a CD29, CD33, CD44, CD105, CD184 és Oct4 markerek voltak pozitívak, míg a CD90 és CD73 nem mutatott pozitivitást (57). KANG és mtsai összehasonlító vizsgálatot végeztek kutya zsír, csontvelő, köldökzsinórvér és Wharton-kocsonyából származó MSC-k sejtfelszíni markereinek expressziójára vonatkozóan áramlási citométerrel. A vizsgált markerek közül valamennyi mintában sikerült pozitivitást találni a CD44, CD73, CD90 és CD105-ös markerekre (35). Ezen kísérleti eredményeket is figyelembe véve feltételezzük, hogy a cAD-MSK-ken jelen van a CD90 és CD105-ös marker is, hasonlóan a humán eredetű MSC-khez, azonban az eredményeket sokkal inkább a megfelelő kutyaellenes antitest kiválasztása befolyásolja.

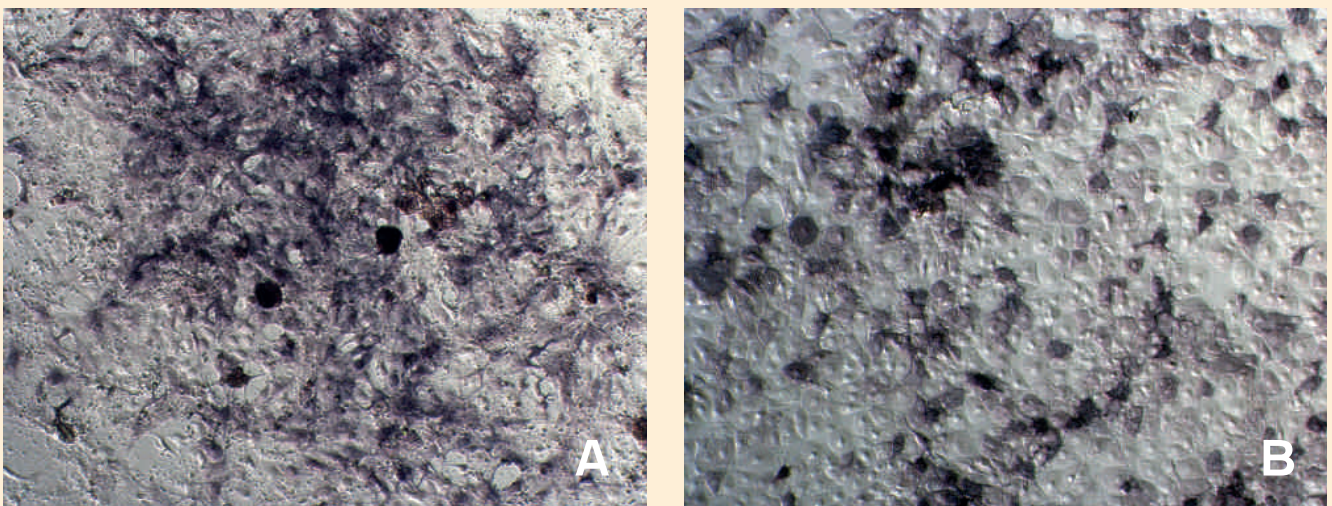
MSC-K DIFFERENCIÁLTATÁSA

A zsírirányú differenciálódás bizonyítására használt Oil Red O festéssel már 2 hét elteltével sikerült kimutatnunk a sejtek citoplazmájában vörös cseppekben megjelenő zsírfelhalmozódást (4. ábra). A sejtek morfológiáját dimetil-metilénkék festéssel tettük láthatóvá.

A porcirányú differenciációt dimetil-metilénkék festéssel bizonyítottuk, 2 hét elteltével a festés metakromáziát mutatott, ami a porcszövetre jellemző szulfátált glükóz-amino-glikánok jelenlétét mutatta (5. ábra).

Csontirányba sikerült mind a fiatal, mind az idős állatok MSC-it differenciáltatnunk, azonban a fiatal állatok esetében nagyobb ALP-aktivitást és kalciumkiválasztást észleltünk, bár ez a kisszámú minta miatt nem tekinthető szignifikánsnak.

A zsír-, a porc-, és a csontirányú differenciációt is bizonyították a megfelelő festésekkel, ill. reakcióval



7. ÁBRA. Alkalikus foszfatáz hisztokémiai kimutatása: fiatal (A) és idős (B) kutya-MSK-n három hét csontirányú differenciáltatás után. BCIP (5-bromo-4-kloro-3'-indolil-foszfát) és NBT (nitro blue tetrazolium) az enzim jelenlétében kékesfekete színreakciót ad

FIGURE 7. Detection of alkaline phosphatase activity by histochemistry from young (A) and old canines (B) MSCs differentiated into osteo lineages for 3 weeks. BCIP/NBT (5-bromo-4-chloro-3'-indoly-phosphate / nitro blue tetrazolium) reagent gives blue-black colour reaction in the presence of alkaline phosphatase (ALP)

IMMUNCITOKÉMIAI JELÖLÉS

A csontirányú differenciáltatás során a RUNX2 transzkripció fehérje sejten belüli lokalizációjában változás történt: míg kezdetben a citoplazmában volt megfigyelhető, a 3. hét végére főként sejtmagi és perinukleáris lokalizációt észleltünk (6. ábra).

ALP-AKTIVITÁS MÉRÉSE

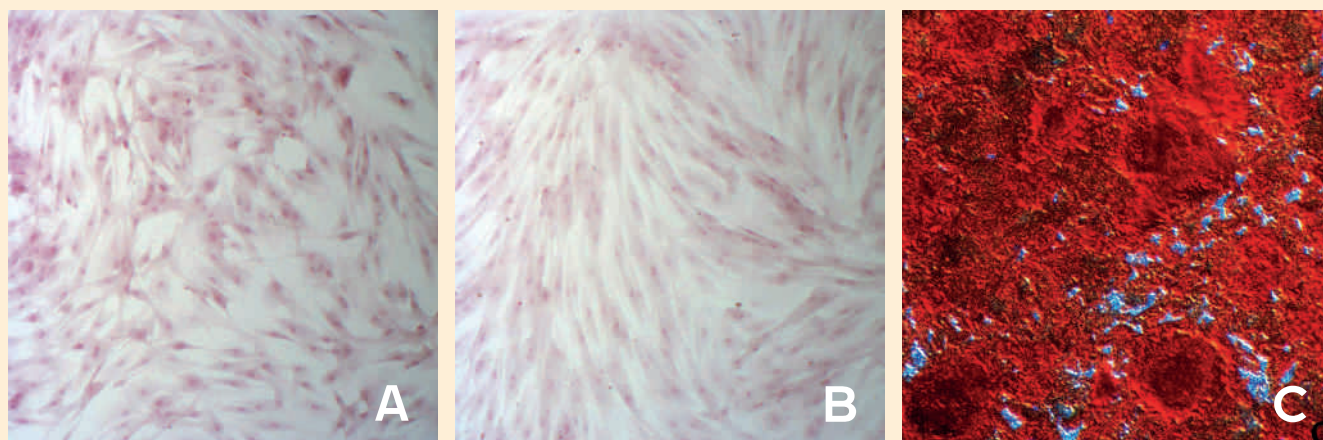
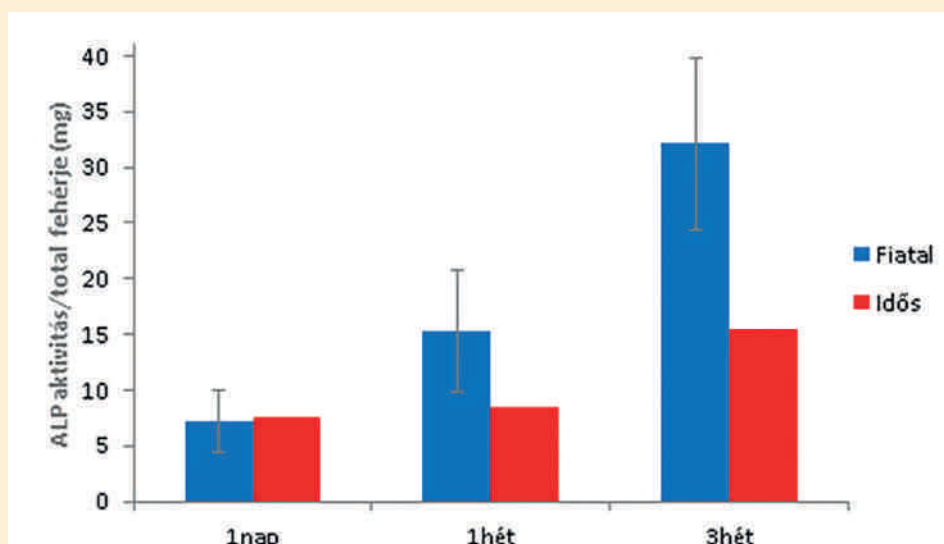
A fiatal és öreg kutyák esetében az ALP-enzimaktivitás mértéke a csontirányú differenciáltatás során emelkedett, a harmadik héten mértük a legintenzívebbnek. Az öreg kutya ALP-enzimaktivitás értékei mindvégig a fiatal kutyákból származó, csontirányba differenciálódó MSC-k ALP-enzimaktivitása alatt maradt (7. és 8. ábra).

KALCIUMKIMUTATÁS

Mind a fiatal, mind a beagle kutyákból származó MSC-k esetében a 3. héten detektáltunk jelentősebb kalciumkiválást mind az alizarinvörös festéssel, mind

8. ÁBRA. Alkalikus foszfatáz enzimaktivitásának mérése három fiatal (kék oszlop) és egy öreg kutya (vörös oszlop) csontirányba differenciáltatott MSC-tenyészetének egy nap, egy hét és három hét után

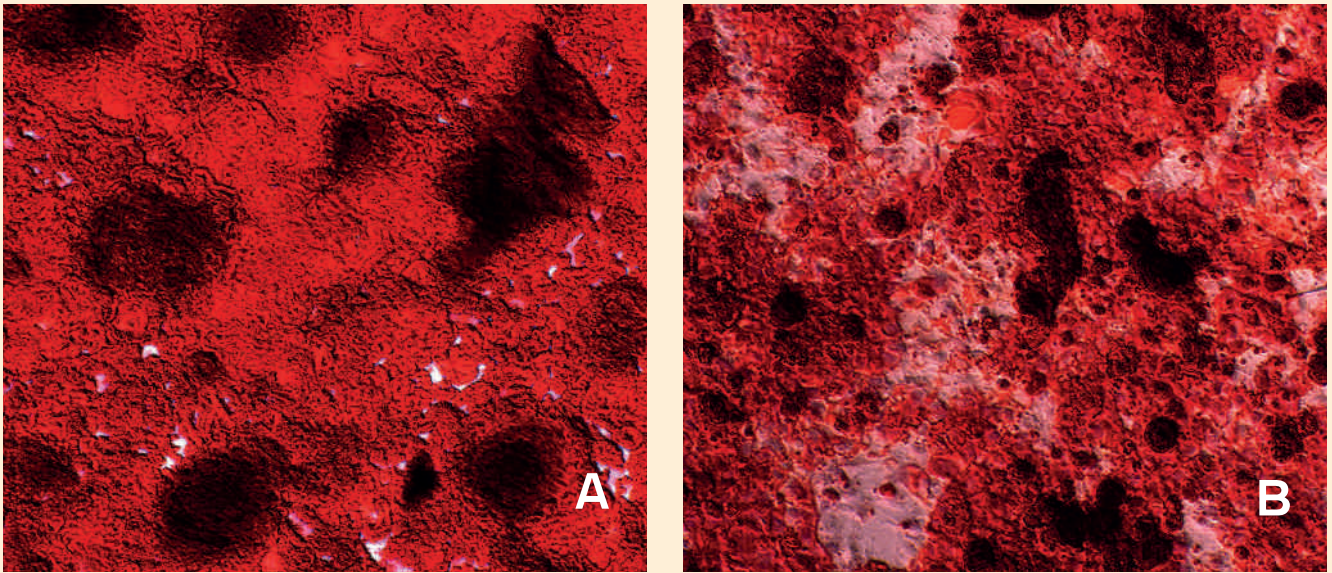
FIGURE 8. Measurement of ALP enzyme activity of MSCs from three young (blue columns) and one old (red columns) canines one day, one week and three weeks osteogenic post-differentiation



9. ÁBRA. Fiatal kutya zsírszövetéből származó MSC-tenyészet differenciáltatása csont irányba.

A kalcium lerakódás kimutatása Alizarin-vörös festéssel egy nap (A) (40×), egy hét (B) (40×) és három hét (C) (100×) elteltével

FIGURE 9. Osteogenic induction of MSCs from a young dog with Alizarin Red staining after one day (A) (40×), one week (B) (40×) and three weeks (C) (100×) post-differentiation

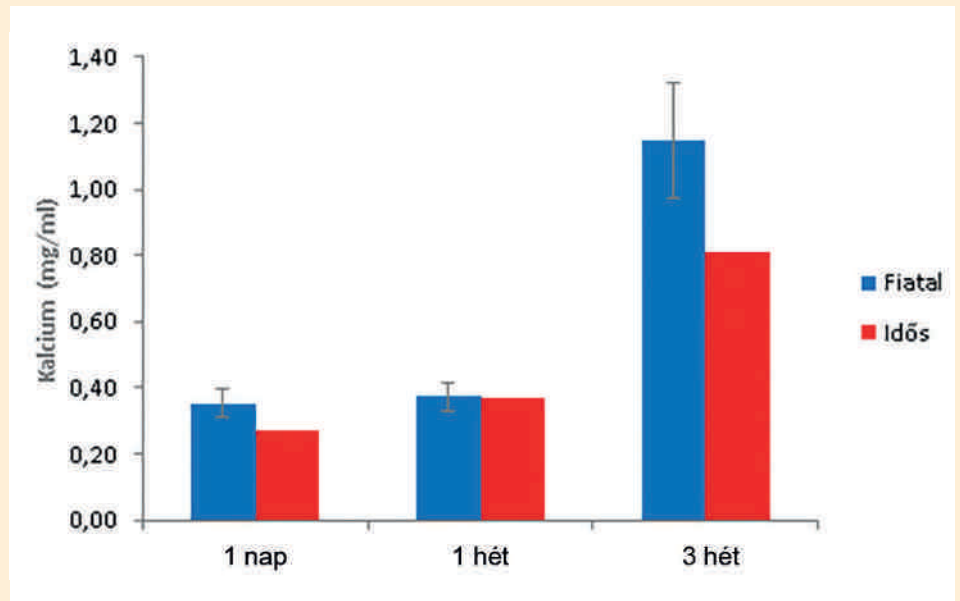


10. ÁBRA. Alizarinvörös festés: fiatal kutyából (A) és öreg kutyából (B) származó MSC-k három hét csontirányú differenciáltság után (100×)

FIGURE 10. Alizarin Red staining of MSCs prepared from young (A) and old (B) dogs after three weeks of osteogenic differentiation (100×)

11. ÁBRA. Kalciumkiválás mérése három fiatal (kék oszlopok) és egy öreg kutyából (vörös oszlopok) származó, csontirányba differenciált MSC-ken egy nap, egy hét és három hét után

FIGURE 11. Quantitative measurement of the calcium content of osteogenically induced MSCs from three young (blue columns) and one old dogs (red columns) after one day, one week and three weeks



pedig a kalcium mennyiségi mérésével. Az osteogen tápfolyadékkal kezelt sejtenyészetben az első napon (9. ábra A), ill. az első héten (9. ábra B) az alizarinvörös festés sötétvörösre színezte a tenyésztőedényben letapadt sejteket. A kalciumlerakódásra utaló, csontirányú differenciálódást jelző élénk narancsvörös elszíneződést azonban csak a 3. héten sikerült kimutatnunk (9. ábra C). A fiatalabb kutyák esetében valamivel nagyobb mértékű kalciumfelhalmozódást sikerült kimutatnunk a 3. héten, bár ez statisztikailag nem értékelhető a kis mintaszám és az ismétlések hiánya miatt (10. és 11. ábra).

MEGVITATÁS

Megfigyeléseink igazolták, hogy mind a fiatal, mind az idősebb állatok zsírszöveve alkalmas MSC-k kinyerésére. A fiatal és idős állatokból kinyert letapadó sejtek egyaránt mutatták az MSC-kre jellemző fibroblastszerű sejtalakot, képesek voltak zsír-, porc- és csontirányba differenciálódni, valamint a sejteken kimutattuk a CD44 és CD90 antigének jelenlétét. Egyes irodalmi adatok azt mutatják, hogy idős emberekből izolált csontvelő-eredetű MSC-knél nem sikerült fibroblastszerű sejteket kinyerni (4). Saját megfigyeléseink azt mutatják, hogy az öreg kutyadonortól származó zsírereditű MSC-k az első 3 átoltás során klasszikus fibroblastszerű morfológiát mutatnak, amelyek a passzálások során egyre inkább elvesztik alakjukat. A mikroszkópos megfigyelések azt mutatták, hogy a passzálások során mind a fiatal, mind az idősebb donortól vett MSC-k egyre laposabbak és nagyobbak lesznek, amely az *in vitro* sejtöregedés egyik jele (34). Megfigyeléseink arra engednek következtetni, hogy az MSC-k *in vitro* proliferációs képessége jelentősen függ a tenyésztési körülményektől, a passzálások számától, jóval inkább, mint a donorok életkorától. A tenyésztési feltételek optimalizálásával, a tenyésztőtáphoz adagolt bFGF hozzáadásával mind a fiatal, mind az idősebb donoroktól származó sejtek hosszabb időn keresztül megőrizték fibroblastszerű sejtalakjukat és proliferációs képességüket, így *in vitro* tovább fenntarthatóak voltak. A fagyasztás után tenyésztett sejtek hasonlóan viselkedtek, mint a frissen izolált és szaporított sejtek.

A csontirányú differenciálódás bizonyítására többfajta módszert is alkalmaztunk; az immuncitokémiai kimutatás során a RUNX2 fehérje – ami a csontosodási folyamatok egyik fő transzkripciósfaktora – kezdetben főként a citoplazmában, a 3. héten főként a sejtmagban és körülötte lokalizálódik. Mindez egybevág azzal a megfigyeléssel, hogy a kalciumkiválás szintén a 3. héten a legintenzívebb, amit az alizarinvörös festési eljárással és a kalciumkoncentráció mérésével is bizonyítottunk. Már az első héttől kezdve emelkedett ALP-aktivitást észleltünk mind az enzimatis méréssel, mind a hisztokémiai eljárással, ami a harmadik hétre további növekedést mutatott.

Az általunk vizsgált három fiatal és egy öreg kutya esetében az alkalmazott módszerek alkalmasak a különféle sejttípusok létrehozására. Különbség mutatkozik a csontosodási képességben a fiatal kutyák előnyére, azonban hangsúlyozni szeretnénk, hogy ez a kisszámú minta és az ismétlések hiánya miatt statisztikailag nem kiértékelhető és általános következtetések nem vonhatóak le belőle.

Eddigi eredményeink alapján úgy gondoljuk, hogy idősebb kutyákból is érdemes lehet MSC-sejteket izolálni és azt autológ terápiákban felhasználni. Olyan kutyák esetében azonban, amelyeknél a zsírszövet levétele akadályozott, vagy MSC-i korlátozott csontosodási kapacitással rendelkeznek, megfontolandó egy esetleges allogén transzplantáció lehetősége. Kezdeti eredményeink megerősítése érdekében tervezzük a kísérletbe további kutyák bevonásával a mintavételek számát megnövelni a statisztikailag releváns mintaszám eléréséhez. Továbbá kísérleteket folytatunk az MSC-k biokompatibilis és biodegradábilis hordozón (ún. scaffoldon) *in vitro* és *in vivo* csontirányú differenciáltatásával. Mindez lehetővé tenné az MSC terápiai alkalmazását olyan állatorvosi betegek részére, amelyek traumás behatás vagy sebészeti beavatkozás után igénylik nagyobb szövethiányos területek rekonstrukcióját.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetünket kívánjuk kifejezni a Creative Cell Kft.-nek és az Országos Vérelátó Szolgáltatnak, hogy ötleteikkel, szellemi kapacitásukkal jelentős mértékben

Az MSC-k *in vitro* proliferációs képessége jóval inkább függ a tenyésztési körülményektől, a passzálások számától, mint a donorok életkorától

A fiatalabb kutyák MSC-i jobb csontosodási képességet mutatnak, de a különbség nem volt szignifikáns

hozzájárultak e munka létrejöttéhez, valamint megosztották velünk eszközparkjukat, a tárgyi és mérési feltételeket biztosították. A mikroszkópos felvételek szintén a Creative Cell Kft. laboratóriumában készültek. Külön köszönet a sok segítségért BAKKI ATTILÁNÉNAK és BÁTKA LÁSZLÓNÉNAK. Valamint köszönettel tartozunk a Frank Diagnosztika Kft.-nek, akik a megfelelő sejtfelületi markerek megtalálásához többfajta antitestet is biztosítottak számunkra. A dolgozat alapjául szolgáló kísérleteket több hazai (KMOP-1.1.1-08/1-2008-0017 és KMOP-1.1.1-09/1-2009-0056, GOP-1.1.1-09/1-2010-0107) és nemzetközi pályázat (IAEA-CRP, EMIL NoE) támogatásával végeztük, amiért ezúton is köszönetünket fejezzük ki.

IRODALOM

Az irodalmi hivatkozásokat lásd cikkünk 1. részében (MÁL 2016. június).

RENDEZVÉNY

A Magyar Zoonózis Társaság és a Nemzeti Élelmiszerlánc-Biztonsági Hivatal Budapesten május 23-án közösen rendezte a **Rudnai-Kemenes Tudományos Ülését**.

Az ülés fő témái „A migráció egészségügyi veszélyei”, valamint „A szúnyogok által terjesztett betegségek a klímaváltozásban”.

DR. MELLES MÁRTA főigazgató, az MZT elnökének megnyitója után, az első témakörben:

- A migráció zoonotikus veszélyei (TUBOLY SÁNDOR),
- A más földrészekon felkerekedő embertömegek átvonulásának parazitológiai kockázatai (MERÉNYI LÁSZLÓ),
- Tularaemiától botulizmusig (MÉSZÁROS ENDRE)
- Tularaemia és botulizmus: járványügyi információk (KRISZTALOVICS KATALIN)

című előadások szerepeltek.

A második részben:

- A Zika-vírussal kapcsolatos legújabb információk (BOGNÁR ZSÓFIA).
- A magyarországi invazív szúnyog-surveillance rendszer elindítása és első eredményei (SZTIKLER JÁNOS, ZÖLDI VIKTOR)

című előadások hangzottak el.

Az ülésen mintegy 200 fő vett részt. A tudományos ülést élénk vita követte és a résztvevők újfent hangsúlyozták a humán és az állat-egészségügyi szolgálat együttműködésének fontosságát a zoonózisok megelőzésében és felszámolásában.

Budapest 2016. jún. 9.

Korzenszky Emőd dr.
Tuboly Sándor dr.

további információk:
www.zoonozistarsasag.hu

A case of collision mixed skin tumour with hepatoid-gland adenoma and malignant melanoma components in a dog

Tilinger István¹
Jakab Csaba^{2*}

I. Tilinger¹
Cs. Jakab^{2*}

1. Magánállatorvos, szakdolgozatos

2. SZIE ÁOTK Patológiai Tanszék
1078 Budapest, István u. 2.

* e-mail: jakab.csaba@aotk.szie.hu

Hepatoid-sejtes adenoma és malignus melanoma komponensű kollíziós vegyes bőrdaganat kutyában

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők a közleményben egy 11 éves jack russel terrier szuka kutya perianalis bőrterületéről műtétilag eltávolított, 0,7 × 0,6 mm átmérőjű, rosszindulatú, kollíziós vegyes bőrtumorának kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálatát írták le. Az ép szövetben kimetszett, összeolvadásos vegyes bőrdaganat komponensei: (1) melaninpigment-gazdag malignus melanoma, intra- és peritumoralis érbetörés jelei nélkül és (2) jóindulatú, a perianalis mirigyből kiinduló adenoma volt. A kollíziós tumor proximalis, kb. 60%-nyi melanoma része Melan-A-pozitivitást, vimentin-, α -SMA- (Simaizom-actin), pancytokeratin-, claudin-5- és claudin-7-negativitást mutatott. A Ki-67-proliferációs indexe 38–39%-nak bizonyult. A kollíziós tumor distalis, kb. 40%-nyi perianalis mirigy adenoma részének parenchymasejtjei claudin-5- és claudin-7 -pozitivitást, vimentin-, α -SMA-, Melan-A- és pancytokeratin-negativitást mutattak. A tumor Ki-67-proliferációs indexe 0,38%-nak bizonyult. A szerzők az esetismertetéssel a háziállatokban ritkán előforduló kollíziós vegyes bőrdaganatokra szeretnék felhívni a figyelmet.

SUMMARY

The authors described the histopathological, and immunohistochemical investigations of the malignant collision mixed skin tumour, that has been removed surgically from the perianal region of a 11-year-old female Jack Russel Terrier. The tumour was 0.7 × 0.6 mm in diameters, and consisted: (1) melanin-rich malignant melanoma without any signs of lymphovascular invasion, and (2) benign perianal gland adenoma. In the anatomically uniform tumour proximal, 60% (4 mm in diameter) of the total parenchyma was formed by a melanoma, and distal, about 40% of it (3 mm in diameter) was a hepatoid-gland adenoma. During the immunohistochemical investigations the melanoma showed Melan-A-immunoreactivity, and vimentin-, α -SMA-, pancytokeratin-, claudin-5- and claudin-7-negativities with 38–39% Ki-67 labelling index. The hepatoid-gland adenoma was positive for claudin-5- and claudin-7, and showed vimentin-, α -SMA-, Melan-A-, pancytokeratin-negativities with 0.38% Ki-67 labelling index. In conclusion, this is the first report of a primary cutaneous malignant biphasic collision mixed tumour formed by malignant melanoma, and perianal gland adenoma.

KISÁLLAT

A vegyes daganatok a tumoros elváltozások ritkán észlelhető formái, amelyek parenchymája két- vagy többféle szövettani típusú összetevőből épül fel. Ezeket az elváltozásokat nevezik összetett, kevert, több fázisú, ill. hibrid tumoroknak is (15, 16, 19, 25, 26).

A vegyes daganatok három típusa: a kollíziós, a kombinációs és a kompozíciós

Három típusát különítik el: a kollíziós-, a kombinációs- és a kompozíciós vegyes tumorokat. A daganatok pontos azonosításához nélkülözhetetlen a haematoxylin- és eosin-festett, ill. szükség esetén az immunhisztokémiával kiegészített fénymikroszkópos vizsgálat (1, 14, 16, 22, 27, 28). Ez idáig, az állatorvosi szakirodalomban kisszámú esetet közöltek a kutyákban észlelt kollíziós vegyes tumorokról (13, 17, 18).

Jelen közleményünkben egy kutyából származó, kórszövettanilag diagnosztizált, melanoma és perianalis mirigy adenoma komponensű, kollíziós vegyes tumor esetét mutatjuk be.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A mikroszkópos vizsgálatokhoz melaninkivonást alkalmaztak

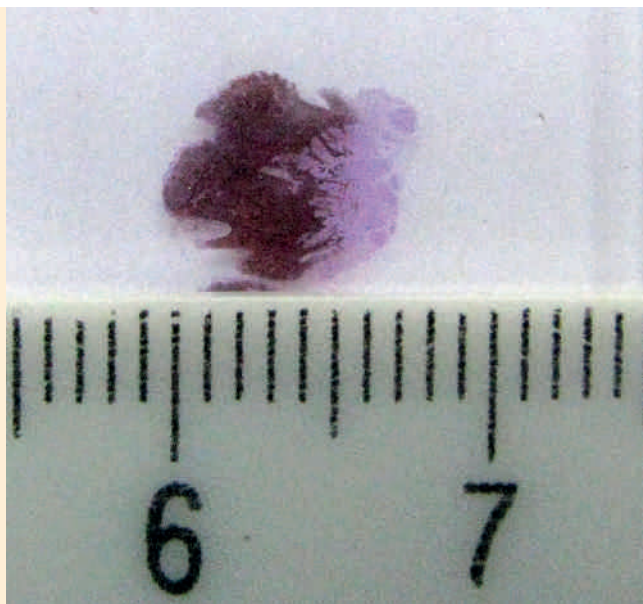
Egy 11 éves jack russel terrier szuka kutya perianalis bőrterületéről műtétilag eltávolított bőrbioptátum érkezett 2015-ben a SZIE ÁOTK Patológiai Tanszékére, kórszövettani vizsgálat céljából. A 8%-os pufferolt formaldehidoldatban konzervált lágyszöveti mintából annak előkészítése és paraffinos beágyazása után 3–4 µm vastagságú metszeteket készítettünk, amelyeket hematoxilinnel és eozinnal festettünk meg. A metszeteket Nikon Optiphot-2 típusú fénymikroszkóppal vizsgáltuk. A daganat melaningazdag szöveti területén a sejt, a citoplazma és a sejtmagok korrekt értékeléséhez, valamint az immunhisztokémiai reakciók kivitelezéséhez, eltávolítottuk a melaminpigmentet. Ennek során a natív metszetet 0,25 g/100 ml koncentrációjú kálium-permanganát-oldattal kezeltük 40 percen keresztül, majd desztillált vizes öblítés után 1%-os oxálsavval 5 percen keresztül. A folyamatot 10 perces csapvizes öblítés követte folyó vízben.

A *mitotikus index* meghatározásánál 10 véletlenszerűen kiválasztott, nagy nagyítású (400x-os) látómezőben észlelt, pro-, meta-, ana- és/vagy telofázisban lévő, osztódó sejtet számoltuk meg (6).

Különböző immunhisztokémiai markereket alkalmaztak a daganat összetevőinek pontos azonosításához

Az *indirekt immunhisztokémiai* vizsgálatot Ventana Discovery XT típusú immunfestő automata segítségével végeztük. Munkánk során anti-**vimentin** (monoklonális egérellenanyag, 1 : 200 hígítás, DAKO), anti-**α-smooth muscle actin** (α-SMA) (monoklonális egér, 1 : 8000 hígítás, Sigma), anti-**Melan-A** (monoklonális egér, 1 : 50 hígítás, DAKO), anti-**cytokeratin AE1-AE3** (monoklonális egér, 1 : 100 hígítás, DAKO), anti-**Ki-67** (monoklonális egér, 1 : 100 hígítás, DAKO), anti-**claudin-5** (monoklonális egér, 1 : 100 hígítás, Zymed Inc.) és anti-**claudin-7** (poliklonális nyúl, 1 : 80 hígítás, Zymed Inc.) ellenanyagokat használtunk fel. Az immunhisztokémiai reakciókat avidin-biotin-immunperoxidáz rendszerrel (DAKO LSAB2 Kit) és DAB (diamino-benzidin) kromogénnel tettük láthatóvá. A kontrasztfestés hematoxilinnel történt. A munkánk során különböző külső pozitív kontrollszöveteket használtunk: (a) kutya fibroma vimentin; (b) szarvasmarha uterus α-SMA (2); (c) kutya amelanotikus melanoma Melan-A; (d) kutya ependymoma pancytokeratin (3); (e) kutya intakt vékonybél; (f) kutya haemangiosarcoma claudin-5 (7) és (g) kutya colorectalis carcinoma claudin-7 esetén (8). A negatívkontroll-metszeteket az elsődleges antitestek kihagyásával készítettük.

A vimentin, az α-SMA, a Melan-A és a pancytokeratin ellenanyagok esetén a citoplazmatikus pozitívítást, a claudin-5- és claudin-7 esetén membránpozitívítást, valamint a Ki-67 ellenanyag esetén sejtmag-pozitívítást fogadtuk el valódi immunreaktivitásként (23).



1. ÁBRA. Makroszkópos felvétel a malignus kollíziós vegyes tumor kórszövettani metszetéről. Baloldalt a malignus melanoma, jobboldalt a perianalis mirigy adenoma komponens érzékelhető

FIGURE 1. Macroscopic picture about the histopathological slide of the malignant collision mixed tumour. At left side the malignant melanoma, and at the right side the benign perianal gland adenoma can be seen

A kétkomponensű vegyes tumor hepatoid-sejtes adenomából és malignus melanomából épült fel

Az immunhisztokémiai reakciók kiértékelése Nikon Optiphot-2 típusú fénymikroszkóp segítségével, 10 nagy nagyítású (400×), random szelektált látómezőben történt. A pozitív immunreakciót mutató daganatsejtek aránya alapján a következő scoring-rendszert alkalmaztuk: 0 (negatív) = 0–5%; 1 = 6–20%; 2 = 21–40%; 3 = 41–60%; 4 = 61–80%; 5 = 81–100% tumorsejt-pozitivitás.

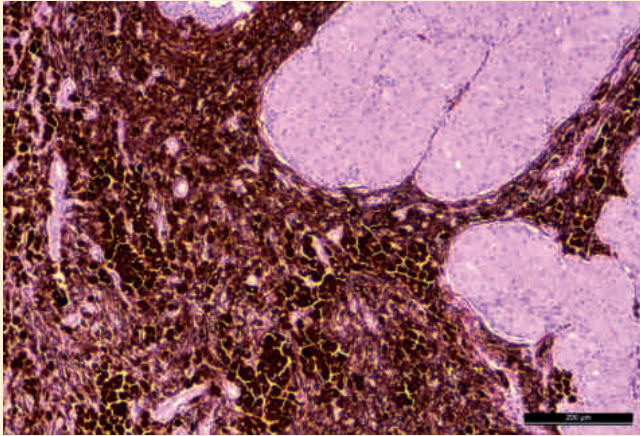
EREDMÉNYEK

A 0,7 × 0,6 cm átmérőjű minta fénymikroszkópos vizsgálata során két különböző szöveti eredetű daganatot észleltünk, amelyek fejlődésük során egybenőttek (1. ábra).

(I) Az **egyik komponens**, a kollíziós tumor distalis, kb. 40%-nyi része (3 mm átmérő) jóindulatú, *perianalis (circumanalis, hepatoid-sejtes) mirigy adenomának* bizonyult. Kórszövettanilag a májsejtekhez hasonló alakú, szögletes, egyöntetű, bőséges eozinofil citoplazmával és központi helyeződésű, nagy ovális, hólyagszerű, normochrom sejtmaggal rendelkező differenciált daganatsejtek solid sejtfészkeket, egymással anasztomizáló kötegeket alkottak. A benignus daganatszövetet a kis hyperchromatikus maggal és kevés citoplazmával rendelkező pótló sejtek rétege vette körül (2–4. ábra). A daganat pótlósejtrétegében figyeltünk meg elszórta osztódó sejteket. A hepatoidsejtes adenoma parenchymasejtjei diffúz, intenzív, lineáris claudin-5- (5. ábra) és claudin-7-membrán-pozitivitást (scoring: 5); vimentin-, α -SMA-, Melan-A- és pancytokeratin-negativitást mutattak. A kivezetőcsövek hámsejtjei gyenge, citoplazmatikus pancytokeratin-pozitivitást mutattak. A daganatban észlelhető pótlósejtek claudin-5- és claudin-7-, vimentin-, α -SMA-, Melan-A- és pancytokeratin-negativitást mutattak. A tumor Ki-67-proliferációs indexe 0,38% volt.

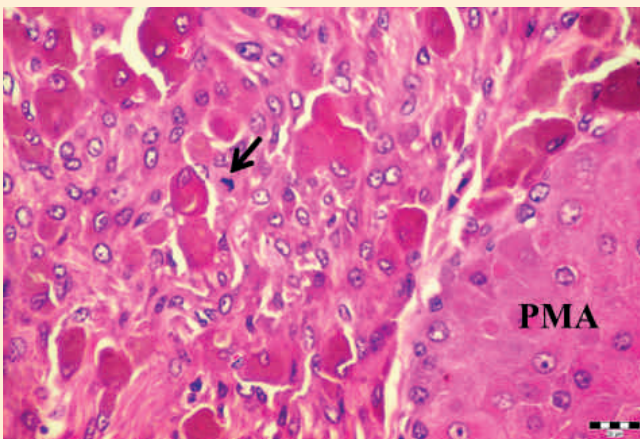
(II) A **másik komponens**, a kollíziós tumor proximalis, kb. 60%-nyi része (4 mm átmérő), pigmentgazdag malignus melanomának bizonyult. A helyileg invazív tumor kötőszövetes tokkal nem rendelkezett, beszűremítette a környezetét, ill. infiltrálta a perianalis mirigy adenoma szomszédos területét is. A melanineltávolítás után megvizsgált melanomasejtek mérsékelt anisocytosis és anisokaryosis jeleit mutatták. A hypochromaticus sejtmaggal, prominens nucleolussal rendelkező melanomasejtek vér- és nyirokerek-betörés jeleit nem mutatták. A melanoma stromája jól vascularisált, daganatindukálta mikroerekben gazdag volt, amelyekben tumorsejt-embolusokat nem észleltünk. A tumor mitotikus aktivitása 4–5 osztódó melanomasejt volt 10, véletlenszerűen kiválasztott, nagy látótérben (6). A melanomasejtek diffúz, intenzív, citoplazmatikus Melan-A-pozitivitást (scoring: 5), vimentin-, α -SMA-, pancytokeratin-, claudin-5- és claudin-7-negativitást mutattak. A Ki-67-proliferációs index 38–39%-nak bizonyult (6. ábra). Az összetett daganat stromalis, tumorasszociált myofibroblast sejtjei, az intratumoralis mikroerek mediarétegének simaizomsejtjei intenzív, citoplazmatikus α -SMA-pozitívok voltak. A sebészi szélék tumormentesek voltak.

A definitív kórszövettani diagnózis a következő volt: ép szövetben kimetszett, elsődleges malignus kollíziós vegyes bőrtumor, perianalis mirigy adenoma és malignus melanoma komponensekkel, *in toto* sebészi kimetszéssel, érbetörés jelei nélkül.



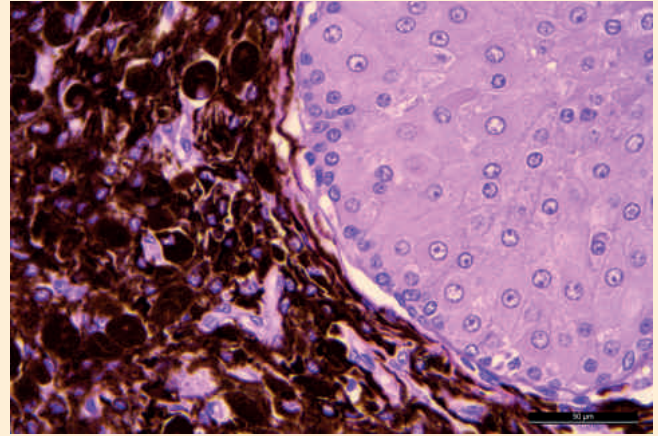
2. ÁBRA. A malignus kollíziós vegyes bőrtumor kórszövet-tani felvételének jobb oldalán a jóindulatú perianális mirigy adenoma, a középső részén és bal oldalán, a jól vascularizált, pigmentgazdag malignus melanoma érzékelhető H.-E., 100×, Bar = 200µm

FIGURE 2. At right side of the histopathological picture, from cutaneous malignant collision mixed tumour, the benign perianal gland adenoma, at the central part and left side the well vascularised malignant melanoma can be seen



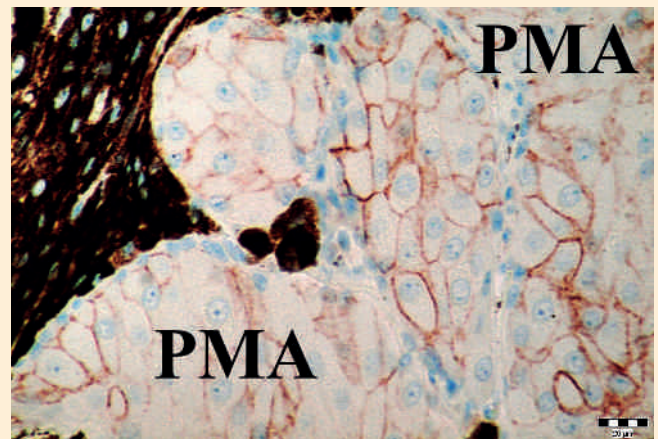
4. ÁBRA. A kálium-permanganát-oldatos melaninkivonás után készült kórszövet-tani felvételen jól érzékelhető a melanomasejtek mag- és citoplazma-szerkezete. A nyíl osztódó (metafázisos) melanoma sejtre mutat. A kép jobb alsó sarkában a perianális mirigy adenoma (PMA) látható. H.-E., 400×, Bar = 20µm

FIGURE 4. Structures of the cytoplasm and nuclei of the melanoma cells can be seen after treatment (bleaching) of the native slide with solution of potassium permanganate. Black arrow indicates a dividing melanoma cell in metaphase. At the right lower corner of the picture the perianal gland adenoma (PMA) can be seen



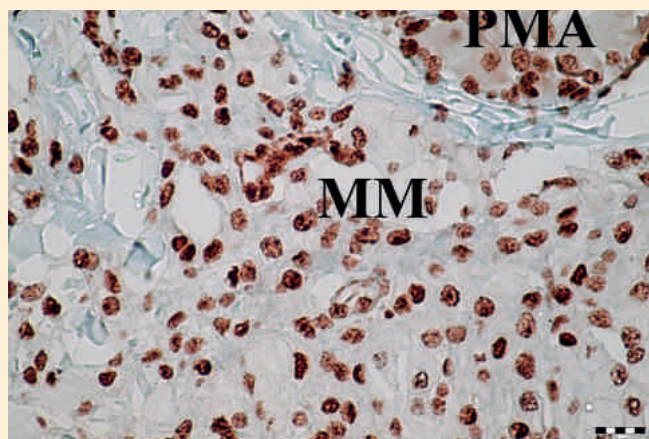
3. ÁBRA. Nagyobb nagyítású felvétel a melanoma és az adenoma komponensű kollíziós vegyes tumorról H.-E., 400×, Bar = 50µm

FIGURE 3. Higher magnification about the malignant cutaneous collision mixed tumour with melanoma and adenoma components



5. ÁBRA. Az immunhisztokémiai felvételen intenzív, lineáris, claudin-5 membrán-pozitivitás érzékelhető a kollíziós vegyes tumor perianális mirigy adenoma (PMA) sejteiben IHC., 400×, Bar=20 µm

FIGURE 5. In the immunohistochemical picture intense, linear, claudin-5-membran-positivity can be seen in the perianal gland adenoma (PMA) cells of the collision mixed tumour



6. ÁBRA. A Ki-67-proliferációs markerrel végzett immunohisztokémiai vizsgálat eredményéről készült felvétel
MM = malignus melanoma, PMA = perianalis mirigy adenoma, IHC., 400×, Bar = 20µm

FIGURE 6. Picture about the result of the immunohistochemical investigation of the Ki-67-labelling index of the skin collision mixed tumour
MM = malignant melanoma, PMA=perianal gland adenoma

A kollíziós tumorok daganatos komponensei egymástól elkülönülten, függetlenül indulnak fejlődésnek

MEGVITATÁS

A vegyes daganatok három típusa közül a **kombinációs** daganatban a parenchymát alkotó két- vagy több tumor-komponens sejtszöveti rokonságban állnak egymással, legtöbbször mesenchymalis eredetűek (pl. chondrolipoma, angolipoma, angiofibrolipoma) (9, 10, 11, 12). A **kompozíciós** vegyes tumorok különböző parenchyma-sejtszöveti rokonságban, lehetnek hám-, mesenchymalis, ill. egyéb eredetűek. A kutyák leggyakoribb benignus, ill. malignus kompozíciós vegyes daganata az emlőmirigyben észlelhető [jóindulatú esetben általában: simplex adenoma, extrasceletalis osteoma, chondroma komponensekkel, valamint rosszindulatú esetben (carcinosarcoma): infiltráló simplex emlőmirigy carcinoma és sarcoma komponensekkel] (4, 24). A teratomák a totipotens embrionális daganatok csoportjába tartoznak. Jellemzőjük, hogy mindhárom csíralemezhez tartozó szövetelemeket tartalmaznak. A sajátos biológiai felépítésük, karakterük miatt nem tartoznak a kompozíciós vegyes daganatok közé.

A **kollíziós** (összeolvadásos) vegyes daganatok olyan összetett szövettani szerkezetű tumorok, amelyekre jellemző, hogy a különböző szövettani eredetű, daganatos alkotóelemei egymástól elkülönülten, függetlenül

indulnak fejlődésnek, azonban a klinikai észlelésük időpontjában, összetételük és egybeolvadásuk miatt, anatómiailag egyetlen daganatnak tűnnek. Valamennyi típusú vegyes daganat kórszövettani vizsgálata elengedhetetlen a daganatos alkotóelemek pontos azonosításában.

Az eltérő szövettani eredetű daganatokból felépülő, összeolvadásos vagy kollíziós vegyes daganatok kutyákban leggyakrabban a herében fordulnak elő. A leggyakoribb vegyes heretumor-komponensek: a seminoma és a Sertoli-sejtes tumor képezi (17, 21). Kutyában, bőrben kialakult kollíziós vegyes daganatról ez idáig kisszámú állatorvosi szakirodalmi közlemény jelent meg. LÉGRADY és mtsai egy 12 éves, keverék kan kutya perianalis helyeződésű, sebészileg eltávolított, kb. 1,5 × 2,8 cm méretű bőrdaganatának kórszövettani és immunohisztokémiai vizsgálata során írtak le egy malignus, két komponensű kollíziós vegyes bőrdaganatot, amelynek malignus mesenchymalis komponense: (a) differenciált, kevert szövettani szerkezetű, cavernosus-capillaris cutan haemangiosarcoma, míg az epithelialis komponense: (b) a perianalis mirigyekből eredeztetett differenciált hepatoidsejtes carcinoma volt. Az immunohisztokémiai vizsgálatok során a perianalis kollíziós vegyes daganat mindkét neoplasticus alkotóeleme claudin-5 pozitivitást mutatott (18).

JAKAB és BALKÁ egy 13 éves, ivaros, tibeti spániel kan kutya felső ajkából származó, kb. 0,5 cm átmérőjű sebési bioptátum kórszövettani és immunohisztokémiai vizsgálata során írtak le egy malignus két komponensű kollíziós vegyes bőrdaganatot, amelynek egyik rosszindulatú, mesenchymalis komponense: (a) high grade lágyszöveti sarcoma (gigantocellularis sarcoma), a másik rosszindulatú, melanocytás komponense pedig: (b) malignus melanoma volt. A sarcoma kb. 4 mm, a melanoma kb. 1 mm átmérőjű volt az összetett tumorban. A vegyes daganatnak, ill. a komponenseinek a TMN-stádiumbeosztása: T₁N₀M₀ volt. A sarcomakomponens Ki-67-proliferációs indexe 30–31%-nak, a melanomakomponensé 20–21%-nak bizonyult. Mindkét malignus komponens vimentin-immunreaktivitást, alfa-SMA-, cytokeratin AE1-AE3 (pancytokeratin)- és

Alapvető kérdésként merül fel, hogy azonos daganatkeltő okok indukálják-e a különböző komponensek kialakulását

claudin-5-negativitást mutatott. A melanomakomponens Melan-A-pozitív volt a sarcomakomponenssel szemben (13).

ESPINOSA és mtsai egy 2 éves német juhász szuka kutya törzsének dorsalis bőrtérletéről sebészileg kimetszett, 1 cm átmérőjű szövetduzzanatának kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálata során állapított meg egy hám és egy melanocytás tumorkomponensű, jóindulatú vegyes daganatot, ún. dermalis melanocytoma-acanthoma összetett tumort. Az acanthoma komponens pancytokeratin-, a melanomakomponens S 100 protein- és vimentin-pozitivitást mutatott (5).

MUSCATELLO és mtsai egy 16 éves ivartalanított keverék szuka kutya szájüregéből származó malignus tumor mikroszkópos vizsgálata során állapítottak meg bifázisos, kétkomponensű parenchyma-összetételt. Az egyik Melan-A-pozitív, ill. cyto-keratin AE1-AE3-negatív malignus melanomának, a másik Melan-A-negatív, valamint cyto-keratin AE1-AE3-pozitív laphámrák tumorkomponensnek bizonyult (20).

Jelen esetbemutatásunk az állatorvosi szakirodalomban először írja le a perianalis mirigyből kiinduló adenoma és a malignus melanoma komponensű, kollíziós vegyes bőrtumor kialakulását kutyában. Alapvető kérdésként merül fel, hogy a két daganat kifejlődésében szerepet játszó, daganatkeltő tényezők, okok azonosak voltak-e, vagy nem? A felmerült kérdés megválaszolása további molekuláris vizsgálatokat igényel.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A munka a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (BO/00313/14/4) támogatásával valósult meg. A szerzők ezúton is köszönetet mondanak POP RENÁTA hisztotechnikusnak a metszetkészítési munkájáért.

IRODALOM

1. ABOU, ASA, S. – ANWAR, SH. et al.: Immunohistochemical analysis of CD146 expression in canine skin tumours. *Histol. Histopathol.*, 2016. 4. 453–459.
2. BIKÁDI P. – SZABÓ J. – SZABÁRA Á. – JAKAB Cs.: Alfa-simaizom-actin (α -SMA) pozitív kontrollok szarvasmarhaszövetekben. Immunhisztokémiai tanulmány. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2015. 137. 151–158.
3. CZEIBERT K. – PÁPA K. – JAKAB Cs. – KISS G. – BALOGH L. – BALKÁ Gy.: Ependymoma okozta epilepsziás rohamok és szerzett májelég-telenség egy labrador retrieverben. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2015. 137. 103–113.
4. DAMASCENO, K. A. – FERREIRA, E. et al.: Relationship between the expression of versican and EGFR, HER-2, HER-3 and CD44 in matrix-producing tumours in the canine mammary gland. *Histol. Histopathol.*, 2016. 6. 675–688.
5. ESPINOSA DE LOS MONTEROS, A. – MARTÍN DE LAS MULAS, J. et al.: Immunohistopathologic characterization of a dermal melanocytoma-acanthoma in a German Shepherd Dog. *Vet. Pathol.*, 2000. 37. 268–271.
6. GOLDSCHMIDT, M. H. – DUNSTAN, R. W. et al.: Histological classification of epithelial and melanocytic tumors of the skin of domestic animals. In: *World Health Organization International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals*. 2nd series, Vol. III. Armed Forces Institute of Pathology. Washington, DC, 1998.
7. JAKAB, Cs. – HALÁSZ, J. – KISS, A. – SCHAFF, Zs. – RUSVAI, M. – GÁLFI, P. – KULKA, J.: Claudin-5 protein is a new differential marker for histopathological differential diagnosis of canine hemangiosarcoma. *Histol. Histopathol.*, 2009. 24. 801–813.
8. JAKAB, Cs. – RUSVAI, M. – GÁLFI, P. – SZABÓ, Z. – SZABÁRA, A. – KULKA, J.: Expression of claudin-1, -3, -4, -5 and -7 proteins in low grade colorectal carcinoma of canines. *Histol. Histopathol.*, 2010. 25. 55–62.
9. JAKAB Cs. – SZENTGÁLI Zs. – PSÁDER R. – SZÁSZ A. M. – IFJ. HORVÁTH L. – HORVÁTH Á. – RUSVAI M. – GÁLFI P.: Laryngealis chondrolipoma esete kutyában. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2008. 130. 733–740.
10. JAKAB, Cs. – SZÁSZ A. M. – KULKA, J. – RUSVAI, M. – NÉMETH, T. – GÁLFI, P.: Cutaneous mast cell tumour within lipoma in a boxer. *Acta Vet. Hung.*, 2009. 57. 263–274.
11. JAKAB Cs. – NÉMETH T. – JERZSELE Á. – HORVÁTH Á. – IFJ. HORVÁTH L.: Angiolipoma diagnózisa claudin-5 marker segítségével kutyában. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2010. 132. 145–150.
12. JAKAB Cs. – MÁNDOKI M. – KUTASI P. – DUNAY MIKLÓS P. – NÉMETH T.: Garatüregi nyeles angiofibrolipoma Magyar vizslában. Esetismertetés. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2011. 133. 533–539.
13. JAKAB, Cs. – BALKÁ, Gy.: First occurrence of a malignant collision skin tumour with malignant melanoma and anaplastic sarcoma components in a dog. *Acta Vet. Hung.*, 2012. 60. 245–255.
14. KANDEFER-GOLA, M. – NOWAK, M. et al.: Useful immunohistochemical indicators in canine mast cell tumours. *Acta Vet Hung.*, 2015. 1. 49–59.
15. KARDEVÁN A.: *A háziállatok kórbonctana*. Egyetemi Tankönyv. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest, 1976. 233–234.
16. LAPIS K.: *Pathologia I. – Általános pathologia*. Egyetemi Tankönyv. Medicina. Budapest, 1989. 280–292.

17. LÉGRÁDY A. – JAKAB Cs.: Kutya kollíziós vegyes heredaganata: Onkológiai eset ismertetése és irodalmi adatok. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2010. 132. 93–100.
18. LÉGRÁDY A. – JAKAB Cs. – RUSVAI M. – BALKÁ GY. – KULKA J.: Kutya klaudin-5 pozitív perianalis kollíziós vegyes bődaganata. Onkológiai eset ismertetése. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2010. 132. 461–465.
19. MEYER, R.: Beitrag zur Verständigung über die Namengebung in den Geschwülsten. *Zentrablatt für Allgemeine Pathologie*, 1920. 30. 291–292.
20. MUSCATELLO, L. V. – AVALLONE, G. et al.: Oral Squamomelanocytic Tumour in a Dog: a Unique Biphasic Cancer. *J. Comp. Pathol.*, 2016. pii: S0021-9975(15)00343-6. doi: 10.1016/j.jcpa.2015.12.004. [Epub ahead of print]
21. PATNAIK, A. K. – MOSTOFI, F. K.: A clinicopathologic, histologic, and immunohistochemical study of mixed germ cell-stromal tumors of the testis in 16 dogs. *Vet. Pathol.*, 1993. 30. 287–295.
22. PATRÓN-BOLAÑOS, C. – ACOSTA-TORRES, L. et al.: Immunohistochemical patterns in different stromal variants of pleomorphic adenomas: literature review. *Histol. Histopathol.*, 2016. 3. 239–248.
23. PEREIRA, R. S. – SCHWEIGERT, A. et al.: Ki-67 labeling in canine perianal glands neoplasms: a novel approach for immunohistological diagnostic and prognostic. *BMC Vet. Res.*, 2013. 9:83. doi: 10.1186/1746-6148-9-83.
24. RODRIGUES, H. – CARVALHO, M. I. et al.: Clinicopathological significance of caspase-3 and Ki-67 expression in canine mammary gland tumours. *Acta Vet. Hung.*, 2016. 1. 78–89.
25. SEIFERT, G. – DONATH, K.: Hybrid tumours of salivary glands. Definition and classification of five rare cases. *Eur. J. Cancer B. Oral Oncol.*, 1996. 32. 251–259.
26. SOMARELLI, J. A. – BOSS, M. K. et al.: Carcinosarcomas: tumors in transition? *Histol. Histopathol.*, 2015. 6. 673–687.
27. THOMPSON, N. – STORR, S. et al.: Lymphovascular invasion: assessment and prognostic impact in melanoma and breast cancer. *Histol. Histopathol.*, 2015. 9. 1001–1009.
28. YE, J. X. – LIU, Y. et al.: Mast cells or not? – CD117 positive cells in esophageal leiomyoma. *Histol. Histopathol.*, 2015. 5. 581–588.
- Közlésre érk.: 2016. máj. 19.

BESZÁMOLÓ A II. BAYER DIROFILARIA NAPRÓL

Elérkezett a nap május közepén, amikor megrendezésre került a Bayer Hungária Kft. szervezésében a II. Dirofilaria Nap. 2015-ben tartották meg először ezt a rendezvényt (akkor a Kopaszi gáton), amely során megismerkedhettünk a szívférgesség kialakulásával, patomechanizmusával, valamint gyógyszeres kezelési lehetőségeivel.

A mostani konferenciát egy kellemes dunai hajókázással kötötték egybe a szervezők, aminek a hangulatát még az esős időjárás sem ronthatta el. A regisztrációt követő rövid társalgás után el is kezdődött a rendezvény.



DR. ALADICS BALÁZS megnyitó beszéde után első előadóként DR. RÓZSA LAJOS, az MTA kutatója és az Állatorvostudományi Egyetem volt tanára ismertette velünk a parazitafaunák átalakulását változó világunkban. *Panta rhei*, azaz a világon minden állandó és örökös mozgásban van: fel kell készülnünk az ezzel járó kihívásokra, többek között a klímaváltozásra és a paraziták elterjedésének változására. Ezután a gondolatébresztő előadás után hallhattuk DR. ROLAND SCHAPERT, a Bayer Állat-egészségügyi szakértőjét a dirofilariózis előfordulásáról Európában. A *D. repens* és *D. immitis* fajok összehasonlítása után ismertette a Magyarországra és környező európai országokra vonatkozó prevalenciaadatokat (FEDAD, 2014), a fertőzöttség elterjedését. Magyarországon régóta ismert a *D. repens* 18%-os előfordulása, 2007 óta pedig a *D. immitis* jelenléte is bizonyított, a klinikusok egyre gyakrabban találkoznak a szívféreg-fertőzöttséggel, már nem csupán az ország déli területein. Miután hallottunk az Advocate® nyújtotta védekezési lehetőségekről, következett DR. SRÉTER TAMÁS, a NÉBIH ÁDI Nemzeti Parazitológiai Referencia Labora-

tórium vezetőjének előadása a szívféreg terjedéséről hazánkban. Az itt hallott adatokat a 2013–2014 között vizsgált vörös rókák és a 2007 és 2015 között vizsgált aranysakálhullák periódusos prevalenciavizsgálataival, valamint a 2001 és 2015 között kórbonctani vizsgálatra beküldött kutyahullák jegyzőkönyvéből retrospektív módon határozták meg. A szívférgesség kutyákban az Alföldön már endémiás, a fertőzöttség mértéke hasonló a kutyákban és a rókákban. Gyakorlatiasabb vizekre evezve következett DR. CZUPPON BALÁZS, a Blasius Állatorvosi Rendelő vezetője. Ízelítőt kaphattunk a mindennapi praxis kihívásaiból és a diagnosztikai nehézségekből, amit néhány esetismertetés követett, felillantva a szűrési, diagnosztikai és kezelési lehetőségeket. Következő előadónk DR. BALOGH NÁNDOR volt, a Praxislab vezetője, aki folytatta az I. Dirofilaria Nap során bemutatott laboratóriumi diagnosztikai lehetőségeknek bemutatását az újdonságok és újabb tapasztalatok kiemelésével. Érdekes ismerni az eredmények mögött álló tesztek tulajdonságait, hiszen „minden a matekon múlik”, így értelmezhetjük csak megfelelően a kapott adatokat. Ezután újabb diagnosztikai kihívásokkal szembesültünk DR. MANCZUR FERENC, a Belgyógyászati Tanszék és Klinika állatorvosának előadásában, amelyben a pulmonalis hypertensio megállapításáról és differenciáldiagnózisáról esett szó. Ennek az elváltozásnak a hátterében többek között állhat a szívférgesség és tüdőférgesség is, ezekről kaptunk közelebbi képet, háttérben a képalkotó diagnosztika nyújtotta lehetőségekkel. Mi a teendő, ha már szívférges a páciensünk? Ezt tudhatuk meg, igen szemléletes videók segítségével, DR. LUIGI VENCO, az EVPC diplomatejének (European Veterinary Parasitology College) interpretálásában. A kezelési opciók egyike a sebészi eltávolítás, amely sokszor a legjobb megoldásnak bizonyul a szívféreg adultok eltávolítására. A konferencia záróelőadását DR. BAKONYI TAMÁS, a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék tanára tartotta a szúnyogok terjesztette arbovírusok európai előfordulásáról. Visszautalva DR. RÓZSA LAJOS gondolatmenetére, megtudhattuk, hogy a régebben még „egzotikus” betegségeknek számító vírusfertőzések (pl. sárgaláz, nyugat-nílusi láz, bluetongue) a vektorok európai megjelenésével már ebben a térségben is előfordulnak, valós problémát jelentenek.

A rendezvény zárásaként svédasztalos ebéd várta a vendégeket, ahol tovább folytatódhatott a kötetlen szakmai eszmecsere. Reméljük jövőre is találkozunk májusban!

Dr. Szilasi Anna

DON toxin content examination of milling byproduct generated after colour sorting procedure in terms of nutritional utilization

Kecskésné Nagy Eleonóra^{1*}
Tima Helga²
Korzenszky Péter³
Sembery Péter³

E. Kecskésné Nagy^{1*}
H. Tima²
P. Korzenszky³
P. Sembery³

1. Kecskeméti Főiskola Kertészeti
Főiskolai Kar
H-6000 Kecskemét, Erdei Ferenc tér 1.

* e-mail: nagy.nori@kfk.kefo.hu

2. Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Kar

3. SZIE, Gépészmérnöki Kar, Gödöllő

TAKARMÁNYOZÁS- TAN

Színválogatás után keletkezett malmi melléktermék DON-toxintartalmának vizsgálata takarmányként való felhasználás szempontjából

ÖSSZEFOGLALÁS

Az elmúlt években az évjárathatásnak köszönhetően az étkezési búza fuzárium-szennyezettsége és ennek következtében a nagy DON-toxin-koncentrációja gyakran gondot okozott. A DON-toxin humán- és állat-egészségügyi szempontból komoly élelmiszer-biztonsági kockázati tényező. Fontos ezért, hogy a búza malmi feldolgozása során legyenek olyan módszerek, amelyekkel a toxinszint csökkenthető. A szerzők korábbi vizsgálataikkal igazolták, hogy korszerű színválogató gép segítségével az étkezési búzatételeknek hatékonyan csökkenthető a DON-toxin-tartalma. A kérdés az, hogyan változik a folyamatban párhuzamosan keletkező melléktermék mikotoxin-tartalma, amit elsődlegesen állati takarmányként használnak fel. A szerzők az erre vonatkozó kísérleti adatok elemzését mutatják be. Az eredményekből látszik, hogy a melléktermék toxintartalma meghaladja a kiinduló búzatétel toxintartalmát. Viszont a regresszióanalízis eredménye alapján lineáris összefüggés nincs a kiindulási alapanyag, a tisztított búza és a melléktermék toxinszintje között. Vagyis a feldolgozás során rendelkezésre álló adatokból nem lehet arra következtetni, hogy a takarmányként hasznosított melléktermék DON-toxin-tartalma megfelelő lesz, avagy sem. Ezt a felhasználók figyelembe kell venni, mert komoly állat-egészségügyi vonatkozásai lehetnek.

SUMMARY

Thanks to the impact of vintage effect occurring in recent years the Fusarium contamination of wheat and consequently a high DON toxin concentration often cause problem. The DON toxin in terms of human and animal health is a serious food safety risk factor. Therefore, it is important to have methods during the wheat milling process, which reduce the level of toxin. The authors confirmed in earlier examinations, that using modern colour sorting machine the DON toxin content of wheat items can effectively be reduced. The question is, that how does the mycotoxin content of the resulting byproduct change, which is used primarily as animal feed. The authors presented an analysis of these relevant experimental data. The results show, that the toxin content of the by-product exceeds the starting wheat item's one. However, the result of the regression analysis shows that there is no correlation between the toxin contents of the starting raw material, the purified wheat and the by-product. This should be considered by the users when the resulting material is intended to utilize as feed ingredient.

A malmi technológia célja a közvetlen élelmiszer-előállítás, vagyis megfelelő minőségű alapanyagot felhasználva tészta, kenyér és még számtalan alapvető élelmiszer előállítására alkalmas liszt termelése. Mindeközben keletkeznek melléktermékek, amelyeket elsődlegesen állati takarmányként hasznosítanak. Ez azt jelenti, hogy ha közvetett úton is, de az emberi szervezettel kapcsolatba fognak kerülni ezek az anyagok is.

A takarmányként hasznosított malmi melléktermékek közvetett módon, de kapcsolatba kerülnek az emberi szervezettel

A melléktermékek termeléséhez kapcsolódó kockázatok felmérése és kezelési lehetőségeinek a megállapítása ugyanolyan fontos, mint a liszt előállításában. Ezt főként akkor kell szem előtt tartani a gyártóknak, amikor a technológiai folyamatban fejlesztést, változtatást hajtanak végre. Nem elegendő csak a fő folyamatokra koncentrálni, hanem ezzel párhuzamosan a melléktermék-előállítási folyamatra gyakorolt hatást is elemezni kell, és fenn kell tartani a jogszabályi és az élelmiszer-biztonsági egyéb követelményeknek való megfelelést.

A fenti gondolatmenetnek megfelelően a malmi búza DON-toxin-tartalmának a csökkentési lehetőségeit vizsgáló kutatómunkánknak is két aspektusa van. A kutatás elsődleges célja annak vizsgálata, hogy a feldolgozás folyamatában van-e érdemi és megbízható lehetőség a búza mikotoxin-tartalmának a csökkentésére, ha korszerű eszközöket építünk be a folyamatba. Vizsgálati eredményeink azt mutatják, hogy megfelelő válogató és felülettisztító gépek, berendezések alkalmazásával a toxinszint biztonsággal csökkenthető (5, 6). Viszont felmerül a kérdés, hogy ebben az esetben hogyan változik a toxintartalma a takarmányként is hasznosítható mellékterméknek. Ez a kutatás második aspektusa. A cikkben az erre vonatkozó adatokat mutatjuk be, mivel ennek komoly állat-egészségügyi kockázatai lehetnek. A téma kifejezetten aktuális, hiszen a 2015. évben betakarított búzában több helyen erős fuzáriumfertőzés volt, ami maga után vonhatja az egyes búzafajták nagy DON-toxin-szennyezettségét.

Az élelmiszerek mikotoxin-tartalmának csökkentésekor gondolni kell a melléktermékek szennyezettségére is

A DON-TOXIN ÁLLAT-EGÉSZSÉGÜGYI VONATKOZÁSAI

A *Fusarium*-fajok által okozott mikotoxikózis legtöbbször vegyes tünetekben jelentkezik és szaporodásbiológiai problémákat is okozhat, akár a terméketlenség kialakulását is előidézhetik. A DON-toxin által okozott fertilitáscsökkenés oka lehet a petesejtek érésének, a termékenyülés és az embriók fejlődésének gátlása. A fuzariotoxinok iránt a legérzékenyebb állatfaj a sertés és a baromfi, amelyeknél a toxinok legtöbbször az immunrendszer károsítását okozzák, ennek következményeként másodlagos megbetegedések jelentkezhetnek, amiből nagy gazdasági és termelési veszteségek jelenhetnek meg (3). A trichotecén típusú toxinok (deoxivalenol [DON], T-2, HT-2, diacetoxyscirpenol [DAS], nivalenol [NIV]) eddig ismert káros hatásai lehetnek: gyomor-bélrendszeri zavarok (hasmenés, hányás), immunszuppresszív hatás, idegrendszeri elváltozások indukálása, dermatotoxikus hatások, módosíthatják a mellékvese működését, valamint befolyásolják a szaporítószervek működését (7, 10). Sejtszinten vizsgálva gátolják a DNS- és RNS-szintézist, károsan befolyásolják a membrántranszport-folyamatokat (aminosavak, glükóz, Ca-K csatorna), valamint a vér és nyiroksejtekben kimutatták apoptózist indukáló hatásukat (2, 7). A heveny deoxivalenol-toxikózist – amely hányingert, hányást, szédülést, fejfájást, hasi fájdalmat és lázat is okozhat – nehezen különíthetjük el bármely enteropatogén baktérium vagy toxinja okozta megbetegedésektől. Nagyon nehéz feladat a toxinfelvétel és az ok-okozati összefüggés bizonyítása (7). A mikotoxinok károsító hatásait azonban számos külső és belső tényező is befolyásolhatja, ezek lehetnek: kumulálódás, koncentráció, toxinok interakciói, szinergizmusa, addicionáló hatásuk, a toxinhatás időtartama, egyedi érzékenység, egészségi állapot, táplálékanyag, stresszhelyzet.

A *Fusarium*-fajok által okozott mikotoxikózis leginkább szaporodásbiológiai zavarokat és immunszuppressziót okoznak

A BÚZA MIKOTOXIN-KONCENTRÁCIÓJÁT MEGHATÁROZÓ TÉNYEZŐK

A *Fusarium*-fajok leggyakrabban a gabonaféléket fertőzik meg, és az általuk termelt egyik gyakori mikotoxin a DON

A búza virágzásakor, ill. a betakarítás időszakában bekövetkezett csapadékos időjárás jelentősebb fertőzöttséget és nagyobb toxinszinteket eredményez

A *Fusarium*-fajok számos haszonnövényen élőködhetnek. Leggyakrabban a gabonaféléket fertőzik meg. Így jelentős gazdasági kárt okozhatnak a növénytermesztésben és az állattenyésztésben egyaránt, de ezek eredményeként a humán egészségügyi következményük is számottevő lehet (8, 11). A fuzariotoxinok egyik gyakran előforduló képviselője a deoxinivalenol vagy vomitoxin, még ismertebb nevén DON-toxin. MESTERHÁZY szerint a búzában ez a toxin fordul elő leggyakrabban. Mivel e mikotoxin a gabonafélékben és a feldolgozott gabonatermékekben egyaránt jelen lehet, így élelmiszer-biztonsági szempontból jelentősnek mondható (8).

A fuzáriumfertőzés megjelenésében és a gabonák toxintartalmának alakulásában kiemelt szerepe van az időjárási tényezőknek. A gomba fertőzéséhez a csapadékos, párás időjárás a kedvező. A búza virágzásakor, ill. a betakarítás időszakában bekövetkezett csapadékos időjárás nagyobb toxinszintet eredményez. A fuzáriumfertőzés mértéke és jellege attól függ, hogy mely fenofázisban támadja meg a búzát a gomba, azaz melyik fejlődési fázisban kedvezőek a környezeti feltételek annak szaporodásához. Ez határozza meg, hogy a gombafertőzés a szemtermésnek a maghéját, vagy pedig a tápszövetét érinti. A fertőzés jellegétől függ az, hogy a búzaszem színe, sűrűsége eltér-e a normálistól, ami viszont a fertőzött, nagyobb toxintartalmú szemek kiválogatásának a lehetőségét vagy a toxinszintjének csökkentésére alkalmazott módszer kiválasztását határozza meg.

VERES kísérleti eredményei egyértelműen alátámasztják az előző bekezdésben leírt folyamatot. A fertőzött búzatételek vizsgálata során kimutatta, hogy a szem külső és belső fertőzöttsége között nincs szoros korreláció, vagyis azok egymástól független jelenségek következtében alakulnak ki. Ezen túlmenően megállapította, hogy az általa vizsgált tételben a külső és a belső fertőzöttség mértéke és a búza toxintartalma között nem állt fenn egyenes arányosság (13). Mindez azt igazolja, hogy egy hagyományos, konvencionális tisztítási, válogatási eljárással nem lehet megbízhatóan és hatékonyan csökkenteni a gabonátétel toxinkoncentrációját, ehhez korszerű berendezések alkalmazására van szükség.

A TAKARMÁNYOZÁSI ALAPANYAGOK ÉS TAKARMÁNYKEVERÉKEK TOXINTARTALMÁRA VONATKOZÓ ADATOK

A mikotoxinok az élelmiszerláncban gyakran fordulnak elő, és az előfordulás egyik forrása a takarmányozás lehet

A mikotoxinok az élelmiszerláncban gyakran fordulnak elő, és az előfordulás egyik forrása a takarmányozás lehet (9). A mikotoxinokkal kapcsolatos feladatok (megelőzés, szennyezettségi mértékek csökkentésének lehetőségei) multidiszciplináris összefogást kíván (6). A deoxinivalenol (DON) toxin tekintetében, állati takarmányozásra az Európai Unióban a szakirodalom szerint becslések szerint 5–10 között van azon országok száma, ahol bevezettek valamilyen szabályozást (köztük Magyarországon is) (1). Míg csak Észak-Amerikában található a DON-toxinra (és az aflatoxin B₁-re) teljes körű szabályozás, addig a világ többi országában, általánosságban kizárólag az aflatoxin B₁ szabályozott, a többi toxin tekintetében csak néhány országban léteznek határértékek, ill. irányértékek (1, 14). Az Európai Unió által meghatározott takarmányozási irányértékeket a 2006/576/EK ajánlás tartalmazza, amelyben a takarmányozásra használt alapanyagok is szerepelnek (15).

Deoxinivalenol-toxinra vonatkozó mérési adatokat hazánkban a NÉBIH közölt takarmányozási alapanyagok és takarmánykeverékek tekintetében. Míg az alapanyagok tekintetében 2003-ban, DON-toxinra a 222 vizsgált minta 10,4%-a volt 0,040–0,100 mg/kg koncentrációs tartományban, addig 2008-ban ez a szám már

A DON-toxin jelző értékű lehet más toxinok jelenlétére vonatkozóan

16,1% volt 118 megvizsgált minta esetében. Amennyiben a 2004-es (94 minta) és a 2008-as év (118 minta) mérési adatait vetjük össze, akkor azt láthatjuk, hogy 0,040 mg/kg alatti tartományban a minták 73,4%-a 50%-ra csökkent, ami szintén a koncentrációs értékek növekedését jelzi. 2,000 mg/kg koncentráció felett 2007-et (144 minta) és 2008-at (118 minta) összehasonlítva a vizsgált minták százalékos eloszlása 4,2-ről 6,8%-ra nőtt. Takarmánykeverékek mérési eredményeit elemezve 0,040 mg/kg alatti DON-koncentrációs tartományban 2004-ben a 92 vizsgált minta 63%-a volt megtalálható, viszont 2008-ban már csak 25,5% 1449 megvizsgált tápminta esetében. Két év adatait összehasonlítva (2003-ban 165 mintát és 2008-ban 1449 mintát) 0,040-0,100 mg/kg mérési tartományban a százalékos megoszlás 10,3-ről 32%-ra nőtt. 2,000 mg/kg feletti koncentrációs értékek megoszlása szerint 2003-ban 0% (165 minta), 2006-ban 6,4% (94 minta) volt (1). Az összes eredményt, valamint korábbi kutatásokat is értékelve megállapítható, hogy a deoxinivalenol toxint megkülönböztetett figyelem illeti, mert jelző értékű lehet más toxinok jelenlétére vonatkozóan (pl. zearalenon és T-2). A DON-toxin stabilabb a többi trichotecénvázis mikotoxinhoz képest (T-2, HT-2, DAS) ezért is tekinthető markernek.

SAJÁT VIZSGÁLATOK

A kutatás fő vizsgálati vonala az, hogy a malmi búza DON-toxin-szennyezettségét lehet-e csökkenteni a feldolgozás során, amennyiben megfelelő és korszerű gépeket építenek be a folyamatba.

A kísérleteink egyik ágában vizsgáltuk azt, hogy a búzatételek színválogatásával elérhető-e pozitív eredmény. Ehhez a Sortex Z+ színválogató gépen végeztünk halmaztisztítást (1. ábra), majd a tisztítás előtt és után mértük meg a minták DON-toxin-tartalmát.

A kísérletek helyszíne Magyarország egyik legkorszerűbb technológiájával rendelkező malma. Az élelmiszer-biztonsági technológiai feltételek biztosítását, azaz a kockázatok csökkentését érintő kutatás esetében fontosnak tartottuk, hogy a kísérleteket termelési környezetbe állítsuk be, és a folyamat képességét tudjuk felmérni a modellkísérlet helyett. A helyszín megválasztásakor fontos szempont volt, hogy a kísérletek ellenőrzött körülmények között végrehajthatóak legyenek, a folyamat teljes mechanizmusa és annak környezete jól átlátható, feltérképezhető és mérhető legyen. Mindemellett a feltételek, a kísérleti beállítások megváltoztathatók és megismételhetők legyenek.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A kísérlet alapanyaga a durumbúza (*Triticum durum*). A kísérletbe a szakirodalomban megjelenő termesztési tapasztalatok alapján választottuk a fajt. A termesztése során megfigyelték, hogy a durumbúza a fuzáriumfertőzésre érzékenyebben reagál, mint az egyéb búzafélék (13). A fuzáriumfertőzés jellegére az évjáráthatásnak



1. ÁBRA. Sortex Z+ színválogató gép

FIGURE 1. Sortex Z+ Optical Sorter

A munka során egy színválogató gép működése során keletkező frakciók DON-tartalmát mérték durumbúza esetén

Arra keresték a választ, hogy a takarmányként hasznosított 3. frakció toxintartalmának az alakulása összefüggésbe hozható-e a kiinduló alapanyag vagy a tisztított búza toxin-koncentrációjával

van nagy szerepe, ezért a vizsgálatok tárgyát a különböző éveken betakarított búzák analízise jelenti.

Jelen dolgozatban a 2013-ban és a 2014-ben betakarított búzatételek mintáinak az eddigi kiértékelési eredményeit foglaltuk össze. A mintavételi rendet a folyamatos üzemelés miatt a technológiai lépéseknek megfelelően alakítottuk ki. A cél az volt, hogy egy búzatétel toxintartalmának a változását nyomon lehessen követni a feldolgozási folyamatban. A Sortex színválogató gépnél három mintavételi helyet alakítottunk ki. Az első mintát közvetlenül a válogatás előtt gyűjtöttük. Ez tükrözte az alapanyag kiinduló toxintartalmát. A kiértékelés során ezt 1. frakciónak neveztük el. A tisztítást követően két frakció keletkezett. A 2. frakciót a malmi búza jelentette, amelyből a technológiai folyamat végén a lisztet őrlik. A 3. frakció a kiválogatott melléktermék, ami takarmány-alapanyagként is felhasználható. Az egyes frakciók DON-toxin-tartalmát megmértük és statisztikai módszerek (regresszióanalízis) alkalmazásával kiértékeljük. A toxin-koncentráció meghatározása a Romer Labs által forgalmazott, ELISA-módszerrel működő AgraQuant Deoxynivalenol vizsgálati kittel történt.

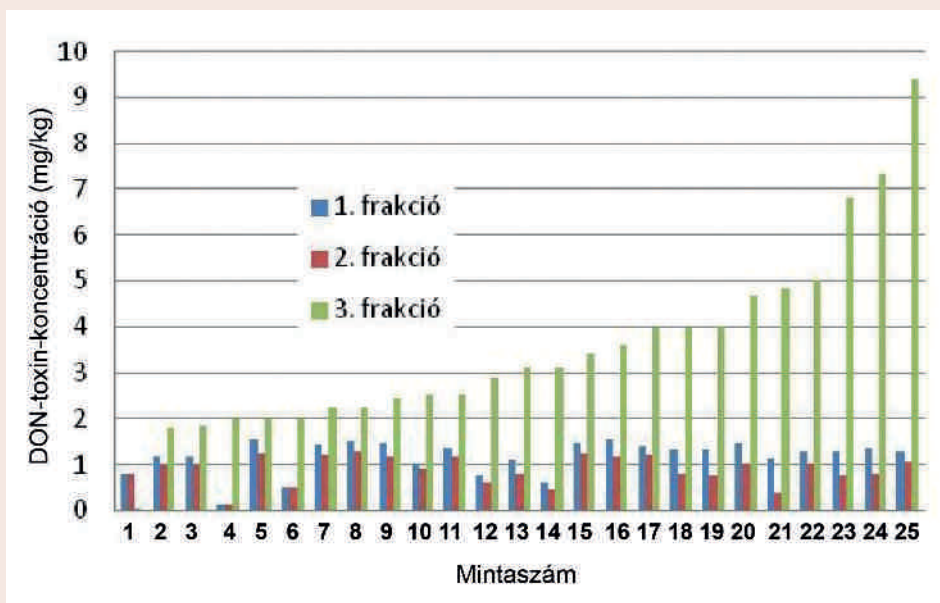
EREDMÉNYEK

Az eddigi vizsgálati eredményekből egyértelműen kiderült, hogy a Sortex Z+ színválogató gép alkalmazásával csökkenthető a búzatétel DON-toxin-tartalma. Korábban megjelent publikációinkban az erre vonatkozó elemzéseket részletesen ismertettük (5, 6). Most arra keressük a választ, hogy a takarmányként hasznosított 3. frakció toxintartalmának az alakulása összefüggésbe hozható-e a kiinduló alapanyag (1. frakció) vagy a tisztított búza (2. frakció) toxinkoncentrációjával. A kérdés megválaszolása azért lényeges, mert ha találunk összefüggést, akkor a feldolgozás során rendelkezésre álló adatok segítségével gyorsan és egyszerűen megállapítható, hogy a melléktermék takarmányként felhasználható, avagy sem. Ez fontos lépés lenne az állat-egészségügyi kockázatok megelőzésében.

Amint az a 2. és 3. ábrából egyértelműen látszik, a kiválogatás után a 3. frakcióban mért toxinszint mindig nagyobb, mint az első két frakcióban mért értékek. Ahhoz, hogy az előzőekben feltett kérdésre a választ megkapjuk,

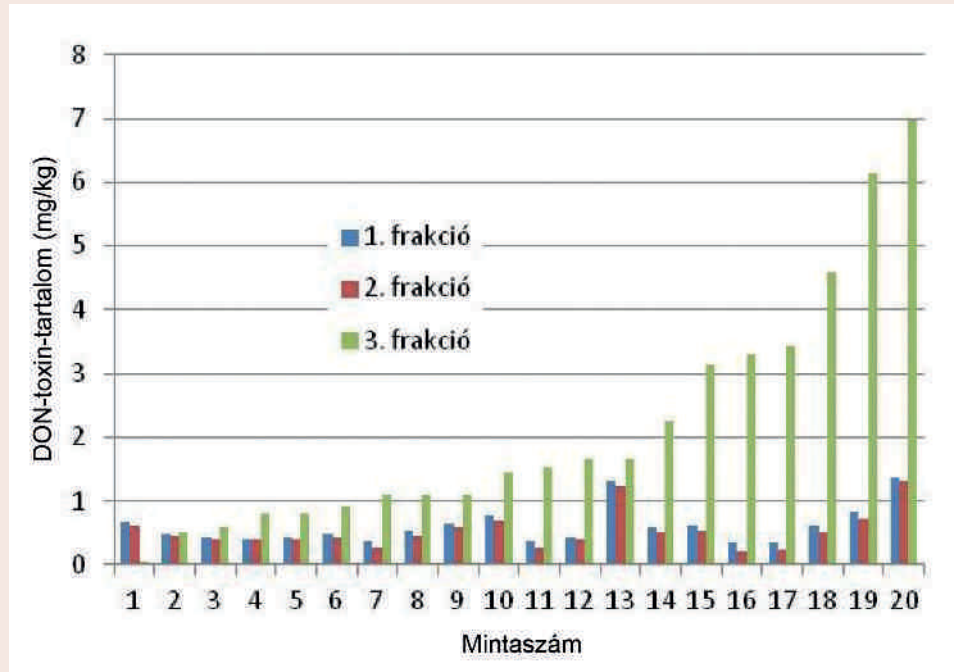
2. ÁBRA. A színválogatás során keletkezett frakciók DON-toxin-tartalma (2013. évjárat)

FIGURE 2. DON toxin content of the generated fractions during the colour sorting (2013. vintage)



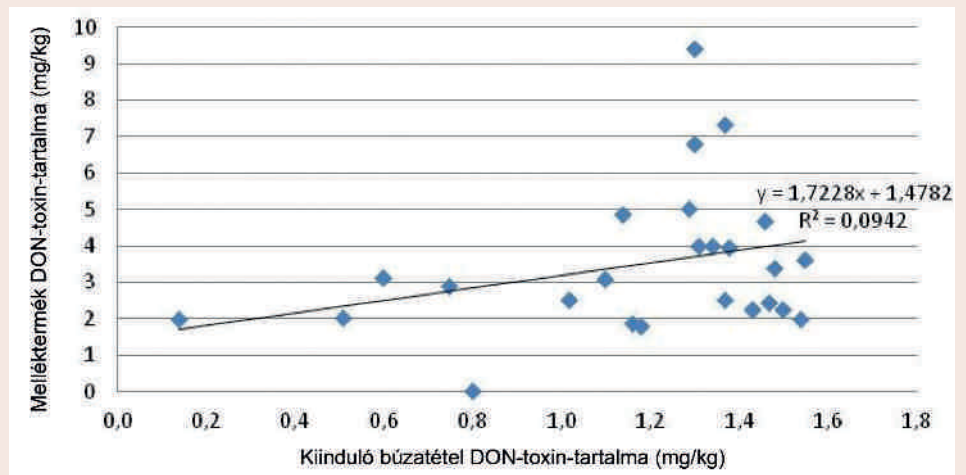
3. ÁBRA. A színválogatás során keletkezett frakciók DON-toxin-tartalma (2014. évjárat)

FIGURE 3. DON toxin content of generated fractions during the colour sorting (2014. vintage)



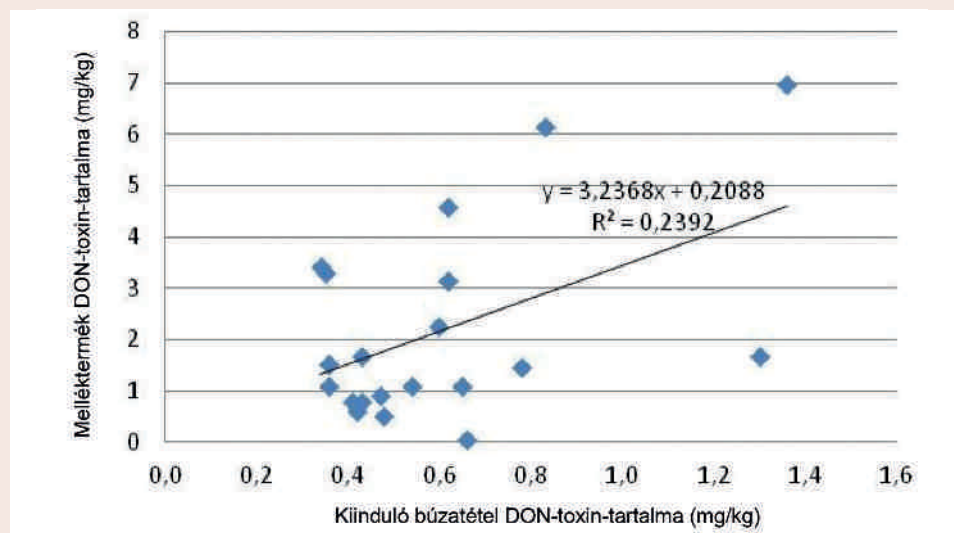
4. ÁBRA. Összefüggés-vizsgálat a színválogatás előtti (1. frakció) búzatétel és a malmi melléktermék (3. frakció) DON-toxin-tartalma között (2013. évjárat)

FIGURE 4. Correlation examination of the DON toxin content of the wheat item before colour selection (1. fraction) and the milling byproduct (3. fraction) (2013. vintage)



5. ÁBRA. Összefüggés-vizsgálat a színválogatás előtti (1. frakció) búzatétel és a malmi melléktermék (3. frakció) DON-toxin-tartalma között (2014. évjárat)

FIGURE 5. Correlation examination of the DON toxin content of the wheat item before colour selection (1. fraction) and of the milling byproduct (3. fraction) (2014. vintage)



a 2–3. ábrákban a minták sorrendjét a 3. frakció DON-toxin-tartalmának növekvő sorrendje alapján alakítottuk ki. Így egyszerűen szemléltethető, hogy az egyes frakciók koncentrációjának az alakulása mutat-e szemmel látható összefüggést. A válasz első látásra egyértelmű nem. Emeljünk ki a 2013. évben betakarított (vö. 2. ábra) és a 2014-ben betakarított (vö. 3. ábra) mintasorokból egy-egy adatként, és vessük össze azokat. A 2. ábrán például az 5. mintánál mért eredményeket a 25. minta eredményeivel, míg a 3. ábrán a 17. és a 20. minta toxin-tartalmának alakulását hasonlítsuk össze. Az előzőekben tett megállapításunk igazolódik. Sem a 2013-ban, sem a 2014-ben betakarított búzatételeknél nem látszik összefüggés a három frakció toxintartalmának alakulásában. Az eddigi okfejtésünk minden kétséget kizáró igazolásához vagy elvetéséhez a biostatistikai módszereket hívtuk segítségül. A regresszióanalízissel részletesebb elemzést végzünk. Az elvégzett összefüggésvizsgálat adhat választ arra a kérdésre, hogy a búzatétel kiinduló DON-toxin-koncentrációjából vagy a tisztított búza DON-toxin-tartalmából következtethetünk-e a melléktermékben várható toxintartalomra.

A jogszabályi előírásoknak való megfelelés érdekében a malomipari feldolgozás során a kiinduló alapanyag toxinszennyezettségének a mértékét ismerni kell ahhoz, hogy a határértéket meghaladó búzatételek ne kerüljenek őrlésre. Ezért a legegyszerűbb megoldást a melléktermék-szennyezettség mértékének a megbecslése, ez alapján pedig a továbbhasznosításának a meghatározása szempontjából az jelentené, ha a kiinduló alapanyag és a melléktermék toxinkoncentrációja között valamilyen szintű statisztikai összefüggést ki lehetne mutatni. Ennek érdekében e két adat regresszióanalízisét végeztük el elsőként mindkét évjáratra vonatkozóan (4–5. ábra).

A 4. ábra (2013. évjárat) tanúbizonysága szerint a kiinduló búzatételnek (1. frakció) csak 9%-ban van befolyása a melléktermék (3. frakció) DON-toxin-koncentrációjára, 81%-ban pedig véletlen hatásoknak köszönhető annak mértéke. Az 5. ábra azt mutatja, hogy a 2014. évjáratú búzák esetén mintegy 24%-ban függ az egyes frakció kiinduló toxintartalmától a melléktermék toxinszennyezettsége. Azt mondhatjuk mindkét esetben, hogy nincs lineáris korreláció az adatként között, így a kiinduló búza toxintartalmából nem tudunk következtetni a melléktermék toxikus hatására. Vizsgáljuk meg, hogy a 2. frakció (színválogatás utáni búza) és 3. frakció között találunk-e összefüggést (6–7. ábra).

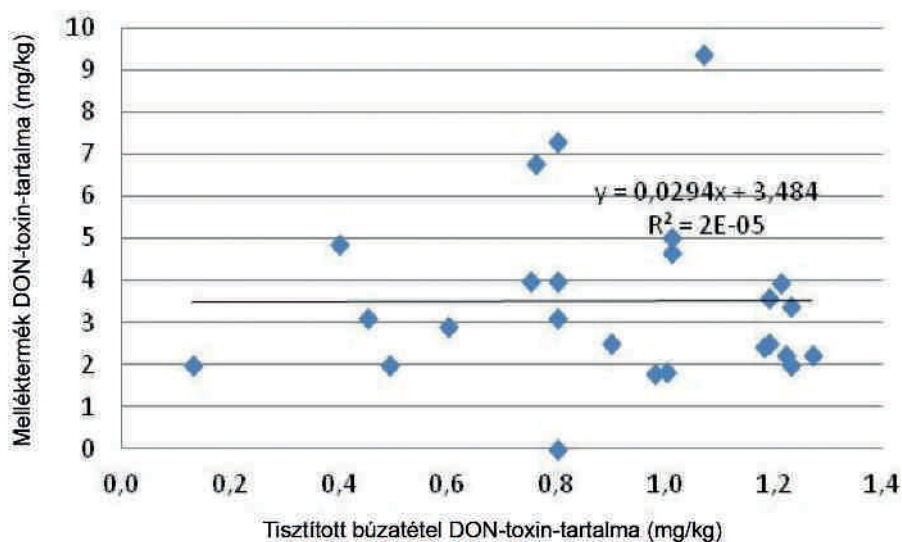
Az eredmény hasonlóan alakul, mint az első és a harmadik frakció összefüggésvizsgálata esetén. Ebben az esetben sem mutatható ki kapcsolat a mintapárok toxinkoncentrációja között. Ki kell emelnünk a 6. ábra adatait, amelyek azt mutatják, hogy egyáltalán nincs összefüggés a tisztított búza toxinkoncentrációja és a melléktermék mikotoxin-tartalma között. Tehát ezek az adatok sem adnak támpontot a melléktermékben felgyülemlett káros anyag mennyiségére.

Logikusnak tűnik, hogy az 1. frakció toxincsökkenésének a mértéke, azaz hatékonysága lehet a legnagyobb befolyásoló tényező a melléktermékre. Bár ennek meghatározása a termelési gyakorlatban nem egyszerű. Ahhoz, hogy a hatékonyságot meghatározzuk, ill. az összefüggésvizsgálatot is elkészíthessük, az 1. és a 2. frakció adataiból egy különbségmintát kell létrehozunk. Tehát mérni kell az 1. és vele párhuzamosan a 2. frakció toxintartalmát is. A különbségminta elemeit az 1. és a 2. frakció adatkéntjainak a különbségéből képezzük. A regresszióanalízis azt mutatja (8–9. ábra), hogy szintén nincs lineáris kapcsolat a különbségminta és a melléktermék károsanyag-tartalma között. Bár az eddigi összefüggésvizsgálatokhoz képest ebben az esetben a legnagyobb a regressziós együttható értéke, azonban ez még nem jelenti a két változó közötti igen szoros, függvényyszerű kapcsolat meglétét. Ebből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a melléktermék DON-toxin-tartalma nem csupán a szín szerinti válogatás hatékonyságától függ, hanem egyéb tényezők is közrejátszanak.

A regresszióanalízis alapján megállapították, hogy a kiinduló búza toxintartalmából nem lehet következtetni a melléktermékére

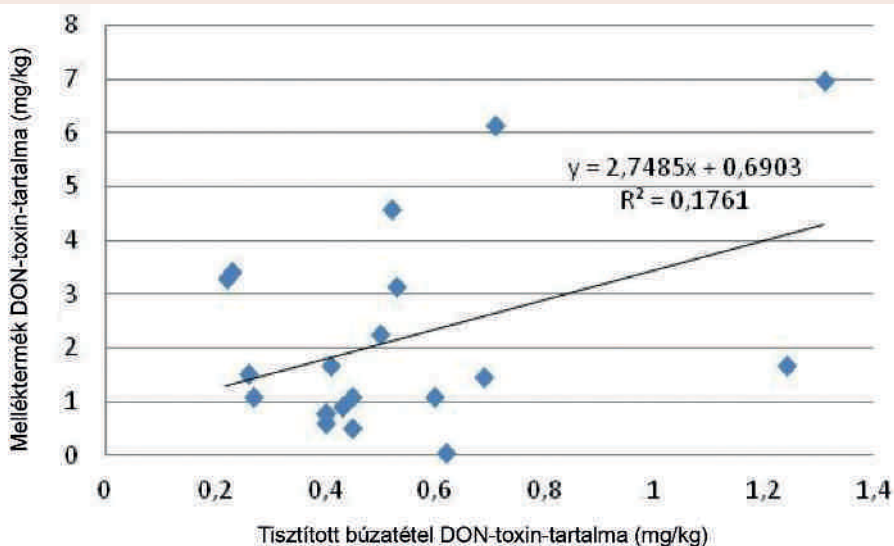
6. ÁBRA. Összefüggés-vizsgálat a színválogatás utáni (2. frakció) búzatétel és a malmi melléktermék (3. frakció) DON-toxin-tartalma között (2013. évjárat)

FIGURE 6. Correlation examination of the DON toxin content of the wheat item after colour selection (2. fraction) and of the milling byproduct



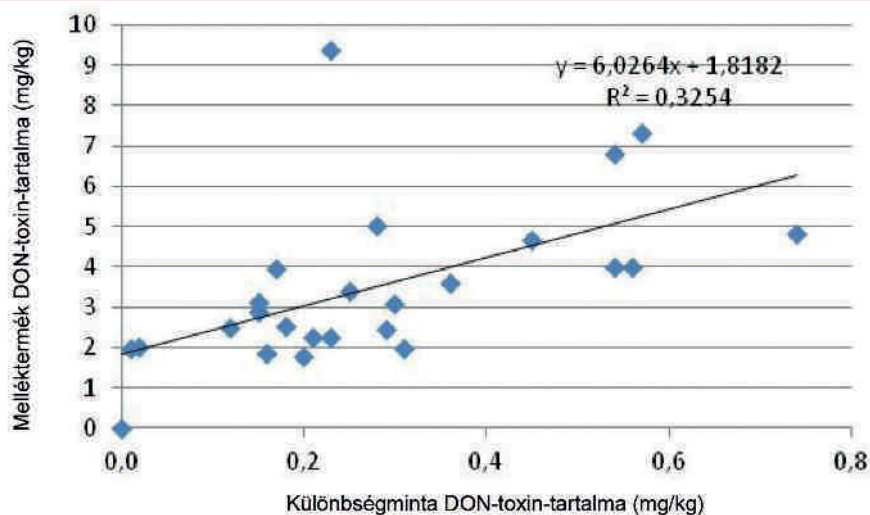
7. ÁBRA. Összefüggés-vizsgálat a színválogatás utáni (2. frakció) búzatétel és a malmi melléktermék (3. frakció) DON-toxin-tartalma között (2014. évjárat)

FIGURE 7. Correlation examination of the DON toxin content of the wheat item after colour selection (1. fraction) and of the milling byproduct (3. fraction) (2014. vintage)



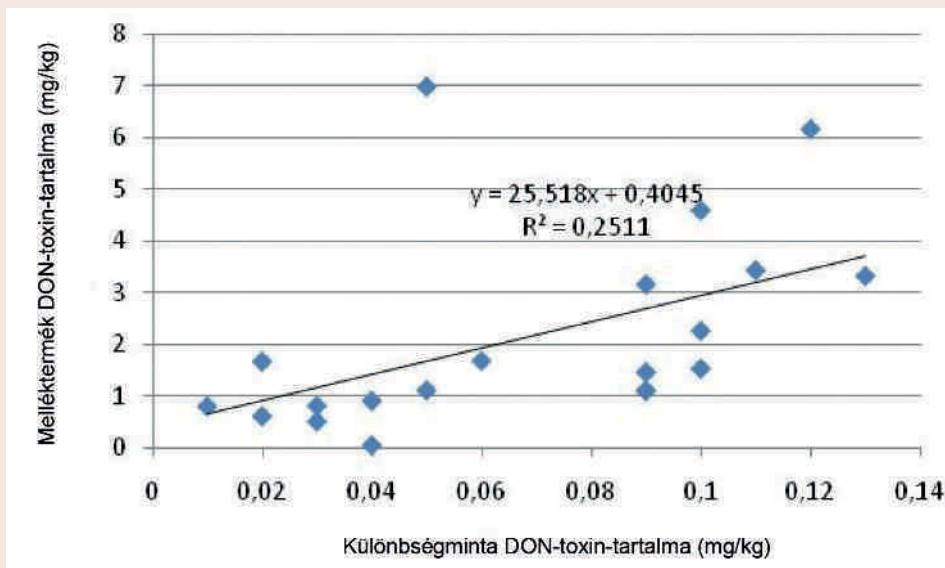
8. ÁBRA. Összefüggés-vizsgálat a különbségminta (1. és 2. frakció adatainak a különbsége) és a malmi melléktermék (3. frakció) DON-toxin-tartalma között (2013. évjárat)

FIGURE 8. Correlation examination of the DON toxin content of the difference sample (subtraction of 1. and 2. fraction) and the byproduct (3. fraction) (2013. vintage)



9. ÁBRA. Összefüggésvizsgálat a különbségminta (1. és 2. frakció adatainak a különbsége) és a malmi melléktermék (3. frakció) DON-toxin-tartalma között (2014. évjárat)

FIGURE 9. Correlation examination of the DON toxin content of the different sample (subtraction of 1. and 2. fraction) and the byproduct (3. fraction) (2014. vintage)



KÖVETKEZTETÉSEK

A különböző fertőzési jeleget mutató szemek aránya főként az évjáráthatástól és a termesztés során alkalmazott agrotechnikai gyakorlattól függ

A fenti eredményekből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az őrlésre szánt búza DON-toxin-tartalmát csökkentő szín szerinti válogatás során keletkezett malmi melléktermék toxintartalma nem mutat szoros korrelációt sem a kiinduló búza, sem a tisztított búza toxintartalmával (vö. 4–7. ábra). Ez azt jelenti, hogy előfordulhat a kis DON-értékű búzák tisztítását követően nagy károsanyag-tartalmú melléktermék, és fordítva (vö. 2–3. ábra). Ezt a tényt fontos ismerniük a malomiparban dolgozóknak, mert sok esetben a tisztítási melléktermékeket állati takarmányként értékesítik.

A melléktermék toxintartalmára a szín szerinti válogatás, azaz a tisztítás hatékonysága sem mutat egyértelmű, jól meghatározható összefüggést. Ennek az okát több tényezővel lehet magyarázni. Egyrészt a szín szerinti válogatással a virágzás korai stádiumában fertőződött szemek válogathatók ki nagy százalékban, a virágzás kései szakaszában fertőződött kalászból származó búzaszemek egy része, mivel színeltérést nem minden esetben mutatnak, tovább halad. Az, hogy a különböző fertőzési jeleget mutató szemek aránya hogyan alakul egy adott búzatételben, főként az évjáráthatástól és a termesztés során alkalmazott helyes agrotechnikai gyakorlattól függ.

A melléktermék toxintartalmára hat az is, hogy milyen egyéb alkotókat és milyen mennyiségben választja ki a Sortex Z+ válogatógép. Ettől a melléktermék össz mennyisége, ill. a benne található toxinszennyezett szemek aránya függ. Erre a feldolgozás előtti előválogatás hatékonysága mellett ismét az évjáráthatásnak van hatással. Ez utóbbi befolyásolja, hogy milyen egyéb fertőzések érték a búzát, amelyek szintén a szemek színeltéréseivel járhatnak, ill. mennyire üvegesek a szemek, és sorolhatnánk még azokat az eltéréseket, amelyek a fuzáriummal fertőzött szemek mellett a szín szerinti halmaztisztításkor kikerülnek a malmi búzából.

Összességében tehát elmondhatjuk, hogy ha e mellékterméket takarmányként szeretnék hasznosítani a gyártók, akkor az állat-egészségügyi kockázatok csökkentése érdekében ki kell dolgozniuk, ill. alkalmazniuk kell a DON-toxin-tartalmat meghatározó vizsgálati rendszert. Az élelmiszer-biztonsági feltételek így biztosíthatók minden körülmények között, valamint az is, hogy az ajánlott határértéket meghaladó toxintartalmú tételek ne váljanak közvetlen állati eledellé.

**Az Európai Unióban
a takarmányok
DON-toxin-tartalmára
vonatkozóan a maximális
toxintartalom javasolt
határértéke 8 mg/kg**

Az Európai Unióban a takarmányok DON-toxin-tartalmára vonatkozóan ajánlást fogalmaztak meg. A gabonafélék és gabonakészítmények esetén az EU által ajánlott maximális toxintartalom javasolt határértéke 8 mg/kg lehet. A 2013-as és a 2014-es évjáratban, ami a búza fuzáriumfertőzöttsége szempontjából nem számított különleges évjáratnak, a mintáink közül egy haladta meg ezt az értéket. Így, amennyiben nincs lehetőség egy vizsgálati rendszer kialakítására, akkor a megfelelő keverési arány meghatározásával van mód a takarmányként hasznosításra. Vizsgálatainkat tovább folytatjuk a 2015. évben is, amikor a búza virágzása és a betakarítás idején csapadékos volt az időjárás.

IRODALOM

1. BÚZA L. – SCHILL M. J.: A mikotoxinok vizsgálati módszerei, eredményei, előfordulásuk a hazai takarmányokban. In: Kovács M. (szerk.): *Aktualitások a mikotoxin kutatásban*. Agroinform Kiadó. Budapest, 2010. 14–19.
2. GALVANO, F. – GALOFARO, V. – GALVANO, G.: Mycotoxins in the human food chain. In: DIAZ D. (eds.): *The Mycotoxin Blue Book*. Nottingham Press. Nottingham, UK, 2005. 187–224.
3. GLÁVITS R. – VÁNYI A.: A sertés fontosabb mikotoxikózisai. *Magy. Állatorv. Lapja*, 1995. 50. 407–420.
4. KECSKÉSÉNYE E. – SEMBERY P.: Egy malomipari feldolgozási folyamat műszaki feltételeinek a vizsgálata élelmiszerbiztonsági szempontból. *Gradus*, 2014. 1. 2. 44–50.
5. NAGY KECSKÉSÉNYE, E. – SEMBERY, P.: Color sorting of bread-making wheat and change of toxin content. *J. Eng. Ann. Fac. Eng. Hunedoara / Int. J. Eng.*, 2015. 13. 1. 171–174.
6. KOVÁCS F.: Agrártermelés– Tápláléklánc– Mikotoxinok. In: Kovács M. (szerk.): *Aktualitások a mikotoxin kutatásban*. Agroinform Kiadó. Budapest, 2010. 7–13.
7. KOVÁCS M.: A mikotoxinok humán-egészségügyi vonatkozásai. In: Kovács M. (szerk.): *Aktualitások a mikotoxin kutatásban*. Agroinform Kiadó. Budapest, 2010. 86–102.
8. MESTERHÁZY Á.: Mikotoxinok a gabonatermesztésben: az élelmiszerbiztonsági kihívás. *Élelmiszervizsgáló közlemények*, 2007. LIII. (53. különszám). 38–48.
9. RAFAI P. – KOVÁCS M.: A takarmányok mikotoxin szennyezettségének igazságügyi állatorvostani vonatkozásai. *Állatteny. Takarm.*, 2009. 58. 5. 413–424.
10. RAFAI P. – TUBOLY S. – BATA Á. – VÁNYI A. – PAPP Z. – BRYDL E. – JAKAB L. – TÚRY E.: A takarmány különböző T-2 koncentrációinak hatása a növények sertésekre. Humorális és celluláris immunválasz, *Magy. Állatorv. Lapja*, 1995. 50. 10. 684–686.
11. SZABÓ HEVÉR Á.: A kalászfuzárium rezisztencia molekuláris hátterének vizsgálata frontana eredetű térképező búzapopulációkban, SZIE, Doktori értekezés. 2013. 141.
12. SZUNICS L. – VIDA GY. – VEISZ O. – LÁNG L. – BEDŐ Z.: A Maxi és a Makaróni. Új őszi típusú, jó minőségű durum búza fajták. *Martonvásár, az MTA Mezőgazdasági Kutató Intézetének közleményei*, 2002. XIV. 2. 9–11.
13. VERES E. – BORBÉLY M.: Az őszi búza felhasználhatósága a vizuális és mikrobiológiai Fusarium fertőzöttség-, valamint a toxin vizsgálatok alapján. *Agrártud. közlemények*, 2007. 12. 26–34.
14. EC–European Commission SCOOP task 3.2.10.: Collection of occurrence data of Fusarium toxins in Food and assessment of dietary intake by the population of EU member states. *Subtask III: Fumonisin. European Commission, Directorate-General Health and Consumer Protection*. Brussels, 2003. 485–577.
15. EC–Comission recommendation: 2006/576/EC of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. *Official J. of the European Union*, 2006. L 229/7.

Közlésre érke.: 2015. szept. 14.

Occurrence of West Nile virus in mosquito vectors and vertebrate hosts in Hungary

Szentpáli-Gavallér Katalin^{1*}
Dán Ádám¹
Erdélyi Károly¹
Bálint Ádám¹
Somhegyiné Barna Mónika²
Bakonyi Tamás^{2,3}

K. Szentpáli-Gavallér^{1*}
Á. Dán¹
K. Erdélyi¹
Á. Bálint¹
M. Somhegyiné Barna²
T. Bakonyi^{2,3}

1. NÉBIH ÁDI
H-1143 Budapest, Tábornok u. 2.

* e-mail: szgkati@gmail.com

2. SZIE ÁOTK Járványtani és
Mikrobiológiai Tanszék
H-1143 Budapest, Hungária krt. 23-25.

3. Bécsi Állatorvos-tudományi
Egyetem Virologiai Intézet
A-1210 Bécs, Veterinärplatz 1

A nyugat-nílusi vírus hazai előfordulása szúnyog-vektorokban és gerinces gazdáiban

VIROLÓGIA

ÖSSZEFOGLALÁS

A nyugat-nílusi láz vírusa (West Nile virus, WNV) világszerte elterjedt flavivírus. Magyarországon 2003 óta fordulnak elő diagnosztizált, WNV-fertőzéshez köthető idegrendszeri megbetegedések állatokban és emberekben. Szerzők az utóbbi években (2009–2015) aktív és passzív felmérő (monitoring-) vizsgálatokat végeztek a vírus hazai előfordulásának nyomon követésére. Minden évben ki tudták mutatni a WNV-fertőzést vadmadarak elhullott egyedeiből és agyvelőgyulladásos lovak mintáiból. A 2011 és 2012 években, szúnyogokon végzett felmérő vizsgálatok során három különböző szúnyogfajban (*Ochlerotatus annulipes*, *Coquillettidia richiardii* és *Culex pipiens*) is kimutatták a vírus jelenlétét. A monitoring vizsgálatokon túl a hazai 2-es genetikai vonalú WNV-törzs virulenciáját befolyásoló lehetséges genetikai markerek szerepét is vizsgálták. Kutatásaik felhívják a figyelmet a kórokozó hazai jelenlétére és alátámasztják kiterjedt és rendszeres monitoringvizsgálatok végzésének jelentőségét.

SUMMARY

West Nile virus (WNV) is a widely distributed mosquito-borne flavivirus. WNV-associated disease and mortality in animal and human hosts have been diagnosed in Hungary since 2003. Over the past years (2009–2015) active and passive monitoring programs have been carried out to survey WNV activity in Hungary. Each year WNV infections have been detected in wild bird carcasses and horses showing neurological signs. During a two year mosquito surveillance programme in 2011–2012, the viral RNA has been isolated from three different mosquito species (*Ochlerotatus annulipes*, *Coquillettidia richiardii* és *Culex pipiens*). Besides the monitoring programs, we have tested potential molecular markers of pathogenicity of the Hungarian lineage 2 WNV strain. The present study clearly demonstrates the presence of WNV in the country and reconfirms the importance of regular and expanded surveillance programs.

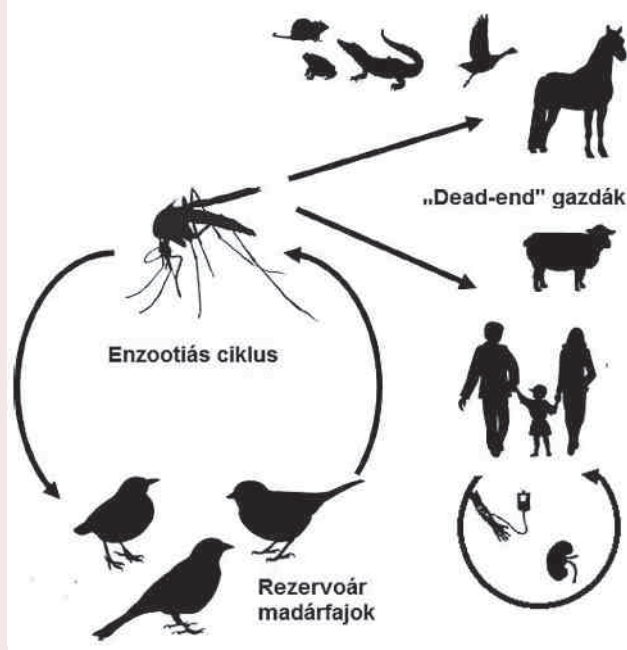
A nyugat-nílusi láz vírusa (West Nile virus, WNV) világszerte elterjedt kórokozó, amely a *Flaviviridae* víruscsaládon belül a *Flavivirus* nemzetség tagja. A virion 45–50 nm átmérőjű. Kívülről burok (envelope) borítja, ezen belül helyezkedik el a 12 kDa-os kapszidproteinből és a kb. 11 kb (kilobázis) hosszúságú, pozitív irányultságú szimpla szálú RNS-ből (+ssRNS) felépülő nukleokapszid. A kódoló molekulának az 5'- és 3'- vég nem kódoló (UTR) szakaszain kívül egyetlen nyitott leolvasási kerete (ORF) sincs. A szintetizálódó poliprotein érése során enzimatis hasítással három struktúrfelhárjára [[C (kapszid), E (burok) és prM/M (premembrán/membrán)], valamint hét nemstruktúrális fehérjére (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B és NS5) bomlik.

A nyugat-nílusi láz vírusa világszerte elterjedt kórokozó, amely képes állatokat és embereket is fertőzni és esetenként súlyos megbetegedéseket előidézni

A kórokozó képes állatokat és embereket is fertőzni (zoonotikus) és esetenként súlyos megbetegedéseket előidézni bennük (28). A nyugat-nílusi láz vírusát elsősorban ízeltlábú vektorok terjesztik a fogékony gazdaszervezetek között (arbovírusok). A WNV fenntartó gerinces gazdái vadmadarak; emlős gazdáiban általában nem alakul ki olyan szintű viraemia, ami elegendő volna a szúnyogvektorok fertőzéséhez, így ők a fertőzés továbbvitelében nem vesznek részt, ún. „dead-end” gazdák. A vírus terjedési útjait az **1. ábra** szemlélteti. A WNV-fertőzések túlnyomó része nem jár jelentős tünetekkel gerinces gazdáiban. A fertőzések kb. 20%-ában általános, lázas (influenzaszerű) tünetek alakulnak ki. A fertőzések kevesebb mint 1%-ában a vírus a központi idegrendszerbe jutva agy- és gerincvelő-gyulladászt okoz, amelynek súlyosak a tünetei és gyakran végzetes a kimenetele. Egyes fajokban (pl. lovakban, emberekben, ragadozó madarakban) nagyobb gyakorisággal lehet megfigyelni idegrendszeri tünetek kialakulását, mint más fajokban.

A nyugat-nílusi lázzal és a kórokozó fontosabb tulajdonságaival kapcsolatban 2003-ban jelent meg egy szemleci e lap hasábjain (46). Kutatócsoportunk a vírus hazai előfordulásával, valamint lovakban és vadon élő madarakban

okozott megbetegedéseivel kapcsolatos megfigyeléseit 2012-ben ismertette a *Magyar Állatorvosok Lapja* olvasóival (40, 43). A Körös–Maros Nemzeti Park területén élő héják (*Accipiter gentilis*) két egyede idegrendszeri tünetekben betegedett meg 2004-ben, és az egyik madár el is pusztult. Kórbonctani, kórszövettani és molekuláris biológiai módszerekkel a nyugat-nílusi vírus jelenlétét lehetett kimutatni a héja szerveiből (5). Ez a törzs a WNV kettes genetikai vonalához sorolt, afrikai törzsekkel közelebbi rokonságban állt, mint az Európában, Ázsiában és Amerikában előforduló vírustörzsekkel (5, 16). A vírustörzs 2008-ban komoly járványt okozott hazánkban, valamint gyors földrajzi terjedésbe kezdett (6, 22). Ez indokoltá tette a vírus nyomon követésére irányuló, célzott felmérő vizsgálatok végzését a fontosabb gerinces gazdáiban és szúnyogvektorokban. 2010-től 2013-ig a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) Állat-egészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság (ÁDI) laboratóriumaiba az országos madárinfluenza monitoringprogram keretein belül vizsgálatra érkező minden, a 2009-es, 2014-es és 2015-ös években a kórbonctan alapján gyanúsított vadmadárhullákból nyugat-nílusi vírus kimutatására irányuló vizsgálatokra is sor került. Ezekon kívül vizsgáltuk további, vadon élő vagy fogságban tartott madarak mintáit is,



1. ÁBRA. A nyugat-nílusi vírus terjedési útjai

FIGURE 1. West Nile virus transmission cycles

amennyiben a WNV-fertőzés gyanúja felmerült. A vektorok fertőzöttségének felmérése céljából aktív szúnyogmonitoring-programot végeztünk az ország több pontján 2011 és 2012 év során. Ebben a közleményben a felmérés főbb eredményeit és az azokból levonható következtetéseket ismertetjük.

Számos kutatás célja annak megállapítása, hogy mi befolyásolja a WNV-fertőzés következtében kialakuló idegrendszeri tünetek megjelenését és súlyosságát. Az esetek tanulmányozása során felismerhető, hogy ez összefüggésben áll a gerinces gazdák több tulajdonságával (pl. faj, életkor, általános és specifikus ellenálló képesség), valamint a fertőző vírustörzssel is. Korábban voltak, akik úgy vélték, hogy – szemben a világszerte elterjedt, egyes genetikai vonalhoz („lineage 1”) tartozó bizonyos vírustörzsekkel – a kettős genetikai vonalhoz („lineage 2”) sorolt vírusok kevésbé virulensek, és nem okoznak idegrendszeri megbetegedéseket. Saját kutatásaink mellett ezt dél-afrikai törzsekkel végzett vizsgálatok is cáfolták (8). Bizonyos, egyes genetikai vonalhoz tartozó törzsekkel végzett kutatások azonosítottak több olyan mutációt (genetikai markert), amelyeket összefüggésbe lehetett hozni a törzsek virulenciájával különböző gerinces gazdákban (2, 26, 49, 50). Kutatásaink ezért arra is kiterjedtek, hogy megvizsgáljuk, vajon ezeknek a markereknek van-e szerepe a hazai WNV-törzs idegrendszert fertőző képessége (neuroinvasivitása) és megbetegítő képessége (neurovirulenciája) tekintetében.

ANYAG ÉS MÓDSZER

FELMÉRŐ (MONITORING-) VIZSGÁLATOK

A WNV előfordulási gyakoriságának becslésére passzív és aktív monitoring-rendszereket használtunk. A passzív monitoring fő eleme idegrendszeri tünetekben megbetegedett vagy elhullott gerinces gazdák, főként vadmadarak és lovak vizsgálata volt. A vizsgált vadmadarak az országos madárinfluenza monitoring-program keretein belül a NÉBIH ÁDI-ba érkezett tetemeken túl a nemzeti parkok munkatársai által gyűjtött, állatkertekben és madármentő-állomásokon kezelt, valamint solymászok által nevelt madarak mintái voltak. Emellett a kutatócsoportok laboratóriumaiba küldött, idegrendszeri tüneteket mutató lovak mintáit is megvizsgáltuk WNV-fertőzés kimutatása céljából. Az aktív monitoring a szúnyogvektorok fertőzöttségének felmérésére irányult. Az országban 24 gyűjtési helyen, entomológus szakértők gyűjtöttek szúnyogmintákat 2011-ben és 2012-ben (44). A minták azonosítását (faj- és ivarmeghatározását) és szúnyogok esetében csoportok (poolok) kialakítását a minták feldolgozása (madár-tetemek boncolása, a szúnyogpoolok és a vadmadár szervek homogenizálása és vírus-RNS kivonása) követte (6, 44). A WNV nukleinsavának kimutatásához a genom NS3 fehérjét kódoló (6) és az 5' vég UTR-régiójára (25) irányuló real-time RT-PCR-t alkalmaztunk (44). A kimutatott vírustörzsek közül egyesekből további nukleinsavszakaszokat erősítettünk fel RT-PCR segítségével, majd az amplifikációs termékek nukleotidszekvenciáinak meghatározását követően genetikai összehasonlító vizsgálatoknak vetettük alá őket (6). A vadmadármintákat egyéb flavivírusok kimutatásának céljából tovább vizsgáltuk WEISSENBOCK és mtsai által leírt pan-flavi RT-PCR módszerrel is (48). Továbbá a NÉBIH ÁDI-ba érkezett, heveny idegrendszeri tüneteket mutató lovakból gyűjtött savómintákat WNV elleni IgM típusú ellenanyagokat jelenlétére vizsgáltuk ELISA-módszerrel (Ingezim West Nile IgM 1.4. WNV K.2. kit, Ingenasa, Madrid, Spain).

A patogenitásvizsgálatokhoz kiválasztottunk egy Magyarországon, 2010-ben, idegrendszeri tüneteket mutató ló agyvelejéből izolált WNV-törzset, amely szoros rokonságot mutatott a hazánkban előforduló 2-es genetikai vonal többi képviselőjével. Reverz genetikai módszerekkel előállítottuk a vírus teljes hosszúságú fertőző klónját, majd a neuroinvasivitást és neurovirulenciát az 1-es genetikai

A WNV előfordulási gyakoriságának becslésére passzív és aktív monitoring-rendszereket használtak, amelyek során idegrendszeri tünetekben megbetegedett vagy elhullott gerinces gazdák, ill. szúnyogvektorok fertőzöttségét vizsgálták

vonulhoz tartozó törzsekben befolyásoló pontmutációkat mutagenézissel hoztuk létre a genomban (45). A beillesztett nukleotidszubsztitúciók és a következő aminosav-változások a következők voltak: C3218T az NS1 fehérjében (P250L), G3613C az NS2A fehérjében (A30P), C5357A az NS3 fehérjében (P249H), és három mutáció az NS4B fehérjében: CC7030–31GG (P38G), G7223C (C102S) és A7664G (E249G). A módosított genommal rendelkező vírusokat szövettenyészetben életre keltettük, majd szaporodóképességüket *in vitro* Vero E6 sejttényészetekben, ill. *in vivo* egérmodellben vizsgáltuk (45).

EREDMÉNYEK

2011 és 2012 során összesen 23 193 szúnyogot vizsgáltunk meg WNV jelenlétére: 2011-ben 24 különböző fajhoz tartozó szúnyog, 362 poolba rendezett 11 728 egyedét; 2012-ben pedig 18 különböző szúnyogfaj 283 poolba rendezett 11 465 példányát. A nyugat-nílus vírus kimutatására irányuló RT-PCR 2011-ben 3 pool esetében adott pozitív eredményt: egy Fényeslitkén júniusban gyűjtött nőstény *Ochlerotatus annulipes* szúnyogokat tartalmazó poolból, egy júliusban a debreceni Fancsika-tónál gyűjtött *Coquillettidia richiardii* poolból, továbbá egy szeptemberben, nőstény *Culex pipiens* nőstényeket tartalmazó, Kardoskút közelében gyűjtött poolból mutattuk ki a vírus-RNS jelenlétét. A 2012. évi összes szúnyog vizsgálata negatív eredménnyel zárult. A 2011-es adatok alapján számolt minimális fertőzöttségi ráta (minimal infection rate MIR = fertőzött szúnyogok aránya 1000 szúnyogra vetítve) az összes szúnyogra együttesen számítva 0,25; *Ochlerotatus annulipes* esetében 2,03, *Coquillettidia richiardii* esetében 0,63 és *Culex pipiens* esetében 2,70 lett (44).

Az elhullott vadmadarak vizsgálatára alapozott, passzív WNV-monitoring keretében 2010-től 2013-ig évente 275, 181, 266 és 257 vadmadár szerveinek homogenizátumát vizsgáltuk meg nyugat-nílus vírus-RNS jelenlétére. 2009-ben, ill. 2014 és 2015 év során a kórbonctani és kórszövettani gyanú alapján vizsgáltuk tovább a vadmadár hullákat. A pozitív madarak számait éves bontásban az **1. táblázat** ismerteti.

A vizsgálati időszakban 416, heveny idegrendszeri tüneteket mutató, nyugat-nílus vírusfertőzésre gyanús lovakból gyűjtött savóminta érkezett a NÉBIH ÁDI laboratóriumába (2009: 32, 2010: 40, 2011: 84, 2012: 20, 2013: 108, 2014: 31 és 2015: 101). A WNV elleni IgM típusú ellenanyagokat tartalmazó lósavók számát lásd az **1. táblázatban**. A kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok eredményei alapján WNV-fertőzésre gyanús, elhullott vagy leölt lovak idegrendszeri mintáiból RT-PCR módszerrel pozitívnak talált egyedek számát is ez a táblázat tartalmazza.

A patogenitási kísérletekben az eredeti, neuroinvaszív WNV-törzs egyedül az NS1 fehérjében létrehozott mutáció (P250L) során mutatott teljes attenuálódást. Az *in vitro* Vero E6 sejttényészetben vizsgált növekedési görbék **(2. ábra)** statisztikai elemzése az NS1 vírus szignifikánsan lelassult replikációját mutatta, a mutációt tartalmazó klónvírus infektív titere szignifikánsan kisebb volt minden mintavételi időpontban (12 óra p. i. – 96 óra p. i.), mint a vad típusú vírusé. Az *in vivo* kísérletek során az NS1 mutáns vírussal fertőzött egerek mindegyike túlélte a 14 napos megfigyelési időszakot, míg a vad vírus nagyobb fertőzési dózisa (10^4 TCID₅₀) esetében a mortalitás 100%-os, a kisebb dózissal (10 TCID₅₀) pedig 75%-os volt. Részleges (de nem szignifikáns) attenuációt figyeltünk meg az *in vivo* kísérletekben az NS3-H249P (a nagyobb dózissal fertőzött egerek esetében 75%-os mortalitás) és az NS4B-E249G (a magasabb dózissal fertőzött egerek esetében 63%-os mortalitás) mutációkat tartalmazó vírusoknál. A nyugat-nílus vírussal rokon Usutu-vírus (USUV) RNS-ét 2010, 2011, 2012, 2013 és 2015 évben 1–1 fekete- és tölgyfélék, továbbá 2015-ben egy fenyőrigó (*Turdus pilaris*) szerveiből mutattuk ki.

2011-ben három esetben mutatták ki a vírust különböző szúnyogfajokban

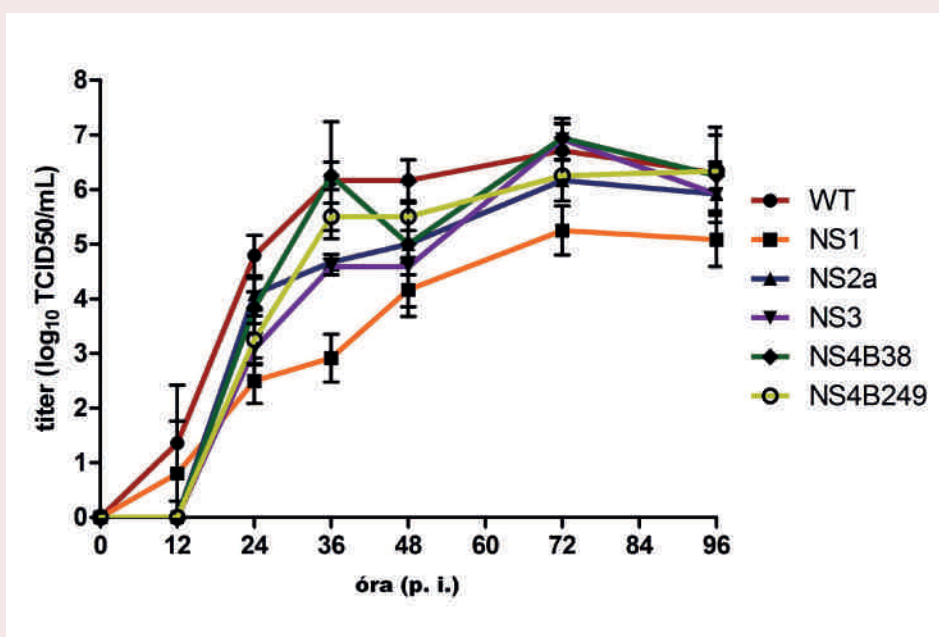
1. TÁBLÁZAT. WNV passzív felmérő vizsgálatok eredményei, 2009–2015. RT-PCR módszerrel WNV-fertőzöttnek talált elhullott vadmadarak és lovak száma; ELISA-módszerrel WNV IgM pozitívnak talált, idegrendszeri tüneteket mutató lovak száma

TABLE 1. Results of passive monitoring of WNV, 2009–2015. Number of WNV infected dead wild birds and horses based on RT-PCR. Number of WNV IgM positive (based on ELISA test) horses showing neurological signs

Faj\Év	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Héja (<i>Accipiter gentilis</i>)	6	2	3	1	1	1	0
Karvaly (<i>Accipiter nisus</i>)	1	0	0	0	0	0	0
Vándorsólyom (<i>Falco peregrinus</i>),	1	0	0	0	0	0	0
Nagy fakopáncs (<i>Dendrocopos major</i>)	1	0	0	0	0	0	0
Erdei fülesbagoly (<i>Asio otus</i>)	1	0	0	0	0	0	0
Házi veréb (<i>Passer domesticus</i>)	1	0	0	0	0	0	0
Vörösbegy (<i>Erithacus rubecula</i>)	2	0	0	0	0	0	0
Nádi tücsökmadár (<i>Locustella luscinioides</i>)	1	0	0	0	0	0	0
Házi rozsdafarkú (<i>Phoenicurus ochruros</i>)	1	0	0	0	0	0	0
Foltos nádiposzáta (<i>Acrocephalus schoenobaenus</i>)	1	0	0	0	0	0	0
Szajkó (<i>Garrulus glandarius</i>)	0	1	0	0	0	0	0
Hóbagoly (<i>Bubo scandiacus</i>)	0	1	0	0	1	0	0
Szarka (<i>Pica pica</i>)	0	1	0	0	1	0	0
Fácán (<i>Phasianus colchicus</i>)	0	1	0	0	0	0	0
Feketerigó (<i>Turdus merula</i>)	0	0	0	1	0	0	0
Szírti sas (<i>Aquila chrysaetos</i>)	0	0	0	0	0	0	1
Ló (<i>Equus caballus</i>) igm/RT-PCR	6/3	21/2	20/1	4/0	9/1	5/1	9/0

2. ÁBRA. A vad típusú (WT) és mutáns vírusok növekedési görbéi Vero E6 sejtenyészetben (MOI = 0,1) A titerek három szimultán fertőzés átlagaként megadva (log₁₀ TCID₅₀/mL); a hibaszávok a szórást jelölik

FIGURE 2. Growth kinetics of infectious virus of the wild type (WT) virus and mutant viruses after triplicate infection of Vero E6 cells at an MOI of 0.1. The titres are given as the mean (log₁₀ TCID₅₀/mL); error bars represent standard deviation



MEGVITATÁS

A 2003-as és 2004-es magyarországi WNV-törzsek genetikai összehasonlító vizsgálata feltárta, hogy míg a 2003-as libaesetekből kimutatott vírus a legnagyobb hasonlóságot az 1999-ben az Egyesült Államokba behurcolt törzshöz mutatta (1-es genetikai vonal), a 2004-ben héja-agyvelőgyulladás előidéző törzs a nyugat-nílusai vírus 2-es genetikai vonalához tartozik, amely csoport tagjait korábban kizárólag Afrika Szaharától délre fekvő területeiről mutatták ki (5). 2005-ben, majd 2007-től minden évben több-kevesebb megbetegedés fordult elő, főleg az Alföld területén. A vírusok részleges nukleotidszekvenciáinak összehasonlítása alapján megállapítható, hogy azok lényegében megegyeznek az először 2004-ben, héjából kimutatott, 2-es genetikai vonalhoz tartozó törzsszel. A vírustörzs 2008-ban jelentős fölrzaji terjedést mutatott az országban. Az állati esetek mellett a járványidőszakban 19 hazai humán agyvelőgyulladásos eset háttérben lehetett bizonyítani a WNV kóroki szerepét a szerológiai vizsgálatok alapján. Mind az állati, mind a humán megbetegedések az ország középső és nyugati részén fordultak elő, szemben a korábbi évek alföldi lokalizációjával. A következő években újra a héják tűntek a legérzékenyebbek a kórokozóra, de az elhullott madarak változatos fajmegoszlást mutattak (vö. 1. táblázat). 2009-ben a 17 WNV-pozitív vadmadár mellett a vizsgálatok három agyvelőgyulladásos ló és hét agyvelőgyulladásos ember esetében igazolták víruskimutatással is a WNV kóroki szerepét. A lovak kifejezett érzékenysége 2009 után is minden évben számos IgM-pozitivitásban mutatkozott meg beteg állatokból az intézetbe küldött vérminták vizsgálata során, ill. több elhullott lóból RT-PCR módszerrel is sikerült igazolni WNV-fertőzést (vö. 1. táblázat). Emberi esetek is minden évben előfordultak, számuk 2009-ben 7, 2010-ben 19, 2011-ben 4, 2012-ben 17, 2013-ban 31, 2014-ben 11, 2015-ben 18 volt (13, 14).

A 17 vadmadár mellett a vizsgálatok három agyvelőgyulladásos ló és hét ember esetében igazolták a WNV kóroki szerepét

Európában mind a *Culex pipiens*, mind a *Coquillettidia richiardii* szúnyogfaj a nyugat-nílusai vírus elsődleges vektorának számít, de az *Ochlerotatus annulipes* is közvetítheti a fertőzést

Európában mind a *Culex pipiens*, mind a *Coquillettidia richiardii* szúnyogfaj a nyugat-nílusai vírus elsődleges vektorának számít (19, 20, 27, 36). A *Culex pipiens* elsősorban ornithophil faj, azonban több tanulmány is kimutatta, hogy a vérszívás egy része történhet emlősökön és emberen is (18, 53). Kontinentális éghajlaton képes áttelelni, majd tavasszal ismét terjeszteni a vele együtt áttelelt vírust (1, 17, 30). Európában hasonlóan elterjedt szúnyogfaj a *Coquillettidia richiardii*, amely lárvastádiuma még jeges vízben is át tud telelni. Embereken előszeretettel táplálkozik zárt térben, de kisebb részben madarakon is szív vért (41). Az *Ochlerotatus annulipes* petéi képesek áttelelni kontinentális éghajlaton is. A nőstények áprilistól szeptemberig aktívak, főként alkonyatkor szívnek vért elsősorban emlősállatokon, de ismertén jó közvetítő („bridge”) vektorok is madarak és emlősök között (7, 23). Az *Ochlerotatus annulipes* kifejezetten szeret emberen is vért szívni (52). Mindhárom előbb említett faj Magyarországon is széles körben elterjedt. Számos európai országban foglalkoznak a különböző szúnyogfajok nyugat-nílusai vírus transzmissziós ciklusában betöltött lehetséges szerepével (15). A Magyarországon számolt MIR-értékek hasonlóak voltak más európai országban mért adatokhoz.

A nyugat-nílusai vírus 2-es genetikai vonalához tartozó vírustörzs terjedése az utóbbi években az országhatáron is átlépett (6, 10). Először Ausztriában sikerült kimutatni vadmadarak mintáiból (51), majd a vírus megjelent Görögországban (9, 31), Olaszországban (3, 39), Szerbiában (33), Horvátországban (24), Csehországban (38) és Szlovákiában is (11). Filogenetikai elemzések szerint az említett országokban elterjedt vírusok a Magyarországon 2004-ben felbukkant WNV-törzs leszármazottjai, míg a pár évvel később Oroszország területén izolált (34, 35), majd Romániában is megtalált (42) ugyancsak 2-es genetikai vonalhoz tartozó vírus különbözik tőlük (10).

A nyugat-nílusi vírus térfoglalása jellemzően a déli és közép európai országokban jelentős, főként a vonuló madarak útvonalába eső területeken. A vírus megjelenése és stabilizálódása a korábban mentes területeken egyrészt időjárási viszonyokkal magyarázható, másrészt valószínűleg sok egyéb (gazdasági, szociális-társadalmi, környezeti) tényező együttes hatása is közrejátszik. Ahhoz, hogy egy új vírus endémiássá váljon, a számára még elfogadható időjárási viszonyokon túl szüksége van megfelelő ízeltlábú vektorra és fogékony gazdafajra szaporodási ciklusának fenntartásához. Ha ezek a tényezők adottak, és a vírus még áttelelni is képes a szúnyogvektorban, kontinentális éghajlaton is endémiássá válhat. Vizsgálataink eredménye alapján a hazánkban minden évben vadmadarakban, lovakban és emberekben megjelenő ugyanazon vírustörzs (5, 6, 21, 29, 40), továbbá az áttelelni képes szúnyogfajok potenciális vektorszerepének felderítése is erre enged következtetni (44).

A hazai megfigyelések is bizonyították, hogy a 2-es genetikai vonalhoz is tartoznak neuroinvaszív, erősen patogén törzsek

A két genetikai vonal patogenitását nem feltétlenül ugyanazok a genetikai tényezők befolyásolják

A szerzők igazolták, hogy a nyugat nélusi vírus mellett az USUTU-vírus is endémiás hazánkban

A 2-es genetikai vonalhoz tartozó nyugat-nílusi vírusok sokáig nem tűntek olyan patogénnek, mint az 1-es vonalhoz tartozók; általában enyhébb lefolyású, gyógyulásra hajlamos megbetegedéseket okozva (32). Az utóbbi 10 évben hazánkban is megfigyelt esetek alapján azonban bebizonyosodott, hogy ehhez a genetikai vonalhoz is tartoznak neuroinvaszív, erősen patogén törzsek. Számos tanulmány foglalkozik az 1-es genetikai vonalhoz tartozó nyugat-nílusi vírustörzsek virulencia-markereinek felderítésével (2, 12, 26, 37), amelyek közül már sokat azonosítottak is, ellenben a 2-es genetikai vonal képviselőivel, amelyeket ilyen szempontból kísérletes úton korábban nem vizsgáltak. Kutatócsoportunk 6 olyan pontmutáció patogenitást befolyásoló szerepét vizsgálta egy 2-es genetikai vonalhoz tartozó, hazai izolálású vírustörzsben, amelyek az 1-es genetikai vonalban megjelenve jelentős attenuáló hatásúak. A 6 mutáció közül egy esetben figyeltünk meg teljes attenuálódást (NS1-P250L), kettő esetben pedig (NS3-H249P és az NS4B-E249G) *in vivo* részleges, de nem szignifikáns attenuációt figyeltünk meg. Kísérleteink arra engednek következtetni, hogy a két genetikai vonal (1-es és 2-es) vírusai ugyan részben hasonlítanak egymásra, patogenitásukat nem feltétlenül ugyanazok a genetikai tényezők befolyásolják. Ezért tartjuk fontosnak a jövőben az egyre nagyobb területeket meghódító, neuroinvaszív, 2-es genetikai vonalhoz tartozó WNV-törzsek további vizsgálatát és patogenitásmarkereinek felderítését.

A WNV mellett egyéb flavivírusok jelenlétére is vizsgáltuk a NÉBIH ÁDI-ba érkezett vadmadárhullákat. Vizsgálataink során USUV-fertőzést állapítottunk meg feketerigókban és fenyőrigóban. Az USUV a WNV-vel rokon, szúnyogok által terjesztett, afrikai flavivírus. Először 2001-ben ausztriai vadmadaraktól (főként feketerigókból) izolálták Európában (48), de retrospektív vizsgálatok már 1996-os olaszországi madármintákból is kimutatták a vírus jelenlétét (47). Magyarországi előfordulásáról 2005 óta tudunk (4). A vizsgálatok eredményei felhívják arra a figyelmet, hogy a WNV mellett az USUV is endémiás hazánkban, így az is okozhat vadmadarakban agyvelőgyulladásos eseteket; valamint a WNV és az USUV hasonló felszíni antigénjei miatt egyes szerológiai próbákban keresztreakciók alakulhatnak ki a vírusok között, ami megnehezíti a pontos diagnózis felállítását.

KÖVETKEZTETÉSEK

A nyugat-nílusi vírus egzotikus (2-es genetikai vonalhoz tartozó) törzse több mint tíz éve bukkant fel Magyarországon. Az utóbbi években végzett vizsgálatok eredményei egyértelműen bizonyítják, hogy a vírustörzs endémiássá vált az országban, és széles körben elterjedt Közép- és Dél-Európában. Mivel a vírus éves aktivitását jelentősen befolyásolja az időjárás, a kompetens vektorok és fogékony gerinces gazdák gyakorisága, a fertőzések és megbetegedések száma ingadozó. Az emberek és háziállatok fertőzéseinek elkerülésére nem specifikus védekező

A szerzők olyan, több pilléren álló, szervezett programot dolgoztak ki és alkalmaztak, amely sikeresen mutatta ki a WNV jelenlétét gerinces gazdáiban és ízeltlábú vektorokban

módszereket (pl. szúnyogirtás, repellens szerek használata) lehet alkalmazni. A védekezés megfelelő időzítéséhez szükség van a vírusaktivitás nyomon követésére. Kutatásaink során olyan, több pilléren álló, szervezett programot dolgoztunk ki és alkalmaztunk, amely passzív és aktív elemek bevonásával, sikeresen mutatta ki a WNV (és USUV) jelenlétét gerinces gazdáiban és ízeltlábú vektorokban. A felmérő vizsgálatok folytatása köz- és állat-egészségügyi szempontból fontos adatokkal szolgálhatna, és kiterjesztése még pontosabb előrejelzéseket tenne lehetővé. Ezen túl, a mintákat további, zoonotikus arbovírusok (pl. bunyavírusok, alphavírusok, Zika-vírus stb.) jelenlétére is meg lehetne vizsgálni, így újonnan felbukkanó, egzotikus vírusok kimutatására is lehetőség nyílna.

A nyugat-níluszi vírus virulenciájáért felelős genetikai markerek vizsgálatának a betegség kórfejlődésének pontosabb megismerése mellett az oltóanyag-fejlesztésben is felhasználható eredményei lehetnek.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők ezúton is köszönetet mondanak az entomológus szakembereknek a szúnyoggyűjtési és szúnyogmeghatározási munkájukért. Köszönettel tartozunk a NÉBIH ÁDI Molekuláris Biológiai Laboratórium dolgozóinak, JUHÁSZ ÁGNESNEK és OTTINGERNÉ MARIKÁNAK a szúnyog- és vadmadárminták előkészítéséért. A kutatásokat az „EDENext” (FP7-HEALTH-2010/261504; <http://www.edenext.eu>) és a „VECTORIE” (FP7-HEALTH-2010/261466; <http://vectorie.eu/>), Európai Unió kutatási programok támogatásával végeztük.

IRODALOM

- ANDERSON, J. F. – MAIN, A. J.: Importance of vertical and horizontal transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* in the Northeastern United States. *J. Infect. Dis.*, 2006. 194. 1577–1579.
- AUDSLEY, M. – EDMONDS, J. et al.: Virulence determinants between New York 99 and Kunjin strains of West Nile virus. *Virology*, 2011. 414. 63–73.
- BAGNARELLI, P. – MARINELLI, K. et al.: Human case of autochthonous West Nile virus lineage 2 infection in Italy, September 2011. *Euro Surveill.*, 2011. 16. 1–4.
- BAKONYI, T. – ERDÉLYI, K. – URSU, K. – FERENCZI, E. – CSÖRGŐ, T. – LUSSY, H. – CHVALA, S. – BUKOVSKY, C. – MEISTER, T. – WEISSENBOCK, H. – NOWOTNY, N.: Emergence of Usutu virus in Hungary. *J. Clin. Microbiol.*, 2007. 45. 3870–3874.
- BAKONYI, T. – IVANICS, É. – ERDÉLYI, K. – URSU, K. – FERENCZI, E. – WEISSENBOCK, H. – NOWOTNY, N.: Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. *Emerg. Infect. Dis.*, 2006. 12. 618–23.
- BAKONYI, T. – FERENCZI, E. – ERDÉLYI, K. – KUTASI, O. – CSÖRGŐ, T. – SEIDEL, B. – WEISSENBOCK, H. – BRUGGER, K. – BÁN, E. – NOWOTNY, N.: Explosive spread of a neuroinvasive lineage 2 West Nile virus in Central Europe, 2008/2009. *Vet. Microbiol.*, 2013. 165. 61–70.
- BECKER, N. – PETRIĆ, D. et al.: *Mosquitoes and their control*. Kluwer Academic/Plenum Publisher. New York, 2003. 498.
- BOTHA, E. M. – MARKOTTER, W. et al.: Genetic determinants of virulence in pathogenic lineage 2 West Nile virus strains. *Emerg. Infect. Dis.*, 2008. 14. 222–230.
- CHASKOPOULOU, A. – DOVAS, C. et al.: Evidence of enzootic circulation of West Nile virus (Nea Santa-Greece-2010, lineage 2), Greece, May to July 2011. *Euro Surveill.*, 2011. 16. 1–4.
- CICCOZZI, M. – PELETTO, S. et al.: Epidemiological history and phylogeography of West Nile virus lineage 2. *Infect. Genet. Evol.*, 2013. 17. 46–50.
- CSANK, T. – BHIDE, K. et al.: Detection of West Nile virus and tick-borne encephalitis virus in birds in Slovakia, using a universal primer set. *Arch. Virol.*, 2016. 161. 1679–1683.
- DONADIEU, E. – BAHUON, C. et al.: Differential virulence and pathogenesis of West Nile viruses. *Viruses*, 2013. 5. 2856–80.
- ECDC Annual epidemiological report. *Emerging and vector-borne diseases*, 2014. www.ecdc.europa.eu
- ECDC European Centre of Disease Prevention and Control. West Nile Fever. http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/pages/index.aspx.
- ENGLER, O. – SAVINI, G. et al.: European surveillance for West Nile virus in mosquito populations. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2013. 10. 4869–4895.
- ERDÉLYI, K. – URSU, K. – FERENCZI, E. – SZEREDI, L. – RÁTZ, F. – SKÁRE, J. – BAKONYI, T.: Clinical and pathologic features of lineage 2 West Nile virus infections in birds of prey in Hungary. *Vect. B. Zoon. Dis.*, 2007. 7. 181–188.
- FARAJOLLAHI, A. – FONSECA, D. M. et al.: „Bird biting” mosquitoes and human disease: A review of the role of *Culex pipiens* complex mosquitoes in epidemiology. *Infect. Genet. Evol.*, 2011. 11. 1577–1585.
- GÓMEZ-DÍAZ, E. – FIGUEROLA, J.: New perspectives in tracing vector-borne interaction networks. *Trends Parasitol.*, 2010. 26. 470–476.
- HAYES, E. B. – KOMAR, N. et al.: Epidemiology and Transmission Dynamics of West Nile Virus Disease. *Emerg. Inf. Diseases*, 2005. 11. 1167–1173.

20. HIGGS, S. – SNOW, K. R. – GOULD, E.: The potential for West Nile virus to establish outside of its natural range: a consideration of potential mosquito vectors in the United Kingdom. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2004. 98. 82–87.
21. KORBACSKA-KUTASI, O. – BAKONYI, T. – LECOLLINET, S. – BIKSI, I. – FERENCZI, E. – SÁRDI, S. – SZENCI, O.: Equine encephalomyelitis outbreak caused by a genetic lineage 2 West Nile Virus in Hungary. *J. Vet. Int. Med.*, 2011. 25. 586–591.
22. KRISZTALOVICS, K. – FERENCZI, E. et al.: West Nile virus infections in Hungary, August–September 2008. *Euro Surveill.*, 2008. 13. 1–3.
23. KULASEKERA, V. L. – KRAMER, L. et al.: West Nile virus infection in mosquitoes, birds, horses, and humans, Staten Island, New York, 2000. *Emerg. Infect. Dis.*, 2001. 7. 722–725.
24. KUROLT, I. C. – KRAJINOVIĆ, V. et al.: First molecular analysis of West Nile virus during the 2013 outbreak in Croatia. *Virus Res.*, 2014. 189. 63–66.
25. LINKE, S. – ELLERBROK, H. et al.: Detection of West Nile virus lineages 1 and 2 by real-time PCR. *J. Virol. Methods*, 2007. 146. 355–358.
26. LIU, W. J. – WANG, X. J. et al.: A single amino acid substitution in the West Nile virus nonstructural protein NS2A disables its ability to inhibit alpha/beta interferon induction and attenuates virus virulence in mice. *J. Virol.*, 2006. 80. 2396–2404.
27. LVOV, D. K. – BUTENKO, A. M. et al.: West Nile virus and other zoonotic viruses in Russia: examples of emerging-reemerging situations. *Arch. Virol. Suppl.*, 2004. 18. 85–96.
28. MACKENZIE, J. S. – BARRETT, A. D. – DEUBEL, V.: The Japanese encephalitis serological group of flaviviruses: a brief introduction to the group. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2002. 267. 1–10.
29. NAGY, A. – BÁN, E. – NAGY, O. – FERENCZI, E. – FARKAS, Á. – BÁNYAI, K. – FARKAS, SZ. – TAKÁCS, M.: Detection and sequencing of West Nile virus RNA from human urine and serum samples during the 2014 seasonal period. *Arch. Virol.*, 2016. 161. 1797–1806.
30. NASCI, R. N. – WHITE, D. J. et al.: West Nile virus isolates from mosquitoes in New York and New Jersey, 1999. *Emerg. Infect. Dis.*, 2001. 7. 626–630.
31. PAPA, A. – BAKONYI, T. et al.: Genetic characterization of West Nile virus lineage 2, Greece, 2010. *Emerg. Infect. Dis.*, 2011. 17. 920–922.
32. PETERSEN, L. R. – ROEHRIG, J. T.: West Nile virus: a reemerging global pathogen. *Emerg. Infect. Dis.*, 2001. 7. 611–614.
33. PETROVIĆ, T. – BLAZQUEZ, A. B. et al.: Monitoring West Nile virus (WNV) infection in wild birds in Serbia during 2012: first isolation and characterisation of WNV strains from Serbia. *Euro Surveill.*, 2013. 18. 1–8.
34. PLATONOV, A. E. – FEDOROVA, M. V. et al.: Epidemiology of West Nile infection in Volgograd, Russia, in relation to climate change and mosquito (Diptera: Culicidae) bionomics. *Parasitol. Res.*, 2008. 103. 45–53.
35. PLATONOV, A. E. – KARAN', L. S. et al.: Genotyping of West Nile fever virus strains circulating in southern Russia as an epidemiological investigation method: principles and results. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, 2011. 2. 29–37.
36. REITER, P.: West Nile virus in Europe: understanding the present to gauge the future. *Euro Surveill.*, 2010. 15. 1–7.
37. ROSSI, S. L. – FAYZULIN, R. et al.: Mutations in West Nile virus non-structural proteins that facilitate replicon persistence *in vitro* attenuate virus replication *in vitro* and *in vivo*. *Virology*, 2007. 364. 184–195.
38. RUDOLF, I. – BAKONYI, T. et al.: West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North?. *Euro Surveill.*, 2014. 19. 2–5.
39. SAVINI, G. – CAPELLI, G. et al.: Evidence of West Nile virus lineage 2 circulation in Northern Italy. *Vet. Microbiol.*, 2012. 158. 267–73.
40. SÁRDI S. – SZENTPÁLI-GAVALLÉR K. – BAKONYI T. – SZENCI O. – KUTASI O.: Lovak nyugat-nílusi vírus okozta agy- és gerincvelő gyulladása. Irodalmi áttekintés. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2012. 134. 707–717.
41. SERVICE, M. W.: Feeding behaviour and host preferences of British mosquitoes. *Bull. Entomol. Res.*, 1971. 60. 653–661.
42. SIRBU, A. – CEIANU, C. S. et al.: Outbreak of West Nile virus infection in humans, Romania, July to October 2010. *Euro Surveill.*, 2011. 16. 1–5.
43. SÓS E. – MOLNÁR V. – DANDÁR E. – BÁLINT Á. – BAKONYI T.: Szerológiai vizsgálatok hazai tűzok- (*Otis tarda*) állományokban: Serológiai examination in Hungarian great bustard (*Otis tarda*) populations. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2012. 134. 361–365.
44. SZENTPÁLI-GAVALLÉR, K. – ANTAL, L. – TÓTH, M. – KEMENESI, G. – SOLTÉSZ, Z. – DÁN, Á. – ERDÉLYI, K. – BÁNYAI, K. – BÁLINT, Á. – JAKAB, F. – BAKONYI, T.: Monitoring of West Nile virus in mosquitoes between 2011–2012 in Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2014. 14. 648–655.
45. SZENTPÁLI-GAVALLER, K. – LIM, S. M. – DENCSE, L. – BANYAI, K. – KORAKA, P. – OSTERHAUS, A. D. – MARTINA, B. E. – BAKONYI, T. – BALINT, A.: *In Vitro* and *In Vivo* Evaluation of Mutations in the NS Region of Lineage 2 West Nile Virus Associated with Neuroinvasiveness in a Mammalian Model. *Viruses*, 2016. 8. 2–20.
46. VARGA J. – FODOR L.: Nyugat-nílusi láz. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2003. 125. 451–457.
47. WEISSENBOCK, H. – BAKONYI, T. et al.: Usutu virus, Italy, 1996. *Emerg. Infect. Dis.*, 2013. 2. 274–277.
48. WEISSENBOCK, H. – KOLODZIEJEK, J. et al.: Emergence of Usutu virus, an African Mosquito-Borne Flavivirus of the Japanese Encephalitis Virus Group, Central Europe. *Emerg. Infect. Dis.*, 2002. 8. 652–656.
49. WODAK, E. – RICHTER, S. et al.: Detection and molecular analysis of West Nile virus infections in birds of prey in the eastern part of Austria in 2008 and 2009. *Vet. Microbiol.*, 2011. 149. 358–366.
50. WELTE, T. – XIE, G. et al.: Immune responses to an attenuated West Nile virus NS4B-P38G mutant strain. *Vaccine*, 2011. 29. 4853–4861.
51. WICKER, J. A. – WHITEMAN, M. C. et al.: Mutational analysis of the West Nile virus NS4B protein. *Virology*, 2012. 426. 22–33.
52. ZAMBURLINI, R.: A new culicid in Italy: *Aedes* (*Ochlerotatus*) *annulipes* (Diptera, Culicidae). *Parassitologia*, 1996. 38. 491–494.
51. ZIMMERMAN, J. H. – HANAFI, H. A. – ABBASSY, M. M.: Host-feeding patterns of *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) on farms in Gharbiya Governorate, Egypt. *J. Med. Entomol.*, 1985. 22. 82–87.

Közlésre érkk.: 2016. máj. 5.

Bakteriológia

A szekcióban 13 előadást jelentettek be, ami megfelelt a korábbi évek átlagának. A szekció társelnökei NAGY BÉLA, FODOR LÁSZLÓ és MAGYAR TIBOR voltak.

GYURANECZ MIKLÓS, ULLI WERNERY, KREIZINGER ZSUZSA, JUHÁSZ JUDIT, FELDE ORSOLYA és NAGY PÉTER egypúpú tevékből (*Camelus dromedarius*) izolált *Brucella* (*B.*) *melitensis* törzsek összehasonlító genetikai elemzéséről számoltak be. A tevékből, valamint szarvasmarhából, kecskéből és gazellából származó baktériumtörzsek MLVA-8 (multiple-locus variable-number tandem repeat analysis) vizsgálata során azonosított öt genotípus közül kettőt korábban nem írtak le. Az MLVA-16 elemzés további tíz variánsra osztotta ezt az öt genotípust, melyek közül több a *B. melitensis* állományon belüli evolúciójára, mutációjára utal. A tevetörzseket négy különböző MLVA-8 genotípusba sorolták, amelyek a kelet-mediterráni és az afrikai filogenetikai csoportba tartoznak. Ez összefüggésben áll a tevék származási helyével (Egyesült Arab Emírátságok, Szaúd-Arábia, Szudán). A tevetörzsek emellett rokonságot mutattak a vad- és háziállatokból izolált törzsekkel is. Eredményeik alapján az Egyesült Arab Emírátságokban megállapított teve-brucellosis forrása a teveimport és a helyi vadállomány lehet. Az MLVA-módszer megfelelőnek bizonyult a törzsek közötti járványtani viszonyok feltárására, és hasznos eszköze lehet a jövőben a tevefarmokon a mentesítési és betegségmegelőzési programoknak.

KREIZINGER ZSUZSA, SÜLYOK KINGA MÁRIA, MAKRAI LÁSZLÓ, RÓNAI ZSUSZANNA, FODOR LÁSZLÓ, JÁNOSI SZILÁRD és GYURANECZ MIKLÓS *Bacillus* (*B.*) *anthracis* törzsek antibiotikum-rezisztencia profilját határozták meg. A 29, Magyarország különböző területeiről, különböző állatfajokból, 1933 és 2014 között izolált, különböző genotípusba tartozó *B. anthracis* törzs antibiotikum-érzékenységét a minimális gátlókoncentráció-értéket megadó tesztcsíkok (E-teszt) felhasználásával vizsgálták. Valamennyi vizsgált törzs érzékenynek bizonyult amoxicillinnel, ciprofloxacinnal, klindamicinnel, doxiciklinnel, gentamicinnel, penicillinnel, rifampicinnel és vankomicinnel szemben. A törzsek 17,2% (5/29) és 58,6% (17/29) csak mérsékelt érzékenységet mutatott eritromicinre és cefotaximra. A törzsek izolálási helye, ideje, gazdafaja, genotípusa és antibiotikum-érzékenységi profilja között nem volt összefüggés. Az eredmények alapján a penicillin, az amoxicillin, a ciprofloxacinnal és a doxiciklin javasolhatóak elsődlegesen a lépfene-esetek gyógyke-

zelésére Magyarországon, de a gentamicin, vankomicin, rifampicin és klindamicin is megfelelő gyógyszer lehet. Az eritromicin és cefotaxim használata viszont kerülendő.

KREIZINGER ZSUZSA, ERDÉLYI KÁROLY, SULYOK KINGA MÁRIA, FELDE ORSOLYA és GYURANECZ MIKLÓS az Európában előforduló *Francisella (F.) tularensis* ssp. *holarctica* genotípusok (B.FTNF002-00 és B.12) virulenciájának összehasonlító vizsgálatáról számoltak be. Dél- és Nyugat-Európában a B.FTNF002-00 csoport a jellemző, míg a B.12 csoport főként Észak-, Kelet- és Közép-Európában fordul elő. A kórokozó rezervoárjaként számon tartott mezei nyúlban (*Lepus europaeus*) a nyugat-európai országokban többnyire heveny kórbonctani elváltozásokat találnak, míg a közép-európai esetek többnyire félheveny-idült fertőzésre utalnak. A Fischer-féle 344 patkányokon végzett fertőzési kísérlet során több állat pusztult el, ill. mutatott súlyos tüneteket a B.FTNF002-00 genotípus okozta fertőzéstől, mint a B.12 genotípus esetében. A megfigyelt különbség megerősíti a feltételezést, miszerint az Európában előforduló *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzsek nemcsak genetikai tulajdonságaikban és földrajzi elterjedtségükben különböznek, hanem virulenciájukban is. Az eredmények magyarázatul szolgálhatnak arra is, hogy miért különbözik a tularaemia kórbonctani képe a kontinens nyugati és keleti felén.

KREIZINGER ZSUZSA, SULYOK KINGA MÁRIA, ERDÉLYI KÁROLY, FELDE ORSOLYA, POVAZSÁN JÁNOS, KÖRÖSI LÁSZLÓ és GYURANECZ MIKLÓS a *Mycoplasma (M.) synoviae* vad és MS-H vakcinatörzseinek, valamint a vakcinatörzs ts⁺ és ts⁻ változatának elkülönítésére szolgáló molekuláris biológiai módszerek fejlesztéséről számoltak be. A *M. synoviae* *obg* gén ismert pontmutációinak azonosítására olvadási görbék elemzésén alapuló, ill. agarózgél alapú, ún. mismatch amplification mutation assay (melt-MAMA és agaróz-MAMA) rendszereket dolgoztak ki. Az MS-H1 rendszerben az *obg* gén 367. nukleotidján lévő pontmutáció a vad és MS-H vakcinatörzs elkülönítésére alkalmas, az MS-H2 rendszerben pedig a 627. nukleotidon lévő pontmutáció alapján a ts⁺ és ts⁻ MS-H vakcinatörzseket lehet megkülönböztetni. A kidolgozott módszerek a pontmutációk kimutatásával képesek voltak megkülönböztetni az MS-H1 és MS-H2 rendszerekben a vad és MS-H vakcinatörzset, továbbá a ts⁺ és ts⁻ MS-H vakcinatörzset. A melt-MAMA eljárások specifikussága 103, az agaróz-MAMA eljárásoké pedig 104 színváltoztató egység. A vizsgálatok során az egyéb, madarakban előforduló *Mycoplasma*-fajok nem mutattak keresztreakciót. A kidolgozott eljárások érzékenysége és specifikussága megfelelő ahhoz, hogy a módszerek a rutindiagnosztikában, a gyakorlatban is használhatóak legyenek. A módszerek

az állatokból vett mintákból közvetlenül kivont DNS-en is elvégezhetőek valós idejű, ill. hagyományos PCR segítségével. A kifejlesztett eljárások segítségével a korábbi módszerekhez képest könnyen, gyorsan és költséghatékonyan különíthetők el a *M. synoviae* vad és vakcinatörzsei.

GRÓZNER DÉNES, KREIZINGER ZSUZSA, HRIVNÁK VERONIKA, RÓNAI ZSUSZANNA, SULYOK KINGA MÁRIA, KECSKEMÉTNÉ TURCSÁNYI IBOLYA, JÁNOSI SZILÁRD, HORVÁTH-PAPP IMRE, THUMA ÁKOS, GYURIS ÉVA és GYURANECZ MIKLÓS *Mycoplasma (M.)* sp. 1220 és *M. synoviae* törzsek antibiotikum-érzékenységét határozták meg. A *M. sp. 1220* vízibaromfi-félékben salpingitist és phallusgyulladás okoz, de gyakori a kloáka, a peritoneum és a légzsákgyulladás is. A *M. synoviae* elsősorban a tyúokban és pulykákban okoz megbetegedést. A 2011–2015. között, Magyarország különböző területeiről gyűjtött 37 *M. sp. 1220* és 16 *M. synoviae* törzsre jellemző minimális gátlókoncentráció (MIC) értéket mikrolevességhígítási módszerrel állapították meg. A vizsgált *M. sp. 1220* törzsek többsége rezisztens volt norfloxacin, enrofloxacin és spektinomocin szemben, de több mint 50%-uk az oxitetraciklinre, doxiciklinre, tilozinra és tilmikozinra is rezisztenciát mutatott. A törzsek többsége érzékeny volt tilvalosinnal, tiamulinnal, valnemulinnal és linkomicinnal szemben, míg a florfenikolra az izolátumok többsége mérsékelt érzékenységet vagy érzékenységet mutatott. A *M. synoviae* törzsek többsége rezisztens volt norfloxacin és enrofloxacin szemben. A többi antibiotikum-csoporttal szemben a vizsgált izolátumok többsége érzékenységet mutatott, bár a rezisztenciaprofilok változatosnak bizonyultak. Aggasztó, hogy egy multirezisztens *M. synoviae* törzset is azonosítottak. Eredményeik felhívják a figyelmet az antibiotikum-rezisztencia terjedésére, és a felelősségteljes antibiotikum használat fontosságára.

FELDE ORSOLYA, SULYOK KINGA MÁRIA, KREIZINGER ZSUZSA, BIKSI IMRE, KISS KRISZTIÁN és GYURANECZ MIKLÓS *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae* törzsek összehasonlító genetikai vizsgálatáról számoltak be. A hazai vágóhidakon gyűjtött sertéstüdőkből izolált *M. hyopneumoniae* törzsek közeli rokonságát a *p146* gén szerintartalmú VNTR (variable number tandem repeat) régiójának ismétlődései alapján vizsgálták. Az MLST (multilocus sequence typing) közepes felbontású, egymástól viszonylag távoli izolátumok tipizálására alkalmas eljárás, mely során a három legnagyobb variabilitást mutató háztartási gént (*adk*, *rpoB*, *tpiA*) elemezték. Az MLVA egymáshoz közel rokon izolátumok rokonsági viszonyainak megállapítására alkalmas módszer, amelynek során 4 VNTR régió ismétlődéseinek számait hasonlították össze. Az MLST-analízis eredményeként a 22 vizsgált

M. hyopneumoniae törzs között 13 szekvenciátípust különböztettek meg. Az egy állományból származó *M. hyopneumoniae* törzsek genotípusai általában azonosak vagy közeli rokonságban álltak, de eltérő genotípusokat is megfigyeltek egyazon állományon belül.

SULYOK KINGA MÁRIA, RÓNAI ZSUSZANNA, KREIZINGER ZSUZSA, NAGY SÁRA ÁGNES, WEHMANN ENIKŐ, MARTON SZILVIA, BÁNYAI KRISZTIÁN, MAKRAI LÁSZLÓ, KECSKEMÉTNÉ TURCSÁNYI IBOLYA, JÁNOSI SZILÁRD és GYURANECZ MIKLÓS *Mycoplasma (M.) bovis* antibiotikum-rezisztencia markereinek kimutatására alkalmas molekuláris biológiai rendszerek fejlesztéséről számoltak be. Az antibiotikum-rezisztenciával összefüggő mutációk azonosítására 35 hazai izolátum, egy referenciatörzs és 36 mesterségesen rezisztenssé nevelt törzs teljes genomját hasonlították össze. Az azonosított pontmutációk detektálására valós idejű PCR és agarózgél alapú MAMA (Mismatch Amplification Mutation Assay) rendszereket, valamint HRM (High Resolution Melt) tesztek fejlesztettek ki. Rezisztenciát okozó mutációkat fluorokinolonok esetén a DNS-giráz, ill. a topoizomeráz IV enzimeket kódoló géneken (*gyrA*, *parC*), a bakteriális riboszóma 50S alegységét gátló antibiotikumok (makrolidok, lincomycin, pleuromutilinok, florfenikol) esetében a 23S rRNS-t kódoló *rrl3* és *rrl4* géneken, a 30S alegységhez kötődő antibiotikumoknál (tetraciklinek, spectinomycin) pedig a 16S rRNS-t kódoló *rrs3* és *rrs4* géneken találtak. Az azonosított mutációkra tervezett MAMA- és HRM-rendszerek eredményei egybevágtak a hagyományos mikrolevessé hígításos módszer eredményeivel. A kifejlesztett rendszerek lehetővé teszik, hogy a baktériumok időigényes és költséges izolálása nélkül elkülönítsék a rezisztens és az érzékeny *M. bovis* törzseket.

SÁRKÖZI RITA, MAKRAI LÁSZLÓ, MATICSEK KRISZTINA és FODOR LÁSZLÓ Magyarország különböző sertéstelepeiről származó *Actinobacillus (A.) pleuropneumoniae* törzsek szerotipizálásának és antibiotikum-érzékenységi vizsgálatának eredményéről számoltak be. A 2012–15. között gyűjtött, 20 *A. pleuropneumoniae* törzset passzív hemagglutinációs próbával vizsgálták, a rezisztencia meghatározásához a korongdiffúziós módszer mellett, a minimális gátlókoncentrációt (MIC) is meghatározták. A törzsek fele a 2-es szerotípusba tartozott, 2–2 törzset 8-as, 9-es, 13-as és 16-os szerotípusként határoztak meg, 1–1 12-es szerotípusú és be nem besorolható törzset azonosítottak. Korongdiffúziós módszerrel az összes törzs érzékeny volt tiamulinra, a törzsek nagy része pedig érzékenységet mutatott florfenikolra, ampicillinre, ceftiofurra és tilmikozinra. Néhány törzs mérsékelten érzékeny volt spektinomycinre, gentamicinre, enrofloxacinra és penicillinre. A törzsek közel fele rezisztenciát mutatott gentamicinnel, oxitetraciklinnel

és spektinomycinrel szemben. Az antibiotikumok minimális gátló koncentrációja széles spektrumban mozgott. Mind a 20 törzs érzékeny volt tilmikozinra, 19 (95%) törzs tiamulinra és florfenikolra, 18 (90%) törzs enrofloxacinra és 17 (85%) törzs pedig ampicillinre mutatott érzékenységet. Tíz (50%) törzs volt mérsékelten érzékeny spektinomycinre, 8 (40%) törzs pedig gentamicinre. Nagyfokú rezisztencia volt megállapítható oxitetraciklin és spektinomycin esetében (40–40%), és a törzsek 35%-a rezisztenciát mutatott gentamicinnel szemben. Az antibiotikumok nagyobb részénél eltérés mutatkozott a két módszer között.

UJVÁRI BARBARA és MAGYAR TIBOR emlősökből izolált *Pasteurella (P.) multocida* törzsek feltételezett virulenciagénjeinek összehasonlító vizsgálatáról számoltak be. A 147, szarvasmarha, sertés és nyúl gazdafajból származó *P. multocida* törzs buroktípusát és a feltételezett virulenciagéneket toxin (*toxA*), vaskötő fehérjék (*tbpA*, *hgbB*), fimbriák és adhezinek (*pfhA*, *fimA*, *hsf-1*, *hsf-2*, *tadD*, *ptfA*) hatására PCR-módszerrel vizsgálták. A leggyakoribb buroktípusok gazdafajtól függetlenül az A (99 törzs, 67%) és D (39 törzs, 27%) voltak. Az F típust a törzsek 6%-ában (9 törzs) azonosították. A toxingén nyulakból származó törzsek esetében nem fordult elő, szarvasmarhákból 11,8%-ban, míg sertésekből 48,8%-ban volt kimutatható. A *fimA*, *hsf-2*, és *ptfA* génszakaszok gazdafajtól függetlenül a törzsek 85,9–100%-ában voltak azonosíthatóak. A szarvasmarhákból izolált törzsek esetében a *tbpA*, *pfhA*, és *tadD* génszakaszok előfordulása gyakori volt (90,6%; 56,5%; 70,6%), a *hgbB* és *hsf-1* gének viszont a törzsek kevesebb, mint 10%-ában voltak detektálhatóak. A sertés és nyúl eredetű törzsek esetében a *hgbB* és *hsf-1* génszakaszok előfordulása 70% felettinek adódott, a *tbpA*, *pfhA*, és *tadD* gének viszont csak a törzsek kevesebb, mint 30%-ában voltak azonosíthatóak. Az emlősökből izolált *P. multocida* törzsek feltételezett virulenciagénjeinek vizsgálata során gazdafaj-adaptációra utaló jeleket sikerült kimutatni, melyek molekuláris epidemiológiai markerként is szolgálhatnak.

SZABÓ RÉKA, WEHMANN ENIKŐ és MAGYAR TIBOR *Ornithobacterium (O.) rhinotracheale* törzseket jellemeztek genotipizáló PCR-módszerekkel. A különböző gazdafaji (24 pulyka, 6 házityúk, egy-egy galamb, héja és karvaly) és földrajzi eredetű törzseket a kitenyészést követően ERIC-PCR-rel (enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR; ERIC R1 és ERIC2 primerekkel), valamint RAPD-PCR-rel (random amplified polymorphic DNA PCR; univerzális M13 primerrel) vizsgálták. ERIC-PCR segítségével kilencféle mintázatot azonosítottak. A leggyakoribb típusba 14, a második típusba 7, a harmadikba négy, a negyedikbe

két törzs tartozott, öt törzs pedig a többitől teljesen eltérő mintázatot adott. Az egyes típusok a gazdafajjal nem mutattak összefüggést, bár a házityúk és galamb eredetű törzsek nagyobb változatosságot mutattak, mint a pulyka eredetűek. A vadmadaraktól izolált törzsek a leggyakoribb típusba tartoztak. RAPD-PCR rendszerben hatféle mintázatot különböztettek meg. Az első típusba 25, a másodikba és harmadikba két-két törzs tartozott, négy törzs mintázata pedig egyik csoportba sem volt besorolható. Egyik módszerrel sem találtak összefüggést a törzsek eredete és a mintázat típusa között. Eredményeik alapján a két felhasznált módszer alkalmas az *O. rhinotracheale* törzsek genetikai változatosságának vizsgálatára, így járványtani vizsgálatok során is alkalmazhatók. Az eltérő mintázatok eltérő fertőzési forrást feltételeznek, a vadmadaraktól származó törzsek hasonlósága a pulyka eredetű törzsekhez pedig az előbbieket lehetséges rezervoár és fertőzés közvetítő szerepére utal.

MAKRAI LÁSZLÓ, SÁGI KRISZTINA és BÉKÉSI LÁSZLÓ SZABOLCS a háziméh (*Apis mellifera*) nyúlós költésrothadását okozó *Paenibacillus (P.) larvae* hazai reprezentatív izolátumaiból törzsgyűjteményt hoztak létre annak érdekében, hogy a baktériumfaj tulajdonságait (virulenciaváltozatok, szerotípusok, fenotípusos és genotípusos sajátosságok, fertőtlenítőszerekkel szembeni érzékenység stb.) jobban megismerhetővé tegyék, ami hozzájárulhat a betegség elleni védekezéshez és kártétel csökkentéséhez. Magyarország 19 megyéjéből (142 település és Budapest) gyűjtött 297 mézmintából 82 *P. larvae* izolátumot tenyésztettek ki. A vizsgálatban részt vevő méhészeket tájékoztatták a méhészetük fertőzöttségének állapotáról, és létrehozottak egy hazai reprezentatív baktérium-törzsgyűjteményt, amely 82 *P. larvae* izolátumot tartalmaz 17 megye 48 településéről és Budapestről, lehetőséget nyújtva további vizsgálatok elvégzésére.

SVÁB DOMONKOS, BÁLINT BALÁZS, MARÓTI GERGELY és TÓTH ISTVÁN az atípusos *Escherichia (E.) coli* T22 O157:H43 szerotípusú törzs profágjainak teljes genomszekvencia-meghatározással történő azonosításáról és genetikai jellemzéséről számoltak be. Az *E. coli* T22 O157:H43 törzs tíz profág régiót tartalmaz, amelyek együttes hossza 339 kb, ez a teljes genomnak (4,9 Mb) mintegy 7%-át teszi ki, egyedi hosszuk 13 és 51 kb között változik, GC-arányuk 45,5–52,6% közötti. Genetikai felépítésük és génszekvencia-hasonlóságok alapján három profág lambda-szerű, három P2-szerű, egy nem besorolható, a többi három közül pedig egy-egy rendre a PhiP27 és a P4 profággal, valamint egy *Shigella* szerotípus konvertáló fággal mutat részleges egyezést. Négy profágban azonosítottak tényleges és feltételezett virulenci-

agéneket, a korábban részletesen jellemzett citoletális duzzasztó toxin V-ös típusát, a hőlabilis enterotoxin IIc altípusát, valamint a Bor lipoproteint és a Lom-szerű fehérjét, utóbbiaknak feltételezések szerint a szérum-rezisztenciában, ill. az adhézióban lehet szerepe. Eredményeik alapján az *E. coli* O157:H43 T22 jelzésű atípusos törzsnek a szerocsoport többi ismert tagjához hasonlóan kiterjedt profágkészlete van. E profágok azonban genetikailag jelentősen különböznek a tipikus EHEC és EPEC O157 törzsek profágjaitól, ami mutatja, hogy az *E. coli* T22 törzs a fentiekől eltérő evolúciós utat járt be. A profágok által hordozott virulenciagének a bakteriofágok vektorszerepét jelzik, eltérő GC-arányuk pedig a gazdához való különböző mértékű adaptációra vagy a kromoszómába történő integráció eltérő időpontjára utalhat.

TÓTH ISTVÁN, SVÁB DOMONKOS, BÁLINT BALÁZS, MARYURY BROWN-JAQUE és MARÓTI GERGELY *Shigella (S.) sonnei* Shiga toxin (Stx) konvertáló fágjának első teljes genom leírásáról számoltak be. A Shiga toxin (Stx) termelő *Escherichia (E.) coli* (STEC) súlyos közegészségügyi veszélyt jelent. Az STEC és enterohaemorrhagias *E. coli* (EHEC) kulcs virulenciafaktorát jelentő *stxAB* gének konvertáló fágok genomjában foglalnak helyet, melyet elsőként *S. dysenteriae*-ben mutatták ki több mint 100 éve. Vizsgálataik során a 75/02 *S. sonnei* klinikai törzsből indukciót követően izolálták az Stx1 profágot. A fág morfológiáját elektronmikroszkóppal vizsgálták, és meghatározták a genom nukleotidsorrendjét. A *Podoviridae* morfológiájú *Shigella* 75/02 jelzésű Stx fág indukálhatónak bizonyult, mellyel sikeresen lizogénizáltak három *E. coli* K-12 (C600, DH5 α és MG1655) törzset. A K-12 lizogén törzsek citotoxicitását Vero sejttenyészetben demonstrálták. A 75/02 Stx fágnak cirkuláris genomja van, melynek mérete 60,875 nt. A lambda fág szerveződésű genom, jelentős mozaikszerkezetet mutatott, mely genomban 76 nyitott leolvasási keretet (ORF) azonosítottak. A kódolt fehérjék mindegyike, így a 37 hipotetikus fehérje is jelentős homológiát mutatott egyéb, az adatbankban szereplő fágfehérjékkel. A *S. sonnei* 75/02 Stx1 fág mind a szülői törzsből, mind a lizogénizált K-12 törzsek genomjában az *ynfG* oxidoreduktáz génbe épült be. Az Stx1 profág stabilan replikálódott a lizogénizált törzsekben, és indukálható tulajdonságát is megtartotta. Az a tény, hogy a *Shigella* 75/02 Stx fág nagyfokú hasonlóságot mutat Stx2 fágokkal, azt mutatja, hogy az Stx1 és Stx2 fágokra jellemző régiók képesek egymás között kicserélődni.

Dr. Jánosi Szilárd

Élettan – Biokémia – Kórtan – Gyógyszertan és toxikológia – Morfológia

Idén 42. alkalommal, 2016. január 25–28. között rendezték meg az Akadémiai Beszámolókat a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Karán. A nyitónapon az élettan és biokémia, patológia, gyógyszer-tan és toxikológia, valamint morfológia szekciók előadásai hangzottak el az élettani előadóteremben. A szekció társelnöki tisztségét SÓTONYI PÉTER, FRENÝÓ V. LÁSZLÓ, BARTHA TIBOR és CSÍKÓ GYÖRGY vállalták.

CZEIBERT KÁLMÁN, BAKSA GÁBOR, SZABÓ PÉTER, GRIMM ANDRÁS, NAGY SZILVIA, BOGNER PÉTER, SÓTONYI PÉTER, RÁCZ BENCE és PETNEHÁZY ÖRS szeletanatómiai vizsgálatunkban bemutatták az elmúlt évtizedekben szerepet játszó főbb humán és állatorvosi jelentőségű vizsgálatokat, és összevették azokat a saját kísérletei eredményeikkel. Hagyományos szeleteléses eljárással mutatták be egy pulyka és egy sertés keresztmetzeti képeit: mindkét esetben fix keretrendszerben végzett képalkotó vizsgálatok után poliuretánhabba ágyazták a testeket. A hab egyenletesen tágulva kitöltötte a test melletti területet, és stabilan rögzítette a végtagokat. Az így elkészült blokkokat $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os hűtőben tárolták, majd egy héttel később tetemfűrészszel 8 mm-es vastagságú szeleteket készítettek a testekből (a munkapad kontakt felszínét folyamatosan hűtve szárazjéggel), majd rögzített állványú kamerával (Nikon D800) digitalizálták az egyes szeleteket. Véleményük szerint a rétegmarás egyaránt bemutatja és összehasonlíthatóvá teszi a hagyományos képalkotó eljárások leleteit (annak minden előnyével és nehézségével), valamint a valós anatómiai viszonyokat, és az olyan esetekre is le lehet vonni a következtetéseket, amikor egyébként csak *in vivo* vizsgálatra van mód.

BÁRÁNY ZOLTÁN, SOMOGYI VIRÁG, STERCZER ÁGNES és FRENÝÓ V. LÁSZLÓ a humán és állatorvosi vonatkozásban is jelentős neuropszichiátriai kórképet, a hepaticus encephalopathiát tanulmányozták. Céljuk egy, a kórkép fennállásakor a gliasejtekben lejátszódó kóros folyamatok vizsgálatára alkalmas primer astrocyta-tenyésztés létrehozása és protokoll kidolgozása volt. A sejtenyésztés előállítására 2 napos Wistar-patkányok nagyagyából nyert sejteket ültettek Petri-csészébe, majd a sejt-kultúra összetételét immunhisztokémiai

eljárással vizsgálták. A kiültetett sejtek kéthetes tenyésztést követően összefüggő, egyrétegű, ép morfológiájú astrocyta-tenyésztet képeztek, melyben az astrocyták aránya meghaladta a 90%-ot. Ennek alapján megállapították, hogy az általuk kidolgozott és beállított primer astrocyta sejt-kultúra morfológiai jellemzői, életképessége és összetétele az irodalmi adatok alapján megfelelő, alkalmas a rajta elvégzendő vizsgálatok megvalósítására, valamint a későbbiekben tervezett agyi endothel-astrocyta ko-kultúra létrehozásához felhasználható.

JÓCSÁK GERGELY, BARTHA TIBOR, GOSZLETH GRÉTA és ZSARNOVSKY ATTILA kutatásainak középpontjában a zearalenon mint endogén diszruptor állt. Korábban már bizonyítást nyert, hogy az ösztrogén és a pajzsmirigyhormonok képesek saját és egymás receptorainak expresszióját módosítani, amelyet endogén diszruptorok is befolyásolhatnak. Ezért a kutatócsoport primer patkány kisagyi sejtenyésztésen vizsgálta a zearalenon ösztrogén- és pajzsmirigyhormon receptorokra gyakorolt hatását, ill. a kapott eredményeket hasonlította össze *in situ* minták referencia értékeivel. A receptorok expressziójának mértékét PCR és Western blot technikával meghatározva igazolták a receptorokra kifejtett szabályozó hatást mind az említett hormonok, mind a zearalenon esetében, valamint megállapították, hogy a gliasejtek fontos mediátorai ezen folyamatoknak. Eredményeikből arra következtetnek, hogy a kisagy optimális fejlődéséhez az ösztrogén és pajzsmirigyhormonok megfelelő aránya szükséges, de ezt az állapotot exogén hormonhatású vegyületek, mint a zearalenon nagymértékben befolyásolhatják.

TÓTH ISTVÁN, KISS DÁVID SÁNDOR, ASHABER MÁRIA, FRENÝÓ V. LÁSZLÓ és ZSARNOVSKY ATTILA előadásából megtudhattuk, hogy a táplálékfelvétel és a szaporodásbiológia irányításában központi szerepet játszó, anatómiailag és szövettanilag szimmetrikus felépítésű hypothalamus jobb és bal oldalán helyeződő magcsoportok eltérő metabolikus aktivitásúak, amely függ a tápláltsági állapottól. Kísérleteik során programozottan etetett, intakt hím patkányokat használtak fel, amelyekből az éhezés-jólakottság ciklus különböző időpontjaiban mintát vettek, majd a hypothalamus egyes területeinek aktivitását mitokondriális légzésmérés segítségével vizsgálták. Eredményeik alapján a hypothalamus féltekéi közötti metabolikus különbség dinamikus ingadozást mutat, amely a jólakottság mértékén túl cirkadián ritmussal is összefüggésbe hozható. Annak megállapítására, hogy a két tényező milyen mértékben áll a jelenség hátterében, azok időbeli elkülönítését, valamint további hypothalamikus és vérben keringő faktorok, mint a ghrelin, a leptin és a progeszteron tanulmányozását tervezik.

RÁCZ BENCE, BABITS RÉKA, HALASY KATALIN és SÓTONYI PÉTER munkájuk során a táplálékbevitel-csökkentés indukálta szinaptikus változásokat vizsgálták rágcsálók hippocampusában. Kísérleteik során akut éheztetés hatását elemezték kvantitatív elektronmikroszkópos módszerekkel patkány hippocampusban. Mivel a hippocampalis dendrittüskék alak- és méretváltozásai alapvető szerepet játszanak a szinaptikus hatékonyság kialakításában, vizsgálataikat a hippocampus CA1 stratumban végezték, amely a szinaptikus plaszticitási folyamatok legkedveltebb modellterülete. Eredményeik szerint már az ilyen rövid ideig tartó táplálékmegvonás is specifikus ultrastrukturális változásokat indukál a hippocampusban.

KULCSÁR ANNA, MÁTIS GÁBOR, PETRILLA JANKA, MACKEI MÁTÉ és NEOGRÁDY ZSUZSANNA a szénhidrát-anyagcsere és a növekedés szabályozásában kulcsfontosságú inzulin, ill. a glükózfüggő inzulinotróp polipeptid és glukagon-szerű peptid 1 inkretin hormonok termelődésének változását vizsgálta Ross 308 brojlercsirkéken és Pannon fehér nyulakon, szájon át adagolt butirát hatására. Az állatok bolus formájában különböző koncentrációjú butirátoldatot kaptak szondán keresztül, majd az említett hormonok plazmakoncentrációi több időpontban nyert vérmintákból határozták meg. Az eredmények rávilágítanak arra, hogy a kezelés hatására az egyes hormonok mennyisége eltérő mértékben változik a két fajban, sőt irodalmi adatokkal összehasonlítva akár emlősfajok között is jelentős eltérések lehetnek. Kiemelték továbbá, hogy a butirát alkalmazása a glükóz-homeosztázisra gyakorolt hatása révén új utat jelenthet az anyagcsere és a növekedés endokrin szabályozásának nutritív úton történő befolyásolásában, aminek kiemelt gyakorlati jelentősége van.

KENÉZ ÁKOS, JÜRGEN REHAGE, SVEN DÄNICKE és KORINNA HUBER a tejelő tehének laktáció elején fennálló energiahányos állapotának egy speciális vonatkozását tanulmányozták. Céljuk a zsírszövetben ebben az időszakban jelentkező csökkent inzulinérzékenység hátterében álló történések felderítése az inzulin jelátvitelben kulcsszerepet játszó fehérjék expressziójának és foszforiláltságának jellemzésével. A biopsziás mintákat bőr alatti és hasúri zsírszövetből vették az ellést megelőzően és utána több alkalommal, majd Western blot analízis segítségével megállapították, hogy az ellést követően a vizsgált fehérjék többségének expressziója és/vagy foszforiláltsága csökkenést mutatott, majd lassan visszaállt az ellést megelőző értékre. Ezzel szemben egyes elemek fokozott expressziója jellemezte a bőr alatti zsírszövetet. A csoport eredményeit a zsírszövet megváltozott élettani állapotra adott összehangolt reakciójaként értelmezik, amelynek köszönhetően ellést

követően ugyanazon inzulin stimulus kisebb választ vált ki a zsírszövetben, elősegítve ezzel az energiadeficit okán szükségessé váló katabolikus folyamatokat, ill. megőrzi a glükózt a tejmirigy számára.

MÁTIS GÁBOR, KULCSÁR ANNA, PETRILLA JANKA, ORBÁN KATA és NEOGRÁDY ZSUZSANNA a terpinen-4-ol és a nátrium-n-butirát gyulladáscsökkentő hatékonyságát vizsgálták egy – a kutatócsoport által létrehozott, akut és krónikus gyulladás modellezésére alkalmas – sertés eredetű hepatocytá-Kupffer-sejt kokultúra, valamint hepatocytá monokultúra sejtmodelleken. A sejteket bakteriális lipopoliszacharid és az említett gyulladáscsökkentő anyagok egyidejű alkalmazásával kezelték, majd ELISA-módszerrel meghatározták a tápfolyadék interleukin-8 koncentrációját. Kimutatták, hogy mind a terpinen-4-ol, mind a butirát hatékonyan csökkentette a gyulladásos citokin termelését hepatocytá monokultúrák esetében, ugyanakkor hatástalannak bizonyult az akut és a krónikus gyulladást modellező kokultúráknál. A jelenségre magyarázatul szolgálhat a Kupffer-sejtek emelkedett interleukin-8 termelése a kokultúrákban, így a tesztelt anyagok alkalmazott koncentrációi nem voltak képesek azt szignifikánsan mérsékelni az adott inkubációs idő alatt. Ezzel a Kupffer-sejtek gyulladásos válaszreakciók szabályozásában betöltött központi szerepe is újabb megerősítést nyert, amely nem elhanyagolható gyulladáscsökkentő anyagok hatékonyságának *in vitro* vizsgálata során.

CZIMMERMANN ÁGNES ESZTER, BARNA RÉKA FANNI, MEGYGYESHÁZI NÓRA és PÁSZTINÉ GERE ERZSÉBET transzmembrán szerin-proteázok gátlását vizsgálták sejtrendszerekben. Kísérleteikben célul tűzték ki egy szintetikus 3-amidinofenilalanin alapvázú szelektív TMPRSS2 inhibitor, az I-432 gátlószert és a bélhám interakciójának jellemzését, valamint az inhibitor *in vitro* hatékonyságának meghatározását a metasztázisképződés gátlásában. Kísérletük során az I-432 hatásmódját nem tumorosan transzformált, sertés jejunális eredetű IPEC-J2 sejteken vizsgálták. Az I-432 inhibitor sejtekre gyakorolt toxikus hatását Neutral red, a hidrogén-peroxid mennyiségét Amplex red módszerrel határozták meg. A TMPRSS2 expresszióját immunfluoreszcens festéssel és Western blot módszerrel vizsgálták. A TMPRSS2 proteáz aktivitását fluorogén szubsztrát hozzáadásával fluoriméterrel mérték. A metasztázisgátlás megítéléséhez transzmigrációs kísérletekben humán emlőkarcinóma sejtvonalat, MDA-MB-231 sejteket használtak, amelyeket hCMEC/D3 humán agyi endothelsejtekre helyeztek. Az IPEC-J2 sejtek I-432 inhibitorral való kezelése nem okozott sejtpusztulást. Eredményeik alapján az I-432 inhibitor sikeresen gátolta a TMPRSS2 enzim tripszinszerű aktivitását a sejtek

felülúszójában, valamint csökkentette a TMPRSS2 aktív szerin-proteáz doménjének expresszióját IPEC-J2 sejtekben. Az I-432 gátlóhatása során nem emelkedett meg a hidrogén-peroxid-szint. A transzmigrációs mérés során megállapították, hogy a TMPRSS2 gátlószerek nem volt szignifikáns hatása az emlőkarcinóma-sejtek vándorlására az agyi endothelsejteken át.

JERZSELE ÁKOS, GYETVAI BÉLA, VERES ADRIENN MERCÉDESZ, LANG ZSOLT, VESZPRÉMI VANDA és GÁLFI PÉTER *Staphylococcus pseudintermedius* törzsek 8 napos sorozatpasszálásának hatását vizsgálták marbofloxacin, ill. a marbofloxacin-gentamicin (1 : 1) kombinációval szembeni rezisztencia alakulására. Vizsgálatuk célja az volt, hogy tanulmányozzák kutyákból izolált *S. pseudintermedius* törzsek érzékenységének csökkenését 8 napos, naponta egyszeri passzálást követően, szubinhibitoros koncentrációjú marbofloxacin, ill. gentamicin és marbofloxacin 1 : 1 arányú oldataiban vizsgálva. A vizsgálatokhoz 32 *Staphylococcus pseudintermedius* törzset használtak fel, melyeket kutyák bőr-, ill. fülgyulladásos eseteiből izoláltak. A szubinhibitoros koncentrációban alkalmazott marbofloxacin : gentamicin esetében mért MIC-értékek a sorozatpasszálás során alig növekedtek, szemben a csak marbofloxacin tartalmazó oldatban mért MIC-értékekkel, ahol az összes vizsgált törzs esetében jelentős MIC-növekedés volt tapasztalható. A kombinációnál ugyanakkor a törzsek 25%-ánál egyáltalán nem nőtt a MIC, nem fejlődött ki rezisztencia. A 8. napra a marbofloxacinban passzált törzsek esetében átlagosan 11,67-szeres, míg a marbofloxacin-gentamicin esetében átlagosan 3,0-szoros MIC-érték-növekedést tapasztaltak. A szimultán statisztikai próbával, 5%-os első fajta hiba mellett az első napon nem volt szignifikáns különbség ($p = 0.6570$) az önállóan és a kombinációban alkalmazott hatóanyagok között, a többi napon azonban kivétel nélkül a marbofloxacin trendje volt szignifikánsan nagyobb ($p < 0,0001$).

JERZSELE ÁKOS, VERES ADRIENN MERCÉDESZ, LUKÁCS KÁROLY, BALOGH TAMÁS és GÁLFI PÉTER kutyabőrgyulladás eseteiből izolált *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus pseudintermedius* és *Streptococcus canis* törzsek érzékenységét vizsgálták azitromicinre, mikonazolra és szulfametoxazolra, ill. ezen hatóanyagok szinergizmusát tesztelték. A MIC-értékek meghatározásához a mikrodilúciós módszert alkalmazták. A kombinációk esetében mindig 1 : 1 arányú keveréket használtak. *P. aeruginosa* esetében azitromicin (AZM) esetében a MIC-ek 2-128 $\mu\text{g/ml}$, szulfametoxazolnál (SMX) 32-256 $\mu\text{g/ml}$ között voltak, mikonazol esetében (M) nem volt gátlóhatás. A MIC-értékek a kombinációkban az alábbiak adódtak: AZM + M 2-128 $\mu\text{g/ml}$ között, AZM + SMX 2-128 $\mu\text{g/ml}$, míg SMX + M-nél minden törzs

rezisztensnek bizonyult $> 256 \mu\text{g/ml}$ feletti értékekkel. *Staphylococcus*oknál a MIC-értékek a következők szerint alakultak. AZM esetében 0,125-32 $\mu\text{g/ml}$ között, M esetében 1-4 $\mu\text{g/ml}$ között, SMX esetében 8-32 $\mu\text{g/ml}$ között. A kombinációk esetében jóval kisebb MIC-értékeket mértek, amelyek alapján szinergizmust tudtak igazolni. AZM + SMX kombinálásakor 0,03125-0,5 $\mu\text{g/ml}$ közötti, AZM + M esetén 0,125-4 $\mu\text{g/ml}$ közötti, ill. SMX + M esetében 1-4 $\mu\text{g/ml}$ közé estek a MIC-értékek. A három hatóanyag együttes alkalmazásakor a MIC-értékek 0,25 és 0,5 $\mu\text{g/ml}$ között voltak. *Streptococcus canis* vizsgálatokor AZM esetén 0,25-32 $\mu\text{g/ml}$ közötti, SMX esetén $> 256 \mu\text{g/ml}$ (teljes rezisztencia), M esetén 8-32 $\mu\text{g/ml}$ között. A kombinációk vizsgálatokor AZM + SMX esetében 0,25-32 $\mu\text{g/ml}$ között, AZM + M esetén 0,125-16 $\mu\text{g/ml}$ között mozogtak a MIC-értékek, míg SMX + M esetében 8 $\mu\text{g/ml}$ volt a MIC. A *P. aeruginosa* vizsgálatokor nem találtak szinergizmust, parciális szinergizmus előfordult. *Streptococcus*oknál ugyanakkor az AZT + SMX parciálisan szinergistának bizonyult, a másik két kombináció additív maradt. *Staphylococcus*ok esetében azonban AZM + SMX-nál 50%-ban szinergista és 12,5%-ban parciális szinergista volt a kombináció. AZM + M-nél 25%-ban szinergista és 9,4%-ban parciális szinergista volt. SMX + M-nél az addíció dominált. A tripla kombináció 47%-ban teljes szinergizmust mutatott *staphylococcus*ok ellen, antagónizmust egy törzsnél sem találtak.

KARANCSI ZITA, SZABÓ ANDREA, FARKAS ORSOLYA és GÁLFI PÉTER a kvercetin és metoxiszármazékainak oxidatív stresszre gyakorolt hatását vizsgálták IPEC-J2 sejteken. Céljuk az volt, hogy különbséget ismerjenek fel az egyes hatóanyagok között, és bizonyítsák a kvercetin jótékony hatását a LPS és H₂O₂ által indukált oxidatív stresszben. Neutral Red módszerrel vizsgálták, hogy a tesztvegyületek biztonsággal alkalmazhatók IPEC-J2 sejteken. Oxidatív stresszt LPS 10 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációjú oldatával, valamint H₂O₂ 0,5 mM-os oldatával váltottak ki. A kísérletben kvercetin (Q), tamarixetin (4'-o-metil-kvercetin, Q1m) és kvercetin-3,7,3',4'-tetrametil-étert (Q4m) 25 és 50 μM -os koncentrációban tesztelték. A kezelt sejteket redoxállapotát 24 óra elteltével DCFH-DA fluoreszcens próba alkalmazásával jellemezték. Az extracelluláris H₂O₂ szintjének meghatározását Amplex Red próbával végezték. A Q1m és Q4m származék 25 μM koncentrációban csökkentette a sejten belüli reaktív oxigénszármazékok (ROS) mennyiségét. Ugyanakkor 50 μM kezelés esetében a szabadgyökök szintjének emelkedését tapasztalták Q1m és Q4m kezelést követően, amely prooxidáns hatást valószínűsít. Az LPS kezelés a ROS-szint növekedését okozta, amelyre a kvercetinszármazékok nem voltak hatással. Hidrogén-peroxidos kezelés a metoxiszármazékok esetében

szintén ROS-csökkenéshez vezetett. Vizsgálataik alapján a kvercetin metoxiszármazékai alkalmasak lehetnek az oxidatív stressz káros hatásának kivédésére.

KOVÁCS DÓRA, PALÓCZ ORSOLYA, KARANCSI ZITA, CSIKÓ GYÖRGY és FARKAS ORSOLYA flavonoidok hatását vizsgálták a citokróm-P450 enzimrendszerre IPEC-J2 sejteken. Vizsgálataik során a bélhám citokróm P450 enzimeit *in vitro* kezelték két flavonoiddal (apigenin és származéka a trimetoxi-apigenin). A kísérlet során egészséges sertésjejunumból származó IPEC-J2 sejteket használtak. Az apigenint 25 μM és 50 μM koncentrációban, a trimetoxi-apigenint 25 μM koncentrációban alkalmazták. A sejteket ismert CYP induktorral (fenobarbitál 1 mM) és CYP gátlóhatású vegyületekkel is kezelték (50 μM naftoflavon + 25 μM ketokonazol). A CYP1A1, CYP1A2 és CYP3A29 enzimek aktivitását kemilumineszcens módszerrel követték nyomon. A CYP-gének kifejeződését qRT-PCR módszerrel vizsgálták. Vizsgálták továbbá a gyógyszer-interakció lehetőségét az apigenin és antipirin esetében. Kimutatták a CYP3A29 enzim aktivitását az IPEC-J2 sejtekben, míg a CYP1A1 és a CYP1A2 enzimek aktivitása nem volt detektálható. Ezzel szemben a transzkripció szintjén mindhárom vizsgált CYP-enzim kimutatható volt. Az apigenin mindkét koncentrációban és a 25 μM trimetoxi-apigenin egyaránt szignifikáns ($p < 0,05$) CYP3A29 gátlónak bizonyult. Az apigenin 50 μM koncentrációja 90% feletti valószínűséggel bizonyult hatékonyabb gátlónak, mint a 25 μM apigenin. A trimetoxi-apigenin nem mutatott erősebb gátlóhatást, mint a 25 μM apigenin. Ugyanakkor a trimetoxi-apigenin induktorral kombinálva szignifikáns CYP3A29 gátlóként viselkedett mind a kontrollhoz, mind a 25 μM apigenin + induktor kombinációhoz viszonyítva. Az antipirin gátlóhatást fejtett ki a CYP3A29 enzimre, mely hatás az apigenin és antipirin együttes alkalmazásakor tovább erősödött. A qPCR-vizsgálatok alapján megállapították, hogy az apigenin a CYP3A gén működését gátolta, míg a CYP1A1 génre 50 μM koncentrációban serkentő hatással bírt.

KÖVÁGÓ CSABA, JAKE OSTER-WEINBERGA, KISS ÉVA, VANCsik TAMÁS és GÁLFI PÉTER vizsgálataikban össze kívánták hasonlítani a modulált elektro-hipertermia (mEHT) 3D sejttenyészetre kifejtett hatását korábbi, *in-vivo* kísérleteik eredményeivel. A kísérletben Matrigél-alapú 3D szövetkultúrát hoztak létre egér-colon-adenocarcinoma eredetű C26-os sejtekből, és négy kísérleti csoportot alakítottak ki, HT (hipertermia), Non-cont mEHT, Cont-mEHT és egy kontrollcsoport. A mintákról a kezelések előtt és 24 órával később natív mikroszkópos, majd hematoxilin-eozinnal (H-E) festett metszeteket készítettek a sejtek morfológiájának, kapcsolatainak felderítése, valamint az élő és elhalt sejtek számának meghatározására.

Immunistokémiai (IHC) festéseket végeztek a HSP60, HSP70 és BAX fehérjék mennyiségének, lokalizációjának megismerésére, ill. Tunel-vizsgálatot hajtottak végre az apoptotikus sejtek kimutatására, a sejtmagokat DAPI-val jelölték. A kultúrák natív képein a daganatsejtekre jellemző, fészkes sejtcsoportokat láttak, amelyek egymással sejtes hidakkal kapcsolódtak, és a tér minden irányába kiterjedtek. A H-E-festett metszetek vizsgálatakor a kezelt mintákban több piknotikus magot, ill. apoptotikus testet lehetett látni. Az IHC-vizsgálatok eredményeként a HSP70 fehérje felülregulációját figyelték meg a kezelt, különösen a „Cont-mEHT” mintákban. A Tunel assay apoptózisra utaló eredmény hozott a kezelt mintákban, és a BAX festés is megerősítette a nagyszámú apoptotikus sejt jelenlétét.

PALÓCZ ORSOLYA, FARKAS ORSOLYA, SZENTMIKLÓSI DIÁNA, NAGY TAMÁS és CSIKÓ GYÖRGY xenobiotikumok hatását vizsgálták házinyúl eredetű citokróm-P450 enzimrendszerre *in vivo* és *in vitro*. Vizsgáltuk célja volt *in vitro* modellrendszer kialakítása a citokróm enzimek vizsgálatára, valamint a rendszer ellenőrzése *in vivo*. Nyúl primer májsejtkultúrát hoztak létre, majd a vizsgált CYP450 enzimekre (CYP1A1, CYP1A2, CYP3A6) specifikus indukáló- (0,5 mM fenobarbitál) és gátlószerekkel (50 μM alfa-naftoflavon, 25 μM ketokonazol), ill. 25 és 50 μM koncentrációjú apigeninnel (flavonoid) egy órán át kezelték a hepatocytatenyészeteket. Továbbá, 12 új-zélandi fehér nyulat három csoportra osztva (kontroll, indukált, gátolt) három napon át kezelték 80 mg/ttkg fenobarbitállal, valamint 40 mg/ttkg ketokonazzal. A harmadik kezelési napon a májakat eltávolították, majd elvégezték a mikroszóma-szeparálást. Az enzimaktivitásukat a kemilumineszcencia módszerével, a citokróm gének kifejeződését, a transzkripció szintjén qRT-PCR-rel mutatták ki. A fenobarbitál mind *in vitro*, mind *in vivo* serkentőként hatott mindhárom vizsgált CYP-enzim aktivitására. A ketokonazol *in vitro* körülmények között erősen gátolta a CYP1A1, valamint a CYP3A6 enzimek aktivitását, amely hatás a CYP3A6 izoenzim esetén *in vivo* is megegyező volt, azonban a CYP1A1 esetében aktivitásnövekedés jelentkezett. Az mRNS szintjén azonban a ketokonazol fokozta a CYP1A1, valamint a CYP3A6 gének expresszióját *in vitro*. A fenobarbitál hatására mindhárom izoenzim génexpressziója növekedett. Az *in vitro* alkalmazott apigenin mindkét koncentrációjában gátlószerként hatott a CYP1A2 és a CYP3A6 izoenzimek aktivitására.

SOMOGYI ZOLTÁN, PALÓCZ ORSOLYA és CSIKÓ GYÖRGY béta-glükán hatását vizsgálták baromfikolera-vakcina védőhatására. A béta-1-3,1-6-glükán (β -glükán) a *Saccharomyces cerevisiae* sejtfalából nyert természetes poliszacharid, amelynek az immunrendszerre több ponton kifejtett serkentőhatása támogathatja a természetes és szerzett immunválaszt. Ennek igazolására végezték az alábbi vizsgálatot. Kísérletükben 50,

napos korú házityúkot 5 csoportra osztottak: kontrollcsoport, előkezelt kis és nagy dózisu, valamint elő- és utókezelt kis és nagy dózisu csoportok (5 mg/ttkg és 50 mg/ttkg β -glükán). A vakcinázást 4 hetes korban végezték. A β -glükán vakcinázásbefolyásoló hatását a csirkék véréből mért *P. multocida* ellen képződött ellenanyag-titer-szintek változásán keresztül vizsgálták, amelyet ELISA diagnosztikai teszt segítségével határoztak meg. Vizsgálatuk eredményei azt mutatták, hogy a β -glükán hatására a baromfikolera elleni vakcina

hatására kialakult ellenanyag-szintek egyenletesebbnek bizonyultak a kontrollcsoporttal összehasonlítva. Az 50 mg/ttkg β -glükánnal kezelt mindkét csoportban és az 5 mg/ttkg adaggal 10 napig kezelt valamennyi egyedben kialakultak a védettség kialakulásához szükséges ellenanyag-titer-szintek, míg a kezelést nem kapó csoportban elégtelen eredményeket is kaptak.

**Dr. Petrilla Janka, Dr. Jakab Csaba
és Dr. Jerzsele Ákos**

HELYREIGAZÍTÁS

A szerző ezúton kéri a Lap 2016. júniusi számában megjelent "*Collyriclum faba* (Bremser, 1831) mótelyfaj előfordulása szigetközi és Rábca menti tőkésrécékben" c. Szerkesztőségnek írt levele tartalmának utólagos helyreigazítását.

"A vizsgált paraziták ismételt morfológiai vizsgálata során egyértelművé vált, hogy azok valójában nem

mótelyek, hanem sarcocystis-tömlők. Számolva azzal hogy vadkacsánál találták, így feltehetően a *Sarcocystis rileyi* faj előfordulását észlelték. A szerző az elhamarkodott diagnózisért ezúttal kérek elnézést mind a Szerkesztőségtől, mind pedig a Tisztelt Olvasótól!"

Prof. Dr. Egri Borisz



HERMAN OTTÓ INTÉZET

„Legyünk büszkék arra,
amik voltunk, s igyekezzünk
különbek lenni annál,
amik vagyunk!”



Hirdessen Ön is
a **Magyar Állatorvosok Lapja** c.
tudományos-szakmai folyóiratban!



Hirdetési
felületek már
60 000 Ft-tól

Többszöri megjelenés esetén
további engedményeket
biztosítunk

Hirdetési áraink:

Most kedvező áron tesszük
közzé hirdetését
a Magyar Állatorvosok Lapja c.
tudományos-szakmai
folyóiratban.

1/1	170 x 245 mm	130 000 Ft
1/2	170 x 118 mm	110 000 Ft
1/3	170 x 76 mm	75 000 Ft
1/4	170 x 55 mm	60 000 Ft
B2, B3, B4	200 x 285 mm	155 000 Ft



Bővebb információért keresse kollégáinkat
a lenti elérhetőségek bármelyikén:
Postacím: Herman Ottó Intézet
1223 Budapest, Park u. 2.
Telefon: 06-1/362-8100, 06-1/362-8137
E-mail: info@agrarlapok.hu