

# MADÁRINFLUENZA-VÍRUSOK ELŐFORDULÁSA MAGYARORSZÁGON

TANYI JÁNOS

az állatorvostudományok kandidátusa

Állategészségügyi Intézet, Debrecen

## A feladat célkitűzései

Vizsgáltam a madárinfluenza-vírusok kimutatására is alkalmas módszerek igénybevételével a madárinfluenza-vírusok és a betegség hazai előfordulását, elterjedtségét és jelentőségét. Vizsgálataimat elsősorban a Debreceni Állategészségügyi Intézet működési területéhez tartozó Hajdú-Bihar, Szabolcs-Szatmár, Szolnok megye baromfiállományaiban végeztem.

Rendszeres *vírusizolálási kísérleteket* hajtottam végre elsősorban nagyüzemi baromfiállományokban, ha

- a) kóroktanilag tisztázatlan légúti vagy általános megbetegedések,
- b) az alapdiagnózishoz viszonyítva túlságosan súlyos megbetegedések,
- c) indokolatlan vagy súlyos szövődmények,
- d) ismeretlen és szokatlan kórképek,
- e) ismert, de még nem minden vonatkozásában tisztázott vagy csak

virológiai vizsgálattal tisztázható kórképek fordultak elő.

Rendszeres *vírusszerológiai vizsgálatokat* is végeztem az influenza-vírussal fertőzött vagy beteg állományokból, a mesterséges fertőzések során vizsgált és tanulmányozott állatokból, *szűrővizsgálatokat* pedig egészségesen vágásra került hízó- vagy törzsbarmfiállományokból.

A természetes megbetegedések és a mesterséges fertőzések tanulmányozásával adatokat akartam nyerni a betegség előfordulására, elterjedtségére, járványtanára, klinikumára, kórbonctanára vonatkozóan. A megállapított megbetegedések eseteiben vizsgáltam a madárinfluenza-vírusok szerepét más, ismert kórképekben. Az izolált vírusok rutindiagnosztikai szempontból jelentős fizikai-kémiai, biológiai tulajdonságainak tanulmányozásával a madárinfluenza-vírusok gyors kimutatásának, azonosításának és jelentőségének megítélése szempontjából legelőnyösebb módszereket akartam adaptálni.

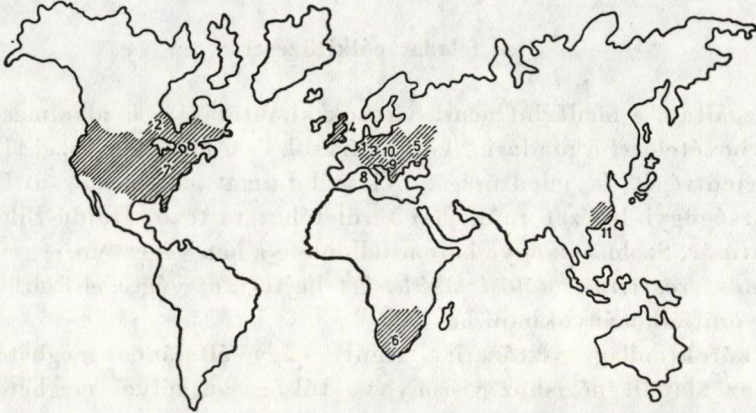
## A madárinfluenza-vírusok és megbetegedések története, jelentősége

1878-ban Olaszországban PERRONCITO figyelt meg tyúkok között egy megbetegedést, amelynek kóroktanát 1901-ben CENTANNI és SAVONUZZI vírusban jelölték meg és amelyet az 1930-as évek közepén GERLACH a Newcastle-betegségtől való megkülönböztetés céljából klasszikus baromfipestisnek nevezett



el. Ez a betegség a múlt század végétől a 30-as évekig bizonyos gazdasági jelentőségre tett szert endémiás és időközönként epidémiás előfordulásával és világszerte jelentős elterjedésével. A 30-as évek közepén elvesztette gyakorlati jelentőségét, de azért szórványosan előfordul azóta is. SCHÄFER és ROTT 1955-ben igazolták, hogy a klasszikus baromfipestis okozója A-típusú influenzavírus.

1949-ben és az 50-es években Nyugat-Németországban, Kanadában,



I. ábra. Madárinfluenza-vírus izolálások időrendi sorrendje:

- |                            |                                |
|----------------------------|--------------------------------|
| 1. 1949. Német Szöv. Közt. | 7. 1965. Amerikai Egy. Államok |
| 2. 1953. Kanada            | 8. 1965. Olaszország           |
| 3. 1956. Csehszlovákia     | 9. 1966. Jugoszlávia           |
| 4. 1956. Nagy-Britannia    | 10. 1969. Magyarország         |
| 5. 1960. Szovjetunió       | 11. 1969. Hong Kong            |
| 6. 1961. Dél-Afrika        |                                |

Csehszlovákiában, Angliában és Dél-Afrikában mutattak ki csirkéből, kacsából és küszvágó csérből influenzavírusokat. A 60-as években az izolált törzsek, az izolálási helyek és a természetesen fogékonyak talált madárfajok száma jelentősen szaporodott. E téren legfigyelemreméltóbb LANG és mtsainak kanadai, RINALDI és mtsainak olaszországi munkái, valamint az Egyesült Államokban, Szovjetunióban és Angliában végrehajtott vizsgálatok. A jelenleg ismert és 1970 decemberében Genfben, az Egészségügyi Világszervezet Állatinfluenza Bizottsága által kialakított 8 al- (szero-) típust az ugyanakkor elfogadott egységes nomenklatúra szerint az 1. táblázat tünteti fel. A megállapított madárinfluenza-vírusok földrajzi elterjedtségét az 1. ábra szemlélteti.

Mióta WEBSTERnek és PEREIRÁnak 1966-ban sikerült az első mesterséges influenzavírus-hibridet létrehoznia és 1969-ben SCHILD, PEREIRA és SCHETTLER közölték az első természetes madár-emberi influenzavírus-hibridet, a madárinfluenza-kutatás kilépett addigi szűk medréből. Azóta kimondatlanul, majd egyre határozottabban megfogalmazva napvilágot látnak azok a feltevések, amelyek szerint az emberi influenzavírusok antigénszerkezetének változásában



## I. táblázat

*Madárinfluenza-antigén altípusok a hemagglutinin és a neuraminidase alapján*

Hemagglutinin altípus	Referens törzs	Neuraminidase altípus	Referens törzs
Hav1	A/FPV/Dutch/27 (Hav1Neq1)	Nav1	A/duck/England/56 (Hav3Nav1)
Hav2	A/chicken/Germany („N”/49/Hav2N1)	Nav2	A/tern/S. Africa/61 (Hav5Nav2)
Hav3	A/duck/England/56 (Hav3Nav1)	Nav3	A/turkey/England/63 (Hav1Nav3)
Hav4	A/duck/Czeh/56 H(av4Nav1)	Nav4	A/turkey/Ontario/6118 68/Hav8Nav4)
Hav5	A/tern/S. Africa/61 (Hav5Nav2)	Nav5	
Hav6	A/turkey/Mass/65 (Hav6N2)		
Hav7	A/duck/Ukraine/63 (Hav7Neq2)		
Hav8	A/turkey/Ontario/6118/68 (Hav8Nav4)		

szerepük lehet bizonyos madárfajoknak. A madárfajok között is elsősorban a vándormadarak szerepét emlegetik egyre inkább. Ezeknek az elképzeléseknek, elméleteknek az alapját képező konkrét adatokat, a madárinfluenza-vírusok között előforduló madár-emberi, madár-ló influenzahibrideket tartalmazza a II. táblázat, amelyben a saját izolátumok is megtalálhatók.

Az Influenza Világközpont és az Egészségügyi Világszervezet szervezésében és támogatásával elsősorban az addig is jelentős vizsgálatokkal szereplő kutatóközpontok végeznek továbbra is alapvető és jól szervezett vizsgálatokat. Várható azonban, hogy az utolsó néhány évhez hasonló további kiterjedt kutatások tisztázzák a madárinfluenza-vírusok jelentőségét egyebütt is. A madárinfluenza-vírusok tanulmányozásának az emberi influenza kutatással kapcsolatos elméleti, tudományos és távlatilag közegészségügyi jelentősége felbecsülhetetlen, de emellett gazdasági kártételük is van. Bizonyos szerotípusaik és törzsek erősen patogének és jelentős veszteségeket okozhatnak. Az enyhe patogenitású szerotípusok és törzsek viszont önállóan ritkán, inkább csak szövődményekkel és társbetegségekkel együtt, esetleg azoktól eltakarva, „faktor”-betegségként okoznak gazdasági kárt. Felismerésük és differenciáldiagnosztikájuk éppen úgy nagy probléma, mint az ellenük való védekezés és a megelőzés.



## II. táblázat

*Madárinfluenza-vírusok más állatfajból származó neuraminidaseval*

Neuraminidase altípus	Referens antigén	Hemagglutinin altípus
N1	A/chicken/Brescia/1902 (Hav1N1)	1
	A/chicken/Scotland/59 (Hav5N1)	5
	A/duck/Germany/210/67 (Hav4N1)	4
	A/duck/Germany/1868/68 (Hav6N1)	6
N2	A/turkey/Massachusetts/65 (Hav6N2)	6
	A/turkey/Wisconsin/66 (Hav6N2)	6
	A/duck/Hungary/1/70 (Hav6N2)	6
Neq1	A/chicken/Germany „N”/49 (Hav2Neq1)	2
	A/FPV/Dutch/27 Hav1Neq1)	1
Neq2	A/turkey/Canada/63 Hav6Neq2)	6
	A/quil/Italy/1117/65 (Hav2Neq2)	2
	A/duck/Ukraine/1/63 (Hav7Neq2)	7
	A/guinea fowl/Hungary/1/69 (Hav2Neq2)	2

### Alkalmazott vizsgálómódszerek

Az intézetünkbe került friss baromfihullák vagy moribund állapotban kényszervágott állatok különböző szerveit, elsősorban légutait vizsgáltam meg. A víruskimutatást főleg 9—11 napos embrionált tyúktojás amnio-allantois-üregébe oltásával végeztem, de más oltásmódokat és más madárfajok embrionált tojásait is használtam. Elsődleges, másodlagos sejttenyészetekben és sejtvonalakban is végeztem vizsgálatokat, ezek közül is főként elsődleges csirke-embriofibroblaszt- és csirkeemberiovese-sejttenyészetekben.

A vírusizolálás eredményességének elbírálására és az izolátumok azonosítására hemagglutinációs, hemagglutináció-gátlási, agardiffúziós és neutralizációs próbát alkalmaztam.

A vírusok fiziko-kémiai tulajdonságai közül a hőmérsékletnek és az időtartamnak a hatását figyeltem, elsősorban az eltarthatóságra és az ellenálló-képességre mind az infektivitás, mind a hemagglutinálóképesség szempontjából



hígított, tömény és liofilizált allantois-folyadék alapulvételével. A vírus biológiai tulajdonságainak, izolálhatóságának, hemagglutinációs és eluciós képességének vizsgálatára különféle embrionált tojásokat és vöröstest (sejt-) féleségeket használtam. A kórokozóképességet napos, növendék és felnőtt tyúk-, gyöngytyúk-, pulyka- és kacsacsoportok, laboratóriumi rágszálók és emlősök természetes módon (orrkötőhártyára), esetenként egyéb úton (hasüregbe) történt fertőzésével, rendszeres klinikai, kórbonctani és vérvizsgálattal tanulmányoztam. Itt is, mint a természetes megbetegedéseknél, a járványtani, klinikai, kórbonctani, kórszöveti és szerológiai adatokat összegyűjtöttem, feljegyeztem.

Mivel a természetes megbetegedések során aspergillozis, ill. pasteurellozis párhuzamos előfordulását is megfigyeltem a néhány hetes kacsákon tapasztalt influenzamegbetegedések során, a természetes fertőzési módokat figyelembe véve megpróbáltam a vegyes kórképek összefüggéseinek kiderítésére csibéken és pulykapipéken influenzavírus-parteurella, influenzavírus-aspergillus modell-kísérleteket végezni.

Az amantadiklorid antivirális anyag víruszaporodás gátló hatását *in vitro* rendszerekben (szövetkultúrában, embrionált tojásban és túlélő chorioallantois-membránon) az izolált influenzavírusokkal megvizsgáltam.

### Eredményeim összefoglalása

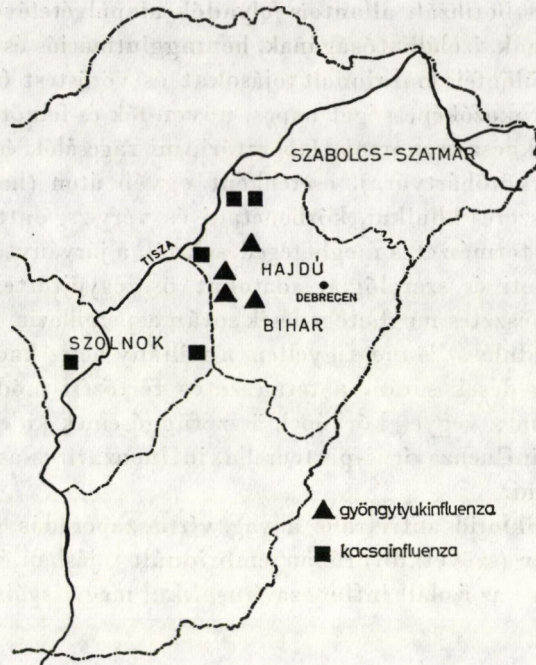
1969—1972 években évezett vizsgálataim során kifejlett, nem tojó kacsáállományokból 4 szerotípusba sorolható 9 madárinfluenza-vírusterzs köré csoportosítható összesen 52 pozitív izolátumot mutattam ki. A vírustörzsek közül 3, két szerotípussal is antigénrokonságban levő ún. „átmeneti”, 6 pedig egy-egy szerotípusba sorolható vírustörzs.

A vírustörzsek a legutóbb elfogadott nemzetközi nomenklatura szerint az izolálások időrendi sorrendjében a következők:

1. A (guinea fowl) Hungary (1) 69 (Hav2Neq2) tojó gyöngytyúkból.
2. A (guinea fowl) Hungary (2) 69 (Hav2 ?) kifejlett nem tojó gyöngytyúkból.
3. A (guinea fowl) Hungary/70 (Hav2 ?) tojó gyöngytyúkból.
4. A (duck) Hungary (1) 70 (Hav6N2) kiskacsákból.
5. A (duck) Hungary (2) 70 (Hav3—4 ?) kiskacsákból.
6. A (duck) Hungary (3) 70 (Hav4 ?) kifejlett nem tojó kacsákból.
7. A (duck) Hungary (4) 70 (Hav4 ?) kifejlett nem tojó kacsákból.
8. A (duck) Hungary/71 (Hav3—4 ?) kifejlett nem tojó kacsákból.
9. A (guinea fowl) Hungary/72 (Hav3—4 ?) tojó gyöngytyúkokból.

E vizsgálatok során *először* sikerült kimutatni *madárinfluenza-vírust* természetes megbetegedés kapcsán gyöngytyúkokból és ez volt az *első madárinfluenza-vírusizolálás Magyarországon*. A sikeres madárinfluenza-vírusizolálások helyét a 2. ábra mutatja.





2. ábra. Madarinfluenza-vírusok izolálása Magyarországon

A gyöngytyúkokon megfigyelt megbetegedések egy nagyobb gazdasági egység állományaiban enzootikusan fordultak elő, de járványszerű megbetegedéssé csak ritkán manifesztálódtak. A betegség mint faktorbetegség létrejöttében elsősorban nem fertőző stresszorok: hirtelen időjárásváltozás (főként hideg irányában), erőteljes igénybevétel a tojástermelés során, nem megfelelő tartási viszonyok stb., döntő szerepet játszottak.

A fertőzés fenntartásában az alacsony ellenanyagtiterrel rendelkező egyedek, tojóállományban az inapparenten fertőzött hímvárú állatok döntő szerepet vittek és a fertőzés terjesztésében a nemi utakon keresztül is bőséges lehetőség nyílt. A betegségre jellemző volt a hirtelen jelentkezés, általános (bágyadtság, étvágycsökkenés), légúti (cianozis, nehézlégzés, szembgödör alatti üreg gyulladás) és a nemi szervi (tojástermeléses) tünetek. Ritkán emésztőszervi (hasmenés) és idegrendszeri (összerendezetlen mozgás, a fej rendellenes tartása) tüneteket is meg lehet figyelni. Kórbonctanilag jellemző volt:

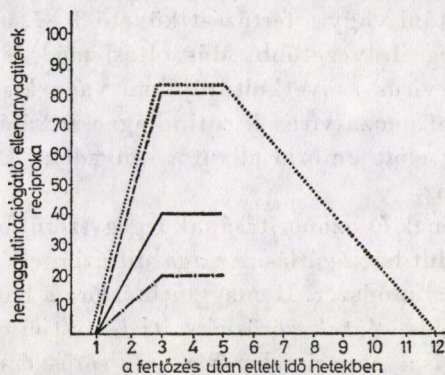
- A belső nemiszervek elfajulása, gyulladása;
- a légzsákok-savóshártyák fibrines gyulladása;
- vérzések a savóshártyákon és a mirigyegyomorban.

A kiskacsákban megfigyelt kórképek az irodalomból ismertekből alig különböztek. Csupán a hamar kialakuló szövődményes forma, ill. társbetegségek együttes előfordulása miatt a változatosabb kórképek jelentkezése volt eltérő.



Kifejlett, nem tojó kacsákban eseteimben mindig a hirtelen időjárás-változás (hideghatás) által létrehozott, szórványos megbetegedések fordultak elő. Egyik esetben a szervek bővérősége mellett a köszvény, másik két esetben pedig a fibrines légzsák- és savóshártyagyulladások előfordulása tekinthető figyelemre méltónak.

Az elvégzett szerológiai felmérő vizsgálatok arról tanúskodnak, hogy a betegség bizonyos állatfajokra (gyöngytyúk, kacsá) és területekre korlátozódva enzooziás. Más madárfajok fertőzöttségére utaló adatokat nem találtam.



3. ábra. Az ellenanyagtiterek alakulása a naposkorban történt mesterséges fertőzések után madárfajonként az A/guinea fowl (Hungary) 1/69 vírustörzs alkalmazásával.

— · — · csirke      . . . . . gyöngytyúk      — — — pulyka      · — · — · kacsa

A mesterséges fertőzések szerológiai eredményei szerint azonban a házi madárfajok valamennyi vírustörzs iránt fogékonyaknak bizonyultak. Mégis, csak a napos vagy néhány hetes korú gyöngyöscsibe, -csirke, pulykapipe és kacsapipe fertőzése után keletkeztek klinikailag is észlelhető tünetek és elhullás vagy kényszervágás után kórbonctani elváltozások, míg a csibe-, csirke-fertőzések klinikailag, kórbonctanilag nem voltak felismerhetők.

Valamennyi állatfajban azonban szerológiailag is igazolható ellenanyagok jelentek meg, amelyek kacsán viszonylag alacsonyabb, csibén, csirkén közepes, gyöngyöscsibén, -csirkén, pulykapipén, pulykán, nagy egyedi különbséggel, magasabb értékűek. A különböző madárfajok eltérő ellenanyagválaszát az azonos vírussal végrehajtott hasonló fertőzési módra a 3. ábra tünteti fel. Ez az ellenanyag-titer a fertőzést követő 7—12. napokon már mérhető, a 3—5. hetek között a legmagasabb és néhány hetes korban fertőzve 2—3 hónapig, felnőtt korban fertőzve bizonyára hosszabb ideig tart.

A vírustörzsek jelentős hőtűrőképességűek és tömény allantois-folyadék, méginkább liofilizált állapotban hűtőszekrényben vagy mélyhűtőben jól eltartathatók. Az infektivitás és a hemagglutinálókészség lassú süllyedése az idő és a



hőmérséklet függvényében megfigyelhető, de a hemagglutinálókészség csökkenése egy bizonyos határig a hőmérséklettől független. Csupán az A/duck (Hungary) 1/70 (Hav6N2) vírustörzs vizsgálatakor tapasztaltam ugyancsak hőmérséklettől függetlenül bizonyos idő után a hemagglutinációs aktivitás értékének hirtelen, gyors csökkenését. Az infektív titer azonban e vírustörzs esetében is lassan, folyamatosan süllyedt.

A madárinfluenza-vírusok szaporíthatók voltak a házi madárfajok embrionált tojásaiban, bármilyen fertőzési utat használtam. Rutindiagnosztikai szempontból azonban az emberionált tyúktojás allantois-oltása és a tojásoknak az embrió elhullása utáni vagy a fertőzést követő 3—7. nap közötti bontása a legegyszerűbb és a legcélravezetőbb. Más oltási mód és másfajú embrionált tojás alkalmazása, a vírus szövetkultúrájában vagy kísérleti állatokon való szaporítása a madárinfluenza-vírusok rutindiagnosztikájában nem gyakorlatias. Az elhullott vagy előlt embrió allantois-folyadék a különösen alkalmas a további vizsgálatokhoz.

A vírus jelenlétének és azonosításának legegyszerűbb módszere a hemagglutináció és a hemagglutinációgátlás. Az agardiffúziós eljárás még hatékony és gyakorlatias szerológiai módszer. Hemagglutinációra a baromfifajok, laboratóriumi rágcsálók és emlős állatok vörösvérsejtjei, -testjei egyaránt alkalmasak. Legcélravezetőbb mégis a tengerimalac és a tyúk vörösvérsejtjeit, -testjeit használni hemagglutinációban 0,5%, hemagglutinációgátlásban 1%-os koncentrációban.

Az amantadinklorid antivirális anyag *in vitro* hatékony a madárinfluenza-vírus törzsekre is.