

**Állatorvostudományi Egyetem
Állatorvostudományi Doktori Iskola**

**A szarvasmarha vírusos hasmenése elleni védekezés
epidemiológiai, igazgatási és immunhisztokémiai
vonatkozásai Magyarországon**

PhD értekezés

dr. Szabára Ágnes

2020

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....
Dr. Ózsvári László
Állatorvostudományi Egyetem
Törvényszéki Állatorvostudományi, Jogi és Gazdaságtudományi Tanszék
témavezető

.....
Dr. Hornyák Ákos
Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság
Virologiai Osztály
társtémavezető

Készült 8 példányban. Ez a n. sz. példány.

.....
dr. Szabára Ágnes

Tartalomjegyzék

1. Összefoglalás.....	8
2. Bevezetés, célkitűzések	10
3. Irodalmi áttekintés	12
3. 1. A kórokozó – Bovine viral diarrhoea virus	12
3. 2. Pathogenesis	14
3. 2. 1. <i>Tranziens fertőzés</i>	14
3. 2. 2. <i>Perzisztens fertőzés</i>	15
3. 2. 3. <i>Perzisztens fertőzés szuperinfekciója</i>	16
3. 2. 4. <i>A hereszövet elhúzódó fertőzése (prolonged testicular infection)</i>	17
3. 3. Klinikai jellemzők.....	17
3. 3. 1. <i>Születést követő tranziens fertőzés</i>	18
3. 3. 1. 1. Heveny fertőzés	18
3. 3. 1. 2. Vemhes szarvasmarha heveny fertőzése.....	20
3. 3. 2. <i>Perzisztens fertőzés</i>	22
3. 3. 3. <i>A „Trójai tehén”</i>	23
3. 3. 4. <i>Immunszuppresszió és immuntolerancia</i>	24
3. 4. Diagnosztika	25
3. 4. 1. <i>Direkt diagnosztikai módszerek</i>	26
3. 4. 1. 1. Vírusizolálás.....	26
3. 4. 1. 2. Antigén-fogó ELISA.....	26
3. 4. 1. 3. Polimeráz láncreakció	27
3. 4. 1. 4. Immunhisztokémia	27
3. 4. 2. <i>Indirekt diagnosztikai módszerek</i>	28
3. 4. 2. 1. Vírusneutralizációs teszt	28
3. 4. 2. 2. Ellenanyag ELISA	29
3. 5. Prevalencia	30
3. 5. 1. <i>Szarvasmarha</i>	30
3. 5. 2. <i>Egyéb fajok</i>	30
3. 6. Védekezés	31
3. 6. 1. <i>A BVD elleni védekezés gyakorlati lehetőségei</i>	32
3. 6. 1. 1. BVD elleni vakcinázás.....	32
3. 6. 1. 2. Szisztematikus védekezési program vakcina használata nélkül	34
3. 6. 1. 3. Szisztematikus védekezési program vakcina használata mellett	36
3. 6. 1. 4. Önkéntes védekezési programok vakcina használata mellett.....	38
3. 6. 2. <i>A BVDV elleni védekezésben alkalmazott diagnosztikai módszerek gyakorlati alkalmazásai</i>	39

3. 6. 3. <i>Post mortem</i> vizsgálat	40
3. 7. A BVDV fertőzés gazdasági következményei.....	41
3. 7. 1. <i>Állományszintű gazdasági következmények</i>	41
3. 7. 2. <i>Nemzeti szintű gazdasági következmények</i>	42
3. 8. A BVD elleni védekezés igazgatási vonatkozásai	43
3. 8. 1. <i>A BVD elleni védekezés nemzetközi igazgatási előírásai</i>	43
3. 8. 2. <i>A BVD elleni védekezés hazai igazgatási előírásai</i>	44
4. Saját vizsgálatok	47
4. 1. A BVDV szero- és vírusprevalenciája Magyarországon és a fertőzöttség igazgatási vonatkozásai.....	47
4. 1. 1. <i>Anyag és módszer</i>	47
4. 1. 1. 1. Vizsgálati adatok.....	47
4. 1. 1. 2. Laboratóriumi vizsgáló módszerek.....	49
4. 1. 1. 3. Statisztikai elemzés.....	49
4. 1. 1. 3. 1. Diagnosztikai paraméterek	50
4. 1. 1. 3. 2. A vírus és az ellenanyag állományszintű prevalenciái.....	50
4. 1. 1. 3. 3. A vírus és az ellenanyag állományon belüli prevalenciái.....	50
4. 1. 1. 3. 4. A paraméterek becslése	50
4. 1. 1. 3. 5. A referencia populáció kiválasztása	51
4. 1. 2. <i>Eredmények</i>	51
4. 1. 2. 1. A BVDV állományszintű és állományon belüli szeroprevalenciája	51
4. 1. 2. 2. A BVDV állományszintű és állományon belüli vírusprevalenciája	53
4. 1. 2. 3. A vírus és az ellenanyag jelenléte közötti kölcsönhatás	54
4. 1. 3. <i>Megbeszélés</i>	54
4. 1. 3. 1. A BVD állományszintű és állományon belüli szeroprevalenciája	56
4. 1. 3. 2. A BVD állományszintű és állományon belüli vírusprevalenciája	57
4. 1. 3. 3. A betegség elleni védekezés lehetőségei.....	59
4. 1. 3. 3. 1. A behurcolás megelőzése.....	59
4. 1. 3. 3. 2. Vakcinázás	60
4. 1. 3. 4. A BVD elleni mentesítés eszközrendszere	61
4. 1. 3. 4. 1. Vakcinázás	62
4. 1. 3. 4. 2. A perzisztensen fertőzött egyed felismerése és eltávolítása	62
4. 1. 3. 5. Igazgatási kérdések	63
4. 1. 3. 6. Országos BVDV mentesítési program.....	65
4. 2. A BVD által okozott gazdasági károk telepi és országos szinten	67
4. 2. 1. <i>Anyag és módszer</i>	67
4. 2. 1. 1. A BVD által okozott, becsült gazdasági károk	67

4. 2. 1. 2. Heveny BVD járványkitörés termelésre gyakorolt hatásai és az ellene való védekezés gazdasági megtérülése egy nagyüzemi tehenészetben	68
4. 2. 2. <i>Eredmények</i>	69
4. 2. 2. 1. A BVD által okozott, becsült gazdasági károk	69
4. 2. 2. 2. A BVD termelésre gyakorolt hatásai és az ellene való védekezés gazdasági megtérülése	70
4. 2. 3. <i>Megbeszélés</i>	73
4. 2. 3. 1. Következtetések, javaslatok	74
4. 3. Heveny BVD járványkitörés hatásaként kialakuló immunszuppresszió klinikai megjelenése heveny szarvasmarha anaplasmosisban	75
4. 3. 1. <i>Anyag és módszer</i>	75
4. 3. 1. 1. Az állomány BVDV-epidemiológiai helyzete és diagnosztikája	75
4. 3. 1. 1. 1. Diagnosztikai vizsgálatok	76
4. 3. 1. 1. 2. Az állomány vakcinázása	77
4. 3. 1. 2. Az állomány <i>A. marginale</i> -epidemiológiai helyzete	77
4. 3. 2. <i>Eredmények</i>	78
4. 3. 2. 1. Az állomány BVDV-epidemiológiai helyzete	78
4. 3. 2. 2. Az állomány <i>A. marginale</i> -epidemiológiai helyzete	81
4. 3. 2. 3. Az <i>A. marginale</i> szeroprevalenciája	84
4. 3. 3. <i>Megbeszélés</i>	86
4. 3. 3. 1. Az állomány BVD vírusával történő fertőződése legeltetés során	86
4. 3. 3. 2. <i>A. marginale</i> okozta járványkitörés és a szarvasmarha anaplasmosis diagnosztikája	87
4. 3. 3. 3. Az állomány <i>A. marginale</i> szeroprevalenciája	89
4. 3. 3. 4. A BVDV-fertőzés és a heveny szarvasmarha anaplasmosis közötti összefüggés	90
4. 4. BVDV-antigén kimutatására irányuló immunhisztokémiai vizsgálat	92
4. 4. 1. <i>Anyag és módszer</i>	92
4. 4. 2. <i>Eredmények</i>	94
4. 4. 3. <i>Megbeszélés</i>	98
5. Új tudományos eredmények	100
6. Irodalom	101
7. A doktori kutatás eredményeinek közlései	121
7. 1. Lektorált, impakt faktorral bíró tudományos folyóiratban megjelent/elfogadott publikációk (szakcikk)	121
7. 2. Könyvek, könyvfejezetek	121
7. 3. Konferencia prezentációk	122
8. Köszönetnyilvánítás	124

Rövidítések

<i>A. marginale</i>	<i>Anaplasma marginale</i>
ab	antibody, ellenanyag
ÁDI	Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság
ag	antigén
APAF	apoptotic protease-activating factor, apoptoticus proteáz-aktiváló faktor
BALT	bronchiole-associated lymphoid tissue
BDV	Border Disease Virus
BHV	Bovine Herpesvirus
BVD	Bovine Viral Diarrhoea, szarvasmarha vírusos hasmenése
BVDV	Bovine Viral Diarrhoea Virus, szarvasmarha vírusos hasmenésének vírusa
BRDC	Bovine Respiratory Disease Complex, szarvasmarhák légzőszervi tünetegyüttese
BRSV	Bovine Respiratory Syncytial Virus
CI	credible interval, kredibilis intervallum
cp	citopatogén
CPE	cytopathic effect, citopatogén hatás
CSFV	Classical Swine Fever Virus, klasszikus sertéspestis vírusa
DAB	diamino-benzidin
DIVA	Differentiating Infected from Vaccinated Animals
DNS	deoxiribonukleinsav
ea	ellenanyag
EBL	enzooticus bovine leukosis
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EM	elektronmikroszkóp
EMA	European Medicines Agency, Európai Gyógyszerügynökség
E ^{rns}	envelope protein ribonuclease secreted
GALT	gut-associated lymphoid tissue
HD	Haemorrhagic Disease, "vérzéses-betegség"
H.E.	haematoxylin és eosin festés
IBR	Infectious Bovine Rhinotracheitis, szarvasmarhák fertőző rhinotracheitise
IF	immunfluoreszcencia
IHC	immunhisztokémia
INF	interferon

IP	immunperoxidáz
KSH	Központi Statisztikai Hivatal
LAT	latex agglutinációs teszt
MAb	monoclonal antibody, monoklonális ellenanyag
MBV	magzatburok-visszatartás
MD	mucosal disease, nyálkahártya-betegség
MLMC	Marcov Lánç Monte Carlo
MLV	modified live vaccine, attenuált, élővírusos vakcina
MTA	Magyar Tudományos Akadémia
ncp	nem-citopatogén
NÉBIH	Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal
NSP	non-structural protein, nem strukturális fehérje
OIE	Office International des Epizooties, Állat-egészségügyi Világszervezet
OR	Odds ratio, esélyhányados
OTC	oxytetracyclin
P	prevalencia
PCR	polymerase chain reaction, polimeráz láncreakció
PI	persistently infected, perzisztensen fertőzött
PIV-3	parainfluenzavírus-3
RNS	ribonukleinsav
qRT-PCR	real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction, valós idejű reverz transzkriptáz polimeráz láncreakció
SBV	Schmallenberg Vírus
se	szenzitivitás
sp	specifitás
SZIE ÁOTK	Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar
TI	transiently infected, átmenetileg (tranziensen) fertőzött
TNF- α	tumor necrosis factor alpha, tumor nekrozis factor- α
VI	vírusizoláció
VN	vírusneutralizáció

1. Összefoglalás

A szarvasmarha vírusos hasmenésének vírusa (BVDV) a szarvasmarhákat fertőző kórokozók között kiemelt jelentőségű, elsősorban az általa okozott közvetlen, termelési és közvetett, kereskedelmi károk miatt. Tudományos munkánk első részében a szarvasmarha-állományok szarvasmarha vírusos hasmenésének (BVD) fertőzöttségét vizsgáltunk állományszinten, ill. állományon belül, egyedi szinten, amely során látszólagos és valódi ellenanyag- és vírusprevalenciát határoztunk meg Magyarországon 2008 és 2012 között. A tanulmány további célja a látszólagos és valódi ellenanyag- és vírusprevalencia időbeli változásának vizsgálata állományon belül, valamint az ellenanyag és a vírus jelenléte közötti kapcsolat meghatározása hazánkban. A munkánk során felhasznált adatok, a vizsgálati módszer, az adott évben vizsgált minták száma és azok eredményei a NÉBIH-nek, mint nemzeti referencia laboratóriumnak adatbázisán alapul. Az egész ország területéről, diagnosztikai vizsgálat céljából beérkezett minták adatbázisban található adatait és a vizsgálati eredményeket két populációra osztva végeztük el a megfigyelésen alapuló, retrospektív statisztikai vizsgálatunkat Bayes-i statisztikai modell segítségével.

A BVD víruskimutató diagnosztikai vizsgálatra érkezett 40.413 minta és a szerológiai vizsgálatra beküldött 24.547 minta összesen 3.247 tenyészkóddal rendelkező állományból származott. A mintát küldő állományok összes szarvasmarha-létszáma 570.524 állat. A Bayes-i statisztikai elemzés alapján (1) az állományszintű valódi ellenanyag-prevalencia 56,4%, (2) az átlagos állományon belüli (individuális) valódi ellenanyag-prevalencia 47,4% a fertőzött állományokat nézve, (3) a valódi állományszintű vírusprevalencia 12,4%, (4) az átlagos állományon belüli vírusprevalencia 7,2%, azokban az állományokban, amelyekben legalább egy vírushordozó egyed található. Egy vírus-pozitív állományban egy véletlenszerűen kiválasztott egyed tízszer nagyobb eséllyel lesz szeropozitív, egy vírus-negatív állomány egyetlen véletlenszerűen kiválasztott egyedéhez képest. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a BVDV Magyarországon endémiásan jelen van, azonban az ellenanyag valódi előfordulási valószínűsége alacsonyabb az irodalmi adatokhoz és a megelőző hazai felmérésekhez képest.

Gazdasági számításaink során megbecsültük a BVD által okozott országos és telepi szintű gazdasági károkat, valamint meghatároztuk egy adott, nagy létszámú telep heveny BVD-fertőzésének termelésre gyakorolt valós hatásait. A BVD által okozott becsült országos gazdasági kár 2012-ben 1,26 milliárd Ft volt, ami tehenenként 3.834 Ft veszteséget jelent. Telepi szinten egy ezer tehenet tartó tehenészetben a heveny, klinikai tünetekben megnyilvánuló BVD becslésünk alapján több mint 46,5 millió Ft, az idültlen fertőzött állományokban a BVD és az MD 2,9 millió Ft éves veszteséget okoz.

A BVDV immunszuppresszív hatásaként kialakult heveny szarvasmarha anaplasmosis ismertetését egy, BVD vírusával bizonyítottan fertőzött, hazai nagy létszámú tejelő szarvasmarha-állományban tapasztaltak alapján végeztük, ahol a BVD elleni alapimmunizálás után tömegesen jelentkező, klinikai tünetekben megnyilvánuló szubklinikai anaplasmosis heveny fellobbanása történt. A betegség jeleit mutató állatokból származó vérminták haematológiai-, biokémiai-, PCR-, haemocytológiai- és elektromikroszkópos, valamint a necropsiás vizsgálatok során megállapítottuk az *Anaplasma marginale* fertőzöttséget. A hazánkban először alkalmazott szerológiai vizsgálatunk során célunk volt meghatározni az *A. marginale*-vel endémiásan fertőzött szarvasmarha-állomány látszólagos szeroprevalenciáját. Továbbá vizsgáltuk a kor, mint kockázati tényező és az *A. marginale* ellen termelt specifikus ellenanyagok prevalenciája közötti összefüggést. Az *A. marginale* elleni ellenanyagot indirekt ELISA módszerrel mutattuk ki. A statisztikai elemzés során a fertőzés prevalenciája és a fertőzési esély meghatározásához Fisher-féle egzakt próbát alkalmaztunk. A szeroprevalencia a 3 évesnél fiatalabb szarvasmarhák között 12%, a 3 éves és annál idősebb egyedek körében 49% volt, amely a két korosztály között szignifikáns eltérést jelez ($p < 0,0001$). A fertőzés esélye a hároméves és annál idősebb szarvasmarhák körében a 3 évesnél fiatalabbakhoz képest majdnem hétszeres.

A vizsgálatok alapján először állapítottuk meg, hogy amennyiben egy adott *anaplasma* és BVDV-re – fogékony egyed egy időben fertőződik a két kórokozóval, akkor a BVDV immunszuppresszív hatása segíti az *A. marginale* fertőzés megeredését és a betegség heveny, klinikai tünetekben történő megnyilvánulását.

Immunhisztokémiai tanulmányunk során két-két 2 napos, 2,5 hónapos, 3 hónapos és 3,5 hónapos, összesen nyolc ag-ELISA-tesztel igazolt, BVD vírusával perzisztensen fertőzött, elhullott borjú tetem különböző szerveit vetettük alá immunhisztokémiai vizsgálatnak. A 19 munkafázisból felépülő, manuálisan kivitelezett immunhisztokémiai vizsgálatot hazánkban először alkalmaztuk átfogó, több különböző szervből származó szövetmintára kiterjedően, általunk validált protokoll alapján, immunhisztokémiai laboratóriumunkban. Pozitív kontrollként a nyirokcsomószövet szolgált, amelyek sinus-histiocytáiban, follicularis dendriticus sejtjeiben a BVDV-pozitivitás multifocalis, intenzív, barna, granularis, cytoplasmaticus pozitív jelként volt észlelhető. A beválogatott PI-borjú szervmintákban észlelt BVDV-pozitivitás nemcsak kvalitatív, hanem kvantitatív eredményeket is produkált, hiszen tájékoztatott a BVDV egyes szövetekben való mennyiségi előfordulásáról is. Ez utóbbi felhívja a figyelmet az egyes szervek vírusürítésben történő szerepére, ill. a szerv vírus rezervoár háttérére.

2. Bevezetés, célkitűzések

A szarvasmarha vírusos hasmenésének vírusa a legtöbb szarvasmarhatartó országban előfordul. Az általa előidézett kórkép világszerte jelentős gazdasági károkat okoz, ezért számos ország BVD-mentesítési programba kezdett. Magyarországon a betegséget az 1950-es évek végén észlelték először, akkor légző-, emésztőszervi és szaporodásbiológiai gondokat okozott, azonban a vírust csak néhány év múlva sikerült izolálni. Hazánkban a szeropozitivitás az 1970-es években 40–50, az 1980-as években 60–70, egy 1999-ben történt felmérés szerint pedig 95% volt (Kudron, 1999). Kóvágó és mtsai (2015) vizsgálata szerint a fertőzöttségi arány az egyedek vonatkozásában 42,5%, a gazdaságok viszonylatában pedig 67,8%. A BVD-elleni védekező programok megkezdésének bevezető lépéseként szükséges a mentesítés alá vont terület (megye, régió, ország) szarvasmarha-állományainak BVDV járványtani helyzetének felmérése.

Hazánk legfontosabb exportpiacai jelenleg a szarvasmarhák fertőző rhinotracheitise (IBR) és a BVD tekintetében korlátozó intézkedéseket érvényesítenek, vagyis bizonyos mértékben akadályozzák a fertőzött állatok vagy a fertőzött állatokból származó állati termékek forgalmát. Egy országosan meginduló BVD-mentesítési program jelentős előrelépést jelentene a nemzetközi állat- és termékforgalom állat-egészségügyi feltételeinek a teljesítésében.

A mentesítés sikerességét nagymértékben segíthetné egy hazai, koordinált és minden szarvasmarhatartóra érvényes, kötelező intézkedéssorozat (szakmai irányelv, útmutató). A betegség minél előbbi felszámolásával jelentős gazdasági, állatjóléti és környezetvédelmi előnyökhöz jutna Magyarország.

Epidemiológiai tanulmányunk során célul tűztük ki a valódi ellenanyag- és vírusprevalencia meghatározását országosan és a fertőzött állományokban, valamint az ellenanyag és a vírus jelenléte közötti kölcsönhatás vizsgálatát Magyarországon. Elsőként azokat a telepeket tanulmányoztuk, amelyekben szerológiai és virológiai vizsgálat is történt. Ebben az esetben az országos és egyedszintű szeroprevalencia mellett sikerült vizsgálnunk az ellenanyag és a vírus jelenlétének egymásra gyakorolt hatását. Második lépésben célunk volt megvizsgálni minden olyan állományt, amelyben 2008–2012 között virológiai vizsgálat történt, és ennek segítségével pontosan meghatározni az állományszintű és állományon belüli vírusprevalenciát elsőként Magyarországon.

Gazdasági elemzésünk során célunk volt megbecsülni a BVD-okozta országos és telepi szintű gazdasági károkat, valamint meghatározni egy adott, nagy létszámú telep heveny BVD-fertőzésének a termelésre gyakorolt valós hatásait.

Egy friss BVD-fertőzéssel kapcsolatos klinikai esettanulmányuk vizsgálata során célunk volt bebizonyítani, hogy a BVD vírusának immunszuppresszív hatása következtében az állományban látens formában jelen lévő *A. marginale* heveny, súlyos klinikai tünetekben megnyilvánuló szarvasmarha anaplasmosist képes előidézni.

Immunhisztokémiai vizsgálatunk során célul tűztük ki az infantilis borjúhereszövet vizsgálatát, vagyis a BVDV jelenlétének kimutatását és igazolását anti-BVDV-1 monoklonális ellenanyag segítségével.

járványkitörések időszakos megjelenését (Bolin és Grooms, 2004). Mindezek mellett megfigyelhető, hogy egy adott BVDV-törzs állományba kerülését követően a fertőzést kiváltó törzs stabil marad (Booth et al., 2013b; Vilcek et al., 1999). A BVDV-1 és a BVDV-2 prevalenciája területenként eltérő, az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában az izolátumok megközelítőleg 50%-a BVDV-2 típusú, Európában a domináns BVDV-1 genotípus prevalenciája nagyjából 90%, a BVDV-2 pedig a laboratóriumi diagnosztikai vizsgálatok alapján kevesebb, mint 7% (Booth et al., 2013a; Ridpath, 2010a). Európában BVDV-2 által okozott járványkitörést ritkán írnak le. Egy holland tejelő tehenészetben, 1999-ben a BVDV-2 genotípussal kontaminálódott bovine herpesvirus 1 (BHV-1) markervakcina okozott járványt az állományban (Barkema et al., 2001). 2013 januárjában Németországban és szintén Hollandiában diagnosztizáltak BVDV-2 okozta járványkitörést (Doll és Holsteg, 2013; Moen, 2013).

A genetikai jellemzők mellett a BVDV biotípus alapján is osztályozható. A BVDV mindkét genotípusa sejtkultúrákban okozott sejtkárosító, apoptotikus hatása alapján citopatogén (cp), ill. nem citopatogén (ncp) biotípusokra osztható (Peterhans et al., 2010). A ncp biotípus sejtkultúrákban nem okoz látható sejtkárosodást. A cp biotípus szarvasmarha here-, vese-, foetalis tüdő-, ill. orrkagylóhám-eredetű sejtvonalakon cellularis vacuolisatiót és apoptosist indukál. A vírusnak a fent említett laboratóriumi besorolása nem jellemzi a két biotípus patogenitását. A citopatogenitáson túl a két biotípus gyakorlati jelentősége a vírus által okozott, szarvasmarha vírusos hasmenése patogenezisében játszik kulcsfontosságú szerepet. Endémiás területen a ncp biotípus a természetben jelentősen gyakrabban fordul elő és perzisztens fertőzés kialakítására képes, amely biztosítja a BVDV fennmaradását, a víruscirkulációt az állományban. A cp BVDV általában a perzisztensen fertőzött (PI) állatok ncp vírusaiból mutációk (RNS-rekombináció) révén keletkezik (Becher és Tautz, 2011; Bálint et al., 2005), ún. „előbukkanó-eltűnő” biotípus, ezért a természetben jóval ritkábban, elsősorban a nyálkahártya-betegségben (mucosal disease, MD) fordul elő (Peterhans et al., 2010). Ncp biotípussal fertőződött szarvasmarha-állományban akár homológ, akár heterológ cp biotípus bekerülése esetén a ncp BVDV-vel perzisztensen fertőzött állatok felülfertőződnek, vagyis egyidőben a szervezetben mindkét biotípus jelen van – ún. „víruspár” alakul ki – kártételük összeadódik és kialakul a végzetes kimenetelű MD (Meyers és Thiel, 1996; Ramsey és Chivers, 1953).

A két biotípus eltérő szöveti tropizmust mutat (Clark et al., 1985). A cp biotípus gyakrabban izolálható a rumenből, a reticulumból, a vékonybélből, a Peyer-plakkból, a colonból és a mesenterialis nyirokcsomókból. A ncp biotípust gyakrabban izolálják a vérből és a jó vérellátottságú szervekből: tüdő, máj, vese, lép, orrüreg (Brownlie et al., 2000).

3. 2. Pathogenesis

A gazdaszervezet immunstátusza, élettani állapota, a vírus biotípusa és virulenciája, valamint a környezeti hatások (hajlamosító tényezők) alapján a BVD-vírussal történő fertőződés 4 fő kategóriára osztható:

1. fogékony, immunkompetens, nem vemhes szarvasmarha fertőződése: tranziens fertőzés, vagyis a BVDV által létrehozott kórkép, a BVD kialakulása;
2. vemhes üsző, vemhes tehén fertőződése a vemhesség 30–125. napja között: perzisztens fertőzés;
3. immuntoleráns, perzisztensen fertőzött szarvasmarha felülfertőződése, vagyis az MD kialakulása (Houe, 1999);
4. a hereszövet elhúzódó fertőzése (Voges et al., 1998).

Az említett kategóriákon túl a vírus pathogenesise során kiemelkedő jelentőségű a BVDV által okozott immunszuppresszió és immuntolerancia.

3. 2. 1. *Tranziens fertőzés*

A természetes fertőzés leggyakoribb módja a BVDV oro-nasalis bejutása. A vírus első szaporodási helye az ornyálkahártya hámrétege és a mandulák, ahonnan a replikációt követően a regionális nyirokcsomókba jut. A regionális nyirokcsomók lymphocytáiba jutva a vírus – a fertőzést okozó törzs virulenciájának függvényében – vagy helyben marad és csak a lymphoid szövetekre korlátozódik a fertőzés, vagy erősebb virulenciájú törzs esetén átmeneti viraemiát okoz, amely során eljut a legtöbb szervbe és szövetbe: az emésztőszervrendszer nyálkahártyájába, a tüdőbe, a kiválasztó szervrendszer szerveibe, a szívbe és a bőrbe (Bruschke et al., 1998, Liebler-Tenorio, 2005). A gazdaszervezet lymphocytáinak és monocytáinak membránján expresszálandó CD46(bov) receptor a BVDV fő kötőhelye (Lanyon et al., 2014; Maurer et al., 2004). A vemhes méh, a placenta és a magzat könnyen, még az anya szubklinikai fertőződése esetében is képes fertőződni (Frederiksen et al., 1999, Liebler-Tenorio, 2005). Az átmeneti viraemia néhány napja alatt, kb. a fertőzést követő 3–14. nap között a vérből, ill. az orrváladékból a vírus kimutatható (Pedrera et al., 2011). A 10–14 napig tartó átmeneti viraemia során, a fertőzést követő 3–7. naptól rövid ideig tartó leukopenia, lymphopenia, és/vagy thrombocytopenia, a thymus sejteiben apoptosis, ezáltal immunszuppresszió figyelhető meg (Blanchard et al., 2010; Lanyon et al., 2014; Ridpath et al., 2007). Az immunszuppresszió részben a BVDV vérpályában cirkuláló T- és B-sejtekre kifejtett közvetlen károsító, apoptotikus hatásának (Wilhelmsen et al., 1990), részben pedig a macrophágok phagocytá funkciójának károsító hatásának következménye (Marshall et al., 1996), amely a caspase-9 nyirokcsomókban, BALT-ban (bronchiole-associated lymphoid tissue) és GALT-ban (gut-associated lymphoid

tissue) történő inaktivációjának eredménye (Pedrera et al., 2012). Az akut fertőzés során, esetenként előforduló hasmenés a zsigeri autonóm idegrendszer (plexus myentericus) fertőződésének következménye (Wilhelmsten et al., 1990). A fertőzést követően 2–3. héttől folyamatosan emelkedik a BVDV ellen termelt specifikus ellenanyagok mennyisége, amely a maximális értéket a fertőzést követő 10–12. héten éri el, és élethosszig tartó szeropozitivitást eredményez (Duffel és Harkness, 1985).

Járványtani szempontból a tranziensen fertőzött állatok jelentősége jóval kisebb a PI-egyedekhez képest, mivel rövid időn, mindösszesen nagyjából 14 napon át, viszonylag kis mennyiségben ürítik a vírust. A legutóbbi kísérleti eredmények alátámasztották azokat a megfigyeléseket, hogy akár virulens BVDV-1, akár BVDV-2 törzsekkel történt fertőzések esetében is korlátozott, gyakorlatilag elhanyagolható volt a vírus terjedése (Niskanen et al., 2000; Niskanen et al., 2002; Sarrazin et al., 2013b).

3. 2. 2. Perzisztens fertőzés

Járványtani szempontból kiemelt jelentőségű a szarvasmarha-állományban lévő, szeronegatív, immunkompetens vemhes állat BVDV-vel történő fertőződése (Houe, 1999). Vemhes szarvasmarha BVDV cp vagy ncp biotípusával történő fertőződése a magzat transzplacentáris fertőzését eredményezi, viszont perzisztens fertőzést csak a szarvasmarha-állományokban gyakrabban elterjedt ncp biotípus alakít ki (Brownlie et al., 1989). A magzat BVDV-vel történő fertőződése során eltérő klinikai tünetek alakulnak ki a vemhesség idejétől függően.

A magzat az immunkompetens státusz kialakulását megelőző – kb. a vemhesség 30–125. napja – időszakban BVDV ncp biotípusával történő fertőződése eredményeképpen immuntoleránssá válik a vírussal szemben (Blanchard et al., 2010). Az intrauterin fejlődés ezen szakaszára jellemző, hogy az immunrendszer éretlensége miatt a BVDV-t a szervezet sajátjaként ismeri föl és nem termel ellene védő hatású, vírusneutralizáló ellenanyagokat (Houe, 1994). Emellett a BVDV ncp biotípusa képes gátolni a magzati interferon-1 (INF-1) termelést, amely szintén segíti a vírus túlélését (Peterhans és Schweizer, 2013). A magzatban ilyenkor nem alakul ki fejlődési rendellenesség: a megfelelő időben átlagos fejlettségű vagy gyenge, a fejlődésben kissé visszamaradt perzisztensen fertőzött borjú születik. PI-borjú születik még eleve PI, termelésbe került anyától, ill. BVDV-vel fertőzött bikaspermától. A PI-egyedekre jellemző rövidebb élettartam a vírus immunszuppresszív hatására és az immunrendszert károsító hatására vezethető vissza (Hamers et al., 1998; Voges et al., 1998). Ennek ellenére a PI-szarvasmarhák egy része túléli a 24 hónapos kort és bekerül a termelésbe, mint tartósan vírushordozó és vírusürítő egyed, amely eleve PI-utódot eredményez (Houe, 1995). A szarvasmarha-egészségügyben a PI-egyedek kiemelt járványtani szerepét az indokolja, hogy a borjak BVDV-vel szemben kialakult

immuntoleranciája egész életen át tartó, perzisztens viraemiát jelent. A PI-egyed minden váladékával és testnedvével nagy titerben, élethosszig üríti a vírust, ezzel fenntartva az állományban a ncp biotípus víruscirkulációját (Pálfi et al., 1993). A PI-egyedek általában szeronegatívak, viszont a vírus erős antigenitása miatt, a nagy ellenanyag-tartalmú kolosztrum itatását követően a PI-borjak életük első 3–4 hónapjában átmenetileg szeropozitívvá válhatnak (Pálfi et al., 1993). Endémiás területen, ill. olyan állományokban, ahol nagy a vírusprevalencia, a PI-egyedek aránya 0,5–2% között van (Cowley et al., 2013; Houe, 1999).

3. 2. 3. Perzisztens fertőzés szuperinfekciója

Az intrauterin fejlődés 30–125. napja között ncp BVDV biotípussal fertőzött magzat a fertőzést kiváltó BVDV-törzsrre egész élete során immuntoleráns lesz, viszont egyéb heterológ BVDV-törzsszel szemben továbbra is immunkompetens marad (Bolin et al., 1985). Kísérleti tapasztalatok szerint viszont nemcsak a heterológ, hanem az ncp biotípusból rekombináció vagy mutáció során keletkezett homológ cp BVDV-törzs is képes felülfertőzni az ncp típusú fertőzött PI-egyedet (Lanyon et al., 2014). Minden cp biotípus termel egy nem-strukturális fehérjét (non-structural protein, NSP), az NS3-at, viszont a ncp biotípusban ennek csak egy formája, az NS2/3 mutatható ki (Peterhans et al., 2010). A cp BVDV egy időben segíti a monocyták aktivációját és differenciálódását, valamint gátolja a T-sejtek ag-prezentációját, amely egy kontroll nélküli gyulladással járhat és fokozott viraemiához vezet. Ennek következményeként az antivirális védekezési folyamat károsodik (Lee et al., 2009).

Abban az esetben, amikor a ncp BVDV biotípussal fertőzött, perzisztensen viraemiás egyed cp BVDV biotípussal felülfertőződik, kialakul a végzetes kimenetelű nyálkahártya betegség. Az MD-t 1953-ban írták le először, mint a szájüreg és az emésztőrendszer nyálkahártyájában kialakuló, halálos kimenetelű, felületes elhalással kísért elváltozások összességét (Ramsey és Chivers, 1953). A MD kóroktanát 1968-ban sikerült megállapítani, amikor egy MD-ben elhullott tetemből egy időben mutatták ki a BVDV ncp és cp biotípusát (McKercher et al., 1968). A kórfejlődést, vagyis a „vírus-pár” elméletet, amely szerint transzplacentárisan ncp biotípussal perzisztensen fertőzött egyed a születést követően cp biotípussal felülfertőződik, 1995-ben sikerült megállapítani (Bolin, 1995).

A cp BVDV hatására a monocyták aktiválódnak és differenciálódnak, viszont gátolja a T-sejtek antigén-prezentációját, ami együttesen egy ellenőrizetlen gyulladással járhat és fokozott viraemiát eredményez (Lee et al., 2009). A cp BVDV-vel fertőzött sejtek apoptózisát intrinsic (belső) és extrinsic (külső) út együttesen szabályozza (Pedrera et al., 2012). A belső utat a mitokondriális citokróm C szabályozza, amely indukálja a sejthalál szabályozásában szerepet játszó apoptoticus proteáz-aktiváló faktor (apoptotic protease-activating factor –

APAF) aktiválódását. A külső út magában foglalja a tumor nekrosis faktor- α (tumour necrosis factor alpha, TNF- α) up-regulációját, amely a citokróm indukálta apoptosis legfontosabb eleme (Yamane et al., 2005). Az említett változások elsősorban a Peyer-plakkokat érintik, amelyekben lymphoid depletio és atrophia következik be. A lamina propriából a microvillusok eltűnnek, valamint sejttörmelék és nyálka halmozódik fel a kitágult Lieberkühn-kriptákban. A stratum spinosum hámsejtjeinek elhalása a sejtközötti kapcsolat zavarához vezet elsősorban a bőr, a pofa, a szájüreg, a nyelőcső és az előgyomrok hámrétegében (Bolin, 1995).

3. 2. 4. A hereszövet elhúzódó fertőzése (*prolonged testicular infection*)

Ivarérett bika BVDV-vel történő tranzienst fertőződése viszonylag ritka és járványtani szempontból kevésbé tűnhet fontosnak, viszont a vizsgálati eredmények alapján az ondóban a vírus a fertőzést követően legalább 11 hétig, de akár 2,75 évig is kimutatható (Givens et al., 2009; Niskanen et al., 2002; Voges et al., 1998). A heveny BVDV-fertőzés következtében a megnövekedett számú rendellenes spermiumok mellett megfigyelhető az ondósejtek koncentrációjának és motilitásának csökkenése. Kísérlettel bizonyították, hogy amennyiben ondósejtet BVDV-vel inkubálnak, majd a fertőzött sejttel termékenyítenek, jelentősen csökken a termékenyülési arány (Garoussi és Mehrzad, 2011). A BVDV-vel fertőzött ondóval történő termékenyítés PI-utódot eredményez, ugyanakkor a fertőzött ondóval bíró, szerológiailag áthangolódott szeropozitív bikák a velük egy légtérben tartott társaikat horizontálisan nem fertőzték (Givens és Marley, 2013). Az ondó fertőzésének jelentőségét felismerve tenyésztésbe venni, ill. mesterséges termékenyítő állomásra szállítani bikát csak az ondó BVDV-kimutatására irányuló ismételt, negatív eredményű vírusizoláció, ag-ELISA vagy PCR-vizsgálata alapján engedélyezett. A 2003/43/EK rendelet alapján szeropozitív bikáktól származó sperma csak az egyedek egyéni, BVDV-kimutatására irányuló vírusizoláció vagy ag-ELISA vizsgáló módszer negatív eredménye alapján használható.

3. 3. Klinikai jellemzők

A BVDV fertőzés klinikai megjelenésének leírása bonyolult, mivel négy fő ok határozza meg:

1. a betegség sokféle klinikai tünetben manifesztálódhat, rendkívül változatos módon;
2. a BVDV fertőzés klinikai megjelenése idővel a fertőzést kiváltó törzs genetikai változása miatt módosulhat;
3. a klinikai tünetek többsége nem a BVD tipikus tünetei közé tartozik;
4. nem lehet következetesen megtalálni egy állományban vagy egy járványkitörés során minden tünetet (Evermann és Barrington, 2005).

A vírustörzs virulenciájának mértékétől, valamint a fertőzés súlyosságától (csak a lymphoid szerveket vagy több, egyéb szervet érint a megbetegedés) (Bolin és Ridpath, 1992) függően a klinikai tünetek súlyossága az enyhe formától a súlyos fokon át, akár letális megbetegedésként is jelentkezhet (Baker, 1995; Brownlie, 2004; Evermann és Barrington, 2005). Ezen túl a klinikai kép kialakításában szerepet játszik a gazdaszervezet szaporodásbiológiai- és immunállapota, az életkora, valamint az esetleg jelen lévő társfertőzés(ek) (Ridpath, 2010a). Ez alapján érthető, hogy a BVD felismerése a változatos klinikai megjelenés alapján komoly kihívás a szarvasmarha-állományokat ellátó gyakorló állatorvosoknak (Lindberg és Alenius, 1999).

3. 3. 1. Születést követő tranziens fertőzés

3. 3. 1. 1. Heveny fertőzés

A betegség első leírása felnőtt szarvasmarhában kialakult profúz, vízszerű hasmenésről számolt be (Olafson et al., 1946). Mind a BVDV-1 és BVDV-2 a tünetmentes fertőzés mellett különböző klinikai tünetek kialakítására képes. Erősebb virulenciájú BVDV-1 törzssel, ill. BVDV-2 genotípussal történő fertőződés esetében a morbiditás, a manifesztálódott tünetek súlyossága és a mortalitás is jelentősen nagyobb arányú és súlyosabb fokú (Brackenbury, 2003; Chase, 2013; Ridpath, 2010b; Walz, 1999; Wilhelmsen, 1990). Szeronegatív, immunkompetens szarvasmarhák BVDV-vel történő heveny fertőzése az esetek 70–90%-ában szubklinikai formában zajlik le, a kórformára jellemző változatos klinikai tünetek közül esetleg enyhe láz és leukopenia figyelhető meg (Baker, 1995; Evermann és Barrington, 2005). Viszont hangsúlyozni kell, hogy az ebben a rövid időszakban a fertőzés valamennyi formájára jellemző immunszuppresszió kialakulásának következtében akár újonnan megtelepedő, akár már az egyedben jelen lévő különböző fertőző ágensek rájuk jellemző klinikai tüneteket, vagyis az állat megbetegedését okozhatják (Ridpath, 2010b; Chase, 2013). Mind a klinikai és mind a szubklinikai BVDV fertőzéshez alacsony fertilitás, korai embrióelhalás, valamint a petefészek, ill. a herék dysfunkciója társul (Brock et al., 2005; Grooms, 2006; Munoz-Zanzi et al., 2004).

Heveny fertőzés esetén egyes szarvasmarhák enyhe klinikai tüneteket mutatnak: láz, leukopenia, étvágytalanság, bágyadtság, orrfolyás, szemváladékozás, szájüregi elváltozások, fekélyek, hasmenés, csökkent tejtermelés. Ezekben az esetekben a másodlagos fertőzések szerepe nyilvánvaló (Duffel és Harkness, 1985).

Egyes esetekben az átmeneti BVDV fertőzés perakut járványkitörést eredményez, amely láz, pneumonia, nagy mortalitási arány és hirtelen halál formájában jelenik meg. Perakut járványok elsősorban Észak-Amerikában (Carman et al., 1998; Corapi et al., 1990; Pellerin et al., 1994) fordulnak elő, de néhány európai esetről is történt már leírás (Amiridis et

al., 2004; Doll és Holsteg, 2013; Moen, 2013). A kísérletesen előidézett súlyos fokú heveny járványok során három meghatározó tünet jellemző: láz, alacsony fehérvérsejt szám és alacsony vérlemezke szám (Ridpath et al., 2006; Walz et al., 1999). A heveny BVD-járványok esetenként ún. vérzéses-betegség (haemorrhagic disease, HD) formájában jelentkeznek. Ebben az esetben véres hasmenés, orrvérzés (epistaxis), hyphema, az injekciós készítmény vagy vérvétel beadási helyén vérzés, magas láz és elhullás figyelhető meg. A legtöbb HD-eset BVDV-2 okozta megbetegedéshez társul (Evermann és Barrington, 2005), thrombocytopenia BVDV-1 jelenlétekor ritkán alakul ki (Blanchard et al., 2010).

A klinikai képet a legtöbb esetben nem önmagában a BVDV alakítja ki, hanem azt tovább formálja az immunszuppresszió következtében megtelepedő és megeredő további fertőző ágensek jelenléte. A BVDV-vel egyidejűleg jelen lévő kórokozók a klinikai tüneteket súlyosbítják és a nem megfelelő diagnosztikai eredmény hiányában (társfertőzés kimutatása, célzott antibiotikumterápia) a gyógykezelés eredményességét megnehezítik. A társfertőzések, elsősorban a szarvasmarhák légzőszervi tünetegyüttese (BRDC), a salmonellosis, a mastitist előidéző fakultatív patogének és egyéb fertőző ágensek által okozott kórképek, a BVDV által okozott gazdasági károkat tovább növelik (Ózsvári et al., 2012; Ózsvári és Búza, 2015; Ridpath, 2010b).

A gazdasági károk legfőbb forrása a „BVDV” nevének ellenére elsősorban a fertőzés hatására kialakult szaporodásbiológiai zavarok és légzőszervi megbetegedések, amelyek közül a BRDC kialakításában a BVDV-nek is szerepet tulajdonítanak (Booker et al., 2008; Fulton et al., 2000a; Fulton et al., 2002; Martin et al., 1999; Moerman et al., 1994; O'Connor et al., 2001; Pardon et al., 2012; Richer et al., 1998). A BRDC multifaktoriális, számos klimatikus, tartástechnológiai és menedzsment eredetű hajlamosító tényező mellett, vírusok és baktériumok együttes hatására jelenik meg és okoz állat-egészségügyi problémát és jelentős gazdasági károkat a borjúnevelésben, valamint a tejelő- és a húshasznú állományokban is (Ózsvári és Búza, 2015). A társfertőzések közül a BVDV szinergista hatással rendelkezik a Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) (Brodersen és Kelling, 1998; Brodersen és Kelling, 1999; Liu et al., 1999), a Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) (Castrucci et al., 1992), a Parainfluenzavirus-3 (PIV-3) (Aly et al., 2003), a *Mycoplasma bovis* (Haines et al., 2001; Shariar et al., 2002,) és a *Mannheimia haemolytica* (Booker et al., 2008) által okozott fertőzések esetében (**2. ábra**). A BVDV-nek társfertőzésekkel együtt kialakított légzőszervi megbetegedésekben betöltött szerepe mellett bizonyított, hogy a vírus önmagában is képes légzőszervrendszert érintő kórkép kialakítására (Baszler et al., 1995; Baule et al., 2001; Liebler-Tenorio et al., 2002). Ennek ellenére a mai napig nehéz meghatározni, hogy a légzőszervrendszerben kialakult elváltozások, légzőszervi tünetek mekkora részét teszi ki a BVDV közvetlen hatása és mekkora az egy időben jelenlévő, egyéb kórokozó(k) szerepe (Ridpath, 2010b).



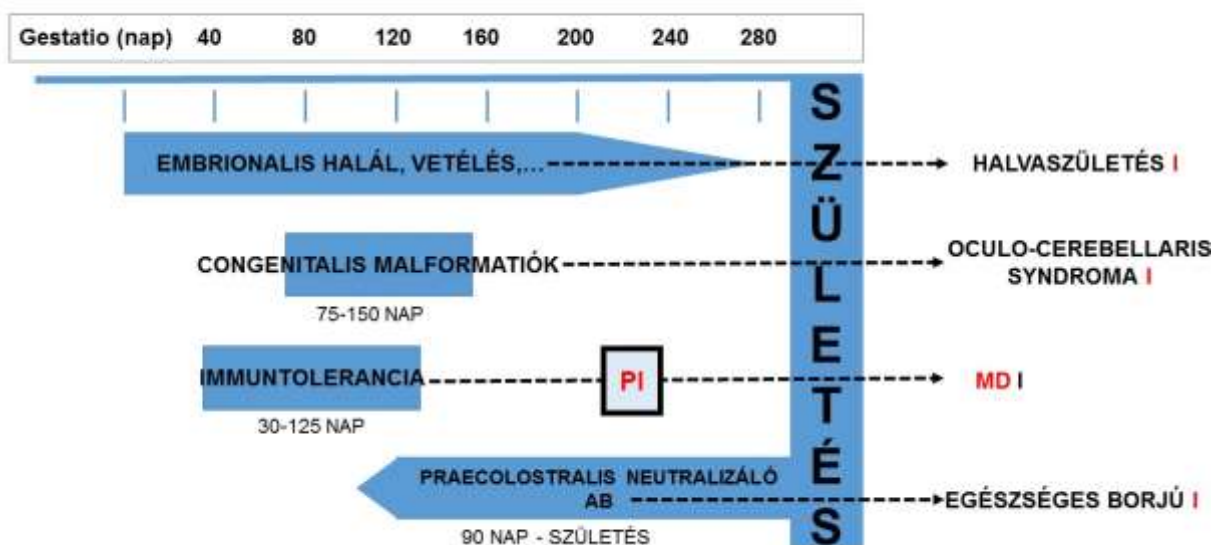
2. ábra. PI-borjú tüdejében másodlagosan kialakult bronchointerstitialis pneumonia tüdőatelectasiával kísérve

Az emésztőszervet érintő kórképekben előforduló társfertőzések leggyakrabban a salmonellosis (Daly és Neiger, 2008), a paratuberculosis (Thoen és Waite, 1990) és a rotavírus fertőzés (Kelling et al., 2002).

A tőgygyulladás szintén egy jelentős és elterjedt fertőző megbetegedés a tejelő szarvasmarha-állományokban. A jelenlegi ismeretek alapján megállapítható, hogy a tranziens BVDV fertőzés segíti az új kórokozók megtelepedését, ill. a már jelen lévő, intramammalis tőgygyulladást okozó kórokozók tőgypatogén hatását súlyosbítják akár klinikai, akár szubklinikai mastitis esetében (Niskanen et al., 1995). A BVDV fertőzés és a szomatikus sejtszám változás potenciális összefüggését egyes kutatók megerősítették (Beaudeau et al., 2005; Voges et al., 2008), más kutatások viszont nem találtak kapcsolatot (Berends et al., 2008; Waage, 2000).

3. 3. 1. 2. *Vemhes szarvasmarha heveny fertőzése*

Immunkompetens, vemhes szarvasmarha a BVDV cp, ill. ncp biotípusával is fertőződhet, amely a magzat transzplacentaris fertőződéséhez vezet (Houe, 1999), viszont perzisztens fertőzést csak a széles körben elterjedt ncp biotípus alakít ki (Brownlie et al., 1989). A magzat BVDV-vel történő fertőződése során eltérő klinikai tünetek alakulnak ki a vemhesség idejétől függően (**3. ábra**).



3. ábra. A magzati BVDV-fertőzés sematikus ábrázolása és a fertőzés következményei (Dirksen, 2002)

A vemhesség első 18 napjában, amelyben az embrió-anyaállat kapcsolat még nem alakult ki, a BVDV nem képes átjutni a zona pellucidán, vagyis nem képes az embriót megfertőzni (Moening és Liess, 1995). A vemhesség korai szakaszában (29–41. nap) – a cotyledonok fejlődése, vagyis az embrió-anyaállat kapcsolat kialakulását követően – a BVDV-vel hevenyen fertőzött teheneben gyakran jellemző tünet a sikertelen termékenyítés (meddőség), a korai embrióelhalás és embriófelszívódás, valamint a visszaivarzás, amely a vemhesülési arány csökkenésében és a két ellés közötti idő növekedésében nyilvánul meg (Grahn et al., 1984; McGowan et al., 1993). A vemhesség első trimeszterében, nagyjából az 50–100. nap között történő transzplacentáris fertőzés magzatelhalást és vetélést okozhat. A magzati halál oka lehet a vírus magzatba jutása, ill. a vírus méhlepényt károsító hatása következtében kialakuló tápanyagellátás zavara. A BVDV a transzplacentáris fertőzés során, a magzatba történő átjutását megelőzően, a méhlepény trophoblast sejtjeiben szaporodik (Tremblay, 1996), valamint a fertőzést követő 10. napon belül károsítja az anyai vascularis endotheliumot, amely placentitishez és végül vetéléshoz vezet (Brownlie et al., 1987).

A vemhesség 80–150. napja között történő magzati fertőződés esetében a BVDV patogén hatása következtében különböző veleszületett rendellenességek alakulhatnak ki, elsősorban a központi idegrendszerben, a szemben, a vázizomrendszerben és a thymusban: kisagyi hypoplasia, microencephalopathia, hypomyelinogenesis, hydrocephalus, pseudocysta kialakulása az agyban, retina atrophia és dysplasia, microphthalmia, a szaruhártya elhomályosodása, cataracta, alopecia, brachygnatia, arthrogriposis, thymus hypoplasia, valamint a csontvázrendszer és a tüdő csökkent fejlődése (Blanchard et al.,

2010; Brownlie, 1985; Fray et al., 2000; Webb et al., 2012). A kisagyi hypoplasia a cerebellaris vasculitis következményeként kialakuló fehérállománybeli ödéma, kisagyi duzzanat és a germinalis réteg necrosisának eredménye (Brown et al., 1974). A kisagyi hypoplasia ataxia formájában manifesztálódik (Trautwein et al., 1986). A vemhesség ezen időszakában – csökkenő tendenciát mutatva – továbbra is előfordul vetélés (Done et al., 1980).

A magzat a vemhesség 150. napja körül válik immunkompetenssé, vagyis ettől az időszaktól ismeri fel a transzplacentárisan szervezetébe került vírust idegenként és képes aktív immunválaszt kialakítani. A 150. naptól történő transzplacentáris fertőzés eredményeképpen a magzat szeropozitívvá válik, vagyis már a megszületés pillanatában szervezetében BVDV ellen termelt specifikus ellenanyagok mutathatók ki (Lanyon et al., 2014).

Járványtani szempontból kiemelkedő jelentőségű a szeronegatív vemhes szarvasmarha BVDV ncp biotípusával történő fertőződése, – kb. a vemhesség 30–125. napja közötti időszakban – aminek eredményeképpen a magzat immuntoleránssá válik és benne élethosszig tartó perzisztens viraemia alakul ki.

3. 3. 2. Perzisztens fertőzés

Perzisztens fertőzés esetében két formát szükséges megkülönböztetni: 1. a magzat az intrauterin fejlődés 30–125. napja között ncp BVDV biotípussal fertőződik és a fertőzést okozó BVDV-törzsre egész élete során immuntoleráns (nem-MD kórforma) és 2. a PI-szarvasmarha élete során homológ vagy heterológ cp BVDV biotípussal felülfertőződik (MD-kórforma) (Bolin et al., 1985; Lanyon et al., 2014).

A borjak BVDV-vel szemben kialakult immuntoleranciája egész életen át tartó, perzisztens viraemiát jelent. A vírus megtalálható a nyirokcsomókban, az emésztőrendszer epithelialis és lymphoid sejtjeiben, a tüdőben, a bőrben, a thymusban és az agyban (Liebler-Tenerio et al., 2004). A központi idegrendszerben a vírus jelen van a neuronokban, az astrocytákban, az oligodendroglia-sejtekben és a vérerekben, az endothelium kivételével (Montgomery, 2007). A vírus immunszuppresszív hatása következtében a PI-egyedek egészséges társaiknál fogékonyabbak egyéb fertőző ágensekre, amelyek a fertőzést követően elsősorban krónikus vagy visszatérő tüdő- és bélgyulladás formájában jelentkeznek, esetenként haematológiai-, dermatológiai-, vagy neurológiai elváltozások mellett, ezért a PI-egyedek mortalitásának aránya az első évben 50% körül alakul (Houe és Pálfi, 1993). A PI-egyedek általában szeronegatívak, viszont a vírus erős antigenitása miatt, a nagy ellenanyag-tartalmú kolosztrum itatását követően a PI-borjak életük első 3–4 hónapjában átmenetileg szeropozitívvá válhatnak (Pálfi et al., 1993).

Abban az esetben, amikor az ncp BVDV biotípussal fertőzött, perzisztensen viraemiás egyed cp BVDV biotípussal felülfertőződik, kialakul a végzetes kimenetelű nyálkahártya betegség. Az MD a BVDV-fertőzés sporadikus formája, amely általában 6 hónap és 2 év közötti szarvasmarhákat érint. A kórképre jellemző, hogy a betegség lefolyása 2–3 nap és 3 hét között alakul, a morbiditás 5% alatt van, viszont a mortalitás megközelíti a 100%-ot. A járvány megelőző intézkedések be nem tartása, elsősorban új állatok állományba keverése előzetes BVDV-re irányuló diagnosztikai vizsgálatok nélkül, akár 25%-os megbetegedési arányt is okozhat (Radostits és Littlejohns, 1988).

A kórképre jellemző klinikai tünetek láz, bágyság, gyengeség, étvágytalanság, polipnoe, tachycardia, a klinikai tünetek megjelenését követő 2–3. naptól profúz hasmenés, amely változó mennyiségű alvadat vagy friss vért tartalmazhat. Az esetek 75–80%-ában a szájüregi fekélyes elváltozások következtében az állat intenzív nyálzása figyelhető meg. Felületes kimaródások láthatóak a szájüregben (ajkak, ínszél, nyelv, szájpads), a külső orrszárnnyakon és az orrüregben, a tőgyön és a vulván. Az esetek egy részében sántaságot előidéző, eróziókkal kísért csülökirha-gyulladás alakulhat ki (Brownlie, 1985). Gyakran figyelhető meg szaruhártya-ödéma, nagy mennyiségű könny, ill. hurutos-gennyes szemváladék termelődése. Túlhevény esetben az állat klinikai tünetek nélkül, még azok kialakulása előtt, hirtelen elhullik (Radostits és Littlejohns, 1988).

A patológiai vizsgálat során az emésztőrendszer felső szakaszában, elsősorban a nyelőcső és a szájrétű nyálkahártyájában lineáris alakú eróziók figyelhetők meg. A belek hurutos gyulladása mellett jellegzetes, sötét színű, vízszerű béltartalom észlelhető. Az ileum savóshártyával borított felszínén a Peyer-plakkok duzzanata és vérzéses beszűrődése látható (Brownlie, 1985). A kórfolyamat pathogenesiséből adódóan a Peyer-plakkokban lymphoid depletio és atrophia figyelhető meg. A lamina propriából a microvillusok eltűnnek, valamint sejttörmelék és nyálka halmozódik fel a kitépelt Lieberkühn-kriptákban. A stratum spinosum hámsajtjeinek elhalása a sejtközötti kapcsolat zavarához vezet a bőr, a pofa, a szájüreg, a nyelőcső és az előgyomrok hámrétegében (Bolin, 1995).

3. 3. 3. A „Trójai tehén”

Trójai tehénnek nevezik a perzisztensen fertőzött magzattal vemhes, nem PI-tehenet, amely a BVDV behurcolása szempontjából kiemelt jelentőségű (van Campen, 2010). Ezek a vemhes állatok egészségesek, BVDV-re nézve védettek, mivel szeropozitívak, ugyanakkor állományba kerülésük jelentős kockázati tényező, mivel a születendő PI-borjú egész életén át, nagy titerben, minden testnedvével üríti a vírust, ezáltal nagy vírusnyomást gyakorol az

állományra. A trójai tehének szerológiai vizsgálata során megfigyelhető, hogy a vemhesség 2. és 3. trimeszterében az ellenanyag-titer bennük jelentősen magasabb, mint a szintén szeropozitív, de egészséges magzattal vemhes társaikban (Brownlie et al., 1998; Lindberg és Alenius, 1999). Ez a magas ellenanyag-szint vélhetően a PI-magzat felől érkező folyamatos antigén-inger hatása.

3. 3. 4. Immunszuppresszió és immuntolerancia

A BVDV immunszuppresszív hatása kulcsfontosságú szerepet tölt be a szarvasmarhákat megbetegítő egyéb fakultatív patogén kórokozók megtelepedésében, elszaporodásában és az arra jellemző betegség kiváltásában. A BVDV-fertőzés a már meglévő légzőszervi megbetegedést súlyosbít(hat)ja, ill. *Neospora caninum*mal történt társfertőzés esetében vetélést okoz (Fulton et al., 2000; Quinn et al., 2004).

A vírus immunszuppresszív hatása elsősorban a vírusnak az immunkompetens sejtekhez való erős affinitásával magyarázható, amely kötődés során az immunválasz kialakításában részt vevő sejtek a vírus patogén hatására elpusztulnak vagy olyan mértékben károsodnak, hogy funkciójukat nem tudják ellátni. A BVDV TI-szarvasmarhákban több szinten, a lymphocyták, a neutrophyl granulocyták, a macrophágok csoportjában és a cytokin-termelés gátlása során is károsítja az immunreakciót. A BVDV csökkenti az immunglobulin- és az interferon-termelést, gátolja az immunválasz kialakításában résztvevő lymphocyták szaporodását, valamint a monocyták kemotaxisát. A sejtes immunválaszra gyakorolt károsító hatás eredményeképpen csökken a humoralis immunválasz mértéke is (Potgieter, 1997; Ridpath, 2010b).

További megfigyelés, hogy ugyanaz a ncp BVDV törzs heveny fertőzés során a TI-állatokat immunszuppresszálja, míg a PI-egyedek akár évekig tünetmentesen élhetnek. Ezen utóbbi szarvasmarhacsoport tünetmentessége csak részben magyarázható a gazdaszervezet BVDV-rezisztenciájával, nagyobb részben viszont annak következménye, hogy a vírus olyan patomechanizmusokat alakított ki, amellyel a gazdaszervezet vírus iránti toleranciáját növeli a vírusszám csökkentése nélkül (Peterhans és Schweizer, 2013). Az egyedfejlődés során a PI-egyedekben a BVDV elleni veleszületett és szerzett immunválasz is szupprimált. Az immuntolerancia kialakulásában kulcsszerepe van a BVDV elleni interferon-válasz down-regulációjának. Ugyanabban a BVDV szempontjából PI-egyedben egyéb, BVDV-vel nem rokon vírussal, ill. fertőző ágenssel szemben az interferon moduláció nem gátolt, vagyis minden egyéb kórokozóval szemben a gazdaszervezet immunrendszere aktívan képes védekezni (Lanyon et al., 2014).

3. 4. Diagnosztika

A betegség vagy a fertőzöttség, valamint a perzisztens fertőzés megállapítása a megjelenő klinikai formák változatossága miatt a kórelőzményi adatok, a klinikai tünetek és a kórbonctani elváltozások alapján csak valószínűsíthető (Houe, 1996). Pontos és definitív diagnózis BVD esetében csak laboratóriumi vizsgálattal állapítható meg (Sandvik, 1999)

A BVD-fertőzöttség kórjelzése során számos megbízható diagnosztikai teszt áll rendelkezésre. A vírus jelenléte megállapítható a vírus azonosításával, ill. a vírusantigén vagy vírusnukleinsav kimutatásával. A közvetett diagnosztikai módszerekkel a vírusfertőzésre adott immunválasz során a vírus ellen termelődött specifikus ellenanyagok jelenléte igazolható. Direkt diagnosztikai módszerek közül elterjedt a vírusizolálás (VI), az antigén-fogó ELISA (ag-ELISA), az RT-PCR és az immunhisztokémia (IHC), az indirekt, szerológiai módszerek közül pedig a vírusneutralizációs teszt (VNT) és az ellenanyag-ELISA (ea-ELISA). Egy nem vakcinázott szarvasmarha-állományban, ahol a BVD vírusa jelen van, a diagnosztikai tesztek eredményei alapján a szarvasmarhák különböző kategóriába sorolhatók (**1. táblázat**) (Sandvik, 1999).

1. táblázat. Egy BVDV-vel fertőződött, BVD ellen nem vakcinázott szarvasmarhaállomány egyedeinek csoportosítása a diagnosztikai vizsgálatok eredményei szerint (Sandvik, 1999)

Kategória	Ellenanyag	Vírus	Megjegyzés
Nem fertőzött, fogékony egyedek	–	–	–
Hevenyen fertőzött egyedek	–	+/-	Rövid ideig tartó, alacsony vírustiter a vérben
Heveny fertőzésen átesett, aktív immunitással bíró egyedek	+	–	–
Passzív immunitással bíró egyedek	+	–	Az ellenanyagok nagyjából 5–9 hónapig mutathatók ki
Perzisztensen fertőzött, 6 hónaposnál idősebb egyedek	–	+	–
Perzisztensen fertőzött borjak	+	+/-	Az ellenanyagok nagyjából 4–10 hétig mutathatók ki
MD esetek	-/+	+/-	Vírusneutralizáló ellenanyagok
PI-magzattal vemhes tehenek	+/++	–	Magas vemhesség alatt nagy ellenanyagszint
Immunizált bika	+	–	Az ondó-vizsgálat eredménye lehet víruspozitív

3. 4. 1. Direkt diagnosztikai módszerek

Járványügyi szempontból kiemelt jelentőségű a vírushordozó egyedek felderítése és a PI-állatok eltávolítása az állományból.

3. 4. 1. 1. Vírusizolálás

A direkt víruskimutatás „arany standard” módszere a vírusizolálás, amely a legérzékenyebb módszerek közé tartozik. A BVDV cp törzse fertőzött sejt kultúrában a sejtek vakuolizációját és sejtpusztulást okoz 48 órán belül. Hátránya az idő-, a költség- és a szakmai jártasság igénye (sejtenyésztő labor működtetése), ill. az, hogy a BVD-vírusok többsége ncp biotípus, vagyis nincs sejtkárosító hatásuk, ezért csak kiegészítő festési eljárással (immunfluoreszcencia, IF; immunperoxidáz, IP), ag-ELISA-val vagy RT-PCR-rel mutathatók ki. A VI érzékenységében kulcsszerepet játszik az alkalmazott sejtenyésztés, amelyek közül kiemelkedik a magzati vese-, tüdő- és hereszövet, bár ez utóbbi már egy nagyságrenddel kisebb érzékenységű az előbbieknél. Mintaként szolgálhat teljes vér, szérum, orrváladék, ondó, egyéb szövetek. Vírusizolációhoz a legjobb minta a teljes vér esetén a buffy coat-ból származó mononuclearis sejtek, elhullott állatból vagy vetélt magzattól pedig elsősorban a lymphoid szervekből származó szövetminta: lép, vékonybél Peyer-plakkjai, mesenterialis nyirokcsomó, thymus (Anderson, 2000; Valle, 2000).

3. 4. 1. 2. Antigén-fogó ELISA

A széles körben alkalmazott ag-ELISA teszt gyors, költséghatékony és előnye, hogy nem igényel speciális sejtenyésztő laboratóriumot. A vírusizolálással összehasonlítva hátránya a kisebb fokú érzékenység. Jelenleg számos különböző BVDV-specifikus monoklonális ellenanyag áll rendelkezésre a vírusantigén kimutatására. A kereskedelmi forgalomban kapható ELISA-kitek közül létezik egy termék, amely vérsavóból is képes BVDV-antigént kimutatni, amely jelentős idő és munkaerő megtakarítást tesz lehetővé. A többi diagnosztikai teszttel ellentétben, ez utóbbi módszer az E2 régió kódolt fehérje helyett, amely csak kis mennyiségben ürül a fertőzött sejtekből a véráramba, a virális envelope protein ribonuclease secreted (E^{rns}) fehérje kimutatására irányul, amely mindig a kimutathatósági szintet meghaladó mértékben van jelen a fertőzött állatok vérsavójában (Becher és Tautz, 2011). Azonban a hazai és külföldi tapasztalatok alapján a 3 hónaposnál fiatalabb borjak maternális ellenanyagai zavarhatják a víruskimutatás eredményességét azok vírusközömbösítő hatása miatt.

3. 4. 1. 3. Polimeráz láncreakció

A polimeráz láncreakció (PCR) a virális genomiális ribonukleinsav (RNS) direkt kimutató módszere. A gyorsabb és költséghatékonyabb vizsgálat igénye miatt egyre nagyobb mértékben alkalmazzák a reverz transzkriptáz PCR (RT-PCR)- és annak kvantitatív változata, a qRT-PCR-módszert, amelyeknél már a maternális ellenanyagok jelenléte sem okoz gondot. Ezen módszerek érzékenysége hasonló a VI-val, egyes esetekben, pl. rosszul tárolt mintáknál, még felül is múlja azt. További nagy előnyük a gyorsaság mellett a kis mennyiségű vizsgálati anyagigény és a csak szűk területre specializálódott szakember alkalmazásának lehetősége is. Legfőbb előnye az eljárásnak az, hogy mivel nukleinsav-felerősítésen alapul, a minták egyesíthetők (poolozhatók) egy vizsgálatra. Egy PI-egyed állomány szintű felderítést célzó vizsgálatnál akár 10–30 vérminta is összemérhető, vagyis jelentős költséghatékonyság valósítható meg a módszerrel tömegvizsgálatok esetén. Irodalmi adatok szerint a laktáló teheneknél 1 PI-állat 132, 2 PI-állat 800 egyed elegytej mintájából is felderíthető a nagy mennyiségű ürített vírus alapján (Lanyon et al., 2014). Ennek ellenére, mint minden érzékeny módszer, az RT-PCR is adhat téves pozitív eredményeket, amelyek az RT-PCR-ben szereplő primerek gazdasejt genomiális DNS felerősítésével hozhatók összefüggésbe. Ezért alkalmazzák újabban kizárólag a qRT-PCR-t, amely a két szálkezdő primereken kívül még egy további, vírusspecifikus, kettősen jelölt próba DNS-t is hozzátesz a felerősítő rendszerhez. A próba DNS kizárólag virális genomhoz tapad, így a teszt specifikus eredményért felelős. A hazai vizsgálatok szerint a qRT-PCR és a VI+ag-ELISA módszerekkel kapott eredmények között 99% fölötti a korreláció. Ezt az eredményt a pozitív minták további megerősítését célzó összehasonlító vizsgálattal végzik, amely minden esetben az eddig felsorolt két módszer egyikének a párja. A vizsgálatra felhasználható minta széles skálájú: élő állatból alvadásában gátolt és nem gátolt vérminta, orrváladék-, bélsár-, tampon-, fülporcminta, míg elhullott állatból lép, máj, vese, bél és nyirokcsomók a leggyakrabban vizsgált anyagok (Szabára et al., 2014).

3. 4. 1. 4. Immunhisztokémia

Az Amerikai Egyesült Államokban a BVDV antigén legelterjedtebb kimutató eszköze a rendkívül érzékeny és specifikus immunhisztokémiai vizsgálati módszer. Az immunhisztokémiai vizsgálati eljárás munka- és időigényessége jelenleg nem tette lehetővé a hazai intézeti diagnosztikában a széleskörű elterjedését. Perzisztensen fertőzött borjúból származó fülporc minta esetében a módszer érzékenysége 100% (Cornish et al., 2005). Ugyanezen tanulmány szerint tranziensen fertőzött borjúból származó fülporcmintákból is sikerült IHC-val kimutatni a vírust. A módszer rendkívül nagy szenzitivitását bizonyítja, hogy nyolc borjú vérmintájából (buffy coat) 3 esetben, amelyek heveny BVD fertőzés jeleit

mutatták, sikerült a vírust kimutatni IHC-val, annak ellenére, hogy mind az RT-PCR és mind a vírusizolálás a buffy coat-ból negatív eredményt adott (Lanyon et al., 2014). Az IHC előnye, hogy részben megbízható, részben pedig nagyszámú minta feldolgozására alkalmas diagnosztikai eljárás, hátránya viszont, hogy a vizsgálandó minta szövetmintára korlátozódik, munkaigényes, precíz technikai kivitelezést igényel, szubjektív pontozási rendszerre (scoring system) támaszkodik, amely megköveteli a pontos és megbízható személyzetet (Cornish et al., 2005; Driskel és Ridpath, 2006), valamint a nem megfelelően tárolt minták (pufferolt formaldehid-oldat, <15 nap tárolás) feldolgozása során kapott eredmények megbízhatatlanok (Kahn et al., 2011).

3. 4. 2. Indirekt diagnosztikai módszerek

Az ellenanyag kimutatása szarvasmarhában értékes és informatív módja az egyed immunstátuszának és az esetleges korábbi BVDV expozíció meghatározásának. Egy vakcinázatlan egyed pozitív eredményű szerológiai tesztje az esetek döntő többségében azt jelzi, hogy a szarvasmarha találkozott a vírussal és nem PI. Szeropozitív vemhes nőstény jelzi annak lehetőségét, hogy a magzat PI. Egy szeronegatív egyed viszont nem feltétlenül azt erősíti meg, hogy az állat BVDV tekintetében immunkompetens és fogékony a vírusra, hanem felveti annak lehetőségét, hogy PI, amelyet csak további direkt víruskimutató módszerrel lehet megerősíteni vagy kizárni. Az állomány vagy régió szintű nagy ellenanyag-prevalencia jelzi annak valószínűségét, hogy az adott terület szarvasmarha populációjában van aktív vírusmozgás, vagyis van PI-egyed, ugyanakkor nagyszámú szeronegatív eredményű egyed esetében az állomány feltételezhetően nem tartalmaz PI-szarvasmarhát. Egy állományban az alacsony ellenanyag-prevalencia rámutat az adott állományban alkalmazott járvány megelőző, járvány leküzdő intézkedések szigorításának szükségességére a vírus behurcolásának megelőzése érdekében (Lanyon et al., 2014). A szerológiai vizsgálati eredmény értékelésénél összességében megállapítható az, hogy egy állat szeronegativitása sokkal súlyosabb ténytet fedhet el (PI-állat), mint a szeropozitív státusz, amely az egyed immunrendszerének normális működését tükrözi és egyúttal az állomány BVDV-fertőzöttségéről is árulkodik.

3. 4. 2. 1. Vírusneutralizációs teszt

Az indirekt módszerek (szerológia) „arany standardja” a vírusközömbösítési próba, amely rendkívül specifikus, ugyanakkor drága és időigényes az alkalmazott szövettenyészetek miatt (Cho et al., 1991; Horner és Orr, 1993; Houe et al., 2006). Az érzékenységét alapvetően legalább két komponens befolyásolhatja. Az alkalmazott sejtenyészetten kívül rendkívül fontos a közömbösítendő vírustörzs genotípusa, amely heterológ vírus és savó

alkalmazásánál nagyobb VN-titer különbséget is eredményezhet a vizsgálati savóknál. Ez az oka annak, hogy a ráfertőzési kísérletek során mindig homológ vírussal vizsgálják az áthangolódás mértékét (Dubovi, 2013). A savók ismételt fagyasztása és olvasztása, valamint nem megfelelő tárolása, ill. nagymértékű mikrobiológiai szennyezettsége is módosíthatja az eredményt. A VNT előnye a tömegmunkákra tervezett ELISA-val szemben, hogy mindig tájékoztatást nyújt a vizsgált állat védettségéről is, valamint az esetek jelentős részében egyetlen vizsgálattal is megállapítható a heveny fertőzés. A vemhesség utolsó hónapjában a külföldi tapasztalatok szerint a PI-borjút hordozó anyatehén is kiszűrhető rendkívül magas ellenanyag szintje alapján, amely a benne lévő BVD-vírust ürítő PI-borjú ismételt antigéningert okozó hatásával magyarázható (Lanyon et al., 2014).

3. 4. 2. 2. *Ellenanyag ELISA*

Az ea-ELISA a BVD specifikus ellenanyagok szérumból, tejből, ill. elegytejéből történő kimutatásának szemikvantitatív módszere. Emellett alkalmas a kolosztrum ellenanyagtartalmának kimutatására is (Fux és Wolf, 2013). A gyorsdiagnosztikai tesztek közül kizárólag az ELISA-vizsgálatok használhatók, amelyek specifikussága az elmúlt évtizedben jelentős mértékben javult. Jelenleg a forgalomban lévő tesztek specificitása eléri legalább a 99%-ot, míg a szenzitivitása a 98%-ot a VNT-hez viszonyítva (Beaudeau et al., 2001). Az ea-ELISA gyors és költséghatékony módszer, ezért hatékony és gazdaságos alternatívája lehet a VNT-nek (Nettleton és Entrican, 1995). Az elegytej minták szerológiai ellenőrzése főleg a mentesítési eljárás második felében, a PI-állatok állományból történő eltávolítása után, költséghatékony módszer az állomány rendszeres BVD-fertőzöttségének ellenőrzésére. Szemben az elegytej minta qRT-PCR-vizsgálatával, amely esetében, ha a PI-egyed nincs laktációban, nem lesz víruspozitív a minta és ez téves következtetés levonásához vezet, az elegytej szerológiai vizsgálata akkor is azonnal jelzi az akut fertőzést és az esetleges új PI-egyed megjelenését az állományban, ha az egyed nincs a tejelő állatok között. Az elegytej ellenanyagszintje a vírusürítő állat telepi jelenléte miatt emelkedni fog, mivel a fogékony állatok 7–10 napon belül áthangolódnak, megemelve az elegytej ellenanyagszintjét. Poolozott szérumminták ea-ELISA vizsgálata során megbecsülhető a szeroprevalencia a vizsgált állatok között. Ennek kiemelt jelentősége van tejelő állományokban azok a szarvasmarhák között, amelyek nem laktálnak (borjak, üszők/növendékek, szárazon állók), húsmarha-állományokban és bikák vizsgálatakor (Lanyon et al., 2013).

3. 5. Prevalencia

A BVDV-1 és a BVDV-2 prevalenciája területenként eltérő, amíg Észak-Amerikában az izolátumok megközelítőleg 50%-a BVDV-2 típusú, addig Európában a domináns BVDV-1 genotípus prevalenciája 90% körüli, a BVDV-2 pedig csak néhány százalékban fordul elő (Cowley et al., 2012).

3. 5. 1. Szarvasmarha

A szisztematikus védekezést nem folytató európai országokban a BVDV állomány szintű ellenanyag prevalenciája átlagosan 55% körül található, míg az állományon belüli szeroprevalencia széles határok között mozog, 19–89%, leggyakrabban 60–80%. Endémiás területen, ill. olyan állományokban, ahol nagy a vírusprevalencia, a PI-egyedek állományon belüli prevalenciája 0,5–2% között van, míg az állományok nagyjából 50%-ában található legalább egy PI-állat (Cowley et al., 2012; Houe, 1999).

Magyarországon a betegséget az 1950-es évek végén észlelték először, akkor légző- és emésztőszervi, valamint szaporodásbiológiai gondokat okozott (Áldásy és Szabó, 1959). A vírust azonban csak néhány év múlva izolálták (Manninger et al., 1963). Hazánk nagy létszámú állományaiban jelenleg a fertőzöttség széles körben előfordul. Az 1999. évi reprezentatív nyugat-dunántúli regionális felmérés adatai alapján a szeropozitivitás 95%-ra tehető (Kudron, 1999). Egy 2008-as, kis mintaszámú reprezentatív, országos és telepi szintű szerológiai felmérés adatai alapján a szeropozitivitási arány az egyedek vonatkozásában 42,5, míg a gazdaságok viszonylatában 67,8% volt (Kővágó et al., 2015). Amennyiben a fertőzött állományok arányát Magyarországon 95%-ra becsüljük, akkor az 5% mentes állomány fertőződésének éves kockázata 30–50% közöttinek tekinthető, vagyis a teljes szarvasmarha-állomány 1,5–2,5%-ánál lehet heveny, klinikai BVD előfordulásával számolni (Szabára és Ózsvári, 2013).

3. 5. 2. Egyéb fajok

A szerológiai vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy szarvasmarha mellett a vírussal szemben termelt ellenanyag kimutatható egyéb háziasított és vadon élő kérődzőfajokból (Belknap et al., 2000; Doyle és Heuschele, 1983; van Campen et al., 2001). Perzisztens fertőzést leírtak már juhban, kecskében, sertésben, alpakában (*Vicugna pacos*), fehérfarkú szarvasban (*Odocoileus virginianus*), jávorantilopban (*Taurotragus oryx*), kancsilfélékben (*Tragulus* genus), amerikai hegyikecskében (*Oreamnos americanus*), lámában (*Lama glama*), valamint egypúpú (*Camelus dromedarius*) és kétpúpú (*Camelus bactrianus*) tevében, amelyek mint potenciális vírusrezervoárok veszélyeztethetik a mentesítési folyamat, ill. a védekezési program sikerességét (Carman et al., 2005; Loken és Bjerkas, 1991; Nelson

et al., 2008; Passler et al., 2010; Scherer et al., 2001; Terpstra és Wensvoort, 1997; Uttenthal et al., 2005; Vilcek et al., 2000). Emellett a diagnosztika és ezáltal a védekezési folyamat szempontjából kiemelkedően lényeges, hogy a szoros antigénrokonság miatt a BDV-vel és a CSFV-vel szembeni ellenanyagok keresztreakálnak a szerológiai próbákban a BVDV-vel szemben termelt ellenanyagokkal, amelyek fals eredményekhez vezetnek (Kulcsár et al., 2001). Tehát pl. a BDV képes szarvasmarhába bejutni, amelyben kóroktani szerepe nincsen, viszont a BVDV-re irányuló szerológiai vizsgálat eredményét befolyásolhatja, az fals pozitív lehet. Drágább tesztekkel ugyan el lehet különíteni a BDV-vel, a CSFV-vel és a BVDV-vel szemben termelt antitesteket egymástól, de a BVDV diagnosztikában rutinszerűen alkalmazott módszerek erre nem alkalmasak. A keresztfertőzés viszont megzavarhatja a BVDV-től mentes szarvasmarha-állomány monitoringját (Strong et al., 2010).

3. 6. Védekezés

A BVD elleni védekező program, akár állomány, régió vagy nemzeti szintű, különböző intézkedések kombinációját foglalja magában (Ridpath, 2013). A betegség elleni védekezés történhet vakcinázással vagy vakcina használata nélkül. A mentesítési programnak minden esetben három fő pontja van: 1. megelőző járványügyi intézkedések, vagyis a mentes állományok BVDV-vel történő fertőződésének a megakadályozása; 2. fertőzött állományokban a PI-egyedek kiszűrése és eltávolítása, ezáltal a vírusürítés csökkentése; 3. a mentes állományok folyamatos ellenőrző (monitoring) vizsgálata (Lindberg és Houe, 2005). A vakcinázás, mint a védekezés egy lehetséges kiegészítő eleme, egészítheti ki a programot (4. ábra) (Lindberg és Houe, 2005).



4. ábra. A szervezett BVDV elleni védekezés három alappillére, a vakcinázással, mint a védekezés negyedik, opcionális kiegészítő elemével (Lindberg és Houe, 2005)

A skandináv országokban a szarvasmarha-állományok BVDV-fertőzöttségének felmérése után kezdődtek el a BVD-elleni védekező programok, amelyek célja a terület mentesítése volt (Lindberg és Alenius, 1999). A sikeres mentesítés lényege a legfőbb fertőzési, ill. fenntartó vírusforrás, a PI-egyed felismerése és eltávolítása az állományból, mivel minden testnedvével, élethosszig tartóan, nagy titerben üríti a vírust. A PI-egyedek felismerésével és minél hamarabbi eltávolításával megelőzhető a fogékony vemhes szarvasmarhák, vagyis a magzat fertőződése a vemhesség korai szakaszában, ezáltal új PI-borjak kialakulása (Lindberg és Houe, 2005). Néhány tanulmány beszámol arról, hogy TI-szarvasmarha is szerepet játszhat a fertőzés fenntartásában, de a rövid ideig tartó, átmeneti viraemiás fázis és az akár két nagyságrenddel kisebb mértékű vírusürítés miatt, a mentesítési eljárás során szerepe kevésbé jelentős, de nem elhanyagolható (Moen et al., 2005; Moerman et al., 1993). Skandináviában a mentesítés során azt tapasztalták, hogy a vírus az utolsó PI-egyed eltávolítása után eltűnt az állományból (Lindberg és Alenius, 1999). A svéd kutatók a mentesítés során gyakran tapasztalták az öntisztulás (self-clearance) jelenségét, ami azt jelenti, hogy egy állományból a vírus minden különösebb beavatkozás nélkül kikopik, ha a PI-egyedeket időben eltávolítják (Stahl et al., 2008).

3. 6. 1. A BVD elleni védekezés gyakorlati lehetőségei

3. 6. 1. 1. BVD elleni vakcinázás

A BVD elleni védekezés első próbálkozásai az 1960-as években, az első attenuált, élővírusos vakcina (modified live vaccine, MLV) megjelenésekor kezdődtek. Azóta is a BVD elleni szervezett védekezés egyik kiegészítő eszköze lehet a vakcinázás (Houe et al., 1995). A világ számos országában, különösen az intenzív állatforgalommal és nagy állatsűrűséggel rendelkező régiókban, vakcinázással védekeznek a BVD ellen (Lindberg, 2003; Lindberg et al., 2006; van Campen, 2010). Az engedéllyel rendelkező, kereskedelmi forgalomban elérhető BVD elleni vakcinák száma jelenleg Észak-Amerikában több mint 160, Európában pedig mintegy 20 féle vakcina, amelyek nagyobb részt inaktivált oltóanyagok. Annak ellenére, hogy a BVD elleni immunizálás az utóbbi évtizedekben széles körben elterjedt, a vírus és a betegség prevalenciájának csökkenésében nem történt számottevő előrelépés. Ehhez képest számos, vakcinás mentesítés alatt álló állatbetegség, mint például az Aujeszky-betegség, a klasszikus sertéspestis, a BHV-1 és a keleti marhavész esetében sikerült a kórokozó prevalenciáját gyéríteni, ill. azt teljesen eliminálni és adott régiót vagy országot mentesíteni.

A BVD elleni védekezés során a védőoltás alkalmazásának sikertelensége több okra vezethető vissza:

1. A PI-szarvasmarhák – mint a fertőzési láncot fenntartó legfőbb vírusforrások – vírusnyomásban betöltött szerepe sokáig alábecsült volt; az 1980-as évek végéig nem tartották fontosnak a sikeres BVD leküzdő programok során a PI-egyedek eltávolítását az állományból.
2. A kezdeti vakcinák fejlesztésének és használatának célja csupán a klinikai tünetek kialakulásának, mint például a láz, fehérvérsejtszám csökkenés, megakadályozása volt. Nagyjából 20 évvel ezelőtt ismerték fel, hogy a BVD elleni immunizálás alapvető lényege a magzat védelme a vírussal szemben.
3. A BVD elleni vakcinázás viszonylag ritkán történt szervezetten.
4. Európában a BVDV-2 elleni védekezés jelentősége nagymértékben alábecsült. 2015-ig egyik európai vakcina sem tartalmazta a BVDV-2 genotípust.

Élővírusos vakcinával történt immunizálás során a kis mennyiségben bejuttatott vírus az állatban elszaporodik, ezért az egyszeri vakcinázás is gyors és megfelelő protektív immunitás kialakítására képes (Áldásy et al., 1978; Kecskeméti et al., 1998; Liess et al., 1984; Soós és Tuboly, 2009). Az élővírusos vakcinák egyértelmű hátránya, hogy a (7–8 hónaposnál rövidebb ideje) vemhes tehenek immunizálása során számos esetben a vadvírusra jellemző magzatkárosító hatásról számoltak be (Bálint, 2005; Lindberg et al., 2006; van Campen, 2010). További hátránya, hogy a vadvírushoz hasonlóan immunszuppresszív hatású, ill. idegen ágenssel (akár más BVDV) szennyezett lehet (Kecskeméti et al., 1998, Lindberg et al., 2006). Minthogy élő vakcinákat csak citopatogén BVDV törzs(ek)ből készítenek, PI-egyed(ek)ben a vakcinavírus MD-t válthat ki.

Az inaktivált vakcinával történő alapimmunizáláshoz általában 2–4 hetes időközzel, kétszeri védőoltás szükséges, amelyet a gyártó utasítása szerinti intervallumonként (jellemzően 6–12 hónap) booster vakcinázásnak kell követnie. Az inaktivált vakcinák előnye, hogy az élővírusos vakcinákra jellemző hátrányos következmények nem jelentkeznek, az előállítás során esetleg fel nem ismert járulékos (kontamináló) ágensek is inaktiválódnak, vemhes tehenekben nincs magzatkárosító hatása és nem immunszuppresszív (Kecskeméti és Kiss, 1999; Soós és Tuboly, 2009). Inaktivált vakcinák használata során a vakcinavírus nem replikálódik. Ebből következően nem termelődik a Pestivírusok nagy, nem strukturális proteinje, az NS3 (régebbi nevén p80). Az NS3 jelentős ellenanyag termelődést kiváltó antigén. Mivel léteznek NS3 ellenanyagokra specifikus ELISA tesztek, ezek a diagnosztikumok az inaktivált vakcinával együtt DIVA rendszerként működhetnek, vagyis a vakcinázott nem fertőzött (NS3-negatív) állatok elkülöníthetők a BVDV fertőzöttektől (NS3-pozitív). A módszer használati értékét korlátozza, hogy a termelés során, inaktiválás előtt elszaporított vakcinavírus-szuszpenzióban jelen lehet maradék NS3 és ez többször oltott, nem fertőzött állatokban (a diagnosztikai teszt érzékenységétől függően) gyakran fals pozitív reakciót okoz (Makoschey et al., 2007). Ezért az eredmények inkább állomány szinten és

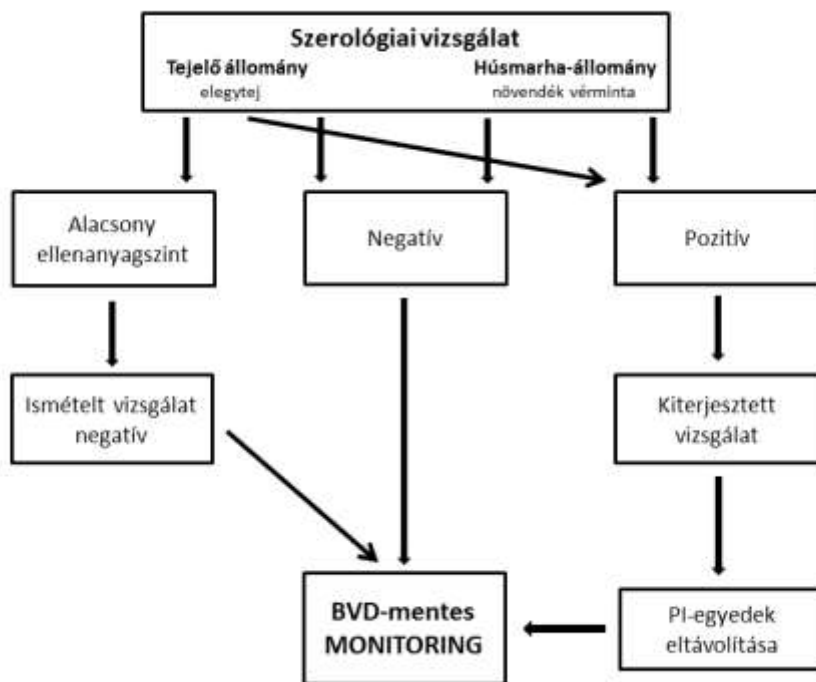
nem egyedre vonatkoztatva értelmezendők (Kudron, 1999). A módszer pontossága az inaktivált vakcinák NS3-tól való tisztításával elvben növelhető.

2014 decemberében az Európai Gyógyszerügynökség (European Medicines Agency, EMA) jóváhagyta az első olyan BVDV-1 és BVDV-2 genotípust tartalmazó attenuált, élővírusos vakcinát, amely ötvözi az inaktivált és attenuált oltóanyagok előnyeit, kiküszöbölve azok hátrányait.

A modern vakcinázási programok célja nemcsak a klinikai tünetekkel járó betegség megelőzése, hanem a viraemia kialakulásának és ennek következményeképpen a magzat fertőződésének megakadályozása (Kecskeméti és Kiss, 1999; Lindberg et al., 2006; Moenning et al., 2005; Patel et al., 2002; van Campen, 2010). Ezt a jelenlegi vakcinák úgy biztosítják, hogy mind a humoralis, mind a cellularis immunválaszban részt vevő sejtek aktivitását stimulálják, amely során optimális magzatvédelem érhető el. Abban az esetben, amikor a magzat védelme garantált, biztonsággal feltételezhető, hogy az immunitás megakadályozza a klinikai tünetek kialakulását és az átmeneti immunszuppressziót.

3. 6. 1. 2. Szisztematikus védekezési program vakcina használata nélkül

Elsőként az 1990-es években, Skandiáviában vezették be a szisztematikus BVDV elleni védekezési programot, amelynek lényege az állomány státuszának meghatározása, a PI-egyedek eltávolítása és a szigorú járványmegelőző intézkedések betartása vakcina használata nélkül (**5. ábra**). A skandináv védekezési módszerrel néhány éven belül sikerült a PI-egyedek prevalenciáját megközelítőleg nullára csökkenteni (Stahl et al., 2008). A skandináv országok sikeres védekezési programjainak hatására számos európai országban megkezdtek a mentesítést. Annak ellenére, hogy az egyes országokban a kiindulási körülmények jelentősen eltértek, a mentesítésben részt vevő országok 10 éven belül sikeresen befejezték a programot és mára mentesek, vagy majdnem teljesen mentesek BVD-től (Stahl et al., 2008).



5. ábra. A skandináv védekezési modell

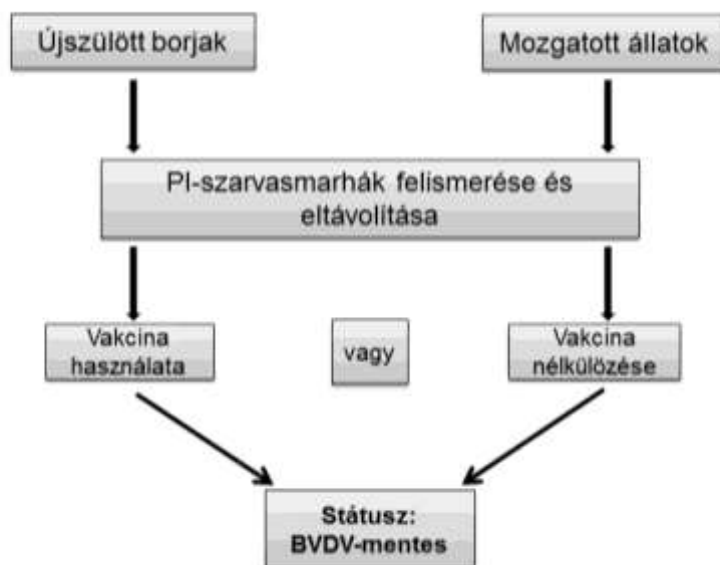
Alsó-Ausztriában önkéntes alapon 1997-ben kezdték el a BVDV-felszámolást skandináv mintára, majd 2004 óta minden szarvasmarha-állományban kötelező a mentesítés a skandináv módszer eszközeivel, vakcina használata nélkül. 2008-ra Alsó-Ausztria szarvasmarha-állományainak 92%-át mentesnek minősítették (Rossmann et al., 2010). Svájcban a mentesítési program 2008-ban kezdődött. A nagy szarvasmarha sűrűség, a speciális tartási körülmények és a BVDV nagy előfordulási gyakorisága, valamint a széleskörű vakcina-használat miatt a nemzeti mentesítési programjuk kismértékben eltér a skandináv modelltől. A mentesítés első szakaszában valamennyi szarvasmarha fülporc- vagy vérmintájából vírusantigén-kimutatást végeztek. Az eredmények alapján az első évben 1,6 millió szarvasmarhából 12.000 PI-egyed volt. A mentesítés második szakaszában, az első szakaszban vizsgált vemhes tehéneknek azóta leellett utódait vizsgálták. A fülporcmintát az ellést követő első 5 napon belül vették. A 700.000 borjúból 5.000 volt PI. A harmadik, felügyeleti (surveillance) szakasz, gyakorlatilag a második szakasz folytatása. 2011-re összesen 3,5 millió szarvasmarhán végeztek vírusantigén-kimutatást és az eredmények szerint a PI-egyedek száma 95%-kal csökkent (Di Labio et al., 2011). Svájcban jelenleg valamennyi szarvasmarha-állomány szerológiai ellenőrzés alatt áll és a PI-állatok prevalenciája 0,02% alatt található. Az országos szintű, szisztematikus védekezési program kezdetén az egész ország területén megtiltották a BVD elleni vakcinázást (6. ábra) (Moening et al., 2005).



6. ábra. A svájci védekezési modell

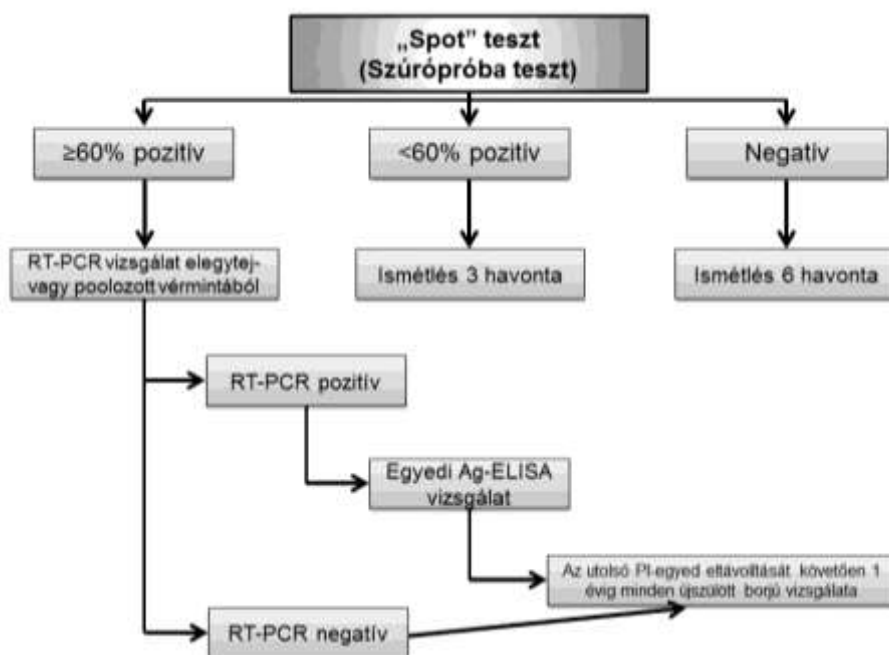
3. 6. 1. 3. Szisztematikus védekezési program vakcina használata mellett

Németországban 2011. január 1 óta kötelező a mentesítés. A program keretében kötelező minden újonnan született borjú fülporcmintájából ELISA- és/vagy RT-PCR-vizsgálat, a vírusantigén vagy a vírus nukleinsav kimutatására. Pozitív eredmény esetén 3 hét múlva ismételt vizsgálat történik a PI- és a TI-egyedek meghatározása céljából. PI-borjú azonosításakor azt az állományból azonnal el kell távolítani és az anyját BVD tekintetében meg kell vizsgálni. Ezen kívül állatmozgatás esetén minden egyes szarvasmarhát egyedileg vizsgálni kell. Azokon a területeken, ahol nagy az állatsűrűség (>200 szarvasmarha/km²) és/vagy intenzív a kereskedelem, az illetékes hatóságok engedélyezhetik a vakcina használatát. A kis állatsűrűségű és kis vírusprevalenciájú területeken a vakcinázást be lehet tiltani. Azonban a gyakorlatban a vakcina használata vagy annak mellőzése a védekezési programban általában a telep tulajdonosának és a telepet ellátó állatorvosnak a döntése. A mentesítés alatt álló állományokban engedélyezett a kétszeri vakcinázás BVD-ellen, amely során először inaktivált vakcinával, majd 4 hét múlva attenuált oltóanyaggal immunizálják a szarvasmarhákat (**7. ábra**) (Moening et al., 2005; Seeger et al., 2012). A nemzeti szintű kötelező védekezés első négy évében 0,55%-ról 0,05%-ra csökkent a PI-egyedek prevalenciája.



7. ábra. A német védekezési modell

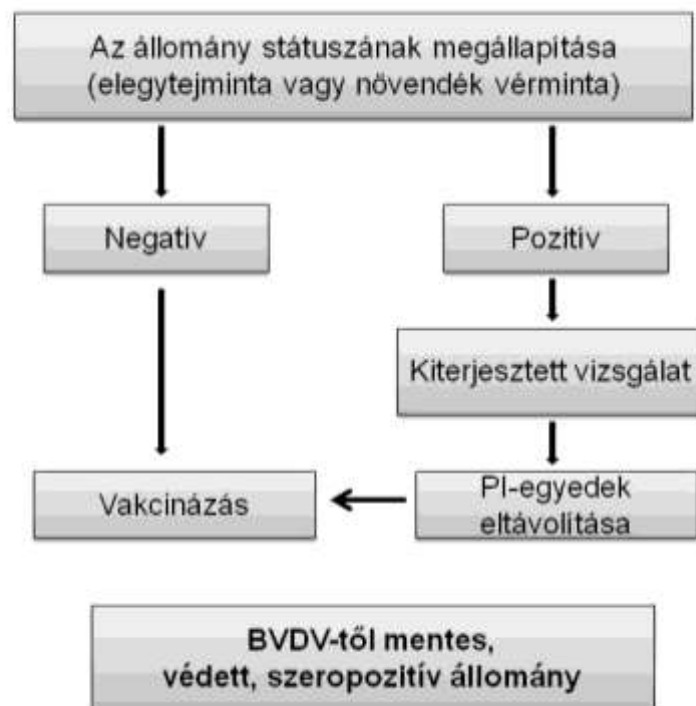
Skóciában 2012-ben, Írországban 2013-ban kezdődött a kötelező országos szintű mentesítés a német mintához hasonlóan (Barrett et al., 2011; Becher et al., 2003; Graham et al., 2011). Belgiumban szintén a német minta alapján, vakcina használatával történik az állomány szintű védekezés a betegség ellen, amely során állományonként 5–10, 8–12 hónapos növendékállat vérmintáját vizsgálják szűrőpróbaszerűen BVDV ellen termelt ellenanyagokra nézve (8. ábra) (Sarrazin et al., 2013a).



8. ábra. A belga védekezési modell

3. 6. 1. 4. Önkéntes védekezési programok vakcina használata mellett

Azokban az esetekben, amikor nemzeti szintű, szervezett védekezési program nem áll rendelkezésre, a BVD elleni védekezés elterjedt módja az önkéntes, állomány szintű mentesítés. Az állományok önkéntes mentesítésének alapja az eddigiekben ismertetett PI-egyedek kiszűrése és azonnali eltávolítása az állományból. Ennek bevezető lépése az állomány szerológiai szűrése elegytej mintából, növedékek vérmintájából vagy a kettő kombinációjával. Abban az esetben, ha a szerológiai teszt pozitív, minden állatra kiterjedő, alapos direkt vírusantigén- vagy vírusnukleinsav-kimutató vizsgálatot kell végezni ag-ELISA vagy RT-PCR technika segítségével. A BVDV-pozitív borjak/növedékek anyját szintén vizsgálni kell vírus-antigénre vagy-nukleinsavra nézve, hogy biztosan nem került termelésbe, mint PI-egyed. Amennyiben az állományban vakcinázás nem történt, az összes PI-állat eltávolítását követően valamennyi szarvasmarha idővel szeronegatívvá, vagyis BVDV-re fogékony egyedde válik, ami egy újbóli BVD-fertőzés esetén lényeges szempont. Ennek megelőzése céljából a kockázatelemzést úgy kell elvégezni, hogy a BVD újrafertőződésének kitétt, nagyobb kockázatú csoportokban (például: nagy szarvasmarha-sűrűség, intenzív kereskedelem, intenzív állatmozgatás, BVDV-vel fertőzött szomszédos állományok) valamennyi állatot érdemes BVDV-ellen rendszeresen immunizálni a megfelelő védettség érdekében (9. ábra) (Moenning és Becher, 2015).



9. ábra. Önkéntes védekezés vakcina használata mellett

3. 6. 2. A BVDV elleni védekezésben alkalmazott diagnosztikai módszerek gyakorlati alkalmazásai

Annak ellenére, hogy a rendelkezésre álló diagnosztikai tesztek rendkívül érzékenyek és specifikusak, az adott módszer megválasztását nagymértékben befolyásolja, hogy a védekezési program aktuális szakaszában pontosan mi a konkrét, kitűzött cél (Houe et al, 2006). A laboratóriumi diagnosztikai módszerek a BVD elleni védekezésben stratégiaileg három fő célkitűzés megvalósításában használják:

1. kezdeti, bevezető vizsgálatok az állomány státuszának a meghatározásakor;
2. fertőzött állományokban a BVDV-hordozó, PI-egyedek kiszűrése;
3. BVDV-től mentes állományokban monitoring vizsgálatok a mentes státusz megerősítésekor (Houe et al., 2006).

Egy állományban a PI-állatok jelenléte megállapítható az elegytej minta indirekt ellenanyag ELISA módszerrel történő vizsgálatával. Mivel az elegytejben a BVDV ellen termelt ellenanyagok szintje jól korrelál az állományban lévő szeropozitív egyedek számával, ezért a módszer érzékenysége BVDV ellen nem vakcinázott állományokban megközelíti a 100%-ot, míg a specificitás valamivel kisebb értékű. A nagy érzékenység ellenére, frissen fertőzött állományokban alkalmanként előfordul fals negatív eredmény. Ennek a problémának a kiküszöbölésére ajánlott az elegytej ismételt vizsgálata néhány hónappal később (Houe et al., 2006). Az állománystátusz meghatározásának másik lehetősége a fiatal korcsoport vizsgálata ún. spot („szűrőpróba”) tesztel. A spot teszt során 5–10, 8–12 hónapos növendék vérmintáját kell megvizsgálni BVDV ellen termelt ellenanyag jelenlétére. Továbbá ez a vizsgálati módszer a megfelelő választás abban az esetben, ha felmerül a gyanú, hogy az állományban PI-egyed van jelen (Booth és Brownlie, 2012; Houe, 1992b; Houe et al., 2006; Pillars és Grooms, 2002). Az elegytej minta szerológiai vizsgálata kombinálva a spot teszttel, fokozza mind az érzékenységét, mind a specificitását az állományban egy PI-egyed megállapítási valószínűségének, hiszen a legtöbb PI-szarvasmarha két évesnél fiatalabb, és viszonylag hosszú idő telhet el, amíg vagy megfertőzi a már termelésben lévő, laktáló teheneket, vagy önmaguk termelésbe kerülnek. Mindkét említett szerológiai módszer eredménye megbízhatóbb azok néhány hónap múlva történő megismétlésével (Booth és Brownlie, 2012; Houe et al., 2006). Az első borjas tehenek tejének szerológiai vizsgálatával az állomány státuszáról további információt lehet nyerni, különösen azokon a területeken, ahol a BVD endémiás, és ahol ennek eredményeképpen az elegytej minták szerológiai eredménye pozitív a legtöbb állományban (Valle et al., 2005).

Az RT-PCR és az ag-ELISA megfelelő módszerek a BVDV-vel fertőzött állatok azonosítására. Az RT-PCR, mivel drága diagnosztikai eljárás, az egyedi diagnosztikában csak szórványosan terjedt el. Ezzel szemben állomány szinten a poolozott vérminták, ill.

elegytej minták vizsgálatában széles körben alkalmazott módszer a PI-egyedek felderítésében és kiszűrésében. Abban az esetben, ha egy pool pozitív, az egyedi vérminták vizsgálata a lényegesen olcsóbb ag-ELISA teszttel történik (Hanon et al., 2014).

A folyamatos monitoring vizsgálat során alkalmazott módszerek célja a BVD mentes státusz megerősítése, amelyek lényegében megegyeznek a kezdeti, állomány státuszának meghatározásakor használt vizsgálatok alapelveivel (Houe et al., 2006). Azonban lényeges szempont a közelmúltban mentesített állomány monitoring vizsgálata során reálisan értékelni azt, hogy az elegytej minta nagy ellenanyagszintje az állományban még jelen lévő, nagyszámú szeropozitív szarvasmarha szeropozitivitásából ered vagy egy mentesítést követő, újbóli természetes fertőzés következménye (Booth et al., 2013b; Houe et al., 2006). Ezért az utolsó PI-egyed eltávolítását követő rövid időszakban az elegytej minta szerológiai vizsgálata helyett a növendék állomány vérmintájának szerológiai vizsgálata javasolt (Houe et al., 2006).

Az ag-ELISA-t klinikai tünetek alapján felmerülő BVD-fertőzés gyanúja esetében használják egyedi, ill. kis csoportok vizsgálata esetében. Párosított szérumokat egy időben ag-ELISA-val és ea-ELISA-val vizsgálva megállapítható egy közelmúltban lezajlott, átmeneti viraemia egyedi szinten (Houe et al., 2006).

A tesztek eredményének pontos értelmezése rendkívül fontos a helyes diagnózis megállapításában. Például fontos tudni, hogy egy RT-PCR pozitív elegytej minta nagy mértékben megbízható eredmény a PI-egyedek detektálásában a vizsgálat idejében éppen laktáló tehenek között, azonban a teszt a vírus jelenlétét mutatja ki, vagyis nem tesz különbséget egy PI-, ill. egy TI-tehén között (Drew et al., 1999; Renshaw et al., 2000). Továbbá az egyes szarvasmarhákból származó minták a fertőzést követően egy hosszabb időszakban ugyan lehetnek pozitív eredményűek RT-PCR vizsgálattal, de ez nem mindig jelenti azt, hogy az aktív vírus még jelen van (Givens et al., 2009). Annak megállapításához, hogy egy egyed PI, kétszer 3 hetes időközzel kell a perzisztens viraemiát bizonyítani.

3. 6. 3. Post mortem vizsgálat

Az MD a post mortem makroszkópos és kórszövettani vizsgálattal egyértelműen megállapítható. A MD során kialakuló tipikus elváltozások: necrotizáló fekélyek és kimaródások a gastrointestinalis rendszer teljes hosszában, valamint elhalások és vérzések a Peyer-plakkok területén (Evermann és Barrington, 2005).

Mivel a PI-állatokban nem alakulnak ki a MD-hez hasonló, jellemző kórbonctani, ill. kórszövettani elváltozások, ezért rutin kórszövettannal a diagnózis nem mondható ki. A post mortem vizsgálat fontos része a PI-egyedek szöveteiben gyengén expresszálandó vírus-antigének kimutatása (Dubovi, 2013). Ezért rendkívül fontos a megfelelő szövet kiválasztása és további vizsgálata IHC-val vagy VI-val a BVDV-fertőzöttség megállapításához vagy

kizárásához. A BVDV immunhisztokémiai, ill. vírusizolációs diagnosztikai vizsgálata során a pontos diagnózis megállapításakor használt szövetek: a mandulák, a retropharyngealis nyirokcsomók, a mesenterialis nyirokcsomók, az ileumban található Peyer-plakkok, a bőr és a lép (Liebler-Tenorio et al., 2006).

3. 7. A BVDV fertőzés gazdasági következményei

A súlyos klinikai tünetekkel és nagyarányú elhullással járó fertőző betegségek által okozott károk megelőzése kiemelkedő jelentőségű. A legtöbb, nagy gazdasági veszteséget okozó fertőző betegségtől már sikerült mentesíteni az európai országokat (Magyarországot is), vagy sikerült a gyakoriságukat lényegesen korlátozni. A szarvasmarha-állományokban ugyanakkor számos olyan fertőző betegség van még széles körben elterjedve az európai országok többségében, így Magyarországon is, amelyek elsősorban idült, ill. szubklinikai formában fordulnak elő. Ezek az esetek többségében nem okoznak látványos klinikai tüneteket és elhullást, de a termelési mutatókat folyamatosan rontják és hosszú idő alatt jelentős mértékű veszteséget okozhatnak a termelőknek. Magyarországon két ilyen, elsősorban idült, szubklinikai formában előforduló vírusos betegség okoz veszteségeket: a BVD-MD, valamint az IBR (Szabára és Ózsvári, 2013).

3. 7. 1. Állományszintű gazdasági következmények

A BVDV a legtöbb szarvasmarhatartó országban előfordul és az általa előidézett kórkép világszerte jelentős gazdasági károkat okoz. A BVDV fertőzés gazdasági hatása nagymértékben függ az új fertőzés kockázatától és a fertőzésben részt vevő vírustörzstől (Houe, 1999). A legtöbb kár a tranziens fertőzésből ered (Ridpath, 2005), ugyanakkor egy állomány gazdasági eredményeit a BVDV több különböző úton befolyásolja (Evermann és Barrington, 2005; Fourichon et al., 2005; Gunn et al., 2004; Houe, 2003; Ózsvári et al., 2001, Szabára és Ózsvári, 2013):

- a vírus immunszuppresszív hatása postnatális fertőzés esetén;
- vetelés, koraellés;
- postnatális fertőzés hatása a tenyészettség korra, a tenyésztésbe vételre, ill. a visszaivarzásra;
- intrauterin fertőződés hatására kialakuló fejlődési rendellenességek, valamint retardált borjú;
- intrauterin fertőződés eredményeként létrejött PI-borjú;
- PI-üszők nagy túlélési esélye és termelésbe vétele.

A BVDV által okozott gazdasági károk nagymértékben eltérhetnek a számos és változatos klinikai tünetek megjelenési formája, azok kombinációja, ill. súlyossága, valamint egyéb társfertőzések súlyosbító hatása alapján. Továbbá a kártétel nagyságában szintén fontos szerepe van az állomány szerkezetének és az állomány-egészségügyi menedzsmentnek. Mindezen tényezők befolyásoló hatása miatt nehéz meghatározni és a tisztán a BVDV-fertőzésből eredő veszteségeket kiszámítani az állományszintű BVDV-járványkitörés esetében (Lindberg et al., 2006). Továbbá egyes kutatók kétségbe vonják a valódi latens BVDV-fertőzés veszteségekben megnyilvánuló egyedi szerepét (Evermann és Barrington, 2005). A betegség állományszintű gazdasági következményeinek becslése középpontjában általában a tejelő tehenészetek állnak. Egy heveny BVD járványkitörés számos hátrányos hatással van egy tejelő állomány termelésére: csökken a szaporodásbiológiai teljesítmény (több tehén üresen marad), a borjak és növendékek testtömeg-gyarapodása mérséklődik, az elhullási arány növekszik, a tejtermelés csökken, a másodlagos fertőzések és az idő előtti selejtezés kockázata megnő (Ózsvári et al., 2001). A tanulmányok eredményei azt mutatják, hogy egy klasszikus kitörés esetében egy tejelő tehén BVDV-fertőzésének évenkénti költsége 25–135 € között változik. Ezekben az esetekben a tranziens fertőzés észrevétlen marad, a gazdasági károk pedig elsősorban a szaporodásbiológiai problémákból és a PI-egyedek jelenlétéből erednek (Fourichon et al., 2005; Lindberg et al., 2006; Ózsvári, 2004; Valle et al., 2005). Azokban az állományokban, ahol az eseményt erősen virulens törzs okozta, ill. amelyekben a BVDV-hez másodlagos fertőzés(ek) társultak, a becsült évenkénti költség meghaladta a 340 €-t tehenenként (Lindberg et al., 2006). Egy heveny BVD-járvány által okozott, becsült veszteség Írországbán 85 (Byrne, 2010), az Egyesült Királyságban 137 (Bennett, 1999), Hollandiában 74 (Wentink, 1990), Dániában 59 € (Houe, 1994) tehenenként. A BVD által átlagosan okozott éves tehenenkénti veszteségeket Kanadában 34 (Chi et al., 2002), az Egyesült Királyságban 31 (Gunn et al., 2004) és Írországbán 48 €-ra (Scottish Agricultural College, 2010) becsülték. A skót húshasznú állományokban az évenkénti, tehenenként becsült kár 58 € (Gunn et al., 2004).

3. 7. 2. Nemzeti szintű gazdasági következmények

Azokban az országokban, amelyekben a betegségtől való mentesítés szisztematikus védekezési program keretei között folyik, a jelen lévő BVDV-fertőzés gyakran diszkrétan, nem specifikus tünet(ek) formájában mutatkozik meg, amelyek általában nem szerepelnek a gazdasági számításokban (Fourichon et al., 2005). Ezek miatt a szarvasmarha ágazatban a BVDV által okozott gazdasági károk valószínűleg alábecsültek (Valle et al., 2005). Az országos szintű károkat mindezek alapján 7,5–30 millió € közé becsülik egymillió ellésre vetítve (Houe, 2003). Norvégiában a szisztematikus védekezési stratégia során 10 év alatt felszámolták a betegséget. A BVDV elleni mentesítés profitját az egész országban összesen

17,8 millió €-ra becsülték, míg a védekezési program költsége 6,7 millió € volt (Valle et al., 2005). Az BVDV okozta éves károkat a mentesítés megkezdése előtt az ír állományokban 102 millió €-ra becsülték (Byrne, 2010). A BVDV elleni mentesítés költség-haszon elemzése azt mutatta, hogy mind a hús- és mind a tejhasznú állományokban a védekezés profitja meghaladja a védekezésbe fordított költségeket. A retrospekív vizsgálat alapján bebizonyosodott, hogy a mentesítésbe fektetett költség 0,5–1,2 év alatt térült meg (Stott et al., 2012).

A BVDV elleni védekezés kedvező járványtani hatásait megelőzheti és meghaladhatja a közvetlen gazdasági és társadalmi hatása. A szisztematikus BVDV védekezési programokban az állami támogatás szerepe nem elhanyagolható társadalmi megítélés szempontjából, elsősorban az állatvédelem, ill. a csökkent antibiotikum felhasználása szempontjából (Lindberg et al., 2006; Stott és Gunn, 2008; Stott et al., 2012; Valle et al., 2005). A BVD elleni védekezés hatására kevesebb klinikai és szubklinikai tünet jelentkezik, amely kevesebb állatorvosi beavatkozást és végső soron kevesebb antibiotikum-felhasználást eredményez (Saatkamp et al., 2005).

3. 8. A BVD elleni védekezés igazgatási vonatkozásai

3. 8. 1. A BVD elleni védekezés nemzetközi igazgatási előírásai

A BVD 2006 óta a nemzetközi élőállat-forgalom szempontjából fontos, ún. OIE-listás betegségek közé tartozik (Lindberg et al., 2006). Ennek ellenére az Állategészségügyi Világszervezet (OIE, Párizs) szárazföldi állatokra vonatkozó Nemzetközi Állat-egészségügyi Szabályzatának (Terrestrial Animal Health Code) 2012-es online kiadása sem határozta meg a BVD szempontjából mentes állomány, régió, vagy ország fogalmát, valamint az ehhez kapcsolódó vizsgálati és igazgatási követelményeket. Ez valószínűleg azzal függ össze, hogy a szarvasmarhák kereskedelmében meghatározó országok a BVD ellen különböző védekezési stratégiákat alkalmaznak és eddig nem sikerült megállapodniuk a nemzetközi kereskedelemre irányadó szabályokról. A Terrestrial Code-nak a szarvasmarhák szaporítóanyagai (sperma, petesejt, embrió) előállítására és forgalmazására vonatkozó alfejezeteiben a donor állatokat illetően általános követelmény a BVD vírusától való mentesség, amelyet meghatározott laboratóriumi vizsgálatok (pl. vírusizoláció, antigénfogó-ELISA, vagy RT-PCR módszer) negatív eredményével kell bizonyítani.

Az Európai Unióban a többször módosított 82/894/EGK tanácsi irányelv a BVD-t nem sorolta a közösségi szinten bejelentési kötelezettség alá tartozó fertőző betegségek körébe. A szarvasmarhák Közösségen belüli forgalmának állat-egészségügyi követelményeit meghatározó, többször módosított 64/432/EGK tanácsi irányelv E (II) mellékletében – az

IBR-től eltérően – a BVD nem szerepel azon betegségek között, amelyekre az EU tagállamai a Bizottság által jóváhagyott nemzeti ellenőrzési, vagy mentesítési programot dolgozhatnak ki, majd ennek alapján a Közösségen belüli kereskedelemben a más tagállamból érkező állatokkal kapcsolatban ún. kiegészítő garanciákat követelhetnek meg. IBR esetében azok az EU tagállamok, ill. azok a régiók, amelyek IBR-től elismerten mentesek, és fel vannak sorolva a 93/42/EGK bizottsági irányelv 3. mellékletében, csak a szarvasmarhák számára a más tagállamokba tenyésztés vagy termelés céljából történő elindítására vonatkozó minimális előírásokat kell alkalmazniuk. Az utóbbi években a gyakorlatban dolgozó kollégák egyre gyakrabban tapasztalják azt is, hogy a tenyészállatok ún. harmadik országokba irányuló kivitelekor az export egyik feltétele a szarvasmarhák BVD vírusától való egyedi mentességének igazolása.

3. 8. 2. A BVD elleni védekezés hazai igazgatási előírásai

Hazánkban a többször módosított 113/2008. (VIII. 30.) FVM rendelet a bejelentési kötelezettség alá tartozó állatbetegségek körét és bejelentésük rendjét állapítja meg. A rendelet 1. számú melléklete tartalmazza a bejelentési kötelezettség alá vont fertőző állatbetegségeket, amely a BVD-t jelenleg nem sorolja e betegségek csoportjába. A 41/1997. (V. 28.) FM rendelet mellékleteként kiadott, többször módosított Állat-egészségügyi Szabályzat 202.§ (1) bekezdése ugyanakkor lehetőséget ad arra, hogy a minisztérium a továbbtartásra és tenyésztésre szánt nőivarú állatok belföldi forgalomba hozatalának feltételeként BVD-re irányuló és negatív eredményű előzetes vérvizsgálatot írjon elő.

Hazánkban a gazdasági haszonállatok szaporításának, a szaporítóanyag előállításának és belföldi forgalomba hozatalának állat-egészségügyi követelményeit a többször módosított 61/2002. (VIII. 1.) FVM rendelet határozza meg. Ezek a követelmények egyenértékűek az OIE (Terrestrial Animal Health Code) és az EU (88/407/EGK irányelv, 89/556/EGK irányelv, 92/65/EGK tanácsi irányelv) vonatkozó előírásaival. Szaporítás céljára csak olyan, egészséges hím- és nőivarú szarvasmarhát lehet használni, amely fedeztetéssel, mesterséges termékenyítés útján, ill. genetikai anyagának felhasználása során átvihető fertőző betegségektől mentes. A rendelet 1. számú melléklete szerint a mesterséges termékenyítő állomásokra csak olyan bika szállítható, amelyiknél a BVD felderítésére az elkülönítés ideje alatt, valamint az azt megelőző harminc napon belül végzett vírusizolációs próba vagy a vírusantigén kimutatását szolgáló vizsgálat (ag-ELISA-teszt, RT-PCR), és az antitestek jelenlétének vagy hiányának meghatározását célzó szerológiai vizsgálat negatív eredménnyel zárult. BVD tekintetében szerológiai pozitív állatoktól származó sperma szállításának megkezdése előtt minden állat minden termelési szériájának egy spermamintáját vírusizolációs vagy vírusantigén kimutatását célzó ELISA-tesztnel kell alávetni. Pozitív eredmény esetén a bikát el kell távolítani a mesterséges termékenyítő

állomásról és minden spermáját meg kell semmisíteni. Mesterséges termékenyítő állomásokon tehát csak BVD vírusától mentes tenyészbikák tarthatók, amelyek BVD-mentességét laboratóriumi vizsgálatokkal félévenként ellenőrizni kell. A belföldi állatszállítás állat-egészségügyi feltételeit meghatározó 87/2012. (VIII. 27.) VM rendelet 3. mellékletének I. 5. alpontja e követelményeket kiterjesztette a természetes fedeztetésre használt tenyészbikákra is. Ez utóbbi rendelkezés a BVD húshasznú tenyészállományok közötti terjedésének megelőzése szempontjából fontos, mert az elkülönítés ideje alatt végzett vérvizsgálattal a tünetmentes perzisztens fertőzöttség, vagy heveny, átmeneti viraemiás BVDV-fertőzöttség is felismerhető.

A 61/2002. (VIII. 1.) FVM rendelet 17.§ (2) bekezdése a megyei állat-egészségügyi hatóságnak lehetőséget ad arra, hogy a BVD vírusától mentes szarvasmarha-állományok védelme érdekében a fenti előírások szigorú betartását és ellenőrzését írja elő, valamint a vakcinázásra alapozott mentesítés során a szeropozitív, de BVD-től igazoltan mentes, értékes apaállatok továbbra is tenyésztésben maradjanak. Szarvasmarha petesejt vagy embrió nyerésére donor csak akkor használható, ha az egyed a beavatkozást megelőző egy évben olyan állományban tartották, ahol a BVD klinikai tünetei nem fordultak elő.

A BVD vírusának állományba történő behurcolása megakadályozásának szempontjából alapvető fontosságú a megelőző járványvédelmi rendszabályok szigorú betartása (Bálint, 2005; Kecskeméti és mtsai., 1998; Lindberg, 2005; Lindberg és mtsai., 2006). A BVD vírusa állományok közötti terjedésének megelőzésében fontos, hogy a belföldi állatszállításához kapcsolódó elkülönítés (karanténozás) alatt megköveteljék az Állat-egészségügyi Szabályzat 12. számú függelékének I. szakaszában előírtakat, amelynek lényege, hogy az elkülönített állatok más állatokkal sem közvetlenül, sem közvetve ne érintkezzenek. Az elkülönített állatok gondozásához, etetéséhez, itatásához külön eszközök szükségesek. A karanténban kell hozzászoktatni az állatokat a telepi tartásmódhoz és takarmányozáshoz. Az elkülönített legeltetés mellett lényeges szempont az elkülönített állatoktól származó trágya külön kezelése. Az elkülönítésre szolgáló területet „ELKÜLÖNÍTŐ” feliratú táblával jól látható módon meg kell jelölni. Az elkülönítés helyére az állatok kijelölt gondozóján, a tulajdonoson és az állat-egészségügyi szakemberen (szakembereken) kívül más nem léphet be. Amennyiben a gondozó az állatok folyamatos állat-egészségügyi ellenőrzése során bármilyen kedvezőtlen változást észlel, köteles az állatorvost azonnal értesíteni, aki az állatokat azonnal köteles megvizsgálni és szükség esetén megvizsgálni. Ha a gondozó a folyamatos állat-egészségügyi megfigyelés során nem észlel változást az állatok állapotában, az állatorvos abban az esetben is köteles a megfigyelési időn belül legalább hetente az elkülönített állatokat megvizsgálni. A szállítás közben jelentkező betegségek ellen az állatokat a karanténban gyógykezeltetni kell és el kell végezni a szükséges kezeléseket, vizsgálatokat és vakcinázásokat is. A karantén ideje

alatt az állatokról a tulajdonosnak naprakész nyilvántartást, ill. az ellátó hatósági állatorvosnak a járási főállatorvos által hitelesített karantén naplót kell vezetni.

Az EU tagállamokból, vagy ún. harmadik országokból származó tenyészállatok behozatalakor az előbbieken túl érvényt kell szerezni az Állat-egészségügyi Szabályzat 12. számú függelékének II. szakaszában meghatározott külön követelményeknek is. A karanténozás időtartama szarvasmarha esetében legalább 30 nap. A karanténozás ideje alatt a karanténtelepen nem lehet olyan fajú állat, amelyre nézve a behozni kívánt állat(ok) veszélyt jelenthet(nek). Ha tartottak ilyen állatot, akkor a telepen a takarítást és fertőtlenítést előzetesen el kell végezni. Az elkülönítésre kijelölt helynek és bármely, egyéb állattartó helynek, olyan távolságra kell egymástól lennie, hogy a közvetlen vagy közvetett fertőzés lehetősége teljes bizonyossággal kizárható legyen. A személyek és járművek fertőtlenítéséhez megfelelő eszközök és fertőtlenítőszer szükségesek, valamint a személyek és járművek forgalmáról naprakész nyilvántartás szükséges. Ezek az előírások más fertőző betegségek behurcolásának kockázatát is jelentősen csökkentik.

4. Saját vizsgálatok

4. 1. A BVDV szero- és vírusprevalenciája Magyarországon és a fertőzöttség igazgatási vonatkozásai

4. 1. 1. Anyag és módszer

4. 1. 1. 1. Vizsgálati adatok

A hazai BVD-fertőzöttségre irányuló felmérő vizsgálatunk során felhasznált adatok, vagyis a vizsgálati módszer, az adott évben vizsgált minták száma és a vizsgálati eredmények a NÉBIH ÁDI, mint nemzeti referencia laboratóriumnak adatbázisán alapult. Az egész ország területéről vizsgálati célra érkezett minták adatbázisban található adatait és a vizsgálati eredményeket két táblázatba foglaltuk össze, amelyek alapján végeztük el a megfigyelésen alapuló statisztikai vizsgálatunkat a 2008–2012 közötti időszakban. A magyarországi állományszintű szarvasmarha-populációra vonatkozó adatok az Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. adatbázisán alapulnak. A BVDV-re irányuló laboratóriumi vizsgálat célja elsősorban az állományszűrés, ill. a szarvasmarhaexport volt. Az első adatbázis a szerológiai vizsgálatokat tartalmazza állományonként, kiegészítve a virológiai vizsgálatok eredményeivel azoknak a telepek az esetében, ahol az ellenanyag-vizsgálat mellett történt adott évben víruskimutatásra irányuló vizsgálat is (**2. táblázat**). Az adatokat az állományszintű és állományon belüli, egyedszintű szeroprevalencia becsléséhez, a vírus jelenlétének állományszintű és állományon belüli, egyedszintű prevalenciájának becsléséhez és az ellenanyag és vírus jelenléte közötti kölcsönhatás vizsgálatához használtuk fel.

2. táblázat. Az első Bayes-i modell referencia populációja – A BVD ellenanyagra és vírusra vizsgált szérumminták eloszlása adott évben

	Év	Állományok		Minták	
		Összes (db)	Pozitív (db)*	Összes (db)	Pozitív (db)
Ellenanyag	2008	288	135	7 257	1 658
	2009	278	134	4 612	1 464
	2010	277	117	4 238	1 287
	2011	329	143	4 224	804
	2012	301	121	1 963	489
	Összes	797	373	22 294	5 702
Vírus	2008	66	6	1 450	18
	2009	70	6	2 889	61
	2010	83	12	1 666	47
	2011	108	7	3 239	7
	2012	168	15	3 060	37
	Összes	312	37	12 304	170

* Azoknak az állományoknak a száma, amelyben legalább egy pozitív minta volt.

A második adatbázis azokat az állományokat és virológiai vizsgálati eredményeket tartalmazza, ahol az adott évben volt víruskimutató-vizsgálat, az ellenanyag-vizsgálattól függetlenül (**3. táblázat**). A virológiai vizsgálatokból származó adatokat az állományszintű és állományon belüli, egyedszintű vírusprevalencia becsléséhez használtuk fel és hasonlítottuk össze az első adatbázis adatainak elemzése során kapott eredményekkel.

3. táblázat. A második Bayes-i modell referencia populációja – A BVD vírusra vizsgált szérumminták eloszlása adott évben

Év	Állományok		Minták	
	Összes (db)	Pozitív (db)*	Összes (db)	Pozitív (db)
2008	93	9	1 816	22
2009	96	8	3 604	66
2010	137	20	4 385	137
2011	219	16	8 069	21
2012	2 550	72	20 713	132
Összes	2 758	108	38 587	378

*Azoknak az állományoknak a száma, amelyben legalább egy pozitív minta volt.

A 2. táblázatban bemutatott vírusvizsgálatok a 3. táblázatban bemutatott vizsgálatok részhalmaza.

A BVDV víruskimutató (VI, ag-ELISA, qRT-PCR) diagnosztikai vizsgálatra érkezett 40.413 minta és a BVDV ellen termelt ellenanyagot kimutató szerológiai vizsgálatra (VN, ea-ELISA) beküldött 24.547 minta összesen 3.247 tenyészkóddal rendelkező állományból származott. 316 (9,8%) állomány mind direkt, mind indirekt vizsgálatra küldött anyagot, 485 (14,9%) állomány kizárólag szerológiai, 2.446 (75,3%) állomány pedig kizárólag víruskimutató vizsgálatot vett igénybe. A mintát küldő állományok közül négy állomány tenyészbika tartó telep volt (a vizsgált 5 éves periódusban összesen 2.253 szerológiai és 1.826 virológiai minta érkezett a négy telepről), ahol minden telepen tartott és telepre érkező bikát rendszeresen vizsgálnak és ellenőriznek BVD vírusra, tehát a minták jelentős része ugyanazokból az állatokból származik. Ezért a tenyészbikatartó telepeket a statisztikai elemzésből kizártuk az adatok torzításának elkerülése céljából.

A Központi Statisztika Hivatal (KSH) adatai szerint 2012. december 1-jén Magyarországon a szarvasmarhalétszám 753.000 egyed volt, szarvasmarhát tartók közül 19.842 egyéni gazdaság és 1.016 gazdasági szervezet. Az általunk vizsgált minták 3.247 különböző állományból származtak, amely a szarvasmarhatartók 15,6%-a. A vizsgálati mintát küldő állományok összes szarvasmarha-létszáma 570.524 állat, amely a teljes hazai szarvasmarha-populáció mintegy 75%-a. A víruskimutató vizsgálatot kérő gazdaságok szarvasmarhalétszámának mediánja 25, míg a szerológiai vizsgálatot kérő telepek szarvasmarhalétszámának mediánja 245 egyed volt, amely szerint a nagy(obb) létszámú telepek vizsgálata a víruskimutató vizsgálatokhoz képest nagyobb arányban történt a szerológiai vizsgálatok esetében.

A felmérés során nem rendelkezünk adatokkal a vizsgált állatok koráról, a mintát küldő gazdaság szarvasmarha-állományának BVD-státuszáról, valamint hogy történt-e az állományban vakcinázás. A vizsgálati mintát küldő gazdaságok állománylétszámáról (db), tehénlétszámáról (db), a beküldött mintaszámáról (db) és a pozitív minták számáról (db) pontos adatokkal rendelkezünk.

4. 1. 1. 2. Laboratóriumi vizsgáló módszerek

A BVDV ellen termelt ellenanyag szint meghatározása vírusneutralizációs teszttel (VNT, n=19.466; 79%) és IDEXX BVDV Total Ab Test-tel (IDEXX, Laboratories, Inc., Liebefeld-Bern, Switzerland) (ELISA, n=5.081; 21%) történt a NÉBIH ÁDI Laboratóriumában (Budapest). A VNT során alkalmazott vírustörzs, mint antigén a 100–300 TCID₅₀ BVDV 1 NADL CPE törzs (származási hely: EU referencia laboratórium, Hannover, Németország) volt. A VNT alkalmazása során az OIE Terrestrial Manual BVDV (chapter 2.4.8) leírása alapján történt. A szérummintákat 1 órán át, 37°C-on standard vírushennyiséggel inkubáltuk, majd szarvasmarha heresejtszuszpenziót adtunk a komplexhez. A citopatogén hatást 5%-os CO₂ nyomáson, 37°C-on 4–5 nap inkubációt követően értékeltük. Az ellenanyag-ELISA kivitelezése a gyártó által javasolt használati útmutató alapján történt.

A direkt vírus, -antigén, ill. -nukleinsav kimutatása vírusizolációval (n=13.288; 33%), ag-ELISA-val (n=19.495; 48%), valamint qRT-PCR-rel (n=7.630; 19%) történt.

A vírusizolálást egyrétegű borjúvesehámsejten végeztük, amely három passzázst foglalt magába. Ncp BVDV törzsek esetén a kimutatás végső lépéseként a szövettanészeti felülűszoját ag-ELISA módszerrel vizsgáltuk.

Az antigén kimutatást IDEXX BVDV Ag/Serum Plus Testtel (IDEXX, Laboratories, Inc., Liebefeld-Bern, Switzerland) végeztük a gyártó által ajánlott protokoll szerint.

A nukleinsav meghatározását a NÉBIH ÁDI Virologiai Laboratóriumában fejlesztett qRT-PCR-rel (5' exonuclease assay, TaqMan) kivitelezttük. A primereket a genom 5'UTR részéhez választottuk, mivel ez a vírusnukleinsav egy konzervatív régiója, amely lehetővé teszi a BVD vírusok széles körének kimutatását. A VI és az RT-PCR alkalmazása során az OIE Terrestrial Manual BVDV (chapter 2.4.8) leírása alapján és a laboratóriumban kidolgozott protokoll szerint történt.

Minden ellenanyag- és víruskimutató-vizsgálat eredményét kvalitatív módon elemeztünk (pozitív/negatív).

4. 1. 1. 3. Statisztikai elemzés

A két adatbázishoz egy-egy Bayes-i statisztikai modellt fejlesztettünk ki, melyek tartalmazták az eredményekben közölt összes paramétert és ezek prior eloszlását. A modelleket Markov

Lánc Monte Carlo (MLMC) módszerrel illesztettük az adatokhoz, Gibbs mintavételezést alkalmazva. Az eljárást az OpenBUGS 3.2.2 szoftverrel implementáltuk, melyet az R 3.0.2 statisztikai szoftverből indítottunk el, az R2OpenBUGS szoftvercsomaggal (Sturtz et al., 2005).

4. 1. 1. 3. 1. Diagnosztikai paraméterek

A diagnosztikai eljárások érzékenységre és fajlagosságára informatív béta prior eloszlásokat illesztettünk. Ehhez szakértői értékelésekre és véleményekre alapozva megadtuk az érzékenység és fajlagosság legvalószínűbb és 5%-os kvantilis értékeit. Az illesztést Christensen et al. (2010) módszerével végeztük, az R 3.0.2 statisztikai szoftver (R Core Team 2013) epiR csomagjának epi.betabuster eljárásával (Stevenson, 2015).

4. 1. 1. 3. 2. A vírus és az ellenanyag állományszintű prevalenciái

Paraméterekkel megkülönböztettük a teljes vizsgált időszakra vonatkozó fertőzöttség és az évenkénti fertőzöttség prevalenciáit. Utóbbi feltételezi az előbbit, hányadosuk méri, hogy a fertőzés időben mennyire stabilan van jelen egy-egy állományban. Az állományszintű prevalenciákhoz nem informatív (egyenletes) prior eloszlásokat rendeltünk.

4. 1. 1. 3. 3. A vírus és az ellenanyag állományon belüli prevalenciái

Az állományon belüli prevalencia évenként és telepek között is változást mutat. A prevalencia fertőzött telepek közötti változatosságát minden évben logisztikus normális eloszlással modelleztük. A logisztikus normális eloszlást (Frederic és Lad, 2008) ismerteti bővebben. Az állományon belüli prevalenciát zérónak tekintettük az adott évben állományszinten nem fertőzött telepek körében. Az állományon belüli ellenanyag prevalenciához nem informatív prior eloszlást illesztettünk, a vírusprevalenciához viszont informatív, ui. e nélkül az MLMC eljárás nem konvergált. Az informatív prior eloszlás megadásakor figyelembe vettük, hogy adataink szerint a víruspozitív minták aránya 1 és 9% közötti az olyan telepeken, ahol legalább egy pozitív minta előfordult. Az informatív prior eloszláshoz felhasználtunk még további publikált adatokat (Frey et al., 1996; Schreiber et al., 1999; Viet et al., 2004).

4. 1. 1. 3. 4. A paraméterek becslése

Az MLMC eljárás minden iterációs ciklusban újra generálta a modell ismertett paramétereit. Az adatbázisok pozitív mintáinak számát binomiális eloszlással illesztettük a diagnosztikai

eljárások érzékenységi és fajlagossági, valamint a fertőzés prevalencia paramétereire. Az illesztés (Hanson et al., 2003) módszerét követte.

4. 1. 1. 3. 5. A referencia populáció kiválasztása

Az első Bayes-i elemzésbe azokat a telepeket vontuk be, amelyek végeztek ellenanyagra vizsgálatot (n=797). Ha e telepek vírusvizsgálati mintákat is adtak, akkor ezeket a mintákat is felhasználtuk az elemzés során (n=312). Ebben a modellben mind a vírus, mind az ellenanyag prevalenciáját megbecsültük, valamint megadtuk a kettő kapcsolatát kifejező esélyhányadost.

A második Bayes-i elemzés azokat a telepeket ölelte fel, amelyek vírushatóanyagot adtak (n=2.758). Ez az elemzés tekinthető a vírusprevalencia becslésekre vonatkozóan érzékenységvizsgálatnak is.

4. 1. 2. **Eredmények**

4. 1. 2. 1. *A BVDV állományszintű és állományon belüli szeroprevalenciája*

Az évenkénti állományszintű valódi szeroprevalencia, azokat az állományokat alapul véve, amelyekben legalább egyetlen egyedben található BVD ellen termelt ellenanyag, vagyis szeropozitív állat, 56,4%. A 95%-os kredibilis intervallum (CI95) 50,5 és 62,2% között van. Tehát évről évre az állományoknak az általunk megállapított hányada volt fertőzött, ezentúl pedig az állományok 57,5%-a (CI95: 51,8–63,0) volt a vizsgált időszak valamely évében fertőzött. Ezek alapján az állományok 42,5%-a a vizsgált időszak alatt mentes volt BVD-től. Abban az esetben, ha egy adott állományban az ellenanyagot a vizsgált időszak valamelyik évében kimutatták, akkor 98,2% valószínűséggel (CI95: 93,5–99,9) egy vizsgált évben megtalálható az állományban az ellenanyag. Ez bizonyítja, hogy az ellenanyag egy állományban stabilan, több évig elhúzódóan jelen van.

Az állományon belüli (egyed szintű) valódi szeroprevalencia segítségével, vagyis azoknak a szarvasmarháknak az arányával, amelyekben van BVD ellen termelt ellenanyag, meghatározható valamennyi vizsgált populáció együttesében (minden állományban) az átlagos fertőzöttség, nem csak a fertőzött állományokban. Azonban a fertőzött állományokban vizsgált állományon belüli valódi szeroprevalencia pontosabb információt nyújt a fertőzött állományok eloszlásáról. A **4. táblázat** bemutatja a valódi szeroprevalenciát csak a fertőzött állományok, ill. valamennyi állomány tekintetében, kiegészítve a látszólagos szeroprevalenciával, valamint a látszólagos és valódi prevalenciák közötti különbséggel.

4. táblázat. Állományon belüli valódi és látszólagos szeroprevalencia Magyarországon 2008–2012 között.

Év	Valódi P (%) a fertőzött állományokban (95% CI)	Valódi P (%) minden állományban	Látszólagos P (%) minden állományban (95% CI)	PP különbség*
2008	41,4 (39,3-44,4)	23,3	31,4 (30,5-32,3)	8,1
2009	50,6 (47,7-54,2)	28,5	36,4 (35,5-37,4)	7,9
2010	53,1 (48,1-59,3)	29,9	30,0 (29,2-30,9)	0,1
2011	38,3 (34,8-42,0)	21,6	22,3 (21,4-23,2)	0,7
2012	53,8 (49,5-58,0)	30,3	28,3 (27,0-29,7)	-2,0

*A valódi P (%) és a látszólagos P (%) különbsége valamennyi vizsgált állomány tekintetében

A valódi prevalencia eredményei szerint fertőzött állományokban a szeropozitív egyedek száma 2008 és 2010 között folyamatosan nőtt, majd 2011-ben jelentősen lecsökkent, 2012-ben pedig ismét nőtt. Az állományon belüli valódi szeroprevalencia értékek évenkénti változásai statisztikailag szignifikánsak (kivéve a 2009 és 2010 közötti változást), amelyet az évről évre számított 95%-os kredibilis intervallum által kapott prevalenciák éves átlagainak különbségei támasztják alá.

Az állományon belüli valódi szeroprevalencia telepek közötti standard szórása a vizsgált időszakban 34,8% és 38,2% között található, amely a fertőzött állományok közötti nagyfokú heterogenitásra utal.

A látszólagos szeroprevalencia lényegesen nagyobb volt 2008-ban és 2009-ben a valódi szeroprevalenciához képest. Azonban a további években a két prevalencia közötti különbség nagyon kicsi volt. A látszólagos és valódi szeroprevalenciák közötti nagy különbség az adott időszakban jelentősen gyakrabban alkalmazott ellenanyag kimutató diagnosztikai módszer, a VNT érzékenységeivel és specifitásával magyarázható.

5. táblázat. A laboratóriumi módszerek szenzitivitása (se) és specifitása (sp)

	Se	Se (5% kvantilis)	Sp	Sp (5% kvantilis)
VN	0,98	0,66	0,98	0,80
ab-ELISA	0,99	0,96	0,99	0,98
VI	0,95	0,85	0,96	0,80
ag-ELISA	0,99	0,92	0,99	0,98
qRT-PCR	0,95	0,85	0,96	0,80

A VNT az ellenanyag-ELISA-hoz képest kevésbé érzékeny és specifikus, amelyet az Se és az Sp értékek 5%-os kvantilisai (**5. táblázat**) mutatnak, ezért valószínűleg több fals pozitív és fals negatív eredmény állt rendelkezésre 2008–2009 között, amely befolyásolta az eredményeinket.

4. 1. 2. 2. A BVDV állományszintű és állományon belüli vírusprevalenciája

A vírus állományszintű és állományon belüli (egyed szintű) előfordulási valószínűségét két modellel határoztuk meg. A vírusprevalenciákat elsőként azokban az állományokban vizsgáltuk, ahol ellenanyag vizsgálat is történt (1. adatbázis), második lépésben kiterjesztettük a vizsgálatot valamennyi olyan szarvasmarha-állományra, amely BVD vírus kimutatása céljából diagnosztikai mintát küldött a vizsgált időszak alatt (2. adatbázis) a NÉBIH ÁDI-ba, mint referencia laboratóriumba. Tehát az első modell referencia populációja a második modell szub-populációja.

Az első (rész) populációban az éves állományszintű valódi vírusprevalencia, vagyis évről évre azoknak az állományoknak az aránya, amelyekben legalább egy vírushordozó egyed jelen van, 11,5% (CI95: 6,7–17,7). Ez alapján minden évben a hazai szarvasmarha-állományok kicsit több, mint 10%-ában van vírushordozó egyed és az állományok közel 90%-ban nem található vírus. A vizsgált öt éves időszakban az fertőzött állományok aránya 16,5% (CI95: 8,9–27,7) volt, ezekben az állományokban a vizsgált időszak valamelyik évében jelen volt vírushordozó egyed. Abban az esetben viszont, ha egy adott állományban a vírust a vizsgált időszak valamelyik évében kimutatható, akkor 71,9% valószínűséggel (CI95: 42,4–95,5) egy vizsgált évben megtalálható az állományban a vírus. Ez a viszonylag nagy érték arra utal, hogy amennyiben egy állományban megtalálható a BVDV, akkor az stabilan benn marad az állományban.

A második (teljes) populációban az állományszintű valódi vírusprevalencia, vagyis azoknak az állományoknak az aránya, amelyekben legalább egy vírushordozó egyed jelen van, 12,4% (CI95: 8,0–18,5), amely összhangban van az 1. modell eredményével. A vizsgált időszakban az állományok 41%-a (CI95: 15,8–54,3) fertőzött BVDV-vel, vagyis jelent meg az állományban vírushordozó egyed, ami azt jelenti, hogy az állományok 59%-a BVD vírustól biztosan mentes. Amennyiben valamelyik vizsgált évben az állományban kimutatható a vírus, abban az esetben 32,9%-os valószínűséggel (95% CI: 15,8–54,3) egy vizsgált évben lesz vírushordozó egyed.

A fertőzött állományok az első modell populációjában megközelítőleg kétszer többen váltak fertőzött állománnyá (megjelent vírushordozó egyed) az első modell populációjához képest. A különbség oka valószínűleg az 1. modell populációjában jelentős részarányt képviselő nagy létszámú telepek száma lehet: az 1. modell populációjában az állományok méretének mediánja 516 szarvasmarha, míg a 2. modell populációjában az állományok méretének mediánja 25 szarvasmarha.

A vírushordozó egyedek állományon belüli (egyed szintű) valódi prevalenciáját fertőzött, ill. valamennyi állományban, a látszólagos prevalenciát valamennyi állományban és a látszólagos és valódi prevalenciák közötti különbségeket az **6. táblázat** mutatja be.

6. táblázat. Állományon belüli valódi és látszólagos vírusprevalencia Magyarországon 2008–2012 között

Év	Valódi P (%) a fertőzött állományokban (95% CI)	Valódi P (%) minden állományban	Látszólagos P (%) minden állományban (95% CI)	PP különbség*
2008	15,8 (3,1-40,1)	1,96	1,13 (0,75-1,65)	-0,83
2009	7,2 (3,5-11,2)	0,89	1,20 (0,80-1,67)	0,31
2010	5,5 (4,1-7,3)	0,68	2,30 (1,80-2,86)	1,62
2011	3,0 (1,3-5,8)	0,37	0,40 (0,27-5,60)	0,03
2012	4,5 (2,7-6,8)	0,56	0,70 (0,55-8,02)	0,14

*A valódi P (%) és a látszólagos P (%) különbsége valamennyi vizsgált állomány tekintetében

Az állományon belüli valódi vírusprevalencia időbeli változás mindkét populációban azonosan alakult. Azokban az állományokban, amelyekben a vírus jelen volt, a vírushordozó egyedek száma 2008 és 2011 között folyamatosan csökkent, majd 2012-ben valamelyest nőtt. Az évenkénti változások statisztikailag nem szignifikánsak.

Az állományon belüli valódi vírusprevalencia standard szórása a víruspozitív állományok között mindkét általunk vizsgált populációban az átlagnál nagyobb volt, amely az állományok közötti nagyfokú heterogenitásra utal, általában az állományok legnagyobb részében csak 1–2 vírushordozó egyed található.

4. 1. 2. 3. A vírus és az ellenanyag jelenléte közötti kölcsönhatás

A vírus és az ellenanyag jelenléte közötti kölcsönhatást azoknak az állományoknak a bevonásával vizsgáltuk (n=312), amelyekben a vizsgált időszak során történt szerológiai és virológiai vizsgálat is. 95%-os megbízhatósággal kijelenthető, hogy ha az állományban biztosan van vírushordozó egyed, akkor az legalább tízszeresére (esélyhányados, odds ratio, OR=51,7; CI95: 10,7–216,7) változtatja az ellenanyag állományon belüli előfordulását. Ez azt jelenti, hogy ha a telep vírussal biztosan fertőzött, legalább tízszeresére nő annak az esélye, hogy egy véletlenszerűen kiválasztott szarvasmarha szeropozitív, egy vírussal nem fertőzött állomány egy véletlenszerűen kiválasztott egyedéhez képest.

4. 1. 3. Megbeszélés

A BVD-től való mentesítés számos európai országban folyamatban van, vagy már hivatalosan lezárult. A hazai szarvasmarha-ágazat számára a legnagyobb közvetlen (termelési) vagy közvetett (kereskedelmi) kárt okozó fertőző betegségektől való sikeres mentesítések Európai Unió általi elismerésének elmaradása (szarvasmarha gümőkór, brucellózis), vagy a mentesítési programok nem megfelelő kivitelezése, elhúzódása (enzootiás bovin leukózis, IBR) tartós versenyhátrányt jelent azokhoz az uniós tagállamokhoz képest, amelyek ezen betegségektől már hivatalosan is mentesek. Magyarországon az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága már 1998-ban rámutatott a

betegség elleni védekezés jelentőségére és időszerűségére (Mészáros, 1998). A 2000-es évek elején az állat-egészségügyi főhatóság, valamint a témakör szakértői egyetértettek abban, hogy BVD tekintetében a mentesítési munkát el kell kezdeni, mégpedig ez a legkedvezőbben és a legolcsóbban az IBR-től való mentesítéssel egybekötve lehetséges. A laboratóriumi vizsgálatok jelentős része az IBR-rel együtt, ugyanabból a vérmintából elvégezhető és az igazgatási intézkedések egy része is kapcsolódik az IBR mentesítéshez. Ennek ellenére a BVD elleni védekezéstről hazai jogszabály eddig nem készült.

Magyarországon jelenleg önkéntes alapon, telepi szinten történik BVD-elleni védekezés. A BVD-fertőzöttség kimutatásra irányuló laboratóriumi vizsgálat indikációja és az alkalmazott módszer megválasztása függ a beküldött minta jellegétől, a vizsgálatra rendelkezésre álló időtől, a megrendelő által tervezett anyagi ráfordítás (költség) mértékétől, az állományban kialakult klinikai tünetektől, esetleg kórbonctani elváltozásoktól, valamint a meghatározott állat-egészségügyi cél(ok) elérésétől. A rendelkezésre álló indirekt diagnosztikai módszerek közül jelenleg alkalmazzák a VNT-et és az ellenanyag-ELISA-próbát, míg a direkt víruskimutató módszerek közül a vírusizolálást, a qRT-PCR-t és az ag-ELISÁ-t. Magyarországon a BVD kimutatására irányuló laboratóriumi vizsgálatok leggyakrabban indikációi: szarvasmarha-export, tenyészállat-eladás belföldre, ill. külföldre, tenyészbikartartás, az állomány, vagy egyes egyedek légző-, ill. emésztőszervi megbetegedése esetében a BVD megerősítése vagy kizárása, adott állomány önkéntes mentesítése (fertőzöttség felmérése, mentesítés során végzendő diagnosztikai vizsgálatok, PI-egyedek kiszűrése), valamint mentes állományokban a mentes státusz ellenőrzése (Szabára et al., 2014). Az exportra szánt állatok BVD-re irányuló szükséges laboratóriumi diagnosztikai módszerét a fogadó ország határozza meg, amely hazánkban az esetek döntő többségében ag-ELISA módszer. Magyarországon 2008-ban egy import charolais fajtájú szarvasmarha-állományban izoláltak Bluetongue vírust, ami a szarvasmarha export időszakos csökkenéséhez vezetett. Az ag-ELISA vizsgálati minták számának 2012-ben történt nagymértékű növekedésének magyarázata, hogy a hazai Bluetongue-mentesség visszanyerése után az élő szarvasmarha export ismét fellendült. Az export vizsgálatok mellett a víruskimutató vizsgálatok mintaszámát a tenyészállat eladás és tenyészbikartartás ellenőrzése szolgáltatja, mivel tenyészállatok esetén általános követelmény a BVDV-től való mentesség, amelyet ag-ELISA vagy RT-PCR vizsgálati módszer negatív eredményével kell bizonyítani.

4. 1. 3. 1. A BVD állományszintű és állományon belüli szeroprevalenciája

A tervszerű, szisztematikus védekezést nem folytató európai országokban a BVDV állomány szintű ellenanyag prevalenciája átlagosan 55% körül található (Cowley et al., 2012). Jelen tanulmányunk szerint Magyarországon az állományszintű szeroprevalencia 56,4%, amely a megelőző hazai felmérésekhez képest kedvezőbb, az európai átlaghoz hasonló. 1999-ben egy nyugat-dunántúli felmérés szerint a nagy létszámú állományok 95%-a volt szeropozitív (Kudron et al., 1999). A 2008-ban készült, kis mintaszámú, nagy létszámú telepekre vonatkozó reprezentatív felmérés alapján az állományszintű fertőzöttség 70,4% volt (Kővágó et al., 2015).

A védekezési, ill. a mentesítési programok megkezdése előtt a felmérővizsgálatok eredményei szerint az 1990-es évek kezdetén a BVDV szeroprevalenciája <2% volt Finnországban, 23% Norvégiában (Booth et al., 2013a) és 65% fölött Svédországban (Alenius et al., 1996). Angliában az állományszintű szeroprevalencia 87–95% között volt, amely bizonyítja a BVD vírus nagyfokú terjedését az állományok között (Graham et al., 2001; Humphry et al., 2012; Paton et al., 1998). Svájcban a BVD egyed szintű szeroprevalenciáját 60%-ra, állományszintű szeroprevalenciáját pedig 100%-ra becsülték (Presi et al., 2011). Németországban a BVD elleni védekezés kezdő lépése viszonylag bonyolult volt, köszönhetően a szarvasmarha-ágazat komplex felépítésének: a regionalis szarvasmarha-sűrűség nagyjából 150 egyed/km² és az állományszintű szeroprevalencia >90% volt, amíg a PI-egyedek prevalenciája 1–2% között mozgott (Bendfeldt et al., 2004; Frey et al., 1996). Egy 2009 és 2010 között végzett Európai Unió felmérés eredményei alapján a szeroprevalencia Franciaországban és Olaszországban 35–90%, <10% Ausztriában, <0,1% Svédországban és Dániában, valamint <0,01% Finnországban és Norvégiában. Nagy-Britannia, Spanyolország, Portugália, Németország, Hollandia, Svájc és Belgium szarvasmarha-állományainak a BVDV szeroprevalenciája nagyobb, mint 90% (Di Labio, 2013).

A magyarországi állományszintű szeroprevalenciát összehasonlítva egyéb európai ország adataival, az látható, hogy egyes skandináv országok mentesítés előtti állapotánál nagyobb a fertőzöttség, de például Svédországban nagyobb volt a szeroprevalencia. Egyéb európai országok mentesítést megelőző állapotához képest Magyarországon a fertőzöttségi szint kedvezőbb. A hazai megelőző felmérő adatokkal összevetve jelenlegi eredményeinket, kis mértékben alacsonyabbnak becsüljük az állományszintű szeroprevalenciát. Ennek oka egyrészt az, hogy az előzetes tanulmányok csak nagy létszámú állományokat vizsgáltak, jelen vizsgálatba viszont részt vettek a kis létszámú, kevésbé fertőzött, ugyanakkor országosan nagy számban jelen lévő állományok is. Másik oka, hogy az előző vizsgálatok látszólagos prevalenciák, amelyek tartalmazzák a fals eseteket, a most közzétett eredmények pedig a téves esetek kiszűrésével számított valódi prevalenciák.

A szisztematikus védekezést nem folytató európai országokban a BVDV állomány szintű ellenanyag-prevalenciája mellett meghatározható az állományon belüli, egyedi szeroprevalencia, amely széles határok között mozog, 19–89%, leggyakrabban 60–80% (Cowley et al., 2012). A jelen vizsgálat során kapott eredmények szerint az állományon belüli szeroprevalencia 38,3% és 53,8% között mozgott. Az évek közötti ingadozás nem jelentős és minden esetben az európai átlag tartományban található. A szeropozitivitási értékek adódhatnak részben a fertőzésen már átesett, aktív védettséggel bíró állatok vírusneutralizáló ellenanyagaiból, részben a viszonylag hosszán, nagyjából 6 hónapos korig kimutatható passzív kolosztrális védettségéből, részben pedig a vakcinázásból eredő, szintén passzív védettségéből. Mivel nem volt adatunk a vizsgált állatok koráról és immunológiai hátteréről, ezért feltételezhető, hogy az állományon belüli fertőzöttség kisebb mértékű, hiszen a pozitív vérminták adódhattak passzív immunitásból is.

A 2008-as, kis mintaszámú, telepi szintű szerológiai felmérés szerint az egyedi szeropozitivitási arány 43,4% volt, amely esetben 6 hónapnál idősebb, nem vakcinázott egyedeket vizsgáltak (Kővágó et al., 2015). Svájcban, ahol 2008 óta országos szintű, kötelező védekezési program van érvényben, az állományon belüli szeroprevalencia kezdetben 60% körül volt (Presi et al., 2011). Eredményeink a megelőző hazai és az európai adatokkal megegyeznek, vagyis egy fertőzött állományban az egyedek nagyjából fele szeropozitív. Egy fertőzött állományban a tapasztalt szeropozitivitási arány a betegség kis-közepes mértékű ragályozó képességével magyarázható. Vagyis ha a vírus bekerül egy fogékony állományban, a szarvasmarhák nem hirtelen, nagy számban esnek át a fertőzésen, hanem a kis-közepes mértékű ragályozó-képesség miatt az állomány fokozatosan válik szeropozitívvá. Az állományon belüli ellenanyag-prevalencia telepek közötti szórása minden évben nagy, vagyis a telepekre a nagyfokú heterogenitás jellemző. Nagy számban találhatóak olyan állományok, amelyek nem fertőzöttek és szintén nagy számban találhatóak fertőzöttek. A magyarországi állományok kicsit több mint a fele, nagyjából 55%-a fertőzött és 45%-a nem fertőzött. A BVD ellen termelt ellenanyagok élethosszig tartó védelmet jelentenek, tehát az aktív védettség nem tűnik el. Ezt alátámasztja az az eredményünk, amely szerint az ellenanyag egy állományban stabilan, több évig elhúzódóan jelen van.

4. 1. 3. 2. A BVD állományszintű és állományon belüli vírusprevalenciája

A vírus jelenlétének vérből vagy szövetmintából (fülporc) történő kimutatása bizonyítja, hogy egy állományban van vírushordozó állat. Ahhoz, hogy egy állományban a fertőzöttség fennmaradjon, szükség van perzisztensen vagy tranziensen vírusürítő egyedekre. A vírushordozó állatok kiszűrése során viszont el kell különíteni egymástól az immuntoleráns, perzisztensen fertőzött és az immunkompetens, tranziensen fertőzött egyedeket, amely 3 hetes időközzel végzett, ismételt direkt víruskimutató-vizsgálattal lehetséges. Eltávolítani az

állományból csak a PI-egyedeket szükséges, ugyanakkor a vemhesség 30–125. napja között lévő vemhes állatokat védeni kell az átmeneti fertőzéstől, amely TI-szarvasmarhától is eredhet. A vírusprevalencia meghatározása során figyelemmel kell lenni, hogy egy adott állományban a PI-egyedek mellett előfordulhatnak TI-egyedek is. Viszont a perzisztens fertőzés élethosszig tartó vírushordozást jelent, míg az átmeneti fertőzés során a viraemia mindössze maximum 14 nap. A szisztematikus védekezést nem folytató országokban, ahol a BVDV endémiásan jelen van, a prevalencia-felmérések szerint megközelítőleg az állományok 50%-ában található legalább 1 PI-egyed és a szarvasmarhák 90%-a életük során találkozik a vírussal (Lindberg et al., 2006). Horvátországban egy 103 tejelő állományban történt felmérés során azt tapasztalták, hogy az állományszintű vírusprevalencia 100%, ami azt jelenti, hogy minden állományban van legalább egy PI-egyed (Bedekovic et al., 2013). Az endémiás területeken és azokban az állományokban, ahol nagy a fertőzöttségből eredő szeroprevalencia, a PI-egyedek aránya átlagosan 0,5–2% között van (Cowley et al., 2012; Lindberg et al., 2006; Ózsvári et al., 2001).

Magyarországon a vírusprevalencia meghatározását először végeztük el jelen munkánk során, így hazai előzményi adatokhoz nem tudunk viszonyítani. A vírus állományszintű prevalenciája Magyarországon az európai átlag alatt található, akár csak azokat az állományokat tekintve, amelyek szerológiai és virológiai vizsgálatot is végeztek a vizsgált időszak alatt (11,5%), akár kiterjesztve ezt valamennyi, 2008–2012 között víruskimutató vizsgálatot végző állományra (12,4%). Ennek oka lehet, hogy az Európára vonatkozó vírusprevalencia vizsgálatok nagy létszámú állományokban történtek, amíg jelen tanulmányban nagy számban fordulnak elő, kis létszámú, kedvezőbb BVD-állapotú állományok is. Viszont a két érték a két populációban szinkronban van egymással, amely alátámasztja, hogy az állományok nagyjából azonos részében, kicsit több mint 10%-ában fordul elő legalább 1 PI-egyed, amely jelentősen az európai átlag alatt található. A BVDV állományon belüli stabilitását, vagyis ha hajlamos a fertőzésre egy állomány, mennyi az esélye, hogy egy adott évben valóban fertőződik, vizsgálva megállapítottuk, hogy az 1. populációban stabilabban bent marad az állományban a vírus, a 2. populációhoz képest. A két populáció közötti különbség alapja valószínűleg azzal magyarázható, hogy a belső heterogenitás más a két populációban. A 2. populációban több telep vizsgálata történt és elsősorban a kis létszámú állományok részaránya volt nagyobb, ezáltal heterogénebb az állománylétszámok. A vírus állományon belüli stabilitása, vagyis hogy a BVDV viszonylag stabilan bent marad az állományokban arra utal, hogy nem távolítják el a PI-egyedeket. Az 1. populációban a vírus állományon belüli nagyobb stabilitása szintén a nagy részarányt alkotó, nagy létszámú állományokkal magyarázható.

Az állományon belüli vírusprevalencia az első csoportban 2,9%–9,4% között, míg a minden direkt víruskimutató-vizsgálatot magában foglaló 2. csoportban 3,0%–15,8% között

található. A vírusprevalencia évenkénti ingadozása mindkét csoportban megegyezik. Az időbeli trend során megfigyelhető, hogy a vírusprevalencia változását a szeroprevalencia változása nem utólagosan követte, hanem a kettő nagyjából együtt változott. Vagyis a PI-egyedek számának növekedése, ill. csökkenése során nem késleltetve érzékeltük a szeropozitivitás mértékének változását, hanem azzal egy időben. Ennek lehetséges magyarázata lehet, hogy a vírusprevalencia változását valójában nyomon követte a szeroprevalencia változása, csak mivel a vizsgálat időpontját pontosan nem ismertük, csak a vizsgálat évét, ezért az esetleg év első részében elkezdődött vírusprevalencia változást a szeroprevalencia változása az év második felében követte.

Összességében megállapítottuk, hogy Magyarországon a BVDV endémiásan jelen van. A megelőző tanulmányokhoz képest a jelen munka részben nagyobb mintaszámon alapszik és az egész országot területileg lefedi, részben pedig az ellenanyag-prevalencia meghatározása mellett először sikerült vírusprevalenciát meghatározni. A kapott prevalenciák a releváns szakirodalmi adatokkal korrelálnak, a korábbi hazai szeroprevalencia adatokhoz viszonyítva pedig úgy tűnik, hogy a fertőzöttség szintje kedvezőbb a vártnál.

4. 1. 3. 3. A betegség elleni védekezés lehetőségei

A BVD elleni tervszerű védekezés a vírus előfordulásának ágazati, területi és nemzeti szinten történő csökkentését célozza (Szabára és Ózsvári, 2013). A BVD felszámolása az általános járvány megelőzési elveknek megfelelően vagy a kórokozó behurcolásának megelőzésével, vagy a fertőzéstől való mentesítéssel lehetséges (Szabára et al., 2013).

4. 1. 3. 3. 1. A behurcolás megelőzése

A betegség megelőzése során a járványvédelmi rendszabályok szigorú betartásával el kell kerülni, valamint minimálisra kell csökkenteni a kórokozó bevitelének lehetőségét a mentes állományba, ill. fertőzött, esetleg tünetmentes állományban fel kell ismerni a PI-egyedeket (Bálint, 2005; Kecskeméti et al., 1998; Lindberg és Houe, 2005; Lindberg et al., 2006).

A BVDV behurcolása szempontjából kiemelt jelentőségű a PI-állat, a fertőzött magzattal vemhes anyaállat, a fertőzött ondó, ill. petesejt, a fertőzött embrió. A fertőzést közvetítő tárgyak, a vérszívó paraziták és az egyéb háziasított, vagy vadon élő kérődzőkkel történő érintkezés az előbbiekhöz képest kisebb jelentőséggel bír (Kecskeméti et al., 1998; Nettleton, 2013; van Campen, 2010). Ugyanakkor itt érdemes megjegyezni, hogy elvéve bár, de előfordulhat szarvasmarha fertőződése nem bovine Pestivirusokkal (Border Disease Virus, egyéb Pestivirusok), amelyeknek semmilyen járványtani, klinikai következménye nincs, ugyanakkor ellenanyag vizsgálatokban esetleg zavaró keresztreakciót okozhatnak.

A vírusűritő állat behozatalának elkerülése érdekében ajánlott az adásvétel során, az állat eredeti tartási (származási) helyén vérmintából, esetleg ondóból víruskimutatást végezni (Kecskeméti et al., 1998). PI-egyedek továbbtenyésztés céljából történő értékesítését meg kell tiltani. Az ilyen állatokat a lehető legrövidebb időn belül le kell vágni. Több helyről felvásárolt növendék szarvasmarhákat célszerű még a származási helyen, a víruskimutatás negatív eredménye után BVD ellen alapimmunizálásban részesíteni (Áldásy et al., 1978; Szabára et al., 2013; van Campen, 2010).

BVDV-től mentes szarvasmarha-állományokban nagy hangsúlyt kell helyezni a hatékony járvány megelőző intézkedésekre, amelyek szigorú betartásával az állomány megvédhető az újrafertőződéstől. Ezek a nem specifikus járvány megelőző intézkedések egyidejűleg más jelentős, vagy kevésbé jelentős kórokozók behurcolásának megelőzését is szolgálják (Szabára et al., 2013).

4. 1. 3. 3. 2. Vakcinázás

A BVD elleni szervezett védekezés egyik kiegészítő eszköze a vakcinázás (Moenning et al., 2005). A világ számos országában, különösen az intenzív állatforgalommal és nagy állatsűrűséggel rendelkező régiókban, vakcinázással védekeznek a BVD ellen (Lindberg, 2003; Lindberg et al., 2006; van Campen, 2010). A betegség ellen hazánkban jelenleg inaktivált és attenuált vakcinák vannak kereskedelmi forgalomban (Soós és Tuboly, 2009; Videnova és MacKay, 2012).

Az inaktivált vakcinával történő alapimmunizáláshoz általában 2–4 hetes időközzel, kétszeri védőoltás szükséges, amelyet a gyártó utasítása szerinti intervallumonként (jellemzően 6–12 hónap) booster vakcinázásnak kell követnie. Az attenuált vakcina használata esetében elegendő egyetlen oltóanyag a megfelelő védettségi szint kialakításához, amelyet évente kell ismételni. A modern vakcinázási programok célja nemcsak a klinikai tünetekkel járó betegség megelőzése, hanem a viraemia kialakulásának és ezzel együtt a magzat fertőzésének megakadályozása (Kecskeméti és Kiss, 1999; Lindberg et al., 2006; Moenning et al., 2005; Patel et al., 2002; van Campen, 2010).

Hazánkban a (szakirodalmi adatoknak megfelelően) vemhesített és igazoltan vemhes tehének, ill. üszők, továbbá a tenyészbikák és a tenyészbika jelölt növendék állatok immunizálása inaktivált és attenuált BVD vírust tartalmazó oltóanyaggal is lehetséges. Azokon a telepeken, ahol jelenleg önkéntes alapon BVD-től való mentesítés történik, ott a sikeres mentesítés érdekében a mentesítésbe vont szarvasmarha-állománnyal azonos telepen, de külön istállóban elhelyezett és hizlálásra megtartott növendék marhákat BVD ellen vakcinával rendszeresen immunizálni kell (Kecskeméti et al., 1998; Mészáros, 1998). A BVDV állományon belüli terjedésének csökkentése, valamint megszüntetése céljából végzett

megelőző immunizálás során minden esetben be kell tartani az alkalmazott vakcina használati utasításában előírtakat.

4. 1. 3. 4. A BVD elleni mentesítés eszközrendszere

Mind a védekezés, mind a mentesítés során fontos szempont a BVDV állományok közötti és állományon belüli terjedésének megelőzése a járványmegelőző intézkedések szigorú betartásával és ellenőrzésével, szükség szerint pedig vakcinázással. A BVDV-fertőzöttség szempontjából ismeretlen státuszú hazai állományokban tájékozódó vizsgálatot kell végezni és az eredmény ismeretében lehet az állományban a védekezés további teendőit meghatározni a skandináv mentesítési programok által meghatározott három alappillér alapján:

1. A járványmegelőző intézkedések keretében meg kell akadályozni a vírusürítő állatok, valamint az (előzményi adatok alapján gyaníthatóan) ilyen magzatokkal vemhes üszők és tehének más állományokba való bevitelét. A vemhesség korai szakaszában lévő anyaállatokat megbízhatóan el kell különíteni azért, hogy az állományban esetleg jelen lévő vírusürítő egyedekkel sem közvetlenül, sem közvetve ne kerüljenek kapcsolatba. (A vemhesség korai szakaszában nagy a kockázata annak, hogy a vírusürítő állattól fertőződött anya utóda szintén vírushordozóként születik meg.)
2. A fertőzött állományokban fel kell ismerni a BVDV fő forrását jelentő PI-egyedeket és azokat az állományból mielőbb el kell távolítani (célszerűen vágóhídon történő levágatással). A fertőzött állományban egyidejűleg valamennyi 6–8 hónaposnál idősebb egyedre kiterjedő reprezentatív vizsgálatot kell végezni a fertőzöttség, ill. PI-állat(ok) jelenlétének megállapítása vagy kizárása céljából. Ehhez költséghatékony módszer lehet a Mars és Van Maanen (2005) által leírt ún. quick scan (állomány gyorseszteszt), amely az összes tejelő tehén tejmintájának, az összes szárazonálló tehén szérum mintájának „pool”-ozott antigén és ellenanyag vizsgálatát, valamint 10–15 növendék (8–12 hónapos) állat szérum mintájának egyedi ellenanyag vizsgálatát foglalja magában. Hazai körülmények között javasolt az egyedi minták gyűjtése és ezek laboratóriumi „pool”-ozása a választott RT-PCR, ill. ELISA-tesztek használati utasításainak megfelelően. Ezen adatok ismeretében lehet dönteni a védekezés további teendőiről és lehet tájékoztatni az állattartót a mentesítés várható időtartamáról.
3. Szervezett ellenőrző vizsgálatokat kell végrehajtani egyrészt a fertőzött állományokban a BVDV-től való mentesítés érdekében végzett előbbi intézkedések hatékonyságának értékelése, másrészt a mentes állományokba behurcolt BVDV fertőzés korai felismerése céljából. Az ellenőrző vizsgálatok célcsoportjaként a fiatal,

8–12 hónapos állatok meghatározott számú egyedét kell kijelölni egyedi szerológiai vizsgálatra.

4. 1. 3. 4. 1. Vakcinázás

Lindberg és Houe (2005) a BVD elleni vakcinázást a védekezés/mentesítés kiegészítő eszközének tartják. Vakcinázási programok bevezetéséről a helyi/regionális járványügyi körülmények és költség-haszon elemzések alapján lehet dönteni. A vakcinák használata esetén sem nélkülözhető az 1–3. pontokban leírt intézkedések szigorú betartása.

4. 1. 3. 4. 2. A perzisztensen fertőzött egyed felismerése és eltávolítása

A PI-egyedek állományból történő eltávolítása a vírus elsődleges forrásának megszűnését jelenti és az állományban újabb szeropozitív egyedek megjelenése nem várható (self clearance) (Stahl et al., 2008). Más források ugyanakkor megemlítik, hogy zárt állományban, PI-állat jelenléte vagy behurcolása nélkül is előfordulhat aktív BVDV cirkuláció, ami (anyaállat korai vemhesség alatti fertőződése esetén) akár PI-borjú születésével is járhat (Moen et al., 2005). Joggal valószínűsíthetjük, hogy a PI-állattal nem terhelt, vakcinázatlan állományokban a BVD járványmenete megegyezik a BHV-1 vírus esetén ismertekkel: a nem fertőzött vemhes üszők (vagy fiatal tehének) az idősebb állatokkal kontaktusba kerülve fertőződnek. Ilyen esetekben kulcsfontosságú a vemhes üszők védettségének biztosítása PI-borjú születésének megakadályozása céljából.

A PI-egyedek – kevés kivételtől eltekintve – szeronegatívak, ezért azok kiszűrése a vírus izolálásával, a vírusantigén vagy a víruskomponensek kimutatásával lehetséges (Kecskeméti et al., 1998; Kecskeméti és Kiss, 1999; Lindberg et al., 2006; Nettleton, 2013; van Campen, 2010). A vizsgálat időpontjában szeronegatív, de vírust ürítő állat vagy PI-egyed, vagy a heveny, viraemiás szakaszban lévő, átmenetileg vírust ürítő egyed lehet. Ennek elkülönítésére kb. 3 hét múlva meg kell ismételni a vizsgálatot. Heveny fertőzés esetén a megismételt vizsgálatban az immunkompetens állat szeropozitív, ám vírusantigénre negatív lesz, míg a PI-egyed továbbra is szeronegatív és vírusra pozitív marad. Borjak BVDV-fertőzöttségének felismerését, különösen az élet első három hónapjában, a maternális ellenanyagok zavarhatják, mert megnehezítik a vírus, ill. a vírusantigén kimutatását. Ezt megelőzendő a borjak alvadásban gátolt vérmintáit vagy a kolosztrummal történő itatás előtt, vagy a maternális ellenanyagok kiürülése után, célszerűen 4–6 hónapos korban kell vizsgálni. Egyes megfigyelések szerint PI-borjakban a maternális ellenanyagok mennyisége 2–3 hónap alatt a kimutathatóság szintje alá csökken (Pálfi et al., 1993).

PI-egyedek állományból történő eltávolításával párhuzamosan különösen fontos a BVDV újabb behurcolásának megakadályozása: többek között az állatvásárlást követő

megfelelő elkülönítés és a vírus antigén kimutatására is kiterjedő laboratóriumi vizsgálat, a vemhesség kezdeti szakaszában lévő anyaállatok fertőzésmentes környezetben való tartása, csak PI fertőzéstől igazoltan mentes tenyészbikákkal való fedeztetés, ill. ilyen apaállatoktól származó spermával való mesterséges termékenyítés, valamint a petesejtet vagy embriót szolgáltató donor anyaállatok PI fertőzéstől való mentessége (Kecskeméti et al., 1998; Kecskeméti és Kiss, 1999; Lindberg et al., 2006; OIE, 2012; Szabára et al., 2013; van Campen, 2010).

PI-borjak születésének megakadályozása céljából számos járvány megelőzési és korlátozó intézkedésre van szükség. Mesterséges termékenyítő állomásokon csak BVDV fertőzéstől is mentes tenyészbikák tarthatók. A mentes tenyészbikák ellenőrző vérvizsgálatát félévente, emellett minden mesterséges termékenyítő állomásra beszállított tenyészbikát a karanténozás ideje alatt BVDV-re és BVDV-vel szembeni ellenanyagokra vérvizsgálattal ellenőrizni kell. A spermatermelésbe állítás előtt kb. 3–4 héttel egy alkalommal a vérminta és a spermaminta BVDV-re irányuló vizsgálatát ismételtel el kell végezni. Embrió-átültetéshez csak BVDV fertőzéstől is mentes anyaállatoktól származó zigóta/embrió használható fel (OIE, 2012). Bikanévelő tehenek kizárólag PI mentes egyedek lehetnek. Szeropozitív állományban tartott, BVD vírusra negatív bikanévelő teheneket inaktivált vakcinával immunizálni kell (Kecskeméti et al., 1998; Mészáros, 1998). A továbbtartásra, tenyészutánpótlásra szánt borjakat, a maternalis ellenanyagok kiürülését követően, kb. 4–6 hónapos korban BVDV-re és BVDV-vel szembeni ellenanyagokra vérvizsgálattal ellenőrizni kell. A sikeres vakcinázás alapfeltétele az állomány, ill. a korcsoportok ellenanyagszintjének pontos ismerete (Szabára et al., 2013).

4. 1. 3. 5. Igazgatási kérdések

Az endémiásan előforduló fertőző betegségektől való mentesítés három „klasszikus” módszere a fertőzött állatok eltávolításán alapuló *szelekció*, az utódok fertőzésmentes felnevelésére és a fertőzött felnőtt állomány ezen utódokkal való lecserélésére alapozott *generációváltás*, valamint a teljes fertőzött állomány felszámolását (levágatását) követően a kitakarított és fertőtlenített tartási helyre az adott betegség kórokozójától mentes állatok (állomány) betelepítésével járó *állománycsere* (Varga et al., 1999).

Az IBR és az EBL elleni mentesítés szabályairól szóló, az MTA Állatorvos-tudományi Bizottságának állásfoglalásai alapján készült hazai jogszabályok (19/2002. (III. 8.) FVM rendelet és 21/2002. (III. 20.) FVM rendelet) tételesen meghatározzák a szelekciós, a generációváltásos és az állománycsere mentesítés alapvető járványügyi és igazgatási előírásait, valamint a mentesítési tervek tartalmára vonatkozó legfontosabb követelményeket. Ezek az előírások „vezérfonalként” felhasználhatók a BVD elleni mentesítésben (akár egyes állományok, akár egyes régiók szintjén), de figyelembe kell venni

a BVDV-től való sikeres mentesítés három alappilléreként korábban említett, sajátos járványtani szempontokat is.

Az elmúlt másfél évtizedben külföldön a BVDV-től való mentesítés regionális, vagy országos szintű programjaiban elsősorban a szelekciós módszert alkalmazták. Itthon a jogszabállyal kihirdetett országos mentesítési program kezdetéig a BVDV-től való mentesítésre önkéntes alapon vállalkozó gazdaságok esetében (az adott szarvasmarhatartó telep sajátosságaihoz igazodó) egyedi mentesítési terveket kell kidolgozni a korábbi külföldi és hazai ajánlások figyelembevételével. Az FM/NÉBIH szakmai irányelv/útmutató kiadásával segíthetné az BVDV-től való mentesítésre vállalkozó gazdaságok ez irányú tevékenységét.

A tudományos értekezés során meghatározott adatok szerint az útmutatóban többek között az alábbiakat lenne szükséges meghatározni:

- a fertőzöttség jelenlétének felderítésre irányuló *tájékozódó szerológiai vizsgálatok* rendje (az állomány nagyságához igazodó minimális mintaszám, az érintett korcsoportok köre, a húshasznú és a tejhasznú állományokra érvényes külön szabályok),
- az állományon belüli fertőzöttség mértékét *felmérő vizsgálatok* követelményei (valamennyi egyedre kiterjedő, egyidejű ellenanyag és vírusantigén/vírus-nukleinsav kimutatás rendszere);
- a laboratóriumi vizsgálatok során igénybeveendő, *validált* (és a külföldi gyakorlatban már bizonyított) *diagnosztikai eljárások* (pl. szerológiai vizsgálatra indirekt ELISA, vagy monoklonális ellenanyagokkal működő, blokkoló ELISA próba, a vírus/víruskomponensek kimutatására ag-ELISA és/vagy RT-PCR próba alkalmazása);
- kétes eredmények esetén a *megerősítő vizsgálatok rendje*;
- a vizsgálatok végzésére jogosult diagnosztikai intézetek és laboratóriumok köre;
- a mentesítés módszertani kérdéseiben illetékes nemzeti referencia laboratórium kijelölése;
- a *minősítő vizsgálatok* rendje és a BVDV-fertőzöttség/mentesség tekintetében alkalmazható *állomány-minősítési kategóriák*;
- a mentesítési tervek hatósági jóváhagyása és a mentesítési programok járási/megyei szintű hatósági felügyelete;
- a mentesítésben való előrehaladást, valamint a BVD mentességet *ellenőrző vizsgálatok rendszere* (pl. az állomány valamennyi egyedének szerológiai vizsgálata, vagy tejhasznú állományokban az elegytej ellenanyagok és/vagy BVDV jelenlétére történő vizsgálata, vagy a 8–12 hónapos korcsoportból meghatározott számú állat egyedi szerológiai vizsgálata, a vakcinázásra alapozott védekezést folytató

üzemekben a (perzisztens) BVDV-fertőzöttségtől való mentesség bizonyítása állomány „DIVA” teszt segítségével, vagy a még nem vakcinázott fiatal állatok 5–15 egyedének vérmintáiból egyidejű szerológiai és virológiai vizsgálat elvégzése stb.).

Az önkéntes BVDV mentesítési programok végrehajtására vonatkozó szakmai útmutató később az országos mentesítési program igazgatási intézkedéseinek lehet az alapja.

4. 1. 3. 6. Országos BVDV mentesítési program

Valamennyi hazai szarvasmarha-állományra kötelező, *országos BVD mentesítési program tervezése és szervezése* során a főhatóság szakembereinek mindazokra az általánosan érvényes szempontokra tekintettel kell lenniük, amelyeket Dénes (1985) az endémiás fertőző betegségek elleni szervezett védekezés (mentesítés) követelményeiként közel három évtizede meghatározott.

Hazánkban a BVDV állományok közötti terjedésében jelentős korlátozó tényező lehetne, ha az Állat-egészségügyi Szabályzat, ill. a belföldi állatszállítás állategészségügyi követelményeiről szóló 87/2012. (VIII. 27.) VM rendelet módosításával a nőivarú tenyészállatok és 12 hónaposnál idősebb tenyésznövendékek továbbtartásra való szállításakor megkövetelnénk a BVDV-től való egyedi mentesség 30 napnál nem régebbi laboratóriumi vizsgálattal való igazolását is. E követelményt a Magyarországról kiszállítandó tenyészüszők és tehének import feltételei között egyes harmadik országok már jelenleg is érvényesítik. Emellett a különböző állattartók által szervezett időszakos (nyári) legeltetés engedélyezésekor meg kellene követelni a közös gulyába kihajtandó állatok BVDV-től való egyedi mentességét is. A vírustól való mentességet állatkiállítások, bemutatók esetében is meg kellene követelni. Külföldről származó tenyészállatok/tenyésznövendékek behozatala előtt a hazai vásárlóknak is ki kellene kötniük a BVDV-től való egyedi mentesség igazolását. Ezen állatok hazai karanténzásakor az Állat-egészségügyi Szabályzat 12. számú függelékében előírtak betartása nemcsak a BVD, hanem más fertőző betegségek kórokozói behurcolásának megelőzését is szolgálja (Szabára et al., 2013).

Külföldi tapasztalatok azt mutatják, hogy a BVD elleni szervezett védekezési/mentesítési programokban az állam pénzügyi szerepvállalása nem nélkülözhető (Szabára et al., 2013). Az Európai Unióban a BVD a szarvasmarhafélék és sertések Közösségen belüli kereskedelmét érintő állat-egészségügyi problémákról szóló 64/432/EGK tanácsi irányelv alapján nem tartozik a bejelentési kötelezettség alá vont szarvasmarha betegségek közé, így a mentesítéshez uniós támogatás nem igényelhető, és ezáltal az Európai Bizottság által évente jóváhagyott, az egyes állatbetegségek felszámolására és ellenük való védekezésre és figyelemmel kísérésükre irányuló nemzeti programok társfinanszírozása, vagyis az uniós mentesítési támogatások hazai költségvetésből történő kiegészítése sem adható. Ugyanakkor a BVD elleni önkéntes mentesítés hazai felgyorsítását

nagyban elősegíthetné, ha a szarvasmarhatartó kis- és középvállalkozások által igénybe vehető, az egyes állatbetegségek megelőzésével, ill. leküzdésével kapcsolatos támogatások igénylésének és kifizetésének rendjéről szóló 148/2007. (XII. 8.) FVM rendelet lehetőséget adna BVD esetében is a mintavétel és laboratóriumi diagnosztikai vizsgálatok nemzeti támogatására, ill. a C001 technikai kód támogatási feltételeinek módosításával a BVD elleni vakcinázás szélesebb körű állami finanszírozására. A mentesítés folyamatát szintén gyorsítaná, ha a 38/2010. (IV. 15.) FVM rendelet alapján védett őshonos, ill. veszélyeztetett mezőgazdasági állatfajták közé sorolt magyar szürke szarvasmarha és magyartarka szarvasmarha után – meghatározott átmeneti idő elteltével – csak abban az esetben lehetne igénybe venni a nemzeti támogatást, ha az állomány perzisztens BVDV-től való mentessége hatóságilag igazolt (Szabára et al., 2013).

Az egyes igazgatási kérdések áttekintése alapján az alábbi **következtetések** állapíthatók meg:

1. A BVD vírusától való mentesség a szarvasmarha fajba tartozó tenyészállatok nemzetközi (Közösségen belüli és ún. harmadik országokba irányuló) forgalmában egyre gyakrabban előírt állat-egészségügyi követelmény.
2. Az állattartóknak, az állatorvosoknak és a döntéshozóknak egyértelmű tájékoztatást kell adni a BVDV okozta kártételekről, a szervezett védekezés (mentesítés) alapvető követelményeiről, valamint a mentességhez kapcsolódó közvetlen és közvetett gazdasági előnyökről, exportpiaci lehetőségekről.
3. A szarvasmarha-állományok BVDV-től való mentesítése vakcinák használata nélkül (pl. Svédország, Dánia,) és vakcinák szakszerű használatával is lehetséges (pl. Hollandia, Németország) akkor, ha a tájékozódó, a felmérő, a nyomon követő és az ellenőrző laboratóriumi vizsgálatokat, valamint a fertőzött állatokra, a fertőzött és a mentes(ített) állományokra vonatkozó járványügyi és igazgatási intézkedéseket szervezetteren hajtják végre.
4. A külföldön már bevált laboratóriumi vizsgálati módszerek és eljárások a BVDV-től való mentesítéshez itthon is rendelkezésre állnak, továbbá a mentesítés elméleti megalapozását és gyakorlati végrehajtását segítő szakmai ismeretek magyar nyelven is elérhetők.
5. Az önkéntes vagy kötelező mentesítési programok költségtakarékos és szakmailag megalapozott végrehajtása érdekében az állat-egészségügyi főhatóságnak (FM/NÉBIH) szakmai útmutatót (BVD mentesítési irányelvet) vagy rendeletet kellene kiadnia, amely szabályozza – többek között – a különböző vizsgálatok rendjét, a vizsgálati módszereket, a felügyelő hatóság feladatait, az állományok minősítésének

követelményeit, a védekezési program előrehaladását, valamint a mentesség megtartását ellenőrző vizsgálatok rendszerét is.

6. Jogszabály-módosítással elő kell(ene) írni azt, hogy a 12 hónapnál idősebb nőivarú tenyészállatok belföldön csak akkor értékesíthetők továbbtartásra, ha a szállítást megelőző 30 napon belül vizsgált egyedi vérmintájuk BVDV szempontjából negatív eredményt adott. Hasonló követelményt kell(ene) meghatározni a közös legeltetésre kihajtott állatokra is. A vizsgálat a PI-egyedek kiszűrését, valamint a BVDV állományok közötti terjedésének megelőzését szolgálná.
7. A mentesítési program eredményességének egyik feltétele az érdekeltek, ill. érintettek (tenyésztő szervezetek, állattartók, állatforgalmazók, állományt ellátó állatorvosok, vakcina forgalmazók stb.) és az állat-egészségügyi hatóság szoros együttműködése.
8. Regionális, vagy országos kiterjedésű védekezési/mentesítési program sikeres végrehajtásához állami (pénzügyi) szerepvállalás és rendszeres hatósági ellenőrzés szükséges.

4. 2. A BVD által okozott gazdasági károk telepi és országos szinten

4. 2. 1. Anyag és módszer

4. 2. 1. 1. A BVD által okozott, becsült gazdasági károk

A BVDV-fertőzöttség által okozott országos és telepi szintű gazdasági károkat a résztervezés (partial budgeting) módszerével, Excel™ program segítségével, a 2012. évi átlagos magyarországi szarvasmarha létszám, valamint termelési és áradatak felhasználásával becsültük meg (Szabára és Ózsvári, 2013). A résztervezés alaplogikája, hogy a termelési paraméterek értékének megváltoztatásával kiszámítható, hogy a betegség hiányában országos és telepi szinten mekkora többletjövedelem keletkezne. A BVD által befolyásolt termelési mutatók megváltozásának mértékére vonatkozó hazai felmérések eredményei nem álltak rendelkezésre, ezért Ózsvári et al. (2001) külföldi szakirodalmi adatok alapján számított átlagértékeit használtuk fel. A számítógépes táblázatkalkuláció előnye, hogy a különböző inputtényezők megváltoztatásával jelezhető, hogy mi történne, ha az árak vagy a kiindulási feltételek stb. megváltoznának.

4. 2. 1. 2. Heveny BVD járványkitörés termelésre gyakorolt hatásai és az ellene való védekezés gazdasági megtérülése egy nagyüzemi tehenészetben

Gazdasági vizsgálatainkat egy észak-alföldi tejelő szarvasmarha telepen végeztük, ahol kötetlen tartást alkalmaznak pihenőbokszokkal és almos trágyakezeléssel, valamint bikahízalás is történik (Ózsvári et al., 2015). A beteg egyedeket külön istállóban tartják és a havi befejeéseket az Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. végzi. Az állomány gümőkórtól, brucellózistól és leukózistól mentes. A telep 2010. és 2012. közötti létszámadatait a **7. táblázat** mutatja be.

7. táblázat. A tehenészetben tartott tehenek és szaporulat száma 2010. és 2012. között

ÁLLATCSOPORT	2010	2011	2012
Átlagos tehénlétszám	996	1.059	1.161
Itatásos borjúszám	193	191	193
Borjú (3–6 hó)	327	415	478
Növendéküsző (6 hó–1 év)	227	228	234
Tenyészüszők (1–2 év)	343	510	532
Előhasi üszők (>7 hó vehem felett)	106	111	124
Hízóbikák	281	283	522
Összesen	2.473	2.797	3.244

A telepen 2010-ben váratlanul és jelentősen megnövekedett a vetélések, valamint a borjak idő előtti selejtezésének és elhullásának száma. A kiváltó ok meghatározására többirányú laboratóriumi vizsgálatokat végeztek. Az állomány BVDV-fertőzöttségét 2011 nyarán sikerült kimutatni, amelynek oktani szerepét feltételeztük mind a klinikai tünetek megjelenésében, mind a termelési mutatók csökkenésében. Az állomány laboratóriumi vizsgálatokkal igazolt fertőzöttségét követően, 2011 őszén a vírus további intenzív állományon belüli terjedésének megakadályozására, a klinikai tünetek és a termelési mutatók romlásának mérséklésére megtörtént a teljes állomány BVD elleni vakcinázása (Bovilis® BVD, MSD-AH).

A termelési mutatókra vonatkozó adatgyűjtés és az ezekre alapuló gazdasági elemzés a 2010. január 1. és 2012. december 31. közötti időszakra vonatkozik. Így be tudjuk mutatni a BVD által nagy valószínűséggel érintett termelési mutatókat és azok változását a fertőzés heveny szakaszában (2010), a fertőzés állományon belüli megállapodásakor és az alapimmunizálás elvégzésekor (2011), valamint a betegség elleni vakcinás védekezés hatása alatt (2012). A vakcinázás költség-haszon elemzésének elvégzéséhez összehasonlítottuk a BVD járványkitörés által érintett termelési mutatókat (vetelés, borjak- és növendékek elhullása és idő előtti selejtezése) a vakcinázás előtti (2010) és az állomány protokollszerű BVD vakcinázása alatti (2012) évben. Az ezekben a mutatókban bekövetkezett javulást és ezáltal a gazdasági veszteségek csökkenését a BVD elleni

vakcinázás hozadékának, bevételének tekintettük, amit a vakcinázás költségével állítottunk szembe a gazdaságossági elemzés során.

A számítások során egy 7 napos borjú átlagos értéke – amit a vetélés által okozott veszteség számításánál használtunk – 20.000 Ft/állat, a 6 hónapos borjak átlagos felnevelési költsége 128.000 Ft/állat volt a telepen. A selejtezett borjakat és növendékeket átlagosan 6 hónapos korban selejtezték 205 kg súllyal és 420 Ft/kg felvásárlási árral. A borjak és növendékek elhullásánál a veszteséget a felnevelési költség adja, amit idő előtti selejtezésnél csökkent az állatok vágóértéke. 2012-ben a tehenészetben 4.300 BVD vakcinát vásároltak 783 Ft/db áron.

4. 2. 2. Eredmények

4. 2. 2. 1. A BVD által okozott, becsült gazdasági károk

A BVDV-fertőzöttség okozta, becsült gazdasági veszteségeket Magyarország teljes szarvasmarha-állományában, a 2012. évi átlagos magyarországi létszám, termelési és áradatak esetén az **8. táblázat** mutatja be. A BVD által okozott becsült összes veszteség egy évben átlagosan mintegy 1,25 milliárd Ft hazánkban. Ha a fertőződés mértéke nagyobb és a betegség hatásai súlyosabbak, akkor a veszteség több mint 2,1 milliárd Ft. Egy tehenre kivetítve évi 3.834 Ft (12,6 €) többletköltséggel számolhatunk.

8. táblázat. A BVD által okozott becsült veszteségek Magyarországon (ezer Ft/év)

Veszteségforrások	Kicsi*	Nagy*
Tejhozam-csökkenés	13.262	22.014
Vetélés	7.358	147.160
Tehenek elhullása	10.890	363.000
Tehenek idő előtti selejtezése	27.209	249.413
1 évesnél fiatalabb növendék v. borjú elhullása	335.000	1.340.000
Becsült összveszteség/állomány	393.719	2.121.677
Átlagos becsült összveszteség/állomány	1.257.698	
Becsült összveszteség/tehen (Ft)	1.200	6.469
Becsült összveszteség/tehen (Ft)	3.834	

*A veszteségek becslésénél a mentes állományok éves fertőződésének (30, ill. 50%), valamint a betegség hatásainak súlyosságától, vagyis a termelési mutatók minimális és maximális változásától (szélsőértékek) függően kicsi és nagy értékek számíthatók.

Egy ezer tehenet tartó telepen a heveny, klinikai tünetekben megnyilvánuló megbetegedés, valamint a fertőzött állományban kialakult BVD-MD esetén a becsült veszteségek nagyságát a **9. és 10. táblázat** mutatja be. A heveny, klinikai tünetekben megnyilvánuló BVD évente átlagosan több mint 46 millió Ft veszteséget okozhat. Ha a BVDV-fertőzés eddig megfigyelt legsúlyosabb hatásait vesszük figyelembe, akkor 81,5 millió Ft is lehet a kár nagysága. Idült fertőzés esetében a becsült évi veszteség 2,8 millió Ft, amely a fertőzés legsúlyosabb következményeit figyelembe véve, meghaladhatja a 4,6 millió Ft-ot.

9. táblázat. Heveny, klinikai tünetekben is megnyilvánuló BVD által okozott veszteségek ezer tehenet tartó telepen (Ft/év)

Veszteségforrások	Kicsi	Nagy
Tejhozamcsökkenés	2 695 574	
Vetélés	22 317	446 345
Tehenek elhullása	2 202 000	44 040 000
Tehenek idő előtti selejtezése	5 501 697	30 259 334
1 évesnél fiatalabb növendék v. borjú elhullása	1 049 000	4 196 000
Becsült összveszteség/állomány	11 470 588	81 637 253
Átlagos becsült összveszteség/állomány	46 553 920	

10. táblázat. BVD-MD betegség-komplex által okozott veszteségek ezer tehenet tartó telepen (Ft/év)

Veszteségforrások	Kicsi	Nagy
Vetélés	22.317	446.345
1 évesnél fiatalabb növendék v. borjú elhullása	1.049.000	4.196.000
Becsült összveszteség/állomány	1.071.317	4.642.345
Átlagos becsült összveszteség/állomány	2.856.831	

A bemutatott veszteségek nagysága valószínűleg jelentősen alábecsült a BVD valós kártételéhez képest, mivel a betegség számos hatását nagyon nehéz megbecsülni. Megfelelő adatok birtokában a betegség miatti immunszuppresszióból, szaporodásbiológiai zavarokból, egyéb szubklinikai hatásokból és a gyógykezelések költségéből származó veszteséget is számítani lehet. Az idült BVD is hátrányosan befolyásolja a termelési mutatók alakulását, ezért az idült BVDV-fertőzés visszaszorítása is hozzájárulhat tejtermelő telepeink jövedelmezőségének javításához (Szabára és Ózsvári, 2013; Szabára és Ózsvári, 2014).

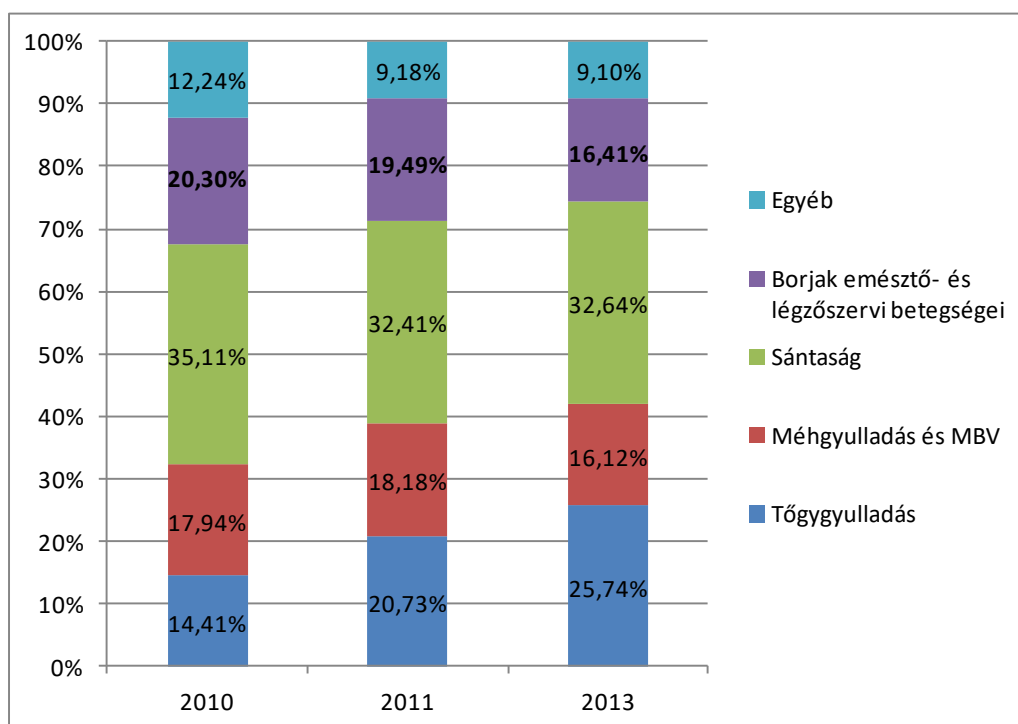
4. 2. 2. 2. A BVD termelésre gyakorolt hatásai és az ellene való védekezés gazdasági megtérülése

A szarvasmarha-állomány 2010. és 2012. közötti BVD által befolyásolt termelési és állat-egészségügyi jellemzőit a **11. táblázat** mutatja be.

11. táblázat. A tehenészet BVD által befolyásolt termelési és állat-egészségügyi mutatói 2010. és 2012. között

MUTATÓ	2010	2011	2012
Fajlagos tejtermelés (liter/tehen/év)	8.132	8.547	9.100
Élveszületett borjak száma (db)	973	1.067	1.143
Halvaszületett borjak száma (db) és aránya (%)	32 (3,18%)	38 (3,44%)	81 (6,62%)
Hydrocephalus-szal született borjak száma (db) és aránya (%)	6 (0,60%)	3 (0,27%)	0 (0%)
Tehénelhullások száma száma (db) és aránya (%)	9 (0,90%)	8 (0,76%)	8 (0,69%)
Vetélések száma (db) és és aránya (%)	45 (4,52%)	32 (3,02%)	18 (1,55%)
<i>Ebből bikaborjú (db)</i>	21	20	11
<i>Ebből üszőborjú (db)</i>	24	12	7
Itatásos borjúelhullások száma (db) és aránya (%)	70 (7,19%)	51 (4,78%)	43 (3,76%)
<i>Ebből bikaborjú (db)</i>	48	27	24
<i>Ebből üszőborjú (db)</i>	22	24	19
3–6 hónapos borjúelhullások és selejtezések száma (db) és aránya (%)	34 (3,49%)	16 (1,50%)	22 (1,92%)
<i>Ebből bikaborjú (db)</i>	21	9	10
<i>Ebből üszőborjú (db)</i>	13	7	12
7 hó–1 éves növendékek elhullásának és selejtezésének száma (db) és aránya (%)	23 (2,36%)	5 (0,47%)	6 (0,52%)
<i>Elhullás (db)</i>	3	2	1
<i>Idő előtti selejtezés (db)</i>	20	3	5
Összes kuratív borjú- és növendékkezelés száma (db) és aránya (%)	427 (57,16%)	429 (51,44%)	233 (25,75%)
<i>Légzőszervi kezelés (db)</i>	106	118	76
<i>Emésztőszervi kezelés (db)</i>	321	311	157
Összes antibiotikum költség (ezer Ft)	5.497	5 566 000	5 870 000

Az antibiotikum költség indikáció szerinti megoszlása a telepen a **10. ábrán** látható.



10. ábra. A tehenészet antibiotikum költségének megoszlása indikáció szerint 2010. és 2012. között

MBV: Magzatburok-visszatartás

A heveny BVD járványkitörés termelési mutatókra gyakorolt hatásai alapján elvégeztük a BVD vakcinázás költség-haszon elemzését is (**12. táblázat**).

12. táblázat. A BVD elleni vakcinázás gazdasági elemzése a vizsgált tehenészetben

MUTATÓ	Vakcinázás előtt (2010)	Vakcinázás után (2012)	Különbség
Vetelés költsége (Ft/állomány/év)	900 000	360 000	-540 000
Borjak és növendékek elhullásának költsége (Ft/állomány/év)	12 160 000	7 424 000	-4 736 000
Borjak és növendékek idő előtt selejtezésének költsége (Ft/állomány/év)	1 340 800	544 700	-796 100
Összes veszteség (Ft/állomány/év)	14 400 800	8 328 700	-6 072 100
Tehenenkénti veszteség (Ft/tehen/év)	14 459	7 174	-7 285
BVD vakcinázás költsége (Ft/állomány/év)	0	3 366 900	+3 366 900
BVD vakcinázás jövedelme (Ft/állomány/év)			+2 705 200
BVD vakcinázás jövedelme (Ft/tehen/év)			+2 330
Költség/haszon arány			1,80
Befektetés megtérülése (%)			80,35

4. 2. 3. Megbeszélés

A heveny BVD járványkitörést elszenvedő telep létszámadataiból látható, hogy a vizsgált gazdaságban 2010-től kezdődően az állomány bővítését hajtották végre, amely során vemhes üszöket vásároltak. Mivel korábban hosszú ideig az állomány zárt volt és BVDV előfordulására semmilyen tünet nem utalt, feltételezhetjük, hogy a telep mentes volt BVD-től. A vásárolt üszöket nem vizsgálták meg BVD-fertőzöttségre az állományba történő beállítás előtt, így nagy valószínűséggel velük hurcolták be a fertőzést, amely az intakt állományban heveny, súlyos klinikai tünetekkel és termelés-csökkenéssel járó BVD járványkitörést okozott.

A **11. táblázat** adataiból látható, hogy a 2010. évi BVD járványkitörés számos termelési és állat-egészségügyi mutatót jelentősen lerontott. A tehenek éves tejtermelése 2010-ben közel 1000 literrel volt kevesebb, mint 2012-ben. Ugyanakkor a tehenek tejtermelését számos egyéb termelési feltétel is nagymértékben befolyásolja (pl. takarmányozás, időjárás), ezért a járványkitörés okozta veszteségek számításánál ezt a paramétert nem vettük figyelembe.

A BVD igen kedvezőtlenül befolyásolja egy tehenészet szaporasági mutatóit, csökken a vemhességi, ellési arány, nő a vetélések, halvaszületések, fejlődési rendellenességgel (pl. hydrocephalus) született borjak száma (Houe, 1999; Ózsvári et al., 2001). Ezt részben tükrözik a telepi adatok is, mivel 2010-ben még 6 borjú (0,6%) született hydrocephalusszal, a vakcinázás után viszont már egy sem. Bár a borjúszületések száma jelentősen, több mint 15%-kal nőtt a 3 év alatt, de ez alapvetően a vásárolt üszőknek köszönhető, mivel a tehenenkénti éves élveszületések száma lényegében nem változott, a halvaszületések aránya pedig több mint kétszeresére nőtt (3,18% vs. 6,62%). Ugyanakkor a vakcinázás megkezdése után a vetélések aránya a tehenek körében 4,52%-ról 1,55%-ra csökkent, és a nemek aránya is megfordult: 2010-ben még többségben voltak az üszőborjak, 2012-ben azonban már a bikaborjak voltak túlsúlyban.

A heveny BVD fertőzés a tehenek elhullását is okozhatja (Gunn et al., 2004; Ózsvári et al., 2001), de a tehenészetben lényegesen nem csökkent 3 év alatt a tehénelhullások aránya (0,9%-ról 0,69%-ra csökkent). A gyenge szaporasági mutatók miatt számos tehenet selejtezték is a telepen, de arra vonatkozó adatok nem álltak rendelkezésre, hogy ezek közül mennyi volt BVDV-vel fertőzött, így a gazdasági elemzésnél ezt nem tudtuk figyelembe venni. Ugyanakkor az itatásos borjúelhullások számában jelentős csökkenést tapasztaltunk, a 2010. évi kiugróan nagy, 7,19%-ról 2012-re 3,76%-ra csökkent, gyakorlatilag megfeleződött. Hasonlóan nagymértékű csökkenés látható a 3–6 hónapos növendékek elhullásban (3,49% vs. 1,92%), valamint a 7–12 hónapos korú növendéküszők idő előtti selejtezésben és elhullásában (2,36% vs. 0,52%). Mivel minden eddigi kutatás szerint a BVD döntő szerepet játszik a borjak és növendékek elhullásában, valamint a fejlődésben történő

elmaradás miatti idő előtti selejtezésükben (Bennett és Mawhinney, 1999; Ózsvári et al., 2001, Szabára és Ózsvári, 2013; Szabára és Ózsvári, 2014), így a vizsgált tehenészetben a BVD által okozott gazdasági károk döntő része ebből ered.

Ahogy az elhullási adatokból is látható, a BVD jelentősen rontja az 1 év alatti borjak és növendékek egészségi állapotát, ami számottevően növeli a gyógyító jellegű, kuratív borjúkezelések számát és a gyógyítás költségét. A BVD elsősorban emésztőszervi tüneteket okoz (Chi et al., 2002), de erős immunszuppresszív hatása révén a szarvasmarhák légzőszervi tünetegyüttesének (BRDC) kialakulásban is szerepet játszik (Ózsvári és Búza, 2015; Ózsvári et al., 2012). A teljes állomány protokollszerű vakcinázása után, 2012-ben az emésztőszervi borjúkezelések száma megfeleződött, a légzőszerveké pedig mintegy 30%-kal csökkent 2010-hez képest. Ez megnyilvánult az összes telepi antibiotikum költségen belül a borjak emésztő- és légzőszervi betegségeire fordított kiadásainak enyhén csökkenő arányában is (20,30%-ról 16,41%-ra; **10. ábra**), de ez a korábbi hazai tejelő szarvasmarha telepi felmérések, átlagosan 4,1%-os részesedéséhez képest kiemelkedően nagy. Mivel a telepen felhasznált antibiotikumok összes költsége 2010-hez képest még kismértékben nőtt is, így a borjak kezelésére fordított antibiotikum költség végeredményben nem csökkent (Ózsvári et al., 2015).

A BVD elleni vakcinázás gazdasági elemzése azt mutatta, hogy a heveny BVD járványkitörés tehenenként évi 7.285 Ft veszteséget okozott, ami kevesebb a becsült 46,5 ezer Ft-os veszteségnél (Szabára és Ózsvári, 2013), de nem tartalmazza a tejhozam-csökkenésből, a tehének elhullásából és a vetélésen kívüli szaporasági zavarokból származó veszteséget, így nagy valószínűséggel alábecsült a BVD valós kártételéhez képest. Ugyanakkor a károk jelzik a betegség elleni védekezés esetén elérhető többletbevétel nagyságát, ami a kiindulási pontja a BVD elleni vakcinázás költség-haszon elemzésének (**12. táblázat**).

A vakcinázás gazdasági elemzése azt mutatta, hogy a telepen 2012-ben több mint 2,7 millió Ft-os jövedelem keletkezett, ami tehenenként 2,3 ezer Ft-ot jelentett. A vakcinázás, mint befektetés költség-haszon aránya 1,8 volt (vagyis minden befektetett forintra 1,8 Ft bevétel, azaz 0,8 Ft haszon jutott), megtérülése pedig 80,35%, amely hozam jóval magasabb a jelenlegi pénzügyi befektetési lehetőségeknél. A bemutatott számítás eredményei alátámasztják, hogy a BVD elleni vakcinázás alkalmazása az adott tejelő szarvasmarha állományban megtérült.

4. 2. 3. 1. Következtetések, javaslatok

Mentes állomány BVD vírussal történő fertőződése esetén az állatok a heveny betegség különböző formáinak tüneteit mutathatják: hasmenés, átmeneti légzőszervi betegség,

szaporasági zavarok (pl. vetélés, fejlődési rendellenességek), a borjak gyenge fejlődése, elhullása. Ilyen tünetek, különösen a vetélés (Szabára et al., 2014) és a légzőszervi betegségek (Ózsvári et al., 2012; Ózsvári és Búza, 2015) megjelenésekor mindig gondolni kell a BVD-re és meg kell kezdeni az állomány laboratóriumi szűrővizsgálatát, amire a megfelelő diagnosztikai módszereinek és eszközeinek rendelkezésre állnak (Majer et al., 2014; Szabára et al., 2014).

A bemutatott eset és a korábbi tanulmányok (Ózsvári et al., 2001; Ózsvári et al., 2015; Szabára és Ózsvári, 2013) eredményei is azt mutatják, hogy egy szarvasmarha állomány BVDV fertőzöttsége jelentős gazdasági kárt okoz. Különösen veszélyeztetettek a BVD-től mentes állományok, amelyek nem teljesen zártak (történik élőállat-bevitel, legeltetnek), ugyanakkor a járványvédelmi megelőző intézkedéseket nem tudják maradéktalanul végrehajtani. Mivel a mentes állományok fertőződésének éves kockázata 30–50% közöttinek tekinthető (Szabára és Ózsvári, 2014), így 3 éven belül nagy valószínűséggel lehet heveny, klinikai BVD előfordulásával számolni, ami jóval nagyobb gazdasági veszteséget okoz, mint az idült, szubklinikai fertőzés, bár az általa okozott becsült átlagos éves veszteség is 2,9 ezer Ft tehemenként (Ózsvári et al., 2001; Szabára és Ózsvári, 2013). Ezért javasoljuk, hogy a hazai telepek fokozott figyelmet fordítsanak a járványvédelemre. Ahol ez valamilyen ok miatt nem valósítható meg, ott gazdaságilag megtérülő alternatíva lehet a vakcinázás, amit 2013-ban csak a magyarországi szarvasmarha állományok 25%-ában folytattak (Ózsvári és Búza, 2015). Amennyiben az állomány fertőződése a vad BVD vírussal bizonyítottan megtörtént, akkor a gazdasági károk vakcinázással megelőzhetőek, de az állomány vírustól történő mentesítéséhez a PI-állatok azonosítása és kiemelése elengedhetetlen (Szabára et al., 2013; Szabára és Ózsvári, 2013).

4. 3. Heveny BVD járványkitörés hatásaként kialakuló immunszuppresszió klinikai megjelenése heveny szarvasmarha anaplasmosisban

4. 3. 1. Anyag és módszer

4. 3. 1. 1. Az állomány BVDV-epidemiológiai helyzete és diagnosztikája

A BVD-fertőzöttség megállapítására és a vírus terjedésének meghatározására irányuló vizsgálatainkat egy, a dél-alföldi régióban található, 800 tehénlétszámú és megközelítőleg 1.600 öszlétszámú (800 tehén, 600 növendék és vemhes üsző, 200 vegyes ivarú borjú), nagyobbrészt 95% feletti holstein-fríz vérhányadú és 50, 12–25% vérhányadban Jersey-vel keresztezett állatból álló tejelő tehenészetben végeztük 2013. február és 2014. január között. Az állomány a vérvizsgálatok alapján legalább 2002 óta BVD-mentes, amelyet a folyamatos BVD kimutatásra irányuló szerológiai, ill. vírus-, vírusantigén-, vírusnukleinsav-kimutatásra

irányuló laboratóriumi vizsgálatok negatív eredményei igazolnak. 2012 nyarán az immunkompetens, fogékony vemhes üszők egy része legeltetés során BVDV-vel fertőződött. A fertőzöttséget részben szerológiai, részben víruskimutatást célzó vizsgálattal állapította meg a NÉBIH ÁDI Virologiai osztálya.

A fertőzöttség mértékének felderítése céljából 2013. február és április hónap között BVD-re irányuló szerológiai vizsgálatok (vírusneutralizáció) történtek. Márciusban az 5–6 hónapos korcsoportban 38 állat szerológiai vizsgálata történt meg. Áprilisban a tájékoztató vizsgálatokat kibővítettük egyéb korcsoportokra, a 1,5 hónapos „ketreces” borjak közül 5, a borjúnevelőben tartott 4 hónapos borjakból 5, a 3–6 éves fejős tehének közül 10, a 20–22 hónapos vemhes üszők közül 5 és a 8–11 hónapos növendék üszők közül szintén 5 állat reprezentatív szerológiai vizsgálatát végeztük el.

A szerológiai vizsgálatok eredménye alapján a BVDV kimutatására és a PI-egyedek meghatározására irányuló teljes állományvizsgálatot kezdtünk el. Júniusban 1.494 állat vérmintájának qRT-PCR vizsgálata történt meg, amely során a mintákat harmincasával „pooloztuk”. Júliusban 99, augusztusban 76 és szeptemberben további 53 borjú vérmintájának qRT-PCR vizsgálata során 10 mintánként történt a poolozás. Végül szeptemberben először 84, majd 30, októberben 40 és 14 állat fülporcmintájából történt qRT-PCR vizsgálat, amely során 5 minta poolozása történt. Minden pozitív pool esetében egyedi azonosítás történt. Az RT-PCR vizsgálattal pozitív pool-ok esetében, az állományban az ismételt vizsgálat időpontjában jelen lévő egyedeket egyenként 3 hét múlva VN-próbával vizsgáltuk, majd annak negatív vagy kis ellenanyag titerű eredménye esetén ag-ELISA vizsgálatot végeztünk, a perzisztensen és a tranziensen fertőzött egyedek megkülönböztetése céljából. Az állományban a BVD-fertőzöttség terjedésének felmérése céljából szeptemberben 10, 14–15 hónapos növendékű és 20 tehén, valamint októberben 60 tehén szerológiai vizsgálatát végeztük el. A vizsgált időszakban történt 8 vetélés és 1 holtellés laboratóriumi vizsgálata is megtörtént.

4. 3. 1. 1. 1. Diagnosztikai vizsgálatok

A vírusneutralizációs vizsgálat során alkalmazott vírustörzs a BVDV 1 NADL CPE törzs (származási hely: EU referencia laboratórium, Hannover) volt. A vírus nukleinsavának kimutatása qRT-PCR-rel, a vírus antigénjének meghatározása BVDV Antigen Test Kit/SerumPlus-szal (IDEXX Laboratories, Inc., Liebfeld-Bern, Switzerland) történt szintén a hazai referencia laboratóriumban. A helyszínen minden újonnan született borjú fülporcmintájából BVDV Ag Point-of-Care (POC) Testtel (IDEXX Laboratories, Inc., Liebfeld-Bern, Switzerland) a telepet ellátó állatorvos vizsgálatot végez 2013 októbere óta a PI-egyedek kiszűrése céljából (**11. ábra**).



11. ábra. Ag-ELISA alapú telepi gyorsteszt pozitív és negatív eredménye

4. 3. 1. 1. 2. Az állomány vakcinázása

A vírusürítés csökkentése és a BVDV állományon belüli további intenzív terjedésének, valamint a magzati fertőződés megakadályozása céljából 2013 októberében és 4 hét múlva megtörtént a teljes állomány alapimmunizálása inaktivált vakcinával (Bovilis® BVD, MSD-AH)

4. 3. 1. 2. Az állomány *A. marginale*-epidemiológiai helyzete

Az 1. oltást követő 5–6. héten 33 tehénél (3 vemhes, 7 szárazonálló, 23 laktáló) tapasztaltunk lázat ($39,5\text{--}41\text{ }^{\circ}\text{C}$), bágyadságot, elesettséget, étvágytalanságot, hirtelen tejtermelés-csökkenést, majd anaemiát és icterust, mozgatáskor szapora légzést, ill. néhány esetben hirtelen elhullást. A beteg egyedek közül 18 állat oxytetracyclin (OTC) (30 mg/ttkg) kezelésre klinikailag gyógyult. Továbbá az első oltást követő 7. héten 7 vetélés és 3 koraellés történt. Az ismételt vakcinázást követően 4 tejelő tehénél jelentkeztek az anaplasmosisra jellemző klinikai tünetek, amelyek OTC kezelésre gyógyultak, ezen kívül volt két koraellés. A tüneteket mutató állatok vérmintájából hematológiai-, biokémiai-, heamocytológiai (Giemsa)-, EM- és PCR-, az elhullott állatokból necropsziás- és toxikológiai-vizsgálat történt. Az *A. marginale* fertőzöttség megállapítását követően az állomány érintettségének felmérése céljából 2014 februárjában, az általunk beválasztott korcsoportokból és általunk meghatározott számú egyedből *A. marginale* elleni ellenanyagok kimutatására irányuló indirekt ELISA-vizsgálatot végeztünk klinikai tüneteket nem mutató egyedekből. A vizsgálatba bevont korosztályokat és egyedszámokat előzetes szakirodalmi forrás alapján határoztuk meg, a vizsgálni kívánt állomány nagyságára adaptálva (Nair et al., 2013). A kolosztrum itatását megelőzően, a 0 napos egyedek közül nyolc, a kolosztrum

itatását követően, a 3 napos egyedek közül hét, a 3 hónapos korcsoportból tizenöt, a 4 hónaposból öt, az 5 hónaposból öt, a 6 hónaposból hét, a 7 hónaposból nyolc, a 9–12 hónaposból tizenöt, az 1–2 évesből tíz, a 2–3 évesből tíz, a 3–4 évesből tizenöt és a 4 évnél idősebb korcsoportból harmincnegyzet egyed indirekt ELISA vizsgálata történt meg. Pozitív kontrollként a szerológiai vizsgálatba beválogattunk egy 2 éves és két 3 évnél idősebb egyed, amelyek 4–5 hónappal a vizsgálatot megelőzően mutattak heveny anaplasmosisra jellemző klinikai tüneteket és Giemsa-festéssel a vérkenetükből kimutattuk a kórokozót. A szerológiai felmérés időpontjában nem volt anaplasmosis klinikai jeleit mutató szarvasmarha az állományban.

A szerológiai vizsgálathoz szükséges vérmintákat a *v. coccygea*-ból vettük a szakma szabályainak megfelelően. A laboratóriumi mérésekhez a vért alvadásban nem gátolt, natív vérvételi csőbe gyűjtöttük. Az véralvadás és a centrifugálás (3000 rpm, 5 perc) után nyert szérumból 24 órán belül végeztük el a meghatározást.

Az *A. marginale* ellen termelt ellenanyagokat Svanovir *A. marginale*-Ab ELISA (Boehringer Ingelheim Svanova, Uppsala, Sweden) teszt kittel határoztuk meg a gyártó által megadott használati utasításnak megfelelően.

A statisztikai értékeléshez az általunk meghatározott korosztályokból két fő korcsoportot hoztunk létre: (1) 3 évnél fiatalabbak és (2) 3 éves és annál idősebbek. A statisztikai elemzés során Fisher-féle egzakt próbát alkalmaztunk.

4. 3. 2. Eredmények

4. 3. 2. 1. Az állomány BVDV-epidemiológiai helyzete

A könnyebb áttekinthetőség érdekében BVD-fertőzöttség felmérésére irányuló laboratóriumi vizsgálati eredményeinket táblázat formájában ismertetjük (**13. táblázat**). A táblázat tartalmazza az elvégzett vizsgálatok időpontját, a megvizsgált állatok számát és jellemzőjét (korcsoport, ismételt vizsgálat), a megrendelő által kért vizsgálati módszert, qRT-PCR esetén pedig azt is, hogy mennyi mintát vizsgáltak (pooloztak) egyszerre, a vizsgálat során milyen mintát dolgoztak fel és a vizsgálat eredményét.

13. táblázat. A NÉBIH ÁDI által vizsgált minták és azok eredményei

Vizsgálat időpontja	Egyedszám	Korcsoport/ egyed	Módszer (PCR esetén pool)	Minta	Eredmények	
					Pozitív (db) (VN esetén titer)	Negatív (db)
márc. 1.	38	5–6 hó	VN	vér	37	1
márc. 21. (ism.)	38	5–6 hó	VN	vér	37 ($\Sigma > 1:80$)	1
márc. 22.	1	VN-negatív egyed	ag-ELISA	vér	0	1
márc. 26.	1	VN-negatív egyed anyja	VN	vér	0	1
	1	gyenge borjú	VN ag-ELISA	vér vér	1 (1:20) 0	0 1
	1	gyenge borjú anyja	VN	vér	0	1
ápr. 12.	5	1,5 hó (ketreces)	VN	vér	1	4
	5	4 hó (borjúnevelő)	VN	vér	5	0
	10	3–6 év (fejőstehén)	VN	vér	1	9
	5	20–22 hó (vemhes üsző)	VN	vér	1	4
	10	8–11 hó (növendék üsző)	VN	vér	0	10
jún. 14.	782	állományvizsgálat	PCR (30)	vér	0	782
jún. 18.	526	állományvizsgálat	PCR (30)	vér	0	526
jún. 24.	186	állományvizsgálat	PCR (30)	vér	0	186
júl. 16.	99	borjú	PCR (10)	vér	7	92
aug. 24.	1	PCR-pozitív borjú	ag-ELISA	vér	1 (PI)	0
			VN	vér	0	1
aug. 24.	76	borjú	PCR (10)	vér	10	66
szept. 13.	1	PCR-pozitív borjú	VN	vér	0	1
			ag-ELISA	vér	0	1
	1	PCR-pozitív borjú	VN	vér	1 (1:1280)	0
	1	PCR-pozitív borjú	VN	vér	1 (1:1280)	0
	1	PCR-pozitív borjú	VN	vér	1 (1:10)	0
			ag-ELISA	vér	0	1
1	PCR-pozitív borjú	VN	vér	1 (1:10)	0	
ag-ELISA	vér	0	1			
szept. 13	53	borjú	PCR (10)	vér	minden pool	0
szept. 20.	84	53 (ism.) + 31 borjú	PCR (5)	fülporc	24	60
okt. 7.	24	PCR-pozitív borjú	VN	vér	13 (5 állat < 1:80)	11
okt. 7.	16	VN-negatív és VN alacsony titer borjak	ag-ELISA	vér	6 (PI)	10
szept. 30.	30	borjú	PCR (5)	fülporc	4	26
okt. 25.	1	PCR-pozitív borjú	VN	vér	1	0
	1	PCR-pozitív borjú	VN	vér	1	0
	1	PCR-pozitív borjú	VN	vér	0	1
			ag-ELISA	vér	0	1
	1	PCR-pozitív borjú	VN	vér	0	1
ag-ELISA	vér	1 (PI)	0			
okt. 7.	40	borjú	PCR (5)	fülporc	2	38
okt. 25.	1	PCR-pozitív borjú	VN	vér	1	0
	1	PCR-pozitív borjú	VN ag-ELISA	vér vér	0 1 (PI)	1 0
okt. 12.	14	borjú	PCR (5)	fülporc	0	14
szept. 30.	10	14–15 hó	VN	vér	0	10
	20	tehén	VN	vér	15	5
okt. 12.	60	tehén	VN	vér	28	32

A tavaszi (március, április) és őszi (október) szerológiai felmérés eredményei szerint a szeropozitivitás 10%-ról 40–45%-ra nőtt. A laboratóriumi vizsgálatok során összesen 9 PI-egyedet azonosítottunk, amelyeket az állományból eltávolítottunk (12. és 13. ábra).



12. ábra. 1 hónapos PI (jobb oldal)- és egészséges borjú (bal oldal)



13. ábra. 1,5 hónapos PI-borjú és vele azonos korú egészséges borjak

A telepen használt gyorseszteszt segítségével 2013. okt. és nov. hónapban 3 PI-borjat azonosítottunk és távolítottunk el az állományból (14. táblázat).

14. táblázat. A telepen elvégzett telepi gyorsteszt-vizsgálatok és eredményei

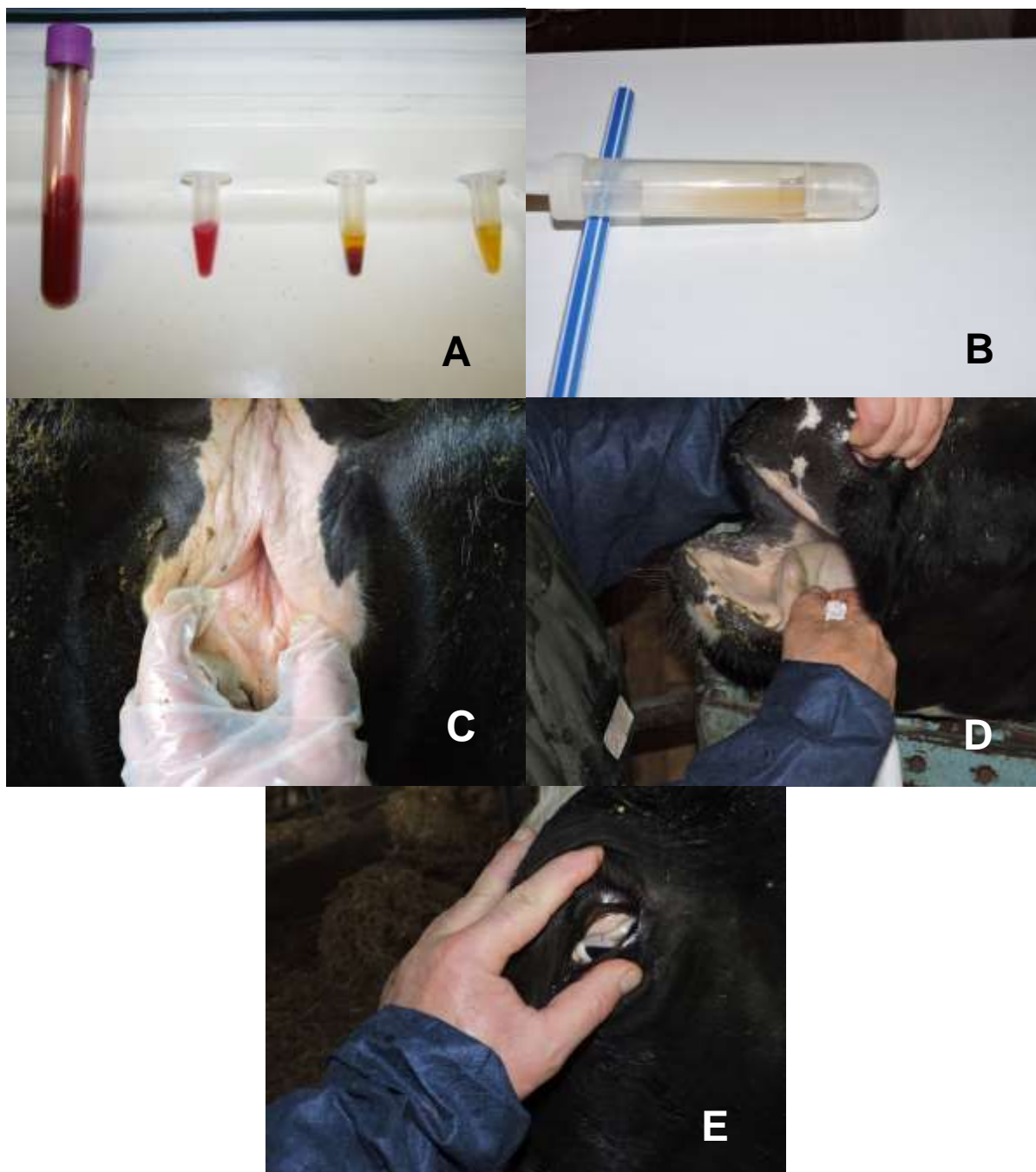
Vizsgálat időpontja	Egyedszám	Eredmények	
		Pozitív (db)	Negatív (db)
2013. okt. 30.	37	0	37
2013. okt. 31.	5	0	5
2013. nov. 9.	26	0	26
2013. nov. 14.	12	0	12
2013. nov. 28.	30	1 (PI)	29
2013. nov. 29.	16	1 (PI)	15
2013. dec. 12.	15	1 (PI)	14
2013. dec. 19.	15	0	15
2014. jan. 2.	20	0	20
2014. jan. 9.	3	0	3
2014. jan. 16.	11	0	11
2014. jan. 23.	7	0	7
2014. jan. 29.	10	0	10

Az 1. BVDV elleni vakcinázást követő 280. nap körül összesen 6 további PI-borjú született az állományban. A vizsgált időszak alatt történt 8 vetelésből 7 esetben volt az anyaállat BVD-re nézve szeropozitív (1. 1:320, 2. nem történt titer-meghatározás, 3. 1:1280, 4. 1:210, 5. 1:450, 6. és 7. nem történt titer-meghatározás), 1 esetben pedig szeronegatív. A vetélt, szeronegatív tehén ag-ELISA-vizsgálata szintén negatív eredményű volt. Az 1 holtellés esetén az anyaállat szeronegatív volt. A vetélések és a holtellés esetében a magzatok szerveinek és az anyaállat vérmintáinak laboratóriumi vizsgálatával a brucellosis, az EBL, az IBR, a *Listeria monocytogenes* és a Schmallerberg vírus (SBV) oktani szerepét kizárták.

4. 3. 2. 2. Az állomány *A. marginale*-epidemiológiai helyzete

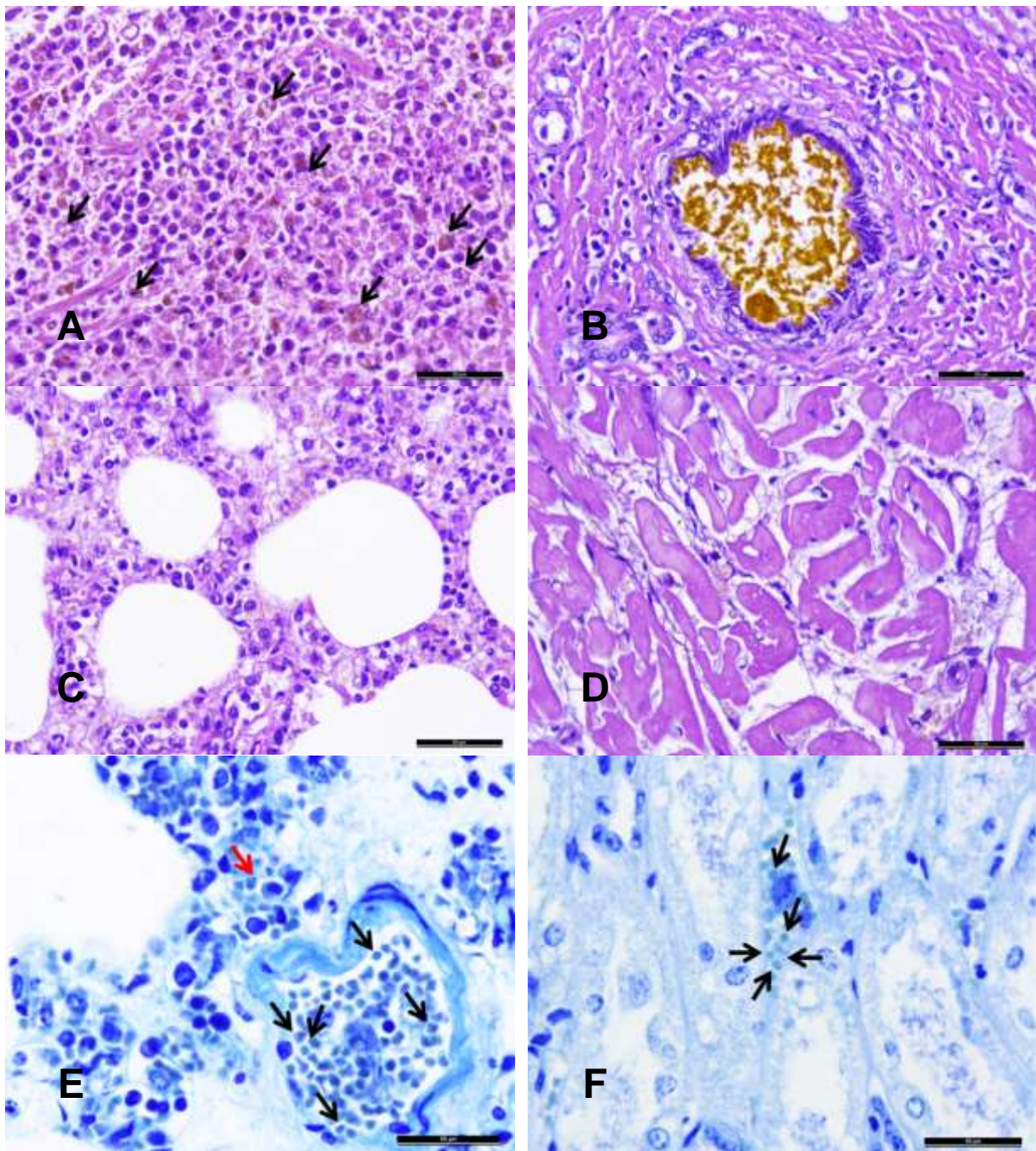
A BVDV elleni vakcinázást követő időszakban történt vetélések és a holtellés esetében a magzatok szerveinek és az anyaállat vérmintáinak laboratóriumi vizsgálatával a brucellosis, az EBL vírusa, az IBR vírusa, a BVDV, a *Listeria monocytogenes* és az SBV oktani szerepét kizártuk. A máj toxikológiai vizsgálata (réz atomabszorpciós spektrometria, L-AAS A.M.H.) pedig kizárta a rézmérgezést.

A heveny anaplasmosis tüneteit mutató állatok vérmintáinak haematológiai- és biokémiai értékei hasonló módon alakultak: jelentős csökkenést mutatott a vörösvérsejtszám, a haematokritérték, a haemoglobin-koncentráció és a vércukorszint. Emellett megfigyelhető volt egy enyhefokú hypoalbuminaemia, ill. az AST, az ALT, a GGT, az ALKP, a totál és a direkt bilirubin, a CK, valamint az LDH közepes-nagyfokú emelkedése. A vizeletmintákban haematuria jelei nem figyelhetők meg. A necropsziás vizsgálat során elsősorban anaemiát és icterust tapasztaltunk (14. ábra).



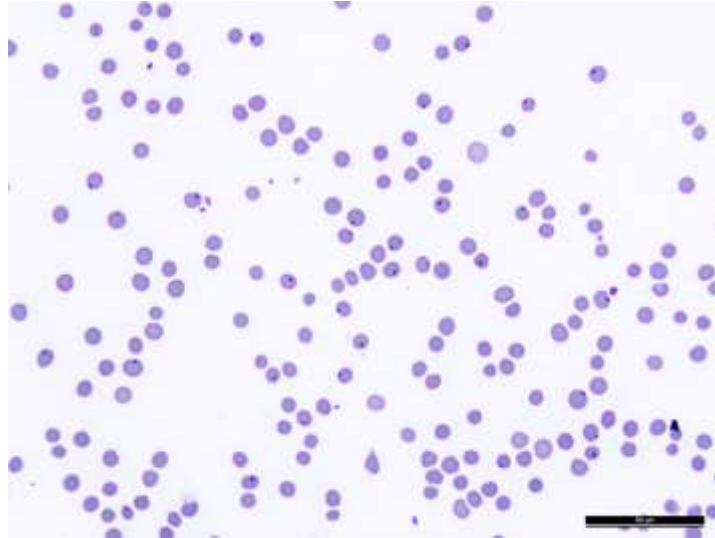
14. ábra. Heveny anaplasmosis során kialakult anaemia és icterus, haemoglobinaemia és haemoglobinuria jelei nélkül. **A.** Heveny anaplasmosis tüneteit mutató szarvasmarha vér- és szérummintája icterus jelei nélkül. **B.** Heveny anaplasmosis tüneteit mutató szarvasmarha vizeletmintája haematuria jelei nélkül. **C.** Sápadság és sárgaság jeleit mutató hüvelynyálkahártya. **D.** Sápadt, enyhén icterus jeleit mutató szájnyálkahártya. **E.** Vérszegénység jeleit mutató kötőhártya.

A kórszövettani vizsgálat során a májban parenchyma-elhalásokkal, nagycseppes zsíros elfajulással és bilirubin-retenció jeleivel kísért heveny-félheveny májdystrophia, a vesékben heveny tubulushám degeneratio/necrosis, valamint a szívben lympho-histiocytás beszűrődéssel kísért heveny serosus epicarditis jeleit figyeltük meg (**15. ábra**).



15. ábra. *A. marginale* fertőzés során tapasztalt kórszövettani elváltozások. **A.** Reaktív splenitis (H.-E., 400x, Bar = 50 µm). Plasmasejt-proliferáció, erythrocytaphagocytosis, siderocytosis kórszövettani jelei (nyilak). **B.** Intaductalis cholestasis és enyhe fokú portális (periductalis) mononuclearis beszűrődés (H.-E., 400x, Bar = 50 µm). **C.** Interstitialis pneumonia (H.-E., 400x, Bar = 50 µm). **D.** Multifocalis myodegeneráció szívizomban (H.-E., 400x, Bar = 50 µm). **E.** Interstitialis pneumonia (Giemsa-festés, 630x, Bar = 50 µm). Kitágult intrapulmonalis véna parazitával fertőzött vörösvérsejtekkel (fekete nyíl) és kitágult alveolaris kapilláris a parazitával fertőzött vörösvérsejtekkel (piros nyíl). **F.** Szarvasmarha vese (Giemsa-festés, 630x, Bar = 50 µm). Intratubularis erekben parazitával fertőzött vörösvérsejtek.

A klinikai tüneteket mutató állatokból származó vérkenetek Giemsa-festést követő fénymikroszkópos vizsgálata során anaplasmosisra utaló fertőzöttséget tapasztaltunk (**16. ábra**).



16. ábra. Haemocytológiai felvétel heveny anaplasmosis tüneteit mutató szarvasmarha perifériás vérmintájából. Giemsa-festés, 630x, Bar=50µm

A vérminták PCR vizsgálata, valamint a szekvenálás alapján *A. marginale* DNS-t azonosítottak a SZIE ÁOTK Parazitológiai és Állattani Tanszékén. Az anaplasmosis jeleit mutató állatokból származó további vérminták EM-os vizsgálatát, valamint a vérkenetek Giemsa-festését követő vizsgálatát a SZIE ÁOTK Patológiai Tanszékén végeztük, ahol mindkét módszerrel igazoltuk a vörösvérsejtek nagymértékű *A. marginale* fertőzöttségét.

4. 3. 2. 3. Az *A. marginale* szeroprevalenciája

Az állomány *Anaplasma*-fertőzöttségének felmérése céljából végzett competitive ELISA vizsgálat eredménye alapján egyértelműen megállapítható, hogy a kórokozó endémiásan jelen van az állományban. A statisztikai elemzésbe, az adatok torzításának elkerülése érdekében, nem került bele a 0 és a 3 napos korcsoport. A születés körüli időben azt tapasztaltuk, hogy a 0 napos egyedek közül, még a kolosztrum itatását megelőzően minden egyed szeronegatív volt, viszont ugyanazokat a borjakat vizsgálva a kolosztrum itatását követő 3. napon, már volt szeropozitív borjú. A statisztikai vizsgálatba bevont 128 egyed a teljes állomány 8%-a. A rétegzett mintavételt követően a korcsoportok szeropozitivitását vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a 3 évesnél idősebb szarvasmarhák nagyjából 50%-a, a fiatalabb korcsoportok 10–30%-a volt szeropozitív (**15. táblázat**).

15. táblázat. Az A. marginale fertőzöttség felmérése során kapott indirekt ELISA-vizsgálat szeropozitivitási eredményei

Korcsoport	Mintaszám (db)	Pozitív (db)
0 nap (kolosztrum itatás előtt)	8	0
3 nap	7	2
3 hónap	15	3
4 hónap	5	0
5 hónap	5	0
6 hónap	7	1
7 hónap	8	0
9-12 hónap	15	3
1-2 év	10	1
2-3 év	10	1
3-4 év	15	7
>4 év	38	19

A statisztikai elemzés során alkalmazott Fisher-féle egzakt próba eredménye alapján a fertőzés prevalenciája a 3 évesnél fiatalabb szarvasmarhák között 12% (apparent prevalence, AP: $9/(9+66)=0,12$). A fertőzés prevalenciája a 3 éves és annál idősebb egyedek körében 49% (AP: $26/(26+27)=0,49$) (**16. táblázat**). A Fisher-féle egzakt próba a 3 éves és annál idősebb korcsoport, valamint a 3 évnél fiatalabb korosztály között szignifikáns eltérést mutatott ($p<0,0001$).

16. táblázat. A Fisher-féle egzakt próba során alkalmazott 2x2-es kontingencia-táblázat (kiemelt terület)

	Fertőzött	Nem fertőzött	Összesen
3 évnél fiatalabb	9	66	75
3 évnél idősebb	26	27	53
Összesen	35	93	128

A fertőzés esélye a hároméves és annál idősebb szarvasmarhák körében a 3 évesnél fiatalabbakhoz képest majdnem hétszeres (OR=6,94; 95%CI: 2,73–19,19) Ez azt jelenti, hogy amennyiben az idősebb korosztályból egyetlen állatot véletlenszerűen kiválasztunk, az hétszer nagyobb eséllyel szeropozitív, a fiatalabb korcsoport egy véletlenszerűen kiválasztott egyedéhez képest.

4. 3. 3. Megbeszélés

4. 3. 3. 1. Az állomány BVD vírusával történő fertőződése legeltetés során

A BVD-vírus átvitelében állományon belül, ill. állományok között a tranziensen, ill. perzisztensen fertőzött állatok, valamint PI-magzattal vemhes anyák mellett kiemelt jelentősége van a ragályfogó tárgyakkal, a iatrogén terjedésnek, valamint *legeltetés során a vírushordozó kiskérődzőkkel, vadon élő kérődzőkkel vagy tevéfélékkel történő érintkezésnek* (Belknap et al., 2000; Carman et al., 2005; Vilcek és Nettleton, 2006). A BVD-vel szembeni védekezést megnehezítheti, hogy a BVDV jelenlegi ismereteink szerint nem szigorúan fajspecifikus kórokozó. A szerológiai vizsgálatok szerint szarvasmarha mellett a vírussal szemben termelt ellenanyag kimutatható egyéb háziasított és vadon élő kérődzőfajokból (Becher et al., 1997; Doyle és Heuschele, 1983; van Campen et al., 2001), valamint számos állatfajban kimutattak perzisztens fertőzést (Carman et al., 2005; Kulcsár et al., 2001; Mishra et al., 2007; Nelson et al., 2008; Passler et al., 2010; Scherer, 2001; Terpstra és Wensvoort, 1997; Uttenthal et al., 2005; Vilcek et al., 2000).

Klinikai esettanulmányunkban a szarvasmarha-állomány a legeltetést követően vált BVD szempontjából szeropozitívvá, ezért valószínű, hogy a közelben legelő *juhnyájjal* – amely azóta felszámolás alá került – vagy *vadon élő kérődzővel történt közvetlen érintkezés* során került a vírus az állományba.

Perzisztens fertőzöttség esetén a vírus olyan nagy titerben (10^6 – 10^7 /ml) van jelen az állat szervezetében, hogy képes a hámszövetben multiplikálódni (Fulton et al., 2009; Paton et al., 1997). A hámszövetben a maternális ellenanyagok nincsenek jelen, vagyis a hámszövet megfelelő módszerrel történő vizsgálata során a kórjelzés egyértelmű. Ennek gyakorlati jelentősége, hogy a könnyen hozzáférhető *fülporc vizsgálati mintaként szolgálhat* akár *qRT-PCR-vizsgálat, intézeti ag-ELISA-próba*, akár a már hazánkban is elérhető, *a helyszínen elvégezhető POC ag-ELISA gyorseszteszt számára*. Ezáltal az újonnan született borjú BVDV-fertőzöttségéről még az állományba történő helyezése előtt információhoz juthat a megrendelő, ill. a telepet ellátó állatorvos.

A PI-egyedek felismerésének szerológiai vizsgálaton alapuló módszere is elterjedt. Ebben az esetben, az állomány vakcinázását követően, minden egyedre kiterjedő szerológiai vizsgálatot kell végezni. Annál az egyednél merül fel egyértelműen a perzisztens fertőzöttség lehetősége, amelyik a vakcinázást követően szeronegatív maradt, mivel az immuntoleráns állapota miatt nem hangolódik át. Az így kiszűrt egyed vérmintájából 3 hét múlva ismételt szerológiai, esetleg víruskimutatást célzó vizsgálatot kell végezni. Abban az esetben, ha az egyed továbbra is szeronegatív, ugyanakkor vírushordozó, perzisztensen fertőzöttnek kell tekinteni. A vakcinázást egy adott terület vagy telep mentesítési folyamatának utolsó szakaszában szabad csak elhagyni, amikor a területen, az állományban PI-egyed már

biztosan nem fordul elő, csak szeropozitív anya található és PI-magzatot hordozó tehen jelenléte kizárható. A külföldi példák alapján ebben a mentesítési szakaszban már az elegytej minta szerológiai vagy qRT-PCR vizsgálata költséghatékony és informatív az állomány aktív vírusstátuszára nézve.

A vakcinázás elhagyását követően a járvány megelőző intézkedések szigorú betartása szükséges a terület, az állomány újrafertőződésének nagy kockázata miatt. A vakcinázás elhagyásával az ellenanyag szint átlaga fokozatosan csökken, ami az elegytej vizsgálatával könnyen nyomon követhető és egy esetleges ellenanyag szint-növekedés azonnal jelzi az újrafertőződés tényét. Döntő jelentőségű az az idő, ami a vírusürítő állat megjelenése és a vakcinázás újbóli megkezdése között eltelik. Minél hosszabb ez az idő, annál több fogékony állat válik ismételten fertőzötté, köztük esetlegesen vemhes tehenek is. *Korábbi hazai tapasztalat az is, hogy vakcinázás nélkül csak két különálló teleppel rendelkező nagyüzemi gazdaságnál érdemes mentesítésbe kezdeni*, ahol a fogadó telepre az említett diagnosztikai próbák egyikével megszürt vírus-negatív borjak kerülnek, elkerülve a vírusürítő idősebb állatok által okozott BVDV-fertőzést (Majer et al., 2014).

4. 3. 3. 2. *A. marginale* okozta járványkitörés és a szarvasmarha anaplasmosis diagnosztikája

A szarvasmarha anaplasmosist okozó, gram-negatív baktériumok közé tartozó *A. marginale* a *Rickettsiales* rend *Anaplasmataceae* család tagja. Az *Anaplasma* nemzetség ízeltlábú vektor közvetítette obligát sejtparazita, amelyek közül az *A. marginale* elsősorban a kérődzők vörösvérsejtjének kórokozója (Rymaszewska és Grenda, 2008). Szarvasmarha mellett a kórokozó oktani szerepét leírták már számos házi és vadon élő kérődzőben, például juhban, kecskében, vízibivalyban (*Bubalus bubalis*), amerikai bölényben (*Bison bison*), különböző antilopfajtákban, fehérfarkú szarvasban (*Odocoileus virginianus*), valamint öszvérszarvasban (*Odocoileus hemionus*) (Kocan et al., 2003). A szarvasmarha anaplasmosis elsősorban a trópusi és a szubtrópusi régióban van jelen és okoz jelentős gazdasági károkat, viszont mind több esetben számolnak be ezen kívüli területeken is, beleértve Magyarországot is, az *Anaplasma* jelenlétéről és terjedéséről (Hornok et al., 2007; Kocan et al., 2010).

Az *A. marginale* lappangási ideje a fertőzöttség fokától függően széles határok között mozog, megközelítőleg 7–60, átlagosan 28 nap. A fertőzés a mikroszkópos vizsgálat számára a kórokozó bejutását követő 2–8. héten válik láthatóvá (OIE, 2014).

Az anaplasmosisra jellemző klinikai tünetek súlyossága összefüggésben áll a megbetegedett állat korával: az 1 évesnél fiatalabb állatokban általában szubklinikai, tünetmentes, az 1–2 éves korosztályban közepesen súlyos, míg a 2 évesnél idősebb szarvasmarhákban súlyos és a gyógykezelés elmaradása vagy túl késői elkezdése esetében akár 30–50%-ban halálos kimenetelű anaplasmosis alakul ki (Birdane et al., 2006). Azokban

az állatokban, amelyek túlélnek a betegség heveny szakaszát és klinikailag gyógyultak, ill. az 1 évesnél fiatalabb, szubklinikai anaplasmosisra átesett egyedekben élethosszig tartó perzisztens fertőzés alakul ki. Ezek, mint baktérium-rezervoárok fenntartják a fertőzést az állományban, viszont bennük a betegség újbóli fellángolása nem lehetséges a kialakult aktív immunitás miatt. A hordozó, valamint a lappangási szakaszban lévő egyedek meghatározása diagnosztikai szempontból jelentős kihívás, mivel a kórokozó vérkenetből történő kimutatása Giemsa-festéssel csak az akut, klinikai tünetek formájában megmutató, bacteraemiás szakaszban megbízható (Kocan et al., 2010). Hordozó és lappangási szakaszban lévő egyedből a kórokozó kimutatásának érzékeny módszere a PCR és a PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism) (Singh et al., 2012; Nair et al., 2013). Perzisztensen fertőzött egyedek esetében a diagnosztika további lehetséges eszköze az *A. marginale* ellen termelt ellenanyag kimutatása szerológiai teszt segítségével. Számos szerológiai módszert dolgoztak ki az *A. marginale* ellen termelt ellenanyagok kimutatására, mint az indirekt immunfluoreszcencia (Lohr et al., 1973), a komplement fixáció (Gainer, 1961), az ELISA (Luckins, 1977), az immunoszenzor (Silva et al., 2006) és a latex agglutinációs teszt (LAT) (Ramos et al., 2014). A szerológiai módszerek speciális eszközrendszert és képzett szakembereket igényelnek, amelyek jelentősen növelik a reakciók költségeit, de emellett hazánkban a legnagyobb probléma, hogy az említett diagnosztikai módszerek közül egyik sem érhető el a szarvasmarha-betegségek diagnosztikájával foglalkozó laboratóriumokban. Továbbá diagnosztikai problémát okozhat az, hogy a jelenleg nemzetközi kereskedelmi forgalomban lévő és elérhető tesztek keresztreakciót ad(hat)nak egyéb *Anaplasma* és *Ehrlichia* fajokkal, elsősorban az *A. centrale*-vel és az *A. phagocytophilum*-mal (OIE, 2014).

A kórokozó fertőzött vörösvérsejtekkel történő mechanikai átvitele, ill. biológiai vektorba (*Ixodes* sp., *Dermacentor* sp.) történő bejutása szempontjából kiemelt jelentőségű a perzisztensen fertőzött állatok szerepe (Rymaszewska és Grenda, 2008). A mechanikai átvitel során leggyakrabban sebészi beavatkozások és iatrogén ártalmak szerepelnek: szarvtalanítás, krotáliázás, kasztráció, tüvel történő átoltás, de nem elhanyagolható a mechanikai vektorok, elsősorban a csípős legyek (pl. szuronyos istállólégy – *Stomoxys calcitrans*, bögöly – *Tabanidae* család) szerepe sem. Heveny járvány elsősorban stresszfaktorok, ill. immunosuppresszív hatásra jelentkezik a fogékony egyedekben (Kocan et al., 2003).

A jelen tanulmányban vizsgált heveny anaplasmosisra jellemző klinikai tünetek a vörösvérsejtek érintettségére utaló képet mutatnak. A fertőzött erythrocytákat a szarvasmarha reticuloendothelialis rendszer sejtjei fagocytálják, majd az elsősorban a lépben érzékelhető extravascularis haemolysis következtében – a fertőzöttség fokától függően – különböző mértékű anaemia és sárgaság alakult ki, haemoglobinaemia és

haemoglobinuria jelei nélkül. Emellett jellemző volt a betegség bevezető szakaszában kialakuló magas láz (40–41°C), étvágytalanság, levertség, gyengeség, hirtelen súlyvesztés, sápadt nyálkahártyák, sárgaság, erőltetett, szapora légzés, valamint az oxigén-ellátottság zavara (hypoxia) miatt kialakuló vetélés.

A tömeges anaplasmosis során a haematológiai- és biokémiai vizsgálatok eredményeit a patológiai vizsgálat során tapasztalt elváltozások alátámasztják. Az emelkedet májenzim-értékeket, ill. a cholestasist a hypoxia által előidézett májelfajulás idézte elő. A szintén a hypoxia által előidézett vese tubulushám degenerációja miatt emelkedett volt a karbamidszint.

Az *A. marginale* vérből, ill. vérkenetből történő laboratóriumi kimutatása (PCR, Giemsa-festés, EM) alapján feltételezhető, hogy az állományban a vakcinázás időpontjáig egy-egy egyedre korlátozódó, szórványosan jelentkező, lázzal, anaemiával, sárgasággal, esetenként vetéléssel járó megbetegedések oka az *A. marginale* volt. A megelőzően szórványos, majd a vakcinázást követően tömeges megbetegedést okozó, ismeretlen kórokozó identifikálását követő szerológiai vizsgálatok eredménye szintén alátámasztja, hogy a kórokozó ezidáig is endémiásan jelen volt az állományban.

4. 3. 3. 3. Az állomány *A. marginale* szeroprevalenciája

Az általunk alkalmazott indirekt ELISA módszerrel meghatározott szeropozitivitási és szeroprevalencia értékek összhangban vannak a szakirodalmi adatokkal. Az *A. marginale* elleni antitestekkel rendelkező borjak arányát újszülött kortól 7 hónapos korig vizsgáltuk. A kolosztrum itatását megelőzően vizsgált 8 borjú mindegyike szeronegatív volt, majd ezeket vizsgáltuk meg a kolosztrum itatást követő 3. napon. A 7 három napos borjú közül 2 a vizsgálat eredménye szerint szeropozitív volt, ami a kolosztrális ellenanyagok borjuba történő átjutását jelzi. A 3–7 hónapos korosztályban kevés számban találtunk szeropozitív borjút, amely részben a maternális ellenanyagok viszonylag gyors kiürülésével magyarázható, részben pedig azzal, hogy ez a korosztály a megbetegedésen még tünetmentes formában sem vagy csak kevés esetben esett át. Yoshihara és mtsai (2003) 0–6 hónapos borjak anaplasma ellen termelt ellenanyagszintjét vizsgálva szintén azt tapasztalta, hogy a passzív immunitás, vagyis a maternális ellenanyag-titer a kolosztrum felvételt követően viszonylag gyorsan csökken és 2 hónapos korban teljesen kiürül a szervezetből. Madruga és mtsai (1985) újszülött borjak maternalis anaplasma ellenanyagszint-változását tanulmányozták 270 napos korig és megfigyelték, hogy a passzívan szerzett humoralis immunitás a borjak átlagosan 47 napos koráig van jelen, folyamatosan csökkenő mennyiséget mutatva. Egy későbbi vizsgálat során az eredmények azt jelezték, hogy a maternalis ellenanyagok minden vizsgált borjú véréből 60 napos korra teljes mértékben kiürültek (Madruga et al., 2000). Az eredmények feltételezik, hogy a

később, a vérpályában jelen lévő *A. marginale* ellen termelt specifikus ellenanyagok akár látens, akár klinikai tünetekkel járó anaplasmosison átesett egyedek aktív immunitásának következménye.

A 9–12 hónapos korcsoportot két fő okból vizsgáltuk nagyobb számban. Egyrészt ez a korosztály a gazdaságban már hosszabb ideje érintkezik az idősebb, *A. marginale*-vel perzisztensen fertőzött szarvasmarhával, vagyis előfordulhat, hogy közöttük már található olyan egyed, amely átesett a fertőzésen és aktív immunitással rendelkezik. Másrészt egyes külföldi vizsgálatok szerológiai felméréseik eredményei alapján feltételezik a 9–12 hónapos egyedek korral összefüggésbe hozható rezisztenciáját a kórokozóval szemben (Birdane et al., 2006; Tassi et al., 2002). Az eredményeink alapján a kórokozóval szembeni, korral összefüggő rezisztencia megállapítása megcáfolható, mivel az általunk vizsgált egyedek 20%-a volt szeropozitív, vagyis a korcsoport nem rezisztens az *Anaplasma*-ra. Ez az eredmény viszont alátámasztja, hogy bár a tizenöt egyedből egyik sem mutatott élete során anaplasmosisra jellemző klinikai tüneteket, a szeropozitív állatok egy része látens formában, klinikai tünetek megjelenése nélkül mégis átesett a fertőzésen és hordozóvá vált.

Az állományban a 3 évnél fiatalabb korosztályban a szeroprevalencia 12%, a 3 éves és annál idősebb korosztályban pedig 49%, amely statisztikailag kimutatható szignifikáns különbséget jelent. Az esélyhányados megerősíti a kor rizikófaktor szerepét a fertőzés szeroprevalenciájában, mivel a fertőzés esélye a hároméves és annál idősebb szarvasmarhák körében a 3 évesnél fiatalabbakhoz képest 6,94-szeres. Vagyis egy véletlenszerűen kiválasztott egyed 6,94-szer nagyobb eséllyel fertőzött az idősebb korosztályban, a fiatalabb korcsoport egy véletlenszerűen kiválasztott egyedéhez képest. Az általunk bemutatott eredmények összhangban vannak egyéb, állományokban történt szerológiai felmérések eredményeivel, vagyis az idősebb korcsoportokban (3–4 év, >4 év) jelentősen nagyobb a látszólagos ellenanyag-prevalencia, a fiatalabb korcsoportokhoz képest (Aubry és Geale, 2011; Birdane et al., 2006).

4. 3. 3. 4. A BVDV-fertőzés és a heveny szarvasmarha anaplasmosis közötti összefüggés

A szubklinikai formában jelen lévő anaplasmosis, nagyjából egy időben 49 állatra kiterjedő, heveny, klinikai tünetekben megnyilvánuló jelentkezése háttérben stressz-, ill. immunszuppresszív hatás feltételezhető. A heveny járványkitörés miatt a kiváltó hatás egy adott időpontra vezethető vissza, amely az *Anaplasma* lappangási ideje alapján hozzávetőlegesen meghatározható. Az *A. marginale* lappangási ideje széles határok között változik, a szakirodalmi adatok szerint átlagosan 28 nap (Kocan et al., 2003). A BVD elleni immunizálás a járványkitöréstől visszaszámítva nagyjából 35 nappal történt és ebben az időszakban egyéb ismert állomány szintű negatív hatás, változás (pl. takarmányváltás, állatmozgatás, új állatok állományba állítása) nem történt. A vakcinázás, mint az állatokat ért

stresszhatás elvileg lehet a heveny anaplasmosis megjelenésének kiváltó oka, viszont tömegoltóval történt állomány szintű vakcinázás a korábbi periódusban is történt (pl. IBR elleni immunizálás minden tavasszal), amikor az *Anaplasma* már jelen lehetett az állományban és ez ideig önmagában az immunizálás, ill. a tömegoltó használata nem váltott ki tömegesen anaplasmosisra jellemző klinikai tüneteket. Ugyanakkor, szórványosan, évente egy-két állatra korlátozódó, lázzal, anaemiával, icterussal járó eset már több éve előfordult a telepen, de kórokozót ill. vakcinázással való összefüggést nem sikerült megállapítani. Az állomány szintű vakcinázás során iatrogén ártalomként felmerül a tömegoltó használata. Tömegoltó használata során lehetősége volt mind a BVDV-nek, mind az *A. marginale*-nek a horizontális terjedésre, mivel egyidejűleg jelen volt mind az addig meg nem határozott *A. marginale* a tünetmentes, de hordozó egyedekben, mind pedig a már diagnosztizált és a vizsgálat időpontjában bizonyítottan jelen lévő BVDV. A BVD vírus immunrendszert károsító, immunszuppresszív hatása kiemelt szerepet játszhatott az *Anaplasma* állományban történő heveny fellobbanásában. Akár a már vakcinázás előtt, akár a vakcinázás során BVDV-vel fertőződött állatok *A. marginale*-vel egyidejűleg történő fertőződése esetén a vírus immunszuppresszív hatása a fertőzést követő 3–7. naptól érzékelhető, ami elősegíti az anaplasmosis klinikai tünetekben történő megnyilvánulását, az arra fogékony egyedekben. Az anaplasmosisban beteg állatokból viszont BVD vírust már nem lehet kimutatni (kivételem PI-egyed, de a vizsgálat időpontjában PI-állat nem volt az állományban), mivel az átmeneti viraemia a fertőzést követő 14. napig tart, az anaplasmosis tünetei viszont csak a fertőzést követő 28. nap körül észlelhetők. A BVDV ellen termelt ellenanyagok kimutatását célzó szerológiai vizsgálat jelen esetben szintén nem segített a járványtani nyomozásban, mivel az anaplasmosis klinikai tünetei mind az 1. és mind a 2. vakcinázást követő 5–6. héten jelentkeztek. Ebben az időpontban az állatok már szeropozitívak voltak és mivel a BVD elleni vakcina nem marker vakcina, így nem lehet egyértelműen elkülöníteni, hogy a szeropozitivitást vad- vagy vakcinavírus eredményezte. Ugyanakkor a vakcinázást követő 280 nap körüli és az azt követő időszakban történt PI borjak ellése alátámasztja, hogy a vakcinázás időpontjában volt(ak) az állományban vírusürítő egyed(ek).

Abban az esetben, ha egy állományban az *A. marginale* hosszabb ideje endémiásan jelen van, endémiás stabilitás alakul ki, vagyis a kórokozó nem, vagy csak sporadikusan, 1–1 állatra korlátozódva okoz klinikai tüneteket (Kocan et al., 2003). Immunszuppresszív hatásra a kórokozó fogékony szarvasmarhákban klinikai tünetekben megnyilvánuló betegséget okoz, felborul az endémiás stabilitás (Kocan et al., 2000). Az epidemiológiai vizsgálatunk során megfigyelhető, hogy a BVD vírus terjedése a fogékony állományban a vakcinázás előtt jelentős volt (BVD szeropozitivitás 2013. április: 10%, 2013. szeptember: 45–50%), viszont ez idő alatt nem jelentkezett anaplasmosisra utaló tömeges megbetegedés. Ennek oka, hogy

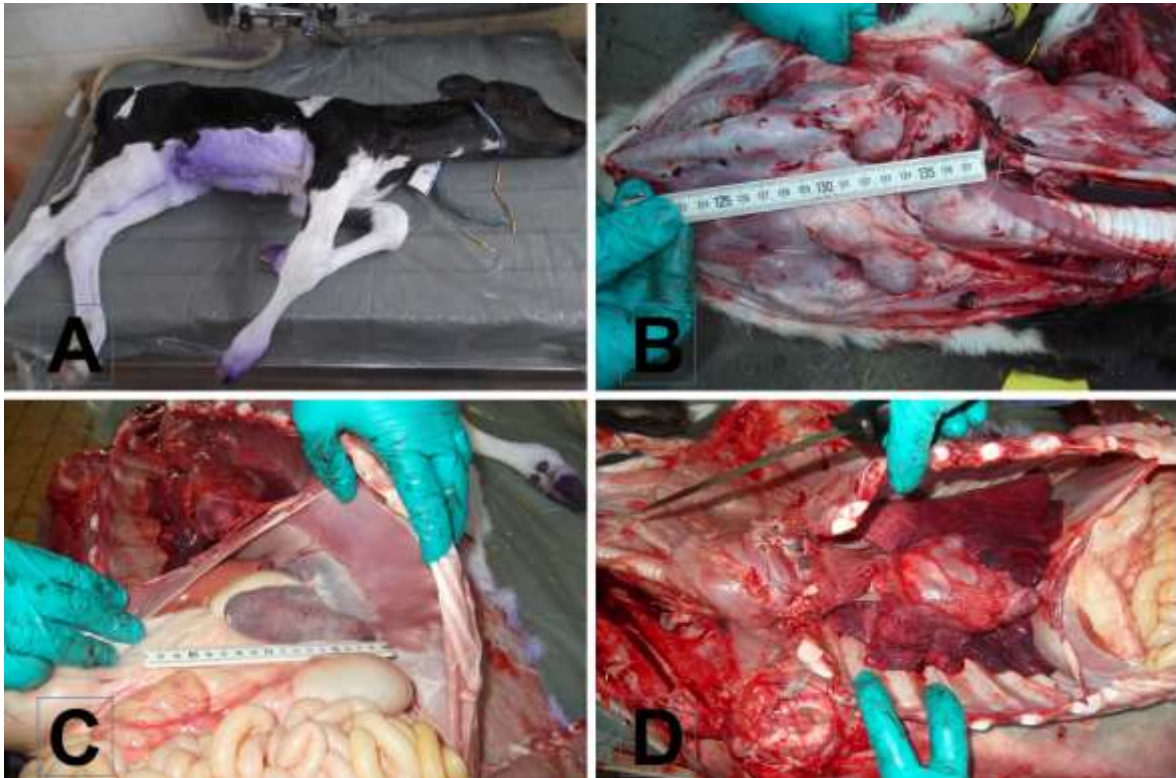
*anaplasma*val perzisztensen fertőzött egyedben a megbetegedés újbóli fellángolása nem lehetséges a benne kialakult aktív védettség miatt, még a vírus jelentős immunszuppresszív hatására sem. Vagyis a vakcinázás során elsősorban az *A. marginale* kórokozó, hordozó állatból fogékony és BVDV-vel tranziensen vagy esetleg az immunizáláskor iatrogén úton fertőzött állatba történő terjedése okozta a heveny, több állatot érintő szarvasmarha anaplasmosis kialakulását az állományban.

Összességében arra következtethetünk, hogy amennyiben egy adott - *anaplasma*ra és BVDV-re fogékony - egyed, nagyjából egy időben fertőződik a két kórokozóval, akkor a BVDV immunszuppresszív hatása segíti az *A. marginale* fertőzés megeredését és a betegség heveny, klinikai tünetekben történő megnyilvánulását. Azokban a szarvasmarha-állományokban, ahol az *A. marginale* endémiásan jelen van, minimálisra kell csökkenteni annak lehetőségét, hogy a kórokozó a perzisztensen fertőzött egyedekből átjuthasson a fogékony egyedekbe. Mivel a kórokozó nemcsak biológiai vektorok (pl. *Ixodes* sp., *Dermacentor* sp.) útján juthat be a szervezetbe, hanem mechanikai vektorok (pl. Tabanidae család, *Stomoxys calcitrans*), ill. iatrogén ártalmak segítségével is (Majer et al., 2014), ezért az *Anaplasma*val endémiásan fertőzött állományokban különösen fontos az ektoparaziták elleni kezelés és a különböző sebészeti beavatkozások, valamint a vakcinázás során a iatrogenia kiküszöbölése.

4. 4. BVDV-antigén kimutatására irányuló immunhisztokémiai vizsgálat

4. 4. 1. Anyag és módszer

Munkánk során 8 (2 db 2 napos; 2 db 2,5 hónapos; 2 db 3 hónapos; 2 db 3,5 hónapos), ag-ELISA-teszttel igazolt, BVD vírusával perzisztensen fertőzött, elhullott borjú tetem következő szerveit vetettük alá immunhisztokémiai vizsgálatnak: bőr, testtájéki nyirokcsomók, előgyomrok, oltógyomor, vékony- és vastagbél, máj, lép, vese, húgyhólyag, mellékvese, tüdő, szívizomzat, agyvelő, nyálmirigy, fülporc (**17. ábra**).



17. ábra. A telepi körülmények között kivitelezett **A.** necropsiás vizsgálat során különböző szerveket; **B.** submandibularis nyirokcsomót; **C.** lép; ill. **D.** tüdőleány mintákat izoláltunk

A mintákat szobahőmérsékleten, 24 órán át, 8%-os pufferolt (PBS, pH 7.0) formaldehid-oldatban konzerváltuk (**18. ábra**). Az így nyert szövetmintákat *Shandon excesor szövetelőkészítő automatával* tettük alkalmassá a további feldolgozásra. Az automata szövetelőkészítőgép a 14 órás programja alatt 6 lépcsős felszálló alkohol-sorozat (4x1 óra, majd 2x1,5 óra) és 3 lépcsős felszálló xylol-sorozat (3x1 óra) után 3 lépésben (3x80 perc) 60°C-os paraffinnal (*Shandon Histoplast Pelletised Paraffin Wax*) kontaminálta a szövetmintákat. A szövetelőkészítést a paraffinos beágyazás követte. A paraffinos blokkokból 3-4 µm vastagságú metszeteket készítettünk, amelyeket haematoxylinnal és eosinnal festettünk meg, *Shandon Varistain 24-4 automata festőgép* segítségével. A metszeteket Nikon Optiphot-2 típusú fénymikroszkóp segítségével analizáltuk.



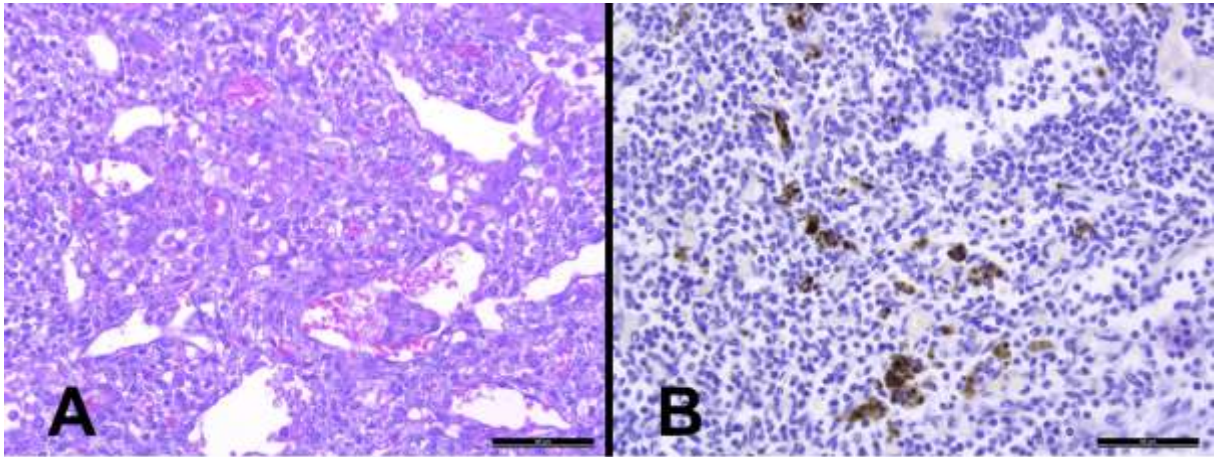
18. ábra. Az elhullott PI-tetekből izolált mintákat szobahőmérsékleten, 24 órán át, 8%-os pufferolt (PBS, pH 7.0) formaldehid-oldatban konzerváltuk

A manuálisan kivitelezett IHC vizsgálatunk a következő lépésekből épült fel: a metszeteket kétszer váltott xyloban (2x10 percen keresztül), majd háromszor váltott alkoholban (3x5 percen át 100%-os, 70%-os és 50%-os alkohol) deparaffináltuk, majd 1x-es PBS-sel való mosás után antigénfeltárást végeztünk; 3%-os H₂O₂-al történő endogén-peroxidáz blokkolás; proteáz alapú BVDV-antigén-feltárás; a nem specifikus kötődésekért felelős fehérjék blokkolása; elsődleges ellenanyaggal, szobahőmérsékleten történő 1 órás inkubáció; másodlagos antitesttel, szobahőmérsékleten történő 15 perces inkubáció; diamino-benzidin (DAB) chromogen reakció és haematoxylin háttérfestés. Az IHC vizsgálat során anti-BVDV-1 E2 (gp53) IgG_{2a} izotípusú (VMRD, Inc.) monoklonális antitestet használtunk.

4. 4. 2. Eredmények

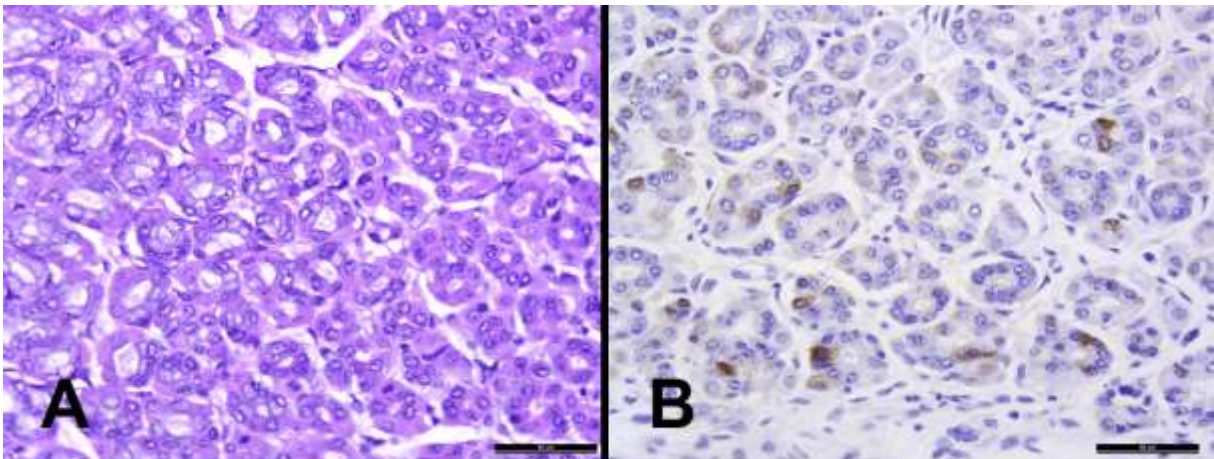
Az immunhisztokémiai vizsgálataink során külső pozitív kontroll szövetként, BVDV-pozitív tetemből származó perifériás nyirokcsomót használtunk, amelynek sinus-histiocytáiban, follicularis dendriticus sejtjeiben tapasztaltunk multifocalis, intenzív, granularis, cytoplasmaticus BVDV-pozitivitást.

A munkánk folyamán, a külső pozitív kontrollhoz hasonlóan, az általunk megvizsgált tetemekből izolált nyirokcsomókban a sinus-histiocytákban, a follicularis dendriticus sejtjekben tapasztaltunk multifocalis, intenzív, granularis, cytoplasmaticus BVDV-pozitivitást (**19. ábra**).

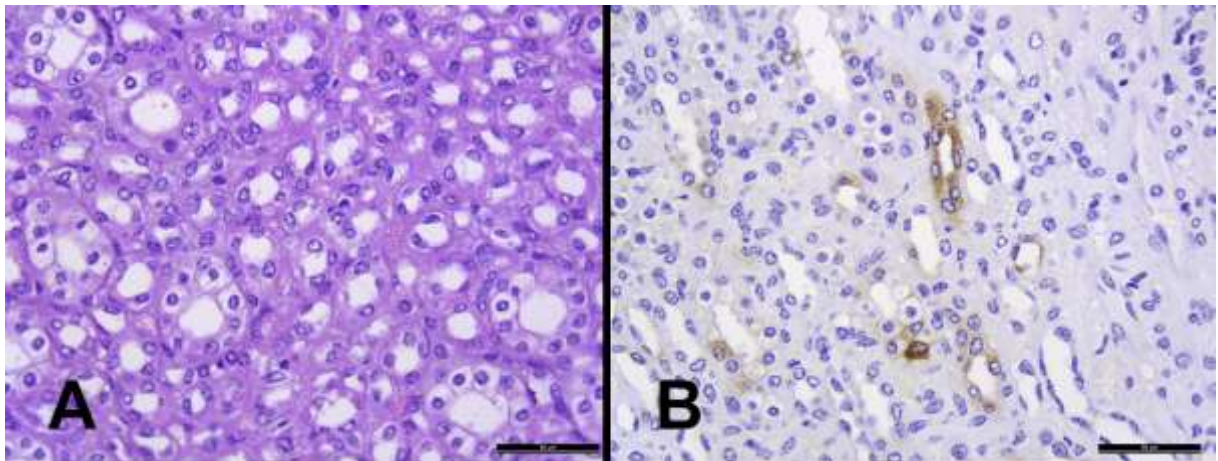


19. ábra. A. A PI-borjú tetemekből izolált, testtájéki nyirokcsomó kórszövettani felvétele, Haematoxylin és eosin-festés (H.E.), 400x, Bar=50µm. **B.** A nyirokcsomó histiocytáiban, dendriticus sejtjeiben észlelhető cytoplasmaticus, granularis BVDV-pozitivitás, IHC, 400x, Bar=50µm.

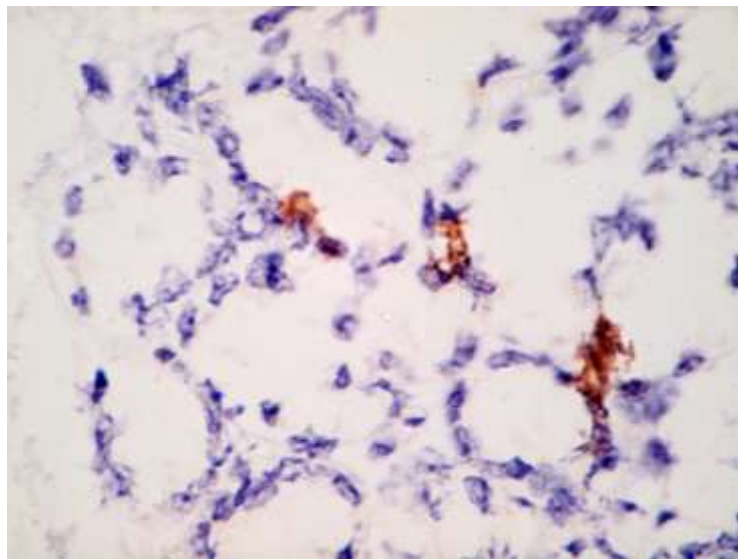
Ezenkívül a bőr keratinocytáiban, az előgyomor-oltógyomor-bél rendszer mirigyhámsejtjeiben és submucosalis folliculusaiban (**20. ábra**), a máj Kupffer-sejtjeiben, a lép histiocytáiban, dendriticus sejtjeiben, a vese elvezető csatornácskáinak hámsejtjeiben (**21. ábra**), a nyálmirigy kosáresejtjeiben (**22. ábra.**), ill. a fülporc chondrocytáiban (**23. ábra**) érzékeltünk BVDV-cytoplasmaticus-pozitivitást.



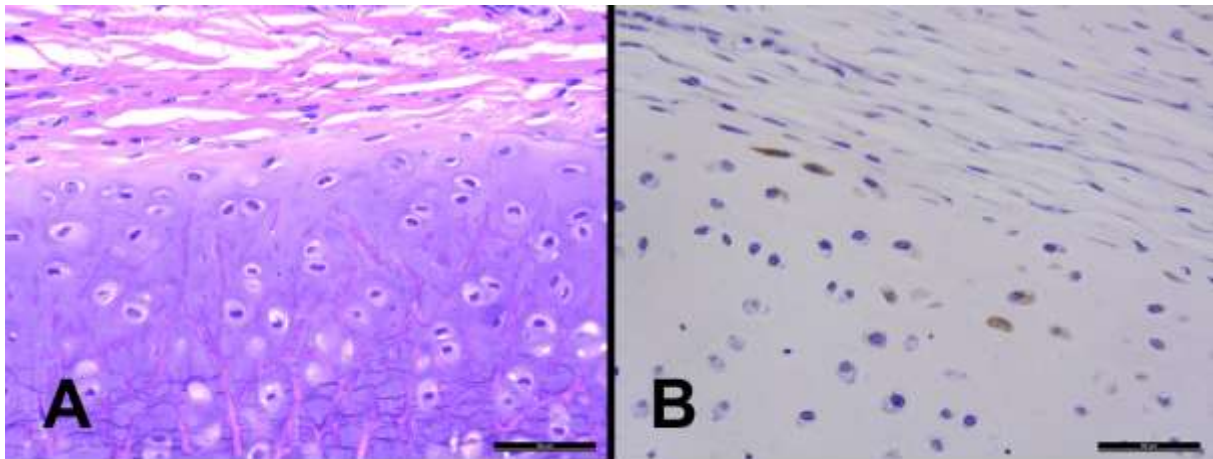
20. ábra. A. A PI-borjú tetemekből izolált, kórszövettanilag intact oltógyomor mikroszkópos felvétele, H.E., 400x, Bar=50µm. **B.** A megvizsgált oltógyomor mirigyhámsejtjeiben multifocalisan észlelhető cytoplasmaticus, granularis BVDV-pozitivitás, IHC, 400x, Bar=50µm.



21. ábra. A. A PI-borjú tetemekből izolált, kórszövettanilag intact veseparenchyma mikroszkópos felvétele, H.E., 400x, Bar=50 μ m. **B.** A megvizsgált vese elvezetőcsatornácska hámsejtekben multifocalisan észlelhető cytoplasmaticus, granularis BVDV-pozitivitás, IHC, 400x, Bar=50 μ m.

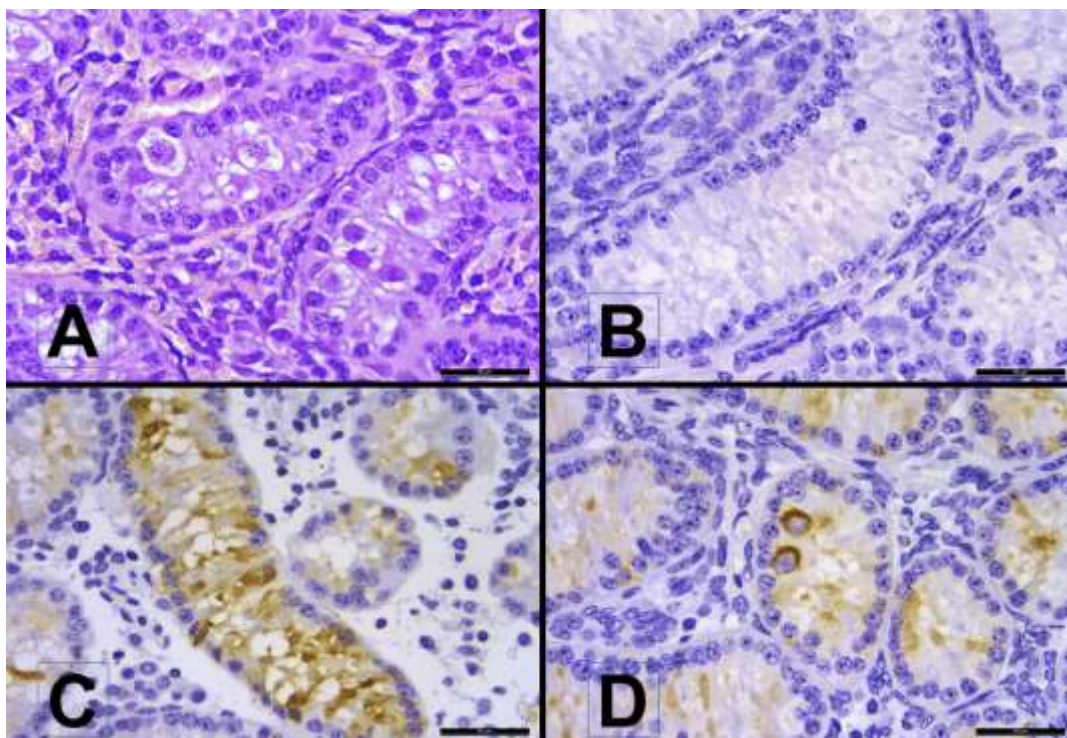


22. ábra. A PI-borjú tetemekből izolált nyálmirigy kosársejtjeiben multifocalisan észlelhető cytoplasmaticus, granularis BVDV-pozitivitás, IHC, 600x.



23. ábra. **A.** A PI-borjú tetemekből izolált, kórszövettanilag intact fülporc mikroszkópos felvétele, H.E., 400x, Bar=50µm. **B.** A megvizsgált fülporc chondrocytáiban multifocalisan észlelhető cytoplasmaticus, granularis BVDV-pozitivitás, IHC, 400x, Bar=50µm.

A hereszövetek IHC vizsgálata során a Sertoli-sejtekben, a preaspermato goniumokban, a neonatalis gonocytákban intenzív, cytoplasmaticus, granularis BVDV-pozitivitást észleltünk (**24. ábra**).



24. ábra. **A.** A 10 napos PI-borjú tetemekből izolált, kórszövettanilag intact hereszövet mikroszkópos felvétele, H.E., 630x, Bar=50µm. **B.** Az elsődleges antitest kihagyásával készített negatív kontroll, IHC, 630x, Bar=50µm. **C.** Intenzív, cytoplasmaticus BVDV-pozitivitás a kanyarulatos herecsatorna Sertoli-sejtjeiben, IHC, 630x, Bar=50µm. **D.** Intenzív, cytoplasmaticus BVDV-pozitivitás a kanyarulatos herecsatorna lumenében lévő preaspermato goniumokban, IHC, 630x, Bar=50µm.

4. 4. 3. Megbeszélés

Az immunhisztokémia az immunológia fejlődése során, annak egy mellékágaként jött létre az 50-es években. Ez a speciális immunkémiai eljárás a modern patológia nélkülözhetetlen diagnosztikus és kutató módszerei közé tartozik (Krutsay, 1999; Mason és Gatter, 1987). Alkalmazása hisztológiai preparátumokon történik, azaz az immunhisztokémia végrehajtható gyors fagyasztott, vagy rutinszerűen (formaldehid-oldatban) konzervált és paraffinba, vagy műgyantába ágyazott preparátumon is. A módszer az immunológiából jól ismert antigén-antitest reakción alapszik (DeLellis és Dayal, 1987; Krutsay, 1999; Mason és Gatter, 1987; Miettinen, 1993). Az immunhisztokémia során nagy molekulatömegű vegyületeket: strukturális, vagy funkcionális fehérjéket, glikoproteineket, vagy komplex szénhidrátokat, lipideket mutatunk ki a sejtekben, vagy az extracelluláris térben a különböző megbetegedések (pl. daganatos elváltozás) kórisméjének pontos meghatározása céljából (Campbell és Pignatelli, 2002; Kopper és Tímár, 2002). Az immunhisztokémia segítségével kimutathatók hormonok, lektinek, enzimek, immunglobulin könnyű- és nehézláncok, haemoglobin, myoglobin, fehérvérsejttípusok, vírusok, baktériumok, protozoonok stb., tehát mindazok, amelyek ellen kísérleti állatokban ellenanyag termelhető (Krutsay, 1999; Merz et al., 1993). Az antigén-antitest kapcsolódás helyének láthatóvá tételéhez az alkalmazott immunsavókat jelölni kell. Az antitesthez enzim, fluoreszkáló színezék vagy kolloid arany kapcsolható, jelölt immunsavók a kereskedelemben gyári készítményként beszerezhetők. Az évek során számos immunhisztokémiai eljárást dolgoztak ki és használtak, amelyeket két fő csoportba sorolhatunk: a direkt és az indirekt módszerek közé. A direkt módszer során jelölt elsődleges antitesteket használnak fel. Az eljárás gyors, olcsó, de érzékenysége kicsi. Az indirekt módszerek lényege az, hogy nem közvetlenül az antigénhez kapcsolódott primer antitestet, hanem az ellene termelt, hozzá kapcsolódott sekunder antitestet mutatjuk ki közvetetten, valamely speciális technikával (Stoica et al., 2001). Az indirekt módszerek közé tartoznak: az enzim-immunkomplex módszer (PAP), az avidin-biotin-enzimkomplex módszer (ABC), a streptavidin-biotin-enzimkomplex módszer, az enzimmel jelölt avidin-biotin-enzimkomplex módszer (LAB), az enzimmel jelölt streptavidin-biotin-enzimkomplex módszer (LSAB). Az immunhisztokémiai reakciók a következő lépésekből állnak: metszés és metszetragasztás; deparaffinálás (paraffinos mintáknál); antigénfeltárás (szükség esetén); blokkolás; primer antitestekkel inkubálás; a primer antitest kötődés kimutatása; magfestés és fedés (Krutsay, 1999; Merz et al., 1993).

A BVDV antigénjének kimutatása az USA-ban az egyik legnépszerűbb direkt víruskimutató módszer a PI-egyedek diagnosztikájában, a módszer 100%-os érzékenysége és szintén közel 100%-os specificitása miatt.

A BVDV immunhisztokémiai alapú diagnosztikáját, egy specifikus, monoklonális ellenanyag, az ún. Mab 15C5 kidolgozása tette lehetővé, formaldehid-oldatban konzervált,

szarvasmarha (és egyéb kérődző fajták) eredetű szövetekben (Ohmann et al., 1980; Ohmann et al., 1981). A Mab15C5 ellenanyag a BVDV 48 kD molekulatömegű glikoproteinjével (epitopjával) kapcsolódik specifikusan (Baszler et al., 1995; Corapi et al., 1990; Passler et al., 2008). Haines és mtsai (1992) szarvasmarha lép, nyirokcsomó, nyelőcső, vékonybél, tüdő, vese, máj, Baszler és mtsai (1995) szarvasmarha lép, nyirokcsomó, nyelv, nyelőcső, előgyomor, vékony- és vastagbél, máj, vese, tüdő, pajzsmirigy, mellékvese, hypophysis, agyvelő, bőr és méhlepény szöveteiben detektáltak sikeresen, immunhisztokémiai módszerrel BVDV-t.

Ohmann és mtsai (1981) 7 borjúból származó tonsilla, nyelőcső, thymus, nyirokcsomó, lép, vékony- és vastagbél, vese, tüdő és bőr mintákban, Thür és mtsai (1997) 213 szarvasmarha- és 31 juh magzatból, valamint 36 újszülött borjúból és 25 újszülött juhból származó szövetmintákban (agyvelő, bőr, pajzsmirigy, oltógyomor, ill. méhlepény) tüntették fel immunhisztokémiai módszer segítségével a BVDV-t. A BVD vírusa, immunhisztokémiai módszerrel kimutatható a fertőzött PI-egyedek bőrbioptátumaiból. A vírus a felszíni (non-follicularis) és a szőrtüszőhámsejtekben, a matrixsejtekben és a dermalis papilla sejteiben multiplikálódik és válik immunhisztokémiával feltüntethetővé (Haines et al., 1992; Njaa et al., 2000). A fülporc minta, amely a krotáliázás során melléktermékként keletkezik, kiválóan alkalmas a BVDV immunhisztokémiai vizsgálatára (Brodersen, 2004).

BVDV-t immunhisztokémiai módszer segítségével kimutattak már szarvasmarha eredetű hereszövetben is. Givens és mtsai 2003-ban 6 hónapos és 2 éves egyedekben, Givens és mtsai 2006-ban peripubertalis 9–13 hónapos bikákban. Borel és mtsai (2007) 16 hónapos PI, bilateralis testicularis hypoplasiás és azoospermiás bika urogenitalis szerveinek szöveteiben: a rendellenesen csökkent fejlettségű hereszöveteiben, mellékheréiben, húgycsovében, prosztatájában, vesicularis- és bulbourethralis mirigyeiben vizsgálták a BVDV megjelenését. A herékben a Sertoli sejtek, kisebb mértékben a spermatogoniumok cytoplasmájában észleltek BVDV-pozitivitást.

A munkánk során a szakirodalmi adatoknak megfelelően, a pozitív kontrollokként vizsgált nyirokcsomókban a sinus-histiocytákban és a follicularis dendriticus sejtekben multifocalis, intenzív, granularis, cytoplasmaticus BVDV-pozitivitást tapasztaltunk.

Szintén BVDV-cytoplasmaticus-pozitivitást érzékeltünk a bőr keratinocytáiban, az előgyomor-oltógyomor-bél rendszer mirigyhámsejtjeiben és submucosalis folliculusaiban, a máj Kupffer-sejtjeiben, a lép histiocytáiban, dendriticus sejteiben, a vese elvezető csatornácskáinak hámsejtjeiben, a nyálmirigy kosársejtjeiben, ill. a fülporc chondrocytáiban. Az infantilis hereszövetek IHC vizsgálata során a Sertoli-sejtekben, a preaspermogoniumokban, a neonatalis gonocytákban észleltünk intenzív, cytoplasmaticus, granularis BVDV-pozitivitást.

5. Új tudományos eredmények

1. Epidemiológiai vizsgálataink során megállapítottuk, hogy Magyarország szarvasmarha-állományainak 56,4%-ában előfordul legalább egy BVDV-szeropozitív egyed. Fertőzött állományokat alapul véve meghatároztuk, hogy az átlagos állományon belüli valódi ellenanyagprevalencia BVDV-re nézve 47,4%.
2. Hazánkban először vizsgáltuk a valódi állományszintű BVD vírusprevalenciát, amely alapján a hazai szarvasmarha-állományok 12,4%-ában van legalább egy vírushordozó egyed. A BVD vírusával fertőzött állományok tekintetében meghatároztuk, hogy az átlagos állományon belüli vírusprevalencia 7,2%. Tanulmányunk során megállapítottuk, hogy egy BVDV-pozitív állományban egy véletlenszerűen kiválasztott egyed tízszer nagyobb eséllyel hordoz BVDV ellen termelt ellenanyagot, egy BVD vírus-negatív állomány egyetlen véletlenszerűen kiválasztott egyedéhez képest.
3. Gazdasági számításaink során megbecsültük a BVD által okozott országos gazdasági károkat, amely 2012-ben 1,26 milliárd Ft volt, ami átlag tehenenként 3.834 Ft veszteséget jelent. Telepi szinten egy ezer tehenet tartó tehenészetben a heveny, klinikai tünetekben megnyilvánuló BVD becslésünk alapján több mint 46,5 millió Ft, az idültlen fertőzött állományokban a BVD és az MD 2,9 millió Ft éves veszteséget okoz. A heveny BVD-járvány által okozott valódi gazdasági kár egy nagy létszámú tejelő tehenészetben számításaink alapján tehenenként évi 7.300 Ft veszteséget okozott. A BVD elleni vakcinázás hatására a telepen tehenenként 2.300 Ft jövedelem keletkezett.
4. A klinikai vizsgálataink alapján először állapítottuk meg, hogy amennyiben egy adott – *anaplasmára* és BVDV-re – fogékony egyed egy időben fertőződik a két kórokozóval, akkor a BVDV immunszuppresszív hatása segíti az *A. marginale* fertőzés megeredését és a betegség heveny, klinikai tünetekben történő megnyilvánulását.
5. Hazánkban először végeztünk *A. marginale* fertőzöttség felmérése céljából *A. marginale*-vel endémiásan fertőzött szarvasmarha-állományban indirekt ELISA módszerrel szerológiai felmérő vizsgálatot, amely során megállapítottuk, hogy a szeroprevalencia a 3 évesnél fiatalabb szarvasmarhák között 12%, a 3 éves és annál idősebb egyedek körében 49% volt, amely a két korosztály között szignifikáns eltérést jelez ($p < 0,0001$). Emellett meghatároztuk, hogy a fertőzés esélye a hároméves és annál idősebb szarvasmarhák körében a 3 évesnél fiatalabbakhoz képest majdnem hétszeres.
6. Immunhisztokémiai vizsgálatunk során először tapasztaltunk az infantilis hereszövet Sertoli-sejteiben, a preaspermogoniumokban, a neonatalis gonocytákban intenzív, cytoplasmaticus, granularis BVDV-pozitivitást.

6. Irodalom

Áldásy P., Szabó I.: **Irányelvek a borjak gyomor-bélgyulladásának megelőzéséhez és gyógykezeléséhez, gyakorlati tapasztalatok és irodalmi adatok alapján.** Magy. Állatorv. Lapja, 14. 325-329, 1959.

Áldásy P., Bartha A., Csontos L., Mészáros J., Szent-Iványi T., Szentmiklóssy Cs.: **A szarvasmarha vírus okozta légző- és emésztőszervi betegségei elleni védekezés különböző tartási rendszerekben.** Magy. Állatorv. Lapja, 33. 555-661, 1978.

Alenius S., Lindberg A., Larsson B.: **A national approach to the control of bovine viral diarrhoea virus.** In: *Proceedings of the Third ESVV Symposium on Pestivirus Infections.* Szerk.: Edwards S., Paton D.J., Wensvoort G. Lelystad: The Netherlands: Central Veterinary Laboratory, 1997. p. 162-169.

Aly N.M., Shehab G.G., Abd el-Rahim I.H.: **Bovine viral diarrhoea, bovine herpesvirus and parainfluenza-3 virus infection in three cattle herds in Egypt in 2000.** Revue Scientifique et Technique (IOE), 22. 879-892, 2003.

Amiridis G.S., Billinis C., Papanikolaou T., Psychas V., Kanteres D.: **Postparturient outbreak of fatal bovine viral diarrhoea in imported pregnant heifers on a dairy farm in Greece.** Vet. Rec., 154. 698-699, 2004.

Anderson P.D.: **Bovine Pestivirus Disease: An investigation of a severe outbreak of bovine viral diarrhoea virus infection in calves in New Zealand.** Thesis, 2000.

Aubry P., Geale D.W.: **A review of bovine anaplasmosis.** Transbound Emerg Dis., 58. 1-30. 2011.

Baker J.C.: **The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection.** Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract., 11. 425-445, 1995.

Bálint Á.: **A szarvasmarha vírusos hasmenése vírusának molekuláris jellemzése, különös tekintettel a citopatogenitásra.** PhD értekezés, SzIE Állatorvos-tudományi Doktori Iskola, Budapest, 2005.

Balint A., Baule C., Palfi V., Dencso L., Hornyak A., Belak,S.: **A 45-nucleotide insertion in the NS2 gene is responsible for the cytopathogenicity of a bovine viral diarrhoea virus strain.** Virus Genes, 31. 135-144, 2005.

Barkema H., Bartels C., van Wuijckhuise L., Hesselink J., Holzhauser M., Weber M., Franken P., Kock P., Brusckhe C., Zimmer G.: **Outbreak of bovine virus diarrhoea on Dutch dairy farms induced by a bovine herpesvirus 1 marker vaccine contaminated with bovine virus diarrhoea virus type 2.** Tijdschrift voor Diergeneeskunde, 126. 158-165, 2001.

Barrett D.J., More S.J., Graham D.A., O'Flaherty J., Doherty M.L., Gunn H.M.: **Considerations on BVD eradication for the Irish livestock industry.** Irish Vet. J., 64. 12-21, 2011.

- Baszler T.V., Evermann J.F., Kaylor P.S., Byington T.C., Dilbeck P.M.: **Diagnosis of naturally occurring bovine viral diarrhoea virus infections in ruminants using monoclonal antibody-based immunohistochemistry.** *Vet. Pathol.*, 32. 609-618, 1995.
- Baule C., Kulcsar G., Belak K., Albert M., Mittelholzer C., Soos T., Kucsera L., Belak, S.: **Pathogenesis of primary respiratory disease induced by isolates from a new genetic cluster of bovine viral diarrhoea virus type 1.** *J. Clin. Microbiol.*, 39. 146-153, 2001.
- Beaudeau F., Belloc C., Seegers H., Assie S., Sellal E., Joly A.: **Evaluation of a blocking ELISA for the detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) antibodies in serum and milk.** *Vet. Microbiol.*, 80. 329-337, 2001.
- Beaudeau F., Fourichon C., Robert A., Joly A., Seegers H.: **Bulk milk somatic cell counts and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in 7252 dairy herds in Brittany (western France).** *Prev. Vet. Med.*, 72. 163-167, 2005.
- Becher P., Orlich M., Shannon A.D., Horner G., König M., Thiel H.J.: **Phylogenetic analysis of pestiviruses from domestic and wild ruminants.** *J. Gen. Virol.*, 78. 1367-1366, 1997.
- Becher P., Orlich M., Thiel, H.J.: **RNA Recombination between Persisting Pestivirus and a Vaccine Strain: Generation of Cytopathogenic Virus and Induction of Lethal Disease.** *J. Virol.*, 75. 6256-6264, 2001.
- Becher P., Avalos Ramirez R., Orlich M., Cedillo Rosales S., König M., Schweizer M., Stalder H., Schirrmeyer H., Thiel H.J.: **Genetic and antigenic characterization of novel pestivirus genotypes: implications for classification.** *Virology*, 311. 96-104, 2003.
- Becher P., Tautz N.: **RNA recombination in Pestiviruses cellular RNA sequences in viral genomes highlight the role of host factors for viral persistence and lethal disease.** *RNA Biol.*, 8. 216-224, 2011.
- Bedekovic T., Nina L., Barbić L., Cvetnić Z., Lojkić I., Benić M., Čač Z., Lojkić M., Madić J.: **Influence of category, herd size, grazing and management on epidemiology of bovine viral diarrhoea in dairy herds.** *Acta Vet. Brno*, 82. 125-130, 2013.
- Belknap E.B., Collins J.K., Larsen R.S., Conrad K.P.: **Bovine viral diarrhoea in New World camelids.** *J. Vet. Diagn. Invest.*, 12. 568-570, 2000.
- Bendfeldt S., Grummer B., Haas L., Staubach C., Moennig V., Liess B.: **Seroprevalences in four different counties in Lower Saxony and the relevance for the control strategy.** *Tierärztliche Umschau*, 59. 499-507, 2004.
- Bennett R.M., Mawhinney I.: **The cost of BVD.** In: *BCVA Congress*. Glasgow, 1999. p. 22-23.
- Berends I.M.G.A., Swart W.A.J.M., Frankena K., Muskens J., Lam T.J.G.M., Van Schaik G.: **The effect of becoming BVDV-free on fertility and udder health in Dutch dairy herds.** *Prev. Vet. Med.*, 84. 48-60, 2008.
- Birdane F.M., Sevinc F., Derinbay O.: **Anaplasma marginale infections in dairy cattle: clinical disease with high seroprevalence.** *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 50. 467-470, 2006.

Blanchard P.C., Ridpath J.F., Walker J.B., Hietala S.K.: **An outbreak of late term abortions, premature births, and congenital deformities associated with a bovine viral diarrhoea virus 1 subtype b that induces thrombocytopenia.** J. Vet. Diagn. Invest., 22. 128-131, 2010.

Bolin S.R.: **The pathogenesis of mucosal disease.** Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract., 11. 489-500, 1995.

Bolin S.R., McClurkin A.W., Cutlip R.C., Coria M.F.: **Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus by super infection with cytopathic bovine viral diarrhoea virus.** Am. J. Vet. Res., 46. 573-576, 1985.

Bolin S.R., Ridpath J.F.: **Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhoea viruses in calves.** Am. J. Vet. Res., 53. 2157-2163, 1992.

Bolin S.R., Grooms D.: **Origination and consequences of bovine viral diarrhoea virus diversity.** Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract., 20. 51-68, 2004.

Booker C.W., Abutarbush S.M., Morley P.S., Jim G.K., Pittman T.J., Schunicht O.C., Perrett T., Wildman B.K., Fenton R.K., Guichon P.T. Janzen, P.D.: **Microbiological and histopathological findings in cases of fatal bovine respiratory disease of feedlot cattle in Western Canada.** Can. Vet. J., 49. 473- 481, 2008.

Booth R.E., Brownlie J.: **Establishing a pilot bovine viral diarrhoea virus eradication scheme in Somerset.** Vet. Rec., 170. 73-79, 2012.

Booth R.E., Thomas C.J., El-Attar L.M.R., Gunn G., Brownlie J.: **A phylogenetic analysis of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) isolates from six different regions of the UK and links to animal movement data.** Vet. Res., 44. 43, 2013a.

Booth R.E., Cranwell M.P., Brownlie J.: **Monitoring the bulk milk antibody response to BVDV: the effects of vaccination and herd infection status.** Vet. Rec., 172. 449, 2013b.

Borel N., Janett F., Teankum K., Zlinszky K., Iten C., Hilbe M.: **Testicular hypoplasia in a bull persistently infected with bovine diarrhoea virus.** J. Comp. Pathol., 137. 169-173, 2007.

Brackenbury L.S., Carr B.V., Charleston B.: **Aspects of the innate and adaptive immune responses to acute infections with BVDV.** Vet. Microbiol., 96. 337-344, 2003.

Brock K.V., Grooms D.L., Givens D.G.: **Reproductive disease and persistent infections.** In: *Bovine viral diarrhoea virus – Diagnosis, management and control, first edition.* Szerk.: Goyal S.M., Ridpath, J.F. Ames: Blackwell Publishing, 2005. p. 145-156.

Brodersen B.W.: **Immunohistochemistry used as a screening method for persistent bovine viral diarrhoea virus infection.** Vet. Clin. North Am.: Food. Anim. Pract., 1. 85-93, 2004.

Brodersen B.W., Kelling C.L.: **Effect of concurrent experimentally induced bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhoea virus infection on respiratory tract and enteric diseases in calves.** Am. J. Vet. Res., 59. 1423-1430, 1998.

Brodersen B.W., Kelling C.L.: **Alteration of leukocyte populations in calves concurrently infected with bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhoea virus.** Viral Immunol., 12. 323-334, 1999.

Brown T.T., deLahunta A., Bistner S.I., Scott F.W., McEntee K.: **Pathogenetic studies of infection of the bovine fetus with bovine viral diarrhoea virus. I. Cerebellar atrophy.** Vet. Pathol., 11. 486-505, 1974.

Brownlie J.: **Clinical aspects of bovine viral diarrhoea virus/mucosal disease complex in cattle.** In Pract., 7. 195-202, 1985.

Brownlie J.: **Bovine virus diarrhoea virus (BVDV) - the diseases and their control.** Ir. Vet. J., 57. 660-664, 2004.

Brownlie J., Clarke M.C., Howard C.J.: **Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea infection in cattle.** Ann. Rech. Vet., 18. 157-166, 1987.

Brownlie J., Clarke M.C., Howard C. .: **Experimental infection of cattle in early pregnancy with a cytopathic strain of bovine virus diarrhoea virus.** Res. Vet. Sci., 46. 307-311, 1989.

Brownlie J., Hooper L.B., Thompson I., Collins M.E.: **Maternal recognition of foetal infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) – The bovine pestivirus.** Clin. Diagn. Virol., 10. 141-150, 1998.

Brownlie J., Thompson I., Curwen A.: **Bovine virus Diarrhoea virus- strategic decisions for diagnosis and control.** In Pract., 22. 176-187, 2000.

Bruschke C.J.M., Weerdmeesrer K., Van Oirschot J.T., Van Rijn P.A.: **Distribution of bovine virus diarrhoea virus in tissues and white blood cells of cattle during acute infection.** Vet. Microbiol., 64. 23-32, 1998.

Byrne N.: **BVD Case Study Teagasc Research Farm Ballydague.** 2010. URL: <http://www.animalhealthireland.ie/pdf/BVDRoadshows-NoelByrne-s.pdf>. Letöltve: 15/11/2011.

Campbell R.J., Pignatelli M.: **Molecular histology in the study of solid tumours.** Mol. Pathol., 55. 80-82, 2002.

Carman S., van Dreumel T., Ridpath J., Hazlett M., Alve, D., Dubovi E., Tremblay R., Bolin S., Godkin A., Anderson N.: **Severe acute bovine viral diarrhoea in Ontario, 1993-1995.** J. Vet. Diagn. Invest., 10. 27-35, 1998.

Carman S., Carr N., DeLay J., Baxi M., Deregt D., Hazlett M.: **Bovine viral diarrhoea virus in alpaca: abortion and persistent infection.** J. Vet. Diagn. Invest., 17. 589-593, 2005.

Castrucci G., Ferrari M., Traldi V., Tartaglione E.: **Effects in calves of mixed infections with bovine viral diarrhoea virus and several other bovine viruses.** Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Diseases, 15. 261-270, 1992.

Chase C.C.L.: **The impact of BVDV-infection on adaptive immunity.** Biologicals, 41. 52-60, 2013.

Chi J., Van Leeuwen A.J., Weersink A., Keefe G.P.: **Direct production losses and treatment costs from bovine viral diarrhoea, bovine leucosis virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum*.** Prev. Vet. Med., 55. 137-152, 2002.

Cho H.J., Masri S.A., Deregt D., Yeo S.G., Thomas E.J.: **Sensitivity and specificity of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of bovine viral diarrhoea virus antibody in cattle.** Can. J. Vet. Res., 55. 56–59, 1991.

Christensen R., Johnson W., Branscum A., Hanson T.E.: **Bayesian Ideas and Data Analysis: An Introduction for Scientists and Statisticians.** Boca Raton: Chapman and Hall, CRC Press, 2010.

Clark M.C., Brownlie J., Howard C.J.: **Isolation of cytopathic and non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus from tissues of infected animals.** In: *Pestivirus infections of ruminants*. Szerk.: Harknes J.W. Luxemburg: Commission of the European communities, 1985. p. 3-12.

Corapi W.V., Donis R.O., Dubovi E.J.: **Characterization of a panel of monoclonal antibodies and their use in the study of the antigenic diversity of bovine viral diarrhoea virus.** Am. J. Vet. Res., 51. 1388-1394, 1990.

Cornish T.E., van Olphen A.L., Cavander J.L., Edwards J.M., Jaeger P.T., Vieyra L.L., Woodard L.F., Miller D.R., O'Toole D.: **Comparison of ear notch immunohistochemistry, ear notch antigen-capture ELISA, and buffy coat virus isolation for detection of calves persistently infected with bovine viral diarrhoea virus.** J. Vet. Diagn. Invest., 17. 110-117, 2005.

Cowley D.J.B., Clegg T.A., Doherty M.L., More S.J.: **Bovine viral diarrhoea virus seroprevalence and vaccination usage in dairy and beef herds in the Republic of Ireland.** Ir. Vet. J., 65. 16-30, 2012.

Daly R.F., Neiger R.D.: **Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Newport in a beef cow-calf herd associated with exposure to bovine viral diarrhoea virus.** J. Am. Vet. Med. Assoc., 233. 618-623, 2008.

DeLellis R.A., Dayal Y.: **The role of immunohistochemistry in the diagnosis of poorly differentiated malignant neoplasms.** Semin. Oncol., 14.173-192, 1987.

Dénes L.: **Fertőző állatbetegségek tervszerű felszámolása mentesítési eljárással.** Magy. Állatorv. Lapja, 40. 87-91, 1985.

Di Labio E.: **Critical success factors for rapid BVD-control at country level.** In: 8th *ESVV Pestivirus Symposium*. Szerk.: Stahl K., Alenius S. Hannover: I. k., 2011. p. 23-25.

Di Labio E.: **The Swiss BVD-eradication programme.** In: *Proceeding of the Animal Health, A cornerstone of sustainable and profitable farming.* Szerk.: Anonym. Cork: I. k., 2013. p. 4-7.

Dirksen G.: **Krankheiten der Verdauungsorgane und der Bauchwand.** In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes.* Szerk.: Dirksen G., Grunder H.D., Stober M. Berlin: Parey Buchverlag im Blackwell Verlag, 2002. p. 357-695.

Doll K., Holsteg M.: **BVD-virus type 2 – An outbreak in Germany.** *Cattle Pract.*, 21. 216, 2013.

Done J.T., Terlecki S., Richardson C., Harkness J.W., Sands J.J., Patterson D.S.P., Sweasey D., Shaw I.G., Winkler C.E., Duffell S.J.: **Bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus: Pathogenicity for the fetal calf following maternal infection.** *Vet. Rec.*, 106. 473-479, 1980.

Doyle L.G., Heuschele W.P.: **Bovine viral diarrhoea virus-infection in captive exotic ruminants.** *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 183. 1257–1259, 1983.

Drew T.W, Yapp F., Paton D.J.: **The detection of bovine viral diarrhoea virus in bulk milk samples by the use of a single-tube RT-PCR.** *Vet. Microbiol.*, 64. 145-154, 1999.

Driskell E.A., Ridpath J.F.: **A survey of bovine viral diarrhoea virus testing in diagnostic laboratories in the United States from 2004 to 2005.** *J. Vet. Diagn. Invest.*, 18. 600-605, 2006.

Dubovi E.J.: **Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus.** *Biologicals* 41. 8-13, 2013.

Duffel S.J., Harkness J.W.: **Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle.** *Vet. Rec.*, 117. 240-245, 1985.

Evermann J.F., Barrington G.M.: **Clinical Features.** In: *Bovine viral diarrhoea virus - Diagnosis, management and control, first edition.* Szerk.: Goyal S.M., Ridpath J.F. Ames: Blackwell publishing, 2005. p. 105-119.

Fourichon C., Beaudeau F., Bareille N., Seegers H.: **Quantification of economic losses consecutive to infection of a dairy herd with bovine viral diarrhoea virus.** *Prev. Vet. Med.*, 72. 177-181, 2005.

Fray M.D., Paton D.J., Alenius S.: **The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control.** *Anim. Reprod. Sci.*, 60. 615-662, 2000.

Frederiksen B., Press C.M., Loken T., Odegaard S.A.: **Distribution of viral antigen in uterus, placenta and foetus of cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus.** *Vet. Microbiol.*, 64. 109-122, 1999.

Frey H.R., Flebbe U., Liess B.: **Pravalenz und klinische Symptomatik persistenter BVD-Virusinfektionen in Rinderbeständen Niedersachsens.** *Der Prakt. Tierarzt.*, 1. 49-52, 1996.

Fulton R.W., Purdy C.W., Confer A.W., Saliki J.T., Loan R.W., Briggs R.E., Burge L.J.: **Bovine viral diarrhoea viral infections in feeder calves with respiratory disease.** Can. J. Vet. Res., 64. 151-159, 2000.

Fulton R.W., Cook B.J., Step D.L., Confer A.W., Saliki J.T., Payton M.E., Burge L.J., Welsh R.D., Blood K.S.: **Evaluation of health status of calves and the impact on feedlot performance: assessment of a retained ownership programme for postweaning calves.** Can. J. Vet. Res., 66. 173-180, 2002.

Fulton R.W., Hessman B.E., Ridpath J.F., Johnson B.L., Burge L.J., Kapil S., Braziel B, Kautz K, Reck A.: **Multiple diagnostic tests to identify cattle with Bovine viral diarrhoea virus and duration of positive test results in persistently infected cattle.** Can. J. Vet. Res., 73. 117-124, 2009.

Fux R., Wolf G.: **Transient elimination of circulating bovine viral diarrhoea virus by colostral antibodies in persistently infected calves: A pitfall for BVDV-eradication programs?** Vet. Microbiol., 161. 13-19, 2013.

Gainer J.H.: **Demonstration of *Anaplasma marginale* with the fluorescent dye, acridine orange: comparisons with the complement-fixation test and Wright's stain.** Am. J. Vet. Res., 22. 882-886, 1961.

Garoussi M.T., Mehrzad, J.: **Effect of bovine viral diarrhoea virus biotypes on adherence of sperm to oocytes during in-vitro fertilization in cattle.** Theriogenology, 75. 1067-1075, 2011.

Givens M.D., Heath A.M., Brock K.V., Brodersen B.W., Carson R.L., Stringfellow D.A.: **Detection of bovine viral diarrhoea virus in semen obtained after inoculation of seronegative postpubertal bulls.** Am. J. Vet. Res., 4. 428-434, 2003.

Givens M.D., Riddell K.P., Zhang Y., Galik P.K., Stringfellow D.A., Brodersen B.W., Jackson J.A., Ellsworth M.A., Ficken M.D., Carson R.L., Wenzel J.G., Marley M.S.: **Use of a modified-live vaccine to prevent persistent testicular infection with bovine viral diarrhoea virus.** Vet Ther., 7. 305-318, 2006.

Givens M.D., Ridell K.P., Edmondson M.A., Walz P.H., Gard J.A., Zhang Y., Galik P.K., Brodersen B.W., Carson R.L., Stringfellow D.A.: **Epidemiology of prolonged testicular infections with bovine viral diarrhoea virus.** Vet. Microbiol., 139. 42-51, 2009.

Givens M.D., Marley M.S.: **Immunology of chronic BVDV-infections.** Biologicals, 41. 26-30, 2013.

Grahn T.C., Fahning M.L., Zemjanis R.: **Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhoea virus.** J. Am. Vet. Med. Assoc., 185. 429-432, 1984.

Graham D., O'Flaherty J., Stott A.: **Progress toward eradication of BVDV in Ireland.** In: 8th *ESVV Pestivirus Symposium*. Szerk.: Stahl K., Alenius S. Hannover: I. k., 2011.

Grooms D.: **Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis.** Theriogenology, 66. 624-628, 2006.

- Gunn G.J., Stott A.W., Humphry R.W.: **Modelling and costing BVD outbreaks in beef herds.** Vet. J., 167. 143-149, 2004.
- Haines D.M., Clark E.G., Dubovi E.J.: **Monoclonal antibody-based immunohistochemical detection of bovine viral diarrhoea virus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues.** Vet. Pathol., 29. 27-32, 1992.
- Haines D.M., Martin K.M., Clark E.G., Jim G.K., Janzen D.: **The immunohistochemical detection of *Mycoplasma bovis* and bovine viral diarrhoea virus in tissues of feedlot cattle with chronic, unresponsive respiratory disease and/or arthritis.** Can. Vet. J., 42. 857-860, 2001.
- Hamers C., Lecomte C., Kulcsár G., Lambot M., Pastoret P.P.: **Persistently infected cattle stabilise bovine viral diarrhoea virus leading to herd specific strains.** Vet. Microbiol., 61. 177-182, 1998.
- Hanon J.B., Van der Stede Y., Antonissen A., Mullender C., Tignon M., van den Berg T., Caij B.: **Distinction Between Persistent and Transient Infection in a Bovine Viral Diarrhoea (BVD) Control Programme: Appropriate Interpretation of Real-Time RT-PCR and Antigen-ELISA Test Results.** Transboundary and Emerging Disease, 61. 156-162, 2014.
- Hanson T.E., Johnson W.O., Gardner I.A., Georgiadis M.P.: **Determining the infection status of a herd.** J. Agricult. Biol. Environment. Statistics. (JABES), 8. 469-485, 2003.
- Horner G.W., Orr D.M.: **An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies against bovine pestivirus.** New Zealand Vet. J., 41. 123-125, 1993.
- Hornok S., Elek V., de la Fuente J., Naranjo V., Farkas R., Majoros G., Földvári G.: **First serological and molecular evidence on the endemicity of *Anaplasma ovis* and *A. marginale* in Hungary.** Vet Microbiol., 122. 316-22, 2007.
- Houe H.: **Serological analysis of a small herd sample to predict presence or absence of animals persistently infected with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in dairy herds.** Res. Vet. Sci. 53. 320-323, 1992.
- Houe H.: **Bovine virus diarrhoea virus: detection of Danish dairy herds with persistently infected animals by means of a screening test of ten young stock.** Prev. Vet. Med., 19. 241-248, 1994.
- Houe H.: **Epidemiology of bovine virus diarrhoea.** Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract., 11. 521-547, 1995.
- Houe H.: **Bovine virus diarrhoea virus (BVDV): Epidemiological studies of the infection among cattle in Denmark and USA.** In Thesis: The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, 1996.
- Houe, H.: **Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections.** Vet. Microbiol., 64. 89-107, 1999.
- Houe H.: **Economic impact of BVDV-infection in dairies.** Biologicals, 31. 137-143, 2003.

Houe H., Palfi V.: **Estimation of herd incidence of infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) in herds previously without animals persistently infected with BVDV.** Acta Vet. Scan., 34. 133-137, 1993.

Houe H., Baker J.C., Maes R.K., Ruegg P.L., Lloyd J.W.: **Application of antibody titers against bovine viral diarrhoea virus (BVDV) as a measure to detect herds with cattle persistently infected with BVDV.** J. Vet. Diag. Invest., 7. 327-332, 1995.

Houe H., Lindberg A., Moennig V.: **Test strategies in bovine viral diarrhoea virus control and eradication campaigns in Europe.** J. Vet. Diagn. Invest., 18. 427-436, 2006.

Kecskeméti S., Kiss I., Tanyi J.: **A szarvasmarha vírusos hasmenésének leküzdése.** Magy. Állatorv. Lapja, 120. 323-328, 1998.

Kecskeméti S., Kiss I.: **A szarvasmarha vírusos hasmenése.** Magy. Állatorv. Lapja, 121. 344-348, 1999.

Kelling C.L., Steffen D.J., Cooper V.L., Higuchi D.S., Eskridge K.M.: **Effect of infection with bovine viral diarrhoea virus alone, bovine rotavirus alone, or concurrent infection with both enteric diseases in gnotobiotic neonatal calves.** Am. J. Vet. Res., 63. 1179-1186, 2002.

Khan F., Vorster J.H., van Vuuren M., Mapham P.: **Evaluation of the effects of long-term storage of bovine ear notch samples on the ability of 2 diagnostic assays to identify calves persistently infected with bovine viral diarrhoea virus.** J. South Afr. Vet. Assoc. - Tydskrif Van Die Suid-Afrikaanse Veterinere Vereniging, 82. 18-23, 2011.

Kirkland P.D., Frost M.J., Finlaison D.S., King K.R., Ridpath J.F., Gu X.: **Identification of a novel virus in pigs—Bungowannah virus: a possible new species of pestivirus.** Virus Res., 129. 26-34, 2007.

Kocan K.M., Blouin E.F., Barbet A.F.: **Anaplasmosis control: past, present, and future.** Ann. N.Y. Acad. Sci., 916. 501-509, 2000.

Kocan K.M., de la Fuente J., Guglielmone A.A., Meléndez R.D.: **Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle.** Clin. Microbiol. Rev., 16. 698-712, 2003.

Kocan K.M., de la Fuente J., Step D.L., Blouin E.F., Coetzee J.F., Simpson K.M., Genova S.G., Boileau M.J.: **Current challenges of the management and epidemiology of bovine anaplasmosis.** Bovine Practitioner, 44. 93-102, 2010.

Kopper L., Tímár J.: **A génexpressziós profil a szolid tumorok diagnosztikájában és prognosztikájában.** Magyar Onkológia, 46. 3-9, 2002.

Kővágó Cs., Forgách P., Szabára Á., Mándoki M., Hornyák Á., Duignan C., Pásztiné Gere E., Rusvai M.: **Seroprevalence of bovine viral diarrhoea virus in Hungary – Situation before launching an eradication campaign.** Acta Vet. Hung., 63. 255-263, 2015.

Krutsay M.: **Patológiai technika.** Budapest: Medicina Könyvkiadó Rt., 1999. p. 279-286.

Kudron E.: **A nyugat-dunántúli szarvasmarha-állományok vírusos fertőzöttségének alakulása 1972-1996 között.** Magy. Állatorv. Lapja, 121. 264-266, 1999.

Kulcsár G., Soós P., Kucsera L., Glávits R., Pálfi V., Soós T., Joó T., Tuboly S.: **Pathogenicity of a bovine viral diarrhoea virus strain to pregnant sows.** Acta Vet. Hung., 49. 117-120, 2001.

Kümmerer B.M., Tautz N., Becher P., Thiel H., Meyers G.: **The genetic basis for cytopathogenicity of pestiviruses.** Vet. Microbiol., 77. 117-128, 2000.

Lanyon S., Anderson M., Bergman E., Reichel M.P.: **Validation and evaluation of a commercially available ELISA for the detection of antibodies specific to bovine viral diarrhoea virus (BVDv) ('bovine pestivirus').** Australian Vet. J., 91. 52-56, 2013.

Lanyon S.R., Hill F.I., Reichel M.P., Brownlie J.: **Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis.** Vet. J., 199. 201-209, 2014.

Lee S.R., Nanduri B., Pharr G.T., Stokes J.V., Pinchuk L.M.: **Bovine viral diarrhoea virus infection affects the expression of proteins related to professional antigen presentation in bovine monocytes.** Biochimica et Biophysica Acta, 1794. 14-22, 2009.

Liebler-Tenorio E.M.: **Pathogenesis.** In: *Bovine viral diarrhoea virus – Diagnosis, management and control.* Szerk.: Goyal S.M., Ridpath J.F. Ames: Blackwell Publishing, 2005. p. 121-143.

Liebler-Tenorio E.M., Ridpath J.F., Neill J.D.: **Distribution of viral antigen and development of lesions after experimental infection with highly virulent bovine viral diarrhoea virus type 2 in calves.** Am. J. Vet. Res., 63. 1575- 1584, 2002.

Liebler-Tenorio E.M., Ridpath J.F., Neill J.D.: **Distribution of viral antigen and tissue lesions in persistent and acute infection with the homologous strain of noncytopathic bovine viral diarrhoea virus.** J. Vet. Diagn. Invest., 16. 388-396, 2004.

Liebler-Tenorio E.M., Kenklies S., Greiser-Wilke I., Makoschey B., Pohlenz J.F.: **Incidence of BVDV1 and BVDV2 Infections in Cattle Submitted for Necropsy in Northern Germany.** J. Vet. Med. Series B., 53. 363-369, 2006.

Liess B.B., Orban S., Frey H.R.: **Studies on transplacental transmissibility of a bovine virus diarrhoea (BVD) vaccine virus in cattle.** Vet. Med., 31. 669-681, 1984.

Lindberg A.L.: **Bovine viral diarrhoea virus infections and its control.** Vet. Q., 25. 1-16, 2003.

Lindberg A.L.E., Alenius S.: **Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations.** Vet. Microbiol., 64. 197-222, 1999.

Lindberg A., Houe H.: 2005. **Characteristics in the epidemiology of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) of relevance to control.** Prev. Vet. Med., 72. 55-73, 2005.

Lindberg A., Brownlie J., Gunn G.J., Houe H., Moenning V., Saatkamp H.W., Sandvik T., Valle P.S.: **The control of bovine viral diarrhoea in Europe: today and in the future.** Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 25. 961-979, 2006.

Liu L., Lehmkuhl H.D., Kaeberle M.L.: **Synergistic effects of bovine respiratory syncytial virus and non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus infection on selected bovine alveolar macrophage functions.** Can. J. Vet. Res., 63. 41-48, 1999.

Lohr K.F., Ross J.P., Meyer H.: **Studies on homologous and heterologous antibody responses to infections with *Anaplasma marginale* and *A. centrale* using the indirect fluorescent antibody and capillary tube agglutination tests.** Z. Tropenmed. Parasitol., 24. 86-95, 1973.

Loken T., Bjerkas I.: **Experimental pestivirus infections in pregnant goats.** J. Comp. Pathol., 105. 123-140, 1991.

Luckins A.G.: **Detection of antibodies in trypanosome-infected cattle by means of a microplate enzyme-linked immunosorbent assay.** Trop. Anim. Health. Prod., 9. 53-62, 1977.

Madruga C.R., Kessler R.H., Gomes A., Schenk M.A.M., Andrade D.F.: **Níveis de anticorpos e parasitemia de *Anaplasma marginale* em área enzoótica, nos bezerros da raça Nelore, Ibagé e cruzamentos de Nelore.** Pesq. Agrop. Bras., 20. 135-142, 1985.

Madruga C.R., Marques A.P.C., Leal C.R.B., Carvalho C.M.E., Araújo F.R., Kessler R.H.: **Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against *Anaplasma marginale*.** Pesq. Vet. Bras., 20. 109-112, 2000.

Majer J., Hornyák Á., Ózsvári L., Bárdos K., Szabára Á.: **Nagylétszámú tejelő szarvasmarha-állomány BVD vírussal történő fertőződése legeltetés során.** Magy. Állatorv. Lapja, 136. 277-285, 2014.

Makoschey B., Sonnemans D., Bielsa J.M., Franken P., Mars M., Santos L., Alvarez M.: **Evaluation of the induction of NS3 specific BVDV antibodies using a commercial inactivated BVDV vaccine in immunization and challenge trials.** Vaccine, 25. 6140-6145, 2007.

Manninger R., Bartha A., Juhász M., Szent-Iványi T.: **Vizsgálatok a szarvasmarhák hazánkban előforduló, vírus okozta hasmenésének oktanáról.** Magy. Állatorv. Lapja, 18. 225-227, 1963.

Mars M.H., Van Maanen C.: **Diagnostic assays applied in BVDV control in the Netherlands.** Prev. Vet. Med., 72. 43-48, 2005.

Marshall D.J., Moxley R.A., Kelling C.L.: **Distribution of virus and viral-antigen in specific pathogen-free calves following inoculation with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus.** Vet. Pathol., 33. 311-318, 1996.

Martin S.W., Nagy E., Armstrong D., Rosendal S.: **The associations of viral and mycoplasmal antibody titers with respiratory disease and weight gain in feedlot calves.** Can. Vet. J., 40. 560-567, 1999.

Mason D.Y., Gatter K.C.: **The role of immunocytochemistry in diagnostic pathology.** J. Clin. Pathol., 40. 1042-1054, 1987.

Maurer K., Krey T., Moennig V., Thiel H.J., Rumenapf T.: **CD46 is a cellular receptor for**

bovine viral diarrhoea virus. J. Virol., 78. 1792-1799, 2004.

McGowan M.R., Kirkland P.D., Rodwell B.J., Kerr D.R., Carroll C.L.: **A field investigations of the effects of bovine viral diarrhoea virus -infection around the time of insemination on the reproductive performance of cattle.** Theriogenology, 39. 443-449, 1993.

McKercher D.G., Siato J.K., Crenshaw G.L.: **Complications in cattle following vaccination with acombined bovine viral diarrhoea-infection bovine rhonotracheitis vaccine.** J. Vet. Med. Assoc., 152. 1621-1624, 1968.

Merz H., Rickers O., Schrimel S., Orscheschek K., Feller A.C.: **Constant detection of surface and cytoplasmic immunoglobulin heavy and light chain expression in formalin-fixed and paraffinembedded material.** J. Pathol., 170. 257–264, 1993.

Mészáros J.: **A szarvasmarha-tenyésztés perspektíváját néhány vírus okozta betegségtől való mentesítés is javíthatja. Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottságának állásfoglalása.** Magy. Állatorv. Lapja, 120. 707-710, 1998.

Meyers G., Thiel H.J.: **Molecular characterization of pestiviruses.** Adv. Virus Res., 47. 53-117, 1996.

Miettinen M. **Immunohistochemistry in tumour diagnosis.** Ann. Med., 25. 221-233, 1993.

Mishra N., Dubey R., Rajukumar K., Tosh C., Tiwari A., Pitale S.S., Pradhan H.K.: **Genetic and antigenic characterization of bovine viral diarrhoea virus type 2 isolated from Indian goats (Capra hircus).** Vet. Microbiol., 124. 340-347, 2007.

Moen A.: **Boviene virus diarrree type 2.** G.D. Veterinair, 19. 3, 2013..

Moen A., Sol J., Sampimon O.C.: **Indication of transmission of BVDV in absence of persistently infected (PI) animals.** Prev. Vet. Med., 72. 93-98, 2005.

Moennig V., Liess B.: **Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhoea virus.** Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract., 11. 477-487, 1995.

Moennig V., Eicken K., Flebbe U., Frey H.R., Grummer B., Haas L., Greiser-Wilke I., Liess B.: **Implementation of two-step vaccination in the control of bovine viral diarrhoea (BVD).** Prev. Vet. Med., 72. 109-114, 2005.

Moening V., Becher P.: **Pestivirus control programs: how far have we come and where are we going?** Anim. Health Res. Rev., 16. 83-87, 2015.

Moerman A., Straver P.J., de Jong M.C., Quak J., Baanvinger T., van Oirschot J.T.: **A long term epidemiological study of bovine viral diarrhoea infections in a large herd of dairy cattle.** Vet. Rec., 132. 622-626, 1993.

Moerman A., Straver P.J., de Jong M.C., Quak J., Baanvinger T., van Oirschot J.T.: **Clinical consequences of a bovine virus diarrhoea virus infection in a dairy herd: a longitudinal study.** Vet. Quarterly, 16. 115-119, 1994.

Montgomery D.L.: **Distribution and cellular heterogeneity of bovine viral diarrhoea viral antigen expression in the brain of persistently infected calves: A new perspective.** Vet. Pathol. Online, 44. 643-654, 2007.

Munoz-Zanzi C.A., Thurmond M.C., Hietala S.K.: **Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy heifers.** Theriogenology, 61. 1085-1099, 2004.

Nair A.S., Ravindran R., Lakshmanan B., Sreekumar C., Kumar S.S., Raju R., Tresamol P.V., Vimalkumar M.B., Saseendranath M.R.: **Bovine carriers of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma bovis* in South India.** Trop Biomed., 30. 105-112, 2013.

Nelson D.D., Dark M.J., Bradway D.S., Ridpath J.F., Call N., Haruna J., Rurangirwa F.R., Evermann J.F.: **Evidence for persistent Bovine viral diarrhoea virus infection in a captive mountain goat (*Oreamnos americanus*).** J. Vet. Diagn. Invest., 20. 752-759, 2008.

Nettleton P.F., Entrican G.: **Ruminant pestiviruses.** British Vet. J., 151. 615-642, 1995.

Nettleton P.: **Bovine viral diarrhoea virus: biology, diagnosis and control.** Vet. Rec., 172. 447-448, 2013.

Niskanen R., Emanuelson U., Sundberg J., Larsson B., Alenius S.: **Effects of infection with bovine virus diarrhoea virus on health and reproductive performance in 213 dairy herds in one county in Sweden.** Prev. Vet. Med. 23. 229-237, 1995.

Niskanen R., Lindberg A., Larsson B., Alenius S.: **Lack of virus transmission from bovine viral diarrhoea virus infected calves to susceptible peers.** Acta Vet. Scand., 41. 93-99, 2000.

Niskanen R., Lindberg A., Traven M.: **Failure to spread bovine viral diarrhoea virus infection from primarily infected calves despite concurrent infection with coronavirus.** Vet. J., 163. 251-259, 2002.

Njaa B.L., Clark E.G., Janzen E., Ellis J.A., Haines D.M.: **Diagnosis of persistent bovine viral diarrhoea virus infection by immunohistochemical staining of formalin-fixed skin biopsy specimens.** J. Vet. Diagn. Invest., 5. 393-399, 2000.

O'Connor A., Martin S.W., Nagy E., Menzies P., Harland R.: **The relationship between the occurrence of undifferentiated bovine respiratory disease and titre changes to bovine coronavirus and bovine viral diarrhoea virus in 3 Ontario feedlots.** Can. J. Vet. Res., 65. 137-142, 2001.

Office International des Épizooties (OIE), Paris: Terrestrial Animal Health Code. 2012. URL: <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online>. Letöltve: 18/10/2014

Office international des épizooties (OIE), Paris: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animal. 2014. Chapter 2.4.1.

Ohmann H.B., Dalsgaard K.: **Indirect immunofluorescence using F(ab')₂ immunoreagents for the demonstration of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) antigen in lymphoid tissue.** Acta Vet. Scand., 21. 705-707, 1980.

Ohmann H.B., Jensen M.H., Sørensen K.J., Dalsgaard K.: **Demonstration of bovine viral diarrhoea virus antigen in cryostat- and paraffin-sections of bovine tissues by the immunoperoxidase technique.** Acta Pathol. Microbiol. Scand. C., 89. 281-285, 1981.

Olafson P., MacCallum A.D., Fox F.H.: **An apparently new transmissible disease of cattle.** Cornell Vet., 36. 205-213, 1946.

Ózsvári L., Bíró O., Illés B. Cs.: **A szarvasmarhák vírusos hasmenése és nyálkahártya-betegsége (BVD-MD) okozta veszteségek nagyságának számszerűsítése.** Magy. Állatorv. Lapja, 123. 555-560, 2001.

Ózsvári L.: **Állat-egészségügyi döntéselemzés a tejtermelő gazdaságokban.** PhD-értekezés, Gödöllő, 2004.

Ózsvári L., Muntyán J., Berkes Á.: **A légzőszervi betegségek (BRD) által okozott veszteségek a szarvasmarhatartásban.** Magy. Állatorv. Lapja, 134. 259-264, 2012.

Ózsvári L., Búza L.: **A szarvasmarhák légzőszervi betegsége (BRDC) elleni vakcinázás és gyógykezelés hazai nagy létszámú szarvasmarha-állományokban.** Magy. Állatorv. Lapja, 137. 203-210, 2015.

Ózsvári L., Józsi-Tóth I., Hankó-Faragó E., Szabára Á.: **Egy akut BVD járványkitörés termelési tapasztalatai és az ellene való védekezés gazdasági megtérülése egy hazai nagyüzemi holstein-fríz tehenészetben.** Magy. Állatorv. Lapja, 137. 579-586, 2015.

Palfi V., Houe H., Philipsen J.: **Studies on the decline of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) maternal antibodies and detectability of BVDV in persistently infected calves.** Acta Vet. Scand., 34. 105-107, 1993.

Pardon B., Hostens M., Stuyvaert S., Maris J., Sustronck B., Dewulf J., Deprez P.: **Seroepidemiology of respiratory infections in white veal calves under antimicrobial coverage and associations with respiratory disease and carcass traits.** In: *Morbidity, mortality and drug use in white veal calves with emphasis on respiratory disease.* Szerk.: Pardon B. PhD thesis, 2012. p. 215-235.

Passler T., Walz P.H., Ditchkoff S.S., Walz H.L., Givens M.D., Brock K.V.: **Evaluation of hunter-harvested white-tailed deer for evidence of bovine viral diarrhoea virus infection in Alabama.** J. Vet. Diagn. Invest., 20. 79-82, 2008.

Passler T., Ditchkoff S.S., Givens M.D., Brock K.V., DeYoung R.W., Walz P.H.: **Transmission of bovine viral diarrhoea virus among white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*).** Vet. Res., 41. 20, 2010.

Patel J.R., Shilleto R.W., Givens M.D., Brock K.V., DeYoung R.W., Walz P.H.: **Prevention of transplacental infection of bovine fetus by bovine viral diarrhoea virus through vaccination.** Arch. Virol., 147. 2453-2463, 2002.

Paton D., Gunn M., Sands J., Yapp F., Drew T., Vilcek S., Edwards S.: **Establishment of serial persistent infections with bovine viral diarrhoea virus in cattle and sheep and changes in epitope expression related to host species.** Arch. Virol., 142. 929-938, 1997.

Pedreira M., Gómez-Villamandos J.C., Molina V., Rivalde M.A., Rodríguez-Sánchez B., Sánchez-Cordón P.J.: **Quantification and determination of spread mechanisms of bovine viral diarrhoea virus in blood and tissues from colostrum-deprived calves during an experimental acute infection induced by a non-cytopathic genotype 1 strain.** *Transbound. Emerg. Diseases.*, 59. 377-384, 2011.

Pedreira M., Gómez-Villamandos J.C., Rivalde M.A., Molina V., Sanchez-Cordon P.J.: **Characterisation of apoptosis pathways (intrinsic and extrinsic) in lymphoid tissues of calves inoculated with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus genotype 1.** *J. Comp. Pathol.*, 146. 30-39, 2012.

Pellerin C., Van Den Hurk J., Lecomte J., Tussen P.: **Identification of a new group of bovine viral diarrhoea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities.** *Virology*, 203. 260-268, 1994.

Peterhans E., Bachofen C., Stalder H., Schweizer M.: **Cytopathic bovine viral diarrhoea viruses (BVDV): Emerging pestiviruses doomed to extinction.** *Vet. Res.*, 41. 44, 2010.

Peterhans E., Schweizer M.: **BVDV: A pestivirus inducing tolerance of the innate immune response.** *Biologicals*, 41. 39-51, 2013.

Pillars R.B., Grooms D.L.: **Serologic evaluation of five unvaccinated heifers to detect herds that have cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus.** *Am. J. Vet. Res.*, 63. 499-505, 2002.

Potgieter L.N.: **Bovine respiratory tract disease caused by bovine viral diarrhoea virus.** *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.*, 13. 471-481, 1997.

Presi P., Struchen R., Knight-Jones T., Scholl S., Heim D.: **Bovine viral diarrhoea (BVD) eradication in Switzerland—Experiences of the first two years.** *Prev. Vet. Med.*, 99. 112-121, 2011.

Quinn H.E., Windsor P.A., Kirkland P.D., Ellis J.T.: **An outbreak of abortion in a dairy herd associated with *Neospora caninum* and bovine pestivirus infection.** *Austr. Vet. J.*, 82. 99-101, 2004.

R Core Team 2013 R: **A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2013.URL: <http://www.R-project.org/> Letöltve: 11/03/2015.

Radostits O.M., Littlejohns I.R.: **New concepts in the pathogenesis, diagnosis and control of diseases caused by the bovine viral diarrhoea virus.** *Can. Vet. J.*, 29. 513-528, 1988.

Ramos C.A., Araújo F.R., Santos R.C., Melo E.S., Sousa L.C., Vidal C.E., Guerra N.R., Ramos R.A.: **Development and assessment of a latex agglutination test based on recombinant MSP5 to detect antibodies against *Anaplasma marginale* in cattle.** *Braz. J. Microbiol.*, 45. 199-204, 2014.

Ramsey F.K., Chivers W.H.: **Mucosal disease of cattle.** *North Am. Vet.*, 34. 629-633, 1953.

Renshaw R.W., Ray R., Dubovi J.: **Comparison of virus isolation and reverse transcription polymerase chain reaction assay for detection of bovine viral diarrhoea virus in bulk milk tank samples.** J. Vet. Diagn. Invest., 12. 184-186, 2000.

Richer L., Marois P., Lamontagne L.: **Association of bovine viral diarrhoea virus with multiple viral infections in bovine respiratory disease outbreaks.** Can. Vet. J., 29. 713-717, 1998.

Ridpath J.F.: **Classification and molecular biology.** In: *Bovine viral diarrhoea virus – Diagnosis, management and control.* Szerk.: Goyal S.M., Ridpath J.F. Ames: Blackwell Publishing, 2005. p. 65-80.

Ridpath J.F.: **Bovine Viral Diarrhoea Virus: Global Status.** Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract., 26. 105-121, 2010a.

Ridpath J.F.: **The Contribution of Infections with Bovine Viral Diarrhoea Viruses to Bovine Respiratory Disease.** Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract., 26. 335-348, 2010b.

Ridpath J.F.: **Immunology of BVDV vaccines.** Biologicals, 41. 14-19, 2013.

Ridpath J.F., Neill J.D., Vilcek S., Dubovi E.J., Carman S.: **Multiple outbreaks of severe acute BVDV in North America occurring between 1993 and 1995 linked to the same BVDV2 strain.** Vet. Microbiol., 31. 3-4, 2006.

Ridpath J.F., Neill J.D., Peterhans E.: **Impact of variation in acute virulence of BVDV1 strains on design of better vaccine efficacy challenge models.** Vaccine, 25. 8058-8066, 2007.

Ridpath J.F., Fulton R.W.: **Knowledge gaps impacting the development of bovine viral diarrhoea virus control programmes in the United states.** J. Am. Vet. Med. Assoc., 235. 1171-1179, 2009.

Rossmann W., Deinhofer M., Janacek R., Trampler R., Wilhelm E.: **Voluntary and compulsory eradication of bovine viral diarrhoea virus in Lower Austria.** Vet. Microbiol., 142. 143-149, 2010.

Rymaszewska A., Grenda S.: **Bacteria of the genus *Anaplasma* – characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review.** Vet Med., 53. 573-584, 2008.

Saatkamp H.W., Stott A.W., Humphrey R.W., Gunn G.J.: **Socio-economic aspects of BVDV control, in: EU Thematic network of control of bovine viral diarrhoea virus (BVDV), BVDV control position paper.** 2005. URL: <http://www.BVDVcontrol.org/bilder/Position%20paper%20BVDV%20Control%20EU%20TN.pdf>. Letöltve: 06/05/2013.

Sandvik T.: **Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle.** Vet. Microbiol., 64. 123-134, 1999.

Sarrazin S., Veldhuis A., Meroc E., Vangeel I., Laureyns J., Dewulf J., Caij A.B., Piepers S., Hooyberghs J., Ribbens S., Van Der Stede Y.: **Serological and virological BVDV prevalence and risk factor analysis for herds to be BVDV seropositive in Belgian cattle herds.** Prev. Vet. Med., 108. 28-37, 2013a.

Sarrazin S., Dewulf J., Matthijs E., Laureyns J., Mostin L., Cay A.B.: **Virulence comparison and quantification of horizontal bovine viral diarrhoea virus transmission following experimental infection in calves.** In: *7th EPIZONE annual meeting.* Szerk.: Anonym. Brussels: I. k. 2013b.

Scherer C.F., Flores E.F., Weiblen R., Caron L., Irigoyen L.F., Neves J.P., Maciel M.N. : **Experimental infection of pregnant ewes with bovine viral diarrhoea virus type-2 (BVDV-2): effects on the pregnancy and fetus.** *Vet. Microbiol.*, 79. 285-299, 2001.

Schirrmeyer H., Strebelow G., Depner K., Hoffmann B., Beer M.: **Genetic and antigenic characterization of an atypical pestivirus isolate, a putative member of a novel pestivirus species.** *J. Gen. Virol.*, 85. 3647-3652, 2004.

Schreiber P, Dubois F., Dreze F., Lacroix N., Limbourg B., Coppe P.: **Prevalence of bovine virus diarrhoea virus infection in Belgian white blue cattle in southern Belgium.** *Vet. Q.*, 21. 28-32, 1999.

Scottish Agricultural College: **Economics of Eradicating BVD from Ireland.** 2010. URL: http://www.animalhealthireland.ie/pdf/BVD%20eradication%20CBA%20study%20Ireland_Report-Final.pdf Letöltve: 11/11/ 2011.

Seeger H.J., Schwarzmaier A., Miller T.: **BVD-bekämpfung – Bilanz nach über 1 Jahr.** *Vet. Spiegel*, 2. 87-90, 2012.

Shariar F.M., Clark E.G., Janzen E., West K., Wobeser G.: **Co-infection with bovine viral diarrhoea virus and *Mycoplasma bovis* in feedlot cattle with chronic pneumonia.** *Can. Vet. J.*, 43. 863-868, 2002.

Silva M., Wilkowsky S., De Echaide S.T., Farber M., Oliva A.: **Development of an immunosensor for the diagnosis of bovine anaplasmosis.** *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1081. 379-381, 2006.

Singh H., Jyoti, Haque M., Singh N.K., Rath S.S.: **Molecular detection of *Anaplasma marginale* infection in carrier cattle.** *Ticks Tick Borne Disease*, 3. 55-58, 2012.

Soós T., Tuboly S.: **Vakcinológia. A fertőző állatbetegségek immunoprofylaxisa.** Budapest: A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft., 2009. p. 187-188.

Stahl K., Lindberg A., Rivera H., Ortiz C., Moreno-López J.: **Self-clearance from BVDV infections – a frequent finding in dairy herds in an endemically infected region in Peru.** *Prev. Vet. Med.*, 83. 285-296, 2008.

Stevenson M., Nunes T., Heuer C., Marshall J., Sanchez J., Thornton R., Reiczigel J., Robison-Cox J., Sebastiani P., Solymos P., Yoshida K., Firestone S.: **epiR: Tools for the Analysis of Epidemiological Data. R package version 0.9-62.** 2015. URL: <http://CRAN.R-project.org/package=epiR>. Letöltve:11/03/2015.

Stoica G., Tasca S.I., Kim H.T.: **Point Mutation of neu Oncogene in Animal Peripheral Nerve Sheath Tumors.** *Vet. Pathol.*, 38. 679-688, 2001.

Stott A.W., Gunn G.J.: **Use of a benefit function to assess the relative investment potential of alternative farm animal disease prevention strategies.** *Prev. Vet. Med.*, 84. 179-193, 2008.

Stott A.W., Humphry R.W., Gunn G.J., Higgins I., Hennessy T., O'Flaherty J., Graham D.A.: **Predicted costs and benefits of eradicating BVDV from Ireland.** *Ir. Vet. J.* 65. 12-21, 2012.

Strong R., La Rocca S.A., Ibata G., Sandvik T.: **Antigenic and genetic characterisation of border disease viruses isolated from UK cattle.** *Vet. Microbiol.*, 141. 208-215, 2010.

Sturtz S., Ligges U., Gelman A.: **R2WinBUGS: A Package for Running WinBUGS from R.** *J. Statist. Software.*, 12. 1-16, 2005.

Szabára Á., Ózsvári L.: **A BVD-vírus előfordulása, gazdasági kártétele és mentesítési programjai Európában.** *Magy. Állatorv. Lapja*, 135. 285-293, 2013.

Szabára Á., Hajtós I., Földi J., Ózsvári L.: **A szarvasmarha vírusos hasmenése (BVD) elleni védekezés és mentesítés egyes igazgatási és szervezési kérdései.** *Magy. Állatorv. Lapja*, 135. 643-654, 2013.

Szabára Á., Ózsvári L.: **Economic impacts, control and eradication of Bovine Viral Diarrhoea virus.** In: *Challenges for the Agricultural Sector in Central and Eastern Europe.* Szerk.: Dunay A. Budapest: Agroinform Kiadó, 2014. p. 247-258.

Szabára Á., Majer J., Hornyák Á.: **A szarvasmarha BVD vírusával történő fertőződése és a fertőzöttség diagnosztikai lehetőségei hazánkban.** *Magy. Állatorv. Lapja*, 136. 451-460, 2014.

Szabára Á., Albert E., Somogyi A., Józsi-Tóth I., Majer J., Lang Zs.: **Anaplasma marginale fertőzés szeroprevalenciája és a fertőzés esélye hazai nagy létszámú tejelő tehenészetben.** *Magy. Állatorv. Lapja*, 137. 343-349, 2015.

Tassi P., Carelli G., Ceci L.: **Tick-borne diseases (TBDs) of dairy cows in a Mediterranean environment: a clinical, serological, and hematological study.** *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 969. 314-317, 2002.

Terpstra C., Wensvoort G.: **A congenital persistent infection of bovine virus diarrhoea virus in pigs: clinical, virological and immunological observations.** *Vet. Q.*, 19. 97-101, 1997.

Toen C.O., Waite K.J.: **Some immune responses of cattle exposed to *Mycobacterium paratuberculosis* after injection with live-modified bovine viral diarrhoea vaccine.** *J. Vet. Diag. Inv.*, 2. 176-179, 1990.

Thür B., Hilbe M., Strasser M., Ehrensperger F.: **Immunohistochemical diagnosis of pestivirus infection associated with bovine and ovine abortion and perinatal death.** *Am. J. Vet. Res.*, 58. 1371-1375, 1997.

Trautwein G., Hewicker M., Liess B., Orban S., Grunert E.: **Studies on the transplacental transmissibility of a bovine virus diarrhoea (BVD) vaccine virus in cattle III.**

Occurrence of central nervous system malformations in calves born from vaccinated cows. J. Vet. Med. Series B, 33. 260-268, 1986.

Tremblay R.: **Transmission of bovine viral diarrhoea virus.** Vet. Med., 91. 858-864, 1996.

Uttenthal A., Grondahl C., Hoyer M.J., Houe H., Van Maanen C., Rasmussen T.B.: **Persistent BVDV infection in mousedeer infects calves - do we know the reservoirs for BVDV?** Prev. Vet. Med., 72. 87-91, 2005.

Valle P.S.: **Bovine virus diarrhoea virus epidemiological studies of the infection and the cost-benefit of control in Norway.** In Thesis: The Norwegian School of Veterinary Science, Oslo, Norway. 2000.

Valle P.S., Skjerve E., Martin W., Larssen R.B., Osteras O., Nyberg O.: **Ten years of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) control in Norway: a cost-benefit analysis.** Prev. Vet. Med., 72. 189-207, 2005.

Van Campen H.: **Epidemiology and control of BVD in the U.S.** Vet. Microbiol., 142. 94-98, 2010.

Van Campen H., Ridpath, J., Williams E., Cavender J., Edwards J., Smith S., Sawyer H.: **Isolation of bovine viral diarrhoea virus from a free-ranging mule deer in Wyoming.** J. Wildl. Dis., 37. 306-311, 2001.

Varga J., Tuboly S., Mészáros J.: **A háziállatok fertőző betegségei (Állatorvosi járványtan II).** Budapest: Mezőgazda Kiadó, 1999. p. 413-417.

Videnova K., Mackay D.K.J.: **Availability of vaccines against major animal diseases in the European Union.** Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 31. 971-978, 2012.

Viet A.F., Fourichon C., Seegers H., Jacob C., Guihenneuc-Jouyaux C.: **A model of the spread of the bovine viral diarrhoea virus within a dairy herd.** Prev. Vet. Med., 63. 211-236, 2004.

Vilcek S., Alenius S., Mittelholzer D.J., Mittelholzer C., Belak S.: **Genetic clustering of bovine viral diarrhoea viruses in cattle farms: genetic identification and analysis of viruses directly from cattle sera.** Vet. J. 158. 33-38, 1999.

Vilcek S., Paton D.J., Rowe L.W., Anderson E.C.: **Typing of pestiviruses from eland in Zimbabwe.** J. Wildl. Dis., 36. 165-168, 2000.

Vilcek S., Durkovic B., Kolesarova M., Paton D.J.: **Genetic diversity of BVDV: Consequences for classification and molecular epidemiology.** Prev. Vet. Med., 72. 31-35, 2005.

Vilcek S., Nettleton P.F.: **Pestiviruses in wild animals.** Vet. Microbiol., 116. 1-12, 2006.

Voges H., Horner G.W., Rowe S., Wellenberg G.J.: **Persistent bovine pestivirus infection localized in the testes of an immune-competent, non-viraemic bull.** Vet. Microbiol., 61. 165-175, 1998.

Voges H., Nash M., Trotter T.: **The impact of herd exposure to BVD on somatic cell levels and regional variation of BVD exposure amongst dairy herds in New Zealand.** In: *Proceedings of the 7th ESVV Pestivirus Symposium.* Szerk: Anonym. Uppsala, 2008. p. 100.

Waage S.: **Influence of new infection with bovine virus diarrhoea virus on udder health in Norwegian dairy cows.** *Prev. Vet. Med.*, 43. 123-135, 2000.

Walz P.H., Bell T.G, Steficek B.A., Kaiser L., Maes R.K., Baker J.C.: **Experimental model of type 2 bovine viral diarrhoea virus-induced thrombocytopenia in neonatal calves.** *J. Vet. Diag. Inv.*, 11. 505-514, 1999.

Webb B.T., Norrdin R.W., Smirnova N.P., Van Campen H., Weiner C.M., Antoniazzi A.Q., Bielefeldt-Ohmann H., Hansen T.R.: **Bovine viral diarrhoea virus cyclically impairs long bone trabecular modeling in experimental persistently infected fetuses.** *Vet. Pathol.*, 49. 930-940. 2012.

Wentink G.H., Dijkhuizen A.A.: **Economic consequences of an infection with the bovine diarrhoea virus (BVD virus) in 15 dairy farms.** *Tijdschrift voor diergeneeskunde*, 115. 1031-1040, 1990.

Wilhelmsen C.L., Bolin S.R., Ridpath J.F., Cheville N.F., Kluge J.P.: **Experimental primary postnatal bovine viral diarrhoea viral infections in six-month-old calves.** *Vet. Pathol.*, 27. 235-243, 1990.

Yamane D., Nagai M., Ogawa Y., Tohya Y., Akashi H.: **Enhancement of apoptosis via an extrinsic factor, TNF alpha in cells infected with cytopathic bovine viral diarrhoea virus.** *Microbes Infect.*, 7. 1482-1491, 2005.

Yoshihara E., Vidotto O., Yamamura M.H., Marana E.R.M., Pacheco R., Silveira A.P.: **Studies of natural infection with *Anaplasma marginale* in Nelore cattle in the Umuarama municipality, Paraná State, Brazil.** *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 12. 21-26, 2003.

7. A doktori kutatás eredményeinek közlései

7. 1. Lektorált, impakt faktorról bíró tudományos folyóiratban megjelent/elfogadott publikációk (szakcikkek)

Szabára Á., Lang Zs., Földi J., Hornyák Á., Abonyi T., Ózsvári L.: **Prevalance of Bovine Viral Diarrhoea Virus in Cattle Farms in Hungary**, Act. Vet. Hung., 64. 263-272, 2016.

Szabára Á., Majer J., Ózsvári L., Jakab Cs., Baumgartner W.: **Co-infection with bovine viral diarrhoea virus and *Anaplasma marginale* in dairy cattle herd may lead to acute bovine anaplasmosis**, Veterinarni Medicina, 61. 504-515, 2016.

Kővágó Cs., Forgách P., Szabára Á., Mándoki M., Hornyák Á., Duignan C., Pásztiné Gere E., Rusvai M.: **Seroprevalence of Bovine Viral Diarrhoea Virus in Hungary – situation before launching an eradication campaign**, Act. Vet. Hung., 63. 255-263, 2015.

Szabára Á., Ózsvári L.: **A BVD-vírus előfordulása, gazdasági kártétele és mentesítési programjai Európában**, Magy. Állatorv. Lapja, 135. 285-292, 2013.

Szabára Á., Hajtós I., Földi J., Ózsvári L.: **A szarvasmarha vírusos hasmenése (BVD) elleni védekezés és mentesítés egyes igazgatási és szervezési kérdései**, Magy. Állatorv. Lapja, 135. 643-654, 2013.

Majer J., Hornyák Á., Ózsvári L., Bárdos K., Szabára Á.: **Nagy létszámú tejelő szarvasmarha-állomány fertőződése BVD-vírussal legeltetés során**, Magy. Állatorv. Lapja, 136. 277-285, 2014.

Szabára Á., Majer J., Hornyák Á.: **A szarvasmarha fertőződése BVD-vírussal és a fertőzöttség diagnosztikai lehetőségei hazánkban**, Magy. Állatorv. Lapja, 136. 451-460, 2014.

Szabára Á., Albert E., Somogyi A., Józsi-Tóth I., Majer J., Lang Zs.: ***Anaplasma marginale* fertőzés szeroprevalenciája és a fertőzés esélye hazai nagy létszámú tejelő tehenészetben**, Magy. Állatorv. Lapja, 137. 343-349, 2015.

Ózsvári L., Józsi-Tóth I., Hankó-Faragó E., Szabára Á.: **Egy akut BVD járványkitörés termelési tapasztalatai és az ellene való védekezés gazdasági megtérülése egy hazai nagyüzemi holstein-fríz tehenészetben**, Magy. Állatorv. Lapja, 137. 579-586, 2015.

7. 2. Könyvek, könyvfejezetek

Szabára Á., Ózsvári L.: **Economic impacts, control és eradication of Bovine Viral Diarrhoea virus**. In: *Challenges for the Agricultural Sector in Central és Eastern Europe*. Szerk.: Dunay A. Budapest: Agroiinform Kiadó, 2014. p. 247-258. (ISBN:978-963-502-974-7)

7. 3. Konferencia prezentációk

Szabára Á., Lang Zs., Földi J., Hornyák Á., Abonyi T., Ózsvári L.: **A szarvasmarha vírusos hasmenése vírusának (BVDV) szero- és vírusprevalenciája Magyarországon.**

Szerk.: Szenci O., Brydl E.

A Magyar Buiatrikus Társaság 25. Nemzetközi Kongresszusa, Budapest, 2015. szeptember 13-19. Budapest: A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft., 2014.

Szabára Á., Albert E., Jakab Cs., Majer J., Lang Zs.: **Anaplasma marginale fertőzöttség szeroprevalenciája és az életkor, mint rizikófaktor vizsgálata hazai nagy létszámú tejlő tehenészetben.**

Szerk.: Szenci O., Brydl E.

A Magyar Buiatrikus Társaság 25. Nemzetközi Kongresszusa, Budapest, 2015. szeptember 13-19. Budapest: A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft., 2014.

Szabára Á., Majer J., Ózsvári L., Jakab Cs.: **BVD vírusával perzisztensen fertőzött borjú szöveteinek immunhisztokémiai vizsgálata.** MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2015. január 27.

Szabára Á., Jakab Cs., Somogyi A., Majer J.: **Szubklinikai anaplasmosis klinikai megjelenése akut BVD-fertőzés hatására nagyüzemi Holstein-fríz tehenészetben.** MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2015. január 27.

Szabára Á., Jakab Cs., Somogyi A., Majer J.: **Szubklinikai anaplasmosis klinikai megjelenése akut BVD-fertőzés hatására nagyüzemi Holstein-fríz tehenészetben.**

Szerk.: Szenci O., Brydl E.

A Magyar Buiatrikus Társaság 24. Nemzetközi Kongresszusa, Hajdúszoboszló, 2014. október 15-18. Budapest: A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft., 2014. p. -. (ISBN:978-963-87942-7-7)

Szabára Á., Majer J., Ózsvári L., Jakab Cs.: **BVD vírusával perzisztensen fertőzött borjú szöveteinek immunhisztokémiai vizsgálata.**

Szerk.: Szenci O., Brydl E.

A Magyar Buiatrikus Társaság 24. Nemzetközi Kongresszusa, Hajdúszoboszló, 2014. október 15-18. Budapest: A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft., 2014. p. 27-31. (ISBN:978-963-87942-7-7)

Szabára Á.: **A BVDV elleni védekezés jogszabályi alapjai.** MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2014. január 28.

Szabára Á., Bárdos K., Hajtós I., Ózsvári L.: **Hazai szarvasmarhatelepek BVDV-fertőzöttségének legfőbb okát képező PI-egyedek azonosítása IDEXX BVDV Antigen POC farmteszt segítségével.** MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2014. január 28.

Szabára Á., Ózsvári L.: A BVDV járványtani helyzetének alakulása Magyarországon 2008-2012 között.

Szerk.: Szenci O., Brydl E., Jurkovich V.

A Magyar Buiatrikus Társaság 23. Nemzetközi Kongresszusa, Siófok, 2013. október 16-19.
Siófok: A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft., 2013. p. 5-10.
(ISBN:978-963-87942-6-0)

Szabára Á., Ózsvári L.: A BVDV elleni védekezés nemzetközi és hazai igazgatási vonatkozásai.

Szerk.: Szenci O., Brydl E., Jurkovich V.

A Magyar Buiatrikus Társaság 23. Nemzetközi Kongresszusa, Siófok, 2013. október 16-19.
Siófok: A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft., 2013. p. 11-15.
(ISBN:978-963-87942-6-0)

Földi J., Szabára Á., Lehardt K., Hajtós I., Lang Zs., Ózsvári L.: **A szarvasmarha vírusos hasmenése (BVD) állományon belüli terjedése, az állományfelmérő vizsgálatok módja, jelentősége.**

Szerk.: Szenci O., Brydl E., Jurkovich V.

A Magyar Buiatrikus Társaság 23. Nemzetközi Kongresszusa, Siófok, 2013. október 16-19.
Siófok: A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft., 2013. p. 16-20.
(ISBN:978-963-87942-6-0)

Szabára Á., Ózsvári L.: Prevalence of BVD virus, its economic losses and eradication programs in Europe. In: *Business Management - Practice és theory in the 21st century* Szerk.: Horská E., Ubreziova I. Nitra: Slovak Agricultural University, 2013. p. 117. (ISBN:978-80-552-1024-7)

Szabára Á., Ózsvári L.: A BVD vírus európai előfordulása a mentesítési programok hatására. MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2013. január 26.

Szabára Á., Ózsvári L.: Prevalence of BVD virus, its economic losses és eradication programs in Europe.

Szerk.: Horská E., Ubreziova I.

Business Management - Practice és theory in the 21st century. Nitra, Szlovákia, 2013. July 06.-2013. July 07. (ISBN:978-80-552-1026-1)

Szabára Á., Ózsvári L.: A BVD vírus előfordulása és mentesítési programok Európában.

Szerk.: Szenci O., Brydl E., Jurkovich V.

A Magyar Buiatrikus Társaság 22. Nemzetközi Kongresszusa, Kecskemét, 2012. október 17-20.

Kecskemét: A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft., 2012. p. 60-64. (ISBN:978-963-87942-5-3)

8. Köszönetnyilvánítás

Tudományos munkám anyagi és infrastrukturális feltételeinek maradéktalan biztosításában, valamint a kutatás menetének irányításában, a kapott eredmények értékelésében és a publikációim kéziratainak lektorálásában nyújtott segítségéért szeretnék köszönetet mondani témmavezetőmnek, Dr. Ózsvári László tanszékvezetőnek.

Köszönöm Dr. Hornyák Ákosnak, társtémavezetőmnek a támogatását, szakmai tanácsait és értékes észrevételeit.

Köszönettel tartozom Dr. Lang Zsoltnak a statisztikai elemzésben nyújtott kiemelkedő segítségéért és megbízható, páratlan színvonalú munkájáért.

Köszönöm Dr. Földi Józsefnek, hogy folyamatos iránymutatásával és kiemelkedő szakmai hozzáértésével hozzájárult az eredmények értékeléséhez és a publikációim kéziratainak javításához.

Külön köszönöm Dr. Hajtós Istvánnak, hogy magas színvonalú igazgatási ismereteivel és hasznos iránymutatásával segítette az eredmények megértését és kiértékelését.

Köszönöm Dr. Majer Józsefnek a közös telepi kutatómunka lehetőségét és az eredmények objektív értékeléséhez szükséges háttér megismertetését.

Külön köszönettel tartozom Dr. Abonyi Tamásnak, hogy lehetővé tette számomra a kutatásom alapját képező prevalencia eredményekhez szükséges, a NÉBIH ÁDI BVD-vel kapcsolatos diagnosztikai adatok felhasználását. Köszönöm Dr. Malik Péternek, hogy munkájával segítette a NÉBIH ÁDI adatainak kezelésében.

Köszönettel tartozom Prof. Rusvai Miklósnak, hogy a SzIE ÁOTK Patológiai Tanszéken biztosította az immunhisztokémiai munkámhoz szükséges személyi és infrastrukturális feltételeket.

Köszönöm Pop Renáta szövettani asszisztens lelkiismeretes, megbízható munkáját.

Köszönöm Kiss Józsefné Oláh Edit Margitnak a kutatásaimhoz szükséges cikkek hozzáféréseben nyújtott gyors és megbízható munkáját.

Köszönöm Csabának, férjemnek és gyermekeimnek, Botondnak, Nándornak, Endrének és Dorinának a szeretetet és türelmet, és szüleimnek pedig, hogy mindig mellettem álltak és támogatásukkal lehetővé tették számomra, hogy időt és energiát fordíthassak kutatásaimra.