

# MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA

Hungarian Veterinary Journal

Vol. 143. No. 6. – Budapest, June 2021.

Established by Prof. B. Nádaskay, 1878

## LÓ

A többszörös ovuláció kiváltásának lehetőségei és akadályai kancákban

## SERTÉS

Embrióátültetés sertésben  
– Az asszisztált reprodukció nélkülözhetetlen módszere

## BAROMFI

SORCS2-polimorfizmus és a viselkedési mintázat összefüggései új, kísérleti tojóhibrid-állományokban

## EGZOTIKUS ÁLLAT

Elektrokardiográfiai referenciaértékek meghatározása nem-altatott aldobrai óriásteknősökben (*Aldabrachelys gigantea*, Schweigger, 1812)

## JÁRVÁNYTAN

Fertőző betegségek laboratóriumi kórjelzése elegyminták vizsgálatával

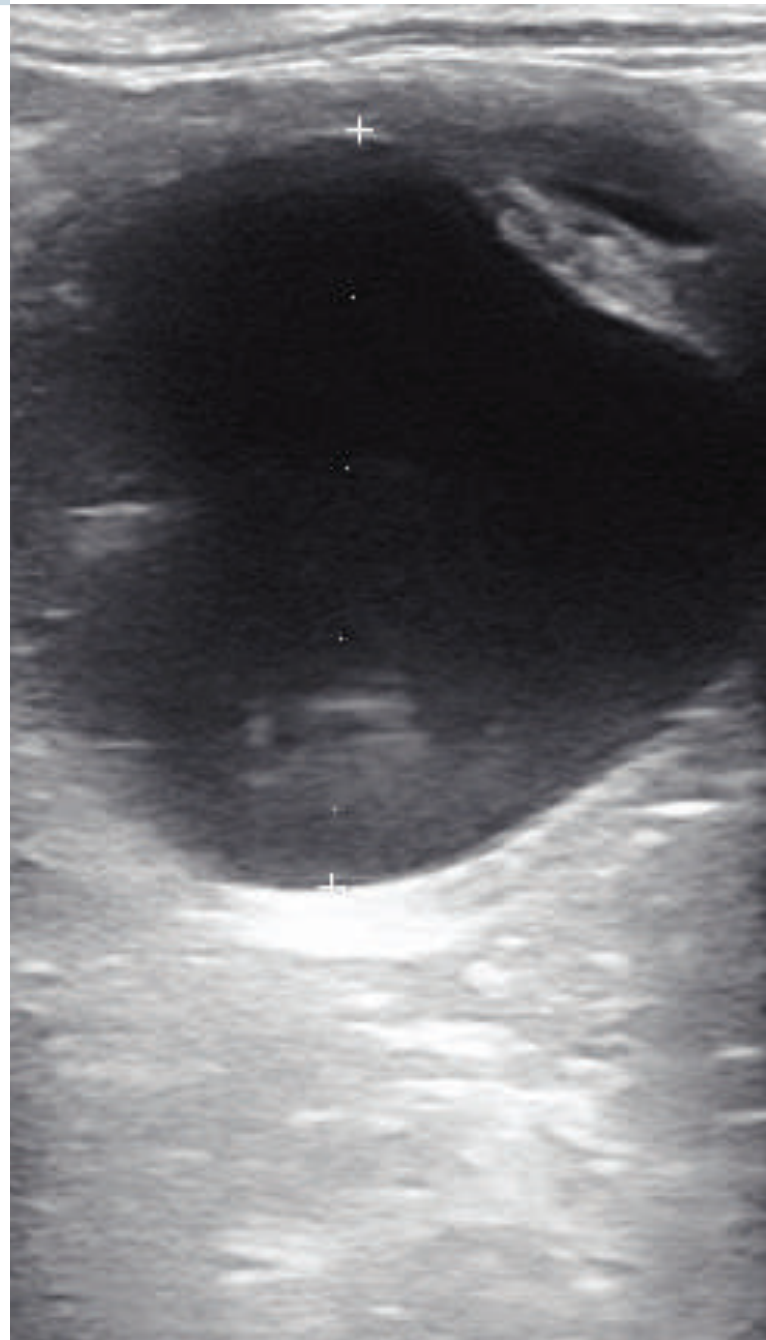
## SAJTÓKÖZLEMÉNY

## TALLÓZÁSOK

## AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK

Állathigiéna, állattenyésztés, genetika, takarmányozástan

*Praeovulációs tüsző ultrahangképe kancában*



# Bemutatjuk:

# Credelio™ PLUS

**Az első endektocid, amely az extra tisztítószer átésett lotilanert (tisztá enantiomer) a megbízható milbemcin-oximmal kombinálja\***

- Védelmet nyújt a kullancsok és a bolhák ellen, PLUSZ az orsóféreg, a kampóféreg és az ostorféreg ellen, PLUSZ megelőzi a tüdőférgesség és a szívférgesség kialakulását\*
- Hatásos a bélféregek lárvá-<sup>+</sup> és kifejlett stádiumai ellen egyaránt\*
- Ezt a havonta adandó rágótablettát a kezelendő kutyák 100%-ának sikeresen beadták\*.<sup>1</sup>
- Feladult kutyák és kölyökkutyák számára, már 8 hetes kortól kezdve és 1,4 kg-os testtömeg felett adható\*

Írja fel az ÚJ Credelio™ Plus készítményt!



A terméket bemutató fényképek szimbolikusak.

**HASZNÁLATI UTASÍTÁS** Credelio Plus 56,25 mg/2,11 mg rágótabletta kutyáknak (1,4–2,8 kg) / Credelio Plus 112,5 mg/4,22 mg rágótabletta kutyáknak (> 2,8–5,5 kg) / Credelio Plus 225 mg/8,44 mg rágótabletta kutyáknak (> 5,5–11 kg) / Credelio Plus 450 mg/16,88 mg rágótabletta kutyáknak (> 11–22 kg) / Credelio Plus 900 mg/33,75 mg rágótabletta kutyáknak (> 22–45 kg) **3**. **A FORGALOMBA HOZATALI ENGEDÉLY JOGSÚLTJÁNAK, TOVÁBBÁ AMENNYIBEN ETTŐL ELTÉR, A GYÁRTÁSI TÉTELEK FELSZABADÍTÁSÁÉRT FELELŐS GYÁRTÓNAK A NEVE ÉS CÍME** A forgalomba hozatali engedély jogosultja: Elanco GmbH/Heinz-Lohmann-Str. 4/27472 Cuxhaven/Németország. A gyártási tétel felszabadításáért felelős gyártó: Elanco France S.A.S. 26 Rue de la Chapelle 68330 Huinguey/Franciaország. **2. AZ ÁLLATGYÓGYSZÁRI KÉSZÍTMÉNY NEVE** Credelio Plus 56,25 mg/2,11 mg rágótabletta kutyáknak (1,4–2,8 kg) / Credelio Plus 112,5 mg/4,22 mg rágótabletta kutyáknak (> 2,8–5,5 kg) / Credelio Plus 225 mg/8,44 mg rágótabletta kutyáknak (> 5,5–11 kg) / Credelio Plus 450 mg/16,88 mg rágótabletta kutyáknak (> 11–22 kg) / Credelio Plus 900 mg/33,75 mg rágótabletta kutyáknak (> 22–45 kg). **3. HATÁNYANYAGOK ÉS EGYÉB ÖSSZETEVŐK MEGNEVEZÉSE** Minden rágótablettát a következők tartalmaznak: Hatóanyag: milbemcin-oxid (100%), lotilaner (tisztá enantiomer). **4. JAVALLATOK** Vagyis kullancs, bolha, tüdőférgesség, szívféreg és/vagy tüdőférgesség elleni kezelés és megelőzés, valamint a tüdőférgesség megelőzése. **5. ELLENJÁVALLATOK** Nem alkalmazható a hatóanyagokkal vagy a készítménnyel szemben túlérzékeny kutyáknál történő alkalmazásra. Ennek az állatgyógyászati készítménynek a használata akkor javasolt, ha a kullancsok bolhák és a gyomor-bélrendszeri fonálféreg elleni kezelés és megelőzés, valamint a tüdőférgesség megelőzése egyidejűleg szükséges. Kullancsok és bolhák kutyák esetében a kullancs (*Dermacentor reticulatus*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus sanguineus* és *L. haemophysalis*), valamint bolhafertőzések (*Ctenocephalides felis* és *C. canis*) kezelésére. Az állatgyógyászati készítmény azonnali és tartós álhátással bír 1 hónapon keresztül bolhák és kullancsok esetében. Az állatgyógyászati készítmény a behalpség okozta allergiás bőrgyulladás ( flea allergy dermatitis) FAD) elleni kezelési stratégia részeként használható. Gyomor-bélrendszeri fonálféreg Gyomor-bélrendszeri fonálféreg-fertőzések kezelésére a következő fajok esetében: kampóféreg (L4, kifejletlen felnőtt (LS) és kifejlett *Ancylostoma caninum*), orsóféreg (L4, kifejletlen felnőtt (LS) és kifejlett *Toxocara canis*, illetve kifejlett *Toxascaris leonina*), valamint ostorféreg (kifejlett *Trichouris vulpis*). Szívféreg Szívférgesség (*Dirofilaria immitis*) megelőzése. Tüdőféreg Havi rendszerességgel alkalmazva az angiosztrogilis megelőzésére a kifejletlen felnőtt (LS) és felnőtt *Angiostrongylus vasorum* (tüdőféreg) való fertőzőség szintjének a csökkentése által. **6. MELLEKHATÁSOK** Nem gyakori előfordulással számoltak be gyomor-bélrendszeri tünetekről (hasmenés és hányás), anorexiáról, izomremegésről, letargiáról, vizelésről és viselkedéssel való változásokról. Ezek a tünetek általában kevesebb, mint 48 óráig tartanak, és nem igényelnek kezelést. A mellekhatások gyakoriságát az alábbi útmutatás szerint kell meghatározni: nagyon gyakori (10 kezelt állatból több mint 10% jelentkezik), gyakori (100 kezelt állatból több mint 10%, de kevesebb mint 10% jelentkezik), nem gyakori (1000 kezelt állatból több mint 10%, de kevesebb mint 10% jelentkezik), ritka (10000 kezelt állatból több mint 10%, de kevesebb mint 10% jelentkezik), nagyon ritka (10000 kezelt állatból kevesebb mint 10% jelentkezik, beleértve az izolált eseteket is). Ha bármilyen mellékhatást észlel, még ha nem is szerepel ebben a használati utasításban, vagy úgy gondolja, hogy a készítmény nem hatott, értesítse arról a kezelő állatorvosát. **7. CELÁLATT FAJOK** Kutyák. **8. ADAGOLÁS, ALKALMAZÁSI MÓDOK** (KÉLLÁLT FAJONKÉNT) Belsőleges alkalmazásra. Az állatgyógyászati készítményt a következő táblázatban megjelölt módon kell beadni: 20–41 mg lotilaner/tkg és 0,75–1,53 mg milbemcin-oxid/tkg dózis biztosítása érdekében. **9. A HELYES ALKALMAZÁSRA VONATKOZÓ JAVASLAT** A Credelio Plus egy ízletes, rágható zselés tablettát. A rágótablettát (ka) étetés közben vagy étetés után kell beadni. A > 45 kg testtömegű állatoknál a rendelkezésre álló hatáserősségek megfelelő kombinációját kell alkalmazni az ajánlott 20–41 mg lotilaner/kg és 0,75–1,53 mg milbemcin-oxid/kg dózis biztosítására. A kezelési útmutatnak a kutya egyéni közzétételénél, a helyi epidemiológiai helyzeten és/vagy a kutya által meglatogatott vagy meglatogatni kívánt egyéb területek epidemiológiai helyzetén kell alapulnia. Ha az állatorvos megítélése szerint a kutya a készítmény ismételt alkalmazását igényli, minden ezt követő alkalmazásnál be kell tartani a két adagolás közötti egyhónapos időtartamot. A készítményt olyan kutyáknál kell alkalmazni, amelynek teljes területe fertőző, ezért a kullancsok vagy bolhák és az endoparaziták gyomor-bélrendszeri fonálféreg és/vagy szívférgesség (tüdőféreg) megelőzésére). **10. ÉLÉLMÉZÉSEGESZÉGSÉGÜGYI VÁRAKOZÁSI IDŐ(K)** Nem értelmezhető. **11. KÜLÖNLEGES TÁROLÁSI ELŐIRÁSOK** Gyermekek elől gondosan el kell zárni! Az eredeti csomagolásban tárolandó. Ez az állatgyógyászati készítmény különleges tárolást nem igényel. Ez az állatgyógyászati készítmény csak a kartondobozban és a buborékosomagolásban feltüntetett lejárati időn belül szabad felhasználásra kerül. A lejárati idő az adott hónap utolsó napjára vonatkozik. **12. KÜLÖNLEGES FIGYELMEZTETÉSEK** Különleges figyelmeztetés minden célját fűzi a forgalomba hozatalhoz. A háztartásban élő kutyák megfelelő készítményt kell kezelni. A bolhák és a kullancsok magukkal viszik a kullancsokat a gazdaságba, a gazdaságba és el kell kezdeniük a tisztítást, hogy a háztartással érintkezésbe kerülésük miatt a kullancsok behatoljanak a gazdaságba. Az állatgyógyászati készítményt az egyes esetek egyedi értékelése alapján, a célállat fajok aktuális érzékenysége valamint az állatgyógyászati információk figyelembevételével kell alkalmazni, annak érdekében, hogy a rezisztencia megelőzése érdekében a kullancsok elleni hatóanyagok felhasználásának csökkentésére kerüljön sor. A készítmények alkalmazásának csökkentése érdekében ajánlatos a kutyát ellenőrzési mind a kerítő, antiepileptikum, mind a vérértelmezés, mind az immunomodulátorok, mind az antiepileptikumok használatát leállítani, mind az antiepileptikumok használatát leállítani, mind a vérértelmezés, mind az immunomodulátorok használatát leállítani. A készítmények alkalmazásának csökkentése érdekében ajánlatos a kutyát ellenőrzési mind a kerítő, antiepileptikum, mind a vérértelmezés, mind az immunomodulátorok használatát leállítani, mind a vérértelmezés, mind az immunomodulátorok használatát leállítani. **13. A FELNEM HASZNÁLT KÉSZÍTMÉNY VAGY HULLADÉKAINAK ÁRTALMATLANNÁ TETELÉRE VONATKOZÓ UTASÍTÁSOK (AMENNYIBEN SZÜKSÉGEK)** Az állatgyógyászati készítmény nem kerülhet a szennyvízbe vagy a háztartási hulladékba! Kérjük meg a kezelő állatorvosát vagy gyógyszerészt, hogy milyen módon semmisítse meg a továbbiakban nem szükséges állatgyógyászati készítményeket! Ezek az intézkedések a környezetet védik. **14. A HASZNÁLTÁSI UTASÍTÁS UTÓLÓ JOVÁHAGYÁSÁNAK PONDPTÁRA** Az állatgyógyászati készítményről részletes információ található az Európai Gyógyszerügynökség honlapján (<http://www.ema.europa.eu>). **15. TOVÁBBI INFORMÁCIÓK** Alumínium/alumínium buborékosomagolás külső kartondobozba csomagolva. Kiszárazási egység 1, 3, 6 vagy 18 tablettát. Előfordulhat, hogy nem minden kiszárazási egység kerül kereskedelmi forgalomba.

Credelio Plus rágótabletta	lotilaner (mg)	milbemcin oxim (mg)
kutyáknak (1,4–2,8 kg)	56,25	2,11
kutyáknak (> 2,8–5,5 kg)	112,5	4,22
kutyáknak (> 5,5–11 kg)	225	8,44
kutyáknak (> 11–22 kg)	450	16,88
kutyáknak (> 22–45 kg)	900	33,75

A kutya testtömege	A beadandó Credelio Plus tabletták erőssége és száma
1,4–2,8 kg	1
> 2,8–5,5 kg	1
> 5,5–11 kg	1
> 11–22 kg	1
> 22–45 kg	1
> 45 kg	A tabletták megfelelő kombinációja

1. Elanco belső adatok. \*Credelio Plus SPC EMA [Credelio Plus: A készítmény jellemzőinek összefoglalója. Európai Gyógyszerügynökség]. <sup>1</sup> *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*. #A tulajdonosai által kezelt 355 kedvezményt tartott kutya bevonásával végzett vizsgálat.

## LÓ / EQUINE

- 323.** Angyal E., Novotniné Dankó G., Vincze B.: A többszörös ovuláció kiváltásának lehetőségei és akadályai kancákban  
Irodalmi összefoglaló  
E. Angyal, G. Novotniné Dankó, B. Vincze: Achieving multiple ovulation in the mare – possibilities and limitations  
Literature review

## SERTÉS / PORCINE

- 341.** K.-P. Brüßow, P. Antosik, B. Kempisty, J. M. Jaskowski, Cseh S., X. Somsy, Rátky J.: Embrióátültetés sertésben – Az asszisztált reprodukció nélkülözhetetlen módszere  
Brüßow K.-P., Antosik P., Kempisty B., Jaskowski J. M., S. Cseh, Somsy X., J. Rátky: Embryo transfer in pig – The indispensable technique of assisted reproduction

## BAROMFI / POULTRY

- 351.** Sárvári Loretta Cs., Tempfli K., Szalai K., Zsédely E., Lencsés-Varga E., Almási A., Orbán A., Hidas A., Bali Papp Á.: SORCS2-polimorfizmus és a viselkedési mintázat összefüggései új, kísérleti tojóhibrid-állományokban  
L. Cs. Sárvári, K. Tempfli, K. Szalai, E. Zsédely, E. Lencsés-Varga, A. Almási, A. Orbán, A. Hidas, Á. Bali Papp: Genotyping of a SORCS2 polymorphism and behavioural trait associations in newly developed laying hen populations

## EGZOTIKUS ÁLLAT / EXOTIC ANIMAL

- 359.** Nógrádi A. L., Balogh M., Hoitsy M., Sós-Koroknai V., Vincze B., Kutasi O., Sós E.: Elektrokardiográfiai referenciaértékek meghatározása nem-altatott aldobrai óriásteknősökben (*Aldabrachelys gigantea*, Schweigger, 1812)  
A. L. Nógrádi, M. Balogh, M. Hoitsy, V. Sós-Koroknai, B. Vincze, O. Kutasi, E. Sós: Determination of normal electrocardiographic reference values in nonanaesthetized Aldabra giant tortoises (*Aldabrachelys gigantea*, Schweigger, 1812)

## JÁRVÁNYTAN / EPIDEMIOLOGY

- 367.** Sipos R., Földi J., Reiczigel J.: Fertőző betegségek laboratóriumi körjelzése elegyminták vizsgálatával  
R. Sipos, J. Földi, J. Reiczigel: Laboratory diagnosis of infectious diseases by testing pooled samples

## SAJTÓKÖZLEMÉNY

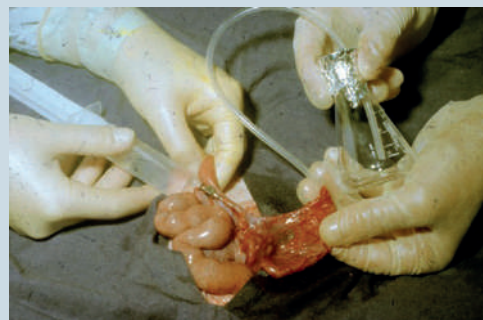
## TALLÓZÁSOK

## AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK

- 382.** Állathigiénia, állattenyésztés, genetika, takarmányozás



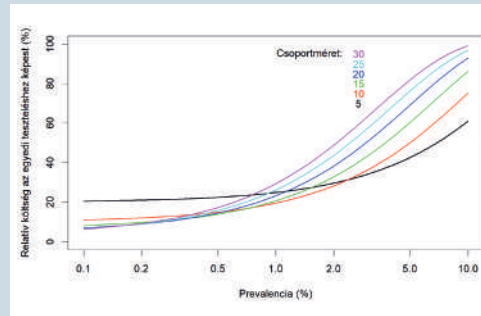
**327.** Fejlődő tüszők kanca petefészkén



**343.** Laparotómiai embriókinyerés sertésben



**362.** EKG-vizsgálat aldobrai óriásteknősben



**377.** Elegyminták vizsgálatának relatív költsége

A folyóiratot indexeli és referálja/The journal is indexed and abstracted by: CAB Abstracts (CABI), Science Citation Index Expanded, Zoological Record, BIOSIS previews (Thomson Reuters), Scopus (Elsevier).  
Tartalom/Contents: Current Contents – Agriculture, Biology & Environmental Sciences (Thomson Reuters)

Ingyenes mutatószám kérhető a főszerkesztőtől/Free sample copies are available from the editor-in-chief: H-1078 Budapest, István utca 2. Hungary  
Megrendelhető a fenti címen a szerkesztőségtől/  
Subscription orders to the Editorial Office (address above)

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



### Peter Christian Abildgaard szobra

A villámsújtotta emberben vagy állatban csak elvétve lehet olyan belső elváltozást találni, ami a halál oka lehetne, állapototta meg PETER CHRISTIAN ABILDGAARD (1740–1801) 1775-ben. Mint vérbeli természettudóst, nem hagyta nyugodni ez a tapasztalat, ezért kísérletezésbe fogott. Egy tyúkot és egy kakast sikerült a fejére mért áramütéssel teljesen érzéketlenné tenni, majd a mellkasra irányított áramütéssel feléleszteni.

P. C. ABILDGAARD nemcsak az "ősdefibrilláció" felfedezője: tehetségét, szerteágazó műveltségét számos területen kamatoztatta. Néhány év iskolai tanulás után gyógyszerészségédként megismerkedett a kémiával és a gyógyszerertannal, s közben felkészült az egyetemi tanulmányokra. 1762-ben filozófiai bakkalaureátust szerzett dolgozatával, amely a kémia nemzetgazdasági hasznáról szólt.

A keleti marhavész újbóli kitörése miatt orvosi tanulmányok helyett állami ösztöndíjjal Lyonba került, ahol két és fél év alatt elvégezte CLAUDE BOURGELAT állatorvosi tanfolyamát. Hazatérése után tanulmányozta a marhavész leküzdésének lehetőségeit. Az állat-egészségügyi rendszer megszervezése késlekedett, ezért ABILDGAARD úgy vélte, célszerűbb orvosi tanulmányait folytatni, és egészen 1782-ig praktizált is. Mellette foglalkozott mineralógiával, botanikával, zoológiával, fizikával, kémiával. Közben két könyve is megjelent a lovak és marhák gyógyításáról, illetve a haszonállatok tenyésztéséről és gondozásáról.

E művek alapján merült fel a királyi udvarnál, hogy ő lehet a legalkalmasabb a királyi ménes állatorvosi felügyeletére, valamint az állatorvosképzés megszervezésére Dániában. Változatos pályája legfontosabb eredménye, hogy 1773-ban állami támogatással, de saját vállalkozásként megindította az állatorvosképzést katonai és királyi lovászok és patkolókovácsok számára, kezdetben egyedüli tanárként, egyetlen kovácmester segítségével. 1777-ben a képzés „királyi akadémia” rangot kapott, és állami fenntartású lett. Hallgatóinak száma egyre szaporodott, ezért feladta orvosi munkáját, de ő hozta be és alkalmazta Dániában elsőként a himlő elleni oltást. Minden érdekelte: többek között leírt parazitákat, tervezett patkót, gyógyított marhákat biztosítási konstrukcióban, foglalkozott a gyapjúminőség javításával nemesítés révén, leírta Helgoland növény- és állatvilágát és hőlégballont szerkesztett, amellyel fel is szállt.

Képünk a 220 éve elhunyt iskolaalapító polihisztor 1910-ben AUGUST HASSEL által készített mellszobrát mutatja a frederiksbergi campuson az anatómia-gyakorlat szünetében pihenő hallgatókkal körülveve.

Orbán Éva

### FŐSZERKESZTŐ / EDITOR-IN-CHIEF

Dr. BALKÁ Gyula

### SZERKESZTŐBIZOTTSÁG / EDITORIAL BOARD

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

### SZERKESZTŐSÉGI TITKÁR

Tóth Zsuzsanna

### SZERKESZTŐSÉG / EDITORIAL OFFICE

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

### KIADÓ / PUBLISHER

Herman Ottó Intézet Nonprofit Kft.  
 H-1223 Budapest, Park u. 2.  
 Telefon: (36-1) 362-8100  
 Telefax: (36-1) 362-8104  
 Internet: [www.agrarlapok.hu](http://www.agrarlapok.hu)  
 E-mail: [info@agrarlapok.hu](mailto:info@agrarlapok.hu)  
 Felelős kiadó: Bozzay Péter ügyvezető

### HIRDETÉSEK FELVÉTELE

Telefon: (36-70) 232-4231, (36-1) 362-8100  
 Telefax: (36-1) 470-0410  
 E-mail: [info@agrarlapok.hu](mailto:info@agrarlapok.hu)

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

### LAPTERV

made by zwoelf – [www.zwoelf.hu](http://www.zwoelf.hu)

### TERVEZŐSZERKESZTŐ

Markovics Réka

### NYOMÁS

OOK-Press Nyomda  
 8200 Veszprém, Pápai út 37/A.

INDEX: 25531  
 HU ISSN 0025-004X

LAPTULAJDONOS



KIADÓ



**Achieving multiple  
ovulation in the mare –  
possibilities and limitations**

Literature review

E. Angyal<sup>1, 3\*</sup>

G. Novotniné Dankó<sup>1</sup>

B. Vincze<sup>2</sup>

1. Debreceni Egyetem,  
Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi  
és Környezetgazdálkodási Kar,  
Állattudományi, Biotechnológiai és  
Természetvédelmi Intézet,  
Állattenyésztési Tanszék  
H-4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

\*e-mail: [angyal.eszter@agr.unideb.hu](mailto:angyal.eszter@agr.unideb.hu)

2. Állatorvostudományi Egyetem,  
Andrológiai és Asszisztált  
Reprodukciós Kutatócsoport,  
Szülészeti Tanszék és Haszonállat-  
gyógyászati Klinika

3. Debreceni Egyetem,  
Állattenyésztési Tudományok  
Doktori Iskola

# A többszörös ovuláció kiváltásának lehetőségei és akadályai kancákban

## Irodalmi összefoglaló

**Angyal Eszter<sup>1, 3\*</sup>, Novotniné Dankó Gabriella<sup>1</sup>, Vincze Boglárka<sup>2</sup>**

### ÖSSZEFOGLALÓ

Háziállatokban a többszörös ovuláció (más néven szuperovuláció) kulcsfontosságú eljárás az embriótranszfer (ET) programok lebonyolításához, ugyanis lehetővé teszi az eljárás hatékonyabbá tételét és a hozzá kapcsolódó költségek csökkentését. A szuperovuláció kiváltásának célja több harmadlagos tüsző fejlődésének, majd ovulációjának stimulálása és ilyen módon egy méhmosás alkalmával több életképes embrió kinyerése. A többszörös ovuláció indukálása a tüszőnövekedési hullámok hormonális manipulálásával érhető el. Kancában azonban szarvasmarhához és juhhoz képest igen szűkös azoknak a lehetőségeknek a száma, amelyek többszörös ovuláció kiváltásához alkalmazhatók. Ezeket a főbb élettani jellegzetességeket és az alkalmazható módszerek korlátait és eddigi eredményeit foglalják össze a szerzők.

### SUMMARY

Superovulation in domestic animals is an important tool for routine use in embryo transfer (ET) programs to reduce the costs and to enhance the efficiency. The failure to produce more than one embryo by donor per cycle is the most important reason of the low efficiency and the high costs of equine embryo transfer programs. Typically, the success rate of embryo recovery from a single-ovulating mare is about 50% per cycle. However, mares that spontaneously double ovulate or are induced to ovulate multiple follicles have higher embryo recovery rates. With an increased embryo recovery rate in horses, the overall costs of ET would be reduced. Furthermore, if multiple embryos could be obtained on a given cycle, then embryos could be frozen for transfer at a later time. Historically, the induction of multiple ovulations has been tried through hormone manipulation of follicular waves in the mare. Manipulation of hormones associated with development of dominant follicles and regression of subordinate follicles are the basis of superovulation. The number of follicles that ovulate in response to exogenous hormone treatments is limited in mares as compared with sheep and cattle. This limited success may be due to the unique anatomical configuration of the mare's ovary. The tissue of the ovary in the mare is arranged as the inner cortex and the outer medulla, so its structure is "inside out" compared to the ovary of other domestic species. In addition, only a small portion of the ovary has germinal epithelium that will accommodate ovulation, termed the ovulation fossa. Several protocols have been studied in the equine species to achieve multiple ovulations, but the results are still inconsistent. This article focuses on the main species-specific physiological ovarian dynamics with an emphasis on the possible effects on previous superovulation treatment attempts and limitations done so far.

Ó

A többszörös ovuláció azt jelenti, hogy egy ciklusban több domináns tüszőből következik be az ovuláció, vagyis a petesejt kilökődése, és a petevezetőbe jutása. A gyógyszerekkel kiváltott többszörös ovuláció, a szuperovuláció, egy nehezen elérhető célnak bizonyult kancáknál [1]. Az elmúlt negyven évben a kutatók számos szuperovulációs protokollal próbálkoztak, amelyek során kanca korion-gonadotropint (eCG), gonadotropin-felszabadító hormont (GnRH), inhibin elleni immunizációt, lóból származó hipofízis-extraktumokat (EPE) és részben tisztított, lóból származó follikulusstimuláló hormont (eFSH) alkalmaztak. Sajnos azonban kancában a szuperovuláció csak mérsékelten sikeres [2]. Szarvasmarha, juh és sertés fajokban a donor állat viszonylag olcsó és kereskedelmi forgalomban is elérhető gonadotropin-készítményekkel, mint pl. eCG-vel való szuperovuláltatását követően egy méhmosásból akár 20–30 életképes embrió is nyerhető [3].

***A többszörös ovuláció, vagy szuperovuláció során egy ciklusban több domináns tüszőből következik be ovuláció***

Hasonló eredményeket kancánál megközelítőleg sem sikerült elérni, annak ellenére, hogy kezdetben intenzív kutatások folytak a probléma megoldása érdekében. E vizsgálatok során főként lóhipofízis-kivonattal kezelték a donor kancákat és azt figyelték meg, hogy a kezelt kancák közül csupán néhánynál mutatkozott egyértelmű válaszreakció [3]. Ezeknél az állatoknál az ultrahangvizsgálat során több (3–8) tüsző növekedését lehetett figyelemmel kísérni az egyik vagy mindkét petefészkén. Azonban az ovuláció után 7–8 nappal kinyert embriók száma minden esetben kevesebb volt, mint a diagnosztizált petelevélások száma. A többi kancánál a gonadotropin-kezelés hatására azonban csak egy vagy akár egyetlen tüsző sem indult fejlődésnek [3]. Ez a sikertelenség a kezdetektől limitáló tényezője volt a lóembrió-átültetési programok fejlődésének [4]. A kudarcok ellenére az eredményes szuperovuláció megvalósítására irányuló vizsgálatok továbbra is nagy tudományos érdeklődésre tartanak számot, hiszen egy megbízható szuperovulációs protokoll kialakításával jelentősen csökkenteni lehetne az ET-eljárások költségeit és növelni lehetne azok hatékonyságát az embrió kinyerési ráták növelése révén [1]. Az embrióátültetési eljárás előnyei azoknak a kancatulajdonosoknak kecsegtetőek, akik egy adott kancától minél több csikót szeretnének nyerni. Az ET nagy jelentőségű lehet olyan esetekben is, amikor a kanca nem tudja fenntartani a vemhességét vagy valamilyen oknál fogva nem kívánatos a vehem kihordása. Azonban a ló ET jelentős költségei miatt kizárólag nagy genetikai értékű állatoknál érdemes elvégezni a beavatkozásokat. Az ET költségességének hátterében az áll, hogy kancáknál egyedülálló biológiai tényezőkkel és technikai nehézségekkel is szembe kell nézni. Jelenleg az ET-programok során maximum 1–2 embrió kinyerése tekinthető általánosnak beavatkozásoként. Az embriókinyerési ráta egy ovulációs ciklusra számítva 50%, a vemhességi ráta átültetett embrióként nézve 50–65% átlagosan az ET-eljárásoknál, az összesített sikerességi ráta pedig 25–40% [5]. Az embriókinyerés eredményességét befolyásolja a donor kanca életkora, az ondó minősége, az ovulációk száma és a kinyerés napja. A vemhességi rátát meghatározó tényezők közé sorolhatjuk a donor és a recipiens kanca menedzsmentjét, életkorát és egészségi állapotát, az embrió korát és minőségét, a recipiens kanca ivari ciklusának szinkronitását, valamint az embrió szállításának és tárolásának módját [6]. Gazdaságossági szempontból igen lényeges lenne a ló ET-programok hatékonyságának növelése. Azoknál a kancáknál, amelyeknél a ciklus során spontán módon következik be kettős ovuláció, jobbak az embriókinyerési arányok. Ebből következően a többszörös ovuláció indukciója, vagyis a szuperovuláció egy lehetséges módja lehet az embriókinyerési arány növelésének és ezáltal az ET-eljárások hatékonyabbá tételének [5]. A szuperovuláció kiváltásának alapvető célja, hogy a későbbiekben egyetlen méhmosás alkalmával több életképes embriót

***Az embriókinyerés eredményességét számos tényező befolyásolja***

**A megbízható és sikeres szuperovuláció révén kevesebb ciklusból több embrió kinyerése válna lehetővé**

**Kancákban a szuperovuláció sikerességét több tényező is gátolja**

**Kancákban az ovuláció kizárólag az ovulációs gödör felületénél valósulhat meg**

**A kancák petefészke kevésbé érzékeny az exogén gonadotrop hormonokra**

lehesse kinyerni. Lényeges annak megemlítése is, hogy az ET-programok során igen jelentős költséget jelent a recipiens állatok tartása és ellátása. A szuperovuláció sikeres és megbízható megvalósítása révén kevesebb ciklusból több embrió kinyerése válna lehetővé és a többletembriók fagyaszthatók, ill. vitrifikálhatók lennének. Ez azért előnyös, mert ilyen módon az embriók későbbi, megfelelőbb időpontban is átültethetők [7]. A kancáknál alkalmazott reprodukciós technológiák közül nemcsak az ET sikerességét növelné jelentősen az eredményes szuperovuláció, hanem egyéb, bonyolultabb és még kevés helyen alkalmazott technikákhoz többszörös mennyiségű petesejtet és embriót biztosítana: az ún. GIFT-hez (gaméta intrafallopiaiális transzferhez), valamint az intracitoplazmatikus spermiuminjekcióhoz (ICSI) is [2].

## A SZUPEROVULÁCIÓ KORLÁTAI LOVAKBAN

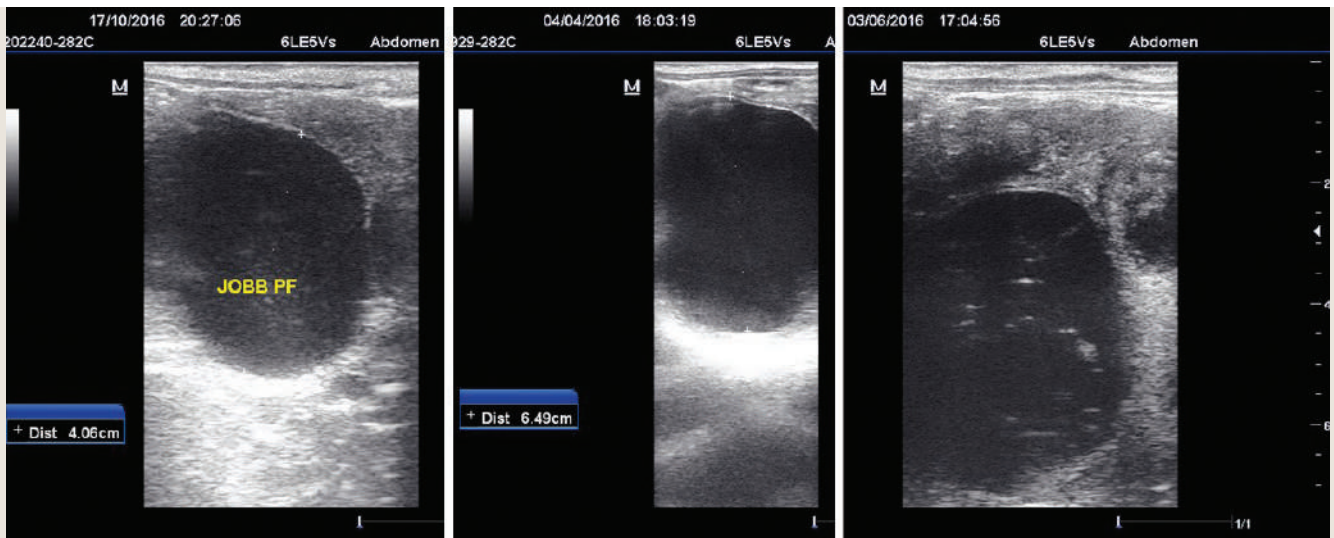
Feltételezhető, hogy kancákban a szuperovuláció sikerességét több tényező is gátolja. Egyrészt a preovulációs tüszők viszonylag nagy mérete, másrészt pedig az az anatómiai sajátosság, hogy az ovuláció csak a petefészek egy behatárolt területén, az ovulációs gödörnél (*fossa ovulationis*) következhet be [8]. Lóban a petefészek konvex szerkezetű, külső felületén tapad meg a széles méhszalag részét képező *mesovarium*, a petefészek függesztőszalagja. Ezen a részen található a petefészek köldöke, a *hilus*, amelynél az erek és az idegek lépnek be a petefészekbe. A konkáv, belső felületén helyezkedik el az ovulációs gödör, a *fossa ovulationis*. Ezt az ovulációs felületet kivéve, az egész petefészeket egy vastag védő réteg borítja be, ez a *tunica albuginea*. A kanca petefészkének szöveti szerkezete különleges, ugyanis belül foglal helyet az aktív, ivarsejteket magába foglaló kéregállomány (*cortex*), míg a szerv vázát képező *medulla* (velőállomány) kívül található. Kancákban az ovuláció kizárólag az ovulációs gödör felületénél valósulhat meg, a tüszők és sárgatestek képződése pedig a petefészek belsejében, a cortexben zajlik. Tehát a kanca petefészkének felépítése nagyban különbözik más emlőállatokétól, hiszen más fajoknál a medulla és a cortex helyeződése fordított, az ovuláció a petefészek teljes felületén bekövetkezhet, a tüszők és sárgatestek kialakulása pedig a petefészek külső részében megy végbe [9]. Az érési folyamat során a tüszők között verseny alakul ki, hiszen annál a folliculusnál következhet be az ovuláció, amely a petefészek állományában elsőként éri el az ovulációs gödört. Azok a tüszők, amelyeknél nem következik be az ovuláció, atretizálódnak, általában a petefészek külső felületéhez közel helyezkednek el és ezek ovuláció nélkül luteinizálódnak, így a bennük lévő petesejtek sosem kerülnek a petevezetőbe. A kancák petefészkének egyedülálló anatómiai felépítésén kívül az is hozzájárulhat a szuperovuláció sikertelenségéhez, hogy a kancák petefészkére csökkent érzékenység jellemző az exogén gonadotrop hormonokkal szemben. Lovakban a nemi mirigyek szöveteiben, mind a petefészekben, mind pedig a herékben, kevesebb eCG-t kötő receptor expresszálódik, mint más háziállat fajoknál, annak ellenére, hogy ez a hormon a ló saját vemhességi gonadotrop hormonja. Ez az oka annak, hogy egyéb fajok olyan jól reagálnak már egyetlen adag eCG-re is és az elvárásoknak megfelelően szuperovulálnak. Ez a lófélékben megfigyelhető rezisztencia nagy valószínűséggel azért alakult ki, hogy megvédje a kancák petefészkeit a saját korion-gonadotrop hormonjaik okozta káros hiperstimulációtól a vemhességek során [3].

## A TÜSZŐFEJLŐDÉSI HULLÁMOK DINAMIKÁJA KANCÁBAN

Az embriókinyerési arány emelése érdekében növelni kellene a preovulációs tüszők és az ovulációk számát. Ez utóbbi a tüszőnövekedési hullámok hormonális manipulációja révén lenne megvalósítható jelenlegi ismereteink szerint [10]. Csakúgy,

**A tüszők fejlődése kancákban is ún. tüszőnövekedési hullámokban zajlik**

mint más háziállatfajokra és az emberre, kancákra is jellemző, hogy a tüszők egy csoportjának periodikus növekedése, ún. tüszőnövekedési hullámok során jönnek létre az antrális/harmadlagos/Graaf-féle tüszők [11]. A tüszőnövekedési hullámok a kancacsikókban a pubertás időszakában, 11–15 hónapos életkorban jelennek meg először [2]. Kancákban 2 mm-es átmérőjű az a legkisebb tüsző, amely már detektálható transzrektális ultrahang vizsgálattal. Ebből következően a növekedési hullámok a 2 mm-es átmérőjű, ill. ennél nagyobb méretű tüszők jelenléte alapján vizsgálhatók [11]. Bár az egyes tüszők a 2 mm átmérőt elérve ultrahang vizsgálat során felismerhetőek, ugyanakkor a tüszők élettani és kóros megjelenési formáinak elkülönítése egyes esetekben nehézségbe ütközik (1. ábra).



**1.ÁBRA.** Különböző eredetű tüszők a kanca petefészkén

Balról jobbra haladva: 40,6 mm átmérőjű, prevoulációs tüsző (élettani); 64,9 mm átmérőjű anovulációs tüsző (kóros); 50 mm átmérőjű anovulációs tüsző üregében fibrinszálakkal (kóros). Az egyes tüszők képei különböző méretskálával készültek (a felvételek 5 MHz-es lineáris vizsgálófej segítségével készültek)

**FIGURE 1.** Follicles of different origin imaged in the mare's ovary

From left to right: preovulatory follicle with 40.6 mm diameter (normal); anovulatory follicle with 64.9 mm diameter (abnormal); anovulatory follicle with fibrin strains in the cavity with 50 mm diameter (abnormal). Obtained with different magnification (images were made by a 5 MHz linear transducer)

**Kancában egy vagy két tüszőnövekedési hullámról beszélhetünk ivarzási ciklusonként**

**A Graaf-féle tüszők fejlődésének 3 fő szakaszát, az aktiválódást, a szelekciót és a dominancia időszakát különítjük el**

**A TÜSZŐNÖVEKEDÉSI HULLÁMOK JELLEMZŐI**

Kancában egy vagy két tüszőnövekedési hullámról beszélhetünk ivarzási ciklusonként, amelyek eredménye normális esetben egyetlen preovulációs tüsző dominanciája [12]. A tüszőnövekedési hullámok során a tüszők növekedési sebessége 3–5 mm/nap [11]. Az általános növekedési fázis során átlagosan 7–11 tüsző indul fejlődésnek, de közülük csak a domináns tüsző esetén következik be az ovuláció.

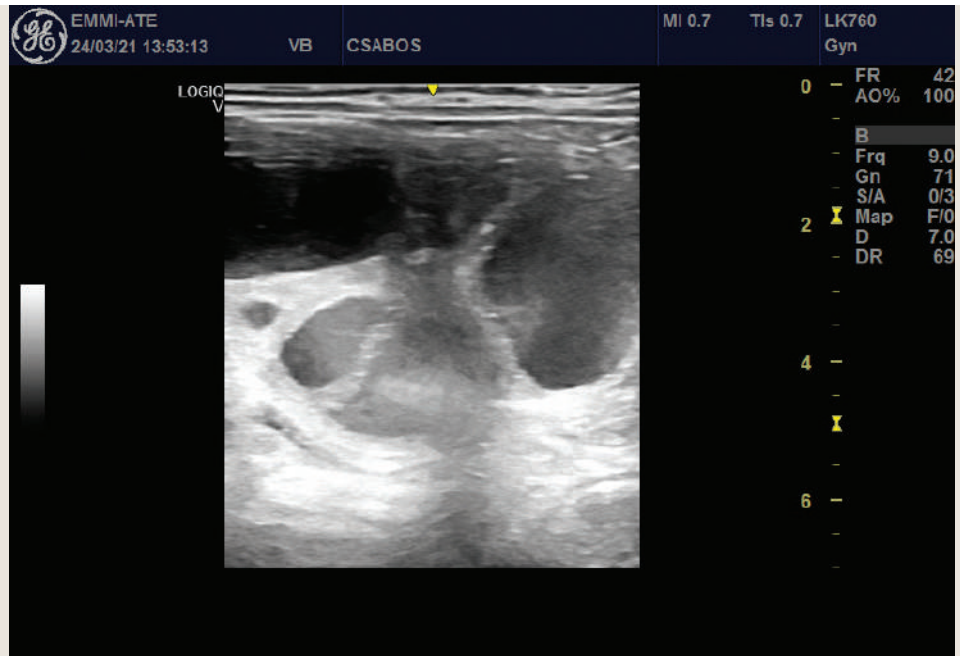
A Graaf-féle tüszők fejlődésének 3 fő szakaszát különböztetjük meg:

- I. Az *aktiválódás* („recruitment”) folyamata során a rendelkezésre álló primordiális tüsző-készletből, az úgynevezett „pool”-ból egy tüszőcsoport fejlődésnek indul.
- II. A *szelekció* során néhány potenciális preovulációs tüsző választódik ki és fejlődik tovább (2. ábra).
- III. A *dominancia* időszaka azt jelenti, hogy egy (vagy esetleg két) tüsző szerepe válik meghatározóvá (3. ábra), ez elnyomja a többi tüsző fejlődését és ennél fog bekövetkezni az ovuláció [9].



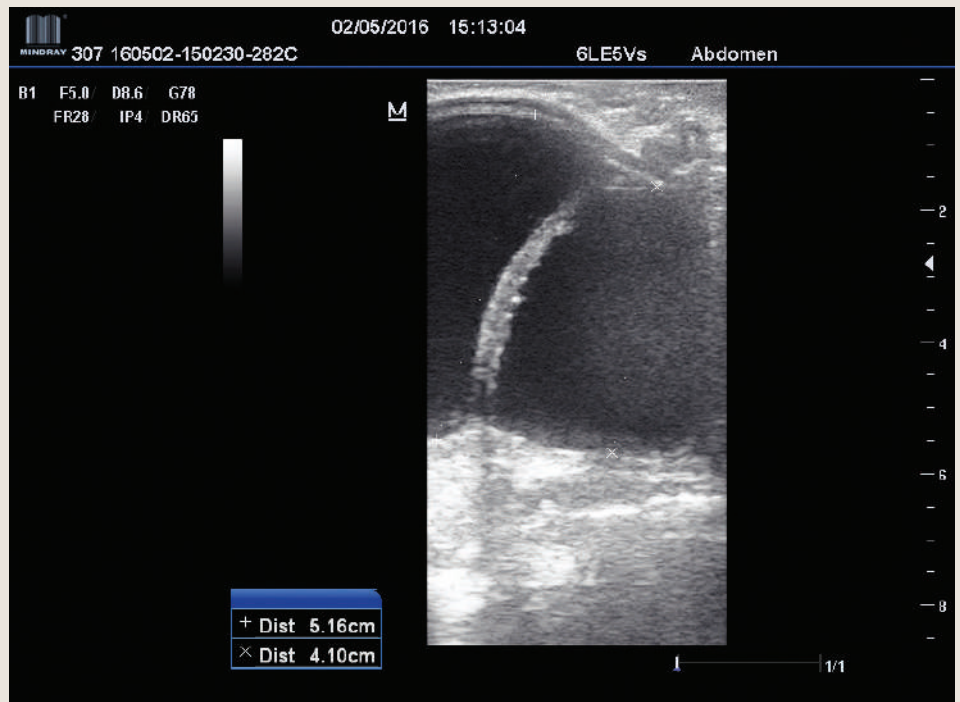
**2. ÁBRA.** Több fejlődő tüsző kanca petefészkén a deviáció során a sárlást megelőzően (9 MHz, endorektális ultrahangfej)

**FIGURE 2.** Numerous developing follicles during deviation before oestrus in the mare (obtained with 9MHz, endorectal probe)



**3. ÁBRA.** Ikertüszők kanca petefészkén Közel azonos méretű, ikrovolációban végződő preovulációs tüszők leképezése rektális ultrahangkészülékkel (5MHz, endorektális fej)

**FIGURE 3.** Twin follicles in the equine ovary Twin follicles in the equine ovary, approximately same-sized, preovulatory follicles resulting in twin ovulation (5MHz, endorectal probe)



**A leendő domináns tüsző az általános növekedési fázis végére méretbeli előnyre tesz szert**

**Egy tüsző dominánssá válásának folyamatát deviációnak is nevezik**

Az általános növekedési fázis hossza kancában 6 nap, a tüszőnövekedési hullám kialakulásától az úgynevezett dominancia kezdetéig tart. Lényeges, hogy az általános növekedési fázis során minden tüszőben megvan a potenciál a dominancia kialakulására. Általánosságban elmondható, hogy kancáknál a leendő domináns tüsző egy nappal hamarabb jelenik meg, mint a többi tüsző. A korai megjelenésnek köszönhetően a leendő domináns tüsző az általános növekedési fázis végére méretbeli előnyre tesz szert. A később megjelenő tüszők maximális átmérője kisebb lesz és lassabban is növekednek az általános növekedési fázis során [13].

Egy tüsző dominánssá válásának folyamatát sokszor deviációnak is nevezik, ettől a stádiumtól kezdve az alárendelt tüszők növekedése lelassul és később atretizálódnak, míg a domináns tüsző megtartja a növekedési sebességét [9].

**A deviáció gátolja a kisebb tüszők további fejlődését**

**Ha a legnagyobb tüsző növekedése abbamarad vagy lelassul, a második legnagyobb tüsző lép a helyébe és válik dominánssá**

A deviáció kezdetekor a két legnagyobb tüsző átmérője átlagosan 22,5 mm és 19,0 mm a klinikai vizsgálatok alapján. Amikor a legnagyobb tüsző a végső fejlődési szakaszba kerül, a deviáció gyors mechanizmusa gátolja a második legnagyobb tüsző és a többi kisméretű tüsző (alárendelt vagy szubordinált tüszők) növekedését [13]. A deviációs folyamat általában 7 nappal az ovulációt megelőzően veszi kezdetét [11]. Az ovulációra rendeltetett tüsző (vagy ritkább esetben tüszők) átmérője tehát tovább növekszik és ezzel egy időben a petefészek ovulációs gödrének irányába orientálódik [9]. Amint a domináns tüsző eléri a (lófajtától függően) 35–55 mm-es átmérőt, megtörténik az ovuláció, vagy a tüsző befejezi a növekedést és megkezdődik a regresszió; ez annak a függvénye, hogy kialakul-e ovulációt kiváltó luteinizáló hormon (LH) csúcs. A tüszőnövekedési hullámok többségében, az első tüsző, amely eléri a 6 mm-es átmérőt, fenn tudja tartani méretbeli fölényét a többi tüszővel szemben az általános növekedési fázis során és domináns tüszővé válik. Néhány esetben azonban a legnagyobb tüsző növekedése abbamarad vagy lelassul az általános növekedési fázis során és így a második legnagyobb tüsző (vagy néha egy még kisebb tüsző) lép a helyébe és válik domináns tüszővé [11]. Hasonló jelenség figyelhető meg a domináns tüsző leszívása, ablációja esetében is, ilyenkor ugyanis a második legnagyobb tüszőnél fog kialakulni a dominancia. Annak ellenére, hogy az egyes tüszők státusza viszonylag hamar elrendeltetik, a deviáció kezdetét követően egy napig (vagy akár több ideig is) az alárendelt tüszők életképessége még megfelelő ahhoz, hogy dominánssá váljanak [13].

### A TÜSZŐNÖVEKEDÉSI HULLÁMOK TÍPUSAI

A tüszőnövekedési hullámok úgynevezett *major* és *minor* hullámokként csoportosíthatók, attól függően, hogy a folyamat során létrejön-e domináns tüsző, vagy csak kisebb méretű folliculusok alakulnak ki. Kancában és nőkben minden ciklus során csak egy vagy két major tüszőnövekedési hullám alakul ki. Egy major hullám, amit primer hullámnak is neveznek, mindig a 21 napos nemi ciklus közepén kezdődik. Ennek folyamán jön létre az a domináns tüsző, amelynél a későbbiekben bekövetkezik az ovuláció. Két ovuláció közötti intervallum során az esetek 25%-ában jelentkezik egy járulékos major hullám is (szekunder hullám); ez vezet lovakban az ún. diósztrális ovuláció jelenségéhez [11]. A minor tüszőnövekedési hullámok a primer hullám előtt vagy után alakulnak ki és olyan tüszőket eredményeznek, amelyek 15–25 mm átmérőjűek vagy ennél kisebbek. Ezek a hullámok többnyire nem eredményeznek domináns folliculust, inkább olyan tüszőket, amelyek visszafejlődnek, atretizálódnak [2].

### A TÜSZŐNÖVEKEDÉSI HULLÁMOK SZABÁLYOZÁSA

A tüszőnövekedési hullámok kialakulása és a domináns tüsző kiválasztódása finoman hangolt szabályozás alatt áll. Ez a szabályozás egyrészt szisztémás folyamatok révén valósul meg, ez alatt a gonadotropin-szintekben bekövetkező változásokat értjük, másrészt pedig helyi mechanizmusokról beszélhetünk, amely a tüszőfolyadék összetételében bekövetkező változásokat jelentik [11]. A tüszőfolyadék gazdag forrása olyan anyagoknak, amelyek részt vesznek a tüszőnövekedési folyamatok szabályozásában különféle endokrin, parakrin és autokrin jelátviteli mechanizmusok révén [14].

### SZISZTÉMÁS SZABÁLYOZÁS

A follicularis (tüsző) fázis kialakulását kancában az FSH (folliculus-stimuláló hormon) lökészerű felszabadulása indukálja. Az FSH-szint akkor a legmagasabb, amikor a legnagyobb tüsző átmérője kb. 13 mm [11]. Ezt követően a hormon koncentrációja csökken, körülbelül 3 napos intervallum állapítható meg a maximális FSH-koncentráció és a deviáció kezdete között. Az FSH-koncentrációban bekövetkező csökkenés szükséges a deviáció létrejöttéhez [13]. A kisméretű tüszők

**A tüszőfázis kialakulását kancában az FSH lökészerű felszabadulása indukálja**

### **A deviációhoz az FSH-szint csökkenése szükséges**

fejlődése nagymértékben FSH-függő folyamat, így ahogy az FSH-koncentráció csökken, a kis tüszők növekedési üteme is egyre csökken [15]. Tehát az FSH feladata a lökészerű felszabadulását követően és a deviációt megelőzően mindegyik tüsző növekedésének és fejlődésének biztosítása, a deviációt követően pedig a domináns tüsző fejlődésének támogatása [13]. Kancában az alacsony FSH-szintek deviációban betöltött meghatározó szerepét bizonyítja, hogy FSH adagolása vagy az inhibin elleni immunizáció esetén a deviációs mechanizmusban zavar következik be és több olyan tüsző jön létre, amelyeknél bekövetkezhet az ovuláció [11].

Míg az FSH a tüszők deviáció előtti növekedéséhez nélkülözhetetlen, az LH a deviáció során tölt be lényegesebb szerepet. Ezt az utóbbi megállapítást olyan vizsgálatok bizonyították, amelyek során kísérletileg csökkentették az LH-szintet ciklusos petefésztkü kancáknál, ilyen esetekben a domináns tüsző korai regressziója következett be [11]. A follicularis fázis során a domináns tüsző granulosa-sejtjein megjelennek az LH-receptorok, amelyek a későbbiekben nélkülözhetetlen jeleket biztosítanak majd a tüsző érésének végső szakaszához és az ovulációhoz [12]. A domináns tüsző érésének végső szakaszát és az ovulációt tehát a luteinizáló hormon stimulálja, amelynek cirkuláló mennyisége a sárlás során fokozatosan növekedik és az ovulációhoz közeli időpontban éri el maximális koncentrációját [15].

### **Az FSH-szekréciónak csökkentését a domináns és egyéb tüszők által termelt inhibin és az ösztadiol szisztémás hatása idézi elő**

Az FSH-szekréciónak csökkentését a domináns tüsző, valamint a többi tüsző csoportja, az ún. kohort által termelt intrafollicularis faktorok, az inhibin és az ösztadiol szisztémás hatása idézi elő. Így az inhibin és az ösztadiol plazmakoncentrációi kancában fordítottan arányosak az FSH-koncentrációval [15]. Az FSH-koncentráció csökkenéséért kezdetben a kohort szekréciói (inhibin, ösztadiol) felelősek, majd a domináns tüsző azt a többi tüsző FSH-szükségletének küszöbértéke alá csökkenti. Tehát a kohort közvetett módon a saját atréziáját idézi elő [16]. Az FSH és a tüszőnövekedési hullámok közötti szoros funkcionális kapcsolat kétirányú, hiszen nemcsak az FSH tüszőkre gyakorolt pozitív hatásáról beszélhetünk, hanem a tüszők FSH-koncentrációra gyakorolt negatív hatásáról is [11]. A domináns tüsző folyamatos fejlődése a csökkenő FSH-koncentráció ellenére annak köszönhető, hogy az ösztadiol hatására a tüsző granulosa-sejtjein az FSH-receptorok száma növekedik [15]. Ennélfogva a domináns tüsző hatékonyabban tudja felhasználni a cirkuláló gonadotropinokat a növekedéséhez [11]. Kísérletek során, amikor a deviáció feltételezett időpontjában leszívták a legnagyobb tüsző tartalmát, az ösztadiol koncentrációja nem emelkedett tovább, ellenben az FSH koncentrációja megnőtt. Hasonló eredményeket tapasztaltak a kutatók az inhibinnel kapcsolatban is, ugyanis a legnagyobb tüsző leszívását követően az inhibin koncentrációja lecsökkent, ezzel szemben az FSH koncentrációja nőtt [13].

### **A TÜSZŐNÖVEKEDÉSI HULLÁMOK HELYI SZABÁLYOZÁSA**

### **A tüszőnövekedési hullámok szabályozásában számos fehérje és szteroid hormon játszik szerepet**

A lokális szabályozásban számos fehérje és szteroid játszik szerepet, köztük az IGF-család tagjai, az ösztadiol, inhibin, aktív és az eredetű endothel növekedési faktor (*vascular endothelial growth factor, VEGF*). Ezek a faktorok többnyire parakrin módon hatnak és működésük célja a gonadotropinok tüsző sejtekre gyakorolt hatásának fokozása vagy éppen csökkentése [11]. Az IGF-rendszer a sejtnövekedés és differenciálódás szabályozásában játszik szerepet. Elemei közé tartozik az IGF-1, az IGF-2, az IGF-receptorok, IGF-kötő fehérjék (IGFBP), valamint IGFBP-proteázok [13]. Habár az előzőekben említett faktorok közül mindegyik szerepet játszik a deviáció kezdete után a domináns tüsző fejlődésében, ezek közül csak az IGF-1 vesz részt a deviációs folyamat előidézésében azáltal, hogy szabályozza más növekedési faktorok szintjét a domináns tüszőben. Az IGF kiemelkedően fontos szerepet játszik kancákban a szelekció folyamatában. Ezt azok a vizsgálatok is bizonyították, amelyek során a második legnagyobb méretű vagy ennél kisebb tüszőkre IGF-1-et injektáltak a deviáció kezdetén, ugyanis ennek hatására ezek a kisebb méretű tüszők alárendelt helyzetükből domináns pozícióba kerültek és többszörös ovuláció alakult

ki. Azonban amikor IGF-kötő fehérjét injektáltak a legnagyobb méretű tüszőbe a deviáció kezdetén, a tüsző regressziója következett be és helyét a második legnagyobb tüsző vette át és ez vált később dominánssá [11]. Az ösztadiol a tüszőben időlegesen megnöveli a leendő domináns tüsző gonadotropinokkal szembeni érzékenységét. Az inhibint túlnyomórészt a növekedő tüszők granulosa-sejtjei termelik és a tüszőfolyadékban van jelen. Az aktivin egy glikoprotein amelynek koncentrációja a legnagyobb tüszőben a legnagyobb [13]. A VEGF szintje lovaknál a domináns tüszőben egyre növekedik és ezt nagy valószínűséggel az IGF-1 hatása idézi elő; a leendő domináns tüsző érellátottságának fokozódásában játszik szerepet a deviáció kezdete előtt, amely minden bizonnyal kedvezőbbé teszi a keringő gonadotropinok tüszőhöz való eljutását [11].

### A TÜSZŐNÖVEKEDÉSI HULLÁMOK LEFOLYÁSÁBA VALÓ BEAVATKOZÁS CÉLJA ÉS LEHETŐSÉGEI

A különböző filogenetikai osztályokba tartozó, egyet ellő/szülő fajok (pl. ló, szarvasmarha, ember) közös jellemzője, hogy a növekvő tüszők közül egyetlen tüsző választódik ki, válik dominánssá és éri el az MII érési stádiumot, majd bekövetkezik az ovuláció [16]. A tüszőnövekedési hullámoknál és a domináns tüsző fejlődésénél megfigyelt hasonlóságok alapján feltételezhető, hogy a domináns tüsző szelekciójának folyamatai rögzültek az idők során. Ennek ellenére azonban az egyet ellő/szülő fajokban előfordul a szelekciós folyamat megszakadása, pl. többszörös ovuláció vagy policisztás ovárium szindróma esetén, utóbbi az anovulációs meddőségben szenvedő nők többségében kerül megállapításra. Ugyanakkor igen lényeges, hogy a domináns tüsző szelekciójába történő irányított beavatkozás révén növelhető a reprodukciós hatékonyság, ill. a termékenység a különböző fajokban (pl. ikerellést eredményező kezelések vagy az ET-hez szükséges szuperovulációs kezelések). Ezeknek az eljárásoknak mezőgazdasági szempontból fontos fajoknál jelentős gazdasági, vagy nők esetében lélektani előnyei lehetnek [16]. Kancák esetében a legtöbb szuperovulációs protokoll célja azoknak a tüszőknek a stimulálása, amelyek egyébként nem választódnának ki ovulációra. A többszörös ovuláció kiváltására irányuló próbálkozások során egyrészt gonadotropin-felszabadító hormont (GnRH) alkalmaztak az endogén FSH-szintézis és felszabadulás stimulálása céljából. Másrészt exogén gonadotropinokat használtak fel vagy inhibin immunoneutralizációt végeztek, ezekkel a módszerekkel az FSH-felszabadulás kiváltotta negatív feedback miatti gátlást lehet blokkolni és így az FSH-szint magas marad a follicularis fázis során. A domináns tüsző eltávolítása transzvaginális tüszőleszívás révén szarvasmarhában növeli a petesejtkinyerési rátát, ám ez kancákra nem igaz [15]. Sajnos juh és szarvasmarha fajhoz képest lovakban limitált azoknak a tüszőknek a száma, amelyeknél exogén hormonhatásra következik be az ovuláció. A ciklusban lévő kancák szuperovuláltatására irányuló próbálkozásoknál (eCG, GnRH, sertés eredetű FSH és inhibin elleni immunizáció alkalmazása) az esetek döntő többségében az eredményeknél nagy eltérések mutatkoztak. Ez nem is olyan meglepő, ha figyelembe vesszük azokat a bonyolult és dinamikus kölcsönhatásokat, amelyek a deviáció során az FSH, LH, ösztadiol, inhibin és az IGF-1 között kialakulnak [2].

### KANCÁK TÖBBSZÖRÖS OVULÁCIÓJÁNAK KIVÁLTÁSÁRA EDDIG KIPRÓBÁLT PROTOKOLLOK

- 1940: DAY vemhes kanca szérum gonadotropint (pregnant mare serum gonadotropin, PMSG) és lóból származó hipofízis-kivonatot (equine pituitary extract, EPE) alkalmazott, ám anösztruszos kancáknál nem volt sikeres ez a módszer a folliculusnövekedés stimulálására és az ovuláció kiváltására [15]
- 1974: DOUGLAS és MTSAI anösztruszos kancáknál lóból származó hipofízis-ext-

*A domináns tüsző szelekciójába történő irányított beavatkozás révén növelhető a reprodukciós hatékonyság, ill. a termékenység*

raktum használatával váltottak ki többszörös ovulációt [15]

- 1977: LAPIN és GINTHER a fiziológiás tenyészszezon alatt váltottak ki többszörös ovulációt EPE alkalmazásával [15]
- 1981: IRVINE sertésből származó FSH felhasználásával indukált többszörös ovulációt [15]
- 1987: JOHNSON anösztruszos kancáknál GnRH-t alkalmazott és sikeresen váltott ki többszörös ovulációt [15]
- 1992: McCUE és mtsai, valamint McKINNON és mtsai inhibin elleni aktív immunizáció révén érték el az ovulációs ráták növelését ivarzó kancáknál [15]
- 2003: NISWENDER és mtsai kidolgozták a standard protokollt az eFSH-val történő szuperovuláltatásra (az ovulációt követően 5–7 nappal kezdve 12,5 mg eFSH alkalmazása naponta kétszer) [1]
- 2006: WELCH és mtsai a standard eFSH-kezelési protokollba beépítették az ún. „coasting”-periódust [7]
- 2010: MEYERS-BROWN és mtsai sikerrel alkalmazták a rekombináns eFSH-t (reFSH) kancák többszörös ovulációjának indukálására [10]
- 2018: NEWCOMBE és CUERVO-ARANGO GnRH-analóg buserelinnel eredményesen szuperovuláltattak kancákat [17]

**Kancákban az eCG nem alkalmas szuperovuláció indukálására**

#### KANCA KORION-GONADOTROPIN (eCG)

A kanca korion-gonadotropin (equine chorionic gonadotropin, eCG), másnéven vemhes kanca szérum gonadotropin (PMSG) sikerrel alkalmazható kérődzők szuperovuláltatására [15]. Paradox módon az eCG kancákban nem alkalmas szuperovuláció indukálására [8]. Ez annak tudható be, hogy kancáknál az eCG korlátozottan kötődik a petefészek FSH-receptoraihoz [15].

**Ciklusban lévő kancákban a GnRH nem alkalmas szuperovuláció kiváltására**

#### GONADOTROPIN-FELSZABADÍTÓ HORMON (GnRH) ÉS ANALÓGJAI

Anösztruszos kancáknál a GnRH alkalmazható többszörös ovuláció kiváltására, azonban ciklusos kancáknál hatástalannak bizonyult [15]. Ciklusban lévő kancáknál ezek a hipofízis down-regulációját és a petefészek következményes inaktivitását eredményezik [8].

NEWCOMBE és CUERVO-ARANGO kísérletük során GnRH-analógot használtak szuperovuláció kiváltására. Nyolc kancát vizsgáltak a korai ösztrozus során és amikor legalább egy tüsző átmérője elérte a 15 mm-es nagyságot 3,75 µg buserelint adtak a kancáknak sc. Ezt a kezelést addig ismételték 8 óránként, amíg legalább egy tüszőnél bekövetkezett az ovuláció. A kancák többszörös ovulációra vonatkozó körelőzménye több évre visszamenőleg ismert volt. A buserelinnel való kezelést követően az ovulációk átlagos száma ciklusonként 2,38 volt, többszörös ovuláció 92%-ban következett be. Ennek a protokollnak a legfőbb hátránya gyakorlati szempontból az volt, hogy 8 óránként kellett ismételni a kezeléseket. További kutatások szükségesek annak megállapítására, hogy a kezelések közötti intervallum megnövelhető-e 12 órára. NEWCOMBE és CUERVO-ARANGO kísérletük során nem elnyújtott hatóanyag-leadású készítményt használtak, így kérdéses, hogy a 12 óránként történő alkalmazás is megfelelő lenne-e többszörös ovuláció indukálására [17].

**A sertés eredetű FSH nem elég hatékony lovakban a gyakorlati alkalmazáshoz**

#### SERTÉSBŐL SZÁRMAZÓ FOLLICULUSSTIMULÁLÓ HORMON (p-FSH)

Sertésből származó FSH-nak a diösztrusz végétől az ovulációig naponta kétszer történő adagolásával ciklusonként 1,5–1,7 tüszőnél következett be a kezelt kancákban ovuláció. Kancák kezeléséhez a szarvasmarhának szükséges p-FSH dózis megközelítőleg 70-szerese szükséges többszörös ovuláció indukálásához. A kancák petefészekre viszonylagos érzéketlenség jellemző a p-FSH-val szemben, így a válaszreakciójuk jelentősen elmarad a szarvasmarhában tapasztaltaktól. Ebből kifolyólag a p-FSH a lovak szaporodásbiológiájában történő alkalmazhatósága limitált a gyenge hatékonysága és jelentős költsége miatt [15].

### LÓBÓL SZÁRMAZÓ HIPOFÍZIS-KIVONAT, EPE

Kancák szuperovuláltatása terén az EPE-vel történő kezelés tekinthető hagyományos terápiának, ezt sok éven át használták többszörös ovuláció indukálására és az embrióátültetés során a donor kancáktól való embriókinyerési arány növelésére. Az EPE-kezeléseket követően a szakemberek kancánként átlagosan 1–4 ovulációról és embriómosásonként 1–2 embrió kinyeréséről számoltak be [18]. Az EPE kinyerése lóhipofízisből történik és a készítmények FSH-t és LH-t is tartalmaznak [2]. A hipofízisből való extrakciót kezdetben BRASELTON és MCSHAN [19], majd a későbbiekben GUILLLOU és COMBARNOUS [19] által kidolgozott eljárás alapján végezték [19]. A készítményekben lévő FSH a granulosa sejtek receptorain fejti ki hatását és ennek eredményeképpen az EPE meg tudja gátolni a tüszők regresszióját és szuperovuláció alakul ki. Azonban kancákban a válaszreakció jóval gyengébb és kevésbé kiszámítható, mint kérődzőkben. A készítmények LH-tartalmának is fontos szerepe lehet, hiszen ez elősegítheti az érettebb petesejtek létrehozását, ám ezt még kutatásokkal nem támasztották alá. Az FSH és LH aránya az egyes készítményekben változó, függ attól, hogy milyen állatpopulációból történt a kinyerés, valamint az extrakció módjától is. A készítmények változó összetétele befolyásolhatja azok működési mechanizmusát [2]. Az EPE-készítményekben az FSH túl kicsi koncentrációja gyenge szuperovulációs válaszreakciót eredményezhet, míg a túl nagy dózis a tüszők ovuláció nélküli luteinizációját idézheti elő [20]. Összefoglalva elmondható, hogy az EPE alkalmazásánál a készítmények tisztasága problémát jelent, ezekben az FSH és LH aránya nem állandó, így az egyes készítmények hatásának elbírálása és az eredmények reprodukálása nehézségekbe ütközik. Továbbá, az Egyesült Államokban a lóvágóhidak bezárása nagyban megnehezítette a készítmények előállítását [2]. Az EPE-vel kapcsolatban felmerülő további hátrány a járványtani szempontokkal van összefüggésben, ugyanis bármilyen tisztítási módszer, amely megőrzi a glikoprotein hormonokat, valószínűtlen, hogy elpusztítaná az ellenálló vírusokat és a prionokat [20].

Az EPE-kezelésre adott válaszreakciót több tényező is befolyásolja, úgymint a kezelés megkezdésének időpontja, ill. a hormonkezelések gyakorisága. PIERSON és GINTHER [19] az EPE-kezelés kezdetekor mért tüszőméretek hatását vizsgálták a szuperovulációs válaszreakcióra. Sokkal több nagyméretű preovulációs tüsző alakult ki akkor, amikor az EPE-kezelést 15 mm-es vagy 20 mm-es tüszőátmérőnél kezdték meg, mint azokban az esetekben, amikor a kezelés kezdetével addig vártak, amíg a tüszők mérete elérte a 25–30 mm-es nagyságot. Tehát az EPE-vel végzett terápiát akkor kell elkezdeni, amikor a tüszők mérete < 25 mm. Az EPE-készítmények beadási gyakorisága is befolyásolja a válaszreakciót. A kezdeti kísérletek során, az EPE-t naponta kétszer adták be a kancáknak. ALVARENGA és mtsai [19] összehasonlították a naponta egyszeri és kétszeri adagolás hatásait. Az EPE naponta kétszeri beadásakor jóval nagyobb ovulációs és embriókinyerési arányt (7,1; 3,5) tapasztaltak, mint a napi egyszeri alkalmazáskor (2,4; 1,6). SCOGGIN és mtsai [19] a kancáknak 25 mg EPE-t adtak be naponta egyszer, ill. kétszer, valamint 12,5 mg EPE-t ugyancsak naponta egy, ill. két alkalommal. Az ovulációk száma kancánként a naponta kétszer, 25 mg EPE-vel kezelt kancákban volt a legnagyobb (4,7). Ugyanakkor az embriókinyerési arány azokban a kancákban volt a legnagyobb, amelyeket 12,5 mg EPE-vel kezelték naponta kétszer (2,6) [19]. Más kísérletek során is megfigyelhető volt egy olyan tendencia, miszerint az ovulációk számának növekedésével párhuzamosan csökkent a kinyerhető embriók száma. Ez főként azokban a kancákban volt jellemző, amelyekben az ovulációs arány nagy volt [18]. DIPPERT és mtsai [21] az ovulációt követő 5. naptól kezdve 25 mg EPE-t adtak be a kancáknak és ezt követően 2,9-es ovulációs arányról számoltak be. Sajnos azonban a kezelt állatoknál csak az ovulációk 43%-a eredményezett embriót, míg a kezelésben nem részesült kontroll csoport kancáiban ez az arány jóval kedvezőbb, 74% volt. DOUGLAS és mtsai hasonló eredményt kaptak, vizsgálataik során az EPE-kezelésben

*A lóból származó hipofízis-kivonatban az FSH és az LH mennyisége és aránya is eltérő lehet*

*Az EPE naponta kétszeri beadásakor jóval nagyobb ovulációs és embriókinyerési arányt tapasztaltak, mint a napi egyszeri alkalmazáskor*

**EPE-kezelt lovakban az ovulációk számának növekedésével párhuzamosan csökken a kinyerhető embriók száma**

részesült kancáknál az embriókinyerési arány ovulációnként 35%, míg a kontroll csoportnál 67% volt. SQUIRES és mtsai ugyanakkor nem állapítottak meg jelentős különbséget a szuperovuláltatott (54%) és a kontroll csoport tagjai (55%) között az ovulációnkénti embriókinyerési számok tekintetében. Nem teljesen tisztázott, hogy pontosan mi állhat szuperovuláltatott kancákban a gyenge embriókinyerési arányok hátterében. Elképzelhető, hogy a tüszők fejlődése nem megfelelő, ám az is egy lehetséges magyarázat, hogy a petesejtek nem jutnak be a petevezetőbe és ilyen módon a megtermékenyülésük is elmarad [21]. Végeztek egy kísérletet, amely során vizsgálták az EPE-kezelés petesejttranszportra, valamint a petesejt citoplazmatikus és sejtmagérésére gyakorolt hatását. A kancákat naponta kétszer kezelték 25 mg EPE-vel és a terápiát 7 nappal az ovulációt követően kezdték meg. Az első ovuláció megállapítását követően 12–24 óra múlva a kancákat vágóhídon levágták, majd a petevezetőket elkülönítették a méhtől és a petefészkektől, megnyitották és PBS-sel átöblítették. A petevezetők vizsgálata során azt tapasztalták, hogy az ovulációk átlagos száma kancánként és az életképes petesejtek aránya ovulációnként a kontroll csoportnál 1,22 és 90%, a szuperovuláltatott kancáknál 4,77 és 64% volt. A legtöbb szuperovuláltatott kanca ovulációs gödrénél nagyméretű véralvadék volt látható, a kontroll csoportnál viszont nem tapasztaltak hasonlót. Ezekből a kísérleti eredményekből az a következtetés vonható le, hogy az EPE-kezeléseknél a nagyobb ovulációs számmal összefüggésben megváltozik a petesejtek petevezetőbe történő transzportfolyamata. Továbbá, az ovulációs gödrénél kialakuló alvadék akadályozhatja a petesejtek migrációját. Ezen kívül a szuperovulációs kezelés nagy valószínűséggel a follicularis környezetben és a petesejtek érési folyamataiban is változásokat eredményez kancáknál [18]. Egy másik lehetséges magyarázat a szuperovuláció folyamatában rejlik, ilyenkor ugyanis azok a tüszők nem fejlődnek vissza, amelyeknél már megkezdődött az atrézia, az ezekből származó petesejtek, valamint embriók valószínűsíthetően sok esetben nem életképesek [20].

### LÓBÓL SZÁRMAZÓ FSH, EQUINE-FSH

**Az eFSH tisztított lóhipofízis-kivonat, amelynek az EPE-hez viszonyítva nagyobb az FSH-LH aránya**

Az eFSH manapság bizonyos országokban kereskedelmi forgalomban is elérhető tisztított hipofízis-kivonat, az EPE-hez viszonyítva ennél nagyobb FSH-LH aránnyal [7]. Kancákban a leghatékonyabb protokollnak a szuperovuláció indukálására a naponta kétszer, im. beadott 12,5 mg dózisú eFSH bizonyult, a terápiát az ovulációt követő 5–7. napon megkezdve, mikor a legnagyobb tüsző átmérő mérete 20–25 mm. Ennél a protokollnál a prosztaglandinokat az eFSH-kezelés második napján kell beadni és az eFSH-terápiát 3–5 napig kell folytatni, amíg egy tüsző el nem éri a 35 mm-es átmérőt. Ezt követően egy 36 órás „coasting”-periódus következik, amelynek letelte után az ovuláció indukálására hCG-t adnak be a kancáknak [22]. A „coasting” periódus szuperovulációs protokollba foglalásának célja a kezeléshez szükséges eFSH mennyiségének csökkentése és a petefészkek hiperstimulációjának megelőzése [23]. A „coasting”-periódus egy olyan időintervallum, amely alatt szüneteltetik a gonadotropin-kezelést a tüszők stimulációját követően és az ovuláció indukációját megelőzően. Ennek a késleltetési periódusnak a megtartása azért előnyös, mert időt biztosít a megfelelő tüszőérési folyamatok lezajlására a hCG-beadását megelőzően [7]. Ez a módszer a humán gyógyászatban került kidolgozásra a petefészkek-hiperstimulációs szindróma (ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS) kialakulási kockázatának csökkentése céljából. Az OHSS pontos mechanizmusa nem tisztázott, ám a megfigyelések szerint a kórképre jellemző az ösztrogénkoncentráció jelentős emelkedése és ennek következtében számos nem kellőképpen érett tüsző keletkezése [24].

Az eFSH alkalmazásakor is vizsgálták a szakemberek a kezelés megkezdésekor mérhető tüszőátmérők és a szuperovulációs válaszreakciók közötti összefüggéseket. WELCH és mtsai [7] hét ciklus során akkor kezdték meg az eFSH-kezelést, amikor

legalább egy tüsző átmérője 25 és 29 mm között volt, míg 66 ciklus során 25 mm-es vagy ennél kisebb átmérő esetében kezdték meg a terápiát. Az utóbbi csoportnál nagyobb ovulációs arányokat írtak le, ám a két csoport között nem volt szignifikáns a különbség. Mindenesetre a kezelés megkezdése előtt a tüszők aktivitásának és növekedésének folyamatos monitorozása igen fontos, ugyanis amennyiben akkor kezdik el a kezelést, amikor egy tüsző átmérője eléri a 25 mm-es nagyságot, a kezelés hossza lerövidíthető. A kezelés időtartamának redukálása egyrészt anyagi okok miatt fontos, hiszen a gonadotropin-készítmények igen drágák, másrészt az előállításukhoz szükséges lóhipofízisek korlátozott számban állnak rendelkezésre [7]. Figyelemre méltó megfigyelésekre tettek szert a szakemberek azoknak a vizsgálataknak a során, amikor az eFSH hatását több cikluson keresztül értékelték kancákban. Ennek tanulmányozása azért volt fontos, mert szarvasmarhában az ismételt kezelések következtében az embriókinyerési arányok csökkennek. Kancákban három ösztrozscikluson keresztül végzett stimuláció után nem tapasztaltak csökkenést az ovulációs rátában, a legelső kezeléshez viszonyítva. Azonban az eFSH-t minden egyes ciklusban egyre hosszabb ideig kellett adagolni, ami azt jelzi, hogy a kancák petefészkeinek érzékenysége csökkent és ugyanolyan ovulációs válaszreakció eléréséhez már hosszabb kezelési időre volt szükség [2].

Raz és mtsai [5] tanulmányozták az eFSH-kezelés embriókinyerésre, az embriók minőségére és a vemhesülési arányokra gyakorolt hatását. A kísérletet úgy állították be, hogy az első, kontroll ciklus során a kancákat monitorozták az ösztroz folyamatán és amikor egy tüsző elérte a  $\geq 35$  mm-es átmérőt, humán korion-gonadotropin (hCG, 2000 IU) im. beadásával indukálták az ovulációt. A hCG beadását követően 24 órával végezték el az első mesterséges termékenyítést, majd ezt minden 48 óra múlva megismételték, egészen a következő ovulációig. Nyolc nappal az ovuláció után megkísérelték az embrió kinyerését. Az eFSH ciklusban a donor kancákat naponta vizsgálták és amikor egy tüsző elérte a  $\geq 25$  mm-es átmérőt, megkezdtek a naponta kétszeri eFSH-kezelést (12,5 mg). A terápiát akkor fejezték be, amikor volt legalább egy  $\geq 35$  mm-es átmérőjű tüsző, ekkor adták be a hCG-injekciót. Ezt követően az embriókinyerést ugyanúgy hajtották végre, mint az első, kontroll ciklusnál. Az eFSH-kezelés több preovulációs tüsző kialakulását, nagyobb számú ovulációt, több kinyerhető embriót eredményezett, ugyanakkor az átültetett embriónkénti vemhességi arányok kisebbek voltak a vártnál és a kialakult vemhességek és a megszületett csikók összesített számának tekintetében nem volt jelentős a különbség a kontroll csoport és a kezelt csoport között. Érdekes módon az eFSH-kezelést követően kialakult embriók morfológiai szempontból gyengébb minőségűek voltak, mint a kontroll csoportnál és ugyan az eFSH-ciklust követően több embriót ültettek át a recipiens kancákba, ez nem eredményezett nagyobb számú vemhességet. Más kísérletek során azonban nem észleltek szignifikáns eltéréseket az embriók morfológiájában a kezelt kancák esetében. Nem bizonyított, hogy az eFSH-kezelés deviáció időpontjában történő megkezdése eredményezheti-e atréziára predesztinált tüszők regressziótól történő megmentését és ezáltal gyengébb minőségű petesejtek ovulációját és életképtelen embriók létrejöttét [5].

Az eFSH alkalmazásával kapcsolatban érdemes megemlíteni néhány kihívást, amelyek felmerülnek a terápia során. A megfigyelések szerint azok a fiatal kancák, amelyek ivari ciklusa rendszeres időközönként jelentkezik, viszonylag megbízhatóan reagálnak az eFSH-kezelésre, míg az idősebb kancáknál a válaszreakció már jóval változékonnyabb. Szarvasmarhához hasonlóan, az eFSH-kezelésnél a donorközött óriási változékonyság figyelhető meg az egyedi válaszreakció tekintetében. Sokszor az adott donor állatnál a megfelelő dózis megállapítása jelenti a fő próbatételt. Ha az alkalmazott dózis túl nagy, a petefészkek túlstimulált állapotba kerül és sok tüsző esetében nem következik be az ovuláció, hanem luteinizálódik vagy folliculusciszta alakul ki a helyén [19].

***Az eFSH-kezelés hatására az átültetett embriónkénti vemhességi arányok kisebbek voltak a vártnál a több kinyert embrió ellenére***



Összegezve elmondható, hogy az eFSH-val végzett kutatásokból az alábbi kulcsfontosságú tanulságok vonhatók le:

- Amennyiben az eFSH-kezelést akkor kezdik meg, amikor egy tüsző átmérője  $\geq 30$  mm, ez csak ennek a tüszőnek a fejlődését és ovulációját fogja előmozdítani, szuperovulációt nem fog eredményezni [22]. Az ilyen nagyméretű domináns tüszők ugyanis ekkor már elnyomják a többi tüsző fejlődését [25].
- Az eFSH naponta kétszeri beadása nagyobb ovulációs arányokat eredményez, mint a teljes mennyiség napi egyszeri alkalmazása.
- Az eFSH egymást követő ciklusokban is alkalmazható szuperovuláció kiváltására, ám a terápia hossza az első kezelést követően szignifikánsan növekszik.
- Az eFSH alacsonyabb dózisban (6,25 mg, naponta kétszer) is használható szuperovuláltatásra, viszont az ovulációs ráták ebben az esetben elmaradnak a standard dózishoz (12,5 mg, naponta kétszer) tapasztaltaktól [22]. Az embriókinyerési arányok viszont a 6,25 mg-os és a 12,5 mg-os adagok esetében igen hasonlóak voltak [26].

***Az inhibin specifikusan gátolja a hipofízis elülső lebenyének FSH-szekrécióját***

***Az inhibin elleni immunglobulinok neutralizálják azt csökkentve annak FSH-szintre gyakorolt elnyomó hatását***

***A rekombináns eFSH-készítmények nem tartalmazzák LH-t és egyéb szennyező anyagokat***

### INHIBIN ELLENI IMMUNIZÁLÁS

Az inhibin egy glikoprotein hormon, amelyet nőivarú állatokban a folliculogenezis során a petefészek granulosa-sejtjei termelnek [27]. Az inhibin heterodimer molekulája  $\alpha$  és  $\beta$  alegységből épül fel, ezeket diszulfidhidak kapcsolják össze. Az inhibin a hipofízis elülső lebenyének FSH-szekrécióját specifikusan gátolja [28]. Szarvasmarha és juh fajokban a kezdeti próbálkozások során aktív immunizációra egy olyan fehérjét használtak, amelyet a tüszőfolyadékából nyertek, ez szolgált antigénné. Az inhibin aminosav-szekvenciájának meghatározását követően az inhibin  $\alpha$ -alegységének szintetikus vagy rekombináns fragmentumait használták antigénné. Az inhibin elleni aktív immunizáció hátránya, hogy több héten keresztül ismételt vakcinázás szükséges, valamint a módszer nem hatékony minden kancában. Az oltás helyén esetenként jelentkezhetnek mellékhatások, amelyek súlyossága enyhe szövetduzzanattól egészen a tályogképződésig terjedhet. Továbbá, az aktív immunizációnak a petefészek működésére gyakorolt hosszútávú hatásai még nem ismertek. A kancák inhibin elleni passzív immunizációja hiperimmun, anti-inhibin plazma felhasználásával történik [15]. Az inhibin elleni immunglobulinok neutralizálják a keringő inhibint és ilyen módon lecsökkentik annak FSH-szintre gyakorolt elnyomó hatását. Ez a módszer azonban nem terjedt el a gyakorlatban, ugyanis a tapasztalt eredmények igen változóak voltak, valamint előfordultak nem kívánatos mellékhatások is [8].

### REKOMBINÁNS EFSH (REFSH)

Újabb biotechnológiai úton előállított rekombináns eFSH-val (reFSH) is végeztek kísérleteket a szuperovuláció indukálására. Ezek a készítmények nem tartalmazzák LH-t, ill. más szennyező anyagokat és hatékonyan bizonyultak ivarzó kancáknál a tüszőfejlődés serkentése szempontjából [10]. MEYERS-BROWN és mtsai kísérletük során 16 ivarzó kancát vizsgáltak és 0,85 mg reFSH-val kezelték őket, amikor a tüszők átmérője elérte a 22–25 mm-es nagyságot. Három napig 12 óránként ismételték a kezelést, majd a kezeléseket gyakoriságát napi egyre csökkentették. Ezt egészen addig folytatták, míg egy vagy több tüsző el nem érte a 32 mm-es nagyságot. A kezelés második napján prosztoglandin F2 $\alpha$ -val indukálták a sárgatest regresszióját. A 32 mm-es átmérő elérését követően befejezték a kezelést és 36 órás „coasting”-periódus kezdődött. Amikor a tüszők mérete elérte a 35–38 mm-t, a kancákat reLH-val, majd egy órával később hCG-vel kezelték. Az ovulációk száma (3,75) és a mosásonként kinyert embriók száma (1,75) nagyobb volt a reFSH-val kezelt csoportban, mint a kontroll csoportban [29].

## A SZUPEROVULÁCIÓVAL KAPCSOLATOS KIHÍVÁSOK A JÖVŐRE NÉZVE

**Alapvető kérdés, hogy mi módon lehetne az ovulációs arányt növelni anélkül, hogy ez az embriókinyerési hatékonyságának csökkenését vonná maga után**

A jövőre nézve még számos kihívás merül fel a kancák szuperovuláltatásával kapcsolatban. A hipofízis-kivonatoknál lényeges lenne a legmegfelelőbb FSH-LH arány és dózis meghatározása. A hormonális kezelés megkezdésének kritériumait szükséges lenne még pontosabban meghatározni [19]. Számos szuperovulációs vizsgálat során leírtak olyan eseteket, amikor a kancákban egyáltalán nem következett be ovuláció az exogén gonadotropin-kezelést követően vagy anovulációs tüszők alakultak ki [5]. Fontos lenne utóbbiak létrejöttének konkrét okát felderíteni. Továbbá kulcsfontosságú kérdés, hogy mi módon lehetne az ovulációs arányt növelni anélkül, hogy ez az embriókinyerés hatékonyságának csökkenését vonná maga után [19]. Ez utóbbi problémakör megoldása igen nagy jelentőségű, hiszen kancák szuperovuláltatásával kapcsolatban a gyenge embriókinyerési arányok jelentették az egyik legfőbb hátráltató tényezőt, ami megakadályozta a technológia lógyógyászatban történő alkalmazásának megszilárdulását [26].

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A publikáció elkészítését az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

## IRODALOM

- Niswender KD, Alvarenga MA, McCue PM, Hardy QP, Squires EL (2003) Superovulation in Cycling Mares Using Equine Follicle Stimulating Hormone (eFSH). *J Eq Vet Sci* 23:497–500
- Roser JF, Meyers-Brown G (2012) Superovulation in the Mare: A Work in Progress. *J Eq Vet Sci* 32:376–386
- Allen W (2005) The Development and Application of the Modern Reproductive Technologies to Horse Breeding. *Reprod Dom Anim* 40:310–329
- Panzani D, Rota A, Marmorini P, Vannozzi I, Camillo F (2014): Retrospective study of factors affecting multiple ovulations, embryo recovery, quality, and diameter in a commercial equine embryo transfer program. *Theriogenology* 82:807–814
- Raz T, Green GM, Carley SD, Card C (2011) Folliculogenesis, embryo parameters and post-transfer recipient pregnancy rate following equine follicle-stimulating hormone (eFSH) treatment in cycling donor mares. *Aust Vet J* 89:138–142
- Roser JF, Etcharren MV, Miragaya MH, Mutto A, Colgin M, Losinno L, Ross PJ (2020): Superovulation, embryo recovery, and pregnancy rates from seasonally anovulatory donor mares treated with recombinant equine FSH (reFSH). *Theriogenology* 142:291–295
- Welch SA, Denniston DJ, Hudson JJ, Bruemmer JE, McCue PM, Squires EL (2006) Exogenous eFSH, Follicle Coasting, and hCG as a Novel Superovulation Regimen in Mares. *J Eq Vet Sci* 26:262–270
- Brück Bogh I, Greve T (2009) Assisted reproductive technologies. In: Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW (eds) *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Elsevier, pp 861–862
- Davies Morel MCG (2008) The Reproductive Anatomy of the Mare. In: Davies Morel MCG: *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management*. CAB International, pp 1–14
- Meyers-Brown GA, McCue PM, Niswender KD, Squires EL, DeLuca CA, Bidstrup LA, Colgin M, Famula TR, Roser JF (2010) Superovulation in Mares Using Recombinant Equine Follicle Stimulating Hormone: Ovulation Rates, Embryo Retrieval, and Hormone Profiles. *J Eq Vet Sci* 30:560–568
- Donadeu FX, Pedersen HG (2008) Follicle Development in Mares. *Reprod Dom Anim* 43:224–231
- Davies Morel MCG, Newcombe JR, Hayward K (2010) Factors affecting pre-ovulatory follicle diameter in the mare: the effect of mare age, season and presence of other ovulatory follicles (multiple ovulation). *Theriogenology* 74:1241–1247
- Ginther OJ, Beg MA (2003) Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Anim Reprod Sci* 78:239–257
- Okólski A, Bézard J, Duchamp G, Driancourt MA, Goudet G, Palmer E (1995) Successive Puncture of the Dominant Follicle followed by Ovulation and Fertilization: A New Experimental Model for the Study of Follicular Maturation in the Mare. *Biol Reprod* 52:385–392
- McCue PM (1996) Superovulation. *Vet Clin North Am Equine Pract* 12:1–11
- Mihm M, Evans ACO (2008) Mechanisms for Dominant Follicle Selection in Monovulatory Species: A Comparison of Morphological, Endocrine and Intraovarian Events in Cows, Mares and Women. *Reprod Dom Anim* 43:48–56
- Newcombe JR, Cuervo-Arango J (2018): Induction of Multiple Ovulation In mares Following Multiple Treatment With Low Dose Buserelin. *J Eq Vet Sci* 66:95–96
- Alvarenga MA, Carmo MT, Landim-Alvarenga FC (2008) Superovulation in mares: Limitations and perspectives. *Pferdeheilkunde* 24:88–91

19. Squires EL, McCue PM (2007) Superovulation in mares. Anim Reprod Sci 99:1–8

20. Stout TA (2006) Equine embryo transfer: review of developing potential. Equine Vet J 38:467–478

21. Dippert KD, Jasko DJ, Seidel G, Squires EL (1994) Fertilization rates in superovulated and spontaneously ovulating mare. Theriogenology 41:1411–1423

22. McCue PM, LeBlanc MM, Squires EL (2007) eFSH in clinical equine practice. Theriogenology 68:429–433

23. Logan NL, McCue PM, Alonso MA, Squires EL (2007) Evaluation of three equine FSH superovulation protocols in mares. Anim Reprod Sci 102:48–55

24. Fluker MR, Hooper WM, Yuzpe A (1999) Withholding gonadotropins (“coasting”) to minimize the risk of ovarian hyperstimulation during superovulation and in vitro fertilization-embryo transfer cycles. Fert Ster 71:294–301

25. Squires EL, McCue PM, Hudson J (2004) Advances in equine superovulation. Havemeyer Found Monogr Ser 14:71–74

26. Araujo GHM, Rocha Filho AN, Lopes EP, Moya CF, Alvarenga MA (2008) Use of a Low Dose of Equine Purified FSH to Induce Multiple Ovulations in Mares. Reprod Dom Anim 44:380–383

27. Nambo Y, Nagaoka K, Tanaka Y, Nagamine N, Shinbo H, Nagata S, Yoshihara T, Watanabe G, Groome NP, Taya K (2002) Mechanisms responsible for increase in circulating inhibin levels at the time of ovulation in mares. Theriogenology 57:1707–1717

28. Roser JF, McCue PM, Hoye E (1994) Inhibin activity in the mare and stallion. Dom Anim Endocrinol 11:87–100

29. Roser JF, Meyers-Brown G (2019): Enhancing Fertility in Mares: Recombinant Equine Gonadotropins. J Equine Vet Sci 76:6–13

Közlésre érck.: 2021. febr. 17.

## HIRDETÉS

### Corden International (Magyarország) Kft.

Állatorvosi laboratóriumának  
szolgáltatásai:

- ✓ társ- és haszonállatok laboratóriumi vizsgálata
- ✓ ingyenes mintaszállítás az ország nagy részéről
- ✓ folyamatosan bővülő vizsgálati paletta
- ✓ gyors eredményközlés
- ✓ ingyenes mintavételi csövek
- ✓ terápiás szaktanácsadás
- ✓ mikrobiológiai vizsgálatok



„Az atópiás dermatitis diagnosztikája  
és kezelési lehetőségei”

**IDŐPONT:** 2021. július 06. 18<sup>00</sup>

**ELŐADÓ:** Dr. Sike Nikolett  
Részvétel ingyenes, de előzetes regisztráció  
szükséges: [ertekesites@corden.hu](mailto:ertekesites@corden.hu)

Árlistánkat kérje elektronikusan az  
[ertekesites@corden.hu](mailto:ertekesites@corden.hu) e-mail címen.

Keresse bizalommal szakembereinket

+36 30/ 287 2991  
[www.cordenvet.hu](http://www.cordenvet.hu)  
[vet@corden.hu](mailto:vet@corden.hu)



Az Állatorvostudományi Egyetem (Budapest) és az ICAR-National Institute of Animal Nutrition and Physiology (Bengaluru, India) 2016. október 1. és 2020. december 31. között, Magyar-Indiai Ipari Kutatás-fejlesztési Együttműködési Pályázat keretében sikeresen való-sította meg a *“Juh és bivaly embrió, valamint petesejt/tüsző vitrifikációs technológiája haté-konyosságának növelése: az apoptózissal és a fejlődési potenciállal összefüggő génexpressziós vizsgálatok”* című, TÉT\_15\_IN-1-2016-0082 azonosítószámú projektet a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatásával, 24 942 600 Ft támogatási összegből.

A kétoldalú együttműködés keretében az asszisztált reprodukciós eljárások közé tar-tozó, az ivarsejtek/embriók mélyhűtésére használt, legújabban azonban az ún. preantra-lis tüszők fagyasztva tárolására is tesztelt vitrifikációs technika tökéletesítését tűztük ki célul. A vitrifikáció ultragyors sebességgel kivitelezett mélyhűtésnek tekinthető, ami – a hagyományos fagyasztással szemben – a sejtek fagyasztva történő tartós tárolását teszi lehetővé, anélkül, hogy a hűtés során jégkristályok keletkeznének az oldatban, amelyek károsíthatnák a sejteket.

Kísérleteink során különböző antioxidánsok (retinol) és sejtvázstabilizáló anyagok (cytochalasin B) hozzáadásával kiegészített vitrifikációs oldatok hatékonyságát vizsgál-tuk, preantralis tüszők és embriók felhasználásával. Eredményeink azt mutatják, hogy a vitrifikáció – kisebb módosításokkal – sikeresen alkalmazható a preantralis folliculusok fagyasztva tárolására is. A felhasznált vitrifikációs eljárás hatékonyságát a retinolkie-gészítés alkalmazása nagyobb mértékben javította, mint a cytochalasin B. A retinol alkal-mazása növelte az antiapoptotikus gének expressziós szintjeit, valamint a továbbfejlődés valószínűségét. Az elvégzett vizsgálatok arra is rávilágítottak, hogy a módszer jövőbeni alkalmazása – kísérleti és gyakorlati körülmények között egyaránt – haszonállatokban megbízható eredményekhez vezethet.

A támogatott projekt keretében a vizsgálatokban való részvétel révén szakdolgozó és PhD-hallgatók gyarapíthatták laboratóriumi ismereteiket és gyakorlati tapasztalataikat. Az eredményeket nemzetközi és hazai konferenciákon, valamint tudományos folyóiratok-ban mutattuk be, ill. mutatjuk be a jövőben.

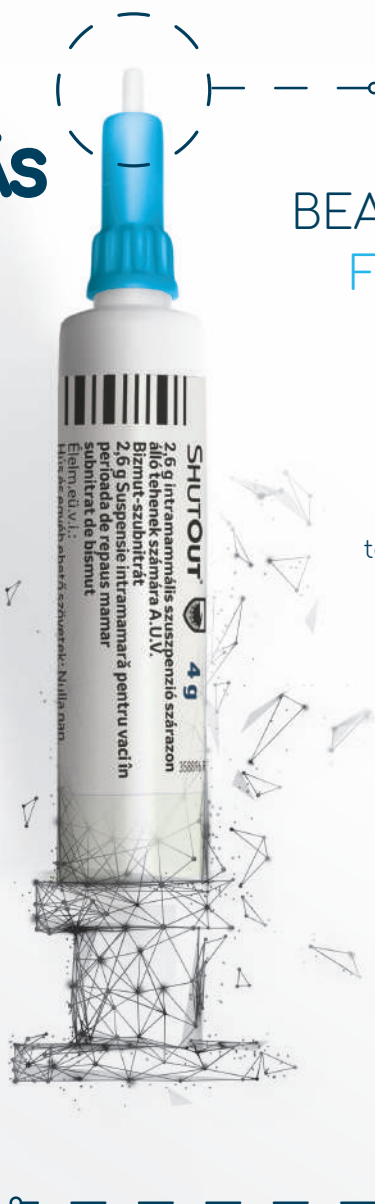


NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI  
ÉS INNOVÁCIÓS HIVATAL

AZ INNOVÁCIÓ LENDÜLETE

AZ NKFI ALAPBÓL  
MEGVALÓSULÓ  
PROJEKT

## CÉLKERESZTBEŊN A TŐGYGYULLADÁS



OPTIMALIZÁLT,  
PONTOSABB  
BEADÁST **BIZTOSÍTÓ**  
FECSEKENDŐHEGY

### Biztonságos:

Dupla fecskendőhegy: A rövid fecskendőhegy választása esetén kevesebb bimbósérülés és kevesebb fertőzés<sup>1,2</sup>

### Optimalizált

megoldás az Ön kényelme érdekében – a fecskendő tartalma könnyen kinyomható / vagy egyenes nyomással könnyen beadható

### Rövid dugattyú

- lehetővé teszi a légbuborékok nélküli gyors és kényelmes beadást

### Biológiai úton

lebomló fertőtlenítő törlőkendőkkel együtt kapható a tökéletes higiénia érdekében

### Az MSD Animal Health

soját gyártóüzemében állítják elő – megbízható, egységes minőség

**144 fecskendőt**  
tartalmazó vödörkben és  
**24 fecskendőt**  
tartalmazó dobozokban kapható

Védekezzen a  
tőgygyulladás ellen  
egy megbízható  
partnerrel



**RENDELJE MEG HELYI FORGALMAZÓJÁTÓL!**

- McDougall, S. (2003): Management factors associated with the incidence of clinical mastitis over the non-lactation period and bulk tank somatic cell count during the subsequent lactation [A klinikai mastitis előfordulásával összefüggő menedzsment tényezők a szárazonállási időszakban és az elegytej szomatikus sejtisége a következő laktációban]. New Zealand Vet. J. 51 (2): 63–72.
- Boddie, R. L. and Nickerson, S. C. (1986): Dry cow therapy: Effects of method of drug administration on occurrence of intramammary infection [Száraza állító terápia: A gyógyszer-alkalmazási módszer hatásai a tőgyfertőzések előfordulására]. J. Dairy Sci. 69, 253–257.

A hirdetés és a termékírárs nem teljes körű. Alkalmazás előtt kérjük, olvassa el a készítményhez mellékelt használati utasítást! Kizárólag állatgyógyászati alkalmazásra. Kizárólag állatorvosi vényre adható ki. A szöveg lezárásának időpontja: 2021. január 26.



VAKCINAINFÓ

# Regisztráljon a koronavírus elleni oltásra:

[vakcinainfo.gov.hu](https://vakcinainfo.gov.hu)

Az oltás önkéntes és ingyenes. Amennyiben szeretné beoltatni magát, regisztráljon most, és értesüljön elsőként a vakcinával kapcsolatos információkról és teendőkről!

---

## MINDEN ÉLET SZÁMÍT

---

Készült Magyarország Kormánya megbízásából.

**Embryo transfer in pig –  
The indispensable  
technique of assisted  
reproduction**

K.-P. Brüssow<sup>1</sup>  
P. Antosik<sup>1</sup>  
B. Kempisty<sup>2</sup>  
J. M. Jaskowski<sup>1</sup>  
S. Cseh<sup>3\*</sup>  
X. Somsy<sup>4</sup>  
J. Rátky<sup>3</sup>

1. Állatorvostudományi Központ,  
Nicolaus Copernicus Egyetem,  
Toruń, Lengyelország

2. Szövettani és  
Embriológiai Tanszék,  
Poznani Orvostudományi Egyetem,  
Poznan, Lengyelország

3. Szülészeti és Haszonállat-  
gyógyászati Tanszék és Klinika,  
Állatorvostudományi Egyetem,  
Budapest, Magyarország

\*e-mail: [Cseh.Sandor@univet.hu](mailto:Cseh.Sandor@univet.hu)

4. Állattudományi, Biotechnológiai és  
Természetvédelmi Intézet,  
Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi  
és Környezetgazdálkodási Kar,  
Debreceni Egyetem

# Embrióátültetés sertésben – Az asszisztált reprodukció nélkülözhetetlen módszere

**Klaus-Peter Brüssow<sup>1</sup>, Pawel Antosik<sup>1</sup>, Bartosz Kempisty<sup>2</sup>,  
Jedrzej Maria Jaskowski<sup>1</sup>, Cseh Sándor<sup>3\*</sup>, Xayalath Somsy<sup>4</sup>, Rátky József<sup>3</sup>**

## ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők áttekintést adnak a sertésembrió-átültetés helyzetéről. A sertés mint kísérleti állat nélkülözhetetlen az orvosbiológiai, állatorvosi és gyógyszeripari kutatásokban. Bemutatják a donor és recipiens állatok előkészítésének módjait és a különböző embriókinyerési és beültetési technikákat. Remélhetőleg a jövőben a nemzetközi élő tenyészállat-forgalmazást a nagy genetikai értékű embriók kereskedelme váltja fel, továbbá a humángyógyászati célú xenotranszplantációhoz a szükséges szerveket embrióátültetésből származó malacokkal állítják majd elő. A módszer már napjainkban is segíti a veszélyeztetett sertésfajták megőrzését.

## SUMMARY

It was 70 years ago when the team led by Professor KVASNICKI (1951) carried out the first successful embryo transfer in pig at the research institute of Poltava, Ukraine. Surgical techniques were used for both embryo recovery and transfer. Nine embryos were transferred into the oviduct of the recipient animal and four healthy piglets were born. POLGE and DAY (1968) published the first paper on successful application of non-surgical embryo transfer in pig. The pig embryo transfer technology consists of the following steps: selection of the donor animals, control of the oestrous cycle, embryo recovery, evaluation of the quality of the collected embryos, in vitro culture of the embryos (transportation of the embryos), preparation of the recipients for the embryo transfer, and embryo transfer. The surgical and non-surgical techniques have been developed and simplified very much since the first success!

The pig is a very important species in the biological, medical, veterinary medical and pharmacological investigations. The authors express their hope that the international trade of live breeding pigs with top genetic value will be replaced by the trade of embryos obtained from very valuable donor pigs. The trade of breeding animals in the form of embryo is safer than that of the live animal transportation. Using the embryo import and embryo transfer the risk of introducing infectious diseases is much lower. In the near future, hopefully, the organs that are planned to be used in xenotransplantation programs in the human medicine will be produced by piglets born from embryos of cloned/genetically manipulated donor pigs. Pig embryo transfers already support the animal conservation programs.

SERTÉS

Pontosan 70 évvel ezelőtt, Kvasnicki professzor vezetésével 1949-ben hajtották végre az első sikeres embrióátültetést sertésben, a mai Ukrajna poltavai kutatóintézetében. 9 embriót ültettek a befogadó állat petevezetőjébe, és végül 4 malac született meg [1, 2]. Történelmi jelentőségű fejlesztés volt, hiszen ebben az állatfajban napjainkban is elsősorban a műtéti embriókinyerést és -beültetést alkalmazzuk. Hosszú szünet következett, hiszen a politikai vasfüggöny a tudományos eredményeket is meglehetősen izolálta, majd közel egy évtizeddel később folytatódtak és egyre inkább gyarapodtak a kísérletek, a műtéti eljárás gyorsan fejlődött [3, 4, 5, 6]. CHRIS POLGE és BILLY DAY publikáltak először a nem-sebészi sertésembrió-átültetésről [7]. Az 1980-as években a különböző *in vitro* technikák térhódítása mellett sor került a sertésembriók nemzetközi forgalmazására is, természetesen csak kísérleti jelleggel [8, 9].

**1949-ben hajtották végre az első sikeres embrióátültetést sertésben**

Az embrióátültetés a következő összehangolt munkafolyamatokból épül fel sertés esetében:

1. A donor állatok kiválasztása és ivari működésének kontrollja.
2. Az embriók kinyerése.
3. A kinyert embriók bírálata, tárolása és kultivációja (esetenként szállítása).
4. Embriók beültetése az ivari működésükben kontrollált recipiens állatokba.

## A SERTÉSEMBRIÓ-ÁTÜLTETÉS MUNKAFOLYAMATA

### A DONOR ÁLLATOK KIVÁLASZTÁSA ÉS IVARI MŰKÖDÉSÜK KONTROLLJA

Praepuberalis és már ciklikus nemi működést mutató kocasüldőket, kifejlett kocákat sikerrel használhatunk embrió donorként. Az erőteljesebb szuperovulációs reakció és a kisebb test (könnyebb kezelhetőség) miatt gyakran a praepuberalis süldőkre esik a választás [10]. A fajtára jellemző pubertásidő előtt 4–5 héttel hatékony szuperovulációs reakciót tudunk kiváltani a leírt kezeléssel. A ciklusban lévő süldőket és öreg kocákat a nagy értékű állományok szaporításánál vagy genetikai, állategészségügyi "vészhelyzetben" vonják programba.

Általában 15–20 spontán ovuláció zajlik le a nőivarú sertés két petefészken, de ET-nél törekedni kell a nagyobb számú embrió kinyerésére. Ehhez az ún. szuperovulációs kezelést kell alkalmaznunk exogén gondotróp hormonok segítségével. Ivarérés előtti (praepuberalis) kocasüldőknél 1000–1500 NE eCG-t applikálunk, majd 72 órával később 500 NE hCG-t. Ciklusban lévő (puberalis) süldőkben először altrenogeszt-készítmény (20 mg/nap/állat per os) 15–18 napos etetésével szinkronizáljuk az ivarzást, amit rendszerint 24 órával később 1500 NE eCG, további 78 órával később 500 NE hCG injekció követ. Fialt kocáknál a választás utáni napon 1000–1250 NE eCG-t, majd 58 órával később 500 NE hCG-t adunk im. A termékenyítéseket mind a süldőknél, mind a kocáknál 24 és 38 órával a hCG beadását követően végezzük. A terv szerinti végrehajtás ellenére jelentős és megjósolhatatlan mértékű egyedi eltérések fordulhatnak elő az ovarialis válaszokban (1. táblázat). Fajtatól függő reakciókat is megfigyelhetünk: míg a modern fajtákból 20–30 embriót nyerhetünk ki, szignifikánsan kevesebbet a régi zsírsertésekből, pl. a spanyol Ibérico-ból vagy a magyar mangalicából [11].

**Embriókinyeréshez a donor állatokon szuperovulációt kell kiváltani a termékenyítés előtt**

**Általában a termékenyítés utáni 4–5. napon kell végezni az embriókinyerést**

### EMBRIÓKINYERÉSI ELJÁRÁSOK

Általában a termékenyítés utáni 4–5. napon végezzük el a beavatkozást, ilyenkor a méhszarv csúcsából nyerjük ki a morula vagy blasztociszta stádiumban lévő embriókat. A sertésembriók az ovuláció utáni 52–56. órában jutnak le a méhszarvba morula állapotban, és a cranialis 10–15 cm-es méhszarvszegmensben maradnak az ovuláció utáni 5., legfeljebb 6. napig. Ha 1–2 sejtes embriót szeretnénk kinyerni, akkor az ovulációt követő 1–2. napon a petevezetőből mossuk ki az embriót.



**1. TÁBLÁZAT.** Szuperovulációs válaszreakció praepuberalis és puberalis lapály kocasüldőkben, többször fialt lapály kocákban és mangalica kocasüldőkben [11, 35, 45]

**TABLE 1.** Superovulatory response of prepuberal and puberal Landrace gilts, multiparous Landrace sows and Mangalica gilts [11, 35, 45]

	Prepuberalis lapály süldő	Puberalis lapály süldő	Többször fialt lapály koca	Mangalica süldő
Életkor (napok)	180 ± 5	255 ± 5	Fialások száma 2-11	290 ± 10
Állatok száma (n)	83	139	139	10
Ovulációs ráta (%)	40,1 ± 12,8 <sup>a</sup>	29,4 ± 12,1 <sup>b</sup>	29,4 ± 12,1 <sup>b</sup>	22,2 ± 3,4 <sup>b</sup>
Kinyert embriók száma (n)	32,5 ± 13,6 <sup>a</sup>	23,4 ± 12,8 <sup>b</sup>	23,4 ± 12,8 <sup>b</sup>	18,7 ± 3,9 <sup>b</sup>
Átültethető embriók száma (n)	27,2 ± 12,9	20,5 ± 12,8	20,5 ± 12,8	17,3 ± 5,7
Kinyerési arány (%)	81 ± 22	79 ± 24	79 ± 24	83 ± 10

<sup>a,b</sup>  $p < 0,05$

	Prepuberal Landrace gilt	Puberal Landrace gilt	Multiparous Landrace sow	Mangalica gilt
Age (days)	180 ± 5	255 ± 5	Parity 2 - 11	290 ± 10
Animals (n)	83	139	139	10
Ovulation rate (%)	40.1 ± 12.8 <sup>a</sup>	29.4 ± 12.1 <sup>b</sup>	29.4 ± 12.1 <sup>b</sup>	22.2 ± 3.4 <sup>b</sup>
Collected embryos (n)	32.5 ± 13.6 <sup>a</sup>	23.4 ± 12.8 <sup>b</sup>	23.4 ± 12.8 <sup>b</sup>	18.7 ± 3.9 <sup>b</sup>
Transferable embryos (n)	27.2 ± 12.9	20.5 ± 12.8	20.5 ± 12.8	17.3 ± 5.7
Collection rate (%)	81 ± 22	79 ± 24	79 ± 24	83 ± 10

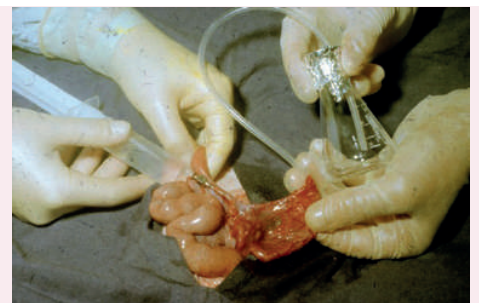
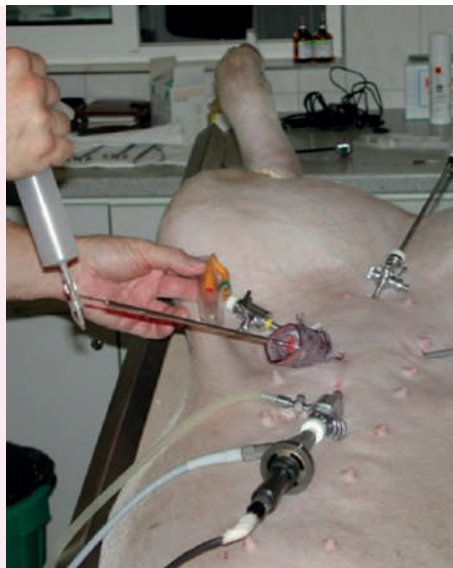
<sup>a,b</sup>  $p < 0.05$

**Az embriók kimoshatók vágást követően, ill. laparotómiás vagy minimál invazív endoszkópos műtét során**

Az embriókat kimoshatjuk a nőivarú sertések petevezetőjéből, a méhszarvokból vágást követően, ill. laparotómiás vagy minimál invazív endoszkópos műtétben (1. és 2. ábra). A vágást követő kinyerés egyértelmű hátránya, hogy a donort mindössze egyszer tudjuk programba vonni. A legelterjedtebb a műtéti anesthesia mellett, a hasfal közepvonalaiban, a *linea alba* mentén végzett laparotómiás beavatkozás, amikor a műtéti sebnyílásba emeljük a petefészket, petevetőt és méhszarvat, és cranialis irányban mossuk ki az embriókat. A "hagyományos" invazív beavatkozások hátrányait csökkenthetjük a minimálisan invazív endoszkópos műtéttel, amelyet BRÜSSOW és RÁTKY, ill. BESENFELDER és mtsai fejlesztettek ki, megalapozva az ismételt embriókinyerés lehetőségét [12, 13]. A nőivarú sertések anatómiai jellegzetességei miatt sikeres nem-sebészti embriógyűjtésről mindezidáig nem jelent meg beszámoló.

**1. ÁBRA.** Endoszkópos embriókinyerés

**FIGURE 1.** Embryo recovery with endoscope in pig



**2. ÁBRA.** Laparotómiás embriókinyerés (BRÜSSOW és KAUFFOLD, 1989)

**FIGURE 2.** Embryo recovery with median laparotomy in pig (BRÜSSOW and KAUFFOLD, 1989)

Különböző fejlődési stádiumban moshatunk ki embriókat, így 1-től 4 sejtes állapotig a petevezetőből, 8 sejtestől a blasztocisztáig a méhszarvokból.

### A KINYERT EMBRIÓK MANIPULÁCIÓJA

Az embriókat sztereomikroszkóp alatt keressük meg a mosófolyadékban, majd megfelelő tápfolyadékban morfológiai vizsgálatot végzünk, ennek alapján beültethető vagy nem-beültethető kategóriába soroljuk a képleteket [14]. A recipiensbe való beültetés előtt rövid ideig, lehetőleg kevesebb, mint 4 órán át tároljuk az embriókat, ami a kimosás utáni regenerációt segíti.

A kinyerés után lényegében az összes *in vitro* eljárást elvégezhetjük az embriókon: a különböző kultivációkat, krioprezervációt, vitrifikációt, identikus ikerelőállítás (felezés, blasztomer-kultúra), magátültetést, szexálást és géntranszfert. Ezek a módszerek a sertésembrióknál is különleges és fajspecifikus technikát igényelnek.

### RECIPIENS ÁLLATOK

A recipiens állatok kiválasztása nagy jelentőséggel bír az átültetés eredményére. Ivarérés előtti (praepuberalis) kocasüldőket is használhatunk, de célravezetőbb az ivarérett kocasüldők vagy fiatal kocák bevonása, mivel nemi szerveik és endokrin működésük már kifejlett. A recipienseket a donorok nemi ciklusával megegyező fázisba kell illeszteni. A szinkronizálás ugyanúgy történik, mint a donorokon, mindössze azzal a különbséggel, hogy a szuperovulációs reakció elkerülése érdekében kisebb dózisban adjuk az eCG-t, általában 750–800 NE-t. Jóllehet vannak beszámolók az egy napos cikluskülönbséggel végzett beültetésekről [15, 16]. Kijelenthetjük, hogy az esetleges aszinkron káros a programra, és már a kis dózisban adott eCG is a donorhoz hasonló hormonális környezetet teremt [17]. A recipienseknél fontos szempont, hogy a szinkronizálást a donorral egyszerre végezzük, így azonos ciklusnapon lesznek a beültetésnél.

Ismeretes, hogy a fajta befolyásolhatja az átültetés kimenetelét: a nagy méhkapacitású Meishan sertések kiváló recipiensek, míg lapály kocákba ültetve a mangalicaembriókat szintén jelentősen növelhetjük az alomlétszámot [11, 18].

### EMBRIÓBEÜLTETÉS

Rendszerint sebészi módszerrel történik a beültetés, amely több évtizedes múltra tekinthet vissza. A fejlődési fázistól függően a petevezetőbe (1–4 sejtes embriók) vagy a méhszarv csúcsába (8 sejtestől blasztocisztáig) ültetünk (3. ábra). Transzferpipettával vagy katéterrel, kis mennyiségű tápfolyadékban juttatjuk be az embriókat. A műtéti mellékhatások és szövődmények veszélyének csökkentésére kifejlesztették az endoszkópos beavatkozást is [13, 19, 20].

A nem-sebészi beültetést számos kutató megpróbálta, és a megfelelő katéter használata óta javultak az esélyek [21, 22, 23, 24, 25]. A mély intrauterin transzfert is sikerrel alkalmazza néhány csoport, és ma már úgy tűnik, a vértelen úton végzett eljárások mutatják a jövőt a sertésembrió-transzfer szélesebb körű elterjedésében [26, 27]. A nyakcsatornán át juttatjuk be a méhtestbe, méhszarvba, annak csúcsáig a flexibilis katéttert.

15–20 embriót kell beültetni a normál termékenyülés eléréséhez [28]. Sebészi embrióbeültetésnél ez hozzávetőlegesen 70%-os vemhesülést eredményez, vértelen módszernél 56%-ot. A vértelen beültetési technika eredményessége, az anatómiai sajátosságok miatt még nem éri el a műtéti módszer hatékonyságát. Természetesen nagy szórás tapasztalható a programok eredményében, ami 17% és 100% között mozog, az alomlétszám pedig az említett beültetett embriószám mellett 2–11 malac szokott lenni. Optimális feltételek mellett, amikor kiváló minőségű embriókat ültetünk be, a termékenyülési arány és az alomnagyság eléri a mesterséges termékenyítés után kapott számokat.

*A kinyert embriók morfológiai vizsgálata következik sztereomikroszkóp alatt*

*Kifejlett nemi szerv- és hormonrendszerük miatt ivarérett kocasüldők, vagy fiatal kocák a legmegfelelőbbek recipiens állatoknak*

*A recipienseket a donorok nemi ciklusával megegyező fázisba kell illeszteni*

*A beültetés történhet sebészi, endoszkópos, ill. egyre inkább nem-sebészi, mély intrauterin transzferrel*

*15–20 embriót kell beültetni a normál termékenyülés eléréséhez*

**3. ÁBRA.** Beültethető és nem beültethető minőségű sertésembriók

**FIGURE 3.** Transferable and non-transferable quality pig embryos



**2. TÁBLÁZAT.** Sebészi és nem-sebészi embrióátültetések eredménye [42, 46]

**TABLE 2.** Results of surgical and non-surgical embryo transfer [42, 46]

Beültetés	Beültetések száma	Vemhesülési arány (%)	Alomnagyság	Programok száma
Sebészi				11
Átlag (Min-Max)	(27-206)	71 (53-88)	7,8 (6,7-10,2)	
Nem-sebészi				17
Átlag (Min-Max)	(16-74)	56 (9-92)	6,8 (3,1-10,9)	

Transfer	Transfers (n)	Pregnancy (%)	Litter size	Program (n)
Surgical				11
Average (Min-Max)	(27-206)	71 (53-88)	7.8 (6.7-10.2)	
Non-surgical				17
Average (Min-Max)	(16-74)	56 (9-92)	6.8 (3.1-10.9)	

## A SERTÉSEMBRIÓ-ÁTÜLTETÉS JELENLEGI HELYZETE

### A MÓDSZER ALKALMAZÁSÁT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK

Néhány fontos tényező befolyásolja az embrióátültetés eredményeit. Természetesen jó minőségű embriókat kell beültetnünk, de a "jó minőségű" kategória meglehetősen szubjektív. Jelenleg a sztereomikroszkóp alatt végzett morfológiai vizsgálat terjedt el legjobban, amely majdnem kizárólag a szakember korábbi tapasztalatain alapszik. Léteznek egyéb kvalitatív analízisek, pl. citogenetikai, metabolomikai, proteinexpressziós vizsgálatok, microarray-teszt, viszont ezek – bár pontosabb indikátorok, mint a sztereomikroszkópos morfológia – majdnem

**Az embriók értékelésének jelenleg még a sztereomikroszkópos vizsgálat a legmegbízhatóbb módja**

mindig invazív előkészítést igényelnek, amikor a blasztomerek citoplazmája, a biokémiai ultrastruktúra destabilizálódik [29, 30, 31]. Pillanatnyilag tehát nincs olyan megbízható és gyakorlatias módszer, amely felülmúlná a szokásos morfológiai ellenőrzést.

Érdekes és járható útnak tűnik az a spektrofotometriás eljárás, ahol az 5 napos morulákat az abszorpciós tulajdonságaik szerint két csoportba sorolják: a nagyobb abszorpciós képességű morulák homogénebb blasztomereeloszlással és citoplazmával, következésképpen nagyobb fejlődési potenciállal bírnak. Egy közelmúltbeli kísérletben a két csoportba sorolt embriókat külön-külön recipiensekbe ültették, amely igen jelentős eltérést eredményezett: 1. osztályú embrióknál 50% vemhesülési arány, 2. osztály esetében 0% (Brüssow és mtsai, nem publikált adat). Mindez biztató a non-invazív embrióminősítések jövőjére nézve, és kiegészítő adatokkal szolgálhat a sztereomikroszkópos osztályozás mellett.

A szuperovuláció során alkalmazott hormonkészítmények szintén befolyásolhatják a kinyert embriók minőségét. A nagyobb gonadotrophormon-mennyiség olyan folliculusokat is fejlődésnek indíthat, amelyek a beavatkozás nélkül atretizálnának [32], így viszont nem teljesen érett tüszők, bennük petesejtek jutnak el az ovulációs stádiumba, ami a fertilizációt és a korai embriófejlődést károsítja. Ilyen esetekben kevesebb kifejlett blasztocisztát találtak, a degenerált embriók aránya nagyobb, a vemhességi arány kisebb volt [9, 33].

A sebészi embriókimosások (ideértve az endoszkópos módszert is) jelentősen beszűkíti a donorok ismételt felhasználását. Hiteles közlemény van arról, hogy kocákat 4–5 alkalommal vontak programba 3, ill. 6 hetes intervallumokkal, átlag 16 kinyert embrióval [34]. Tehát magas szinten is kivitelezhető a műtét, de ehhez hasonló beszámoló más szerzőktől nem jelent meg.

Viszonylag nagyszámú embriót kell átültetnünk a normál alomnagyság eléréséhez: 15–20 friss, körülbelül 40 fagyasztott-olvasztott embriót. Ez a tényező szintén korlátozza a sertésembrió-átültetés gyakorlati hatékonyságát, hiszen a donor : recipiens arány általában nem több, mint 1 : 2, rossz esetben 1 : 0,5. Az ovulált folliculusokra vetítve legfeljebb 20%-ból lesz megszületett malac.

Végül be kell vallani, hogy a beavatkozás komoly költségekkel jár. A szükséges gyógyszerkészítmények, táptalajok, sebészeti és laborműszerek, végül a gyakorlott szakemberek egyaránt nélkülözhetetlenek a sikeres programokhoz.

### A SERTÉSEMBRIÓ-ÁTÜLTETÉS JELENLEGI ÉS JÖVŐBELI HELYZETE

Az embrióátültetés eltérő jelentőségű a különböző háziállatfajokban. A szarvasmarhával és juhhal ellentétben sertésben a gyakorlati/kereskedelmi alkalmazás nagyon korlátozott. Ennek hátterében főleg a sertés szaporasága, a sertésszektor mindenkori piaci helyzete, a sebészeti embriókinyerés, a kicsi donor : recipiens arány és az embriók, petesejtek gyenge mélyhűthetősége húzódik meg.

A gyakorlati felhasználás közül érdemes kiemelni a zárt állományokba történő genetikai anyag bevitelét és az utódnyerést nagy tenyésztékű, de fertőzött állományból vagy nagy genetikai értéket képviselő kocák hasznos élettartamának végén [35, 36]. Volt néhány példa az embriók nemzetközi forgalmazására is [8, 9, 37]. A sikeres projektek között említhetjük az 1990-es évek végén még veszélyeztetett mangalica fajta gyorsabb szaporítása érdekében végzett fajtaközi embrióátültetéseket [19].

Bármelyik *in vitro* technika végén – ha utódokat akarunk kapni – az embrióátültetés nélkülözhetetlen. Számptalan közleményt olvashatunk *in vitro* embrió-, identikus ikerelőállításról (ideértve a klónozást), szexált embriókról, transzgénikus sertésekről stb., de mindegyik program végén be kellett ültetni az embriókat, ha megszületett malacokra volt szükség [8, 19, 28, 38, 39].

A gyakorlati szintű kriokonzerválás és/vagy vitrifikáció észrevehetően javítani fogja az embrióátültetés elterjedését [20, 27, 32, 40]. Biztató erőfeszítések és eredmények láttak napvilágot, de ezek hatása egyelőre még nem megfelelő.

**Az ovulált folliculusokra vetítve legfeljebb 20%-ból lesz megszületett malac**

**Szarvasmarhával és a juhokkal ellentétben sertésben az embrióátültetés jelentősége egyelőre korlátozott**

**A sertésembrió-  
átültetésnek fontos  
szerepe lehet  
értékes fajták,  
vonalak megőrzése  
szempontjából is**

Az *in vitro* embrióelőállítás fejlesztése szintén gyarapítani fogja a beültetési programokat [38, 41, 42]. Egyébként a szakmában ismert nehézségek ellenére az utóbbi időben már viszonylag jó *in vitro* embrióprodukciónak, majd vemhesülési eredményekről olvashatunk [43, 44, 45, 46].

Mindez a génmegőrzés szempontjából is igen fontos, akár a veszélyeztetett fajtákra, akár – és ennek aktualitása az afrikai sertéspestis fenyegetése miatt sajnos nem kérdéses – járványos állatbetegségekben az értékes vonalak és családok megtartására. Szükséges a génbankok kialakítása, és az onnan kikerülő *in vivo* vagy *in vitro* vagy embriók lege artis beültetése megfelelő recipiensekbe [47, 48].

A sertésembrió-átültetés nagy hozzáértést igénylő eljárás, magában foglalja az embriók kinyerését, kultivációját és beültetését recipiens állatokba. Az egyes munkafázisok fejlesztése, pl. az *in vitro* rendszerek, a mélyhűtés, a minimál invazív műtétek növelni fogják ennek a biotechnikai módszernek az elterjedését. Élő állatok helyett a nemzetközi embriókereskedelem, a xenotranszplantációhoz szánt sertések előállítása, a veszélyeztetett fajták és járványhelyzetek egyaránt a szakmai érdeklődés és érdekek fókuszába emelhetik az sertésembrió-átültetést a közeli jövőben.

## IRODALOM

- Kvasnicki AV (1950) Novoje v fiziologii rasmnozhenija zhivotnykh, Sel'chosisdat, Moskov
- Kvasnicki AV (1951) Interbreed transplantation of ova. Sovetskaja Zootechnika 1:36
- Pomeroy RW (1960) Infertility and neonatal mortality in the sow III. Neonatal mortality and foetal development. J Agric Sci 54:31–56
- Dziuk PJ, Polge C, Rowson LEA (1964) Intrauterine migration and mixing of embryos in swine following egg transfer. J Anim Sci 23:37–42
- Hancock JL, Howell GJT (1962) Egg transfer in the sow. J Reprod Fertil 2:307–331
- Smidt D, Steinbach J, Scheven B (1965) Modified method for the in-vivo recovery of fertilized ova in swine. J Reprod Fertil 10:153–156
- Polge C, Day BN (1968) Pregnancy following nonsurgical egg transfer in pigs. Vet Rec 82:712
- Niemann H, Wüst A, Gardon JC (1989) Successful intercontinental transport of porcine embryos from Europe to South America. Theriogenology 31:525–530
- Wrathall AE, Done JT, Stuart P, Mitchell D, Betteridge KJ, Randall GC (1970) Successful intercontinental pig conceptus transfer. Vet Rec 87:226–228
- Ziecik AJ, Bialowicz M, Kaczmarek M, Demianowicz W, Rioperez J, Wasielek M, Bogacki M (2005) Influence of estrus synchronization of prepuberal gilts on embryo quality. J Reprod Dev 51:379–384
- Rátky J, Brüssow KP, Solti L, Torner H, Sarlós P (2001) Ovarian response, embryo recovery and results of embryo transfer in a Hungarian native pig breed. Theriogenology 56:969–978
- Brüssow KP, Rátky J (1996) Endoscopic collection of porcine embryos. Reprod Dom Anim 31:711–715
- Besenfelder U, Mödl J, Müller M, Brem G (1997) Endoscopic embryo collection and embryo transfer into the oviduct and the uterus of pigs. Theriogenology 5:1051–1060
- Brüssow KP, Kauffold M (1989) Method of embryo transfer in swine. Mh Vet-Med 44:312–317
- Pope WF, Lawayer MS, Nara BS, First NL (1986) Effect of asynchronous superinduction on embryo survival and range of blastocyst development in swine. Biol Reprod 35:133–137
- Weibel SK, Peters JB, Anderson LL (1970) Synchronous and asynchronous transfer of embryos in the pig. J Anim Sci 30:565–568
- Brüssow KP, Schneider F (1993) Steroid hormone secretion in donor gilts after superovulation induction and the possible influence on embryo quality and transfer success. Mh Vet-Med 48:405–411
- Wilson ME, Biensen NJ, Youngs CR, Ford SP (1998) Development of Meishan and Yorkshire littermate conceptuses in either a Meishan or Yorkshire uterine environment to day 90 of gestation and to term. Biol Reprod 58:905–910
- Rátky J, Treuer A, Szabo P, Döbrenstei B, Soos F, Seregi J, Solti L, Brüssow K-P (1997) Propagation of endangered swine breed by laparoscopic ET. Theriogenology 47:405
- Stein-Stefanie J, Holtz W (1987) Surgical and endoscopic transfer of porcine embryos to different uterine sites. Theriogenology 27:278
- Day BN, Mathias K, Didion BA, Martinez EA, Caamano JN (2003) Deep intrauterine insemination in sows: first field trial in USA commercial farm with newly developed device. Theriogenology 59:213
- Galvin JM, Killian DB, Stewart ANV (1994) A procedure for successful nonsurgical embryo transfer in swine. Theriogenology 41:1279–1289
- Hazeleger W, Kemp B (1994) Farrowing rate and litter size after transcervical embryo transfer in sows. Reprod Dom Anim 29:481–487
- Li J, Rieke A, Day BN, Prather RS (1996) Technical note: Porcine non-surgical embryo transfer. J Anim Sci 74:2263–2268
- Yonemura I, Fujino Y, Irie S, Miura Y (1996) Transcervical transfer of porcine embryos under practical conditions. J Reprod Dev 42:89–94

26. Martinez EA, Caamaño JN, Gil MA, Rieke A, McCauley TC, Cantley TC, Vazquez JM, Roca J, Vazquez JL, Didion BA, Murphy CN, Prather RS, Day BN (2004) Successful nonsurgical deep uterine embryo transfer in pigs. *Theriogenology* 61:137–146
27. Martinez EA, Cuello C, Parrilla I, Martinez C, Nohalez A, Vazquez J, Vazquez J, Roca J, Gil M (2016) Recent advances toward the practical application of embryo transfer in pigs. *Theriogenology* 85:152–161
28. Brüssow KP, Schwiderski H (1990) Results of transfer of porcine split embryos. *Arch Tierz* 33:443–447
29. Antosik P, Walczak R, Kempisty B, Torner H, Szczepańska P, Jackowska M, Woźna M, Bukowska D, Dziuban J, Jaśkowski JM, Brüssow KP (2010) Using the lab-on-chip system to evaluate the quality of porcine embryos collected from prepuberal and cycling gilts. *Proc 26<sup>th</sup> Annual Meeting A.E.T.E. – Kuopio, Finland, 10th–11th September, 128*
30. Szczepanska P, Walczak R, Dziuban J, Kempisty B, Jackowska M, Antosik P, Jaskowski J, Bargiel S (2010) Quality assessment of mammalian germ cells by using lab-chip microcytometer. *Elektronika* 6:93–96
31. Walczak R, Szczepańska P, Dziuban J, Kempisty B, Jackowska M, Antosik P, Jaśkowski J, Chelmońska-Soyta A (2010) Lab-on-a-chip for developmental competence assessment of bovine oocytes. *Elektronika* 11:30–33
32. Moor RM, Kruip TAM, Green D (1984) Intraovarian control of folliculogenesis: limits to superovulation. *Theriogenology* 21:1103–116
33. Hazeleger W, Bouwmann EG, Noordhuizen JPTM, Kemp B (2000) Effect of superovulation induction on embryonic development on day 5 and subsequent development and survival after nonsurgical embryo transfer in pigs. *Theriogenology* 55:1063–1070
34. James JE, Reeser PD (1979) Embryo recovery in swine. *Theriogenology* 11:47–50
35. Brüssow KP, Kauffold M, George G, Thieme H-J, Maaß P (1989) Use of high-quality adult sows for embryo transfer. *Mh Vet-Med* 44:317–320
36. Curnock RM, Day BN, Dziuk PJ (1976) Embryo transfer in pigs. A method for introducing genetic material into primary specific-pathogen-free herds. *Amer J Vet Res* 37:97–98
37. James JE, Reeser PD, Davis DL, Straiton EC, Talbot AC, Polge C (1980) Culture and long-distance skipment of swine embryos. *Theriogenology* 14:463–469
38. Abeydeera RL (2002) In vitro production of embryos in swine. *Theriogenology* 57:257–273
39. Nagashima H, Hiruma K, Saito H, Tomii R, Ueno S, Nakayama N, Matsunari H, Kurome M (2007) Production of live piglets following cryopreservation of embryos derived from in vitro-matured oocytes. *Biol Reprod* 76:900–905
40. Dobrinsky JR, Nagashima H, Pursel VG, Schreier LL, Johnson LA (2001) Cryopreservation of morula and early blastocyst stage swine embryos: birth of litters after embryo transfer. *Theriogenology* 55:303
41. Funahashi H, Day BN (1997) Advances in in vitro production of pig embryos. *J Reprod Fertil* 52: Suppl 271–283
42. Marchal R, Feugang JM, Perreau C, Venturi E, Terqui M, Mermilod P (2001) Meiotic and developmental competence of prepubertal and adult swine oocytes. *Theriogenology* 56:17–29
43. Rorie RW, Voelkel SA, McFarland CW, Southern LL, Godke R (1985) Micromanipulation of day-6 porcine embryos to produce split-embryo piglets. *Theriogenology* 23:225
44. Brüssow KP, König I (1990) Ovarian reaction and embryo quality in donor gilts used for embryo transfer following superovulation stimulation. *Mh Vet-Med* 45:143–149
45. Brüssow KP (1990) Results obtained from transfer of embryos into oviduct and uterus of swine. *Mh Vet-Med* 45:562–565
46. Brüssow KP, Torner H, Kanitz W, Rátky J (2000) In vitro technologies related to pig embryo transfer. *Reprod Nutr Dev* 40:469–480
47. Polejaeva IA, Chen SH, Vaught TD, Page RL, Mullins J, Ball S, Dai Y, Boone J, Walker S, Ayares DL, Colman A, Campbell KH (2000) Cloned pigs produced by nuclear transfer from adult somatic cells. *Nature* 407:505–509
48. T, Ozawa M, Noguchi J, Kaneko H, Nakai M, Maedomari N, Ito J, Kashiwazaki N, Nagai T, Kikuchi K (2009) Live piglets derived from in vitro-produced zygotes vitrified at the pronuclear stage. *Biol Reprod* 80:42–49

Közlésre érkező: 2021. jan. 19.

# BiogenicVET®

## CSAK ÁLLATORVOSOKNAK, CSAK ÁLLATORVOSOKTÓL!

BiogenicVet a kezelések támogatásához

### Neurovet Alpha Complete



Takarmánykiegészítő kutyáknak neurodegeneratív betegségek, degeneratív arthritisz, és az öregedéssel együtt járó meglassulás esetén.

Kiemelkedő **Alpha-liponsav** (ALA: 200mg /4g) összetételével hozzájárul az idegsejtek és a szövetek egészséges működéséhez és újjáépítéséhez.



Az AlphaVet széles spektrumot lefedő BiogenicVet takarmány-kiegészítő termékcsaládja 30 különböző terméket tartalmaz. A választékban megtalálhatók húgyúti problémákra, veseelégtelenségre, emésztésre, kardiovaszkuláris rendszerre és májműködésre ható szerek, izületvédők, immunerősítők, bőr-ször problémák esetén használható készítmények, nyugtató tabletták, idegrendszeri degeneráció és egy vérszegénységben használható kapszula is.

A BiogenicVet termékeket kizárólag állatorvosi rendelőkön keresztül forgalmazzuk.

Kérjük most a meglévő termékpalletta kibővítéséhez a segítő véleményed az alábbi kérdőív kitöltésével: <https://form.jotform.com/211304562781047>

Telefonod kamerájával  
olvasd be!



A BiogenicVet termékcsalád hamarosan újabb termékekkel bővül, mellyel kiegészíti palettáját a szülészeti és életminőséget javító készítményekkel.

**ALPHA VET** BiogenicVET®

Várjuk megrendelésedet: [www.alphaportal.hu](http://www.alphaportal.hu)

A termékeinkkel kapcsolatos részletes információért keresd fel honlapunkat: [www.biogenicvet.com](http://www.biogenicvet.com)

## ANTIMIKROBIÁLIS REZISZTENCIAGÉNEK A JOGHURTBAN ÉS A KEFIRBEN

Az Állatorvostudományi Egyetem Bioinformatikai Központjának kutatói a probiotikus tejtermékek rezisztenciagén-készletét vizsgálták. Az alapfeltevés szerint az erjedés során az oltókultúra-alkotó baktériumtörzsek számával arányos mértékben feldúsulhatnak a géntranszfer-folyamatok során átadható antimikrobiális rezisztenciagének (ARG-k). A jelenségnek az antimikrobiális rezisztencia (AMR) terjedésében is szerepe lehet.

Az átfogó, kefiroltókultúra-törzsekre (7 minta), joghurt- és kefiroltókultúrákra (1 joghurt- és 4 kefirminta), valamint termékekre (5 joghurt és 15 kefir minta) kiterjedő kutatás alapját új-generációs shotgun-szekvenálásból származó bázisszekvenciákat tartalmazó adatsorok adták. A kutatók a joghurt- és kefiroltókultúra-alkotó törzsek, oltókultúrák, valamint a késztermékek bakteriális összetétele mellett meghatározták a minták rezisztenciagén-tartalmát, valamint a gének baktériumok közötti elmozdulását elősegítő genetikai elemek halmazát.

A joghurthoz köthető mintákban a *Streptococcus thermophilus*, a kefir esetében pedig a *Lactobacillus kefiranofaciens* és a *Leuconostoc mesenteroides* volt a legnagyobb relatív gyakoriságban előforduló baktériumfaj. A vizsgált hat mintakategóriából (joghurt- és kefiroltókultúra-törzsek, oltókultúrák és termékek) arányaiban a legnagyobb ARG-gyakoriságot a kefiroltókultúra-törzsekben azonosították. A kefirtermékmintákban 22, az oltókultúrákban 2, az oltókultúratörzsekben 1 ARG-típust detektáltak, míg a joghurttermékmintákban 1, az oltókultúrákban pedig 2 ARG-típus volt azonosítható. A mintákban összesen 24-féle ARG volt jelen, amelyek közül a *poxtA* (fenikol-oxazolidin-tetraciklin rezisztenciagén) fordult elő a leggyakrabban. Az összesített ARG-készlet egyes elemei többek között az aminokumarinokra, az aminoglikozidokra, a karbapenemekre, a cefalosporinokra, a penámokra, a linkózamidokra, a makrolidokra, a pleuromutilinekre, a fluorokinolonokra, a tetraciklinekre, a fenikolokra, a triklozánra, a rifampicinekre, és a diaminopirimidinekre is hatással lehetnek. Az egyik kefiroltókultúra-mintában egy ARG közvetlen közelében egy DNS-hasító transzpozáz enzimet kódoló gén is detektálható volt, amely elmozdulást elősegítő genetikai elemként nagyban hozzájárul a baktériumok közötti génátadás lehetőségének kialakításához.

A különböző kefiroltókultúra-alkotó baktériumtörzsek száma az erjesztés kezdetén, valamint 8. és 24. órájában az egyes törzsek genomjában detektált rezisztenciagének mennyiségével arányosan változott, vagyis egyes rezisztenciagének mennyisége - a hordozó baktériumok számával együtt - az erjedés során jelentősen megnőtt.

Forrás: Tóth AG, Csabai I, Maróti G, Jerzsele Á, Dubecz A, Patai ÁV, Judge MF, Nagy SÁ, Makrai L, Bányai K, Szita G, Solymosi N (2020) A glimpse of antimicrobial resistance gene diversity in kefir and yoghurt. *Scientific Reports* 10(1):22458



**Genotyping of a *SORCS2* polymorphism and behavioural trait associations in newly developed laying hen populations**

L. Cs. Sárvári<sup>1\*</sup>  
K. Tempfli<sup>1</sup>  
K. Szalai<sup>1</sup>  
E. Zsédely<sup>1</sup>  
E. Lencsés-Varga<sup>1</sup>  
A. Almási<sup>2</sup>  
A. Orbán<sup>2</sup>  
A. Hidas<sup>2</sup>  
Á. Bali Papp<sup>1</sup>

1. Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Állattudományi Tanszék, H-9200 Mosonmagyaróvár, Vár tér 2.

\*e-mail: sarvari.loretta@sze.hu

2. Bábolna TETRA Kft, Bábolna

# SORCS2-polimorfizmus és a viselkedési mintázat összefüggései új, kísérleti tojóhibrid-állományokban

Sárvári Loretta Csilla<sup>1\*</sup>, Tempfli Károly<sup>1</sup>, Szalai Klaudia<sup>1</sup>, Zsédely Eszter<sup>1</sup>, Lencsés-Varga Erika<sup>1</sup>, Almási Anita<sup>2</sup>, Orbán Attila<sup>2</sup>, Hidas András<sup>2</sup>, Bali Papp Ágnes<sup>1</sup>

## ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők fejlesztés alatt álló, ketrec nélküli tartásra alkalmas tojóhibrid-állományokban végezték el a *SORCS2* génben található nukleotidpolimorfizmus genotipizálását. A vizsgált állományban a homozigóta CC tyúkoknál figyelték meg az agresszióhoz köthető viselkedésminták gyakoribb előfordulását. A kifutóval ellátott és zárt istállók eredményeinek összehasonlítása alapján megállapították, hogy a kifutózott állományban nagyobb az aktivitás és gyakoribbak az agresszív viselkedésformák. Az eredmények felhasználhatók a hibridek szelekciója és az előnyösebb tenyésztési konstrukció kiválasztása során.

## SUMMARY

**Background:** Cage-free egg production methods are advancing in the European Union due to stringent housing regulations, animal welfare and consumer pressure. A changing production environment requests novel adaptation strategies of which the development of specific layer hybrids or strains is notably promising. Cage-free housing systems allow for a rather complete expression of social behaviour in laying hen populations; however, increasing stress, aggression and feather pecking are considered as major consequences.

**Objectives:** This study aimed to detect a recently described *SORCS2* polymorphism in newly developed Hungarian laying hen populations and observe potential associations with behavioural traits. Cage-free housing technologies with or without outdoor access were also compared.

**Materials and Methods:** Occurrence of behavioural traits were individually recorded for 119 hens. A novel PCR-RFLP method was developed and applied for *SORCS2* genotyping with *RsaI* endonuclease.

**Results and Discussion:** The *SORCS2* polymorphism was present in the Hungarian populations, C allele frequencies varied between 75.1–85.5%. Homozygous TT genotype was the least prevalent across the three experimental populations with frequencies 2.2–4.2%. The experimental hybrid populations demonstrated different ( $p < 0.05$ ) levels of aggression and activity related behavioural patterns. Homozygous CC animals showed more cases of aggressive behaviour compared to other genotypes. Feather pecking was more common in populations with outdoor access compared to the closed barn system ( $p < 0.05$ ). The social behaviour of laying hens is affected by many factors in an immensely complex system. Selection efficiency on behaviour can be improved with a more profound knowledge on its genetics.

BAROMFI

A modern állatitermék-előállításban az állatvédelem és az állatjólét fokozott hangsúllyal jelenik meg. Az egyre szigorúbb követelményeknek megfelelő állatvédelmi és állatjóléti feltételek biztosítása a kedvező fogyasztói megítélés eléréséhez és a termelés fenntartásához egyaránt elengedhetetlen. A tojótyúkok tartástechnológiájának alakulásában a fogyasztói elvárásoknak kifejezetten nagy szerepe van, jelentős nyomást gyakorolnak a tartás szabályozására. Példaként említhető az alapvető változásokat (pl. férőhelynövelés, ún. feljavított vagy felújított ketrecek használata) bevezető rendelet a hagyományos ketrecek felszámolásáról, átalakításáról; az EU-ban 2012-től tilos a hagyományos ketreces tartásmód alkalmazása [1, 2]. A fogyasztói megítélés szempontjából azok a tartási rendszerek a leginkább elfogadottak, amelyekben a termelő állatoknak lehetőségük van természetes szociális és egyedi viselkedési formáik kifejezésére. Számos nyugat-európai országban növekszik a ketrec nélkül tartott tyúkoktól származó tojás mennyisége [3]. Az EU-ban a tojótyúkállomány közel felét ketrec nélküli technológiában tartották (27,8% istállózott, 16,3% szabadtartás/kifutózott istálló, 5,4% ökológiai gazdálkodás), és mindössze 50,4% volt új típusú ketrecekben 2018-ban [4].

*A modern állatitermék-előállításban az állatvédelem és az állatjólét fokozott hangsúllyal jelenik meg*

*Az EU-ban is egyre több tojótyúkot tartanak ketrec nélküli technológiában*

*A csoportosan tartott állományban jelentős kihívás az agresszív viselkedés*

A tojótyúkok ketrec nélküli, csoportos tartása mellett, hogy kitűnően biztosítja a természetes viselkedésformák megjelenését, számos kihívás elé állítja a termelőket és a tenyésztőket egyaránt. Egy 2018-as felmérés alapján az amerikai (USA) lakosság szerint a tojótyúkok társas, mélyalmos elhelyezése a szabadtartáshoz hasonló előnyökkel jár (pl. természetes viselkedésformák megjelenése), azonban alig ismerik ezeknek a tartástechnológiai rendszereknek a potenciálisan hátrányos következményeit (pl. agresszió megjelenése, fokozott stressz, növekvő elhullási arány, növekvő ammónia- és porkoncentráció, nagyobb takarmányfogyasztás mellett csökkenő takarmányértékesítés) [5, 6].

A mélyalmos, istállózott tartástechnológia alkalmazása során fellépő jelentős kihívás a csoportosan tartott állományban megjelenő agresszív viselkedés. Ketrec nélküli, csoportos tartásban a tollcsipkedést az állomány 40–80%-ában, a kannibalizmust 20–40%-ban figyelték meg különböző telepeken [3]. A káros viselkedésformák kialakulásának mértéke figyelemre méltó különbségeket mutat az egyes tojóhibridek között, ami a tulajdonság genetikai meghatározottságára utal [7]. Számos kutatási eredmény igazolja, hogy a megfelelő vonal-, hibrid- vagy fajtaválasztás az agresszió elleni védekezés egyik legfontosabb eszköze, amivel érdemben csökkenthető a káros viselkedésformák megjelenése a ketrec nélküli rendszerekben [8, 9]. Ennek köszönhetően a fogyasztói elvárásoknak leginkább megfelelő, csoportos tartási környezetben is gazdaságos tojástermelésre alkalmas hibridek, fajták kialakítása a tenyésztővállalkozások egyik kiemelt célkitűzésévé vált. A tenyésztői munka eredményességéhez elengedhetetlen, hogy megismerjük a viselkedés genetikai hátterét, különös tekintettel az agresszív viselkedésformák öröklődésére.

*Az agresszióval kapcsolatos viselkedésminták örökölhetőségi értéke viszonylag nagy*

Korai vizsgálati eredmények alapján az agresszióval kapcsolatos viselkedésminták örökölhetőségi értéke ( $h^2$ ) viszonylag nagy: 0,57 [10]. Különböző állatfajoknál egyes neurotranszmitterek (dopamin, szerotonin,  $\gamma$ -aminovajsav) szerepét igazolták az agresszivitás szabályozásában [11], de az örökölődésért felelős lokuszokról, génekről kevés információval rendelkezünk. Egy húshasznú, őshonos kínai tyúkfajtánál elvégzett, teljes genomra kiterjedő asszociációs vizsgálat segítségével 33 nukleotidpolimorfizmust (single nucleotide polymorphism, SNP) azonosítottak, amelyek szignifikáns ( $p < 0,001$ ) mértékű összefüggést mutattak az agresszióval [12]. A polimorfizmusok közül a legjelentősebb hatást a SORCS2 (sortilin related VPS10 domain containing receptor 2) gén intronjában talált citozin-timin (C/T) SNP esetében figyelték meg. A SORCS2 gén tyúk fajban a 4. kromoszómán helyezkedik el, fehérjeterméke I-es típusú

**A SORCS2 gén polimorfizmusa jelentős összefüggést mutat az agresszív viselkedéssel**

**A SORCS2-polimorfizmust PCR-t követő RFLP-módszerrel vizsgálták egy új fejlesztésű kísérleti tojótyúkállományban**

**A kísérleti állományt 2160 tojótyúk alkotta**

**A genotipizálást és a viselkedési adatok gyűjtését 119 véletlenszerűen kiválasztott egyednél végezték el a 35–37. élethétben**

**Az eredményeket statisztikai próbákkal értékelték**

**A viselkedési formák megfigyelése során jelentős egyedi különbségeket tapasztaltak**

transzmembrán glikoprotein receptor. A gén emlősökben megfigyelt polimorfizmusai szerepet játszhatnak a bipoláris zavar és a figyelemhiányos hiperaktivitás-zavar kialakulásában [13, 14]. Nagymértékben expresszálódik mind a fejlődő, mind a kifejelett központi idegrendszerben, fontos szerepet játszik a neurális struktúrák kialakulásában, részt vesz az agyi plaszticitás alakításában [13]. A SORCS2 gént is érintő kópiaszám-variációkat fedeztek fel az őshonos mexikói creole tyúkfajtában, ami a génnel kapcsolatos további polimorfizmusok lehetséges felhasználását jelentheti [15].

## SAJÁT VIZSGÁLAT

Saját vizsgálatunkban a SORCS2-polimorfizmus rutinszerű genotipizálására alkalmas, polimeráz láncreakciót követő restrikciós fragmenthossz-analízisen alapuló módszert (PCR-RFLP) dolgoztunk ki annak érdekében, hogy hazai, új fejlesztésű, alternatív csoportos tartásra alkalmas kísérleti tojótyúk állományokban igazoljuk az SNP jelenlétét és potenciális összefüggéseit egyes viselkedésminták megjelenési gyakoriságával.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

A kísérleti állományt 2160 tojótyúk alkotta, három különböző konstrukcióban (I.: szülői vonal; II., III.: végtermék-kombinációk), amelyek előállítását és előnevelését a Bábolna Tetra Kft. végezte. Csőr-kurtítás nem történt. Valamennyi egyed csoportos, mélyalmos (szalma), istállózott tartásmódban került elhelyezésre 18 hetes életkorban a Széchenyi István Egyetem állatkísérleti telepein, Mosonmagyaróváron. Kifutózott tartásban 960, zárt tartásban 1200 madár termelt. A csoportméret 120 tyúk/fülke volt kifutós tartásban (6,1 tyúk/m<sup>2</sup> istálló + 3,2 tyúk/m<sup>2</sup> kifutóterület), 100 tyúk/fülke volt zárt tartásban (6,0 tyúk/m<sup>2</sup> telepítési sűrűség). Az állomány takarmányozása mindkét tartásmódban azonos volt.

A genotipizálást és a viselkedési adatok gyűjtését 119 véletlenszerűen kiválasztott egyednél végeztük el a 35–37. élethétben, 80–90%-os tojástermelési intenzitás mellett. Az egyedi megfigyelés és azonosítás érdekében tíz egyedből álló csoportokat különítettünk el az istállóban az egyes fülkékben terelő segítségével (2,5 tyúk/m<sup>2</sup>). Az elkülönítés után fél órával kezdtük meg a viselkedéselemek előfordulási gyakoriságának rögzítését egy órán át. A megfigyeléseket három fő végezte. Az egyedi azonosítást különböző színkódú jelölők mindkét lábán való elhelyezésével valósítottuk meg. A megfigyelt egyedektől tollmintát gyűjtöttünk. A DNS-izolálást Wizard Genomic DNA kit (Promega, USA) segítségével végeztük. A PCR-hez a Primer3 programmal [16] terveztünk oligonukleotidokat (5'–3' F: TGA CAA CTC CAC AAT CTG CTG; R: CAT CAT GGG CCA ACA TCA TA). A SORCS2 gén C alléljának hasításához a NEBcutter alkalmazás [17] segítségével választottunk restrikciós endonukleázt (*RsaI*). Az előállított PCR-termék 228 bp volt, a C allél hasítása esetén 153 és 75 bp hosszúságú fragmentek keletkeztek. A hasítási mintázatok elkülönítéséhez agarózgél-elektroforézist alkalmaztunk.

Az eredmények statisztikai elemzése SPSS v.16 programmal (SPSS Inc., USA) történt. A csoportok átlagainak összevetéséhez t-próbát (Independent Samples T-test) használtunk. A testtömeg és az agresszív viselkedésminták gyakorisága között Pearson-féle korrelációt számítottunk.

## EREDMÉNYEK

A viselkedési formák megfigyelése során jelentős egyedi különbségeket tapasztaltunk, ennek ellenére a tartásmód szerint csoportosított eredmények azt mutatják, hogy a kifutóval ellátott állományban szignifikánsan ( $p < 0,05$ )

**A kifutóval ellátott állományban gyakoribb volt az agresszív viselkedés**

nagyobb gyakorisággal fordultak elő agresszív viselkedésformák (testre, fejre, vagy harc közben leadott csipések összesített átlaga), mint a kifutó nélküli, zárt istállóban (1. táblázat). Német Lohmann Brown-Classic hibridállományban különböző alomtípusoknál  $0,004 \pm 0,015 - 0,073 \pm 0,122$  közötti esetben figyeltek meg súlyos tollcsipkedést három perces időszakok alatt (0,08–1,46 óránként) [18].

**1. TÁBLÁZAT.** Főbb viselkedésminták gyakoriságának alakulása tartásmódtól függően

**TABLE 1.** Occurrence of major behaviour traits in different housing systems

Megfigyelt viselkedésforma (db)	Kifutóval (n = 68)	Kifutó nélkül (n = 51)
Agresszív (összes)	1,206 <sup>a</sup> ± 3,78	0,255 <sup>b</sup> ± 0,82
Agresszív (testre adott csipkedés)	0,809 <sup>a</sup> ± 2,02	0,176 <sup>b</sup> ± 0,62
Agresszív (fejre adott csipkedés)	0,338 ± 1,50	0,059 ± 0,24
Agresszív (harc)	0,059 ± 0,49	0,020 ± 0,14
Mozgás (összes)	2,382 ± 4,26	1,647 ± 3,46
Tollászzkodás	7,882 <sup>a</sup> ± 5,49	4,294 <sup>b</sup> ± 3,43
Kapirgálás	0,529 <sup>b</sup> ± 1,29	1,394 <sup>a</sup> ± 2,17
Pihenés (lefekvés)	0,353 ± 0,958	0,549 ± 1,17
Felborzolja tollazatát	1,191 ± 1,11	0,490 ± 0,81
Felreppenés	0,029 ± 0,17	0,627 ± 2,51

<sup>a,b</sup> A különböző betűvel jelölt átlagok közötti különbség szignifikáns ( $p < 0,05$ )

**A kifutóval rendelkező fülkékben élő madarak nagyobb aktivitást mutattak a megfigyelési idő alatt**

Szintén nagyobb gyakorisággal fordultak elő a mozgáshoz köthető viselkedésformák a kifutózott csoportokban, bár a különbség ez esetben nem szignifikáns ( $p > 0,05$ ). A tollászzkodás volt az egyik leggyakoribb megfigyelt viselkedésminta, amelyből ugyancsak a kifutózott állományban rögzítettünk több esetet ( $p < 0,05$ ). A kapirgálás mint viselkedésforma a zárt istállóban tartott egyedeknél fordult elő többször ( $p < 0,05$ ). Összességében megállapítható, hogy a kifutóval rendelkező fülkékben élő madarak nagyobb aktivitást mutattak a megfigyelési idő alatt (több csipkedés, több mozgás, kevesebb pihenés) a kifutó nélküli istállók egyedeihez viszonyítva. A zárt fülkék állatainál rögzített több kapirgálás oka lehet, hogy a homokkal, kavicsokkal ellátott kifutóban tartott tyúkoknál az alom (szalma) kevésbé váltotta ki ezt a viselkedésformát. A viselkedésvételel és mintavétel időszakában (37 hetes életkorig) a teljes állományra vetített elhullási arány a kifutózott tartásmódban volt nagyobb, bár a különbség nem volt szignifikáns ( $p > 0,05$ ): 1,458% kifutós és 1,083% zárt tartásban. A különböző tartástechnológiákra jellemző elhullási arány nem határozható meg egyértelműen, a szakirodalomban egymásnak ellentmondó eredmények jelentek meg; pl. míg egyes holland, belga és német ketrec nélkül tartott kísérleti állományokban nagyobb elhullási arányt tapasztaltak a felújított ketrecekhez képest, addig más német állományokban 14–15%-os elhullásról számoltak be felújított ketreces tartásnál, 7%-ról ketrec nélküli rendszerekben [19].

A vizsgált kísérleti csoportok összevetése során megállapítható, hogy eltérő ( $p < 0,05$ ) gyakorisággal fordultak elő az agresszív viselkedésminták: a legtöbb esetet a III-as (végtermék) csoportban, a legkevesebbet a II-es (végtermék) csoportban figyeltük meg (2. táblázat). Az I-es (szülői) állomány az egyik végtermék csoporttól sem különbözött szignifikáns mértékben.

**2. TÁBLÁZAT.** Agresszív viselkedésminták előfordulása a különböző hibridcsoportokban**TABLE 2.** Occurrence of aggressive pecking in the hybrid groups

Tulajdonságok	Hibridcsoportok			
	I. (n = 45)	II. (n = 26)	III. (n = 48)	Összes (n = 119)
Agresszív (összes)	0,400 <sup>ab</sup> ± 1,03	0,154 <sup>b</sup> ± 0,54	1,521 <sup>a</sup> ± 4,42	0,798 ± 2,94
Agresszív (test)	0,267 <sup>ab</sup> ± 0,75	0,115 <sup>b</sup> ± 0,43	1,021 <sup>a</sup> ± 2,33	0,538 ± 1,60
Agresszív (fej)	0,133 ± 0,51	0,038 ± 0,20	0,396 ± 1,74	0,218 ± 1,15
Agresszív (harc)	0,000 ± 0,00	0,000 ± 0,00	0,104 ± 0,59	0,042 ± 0,38

<sup>a,b</sup> A különböző betűvel jelölt átlagok közötti különbség szignifikáns ( $p < 0,05$ )

**Az alkalmazott PCR-RFLP-módszerrel sikeresen azonosították a SORCS2-polimorfizmust a kísérleti állományban**

**Mindhárom hibridcsoportban a C-allél volt gyakoribb**

A kidolgozott PCR-RFLP-módszer alkalmas volt a SORCS2 genotípus meghatározására. A tollból történő nukleinsav-izolálás több minta esetében csekély mennyiségű DNS-t eredményezett, ezeknél a mintáknál nem kaptunk PCR-terméket, így nem volt meghatározható a genotípus. A hústípusú, őshonos kínai fajtában azonosított polimorfizmus [12] előfordult a magyar fejlesztésű kísérleti állományban is. Mindhárom hibridcsoportban a C-allél volt gyakoribb (3. táblázat). Az I-es (szülői) állományban figyeltük meg a legkisebb T-allélgyakoriságot, ám ebben az esetben is meghaladta a kritikus 1%-ot (14,5%), ami lehetővé teszi a szelekcióban való eredményes felhasználást. A II-es és a III-as végtermék-állományokban egyaránt csökkent a C-allél és nőtt a T-allél gyakorisága az I-es (szülői) populációhoz képest. A SORCS2 allél- és genotípusgyakoriságot illetően nem rendelkezünk további fajtáknál közölt szakirodalmi adatokkal.

**3. TÁBLÁZAT.** SORCS2 allélgyakoriságok a különböző csoportokban**TABLE 3.** SORCS2 allele frequency in the hybrid groups

Hibrid csoport	C	T
I. (n = 45)	85,5	14,5
II. (n = 26)	78,8	21,2
III. (n = 48)	75,1	24,9
Összes (n = 119)	79,8	20,2

**A homozigóta CC csoportnál figyelték meg átlagosan a legtöbb, a homozigóta TT csoportnál a legkevesebb agresszív viselkedésmintát**

A szülői és a két kísérleti hibridállományban a homozigóta TT egyedeket figyeltük meg a legkisebb, a homozigóta CC madarakat a legnagyobb arányban (4. táblázat). Mindkét végtermékcsoportban (II-III) nőtt a heterozigóta tyúkok aránya az I-es (szülői) populációhoz viszonyítva.

A viselkedés-felvételezésben szereplő madarak közül a homozigóta CC csoportnál, hasonlóan L<sub>1</sub> és mtsai [12] eredményeihez, figyeltük meg átlagosan a legtöbb, a homozigóta TT csoportnál a legkevesebb agresszív viselkedésmintát (5. táblázat), de a különbség nem szignifikáns ( $p > 0,05$ ). Az agresszív csipkedések többsége testre, kisebb arányuk fejre irányult. A négy megfigyelt homozigóta TT tyúk egyike sem tanúsított kifejezetten agresszív (harc) viselkedést, vagy fejre irányuló csípést.

**4. TÁBLÁZAT.** SORCS2 genotípusgyakoriságok a különböző csoportokban**TABLE 4.** SORCS2 genotype frequency in the hybrid groups

SORCS2 genotípus (%)	I. (n = 45)	II. (n = 26)	III. (n = 48)	Összes (n = 119)
CC	73,3	61,5	54,2	63,0
CT	24,4	34,6	41,7	33,6
TT	2,2	3,8	4,2	3,4

**5. TÁBLÁZAT.** Főbb viselkedésminták előfordulása SORCS2 genotípus szerint**TABLE 5.** Occurrence of some behavioural traits in different SORCS2 genotypes

	CC (n = 75)	CT (n = 40)	TT (n = 4)	Átlag
Agresszív (összes)	0,987 ± 3,60	0,500 ± 1,13	0,250 ± 0,50	0,798 ± 2,94
Agresszív (test)	0,613 ± 1,89	0,425 ± 0,98	0,250 ± 0,50	0,538 ± 1,60
Agresszív (fej)	0,320 ± 1,44	0,050 ± 0,22	0,000 ± 0,00	0,218 ± 1,15
Agresszív (harc)	0,053 ± 0,46	0,025 ± 0,16	0,000 ± 0,00	0,042 ± 0,38
Mozgás (összes)	5,747 ± 4,01	5,075 ± 3,65	4,750 ± 2,75	5,487 ± 3,85
Tollászkodás	6,920 ± 5,40	5,375 ± 4,34	5,250 ± 2,87	6,345 ± 5,03
Felborzolja tollazatát	1,053 ± 1,14	0,625 ± 0,81	0,500 ± 1,00	0,891 ± 1,05
Pihenés (lefekvés)	0,387 ± 1,06	0,525 ± 1,06	0,500 ± 1,00	0,437 ± 1,05

**Az aktívabb tyúkok  
nagyobb eséllyel  
tanúsítottak agresszív  
viselkedést**

A testtömeg és az agresszív viselkedésminták előfordulási gyakorisága között nem volt szignifikáns korreláció ( $r = 0,04$ ,  $p = 0,77$ ), a nagyobb, jobban fejlett madarak nem mutattak igazolhatóan nagyobb hajlamot az agresszív viselkedésre. A mozgáshoz és az agresszióhoz köthető viselkedésminták gyakorisága között gyenge pozitív korrelációt figyeltünk meg ( $r = 0,25$ ,  $p = 0,01$ ), vagyis az aktívabb tyúkok nagyobb eséllyel tanúsítottak agresszív viselkedést.

## MEGVITATÁS

A szülői és a két, fejlesztés alatt álló, szabadtartásra alkalmas tojóhibrid-állomány vizsgálata során megállapítottuk, hogy a kifizetővel ellátott csoportok egyedei közt nagyobb számban fordultak elő az agresszióval és az aktivitással kapcsolatos viselkedésformák a kifizető nélküli istállóban elhelyezett társaikhoz képest. A káros viselkedési mintázatok kialakulását számos tényező befolyásolja a termelés során biztosított tartásmódon kívül. Jelentős szerepe van a takarmányozásnak, az állomány genetikai összetételének, az előnevelés menetének.

Az agresszív viselkedésminták gyakoribb megjelenése a kifizetőzött állományban várakozásainkkal ellentétes eredmény, hiszen a – kifizető révén – nagyobb férőhely és ingergazdagabb környezet a szakirodalom alapján jellemzően az agresszív viselkedés mérséklésének egyik legígéretesebb módja lehet [20]. Ugyanakkor Huo és mtsai [21] szerint nem volt szignifikáns hatása a telepítési sűrűségnek (8, 12, ill. 16 tyúk/m<sup>2</sup>) a fejre, nyakra, vagy hátra leadott csipkedések számát illetően keresztezett thai tyúkoknál, sőt a legnagyobb kísérleti telepítési sűrűség esetében figyelték meg a legkevesebb szárnyra adott csipkedést. SHERWIN és mtsai [22] több enyhe, érdeklődő csipkedést figyeltek meg tojótyúkoknál szabadtartás

**Az agresszív  
viselkedésminták  
gyakoribb  
megjelenése a  
kifizetőzött állományban  
várakozásokkal  
ellentétes volt**

esetén, mint zárt, mélyalmos tartásban. A viselkedés és az állománysűrűség közötti összefüggések további komplexitására utalnak PETTIT-RILEY és mtsainak [23] eredményei is, miszerint a közepes (15 madár/m<sup>2</sup>) telepítési sűrűség szignifikáns mértékben kevesebb agresszív interakciót eredményezett a kisebb (10 madár/m<sup>2</sup>) telepítési sűrűséghez képest broilerállományokban. Esetünkben a kísérleti állomány nevelése zárt környezetben történt, a kifutós elhelyezés okozta változás így hozzájárulhatott ahhoz, hogy ebben a tartástechnológiában több agresszív viselkedésmintát rögzítettünk a termelési időszakban.

A nevelési környezet hosszú távon befolyásolja az állatok viselkedését. Befolyásolja a madarak áttelepítés utáni alkalmazkodó képességét, különböző stresszorokkal szembeni érzékenységet és a nemkívánatos viselkedési formák, például a csipkedés kialakulását egyaránt [20]. A nevelés folyamán fellépő problémák előrevetíthetők a termelési időszakban jelentkező rendellenességek nagyarányú megjelenését, ugyanis azoknál az állományoknál, amelyekben a nevelés során megjelent a tollcsipkedés, a termelési időszak alatt a madarak 90%-a folytatta ezt a viselkedést [24].

**A tyúkok agresszív viselkedésével összefüggő SORCS2-polimorfizmus kimutatható volt a kísérleti állományban**

A tyúkok agresszív viselkedésével összefüggő SORCS2-polimorfizmus kimutatható volt a kísérleti állományban. A homozigóta CC tyúkoknál fordult elő a legtöbb agresszív viselkedéshez köthető eset, bár a SORCS2 genotípusok közötti különbség nem volt szignifikáns ( $p > 0,05$ ). Eredményeink alapján további egyedek bevonása szükséges a genotípus hatásának pontosabb felmérésére, különös tekintettel a vizsgált tulajdonságokban tapasztalt jelentős, egyedek közötti varianciára és az állományban azonosított csekély számú ( $n = 4$ ) homozigóta T egyedre. Li és mtsainak eredményei alapján a kifejezett agresszivitást mutató egyedek hipofízisében mért SORCS2 mRNS-szint meghaladja ( $p < 0,05$ ) a kevésbé agresszív madarak mRNS szintjét. SORCS2-kiütött sejtvonalak segítségével igazolták, hogy a SORCS2 hatással van az idegi növekedési faktor (NGF) és számos dopamin receptor (DRD1, DRD2, DRD3, DRD4) expressziójára [12].

A viselkedés genetikai hátterének alaposabb megismerése a hazai tojóállományban lehetőséget biztosíthat a markerasszisztált szelekció alkalmazására, amelynek segítségével nem csak a termelési értékmérő tulajdonságok (pl. tojástermelés és -tömeg), de pl. az agresszió csökkentése terén is gyorsabb genetikai előrehaladás érhető el.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönjük a telepen dolgozó munkatársaink adatgyűjtésben nyújtott segítségét. A kutatás a 2018-1.3.1-VKE-2018-0004 projekt keretében valósult meg. A publikáció elkészítését az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 számú projekt támogatta.

## IRODALOM

- 32/1999. (III. 31.) FVM rendelet a mezőgazdasági haszonállatok tartásának állatvédelmi szabályairól
- Marlok P, Kovácsné Gaál K (2008) Az állatvédelmi szabályozás hatásai a ketreces tojóhibrid tartás területén. Anim. Welfare Ethol. Housing Systems 4:108–127
- Blokhuis HJ (2006) Welfare implications of changes in production systems for laying hens. LayWel Project – Periodic Final Activity Report 1–22
- Augère-Granier ML (2019) The EU poultry meat and egg sector – Main features, challenges and prospects. European Parliamentary Research Service 1–23
- Ochs SD, Wolf CA, Widmar OJN, Bir C (2018) Consumer perceptions of egg-laying hen housing systems. Poult Sci 97:3390–3396
- Gyimothy I (2004): Stressztényezők és stresszválaszok a baromfitartásban. Magy Állatorvosok Lapja 126:101–106

7. Bessei W, Kjaer J (2015) Feather pecking in layers – State of research and implications. 26th Annual Australian Poultry Science Symposium 26:214–221
8. Rodenburg TB, Tuytens FAM, De Reu K, Herman K, Zoons J, Sonck B (2008) Welfare assessment of laying hens in furnished cages and non-cage systems: an on-farm comparison. *Anim Welfare* 17:363–373
9. The Humane Society of the United States: Understanding mortality rates of laying hens in cage-free egg production systems. (2010) *Agribusiness Collection* 3:1–12
10. Siegel PB (1960) A method for evaluating aggressiveness in chickens. *Poult Sci* 39:1046–1048
11. de Almeida RM, Ferrari PF, Parmigiani S, Miczek KA (2005) Escalated aggressive behavior: dopamine, serotonin and GABA. *Eur J Pharmacol* 526:51–64
12. Li Z, Zheng M, Abdalla BA, Zhang Z, Xu Z, Ye Q, Xu H, Luo W, Nie Q, Zhang X (2016) Genome-wide association study of aggressive behaviour in chicken. *Sci Rep* 6:30981
13. Soronen P (2012) Genetics behind mood disorders: Candidate gene studies of bipolar and major depressive disorders. *Akadémiai disszertáció, Helsinki Egyetem, Finnország* 1–108
14. Fabbri C, Serretti A (2016) Genetics of long-term treatment outcome in bipolar disorder. *Prog Neuro-Psychoph* 65:17–24
15. Gorla E, Cozzi MC, Román-Ponce SI, Ruiz López FJ, Vega-Murillo VE, Cerolini S, Bagnato A, Strillacci MG (2017) Genomic variability in Mexican chicken population using copy number variants. *BMC Genetics* 18:61
16. Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M, Rozen SG (2012) Primer3-new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res* 40:e115
17. Vincze T, Posfai J, Roberts RJ (2003) NEBcutter: a program to cleave DNA with restriction enzymes. *Nucleic Acids Res* 31:3688–3691
18. Zepp M, Louton H, Erhard M, Schmidt P, Helmer F, Schwarzer A (2018) The influence of stocking density and enrichment on the occurrence of feather pecking and aggressive pecking behavior in laying hen chicks. *J Vet Behavior* 24:9–18
19. The Humane Society of the United States: Welfare issues with furnished cages for egg-laying hens. (2010) *Impacts on Farm Animals* 14:1–17
20. Janczak AM, Riber AB (2015) Review of rearing-related factors affecting the welfare of laying hens. *Poult Sci* 94:1454–1469
21. Huo X, Na-Lampang P (2016) Effects of stocking density on feather pecking and aggressive behavior in Thai crossbred chickens. *Agric Nat Resour* 50:366–369
22. Sherwin CM, Richards GJ, Nicol CJ (2010) Comparison of the welfare of layer hens in 4 housing systems in the UK. *Brit Poultry Sci* 51:488–499
23. Pettit-Riley R, Estevez I, Russek-Cohen E (2002) Effects of crowding and access to perches on aggressive behaviour in broilers. *Appl Anim Behav Sci* 79:11–25
24. Bestman MWP, Wagenaar JP (2003) Farm level factors associated with feather pecking in organic laying hens. *Livest Prod Sci* 80:133–140

Közlésre érk.: 2021. jan. 21.



**Determination of normal electrocardiographic reference values in non-anaesthetized Aldabra giant tortoises (*Aldabrachelys gigantea*, Schweigger, 1812)**

A. L. Nógrádi<sup>1\*</sup>  
M. Balogh<sup>2</sup>  
M. Hoitsy<sup>3</sup>  
V. Sós-Koroknai<sup>3</sup>  
B. Vincze<sup>4</sup>  
O. Kutasi<sup>5</sup>  
E. Sós<sup>3</sup>

# Elektrokardiográfiai referenciaértékek meghatározása nem-altatott aldabrai óriásteknősökben (*Aldabrachelys gigantea*, Schweigger, 1812)

**Nógrádi Anna Linda<sup>1\*</sup>, Balogh Márton<sup>2</sup>, Hoitsy Márton<sup>3</sup>, Sós-Koroknai Viktória<sup>3</sup>, Vincze Boglárka<sup>4</sup>, Kutasi Orsolya<sup>5</sup>, Sós Endre<sup>3</sup>**

## ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők vizsgálatának célja nem-altatott aldabrai óriásteknősök élettani elektrokardiográfiai referenciaértékeinek kialakítása volt. A Fővárosi Állat- és Növénykertben tartott öt fiatal felnőtt egyed vett részt a mérésekben. Az elektródákat a bőrredőkre aligátorcsipeszekkel rögzítettük. A jelen cikk EKG-adatait ezen rögzítési módszerrel nyertük. Az átlagos szívfrekvencia percenként  $22 \pm 1,09$ , és az összes rögzített ritmus sinusritmus volt. A P-hullám, ahol mérhető jelet produkált, pozitív volt mind a hat (I, II, III, aVF, aVL, aVR) elvezetésben. A három teknősnél, amelyeknek detektálható P-hullámaik voltak, mindegyik hullám kisebb amplitúdójú volt, mint 0,1 mV, és mindhárom P-hullám hosszát 40 ms-nak mértük. Az R-hullámok hossza 240 (+/-25) ms, az átlagos amplitúdójuk pedig 0,3 (+/-0,07) mV volt az Einthoven II elvezetésben. Az EKG-referenciaértékek ismerete segíthet a faj altatás közbeni monitorozásában, a szívritmus-rendellenességek diagnosztizálásában és potenciálisan azok gyógykezelésében is.

## SUMMARY

**Background:** Aldabra giant tortoises (*Aldabrachelys gigantea*) are the second largest giant tortoise species, and their general anatomy is comparable to that of other chelonian species. They are endemic to the Seychelles Islands, in the Indian Ocean. A steep decrease in the numbers of Aldabra giant tortoises has been seen over the years.

**Objectives:** The aim of this study was to establish electrocardiographic reference values in non-anaesthetized Aldabra giant tortoises.

**Materials and methods:** 5 young adults, 1 male and 4 females between 15 and 20 years of age at the Budapest Zoo and Botanical Garden participated in the study. Their body weight ranged from 82 kg to 104 kg. The electrocardiograms were recorded between 10–12 a.m. A total of 4 alligator clip electrodes, two in the front to the skin folds between the neck and the front legs, and two in the back between the hind legs and tail, were applied to the skin folds for the electrocardiographic measurements.

**Results and discussion:** The mean heart rate was  $22 \pm 1.09$  bpm with a range of 20 to 23 bpm. All recorded rhythms were regular sinus rhythms. The P wave was positive in all six leads (where it was measurable in case of three tortoises), however its amplitude was less than 0.5 mV. Out of the three patients that had detectable P waves, each wave had an amplitude of less than 0.1 mV, and all three P wave lengths were measured at 40 ms consistently. R waves were detected in all 5 animals. Q, S, T, and SV waves were not measurable. The R waves showed a length of 240 (+/-25) ms, and average sensitivity of 0.3 (+/-0.07) mV. The knowledge of ECG reference values could help to monitor anaesthesia as well as to diagnose and potentially treat pathological cardiac arrhythmias.

EGZOTIKUS  
ÁLLAT

1. Egzotikusállat-és  
Vadegészségügyi Tanszék,  
Állatorvostudományi Egyetem,  
H-1078 Budapest, István u. 2.

\*e-mail: anna.nograd@gmail.com

2. Belgyógyászati Tanszék és Klinika,  
Állatorvostudományi Egyetem

3. Fővárosi Állat-és Növénykert

4. Szülészeti Tanszék és  
Használlat-Gyógyászati Klinika,  
Állatorvostudományi Egyetem

5. Állattenyésztési,  
Takarmányozástani és Laborállat-  
tudományi Tanszék,  
Állatorvostudományi Egyetem

Az aldabrai óriásteknős (*Aldabrachelys gigantea*) a második legnagyobb óriásteknős faj a világon [1]. A galápagosi óriásteknős (*Chelonoidis nigra*, QUOY and GAIMARD, 1824) körülbelül 20%-kal nagyobb, hátpáncéljának hossza elérheti akár a 130 cm-t, kifejlett testtömege pedig akár a 300 kg-ot is. A frissen kikelt óriásteknősök tömege körülbelül 80 g, így náluk a legnagyobb – több mint 3000-szeres – a kifejlett korig elért testtömeg-növekedés a szárazföldi gerinces állatok között [2]. Azokon a szigeteken, ahol sem ragadozó emlősök, sem növényevőemlős-versenytársak nincsenek jelen, a nagy testméret előnyös lehet a teknősök számára [3]. A nagy növekedési erély, amely 15–20 éves koruk körül, az ivarérettség elérését követően csökken, kihívást jelenthet az állatok felnevelése során [2]. Hátpáncéljuk vastag, kupolás, hosszú nyakuk és ék alakú fejük van [1, 4]. Az általános anatómiájuk hasonlít a *Testudines* rendbe tartozó többi fajéhoz [2].

**Az aldabrai óriásteknős a második legnagyobb óriásteknős faj a világon**

**Az aldabrai óriásteknősök a Seychelle-szigeteken őshonosak és növényevő életmódot folytatnak**

Az aldabrai óriásteknősök az Indiai-óceánban lévő Seychelle-szigeteken őshonosak. Természetes elterjedésük az Aldabra Atoll négy szigetére korlátozódik, de más szigetekre is betelepítették őket a múltban [5, 6]. Az élőhelyek terjedése ellenére az aldabrai óriásteknősöknél jelentős állománycsökkenés volt megfigyelhető az elmúlt években. Az összegyedszámot 1974-ben 129 000 példányra becsülték, amely körülbelül 100 000 példányra csökkent 1997-re [2].

Az aldabrai óriásteknősök főleg növényevők. Fűféléket, leveleket, sást, fás és gyógynövényeket fogyasztanak [7]. Ragadozó viselkedést és koprofágiát is megfigyeltek ennél a fajnál. Az így felvett táplálék az összes takarmány kevesebb, mint 0,5%-át tette ki [2].

Az aldabrai óriásteknősök a Washingtoni Egyezmény II. Függelékében kerülnek megemlítésre és a Természetvédelmi Világszövetség kihalással fenyegetett fajok vörös listáján sebezhetőként vannak feltüntetve [2].

A teknősöknek, a krokodilokkal ellentétben, atipikus négyüregű szívük van. A kamrák nincsenek fizikailag elkülönülve, mivel az izomzat csak részlegesen osztja ketté őket [8, 9, 10].

**A szív közvetlen hallgatószerű vizsgálata teknősök esetében nem lehetséges**

A szív közvetlen hallgatószerű vizsgálata teknősök esetében nem lehetséges, de Doppler készülék segítségével megállapítható a szívverés frekvenciája [9, 11]. Elektrokardiográfiai (EKG) vizsgálatokat végeztek hüllőkben korábban is, és a hagyományos, négy végtagra helyezett Einthoven elvezetés több fajban is működött [9, 11]. Az EKG-elektrodák felhelyezhetőek aligátorcsipeszek segítségével a hüllők axillaris és femoralis régióira, de az elektrodák felhelyezése teknősök esetében gyakran gondot jelent [9, 11]. A hátpáncélba fűrt lyukakba elhelyezett elvezetések, amelyek a dermalis csomóhoz kapcsolódnak, jobb eredményeket adnak, de ez a módszer extrém módon invazív [11]. Tapadóelektroda használata változó eredményekhez vezet különböző teknősökben, de megfigyelhető összefüggés a zsanér jelenléte, a plazstron vastagsága, a vízi vagy szárazföldi élőhely és a mérhető EKG-hullám amplitúdója között [12].

Gyakran alacsony elektromos amplitúdók (általában < 0,1 mV) figyelhetők meg hüllőkben az EKG-felvétel készítése során, emiatt a felvételek értékelése nagy tapasztalatot igényel [11, 13]. Jó érzékenységgel és előerősítéssel rendelkező felszerelés szükséges értékelhető és értelmezhető EKG-mérésekhez ebben az állatcsoportban [11, 12]. Az állat vázizomaktivitása is megnehezítheti az interpretációt, akárcsak az állatot tartó személy mozgása [11].

**Nincsenek számszerű EKG-adatok a nemzetközi szakirodalomban az aldabrai óriásteknősökre vonatkozóan**

Nagyon kevés hüllőkre vonatkozó EKG-referenciaérték található meg a szakirodalomban, annak ellenére, hogy az elektrokardiográfia hasznos lehetne a szívbetegségek diagnosztikájában, többek közt teknősök esetében is [9, 11, 12]. A teknősök EKG-referenciaértékeinek leírása az állatfaj egyedeinek altagatás közbeni monitorozását is segítené [11, 12], de akár szívbetegségek, különösen a ritmuszavarok gyógykezelésében is felhasználható lehet. A szerzők tudomása szerint nincsenek számszerű EKG-adatok a nemzetközi szakirodalomban az aldabrai óriásteknősökre vonatkozóan.

## SAJÁT VIZSGÁLAT

A kutatásunk célja az élettani elektrokardiográfiai referenciaértékek felállítása volt éber, nem-nyugtatott aldabrai óriásteknősökben.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálat során eleget tettünk a magyar állatvédelmi törvényeknek és a hivatalos szabályozásoknak. A vizsgálatokat a Fővárosi Állat-és Növénykertben végeztük, amely már 8 éve biztosít otthont az aldabrai óriásteknősöknek. Az összes állat rutin fizikális vizsgálaton esett át az EKG-mérések előtt, amelyeket az állatkerti állatorvosok végeztek el. A teknősök testtömegét is megmérték, és egészségesnek nyilvánították őket a fizikális vizsgálat alapján. Összesen 5 fiatal, 15 és 20 éves kor közötti felnőtt egyedet, 1 hímét és 4 nőtényt vizsgáltunk. A testsúlyuk 82 kg-tól 104 kg-ig terjedt. Egyik nőtény sem volt gravid a mérések elvégzésekor. A teknősöket együtt tartják egy külső és belső kifutóval is rendelkező kiállítóterben. A belső kifutó 55 m<sup>2</sup>, amely tartalmaz egy 2 m<sup>2</sup>-es, vízzel telt medencét. A külső kifutó 180 m<sup>2</sup>. A hőmérséklet és páratartalom a belső kifutóban szabályozott, hogy azok a fajnak optimális hőmérsékleti tartományban (preferred optimum temperature zone, POTZ) legyenek. A hőmérséklet legalább 28–30 °C között van a belső kifutóban, de a kialakított napozó területen a hőmérséklet eléri a 40 °C-ot. Télen padlófűtés is hozzájárul az optimális hőmérséklet megtartásához. A páratartalom minimum 70%. Négy UV lámpa (Exo Terra Solar Glo/Sun Simulating Bulb PT2193, 160 W, HAGEN Deutschland GmbH & Co. KG, Holm, Németország) biztosítja az állatok UV-A és UV-B igényét a benti kifutóban. A takarmányuk *ad libitum* szénából, valamint lombból (fűzfa, ostorfa, szeder) áll. Friss kukoricaszárát és 2,5 kg zöldségkeveréket (spenót, répa, retek, zeller, karalábé, cékla) is kapnak minden délután. Az állatápolók a takarmányt kalcium és foszfor keverékével egészítik ki. Az elektrokardiogramokat délelőtt 10 és 12 óra között készítettük.

Az állatok kíváncsiak voltak és emiatt nagyrészt mozdulatlanok maradtak a mérések során (1. ábra). Ha mégis elkezdtek mozogni, és ez a mérési eredményeket negatívan befolyásolta, akkor az elektródákat eltávolítottuk. Ilyenkor másik állaton folytattuk a méréseket, és visszatértünk a korábban mozgó állathoz, amikor az megnyugodott.

**A szerzők 5 fiatal felnőtt állatot, 4 nőtényt és egy hímét vizsgáltak**

**Az állatok nagyrészt mozdulatlanok maradtak a mérések során**

**1. ÁBRA.** Az aldabrai óriásteknősök kíváncsiak voltak, de nagyrészt nyugodtan viselkedtek a mérések folyamán

**FIGURE 1.** The Aldabra giant tortoises were curious but stayed mostly still during measurements



A teknősöket több elektróda rögzítésmódszerrel vizsgáltuk. Az elektródákat adhezív tapasszal és a Holter EKG-hoz adott, tompavégű krokodilcsipeszekkel is felerősítettük a bőrredőkre, valamint a hát- és a haspáncélra is (2. ábra), hasonlóan az általunk korábban leírtakhoz [16]. Az elektródáknak a bőrredőkre történő, aligátorcsipeszekkel való rögzítése bizonyult a leghatékonyabbnak a faj mérete és anatómiai jellegzetességei miatt, ezért a jelen munka EKG-adatait ezen rögzítési módszerrel nyertük.

**2. ÁBRA.** A teknősöket több módszerrel is vizsgáltuk, de az elektródák aligátorcsipeszsel bőrredőhöz való rögzítése bizonyult a leghatékonyabb módszernek a faj mérete és anatómiája miatt

**FIGURE 2.** The tortoises were examined using multiple methods, but clamp electrodes attached to the skin folds proved to be the best way of fixation due to the size and anatomy of the species



**A két elülső elektródát a nyak és mellső végtagok közötti bőrredőre, a két hátulsót a hátsó láb és farok közötti bőrredőkre rögzítették**

A két elülső elektródát a nyak és mellső végtagok közötti bőrredőre, a két hátulsót a hátsó láb és farok közötti bőrredőkre rögzítettük. A bőrre és az aligátorcsipeszekre alkoholt fújtunk, hogy a megfelelő vezetőképességet biztosítsuk (3. és 4. ábra). Fontos volt számunkra, hogy nem-invazív módszert alkalmazzunk, ezért az aligátorcsipesznek csak a nem recés felülete állt kapcsolatban a teknősök bőrével a rögzítés során.

**3. ÁBRA.** Az elülső elektródákat aligátorcsipesz segítségével erősítettük a mellső láb és a nyak közötti bőrredőre

**FIGURE 3.** Alligator clip electrodes were attached to the excess skin between the forelimb and the neck

**4. ÁBRA.** A hátulsó elektródákat is aligátorcsipesz segítségével rögzítettük a hátsó láb és farok között található bőrre

**FIGURE 4.** Alligator clip electrodes were attached to the access skin between the hind limb and the tail



Az EKG-mintákat bipoláris Einthoven-, valamint unipoláris Goldberger-elvezetésekben, összesen hat elvezetésben (I, II, III, aVR, aVL, aVF) rögzítettük egy hordozható, Bluetooth-kapcsolatra képes EKG-monitorral (Televet 100 Telemetric ECG and Holter, Kruuse A/S, Marslev, Dánia). Az adatokat az eszköz, ill. az ahhoz készült szoftver (Televet 100 v 6.0.0) segítségével jelenítettük meg és elemeztük. Minden állat esetében rögzítésre került a szívfrekvencia, a P-hullám hossza és amplitúdója (amikor ábrázolódott), az R-hullám hossza és amplitúdója, valamint PR-intervallum mind a hat, korábban leírt elvezetésben. A Q- és S-hullámok nem kerültek mérésre, tekintettel azok sporadikus előfordulására a teknősökben. A szívfrekvenciát az R-R távolságból számolva határoztuk meg, mivel az eszköz által megadott adat sok esetben indokolatlanul szapora volt, de olyan is előfordult, hogy a szoftver nem tudott szívfrekvenciát meghatározni. A felvételek értékelése 30 mm / 1 mV és 10mm/s papírsebesség mellett történt.

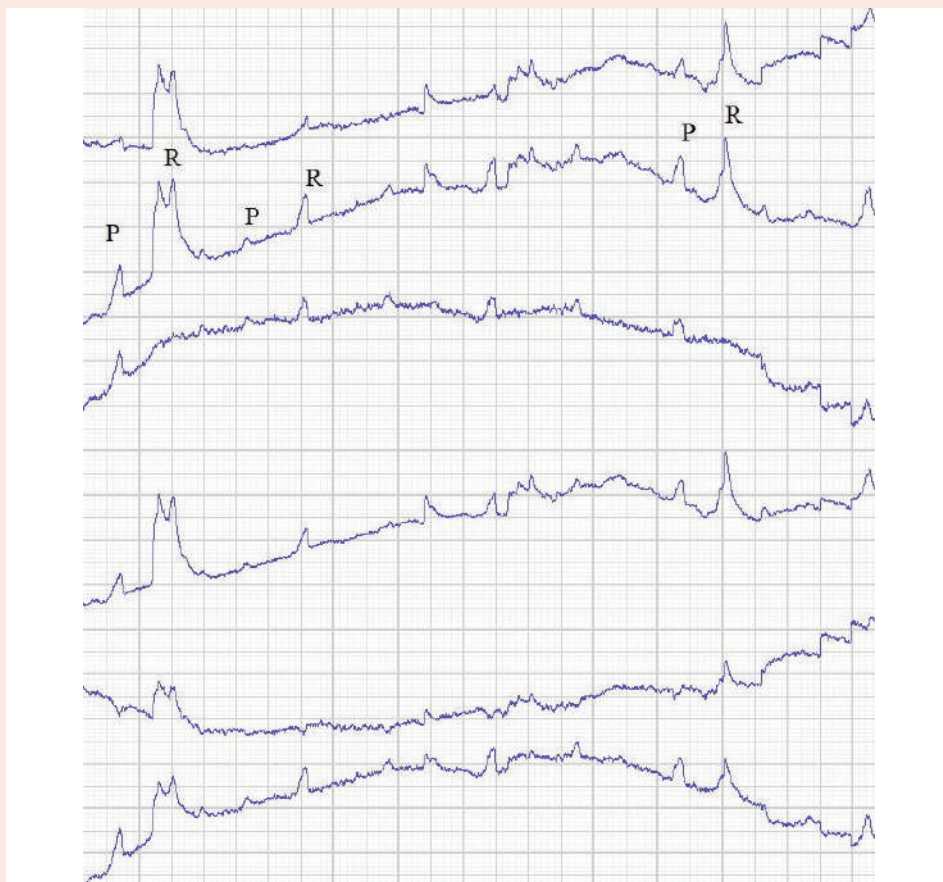
## EREDMÉNYEK

**Az aldobrai óriásteknősök szívfrekvenciája 20 és 23 közé esett, az átlag  $22 \pm 1,09$  volt**

A mérések az állatok apróbb mozgásai, valamint a nagy nagyítás miatti kiküszöbölhetetlen alapvonal ingadozás ellenére értékelhetőek voltak. Az aldobrai óriásteknősök szívfrekvenciája 20 és 23 közé esett, az átlag  $22 \pm 1,09$  volt. Az összes rögzített ritmus szinuszritmus volt. A P-hullám pozitív volt mind a hat elvezetésben, ahol mérhető volt (három teknős esetében), de az amplitúdó kevesebb volt 0,5 mV-nál (5. ábra). A másik két esetben a P-hullámok nem voltak mérhetőek a háttérzajok miatt, amely abból adódott, hogy az állatok nem voltak teljesen mozdulatlanok. A nemek között statisztikailag szignifikáns különbség az EKG-paraméterekben nem volt megállapítható ( $p > 0,1$ ) a két mintás t-tesztel. A felvételek elemzését a [Táblázat](#) foglalja össze.

**5. ÁBRA.** P-QRS-T komplexek egy aldobrai óriásteknősből 30 mm/mV, 10 mm/s papírsebesség. A hat elvezetés fentről lefelé: I, II, III, aVR, aVL, aVF

**FIGURE 5.** P-QRS-T complexes from an Aldabra giant tortoise  
Paper speed: 30mm/mV, 10 mm/s. From top to bottom: Leads I, II, III, aVR, aVL, aVF



**TÁBLÁZAT.** A vizsgált aldabrai óriásteknősök neme, testtömege és EKG-paraméterek

**TABLE.** Sex, weight and ECG parameters of the examined Aldabra giant tortoises

M – Hím; F – Nőstény; NA – Nincs adat, a paraméter nem volt mérhető vagy hiányzik

Ivar	Testtömeg (kg)	Szívfrekvencia (/perc)	PQRST-komplex	Elvezetés	P amplitudó (mV)	P hossz (ms)	R amplitudó (mV)	R hossz (ms)
M	82	21	Igen	I	< 0,1	40	0,2	160
				II	< 0,1	40	0,2	160
				III	< 0,1	40	0,2	160
				AVR	NA	NA	0,2	NA
				AVL	< 0,1	40	0,2	160
				AVF	< 0,1	40	0,2	160
F	93	21	Igen	I	< 0,1	40	0,25	160
				II	< 0,1	40	0,25	160
				III	< 0,1	40	0,25	160
				AVR	NA	NA	0,25	NA
				AVL	< 0,1	40	0,25	160
				AVF	< 0,1	40	0,25	160
F	97	23	Nem	I	NA	NA	0,25	200
				II	NA	NA	0,25	200
				III	NA	NA	0,3	200
				V	NA	NA	0,3	200
				AVR	NA	NA	0,3	200
				AVL	NA	NA	0,4	200
				AVF	NA	NA	0,4	200
F	100	21	Igen	I	< 0,1	40	0,4	160
				II	< 0,1	40	0,4	160
				III	< 0,1	40	0,4	160
				AVR	NA	NA	0,4	NA
				AVL	< 0,1	40	0,4	160
				AVF	< 0,1	40	0,4	160
F	104	23	Nem	I	NA	NA	0,4	200
				II	NA	NA	0,4	200
				III	NA	NA	0,5	200
				AVR	NA	NA	0,5	200
				AVL	NA	NA	0,5	200
				AVF	NA	NA	0,5	200

Az R-hullámok észlelhetők voltak mind az 5 teknősben a csipeszelektrodák használatával, amelyek elegendőnek bizonyultak a szívverésszám kiszámításához (a korábban leírt módszerrel). Az ötből három teknős mutatott PQRST-szekvenciákat, míg hárman csak részleges EKG-hullámokat produkáltak, mivel a P-hullámokat elfedték a háttérzajok (5. ábra).

A három teknősnél (amelyeknek detektálható P-hullámaik voltak), mind-egyiknek az amplitúdója kisebb volt, mint 0,1 mV, és mindhárom P-hullám hosszát 40 ms-nek mértük.

Az R-hullámok mind az öt állatban mérhetőek voltak, amelyek hossza 240 (+/- 25) ms, az átlagos érzékenysége 0,3 (+/- 0,07) mV volt.

## MEGVITATÁS

**Poikilotherm állatokban  
élettani értékeket az  
optimális hőmérsékleti  
tartományban  
lehet mérni**

**Az állatok nyugodt  
viselkedése lehetővé  
tette a rögzítés  
nélküli méréseket**

A teknősök poikilotherm állatok, a környezeti hőmérséklet befolyásolja a testhőmérsékletüket és szívűködésüket. Szívfrekvenciájuk napozás közben emelkedik, hőmérséklet-csökkenés esetén pedig csökken [14, 15, 16]. Fiziológias értékeket az optimális hőmérsékleti tartományban történő mérésekkel kapunk [13, 17]. Az állatok tartási körülményei miatt a szerzőknek nem okozott problémát a kifutóban lefolytatni a méréseket, ahol ez adott volt.

A rögzítés és kezelés is befolyásolhatja a szívverésszámot, valamint tachycardiát okozhat jó néhány percre teknősökben is [18]. Az aktivitás is növelheti a szívverések számát [19, 20]. A teknősök mérete nem tette lehetővé a felemelésüket, így a gondozó kezének mozgásai nem befolyásolták a mérési eredményeket, mivel tartásra nem volt szükség. Amikor a jelen cikknek a szerzői megérkeztek a kifutóba, és elkezdtek előkészülni a mérésekhez, a teknősök izgatottak lettek, de miután tudatosult bennük, hogy takarmány nem része a kísérletnek, az izgalmuk átváltott közönyösségbe. Az állatok azért a közelben maradtak megfigyelni, hogy mi történik, de teljesen nyugodtak voltak a mérések alatt is.

Az emésztési állapot és a vemhesség is befolyásolja a szívfrekvenciát [14, 16], de egyik állat sem volt gravid a mérések idején. Az *ad libitum* széna és lomb mindig jelen van a kifutóban és a további takarmányt a teknősök délután kapják. A méréseket délelőtt 10 és 12 óra között végeztük, hogy ne befolyásoljuk a teknősök táplálkozási szokásait, és ne kapjunk olyan eredményeket, amelyek nem a faj fiziológias értékeit tükrözik.

Kutatásunk során a Fővárosi Állat- és Növénykert 5 fiatal felnőtt aldobrai óriásteknőst vizsgáltunk. Nagyobb egyedszámból ideálisabb referenciaértékeket felállítani, de az aldobrai óriásteknős a kihalással fenyegetett fajok vörös listáján szerepel és előfordulása ritka. Továbbá fontos volt olyan egyedeken elvégezni a méréseket, amelyek egészségesek és tartási körülményeik megfelelőek. Mivel az altatás befolyásolhatja az EKG-értékeket, a vizsgálatban használt állatokat a mérésekhez nem altattuk vagy nyugtattuk [21].

Fontos volt számunkra, hogy az elektródákat ne invazív módon rögzítsük. A hátpáncélba fúrt lyukak a jobb EKG-eredménynek érdekében számunkra nem elfogadhatók, mivel ez egy invazív és fájdalmas módszer. Több elektródarögzítési módszert is kipróbáltak teknősöknél korábban, de az aldobrai óriásteknősök páncélvastagsága miatt sem az adhezív, sem az aligátorcsipeszes elektródarögzítési mód nem mutatott detektálható eredményeket a hát- és haspáncélon sem [12]. Teknősökben korábban is rögzítettek aligátorcsipesszel elektródákat az axillaris és femoralis terület bőréhez EKG-mérések céljából [11, 12]. Összesen 4 elektródát rögzítettünk aligátorcsipesszel az aldobrai óriásteknősök bőrredőire. Kettőt a mellső végtag és nyak, kettőt pedig a hátsó végtag és farok bőrredőire a jobb és bal oldalakon az „Anyag és Módszer” fejezetben leírtaknak megfelelően. Az aldobrai óriásteknősöknek vékony és puha bőrük van a méretükhöz képest, mivel a természetes élőhelyükön nincsenek rájuk veszélyes ragadozók, amelyek a vastag bőr kialakulását evolúciós szempontból indokolnák. A fejüket és a lábukat sem húzzák vissza a páncéljukba, ami a méréseket egyszerűbbé tette más, ily módon védekező teknősfajokhoz képest.

**Az EKG-referenciaértékek ismerete segíthet a faj altatás közbeni monitorozásában, a szívritmus-rendellenességek diagnosztizálásában és azok gyógykezelésében is**

Ahogy az aldabrai órásteknősök száma a természetes környezetükben csökkenő tendenciát mutat, a fogságban tartott egyedek szaporodása fontosabb, mint valaha [2]. Jelenleg a teknősök szívbetegségeinek diagnosztizálása gyakran csak kórboncoláskor lehetséges [22]. Az EKG-referenciaértékek ismerete segíthet a faj altatás közbeni monitorozásában, a szívritmus-rendellenességek diagnosztizálásában és potenciálisan a gyógykezelésében is, ezzel hozzájárulva az egyed hosszabb és egészségesebb életéhez, és így akár az aldabrai órásteknős fennmaradásához is.

## IRODALOM

1. Boyer DM, Boyer TH (1994) Tortoise Care. Bulletin of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians 4:16–28
2. Hatt JM (2008) Raising Giant Tortoises In: Fowler ME, Miller RE (eds): Zoo and Wild Animal Medicine, Vol 6, Current Therapy. Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp 144–154
3. Whittaker RJ (1998) Island biogeography. Ecology, evolution, and conservation. Oxford University Press, Oxford
4. Grubb P (1971) The growth, ecology and population structure of giant tortoises on Aldabra. Biol Sci 260:327–371
5. Karanth KP, Palkovacs E, Gerlach J, Glaberman S, Hume JP, Caccone A, Yonder AD (2005) Native Seychelles tortoises or Aldabran imports? The importance of radiocarbon dating for ancient DNA studies. Amphibia Reptilia 26:116–121
6. Sterns BC (1988) Captive husbandry and propagation of the Aldabra giant tortoise (*Geochelone gigantea*) at the Institute for Herpetological Research. International Zoo Yearbook 27:98–103
7. Stoddart D (1969) Retrospect and prospect of Aldabra Research. Nature 221:1004–1006
8. Farrell AP, Gamperl AK, Francis ETB (1998) Comparative aspects of heart morphology. In: Gans C, Gaunt AS (eds): Biology of the Reptilia, Vol 19, Morphology G: Visceral organs. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca, NY, USA, pp 375–424
9. Schilliger L (2012) Reptile Cardiology. Proceedings of the International Conference on Reptile and Amphibian Medicine, Cremona, Italy, pp, 62–71
10. White FN (1976) Circulation. In: Gans C (eds): Biology of the Reptilia, Physiology A, Vol 5, Academic Press, New York, NY, USA, pp 275–334
11. Murray MJ (2006) Cardiology. In: Mader DR (eds): Reptile Medicine and Surgery. 2<sup>nd</sup> ed, Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp 181–195
12. Nógrádi AL, Balogh M (2018) Establishment of Methodology for non-invasive electrocardiographic measurements in turtles and tortoises. Acta Vet Hung 66:365–375
13. Kik MJL, Mitchell MA (2005) Reptile Cardiology: A Review of Anatomy and Physiology, Diagnostic Approaches, and Clinical Disease. Sem Av Exo Pet Med 14:52–60
14. Franklin CE, Seebacher F (2003) The effect of heat transfer mode on heart rate responses and hysteresis during heating and cooling in the estuarine crocodile *Crocodylus porosus*. J Exp Biol 206:1143–1151
15. Galli G, Taylor EW, Wang T (2004) The cardiovascular responses of the freshwater turtle *Trachemys scripta* to warming and cooling. J Exp Biol 207:1471–1478
16. Seebacher F (2000) Heat transfer in a microvascular network: the effect of heart rate on heating and cooling in reptiles (*Pogona barbata* and *Varanus varius*). J Theor Biol 3:97–109
17. Holz RM, Holz P (1995) Electrocardiography in anaesthetised red-eared sliders (*Trachemys scripta elegans*). Res Vet Sci 58:67–69
18. Cabanac C, Bernieri C (2000) Behavioural rise in body temperature and tachycardia in handling of a turtle (*Clemmys insculpta*). Behav Proc 49:61–68
19. Munns SL, Hartzler LK, Bennett AF, Hicks JW (2004) Elevated intra-abdominal pressure limits venous return during exercise in *Varanus exanthematicus*. J Exp Biol 207:4111–4120
20. Munns SL, Hartzler LK, Bennett AF, Hicks JW (2005) Terrestrial locomotion does not constrain venous return in the American alligator, *Alligator mississippiensis*. J Exp Biol 208:3331–3339
21. Kaplan HM, Schwartz C (1963) Electrocardiography in turtles. Life Sci 2:637–664.
22. Hnizdo J, Pantchev N (2011) Medical Care of Turtles & Tortoises. Edition Chimaira, Frankfurt, Germany, pp 329–336

Közlésre érkező: 2021. jan. 2



Laboratory diagnosis of  
infectious diseases by  
testing pooled samples

R. Sipos<sup>1</sup>  
J. Földi<sup>2</sup>  
J. Reiczigel<sup>3</sup>

1. Állatorvostudományi Egyetem;  
egyetemi hallgató,  
Biomatematikai és Számítás-  
technikai Tanszék mentoráltja  
H-1078 Budapest, István u. 2.

sipos.roland7@gmail.com

2. Euvet Állategészségügyi  
Szolgáltató Bt.

euvet.bt@gmail.com

3. Állatorvostudományi Egyetem  
Biomatematikai és Számítás-  
technikai Tanszék

\*e-mail: reiczigel.jeno@gmail.com

# Fertőző betegségek laboratóriumi kórjelzése elegyminták vizsgálatával

Sipos Roland<sup>1</sup>, Földi József<sup>2</sup>, Reiczigel Jenő<sup>3</sup>

## ÖSSZEFOGLALÁS

A nagylétszámú állattartó telepek és a haszonállat-populáció sűrűsége szükségessé teszik a fertőző betegségek gyors, költséghatékony és az állomány minél nagyobb részét magában foglaló monitoring vizsgálatát. Közleményükben a szerzők az elegyminták vagy csoportosított, egyesített (idegen szóval poolozott) minták vizsgálatának módszertanát és lehetőségeit foglalják össze. Az elegy vagy pool lehet mesterséges vagy természetes, pl. több szérumminta azonos mennyiségének összemérése mesterséges, míg a tanktej vagy a rágóköttél természetes elegynek tekinthető. Rövid történeti áttekintés után állatfajok szerint mutatják be a gyakorlatban jelenleg alkalmazott vizsgálatokat, majd az értékelésükhöz használható statisztikai módszereket.

## SUMMARY

The large-scale farming and high population density on farms require both fast and cost-effective screening and monitoring methods to detect infectious diseases, while also ensuring that the number of animals tested within a herd is as large as possible. This paper reviews the methods and possibilities of testing grouped or aggregated i.e. pooled samples. A pool can be artificial or natural e.g. aggregating equal volume of sera samples is artificial pooling, while bulk milk or oral fluid collected by rope can be considered as a natural pool. Following a brief historical review, the currently used methods of collection and examination of pooled samples and the statistical evaluation of their laboratory results are discussed. Testing of pooled samples retrospectively until 1943 in human medicine, however, the world-wide spreading of HIV from the 1980-s gave this method a real boost. The laboratory tests became sensitive and specific enough to detect even one positive sample in a large group of negatives. On the other hand, some of these tests were quite expensive, therefore the intention of reducing the cost per test was justified.

Based on the aim of the pooling one can distinguish

- (a) screening or classification, when the status of each individual subject should be established (e.g. BVD PI screening) or
- (b) prevalence estimation within a population (e.g. what proportion of a vector population is affected by an infectious agent) or
- (c) confirmation of the infected or free status of a population (a herd or a flock e.g. a poultry flock is infected with *Salmonella enteritidis*). Neither the prevalence nor the individual animal status is investigated.

Papers about the testing of oral fluid and processing fluid samples from pigs, as well as the *Trichinella* examination at slaughter are reviewed. Pooled sample testing for *Bovine Viral Diarrhoea (BVD)* and *paratuberculosis* as well as poultry flock check for *salmonellosis* are described.

Statistical methods of calculation of individual prevalence estimation from pool prevalence including confidence intervals and optimum pool size estimation are discussed.

A csoportos tesztelés (group testing), másképp elegy- vagy gyűjtőminták, csoportosított (egyesített, összesített, összetett) minták vizsgálata (pooled testing, testing of pooled samples vagy composite samples) a huszadik század közepén jelent meg és terjedt el egyre jobban a diagnosztikai vizsgálatok körében, mind a humán, mind az állatorvosi területen. Elsősorban a korábbiaknál pontosabb, de sokkal költségesebb vizsgálatok megjelenése tette kifizetődővé a csoportos tesztelést, mivel így adott számú vizsgálati alany státuszának megállapításához összességében kevesebb tesztre van szükség. Minél kisebb a vizsgált betegség prevalenciája, annál nagyobb megtakarítás érhető el ahhoz képest, mintha minden alanyt egyenként vizsgálnánk.

**A módszert a második világháború idején az USA hadseregében a katonák szifiliszszűrésére vezették be**

A módszer első részletes ismertetése DORFMAN nevéhez fűződik. A második világháború idején komoly gondot jelentett az Egyesült Államok hadserege számára a nemi úton terjedő betegségek (elsősorban a szifilisz és a gonorrhoea) miatt a katonák között előforduló időleges vagy tartós szolgálatképtelenség. Ennek elkerülésére a Közegészségügyi Szolgálat (US Public Health Service) és a Sorozási (Hadkiegészítési) Bizottság (Selective Service System) szifiliszszűrés programot indított a bevonulás előtt állók között. A szifilisz prevalenciája az egyes államok, ill. rasszok között is nagy eltéréseket mutatott, de általában 10% alatt, sok esetben 1–2% körül maradt. Az annak idején a szifilisz diagnosztizálására használt Wassermann-tesztről ismert volt annak kiváló szenzitivitása, amely DORFMAN szerint pozitív reakciót nagy hígítás mellett is biztosan ad, ennek alapján javasolta a minták csoportosított tesztelését [1].

A közlemény nyomán kapta nevét a Dorfman-módszer, amely abban áll, hogy a mintákat M elemszámú csoportokban teszteljük, és ha a teszt negatív, akkor mind az M számú alanyt negatívnak tekintjük, ha a teszt eredménye pozitív, akkor az M számú mintát egyenként megvizsgáljuk. Világos, hogy egy negatív csoport esetében M teszt helyett 1 teszttel döntünk M számú alany státuszáról, azaz megtakarítunk M–1 tesztet, a pozitív M-esek esetében azonban eggyel több (M helyett M+1) tesztet végzünk. Kis prevalencia esetén a megtakarítások dominálnak, így a Dorfman-módszer a szűrést költségghatékonnyá teszi. Az elérhető megtakarítás a betegség prevalenciája mellett attól is függ, hogy mekkora csoportokat képezünk. Az optimális csoportméretet a várt prevalenciához kell igazítanunk: minél kisebb prevalenciára számítunk, annál nagyobb csoportokkal érdemes dolgoznunk (Táblázat).

**TÁBLÁZAT.** Optimális csoportméret és várható költsége az egyenkénti vizsgálatok költségéhez viszonyítva, a prevalencia függvényében

**TABLE.** Optimal pool size and expected cost relative to individual testing for various values of prevalence

Prevalencia	Optimális csoportméret	Költség (az egyenkénti vizsgálatokhoz hasonlítva)
0,1%	32	6%
0,2%	23	9%
0,5%	15	14%
1%	11	20%
2%	8	27%
5%	5	43%
10%	4	59%

**A csoportos tesztelés terjedésének nagy lökést adott az AIDS megjelenése az 1980-as években, ami szükségessé tette a véradók tömeges szűrését**

A csoportos tesztelés terjedésének nagy lökést adott az AIDS megjelenése az 1980-as években, különösen, amikor világossá vált, hogy a betegség egyik lehetséges átviteli útja a véradás. Ekkor vált szükségessé a véradók tömeges szűrése HIV-fertőzöttségre. A vizsgálat nem volt olcsó, és – legalábbis a fejlett országokban – a prevalencia kicsi volt, így kínálkozott a csoportos tesztelés [2, 3]. Szomorú adalék: egyes fejlődő országokban a módszert kénytelenek voltak úgy módosítani, hogy a pozitív csoportokban az alanyokat nem vizsgálták meg egyenként, hanem mindegyikük véréből kidobták – olcsóbb volt újabb véradókat toborozni, mint M számú drága tesztet elvégezni [4, 5]. A kockázat csökkentésére további lehetőségként kínálkozott, hogy a sejtes elemeket tartalmazó vérkészítményeket a kis HIV-prevalenciát mutató populáció donorjaitól nyert vérből állították elő, míg a nagyobb prevalenciával rendelkező populáció – akik egyébként többségben voltak – donorjainak vérből kizárólag plazmakészítményeket gyártottak, ugyanis ezeknél a HIV-vírust sikeresen inaktiválni lehetett [6].

Ma már az orvosi-állatorvosi területen kiterjedten alkalmazzák az egyesített minták vizsgálatát. Közleményünk célja a különböző vizsgálat-típusok, ill. az állatorvoslásban jellemző alkalmazási területek összefoglaló ismertetése. A csoportos tesztelés azonban más területeken is – pl. élelmiszeripari termékek és alapanyagok, takarmány, vetőmag GMO-mentességének vizsgálata – előnyösen alkalmazható.

## VIZSGÁLATTÍPUSOK ÉS MÓDSZEREK

**A vizsgálat célja lehet:**  
 - szűrés vagy klasszifikáció  
 - prevalenciabecslés  
 - fertőző ágens jelenlétének megállapítása vagy kizárása egy populáció vagy csoport szintjén

A vizsgálat célja szerint a következő fő típusokat különböztethetjük meg:

1. **Szűrés vagy klasszifikáció:** minden egyedről meg kell mondani, hogy fertőzött (szeropozitív, vírusürítő stb.) vagy nem. Pl. BVDV (szarvasmarha vírusos hasmenése vírus, bovine viral diarrhoea vírus, BVDV) perzisztens vírushordozók (persistent infection, PI) kiszűrése, HIV, Hepatitis B és C teszt a véradók között a fertőzöttek kiszűrésére stb.
2. **Prevalenciabecslés:** nem kell egyenként megállapítani a státuszt, csupán arra vagyunk kíváncsiak, hogy a szóban forgó állapot a populációnak mekkora hányadát érinti. Jellemző, ha vektorok vizsgálatáról van szó, pl. szúnyogok tesztelése West Nile Virusra [7], ill. kullancsok, kisércsillók *Borrelia* vagy vírusos agyvelőgyulladás (*Flaviviridae*) fertőzöttségre [8, 9].

Humán vizsgálatokban gyakran azért is alkalmazzák, mert a csoportos tesztelés révén biztosítani lehet az anonimitást, amely hiányában az alanyok esetleg nem járulnának hozzá a vizsgálat elvégzéséhez.

3. **Fertőző ágens (vagy ellenanyag) jelenlétének megállapítása vagy kizárása egy populáció vagy csoport szintjén** (csak az a kérdés, hogy pozitív vagy negatív a vizsgált populáció vagy csoport, sem egyedi státuszra, sem érintettség hányadra nem keresünk választ, az egyedek nem is azonosítottak a mintában). Jellemzően olyan elegyminták vizsgálata tartozik ide, amelyekhez sok alany különböző mértékben járul hozzá, pl. tanktej vizsgálata BVDV-re, talajvíz vagy telep szennyvizének vizsgálata *Salmonella*-ra stb.

Szintén ide sorolható a kisebb állatcsoportok (ketrec, karám) vizsgálatára szolgáló módszerek, pl. a rágóköteles mintavétel, amikor még az sem biztos, hogy a vizsgált csoport minden állata hozzájárul a mintához, és akik igen, azok is jó eséllyel különböző mértékben. A szopósmalacok herélése és farokkurtítása során az adott alkalommal beavatkozáson átesett összes malac szerveiből (here, ill. farok) nyert szöveti váladékot elegymintaként (processing fluid) vizsgálják PRSSV-re [10].

DORFMAN óta számos vizsgálati elrendezést javasoltak arra a feladatra, amikor az egyedi státusz meghatározása a cél (a korábban leírt osztályozásban az 1. típus). A fő csoportok:

- (a) Az eredeti Dorfman-módszer (a pozitív csoportokbeli minták egyenkénti vizsgálata)
- (b) Továbbosztásos módszer: A pozitív csoportokban nem vizsgálják mind az M egyedet egyenként, hanem a csoportot részekre osztják és ezeket a rész-csoportokat vizsgálják. A pozitív rész-csoportokban vagy minden egyedet megvizsgálják, vagy azokat is tovább osztják stb. Kis prevalencia esetén ez a módszer nagyobb költségmegtakarítást jelent, mint az eredeti, de nagy prevalencia mellett költségemelkedéssel járhat.
- (c) Kombinatorikus módszer: A pozitív csoportokbeli egyedekből olyan új csoportokat képeznek, amelyek státuszának megállapításából minél több egyed státusza már egyértelműen következik [11].

A csoportos tesztelés feltétele, hogy a diagnosztikai eljárás olyan érzékeny legyen, hogy ha a csoportban csak egyetlen pozitív alany van, akkor is pozitívnak mutassa a csoportot. Ezért az eljárás érzékenysége korlátozza a maximális csoportméretet. A (b) és (c) vizsgálati elrendezésnek az is feltétele, hogy az egyedi minták laboratóriumban történő első csoportosításhoz felhasznált része utáni maradék elegendő legyen a további vizsgálatokhoz.

A prevalencia becslésére (a fenti osztályozásban a 2. típus) is több módszer alkalmazható (egy-, ill. többlépéses, közelítő vagy egzakt, frekventista és bayesi-ánus), amelyek mindegyike a pozitív csoportok és a pozitív egyedek részaránya közötti összefüggésen alapul (lásd a Statisztikai számítások szakaszban az 1. és a 3. képletet). Az egyes módszereknek még a vázlatos ismertetése is meghaladná e cikk lehetőségeit, azonban az érdeklődő olvasó számára jó összefoglaló cikkek adnak iránymutatást és további hivatkozásokat ezen a területen [12, 13].

Több olyan hígítási kísérletet végeztek, amelynek célja egyes eljárások érzékenységének meghatározása volt csoportos tesztelés céljára [2, 14]. Tapasztalatok szerint még a jelenleg legérzékenyebbnak tartott PCR-vizsgálatokra is érvényes, hogy a csoportméret nem növelhető korlátlanul [15, 16], amiből az is következik, hogy a 3. típusú (pl. tanktej) vizsgálatok gondos tervezést, és esetleg előkísérleteket is igényelnek.

Ritka betegségnél egyedi teszteléssel még nagy specifitás mellett is sok lesz a fals pozitív (lásd fals pozitív paradoxon). Tegyük fel például, hogy 10000 tehenet vizsgálunk 0,1%-os prevalencia, 98%-os szenzitivitás és specifitás mellett. Ekkor az egyedi mintákból várhatóan 200 lesz fals pozitív (10 valós pozitív mellett!). Ötvenes elegymintákkal dolgozva a 200 elegy közül várható értékben 10 lesz pozitív, és ezt az 2000 egyedet egyenként tesztelve mindössze 40 fals pozitív várható. A csoportos vizsgálat előnye tehát az egyedi teszteléssel szemben az is, hogy kevesebb fals pozitív eredményre kell számítanunk [3].

## A GYAKORLATBAN HASZNÁLT CSOPORTOS VIZSGÁLATOK

A következőkben gazdasági haszonállatokban előforduló egyes fertőző betegségek (ill. a parazitózisok körébe tartozó *Trichinellosis*) diagnosztikájából mutatunk be példákat az elegymintákra és azok vizsgálati módszereire.

### SERTÉSEKTŐL GYŰJTÖTT CSOPORT MINTÁK

#### Rágókötélminták (szájüregi váladék, oral fluid)

A sertések szájüregi váladékának diagnosztikai célú használatáról (fertőzöttség megállapítása/kizárása) az első részletes áttekintést PRICKETT és ZIMMERMANN adta közre 2010-ben [17]. A szájüregi váladék nem azonos a nyállal. Kétségkívül

**A csoportos tesztelés lényeges feltétele az alkalmazott vizsgálati módszer megfelelő érzékenysége**

**Ritka betegségnél egyedi teszteléssel még nagy specifitás mellett is sok lesz a fals pozitív**

**A sertések rágókötéllal  
gyűjtött szájúregi  
váladékának  
vizsgálatával számos  
fertőző betegség  
kimutatható**

a legnagyobb mennyiségű komponense a nyálmirigyek váladéka, de ezenkívül nyálkahártya- és kapilláris-eredetű folyadékot is magában foglal. A szájúregi váladék alkalmas minta számos vírus (pl. ragadós száj- és körömfájás, klasszikus sertéspestis, PRRS) direkt kimutatására PCR-vizsgálattal, ugyanakkor ellenanyagok vizsgálatára is alkalmas lehet, a szérummintákra fejlesztett ELISA-tesztek némi metodikai módosításával [18], ill. külön nyálminták vizsgálatára is forgalomban vannak már kit-ek. A szájúregi váladékban nyálkahártya-eredetű IgA a domináns immunglobulin típus, de IgG is biztonságosan kimutatható mennyiségben van jelen (az ELISA-tesztek döntő részben IgG-specifikusak) [19].

PRICKETT és mtsai mesterséges PRRSV-2 fertőzést követően vizsgálták 4, 8 és 12 hetes korú malacokban egyedi szérum, szájúregi tampon, valamint csoportos rágókötélminta használhatóságát PRRS-vírus (valós idejű PCR, qRT-PCR), ill. ellenanyagainak (ELISA) kimutatására. A fertőzést követő 5 héten át az egyedi szérum- és a csoportos rágókötélminták közel egyforma gyakorisággal adtak pozitív eredményt, a szájúregi tampon ezzel szemben nem bizonyult alkalmas mintának a PCR-vizsgálatban. A rágókötélmintákban következetesen kisebb PRRSV RNS-kópiaszámot mértek, mint a szérumban. A rágókötélmintákból történt PCR diagnosztikai szenzitivitása a szérum PCR-hez viszonyítva 88–89% a specificitás 100% volt. A szájúregi folyadékból végzett ellenanyag ELISA-vizsgálatok ebben a tanulmányban nem adtak értékelhető eredményt [20]. Ugyanez a munkacsoport három PRRS-fertőzött sertésállományban mérte fel a PRRSV és a PCV-2 (porcine circovirus 2, 2-es típusú sertéscirkovírus) kimutatásának lehetőségeit rágókötélmintákból [21]. Mindhárom telep 1–1 istállójában 6 kutricából (20–30 sertés/kutrica) gyűjtöttek rágókötel- (kutricánként és alkalmanként egy minta) valamint vérmintákat (kutricánként és alkalmanként 5 minta), betelepítéskor 3 hetesen, majd 5, 8, 12 és 16 hetes korban. Egyebek mellett PRRSV qRT-PCR-t végeztek párhuzamosan a rágókötel- és szérummintákból. Ez a vizsgálat a kétféle mintában, kvalitatív (pozitív/negatív) értékelés mellett kutricaszinten 77% egyezést mutatott. Amikor eltérő eredményt kaptak, akkor a szérummintákban találtak pozitívat, a rágókötel-mintákban nem. A PRRS vírusa 3–8 hétig, a PCV-2 több, mint 8 hétig volt kimutatható a szájúri folyadékban.

**A rágókötélmintákon  
PCR- és ELISA-  
vizsgálatok is  
végezhetőek**

Egy másik vizsgálatban kereskedelmi forgalomban elérhető, PRRSV szérum ellenanyagok kimutatására szolgáló ELISA-tesztet (HerdChek PRRS X3; IDEXX Laboratories, Westbrook, MN, USA) validáltak rágókötélminták vizsgálatára, azaz szájúri folyadékban levő PRRSV-ellenanyagok kimutatására. Sertésletelepekről (241 pozitív és 283 negatív minta) valamint ráfertőzési kísérletekből (PRRSV-2; 251 pozitív és 84 negatív minta) származó mintákat vizsgáltak. A teszt diagnosztikai érzékenysége 94,7%-nak (95%-os CI: 92,4–96,5%), specificitása 100%-nak (95%-os CI: 99,0–100,0%) bizonyult. A szájúri folyadékban az anti-PRRSV IgG akár 126 napig is kimutatható volt [18].

Felmerült, hogy a kötel anyaga is befolyásolhatja a méréseket. DECORTE és mtsai 6 különböző anyagú kötelet vizsgáltak. A víztaszító polipropilén és polietilén műszálas kötelek alkalmatlannak bizonyultak, mert nem abszorbeáltak elegendő szájúregi váladékot. A poliészter és poliamid műszálas, valamint a természetes anyagú pamut és kenderkötel elegendő mennyiségű folyadékot vett fel. Bár szignifikáns különbség nem mutatkozott, legnagyobb mennyiségben a pamutkötélből nyert folyadékban mértek IgG-t. Mind az élővírusos vakcinázás (Porcilis PRRS, MSD) után 28 nappal, mind pedig a PRRSV-1 prototípus Lelystad-törzsszel végzett ráfertőzést követően 14 és 28 nappal anti-PRRSV ellenanyagot mutattak ki minden rágókötel mintában két kereskedelmi forgalomban kapható ELISA-teszttel (HerdChek PRRS X3 és PRRS OF; IDEXX Laboratories, Westbrook, MN, USA) [19].

**Szöveti váladék (Processing fluid)**

Az úgynevezett processing fluid (későbbiekben PF) azaz szöveti váladék élő sertésekből jellemzően a malacok herélése és farokkurtyítása során keletkezik.

**A rágókötélmintákon  
PCR- és ELISA-  
vizsgálatok is  
végezhetők**

A mintákat akár almonként, akár termenként egy zacskóba gyűjtik, majd az ezekből kiszivárgó folyadékot használják fel diagnosztikai vizsgálatokra. A PF-re alapozott vizsgálat a tenyésztelpeken megbízható, költséghatékony módszernek bizonyult a PRRS elleni védekezés és mentesítés során az alacsony prevalenciájú esetekben. A szöveti váladék mint elegyminta, fertőzöttség megállapítására/kizárására, ill. prevalencia becslésre alkalmas.

**A sertések  
szövetiváladék-mintája  
a malacok herélése  
és farokkurtítása  
során keletkezik**

LOPEZ és mtsai 2018-ban számoltak be PF-minták PRRS qRT-PCR-vizsgálatáról, amelyet ötösével egyesített, alkalmanként 30 sertésből gyűjtött szérumminta vizsgálatával hasonlítottak össze. Négy PRRS-fertőzött állományban 12 mintavételt végeztek különböző időpontokban, fél éven belül a legutóbbi klinikai megbetegedéshez képest. Egy-egy PF-minta 174–650 (medián: 256), 3–5 napos malacból származott. A PF-mintákból nagyobb biztonsággal tudták detektálni a PRRSV-t (10/12, 83% pozitív minta) mint az egyesített szérumokból (11/72, 15% pozitív minta), egyszerűen azért, mert a PF-mintákban sokkal több állat volt reprezentálva. Összességében a szopósmalac-állomány PRRS-fertőzöttségének diagnosztizálására a PF-minta sokkal hatékonyabbnak és olcsóbbnak bizonyult a rutinszerűen használt szűrésnél (30 szérum 5-ös csoportokban) [22].

Ez a munkacsoport 2019-ben a negatív PF-minták hígító hatását tanulmányozta. Almonként gyűjtöttek PF mintákat, a PRRS PCR-pozitív almokat egyedileg tesztelték szérum mintákból és az egy pozitív egyedre mutató almok PF-mintáit hígították PRRS-mentes állományból származó almok PF-mintáival. Egyetlen vírusűrítő állat miatt pozitív PF-et 780 malacból származó negatív PF-mintával hígítva 61%-os valószínűséggel, míg 400 malacból gyűjtött negatív mintával hígítva 90%-os valószínűséggel mutatható ki a PRRSV RNS. 100%-os kimutatási valószínűséget 352 negatív állat mintájával történő hígításkor állapítottak meg. [15].

**Sertésekből vágás  
után vett izomszövet-  
elegymintát a  
Trichinella-lárvák  
kimutatására  
használják**

**Izomszövet-elegyminta**

Sertésekből vágás után vett izomszövet-elegymintát a *Trichinella*-lárvák kimutatására használják, évtizedek óta változatlanul alkalmazott módszerrel. A betegség közegészségügyi jelentősége miatt a vizsgálati módszert jogszabály írja le [23]. Általános ismertsége okán további részletezésétől eltekintünk, csupán megjegyezzük, hogy a vizsgálat célja a klasszifikáció, vagyis a fertőzött egyedek megtalálása.

**SZARVASMARHÁKTÓL GYŰJTŐT CSOPORT MINTÁK**

**Szarvasmarhák vírusos hasmenése (BVD)**

**A BVD elleni védekezés  
egyik sarokpontja  
a perzisztens  
vírushordozó állatok  
egyedi azonosítása  
és eltávolítása az  
állományból**

A BVD elleni védekezés egyik sarokpontja a perzisztens vírushordozó (PI) állatok egyedi azonosítása és eltávolítása az állományból. A PI-állatok állományon belüli prevalenciája átlagosan 1–1,5% (szélső értékek jellemzően 0,1–5%). Állományon belüli megoszlásuk életkor szerint nagy eltérés mutatható: a 24 hónaposnál idősebb korosztályban (tehének) jóval kevesebb, mint a növendékek között. A kis prevalencia nagy nehézséget jelent, mivel a BVD vírusának kimutatásra használt antigén-ELISA (AC ELISA) érzékenysége 92–100%, specifitása 98,4–100%, a PCR esetében pedig ugyanezen értékek rendre 99,6–100%, ill. 96,2–100% [24]. A prevalenciaadatokkal összevetve a pozitív prediktív érték elég kicsi: ha pl. 1%-os prevalenciával és az említett szenzitivitási/specifitási tartományok közepével számolunk, akkor ELISA-ra 55%, PCR-re pedig 35% pozitív prediktív értéket kapunk, vagyis az első vizsgálatban pozitív minta hasonló eséllyel lehet valódi, mint fals pozitív. Ezért is indokolt a PI-minősítést csak legalább két (esetleg 3) pozitív vizsgálati lelet alapján kimondani.

RADWAN és mtsai 1995-ben PCR-rel vizsgálták a BVDV kimutathatóságát tanktejből. Egy átmeneti viraemiás, és két PI-állat tejmintáját használták a kísérlethez. A vírus RNS-t teljes tejből tisztított szomatikus sejtekből vonták ki. Az átmeneti viraemiás tehén tejből a fertőzést követő 6–10. napon lehetett kimutatni a BVDV

RNS-t. A teszt szenzitivitását a PI-állatok tejének bizonyítottan BVDV-negatív tejjel történő hígításával állapították meg. A PI-állatok teje még 1:640 léptékben hígítva is pozitív eredményt adott a PCR-ben. A PCR-hez minimum 580 szomatikus sejtre, ezzel szemben a vírusizoláláshoz 8500-ra volt szükség [16].

A szérumminták csoportosításának lehetőséget vizsgálva SMITH és mtsai 2990 tehén brucellosis vizsgálatra gyűjtött egyedi szérummintáját osztották 100 csoportba (27–30 szérum/pool) és vizsgálták két nested (kétkörös) PCR-rel (egyik kvantitatív, real-time, a másik kvalitatív). Az elegyminták közül 2 bizonyult pozitívnek, mindkettőben 1–1 vírushordozó egyedét azonosítottak. Ennek alapján a vizsgált tehénpopulációban (USA Közép-Nyugati államok) 0,07%-ra becsülték a BVDV-hordozást (95%-os CI: 0,01–0,24%) [25].

BOOTH és BROWNLIE több éven át 26 szarvasmarha-állományban vizsgálták a tanktejet és 10 növendék (9–18 hónapos) állat egyedi szérummintáját BVDV-ellenanyagteszttel (ELISA), ezen belül 9 tehenészetben tanktejből PCR-vizsgálatot is végeztek. A PI-állattal terhelt állományok azonosításában a tanktej-ELISA szenzitivitása 80%-nak, specifitása 85,71%-nak, a növendékek vizsgálatának (3/10 pozitív határértéket tekintve pozitív állománynak) szenzitivitása 81,82%-nak, specifitása 66,67%-nak bizonyult. A viszonylag kicsi értékekben szerepet játszhatott, hogy az említett csoportminta-szűrővizsgálatokat átlagosan 8 hónappal korábban végezték, mint a viszonyítási alapként szolgáló teljes egyedi állományvizsgálatot. Ennyi idő alatt PI-állatok elpusztulhattak, vagy kikerülhettek az állományból, esetleg PI-egyed születhetett is. A tanktejből végzett PCR-vizsgálatok pontosan azonosították azokat az állományokat, ahol PI-tehenek fordultak elő, de 3 esetben negatív eredményre vezetett a tanktej-PCR, amikor csak a növendék állományban találtak PI-állatokat [26].

MUÑOZ-ZANZI és mtsai költségoptimalizálásra tervezett csoportméret-számítást közöltek PI-állatok PCR-vizsgálattal történő egyedi azonosítására. Öt modellt írtak le, 0,5–3% PI-prevalenciát feltételezve. A BVDV PCR-szenzitivitását és specifitását egyaránt 100%-nak tekintették. Legkedvezőbb költséget akkor értek el, ha első lépésben az egyedi mintákat húszasával egyesítették, majd a pozitív csoportokat ötösével újrpoolozták (a korábban ismertetett továbbosztásos módszer). Úgy találták, hogy 3% prevalencia fölött az egyesített minták PCR-vizsgálatának gazdasági előnye fokozatosan elvész [27].

WEINSTOCK és mtsai RT-PCR tesztet validáltak a BVDV kimutatására egyesített szérummintákban, az egyedi minták mikrolemezen végzett vírusizolálásával összehasonlítva. A mintákat (több mint 8000) Pennsylvania 60 tejelő állományából gyűjtötték. Az RT-PCR-ben 30-as, 50-es 100-as csoportokat képeztek. A 60 állományból 13-ban találtak pozitív elegymintát (~22%). A PCR képes volt egyetlen pozitív minta százas csoportban, 99 negatív minta mellett történő kimutatására is. A PCR-rel, ill. vírusizolálással pozitívnek bizonyult minták 100%-ban megegyeztek [28].

A BVDV sikeres kontrollprogramjához a PI-állatok korai felismerése és eltávolítása szükséges. KENNEDY és mtsai 2006-ban 3599 fülporcmintát gyűjtöttek kb. 1 éves növendék üszőkből a PI állatok kiszűrésére. Az összes minta egyedi vizsgálatára immunhisztokémiát (IHC) és antigén ELISA-t (vagy antigénfogó, antigen capture, továbbiakban: AC-ELISA) párhuzamosan használtak. PCR-vizsgálatot 100-asával véletlenszerűen csoportosított mintákból (azaz összesen 36 pool) végeztek. Négy üsző IHC és AC-ELISA pozitívnek, míg a többi negatívnek bizonyult. A PCR-vizsgálatban három pozitív poolt azonosítottak, amelyek közül kettő 1–1, míg egy pool 2 olyan üsző mintáját tartalmazta, amelyek az egyedi (IHC és AC-ELISA) tesztekben pozitívak voltak. A három módszer tehát egymással teljes összhangban ismerte fel a PI-állatokat. A csoportméret meghatározásához előkísérletet végeztek, amelynek során a PCR-teszt egy pozitív mintát sikeresen azonosított 399 negatív fülporc felülűszójába keverve, továbbá 72 darab 100-as elegyminta vizsgálatából

**Számos módszer  
leírtak a PI-állatok  
azonosítására  
elegyminták  
vizsgálatával**

mind a szenzitivitás, mind a specificitás 100%-nak adódott (95%-os alsó konfidenciahatárnál rendre 90,97% és 89,42%) [29].

YAN és mtsai egy állományon belül a PI-egyedek azonosításának költséghatékonyságát vizsgálták. A mintákat egyenlő arányban 25-ös és 50-es csoportokba rendezték, majd real-time PCR-rel vizsgálták, és a pozitív csoportok egyes mintáit AC-ELISA-val tesztelték. A leginkább költséghatékony elegymintaméret 0,25–0,5%-os prevalenciánál 50; 0,75–2,0%-osnál pedig 25 volt. A PCR és az AC-ELISA kombinált használatával 27 932 mintából 111 volt pozitív BVDV-re (0,4%-os prevalencia). Ekkora prevalenciánál a két módszer együttes alkalmazásával elérhető költségszökkenés 61–94 % közt volt szemben az egyedi minták AC-ELISA-, IHC-, ill. PCR-vizsgálatával [30].

### PARATUBERCULOSIS (PTB)

A paratuberculosis (vagy Johne-betegség) *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) által okozott, idült hasmenéssel, nagymértékű tejtermelés-csökkenéssel és ennek következtében nagy gazdasági kárral járó betegség, amely elsősorban a tejelő tehénállományokat sújtja [31, 32]. A betegség kórjelzésének hagyományos módszere a baktériumtenyésztés bélsárból, ez azonban rendkívül hosszadalmas (7–8 hét), munkaigényes és drága eljárás [33]. Kiterjedten használják még a szérum ellenanyag-meghatározására az ELISA-teszteket (főként a gyorsaságuk és egyszerűségük miatt), de komoly hátrányuk, a nagy (99% körüli) specificitás mellett a nagyon gyenge (8–50%) szenzitivitás, ami azonban egyenes arányban áll a baktériumürítés mértékével. Mondhatni, hogy csak az erősen baktériumürítő (high shedder) állatok kb. felét lehet megtalálni ezzel a módszerrel. A baktériumtenyésztés alternatívája a bélsárból történő PCR-vizsgálat, amely lehetővé teszi elegyminták vizsgálatát is. MCKENNA és mtsai úgy találták, hogy a PCR-vizsgálat kis prevalencia esetén is megfelelő módszer: a bélsárminták 5-ös vagy 10-es csoportosításával 52–99,3% valószínűséggel azonosítja az MAP-fertőzött állományokat (1 pozitív minta 10-es csoportban – 5 pozitív minta 5-ös csoportban növekvő valószínűséggel) [34]. Ausztrál kutatók ugyancsak a 10-es csoportosítást javasolják PCR-vizsgálatban, amelynek diagnosztikai szenzitivitását 73%-nak (95%-os CI: 54–88%), specificitását 100%-nak találták. A teszt pontosságát (Se, Sp) sokkal nagyobb mértékben befolyásolta a baktériumok mennyisége, mint a csoportméret [35]. A PCR alkalmas a MAP kimutatására környezeti mintákból is, ezzel még egyszerűbb mintagyűjtési lehetőséget biztosít az állományfertőzöttség megállapítására. BERGHAUS és mtsai mintákat gyűjtöttek 23 nagylétszámú kaliforniai tejelő állományból a trágyaelvezető csatornából, a fejőház kihajtó útjáról és a frissfejős istálló közlekedő útjáról. E környezeti minták PCR-vizsgálatát hasonlították állományonként  $\geq 60$  állat egyedi vagy poolozott bélsár baktériumtenyésztésével, valamint egyedi ellenanyag ELISA-vizsgálatával, 74%, 70% és 65% volt a pozitív állományok aránya a három módszer sorrendjében. A pozitív környezeti minták száma minden telepen szignifikánsan korrelált a szeropozitív állatok arányával (Spearman's  $r = 0,53$ ;  $p = 0,009$ ) ezáltal valószínűsíthető, hogy a környezeti minták alkalmasak lehetnek az állományon belüli prevalencia becslésére is [36]. Több tanulmány megállapítja, hogy a környezeti minták közül a vizsgálatra legalkalmasabb a tehének közlekedőútjain és a trágyaelvezető csatornákból gyűjtött környezeti bélsár [14, 36]. Március–június hónapokban gyűjtött környezeti mintákból (telepenként 6 mintavételi hely) végzett MAP PCR-vizsgálattal szignifikánsan nagyobb valószínűséggel (cluster specific OR: március–április: 3,22; május–június: 2,80  $p < 0,01$  mindkét esetben) azonosították a fertőzött állományokat, mint a télen vett mintákból [14].

**Paratuberculosis esetén az ELISA-vizsgálatoknak gyenge az érzékenysége**

**A bélsárminták elegyíthetők PCR-vizsgálatokat megelőzően**

**A környezeti minták közül vizsgálatra legalkalmasabb a tehének közlekedőútjain és a trágyaelvezető csatornákból gyűjtött bélsár**



### BAROMFITÓL GYŰJTÖTT CSOPORTMINTÁK

Gazdasági haszonállatként tartott baromfiállományokban – ritka kivételtől eltekintve (pedigrétartás) – nincs egyedi azonosítás. Tehát még egyedileg gyűjtött minták egyedi vizsgálatát (pl. szerológia) is csoportprevalencia-becslés vagy a fertőzöttség megállapítása/kizárása szempontjából lehet értékelni (korábbi csoportosításunk szerint 2. és 3. típus).

Baromfiállományokban – zoonotikus betegség lévén – kiemelt (közegészségügyi) jelentőségű a *Salmonella*-fertőzöttség, így ezt használjuk példaként a csoportminták ismertetésére.

A csoportosított minta forrás szerint háromféle lehet: (a) élő állatokból gyűjtött; (b) élőhelyi környezetből (istálló, keltető) vett és (c) levágott állatból vett. A minta jellege szerint a (b) kizárólag természetes elegyminta, a (c) kizárólag egyedi minták mesterséges poolozása, az (a) mindkettő lehet.

Élő állatból egyedileg kloakatampon vagy friss bélsár gyűjthető, amelyet jellemzően egyesítenek a feldolgozáskor. A bélsárban a salmonellák a mikrobióta részeként vannak jelen, az ürítés szakaszos és általában csak az állomány kis része ürít egy adott időben. E tényezők miatt széles körben elfogadott, hogy a környezetből gyűjtött elegybélsár-, alom-, ill. pormintákból sokkal jobb hatékonysággal lehet kimutatni a salmonellákat. Elegybélsár/alom gyűjtésére Európában a csizmatamponmintát használják, az USA-ban elterjedt még a felületen húzott tampon (drag swab) is, jóllehet a csizmatamponból gyakoribb a pozitív lelet. Egy tanulmány megállapította, hogy a rutin körbejárás során egy istállóban gyűjtött csizmatampon legalább annyira jó minta a salmonellák izolására, mint 60 csirkéből egyedileg gyűjtött bélsár egyesített mintája. Öt csizmatampon az istálló öt részéből pedig egyenértékű 300 állat egyedi bélsármintájának 5-ös poolokban történő vizsgálatával [37].

Salmonellák kimutatása hatékonyan végezhető még istállói por (elsősorban ventilátorlapátokról), ill. keltetői meconium (bújtató tálcán maradt tojáshéj, por) mintákból is.

Vágóhídi mintákban a vágott testfelület *Salmonella*-szennyezettségét teljes test tápfolyadékos öblítésével nyert mintából, vagy egyesített, homogenizált (madaranként 5–10 g) nyakbőrmentából vizsgálják [37].

### VIZSGÁLATOK PREVALENCIA BECSLÉSÉRE

Végül megemlítünk néhány olyan alkalmazást is, amelyekben a cél nem az egyedi azonosítás, hanem a prevalenciának, a vizsgált állapot populációbeli részarányának a megállapítása volt (a fenti 2. típusú vizsgálat). Jellemzően csoportmintákat használnak – elsősorban az anonimitás biztosítása végett – a humán HIV-fertőzöttség prevalenciájának becslésére [2, 3]. Az állatorvos-tudományban leginkább nagy populációk vizsgálata esetén szokásos a prevalenciát csoportmintákból becsülni, mert így adott költségkeretből lényegesen több minta vizsgálható. A módszer alkalmazása tipikus a kórokozók vektorai, ill. a rezervoárjukként szolgáló fajok esetén.

ARANDA és mtsai 2001 és 2005 között Spanyolországban egy országos vizsgálat keretében 20 szűnyogfaj 72 895 nőtény egyedét gyűjtötték be, és ezek arbovírus-fertőzöttségének prevalenciáját vizsgálták csoportminták (összesen 4723 pool) segítségével RT-PCR-módszerrel [38]. CONDOLTA és mtsai (2004) a nyugat-nílusi láz vírusának prevalenciáját vizsgálták két szűnyogfajban (*Culex pipiens* és *Culex restuans*) Kanadában, szintén RT-PCR-rel, 5-ös csoportokkal [7]. GU és LAMPMAN (2004) ugyancsak a nyugat-nílusi láz előfordulását vizsgálták szűnyogokban 2002 nyarán az USA-ban, Chicagóban. A cikkben különböző poolozási stratégiákat hasonlítanak össze, beleértve azt a stratégiát is, amikor nem egy fix csoportméretet használnak, hanem többet váltogatnak (5, 10, 20, 30, 40 és 50-eset), amely megoldás a szerzők szerint bizonyos feltételek mellett a fix csoportméretnél jobb tulajdonságokkal bír [38].

**Baromfiállományokban  
környezetből gyűjtött  
elegybélsár-, alom-,  
ill. pormintákból  
jó hatékonysággal  
lehet kimutatni a  
salmonellákat**

DURNEZ és mtsai (2008) mycobacteriumok gyakoriságát vizsgálták rágcsálókban és rovarrevőkben (összesen 708 állatban) Tanzániában. A mintákat rétegezték befogási hely, valamint az állat szerve (máj, lép, tüdő, nyirokcsomó) szerint, és a mintákból változó méretű csoportokat képeztek (összesen 2832 egyedi mintából 620 csoportot), amelyeket PCR-rel, mikroszkópos vizsgálattal és tenyésztéssel is megvizsgálták [40].

COWLING és mtsai (1999) a prevalencia becslésére szolgáló hét ismert módszert hasonlítanak össze, és alkalmazásukat tojások *Salmonella enteridis*-fertőzöttségének vizsgálatán demonstrálják. A tárgyalt módszerek között van olyan, amely feltételezi, hogy a vizsgáló eljárás tévedhetetlen, azaz szenzitivitása és specifitása is 100%-os, és olyan is, amelynél ezek a mutatók 100%-nál kisebbek. Utóbbiak között van olyan, amelyben a szenzitivitást és specifitást ismerjük, ill. olyan is, amikor nem, vagyis amikor e mutatók megállapítása is a vizsgálat feladata. A cikk végkövetkeztetése az, hogy nincs egyértelműen legjobb módszer, a választásnak a célok és körülmények gondos mérlegelésén kell alapulnia [12].

### STATISZTIKAI SZÁMÍTÁSOK

Csoportos teszteléssel nyert adatok statisztikai kiértékeléséről több összefoglaló tanulmány is elérhető, amelyek részletesen tárgyalják mind a frekventista, mind a bayesiánus indíttatású módszereket [12, 13, 41]. Az alábbiakban csak azokat az alapvető gondolatokat és összefüggéseket ismertetjük, amelyek valamennyi bonyolultabb eljárás alapjául szolgálnak.

#### Egyedi státuszmeghatározás

A cél szerint 1. típusú vizsgálatokban – amikor tehát minden egyes alany státuszát meg kell határozni – a feladat a legnagyobb várható költségmegtakarítással járó vizsgálati terv megkeresése. A megtakarítást a negatív csoportok jelentik (ugyanis ekkor egyetlen vizsgálattal a csoport minden tagjának a státusza kiderül), tehát annál nagyobb a megtakarítás, minél több a negatív csoport, és ezek minél nagyobbak. Sajnos e két feltétel szembenáll egymással, mivel a nagy csoportok nagyobb eséllyel lesznek pozitívak.

Legyen a csoportok mérete  $M$ , a betegség prevalenciája  $P$ . Az egyszerűség kedvéért tekintsük azt az ideális esetet, amikor a teszt tökéletes, nincsenek fals pozitívak, ill. negatívok (lásd számítások a diagnosztikai teszt szenzitivitásának és specifitásának figyelembevételével). Ha az egyedek egymástól függetlenül  $P$  valószínűséggel betegek, akkor egy  $M$  méretű csoport  $(1-P)^M$  valószínűséggel lesz negatív, ezért annak a valószínűsége, hogy a csoport pozitív lesz,

$$P_{cs} = 1 - (1-P)^M \quad (1)$$

Ez az ún. csoportprevalencia: a csoportoknak ekkora hányada lesz pozitív. Ha  $N_{cs}$  csoportot (azaz  $N_{cs} \cdot M$  alanyt) vizsgálunk – a vizsgálatok várható száma (Teszt. db) két részből tevődik össze: az egyik az  $N_{cs}$  csoport vizsgálata, a másik a pozitív csoportokbeli alanyok egyenkénti vizsgálata.

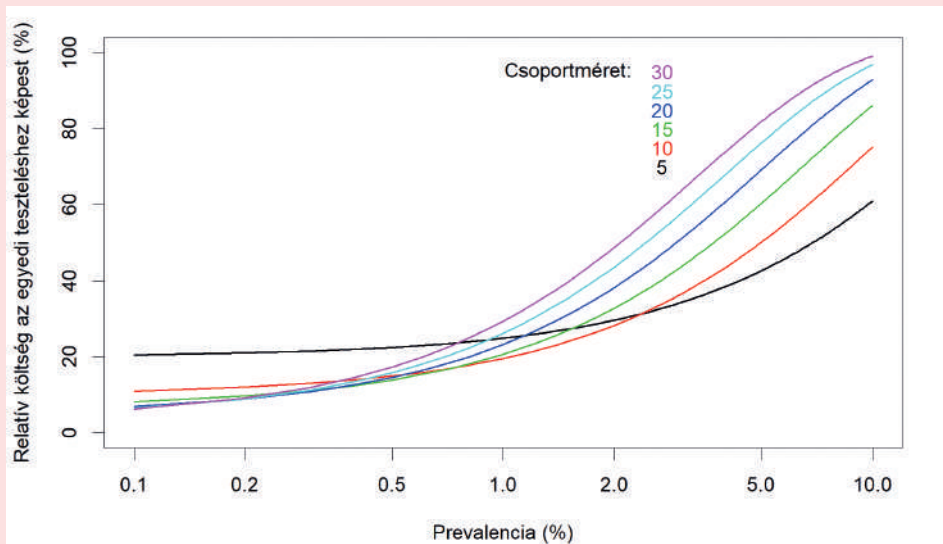
$$\text{Teszt db.} = N_{cs} + P_{cs} \cdot N_{cs} \cdot M = N_{cs} + (1 - (1-P)^M) \cdot N_{cs} \cdot M \quad (2)$$

Algebrai úton bizonyítható, hogy az optimális csoportméret csak a  $P$  prevalenciától függ. A *Táblázat* az optimális csoportméretet és a várható költséget mutatja a prevalencia függvényében, az *Ábra* pedig arra hívja fel a figyelmet, hogy ha a tényleges prevalencia nagyobb, mint amire a vizsgálat tervezésekor számítottunk, akkor a költségek a tervezett többszörösére rúghatnak. Pl. a 0,1%-os várt prevalenciához optimális 32-es csoportméret költsége 0,5%-os prevalencia mellett a 0,1%-kal kalkulálnak közel háromszorosa. Nem érdemes tehát a prevalenciát optimistán kicsire becsülni, és így a csoportméretet túl nagyra beállítani, hiszen a 15 feletti csoportméretek még 0,1%-os prevalencia esetén sem nyújtanak számottevő megtakarítást a 15-öshöz képest.

**Amikor minden egyes alany státuszát meg kell határozni, a legnagyobb várható költségmegtakarítással járó vizsgálati tervet kell kidolgozni**

**ÁBRA.** Várható relatív költségek a csoportmérettől és a prevalenciától függően az egyedi vizsgálatokhoz (100%) képest, a (2) képlet szerint

**FIGURE.** Expected cost of pooled testing compared to individual testing (100%) depending on pool size and prevalence of disease, calculated by formula (2)



Ha mégis megtörténik, hogy a csoportoknak olyan nagy hányada pozitív, hogy túl költséges lenne ezeknek minden tagját megvizsgálni, akkor egy menekülőút, ha a pozitív csoportokban lévő alanyokból kisebb csoportokat képezünk, és előbb azokat vizsgáljuk meg (v.ö. tovább-osztásos módszer). Tegyük fel pl., hogy két-száz 30-as csoportot vizsgáltunk, és közülük 120 lett pozitív. Ezekben az egyedek egyenkénti tesztelése 3600 vizsgálatot jelentene. Ha a pozitív csoportokból 600 hatos csoportot képezünk, ezek közül várhatóan 100 lesz pozitív, így 3600 helyett kb.  $600 + 100 \times 6 = 1200$  vizsgálatot megúsztatunk. A számítás részletezése: a 30-as csoportokra kapott  $120/200=60\%$ -os csoportprevalenciából a (3) képlettel becsült egyedi prevalencia 3%. Ebből a 6-os csoportok csoport-prevalenciája az (1) képlettel 16,7%, ami 600 csoport esetén átlagosan  $600 \times 0,167 \approx 100$  pozitív csoportot jelent. Hangsúlyoznunk kell, hogy ez a vizsgálatszám *várható érték*, vagyis a tényleges vizsgálatszám ettől felfelé és lefelé is eltérhet, de hosszú távon – pl. évenkénti monitorozás esetén – a pozitív és negatív eltérések nagyjából kiegyenlítik egymást.

#### Prevalenciabecslés

A prevalenciabecslést célzó vizsgálatokban a feladat az, hogy a  $P_{cs}$  csoportprevalenciából visszszámoljuk az egyedi  $P$  prevalenciát. Erre az (1) képlet átalakítása ad lehetőséget:

$$P = 1 - (1 - P_{cs})^{1/M} \quad (3)$$

Ez az összefüggés azt feltételezi, hogy a csoportokba véletlenszerűen, egymástól függetlenül kerülnek be az egyedek. Ha nem így történik, akkor a  $P$  egyedi prevalencia becslése torzított lesz. Nevezetesen, ha a tendencia az, hogy betegek nagyobb valószínűséggel kerülnek egy csoportba, akkor a vizsgálat az egyedi prevalenciát alábecsüli, a fordított esetben pedig túlbecsüli. Pl., ha az állatok mintáiból istállóként képezünk egy-egy csoportot, akkor a pozitív csoportokban a véletlenszerű eloszlás alapján vártnál nagyobb arányban lesznek betegek (az istálon belüli fertőzés valószínűsége nagyobb), így a pozitív csoportok arányából visszszámolt egyedi prevalencia a valós értéknél kisebb lesz.

Ha a véletlenszerű csoportképzés nem kivitelezhető (ami sajnos nem ritka, különösen nagy léptékű felmérések esetén, hiszen nem várható el, hogy a mintákat pl. megyék között cserélgessék a random csoportképzés kedvéért), akkor a becslést úgy lehet elvégezni, hogy a megkívánt pontossághoz szükséges számú pozitív csoportot egyenként is letesztelünk. Így meghatározva a pozitív csoportokban a pozitív egyedek átlagos számát, ezt szorozva a pozitív csoportok számával,

**A prevalenciabecslést célzó vizsgálatokban a feladat az, hogy a  $P_{cs}$  csoportprevalenciából visszszámoljuk az egyedi  $P$  prevalenciát**

**Ha a pozitívok egyedi azonosítása a feladat, akkor éppen az az előnyös, ha a pozitív csoportokban minél több pozitív egyed van**

megkapjuk a pozitív egyedek becsült számát. Tegyük fel pl., hogy 1200 db 20-as csoportot vizsgáltunk, amelyek között 180 volt pozitív ( $P_{cs} = 15\%$ ). Mivel a csoportokat a telepeken belül képezték, az a gyanúnk, hogy az egyedi prevalencia véletlenszerű eloszláson alapuló számítása ( $1 - (1 - 0,15)^{1/20} = 0,008$ ) alábecsüli az egyedi prevalenciát. Hogy ezt korrigálni tudjuk, a 180 pozitív csoport közül 18-nak a mintáit (azaz  $18 \times 20 = 360$  mintát, amely már kellően nagy szám egy pontosabb becsléshez) egyedileg is megvizsgáljuk. Ha e 360 mintából 72 bizonyul pozitívnak, akkor a pozitív egyedek száma a 180 pozitív csoportban 720-ra tehető, ami a teljes vizsgálatra nézve  $720/24\ 000 = 3\%$ -os egyedi prevalenciát jelent.

Jegyezzük meg, hogy ha a pozitívok egyedi azonosítása a feladat, akkor éppen az az előnyös, ha a pozitív csoportokban minél több pozitív egyed van, mert ez egyben azt is jelenti, hogy több negatív csoport lesz, mint random csoportképzés esetén lenne, azaz nagyobb megtakarítás érhető el. Tehát ilyenkor érdemes a mintákat ketrecenként, istállónként stb. csoportosítani.

### Konfidencia-intervallumok

Prevalencia becslésekor szokásos 95%-os konfidencia-intervallumot (confidence interval, CI) is meghatározni. Ez azt jelenti, hogy a mintából két számot számolunk ki, az ún. alsó és felső konfidenciahatárt, amelyek az ismeretlen prevalenciát 95% valószínűséggel közrefogják (ahol a 95% valószínűség azt jelenti, hogy ha a mintavételt és számítást 100-szor ismételnénk, akkor várhatóan 95-ször teljesülne ez, és csak ötször kapnánk „selejtes” határokat). Ha az a kérdés, hogy *legfeljebb mekkora* a fertőzöttség, akkor *egyoldali* CI-t, más néven *felső konfidencia-határt* (KH) kell számolni. A CI is a (3) képlettel adódik a csoport-prevalenciára számított CI-ből, amelyet pl. az R programmal [42] kaphatunk meg, egyoldalit a Clopper–Pearson [43], kétoldalit a Blaker-módszerrel [44]. Példaként tegyük fel, hogy hatvan 15-ös csoport közül 9 pozitív, vagyis  $P_{cs} = 9/60 = 15\%$ , a csoportprevalenciára vonatkozó 95%-os felső KH pedig 23,5%. Ekkor a (3) képlettel az egyedi prevalenciára  $P = 1 - 0,85^{1/15} = 1,1\%$ , felső konfidencia-határára pedig  $1 - 0,765^{1/15} = 1,8\%$  adódik.

### Számítások a diagnosztikai teszt szenzitivitásának és specifitásának figyelembevételével

Mindenekelőtt meg kell jegyezni, hogy a diagnosztikai teszt szenzitivitása ( $Se$ ) és specifitása ( $Sp$ ) különbözhet – bár nem szükségszerű, hogy különbözzék – egyedi és csoportos tesztelés esetén (gondoljunk pl. arra, hogy a teszt érzékenysége kisebb lehet, ha egy olyan 30-as csoportot tesztelünk, amely csak egyetlen pozitív egyedet tartalmaz). Erre való tekintettel a jelölésben megkülönböztetünk  $Se$ -t és  $Se_{cs}$ -t, előbbi az egyedi teszt, utóbbi a csoportos teszt érzékenysége (hasonlóan a specifikusságra  $Sp$  és  $Sp_{cs}$ ). A  $Se_{cs}$  és  $Sp_{cs}$  a csoportmérettől is függhetnek, meghatározásuk kísérleti úton történhet. A publikációk többségében azzal az egyszerűsítő feltételezéssel élnek, hogy ezek a csoportmérettől függetlenül megegyeznek az egyedi tesztelésre érvényes  $Se$  és  $Sp$  értékekkel.

Feltéve, hogy a szenzitivitás és specifitás értékek ismertek, a fenti jelölésekkel a csoport-prevalencia képlete a következőképpen alakul:

$$P_{cs}^* = Se_{cs} \cdot (1 - (1-P)^M) + (1 - Sp_{cs}) \cdot (1-P)^M \quad (1b)$$

A csoportos tesztelés esetén szükséges tesztek átlagos számára vonatkozó képlet így változik:

$$\text{Teszt. db} = N_{cs} + P_{cs}^* \cdot N_{cs} \cdot M = N_{cs} + (Se_{cs} \cdot (1 - (1-P)^M) + (1 - Sp_{cs}) \cdot (1-P)^M) \cdot N_{cs} \cdot M \quad (2b)$$

a  $P_{cs}$  csoport-prevalenciából az egyedi  $P$  prevalencia kiszámítására szolgáló képlet pedig így:

$$P = 1 - ((P_{cs}^* - Se_{cs}) / (1 - Se_{cs} - Sp_{cs}))^{1/M} \quad (3b)$$

Ha a csoportos tesztelés célja az egyedi fertőzöttség megállapítása, akkor azt is figyelembe kell venni, hogy csoportos tesztelés esetén kétféleképpen adódhatnak

fals negatív esetek: vagy úgy, hogy egy csoportot tévesen negatívnak találunk, és ekkor tagjait egyedileg már nem vizsgáljuk, hanem negatívnak tekintjük, vagy azért, mert egy pozitív csoportbeli alany egyedi vizsgálata szolgáltat fals negatív eredményt. Ezért ekkor az egyedekre vonatkozó szenzitivitás ( $Se^*$ ) kisebb, a specificitás ( $Sp^*$ ) pedig nagyobb lesz, mint egyedi tesztelés esetén. Képletekkel kifejezve:

$$Se^* = Se_{cs} \cdot P_{cs}^* \cdot Se$$

$$Sp_{cs}^* = Sp_{cs} + (1 - Sp_{cs}) \cdot Sp$$

**A csoportos  
mintavételek  
tervezésével  
kapcsolatos  
számításokhoz  
ingyenesen  
hozzáférhető szoftverek  
is rendelkezésre állnak**

### Szoftverek

Csoportos mintavétel tervezéséhez, az optimális csoportméret meghatározásához, konfidencia-intervallumok konstrukciójához és a szükséges mintaelemszám számításához alapos internetes kereséssel is csak néhány ingyenesen elérhető szoftvert találtunk (a keresési kulcsszavak a következők voltak: „group testing”, „pooled testing”, „pooled sampling”, „composite samples”, valamint „macro”, „script”, „program”, „calculator”, „software”).

Az egyik az Ausvet ausztrál cég Epitools online kalkulátora [45], amelynek „Pooled prevalence calculator” modulja segítségével csoportos minták teszteléséből egyedi prevalenciát lehet becsülni. Konfidencia-intervallumot is ad az egyedi prevalenciára. A kalkulátor használatához az e cikkben leírtaknál több statisztikai ismeretre nincs szükség, az eredményeket a szoftver érthetően közli. Ugyanerre a feladatra kínál megoldást az R statisztikai program [41] *epiR* nevű csomagja [46] amelynek használata azonban az R alaposabb ismeretét igényli.

A másik az R program *binGroup* nevű csomagja [47]. Ennek az előbbinél jóval több funkciója van (pl. a várt prevalenciához optimális csoportméret számítása, mintaelemszám-számítás stb.), de használatához szintén haladó R ismeretek szükségesek.

## MEGVITATÁS

**A csoportos minták  
kiváló lehetőséget  
kínálnak nagylétszámú  
állatállományok  
fertőző betegségekre  
történő szűrésére,  
monitorozására**

A csoportos minták kiváló lehetőséget kínálnak nagylétszámú állatállományok fertőző betegségekre történő szűrésére, monitorozására. A mintavételezésnél és tesztelésnél egyaránt jelentkező költséghatékonyság mellett figyelemre méltó előnyük, hogy ha a diagnosztikai teszt specificitásánál kisebb a betegség prevalenciája, az egyedi vizsgálatokhoz képest kevesebb a fals pozitív eredmény. A kisebb érzékenységet pedig ellensúlyozhatja az, hogy a csoportos mintavételek (pl. tanktej, rágóköté) általában jóval nagyobb egyedszámot reprezentálnak sokkal kevesebb munka ráfordítással, mint az egyedi mintavételek. Csoportos minták vizsgálatából egyszerűen végezhető egyedi prevalenciabecslés, de tekintetbe kell venni, hogy a gyakorlatban ritkán sikerül véletlenszerű mintavétel, ezért – ha szükséges a pontosabb prevalenciabecslés – indokolt a megkívánt pontossághoz szükséges számú pozitív csoportot egyedenként is tesztelni.

## IRODALOM

1. Dorfman R (1943) The detection of defective members of large populations. *Ann Math Stat* 14:436–440
2. Kline RL, Brothers TA, Brookmeyer R, Zeger S, Quinn TC (1989) Evaluation of human immunodeficiency virus seroprevalence in population surveys using pooled sera. *J Clin Microbiol* 27:1449–1452
3. Tu XM, Litvak E, Pagano M (1994) Studies of AIDS and HIV surveillance; Screening tests: can we get more by doing less? *Stat Med* 13:1905–1919
4. Emmanuel JC Bassett MT, Smith HJ, Jacobs JA (1988) Pooling of sera for human immunodeficiency virus (HIV) testing: an economical method for use in developing countries. *J Clin Pathol* 41:582–585
5. Vermeulen M, Lelie N, Coleman C, Sykes W, Jacobs G, Swanevelder R, Busch M, Zyl van G, Grebe E, Welte A, Reddy R (2019) Assessment of HIV transfusion transmission risk in South Africa: a 10-year analysis following implementation of individual donation nucleic acid amplification technology testing and donor demographics eligibility changes. *Transfusion* 59:267–276

6. Grobbelaar BG (1992) The impact of AIDS on blood transfusion services in South Africa. *Med Law* 11:495–500
7. Condotta SA, Hunter FF, Bidochka MJ (2004) West Nile virus infection rates in pooled and individual mosquito samples. *Vector Borne Zoonotic Dis* 4:198–203
8. Andreassen A, Jore S, Cuber P, Dudman S, Tengs T, Isaksen K, Hygen HO, Viljugrein H, Ånestad G, Ottesen P, Vainio K (2012) Prevalence of tick borne encephalitis virus in tick nymphs in relation to climatic factors on the southern coast of Norway. *Parasite Vector* 5:177
9. Morshed MG, Lee MK, Man S, Fernando K, Wong Q, Hojgaard A, Tang P, Mak S, Henry B, Patrick DM (2015) Surveillance for *Borrelia burgdorferi* in Ixodes Ticks and Small Rodents in British Columbia. *Vector Borne Zoonotic Dis* 15:701–705
10. Trevisan G, Jablonski E, Angulo J, Lopez WA, Linhares DCL (2019) Use of processing fluid samples for longitudinal monitoring of PRRS virus in herds undergoing virus elimination. *Porc Health Manag* 5:18
11. Phatarfod RM, Sudbury A (1994) The Use of a Square Array Scheme in Blood Testing. *Stat Med* 13:2337–2343
12. Cowling DW, Gardner IA, Johnson WO (1999) Comparison of methods for estimation of individual-level prevalence based on pooled samples. *Prev Vet Med* 39:211–225
13. Messam, LMcv, Branscum AJ, Collins MT, Gardner IA (2008) Frequentist and Bayesian approaches to prevalence estimation using examples from John's disease. *Anim Health Res Rev* 9. 1–23
14. Wolf R, Barkema HW, Buck JDe, Orsel K (2015): Sampling location, herd size, and season influence *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* environmental culture results. *J Dairy Sci* 98:275–287
15. Lopez WA, Gauger P (2019) Modeling the dilution effect of PRRSV RNA in processing fluid field samples on the probability of virus detection by qRT-PCR. 50<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association of Swine Veterinarians
16. Radwan GS, Brock KV, Hogan JS, Smith KI (1995) Development of a PCR amplification assay as a screening test using bulk milk samples for identifying dairy herds infected with bovine viral diarrhoea virus. *Vet Microbiol* 44:77–92
17. Prickett JR, Zimmerman JJ (2010) The development of oral fluid-based diagnostics and application in veterinary medicine. *Anim Health Res Rev* 11:207–216
18. Kittawornrat A, Prickett J, Wang C, Olsen C, Irwin C, Panyasing Y, Ballagi A, Rice A, Main R, Johnson J, Rademacher C, Hoogland M, Rowland R, Zimmerman J (2012) Detection of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antibodies in oral fluid specimens using a commercial PRRSV serum antibody enzyme-linked immunosorbent assay. *J Vet Diagn Invest* 24:262–269
19. Decorte I, Breedam WV, Stede Y, Nauwynck HJ, Regge N, Cay AB (2014) Detection of total and PRRSV-specific antibodies in oral fluids collected with different rope types from PRRSV-vaccinated and experimentally infected pigs. *BMC Vet Res* 10:134
20. Prickett JR, Simer R, Hennings JC, Yoon KJ, Evans RB, Zimmermann J (2008) Detection of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in porcine oral fluid samples: a longitudinal study under experimental conditions. *J Vet Diagn Invest* 20:156–163
21. Prickett JR, Kim W, Simer R, Yoon KJ, Zimmermann J (2008) Oral-fluid samples for surveillance of commercial growing pigs for porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 infections. *J Swine Health Prod* 16:86–91
22. Lopez WA, Angulo J, Zimmermann J, Linhares DCL (2018) Porcine reproductive and respiratory syndrome monitoring in breeding herds using processing fluids. *J Swine Health Prod* 26:146–150
23. Anon.: A Bizottság 2075/2005/EK rendelete (2005. december 5.) a húspan előforduló trichinella hatósági vizsgálatára vonatkozó különös szabályok megállapításáról
24. Szabára Á, Lang Zs, Földi J, Hornyák Á, Abonyi T, Ózsvári L (2016) Prevalence of bovine viral diarrhoea virus in cattle farms in Hungary. *Acta Vet Hung* 64:263–272
25. Smith RL, Sanderson MW, Walz PH, Givens MD (2008) Sensitivity of polymerase chain reaction for detection of bovine viral diarrhoea virus in pooled serum samples and use of pooled polymerase chain reaction to determine prevalence of bovine viral diarrhoea virus in auction market cattle. *J Vet Diagn Invest* 20:75–88
26. Booth R, Brownlie J (2016) Comparison of bulk milk antibody and youngstock serology screens for determining herd status for Bovine Viral Diarrhoea Virus. *BMC Vet Res* 12:177
27. Munoz-Zanzi CA, Johnson WO, Thurmond MC, Hietala SK (2000) Pooled-sample testing as a herd-screening tool for detection of bovine viral diarrhoea virus persistently infected cattle. *J Vet Diagn Invest* 12:195–203
28. Weinstock D, Bhudevai B, Castro AE (2001) Single-Tube Single-Enzyme Reverse Transcriptase PCR Assay for Detection of Bovine Viral Diarrhoea Virus in Pooled Bovine Serum. *J Clin Microbiol* 39:343–346
29. Kennedy JA, Mortimer RG, Powers B (2006) Reverse transcription-polymerase chain reaction on pooled samples to detect bovine viral diarrhoea virus by using fresh ear-notch-sample supernatants. *J Vet Diagn Invest* 18:89–93
30. Yan L, Zhang S, Pace L, Wilson F, Wan H, Zhang M (2011) Combination of reverse transcription real-time polymerase chain reaction and antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of animals persistently infected with Bovine viral diarrhoea virus. *J Vet Diagn Invest* 23:16–25
31. Bognár B, Farkas K, Fornoyos K, Zrúfkó R, Walter B, Johannes LK, Jurkovich V (2019) A szarvasmarhák paratuberculosisa és az ember Crohn-betegsége közötti lehetséges kapcsolat. *Magy Állatorvosok Lapja* 141:659–675
32. Fodor I, Matyovszky B, Biczó A, Ózsvári L (2014) A paratuberkulózis kártétele és az ellene való védekezés egy hazai nagyüzemi holstein-fríz tehenészetben. *Magy Állatorvosok Lapja* 136:213–221
33. Vass-Bognár B., Jánosi Sz., W. Baumgartner, J. L. Khol, Jurkovich V (2020) A paratuberculosis diagnosztizálásának lehetőségei szarvasmarhában. *Magy Állatorvosok Lapja* 142:579–592
34. McKenna SL, Keefe GP, Barkema HW, Sockett DC (2005) Evaluation of three ELISAs for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* using tissue and fecal culture as comparison standards. *Vet Microbiol* 110:105–111
35. Ly A, Dhand NK, Sergeant ESG, Marsh I, Plain KM (2019) Determining an optimal pool size for testing beef herds for John's disease in Australia. *PLoS ONE* 14:e0225524 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225524>
36. Berghaus RD, Farver TB, Anderson RJ, Jaravata CC, Gardner LA (2006) Environmental Sampling for Detection of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* on Large California Dairies. *J Dairy Sci* 89:963–970
37. Carrique-Mas JJ, Davies RH (2008) Sampling and bacteriological detection of *Salmonella* in poultry and poultry premises: a review. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties* 27:665–677

38. Aranda C, Sánchez-Seco MP, Cáceres F, Escosa R, Gálvez JC, Masià M, Marqués E, Ruíz S, Alba A, Busquets N, Vázquez A, Castellà J, Tenorio A (2009) Detection and Monitoring of Mosquito Flaviviruses in Spain between 2001 and 2005. *Vector Borne Zoonot Dis* 9:171–178
39. Gu W, Lampman R, Novak RJ (2004) Assessment of arbovirus vector infection rates using variable size pooling. *Med Vet Entomol* 18:200–204
40. Durnez L, Eddyani M, Mgode GF, Katakweba A, Katholi CR, Machang' RR, Kazwala RR, Portaels F, Leirs H (2008) First detection of mycobacteria in African rodents and insectivores, using stratified pool screening. *Appl Environ Microbiol* 74:768–773
41. Lancaster VA, Keller-McNulty S (1997) A Review of Composite Sampling Methods. *J Am Stat Assoc* 93:1216–1230
42. R Core Team (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria URL <https://www.R-project.org/>
43. Clopper CJ, Pearson ES (1934) The use of confidence or fiducial limits illustrated in the case of the binomial. *Biometrika* 26:404–413
44. Blaker H (2000) Confidence curves and improved exact confidence intervals for discrete distributions. *Canad J Stat* 28:783–798
45. Sergeant ESG (2018). EpiTools Epidemiological Calculators. Ausvet. Available at: <http://epitools.ausvet.com.au> Accessed: 2 Mar 2020
46. Stevenson M, Nunes T, Sanchez J, Thornton R, Reiczigel J, Robinson-Cox J, Sebastiani P (2013) EpiR: An R package for the analysis of epidemiological data. <https://CRAN.R-project.org/package=epiR>
47. Bilder CR, Zhang B, Schaarschmidt F, Tebbs JM (2010) binGroup: a Package for Group Testing. *The R Journal* 2:56–60

Közlésre érke.: 2020. máj. 18.

## Állathigiénia, állattenyésztés, genetika, takarmányozástan

A szekció online ülését 2021. január 27-én kora délután tartotta KÖNYVES LÁSZLÓ egyetemi docens vezetésével. Az idei évben a szerzők kilenc előadást jelentettek be.

HEJEL PÉTER, SÁFÁR JÁNOS, KISS LÁSZLÓ, BOGNÁR BARBARA, JURKOVICH VIKTOR, BRYDL ENDRE és KÖNYVES LÁSZLÓ a választás körüli időszak tartástechnológiájának hatását vizsgálta holstein-fríz üsző borjak redox-státusára üzemi körülmények között. Mivel a választás megkerülhetetlen technológiai elem, a negatív hatások, amelyek hajlamosíthatnak az oxidatív stressz kialakulására, csökkentése helyes technológiával és magas szintű higiénéjével lehetséges. A kísérleti csoport egyedeit ( $n = 12$ ) a modern kor igényeihez igazodó műanyag kiscsoportos borjúházban és fedett kifutóban, míg a kontroll állatokat ( $n=16$ ) egy hagyományos, téglapítésű, kifutós istállóban, azonos alapterületen (1,6 nm/állat) helyezték el. A klinikai vizsgálatokat és a környezethigiéniai adatok gyűjtését vér-, orrtampon- és bélsár-mintavételekkel egészítették ki. A dROM (reaktív oxigén származékok), a PAT (plazma antioxidáns kapacitás) és az OSI (oxidatív stressz index) eredmények kevésbé érzékenyen jelezték a környezeti tényezők különbségét, mivel csupán a harmadik mintavételnél találtak lényeges különbséget a dROM és OSI értékekben. Ennek magyarázata lehet, hogy ezek az indikátorok elsősorban a lipid-peroxidációt jelzik és ebben az intenzív növekedéssel jellemezhető időszakban inkább a fehérje peroxidációs folyamatok dominálnak, ezért a megfelelőbb az ezt kimutató indikátorok (pl. AOPP, *advanced oxidation protein products*) használata lehet. A kutatást az EFOP-3.6.1-16-2016-00024 pályázat támogatta.

IVANYOS DOROTTYA, FOGARASSY CSABA, SZÁDVÁRI JÓZSEF és ÓZSVÁRI LÁSZLÓ egy szenzoros állatmegfigyelő rendszer (AfiMilk™) bevezetésének gazdaságosságot befolyásoló hatásáról számolt be. Napjainkban az intenzív tejtermelő gazdaságokban az információs technológia alkalmazása kulcsszerepet tölthet be a megfelelő napi munkamenet támogatásában és az állatjólét ellenőrzésében. A szenzoros állatmegfigyelő rendszer alkalmazását követően a klinikai tüdőgyulladások okozta veszteségek csökkentek, a fejési átlag 2,4 kg-mal nőtt és ezzel az éves nettó tejárbevétel is. A szomatikus sejttség közel 65 000 sejt/ml-rel, a két ellés közötti idő pedig 13,6 nappal csökkent. A gazdasági elemzések alapján a



tehenészet éves jövedelme több, mint 44 000 forinttal emelkedett tehénenként.

A kutatást az Európai Mezőgazdasági Vidékfejlesztési Alap, VP3 program, Cirkuláris modellek precíziós rendszer-támogatása tejtermelő gazdaságokban (1906020653) pályázat támogatta.

SÁFÁR JÁNOS, HEJEL PÉTER, KISS LÁSZLÓ és KÖNYVES LÁSZLÓ holstein-fríz borjak egyes légzőszervi vírusokkal szembeni maternalis védelemének időbeli változását követte nyomon. A vizsgált üszőborjak ( $n = 28$ ) jó minőségű főcstejet fogyasztottak, a Brix-érték meghaladta az ajánlott 22%-ot és a szérumban az elvárt 8,4%-ot. PI-3-vírussal szemben a borjak háromnegyede a választás és átcsoportosítás idején még szeropozitív volt. BRSV-vel szembeni ellenanyagot már az első mintavételkor sem tudtak minden egyednél kimutatni, a választás idejére pedig többségük szeronegatívvá vált. Az előforduló légzőszervi problémák hátterében baktériumokat azonosítottak. Az idősebb állatokkal egy légtérbe történő átcsoportosítás (pl. hagyományos borjúnevelő) különös kockázatot jelent a maternalis immunitás kimutatható gyengülése miatt. Ezért a menedzsmentbeli beavatkozások mellett szükség lehet a specifikus védekezésre, vakcinázásra.

A kutatást az EFOP-3.6.2-16-20017-00012 pályázat támogatta.

VASS-BOGNÁR BARBARA és JURKOVICH VIKTOR eredményeket közölt a szarvasmarhák hasmenéses kórképeiben, kiemelten a klinikai paratuberkulózisban előforduló hematológiai változásokról, amelyek a költséges (bél-sár RT-PCR), ill. időigényes (bél-sártenyésztés) vizsgálatokat kiválthatják. A *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* baktérium okozta kórkép a hazai tejelő szarvasmarha-állományok egyik legnagyobb gazdasági kárt okozó fertőző betegsége. A vizsgált két tehenészet jelentősen fertőzött (6–8% pozitív) volt, ill. hasmenéses kórképek is gyakran jelentkeztek. Az egyértelmű diagnózis felállításában nem adott megbízható eredményt a hematológiai vizsgálat. A paratuberkulózis elkülönítésére a neutrophil granulocyták nagy száma lehet alkalmas, azonban statisztikai összefüggések megállapításához a mintaszámot ( $n = 10$ ) emelni kell.

A kutatást a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottság (NKB) pályázat támogatta.

TÖRÖK DÓRA, SOMOSKŐI BENCE, MÜLLER LINDA és CSEH SÁNDOR a kutyasperma eltarthatóságát vizsgálta különböző hígítókban. Kutyák mesterséges termékenyítésénél friss, friss és hűtött, valamint fagyasztott spermát használnak. Mélyhűtött sperma esetében a fagyasztott, majd felolvasztott spermiumok rövid élettartamára való tekintettel javasolt az ondót közvetlenül a méhbe fecskendezni. Ez

meglehetősen bonyolult eljárás, ezért a hüvelyi termékenyítést használják gyakrabban. Erre a friss és hűtött sperma is alkalmas. A minta 5 °C-ra történő lehűtése több (3–4) napos tárolást tesz lehetővé, ami alatt nagyobb távolságra is szállítható. Öt hígító hatékonyságát hasonlították össze, amelyek közül a caniPRo® bizonyult a leghatékonyabbnak, hiszen még a 7. napon is a spermiumok 70–80%-a mozgott a mintában. Ugyanakkor a 8. napra egy jelentősebb, 20%-os csökkenést tapasztaltak.

A kutatást a VEKOP-2.3.2-16-2016-00012 és az ÚNKP-20-3-I-ÁTE-3 pályázat támogatta.

TÖRÖK DÓRA, SOMOSKŐI BENCE, TAMÁS ANDREA, FÜLÖP BALÁZS DÁNIEL, REGLŐDI DÓRA és CSEH SÁNDOR az exogén PACAP (hipofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptid) hatását tanulmányozta a fagyasztott embriók fejlődésére és beágyazódási képességére. A PACAP egyik legfontosabb élettani hatása, hogy segíti a sejt túlélését. A legfőbb előfordulási helyei a petefészek, a tüszőfolyadék, a méh, a méhlepény, az emlőszövet és a hereszövet. Ezek a felismerések felhívták a figyelmet arra, hogy központi szerepet játszhat a szaporodásbiológiai folyamatokban. Nagyobb fejlődési arányt és a HB-EGF (beágyazódásra ható növekedési faktor) gén erősebb kifejeződését tapasztalták az exogén PACAP-pal kezelt egérembriók esetében. Összességében a fagyasztás során alkalmazott nagyobb koncentrációjú (72  $\mu$ l) PACAP-kezelés csökkentette a folyamattal járó stresszt elősegítve az embriók túlélését, fejlődését és a beágyazódás esélyét a felolvasztás után.

A kutatást az OTKA 115874(NKFI Alap) pályázat támogatta.

BORDÁS LILLA, TÖRÖK DÓRA, SOMOSKŐI BENCE és CSEH SÁNDOR egér preantrális tüszők *in vitro* tenyésztéséről és fagyasztásáról számolt be. Az asszisztált reprodukción belül az utóbbi évtizedben egyre nagyobb figyelmet kap a preantrális tüszők felhasználása, mint a megtermékenyíthető petesejtek kinyerésének egyik alternatívája. Az állattenyésztésben olyan fajokban lehet jelentősége a módszernek, amelyekben a szuperovulációs technikák kevésbé működnek, a kinyerhető petesejtek mennyisége kevés. A humán gyógyászatban pedig a kemoterápiás kezelést megelőző fertilitás megőrzésben nyújthat segítséget. Sikeresen kialakítottak egy protokollt a preantrális tüszők (80–120  $\mu$ m átmérő) tenyésztésére. Miután a tüszők fejlődése elérte az antrális stádiumot, ovulációt indukáltak. A preantrális tüszőket fagyasztás előtt speciális tápfolyadékokban inkubálták. A retinol-kiegészítést tartalmazó tápfolyadék szignifikánsan jobb túlélési arányt eredményezett, azonban a megbízható minőségbiárlathoz még szükséges a felolvasztott tüszők *in vitro* tenyésztése.

A kutatást az NKFIH TÉT\_15\_IN-1-2016-0082 pályázat támogatta.

ZORKÓCZY ORSOLYA KRISZTINA, LEHOTZKY PÁL és ZENKE PETRA Magyarországon előforduló trófeás kérődzőkre használható törvényszéki célú genetikai markerkészlet fejlesztését ismertette. Ezen vadfajok vadászata során többször fordulnak elő visszaélések, amelyek felderítése megkérdőjelezhető eredménnyel zajlik. Ezek mellett az állomány beltenyésztési fokáról és ezáltal a káros mutációk felszaporodásának kitettségéről is fontos lenne információval rendelkezni állományjavítás céljából. Az eddig használt genetikai módszerek, bár jó alapot nyújtanak, nem felelnek meg a törvényszéki alkalmazásuk kritériumainak. Eddig 18 korábbi, irodalomból vett és 13 saját tervezésű mikroszatellita marker tesztelését kezdték meg a négy kitűzött fajra (őz, gím- és dámszarvas és muflon), ezzel elindítva a vizsgált populációk genetikai adatbázisának felépítését. A szövetminták ( $n = 80$ ) feldolgozásával megkezdődött a populációban fellelhető, adott lokuszhoz tartozó polimorfizmus szintjének felmérése is.

A kutatást a KEDH 106310 (kötelezettségvállalás száma: 1300000120) pályázat támogatta.

FEHÉR ORSOLYA, TOLNAI CSENGE, ANDRÁSOVSZKY EMESE és KORBÁCSKA-KUTASI ORSOLYA egy magyarországi ménesben alkalmazott takarmányozás kiértékelését végezte el a növekedés során kialakuló ortopédiai betegségek (*developmental orthopedic disease*, DOD) hajlamosító tényezőinek szempontjából. Napjainkban a DOD megelőzésében elsősorban a vemhes kanca, valamint a csikók felnevelése során alkalmazott takarmányozásnak van jelentősége. Megállapították a ménesben előforduló takarmányozási hibákat, amelyek a következők: az utolsó trimeszterben lévő kancák túlzott energiafelvétele, a laktáló kancák elégtelen energia-, fehérje-, kalcium-, és foszforellátottsága, valamint a csikók takarmányának hiányos és aránytalan energia-, fehérje- és ásványianyag-tartalma. A választást követően a DOD előfordulása a vizsgált csikók ( $n = 37$ ) 75%-ában jelentkezett az ujjízület hajlító inainak zsugorodása (bakpata) formájában. Az optimális takarmányozási programra tett javaslatukat alkalmazva a DOD előfordulási aránya 10%-ra csökkent.

A kutatást az ÚNKP-19-3-I-ÁTE-4 (ITM) pályázat támogatta.

**Dr. Bersényi András**



**Hirdetési felületek már 60 000 Ft-tól**

Többszöri megjelenés esetén további engedményeket biztosítunk

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

Most kedvező áron tesszük közzé hirdetését!

Felület	Méret (mm)	Nettó ár (Ft)					
1/1	200 X 285	130 000					
1/2	200 X 142	110 000					
1/3	200 X 95	75 000					
1/4	200 X 70	60 000					
B2, B3, B4	200 X 285	155 000					
PR	-	100 000					

1/1 tükör méret    1/1 kifutó tükör    1/2 méret    1/3 méret    1/4 méret



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

# PREVEXXION®



## AZ ÚJGENERÁCIÓS MAREK-VAKCINA

INNOVÁCIÓ  
VÉDELEM  
ÉRTÉK



## A JÖVŐ ELKEZDŐDÖTT

PREVEXXION RN koncentrárum és oldószere szuszpenziós injekcióhoz; **Hatóanyag:** Sejthez kötött élő, rekombináns Marek-betegség (MD) vírus, 1-es szerotípus, RN1250 törzs: 2,9-3,9 log<sub>10</sub> PFU\* -plakk-képző egység/0,2 ml; **Javallatok:** Naposcsibék aktív immunizálására az MD vírus (beleértve a nagyon virulens MD vírust) által okozott mortalitás és klinikai tünetek megelőzése, valamint a léziók csökkentése céljából. **Ellenjavallatok:** nincs. **Adagolás:** Egyszeri 0,2 ml-es injekció minden csibének egy napos életkorban. S.C. **É.e.ü.v.i.:** Nulla nap. **Tárolás:** Vakcinakonzentrárum: Folyékony nitrogénben lefagyaszta tárolandó és szállítandó. Oldószere: Legfeljebb 30 °C-on tárolandó. Nem fagyasztható. Fénytől védve tartandó. **Engedélyes:** Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, 55216 , Ingelheim/Rhein, Németország. **Kérjen állatorvosától vagy gyógyszerésztől további felvilágosítást! Alkalmazás előtt, illetve további információért olvassa el a használati utasítást, vagy kérdezze a Boehringer Ingelheim képviselőt: Boehringer Ingelheim RCV GmbH & CoKG Magyarországi fióktelep, 1095 Budapest, Lechner Ö. Faszor 10., ah.hu@boehringer-ingelheim.com. Tk.sz.: EU/2/20/254/001-002. Vényköteles.**

PREVEXXION RN+HVT+IBD koncentrárum és oldószere szuszpenziós injekcióhoz; **Hatóanyag:** Sejthez kötött élő, rekombináns Marek-betegség (MD) vírus, 1-es szerotípus, RN1250 törzs: 2,9-3,9 log<sub>10</sub> PFU\*, a fertőző bursitis (IBD) vírus VP2 fehérjét expresszáló, sejthez kötött élő, rekombináns pulyka herpeszvírus, vHVT013-69 törzs: 3,6-4,4 log<sub>10</sub> PFU\*, \* plakk-képző egység/0,2 ml. **Javallatok:** Naposcsibék aktív immunizálására az MD vírus (beleértve a nagyon virulens MD vírust) által okozott mortalitás és klinikai tünetek megelőzése, valamint a léziók csökkentése céljából. **Ellenjavallatok:** nincs. **Adagolás:** Egyszeri 0,2 ml-es injekció minden csibének egy napos életkorban. S.C. **É.e.ü.v.i.:** Nulla nap. **Tárolás:** Vakcinakonzentrárum: Folyékony nitrogénben lefagyaszta tárolandó és szállítandó. Oldószere: Legfeljebb 30 °C-on tárolandó. Nem fagyasztható. Fénytől védve tartandó. **Engedélyes:** Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, 55216 , Ingelheim/Rhein, Németország. **Kérjen állatorvosától vagy gyógyszerésztől további felvilágosítást! Alkalmazás előtt, illetve további információért olvassa el a használati utasítást, vagy kérdezze a Boehringer Ingelheim képviselőt: Boehringer Ingelheim RCV GmbH & CoKG Magyarországi fióktelep, 1095 Budapest, Lechner Ö. Faszor 10., ah.hu@boehringer-ingelheim.com. Tk.sz.: EU/2/20/255/001-002. Vényköteles.**

Kérjük, hogy további információkért lépjen kapcsolatba  
Boehringer Ingelheim Animal Health képviselőjével!

MEGELŐZÉS DOLGA

A baromfi-egészségügy jövőjét alakítva



Boehringer  
Ingelheim