

MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA

Hungarian Veterinary Journal
Vol. 144. No. 7. – Budapest, July 2022.
Established by Prof. B. Nádaskay, 1878

*Kutya szívének 3D rekonstrukciója caudalis nézetből,
átlátszó szívizomattal*

LÓ

Angol telivér versenylovak csüdizületének kórképei 1. rész:
A biomechanika és a csontszöveti adaptáció szerepe a sérülések kialakulásában

ANATÓMIA

A kutyaszív anatómiájának vizsgálata
multidetector CT alkalmazásával

LABORÁLLAT

A törpesertés, mint laboratóriumi állat

PARAZITOLÓGIA

Cryptosporidium fajok molekuláris jellemzése és előfordulása szlovákiai romatelepekről származó és házi tenyésztésű kutyákban

BAKTERIOLÓGIA

MEGA-plate – Új evolúciós és koszelektív mikrobiológiai vizsgálati módszer

IN MEMORIAM

Dr. Horváth László (1923–2022)

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK

Parazitológia, Állattan, Halkórtan

Élelmiszer-higiéncia – Dr. Takács János
Emlékezés Állategészségügyi Igazgatás



VIII. ORSZÁGOS ÁLLATORVOS-AGRÁR SPORTNAP ÉS CSALÁDI HÉTVÉGE



2022. szeptember 17. - Tata, Olimpiai Edzőtábor



07.30-09.00 Regisztráció

09.00 Ünnepélyes megnyitó

10.00-18.00 Sportversenyek

A sportnap részletes programjáról
a szervezés előre haladtával később olvashatnak.

Regisztráció: info@oaas.hu

Fővédnök

Dr. Nagy István agrárminiszter és
Dr. Sótonyi Péter rektor, Állatorvostudományi Egyetem

Védnökök

Dr. Bognár Lajos
országos főállatorvos
Dr. Gönczi Gábor
elnök, Magyar Állatorvosi Kamara
Dr. Magyar Zoltán
a Nemzet Sportolója,
kétszeres olimpiai bajnok tornász, állatorvos
Dr. Gyuricza Csaba
rektor, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Gyórfy Balázs
országos elnök, Nemzeti Agrárgazdasági Kamara
Czene Attila
olimpiai bajnok úszó, Magyar Szabadidősport
Szövetség elnöke
Michl József
Tata város polgármestere
A rendezvény nagykövete
Dr. Wladár Sándor olimpiai bajnok úszó, a
Magyar Úszószövetség Elnöke, állatorvos



Asztalitenisz



Fogathajtás



Futás



Kispályás
Labdarúgás



Sárkányhajó



Streetball



Tenisz



Parkróplabda



SUP

www.OAAS.hu

LÓ / EQUINE

- 382.** Boros K., Nagy A.: Angol telivér versenylovak csüdízületének kórképei 1. rész: A biomechanika és a csontszöveti adaptáció szerepe a sérülések kialakulásában
Irodalmi összefoglaló
K. Boros, A. Nagy: Diseases of the fetlock joint in Thoroughbred racehorses 1. part: The role of biomechanics and bone adaptation in the development of injuries
Literature review

ANATÓMIA / ANATOMY

- 397.** Alföldi R. A., Reinitz L. Z., Garamvölgyi R., Kőrösi D., Petneházy Ö.: A kutyaszív anatómiájának vizsgálata multidetector CT alkalmazásával
R. A. Alföldi, L. Z. Reinitz, R. Garamvölgyi, D. Kőrösi, Ö. Petneházy: Multidetector CT-based comparative heart anatomy of dogs

LABORÁLLAT / LABORATORY ANIMALS

- 413.** Kiss A., Bersényi A., Korsós G., Wagenhoffer Zs., Fodor K.: A törpesertés, mint laboratóriumi állat
Irodalmi összefoglaló
A. Kiss, A. Bersényi, G. Korsós, Zs. Wagenhoffer, K. Fodor: Minipig as laboratory animal
Literature review

PARAZITOLÓGIA / PARASITOLOGY

- 423.** L. Pleva, M. Sučík, A. Valenčáková, B. Hurná, K. Beňová, F. Novotný, I. Valocký: *Cryptosporidium* fajok molekuláris jellemzése és előfordulása szlovákiai romatelepekről származó és házi tenyésztésű kutyákban
L. Pleva, M. Sučík, A. Valenčáková, B. Hurná, K. Beňová, F. Novotný, I. Valocký: Occurrence and molecular characterization of *Cryptosporidium* species in dogs from Roma settlements and domestic breeding in Slovak Republic

BAKTERIOLÓGIA / BACTERIOLOGY

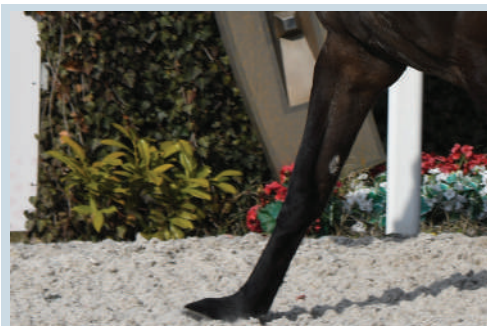
- 429.** Kerek Á., Török B., Jerzsele Á.: MEGA-plate – Új evolúciós és koselektív mikrobiológiai vizsgálati módszer
Á. Kerek, B. Török, Á. Jerzsele: MEGA-plate – New evolutionary and coselection microbiological method

IN MEMORIAM

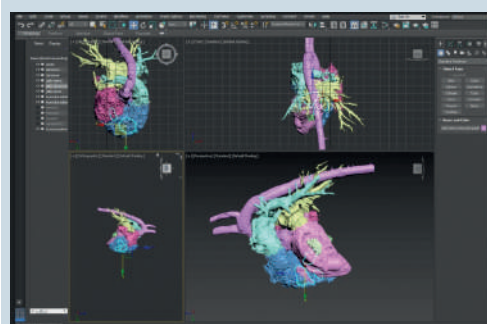
- 410.** Dr. Horváth László (1923–2022)

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK

- 440.** Parazitológia, Állattan, Halkórtan
444. Élelmiszer-higiéncia – Dr. Takács János Emlékezés Állategészségügyi Igazgatás



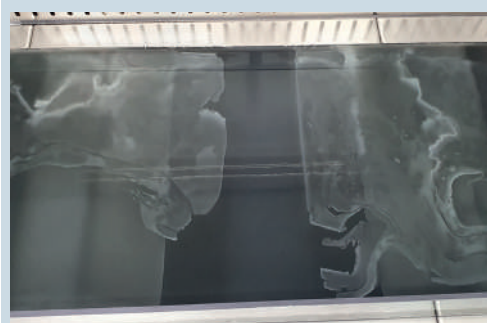
390. Csüdízületi hyperextensio lóban



403. Kutya szívének 3D modellezése



415. Göttingeni törpesertés



438. MEGA-plate *E. coli* tenyésztéssel

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>



Gyógyszerbeadás birkának

„A' legtsalhatatlanabb orvosság a' birkák mindenféle nyavalyájk ellen az, ha Birkát tsak azok a' Gazdák tenyésztetnek, a' kiknek magas, szellős, és ösztövért fűvet termő Legelőik vagynak. Ilyen helyeken híre sints a' Métélynek, Kosznak, és Himlőnek.” – összegzi NAGYVÁTHY JÁNOS azt a népi felfogást, amely még a huszadik században is tartotta magát. Hozzátette, hogy a „birkásnak” tanultabb embernek kell lennie, elsősorban azért, hogy biztosítsa, hogy a birkák „javított karban maradjanak”. „Előző-orvosságnak” azt javasolja, hogy álló tóból és mocsárból se itassanak, olyan réteken ne legeltesenek, hol vízi lapú terem, mert ezeket nemcsak a birkák, hanem azon „nadályok” is szeretik, amelyek a „Májiban elhatalmaznak”. Gyógyításra a fokhagyma rendszeres adását javasolta.

A 20. század első felében VAJKAI AURÉL kutatta a népi állatorvoslást. A juhok kezelése akkoriban is elsősorban a juhász, esetleg a paraszt állatorvosok feladata volt, ami nem csoda, hiszen képzett állatorvos csak 50 kilométerre élt. Őt jobbra csak hivatalos igazolásokért keresték fel. A VAJKAI által megismert gyógyítók közül volt, amelyik hivatkozott MONOSTORI Állatgyógyászat című könyvére, de többségük csak a hagyományokra támaszkodott. A mételyes állatnak viszont „sárga distolt” adtak.

1954. szeptemberében, a két évvel korábban elhunyt MAREK JÓZSEF emlékére rendezett ülés egyik fő témája a juhok parazitás bántalmi voltak. A fertőző betegségeket addigra sikerült nagy mértékben visszaszorítani, így az élősködők okozták a legnagyobb károkat. Mócsy JÁNOS bevezetőjében megállapította: „A juhok a legtöbb gazdaságban nemcsak a takarmányozás, az elhelyezés és a gondozás, felügyelet szempontjából mostohagyerekek, hanem – sajnos – állatorvosi szempontból is.” Mócsy, a megelőzés fontosságát hangsúlyozva, a mételykór és a kergekór mellet a tüdő- és bél-gyomorférgességet említi, gyakorlati tanácsokat adva ezek felszámolásához. Ehhez járult hozzá a következő évben MOLNÁR ISTVÁN V. éves hallgató újjítása, a gyógyszeradagoló pisztoly (drench) juhok részére, ami nagy mértékben felgyorsította és megkönnyítette a gyógyszerbeadást. Az újítást az Állami Gazdaságok Főigazgatósága is felkarolta.

Képünk pontosan harminc évvel később, 1985. júliusában készült egy kővágóórsi szakmai gyakorlat alkalmával, és a drench használatát mutatja. Ugyanebben az évben a parazitológiai tanszéken KASSAI TIBOR és FOK ÉVA vizsgálatot végzett az albendazol szuszpenzió vagy granulátum formában történő alkalmazásának hatékonyságáról a juh fasciolosis és -dicrocoeliosis ellen.

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

KIADÓ / PUBLISHER

Herman Ottó Intézet Nonprofit Kft.
 H-1223 Budapest, Park u. 2.
 Telefon: (36-1) 362-8130
 Telefax: (36-1) 362-8104
 Internet: www.agrarlapok.hu
 E-mail: info@agrarlapok.hu
 Felelős kiadó: Bozzay Péter ügyvezető

HIRDETÉSEK FELVÉTELE

Telefon: (36-70) 232-4231, (36-1) 362-8130
 Telefax: (36-1) 470-0410
 E-mail: 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

TERVEZŐSZERKESZTŐ

Markovics Réka

NYOMÁS

Zemplén-Vektor Kft.
 3900 Szerencs, Csalogány köz 5.

INDEX: 25531
 HU ISSN 0025-004X

LAPTULAJDONOS



KIADÓ



**Diseases of the fetlock joint
in Thoroughbred racehorses**

1. part: The role of
biomechanics and
bone adaptation in the
development of injuries

Literature review

K. Boros*
A. Nagy

Állatorvostudományi Egyetem,
Lógyógyászati Tanszék és Klinika
H-2225 Üllő, Dóra major

*e-mail: boros.koppány@univet.hu

Angol telivér versenylovak csüdízületének kórképei

1. rész: A biomechanika és a csontszöveti adaptáció szerepe a sérülések kialakulásában

Irodalmi összefoglaló

Boros Koppány*, Nagy Annamária

ÖSSZEFOGLALÁS

A csüdízület elváltozásai bármely diszciplína keretein belül előfordulhatnak, de leggyakrabban a nagy sebességen teljesítő versenylovakban kerülnek megállapításra. A régió kórképeinek kialakulásában fontos szerepe van a galopp közben fellépő nagymértékű csüdízületi hyperextensionnak, amely az ízületet szélsőséges erőhatásoknak teszi ki. A megnövekedett terheléshez a szervezet csontátépülés révén adaptálódik. Amennyiben az átépülés sebessége lépést tud tartani a terheléssel, a csontszövet ellenállóbbá válik. Ha a terhelés intenzitása az adaptáció ütemét meghaladja, az rendellenes átépüléshez vezet, amely hozzájárul versenylovak csüdízületi kórképeinek kialakulásához. A szerzők irodalmi adatok alapján bemutatják a biomechanika és a csontszöveti adaptáció szerepét az angol telivér versenylovak jellemző csüdízületi kórképeinek kialakulásában.

SUMMARY

Metacarpometatarsophalangeal joint injury is frequently encountered in Thoroughbred racehorses, and it can result in lameness, reduced performance, premature retirement, catastrophic failure, and even euthanasia. Extreme fetlock hyperextension and associated biomechanical trauma, experienced during high-speed exercise, are important factors in the pathogenesis of several metacarpometatarsophalangeal joint disorders.

Throughout life, bone continues to adapt to loading, a process most pronounced in the immature skeleton of young Thoroughbred racehorses. This adaptation primarily occurs via the process of bone remodeling, where the bone is restructured through the intimately orchestrated work of osteoclasts and osteoblasts in each bone remodeling unit. Remodeling, if in balance with loading, increases the resistance of bone to forces applied to it. However, if the load exceeds the remodeling capacity of bone, abnormal, non-adaptive remodeling occurs. Non-adaptive remodeling can lead to bone sclerosis, necrosis, formation of microcracks and/or thinning of the articular cartilage, which result in characteristic metacarpometatarsophalangeal joint injuries in racehorses. Indeed, high loads inherent to Thoroughbred training and racing practices have been associated with the development of fatigue injury involving the articular cartilage and underlying subchondral bone of the metacarpometatarsophalangeal joint. Understanding the biomechanical and pathophysiological background of metacarpometatarsophalangeal joint injuries will facilitate the interpretation of clinical and diagnostic imaging findings and may also contribute to the development of novel diagnostic methods for the early detection of potentially serious injuries. The authors provide a review of the literature on the possible role of biomechanics and osseous adaptation in the development of injuries involving the fetlock of Thoroughbred racehorses.

Napjainkban egyre nagyobb figyelem övezi a lóversenysportot állatjólleti szempontból. A galoppversenyeken bekövetkező, valamint a tréning során előforduló, sportkarrier végét jelentő, vagy akár katasztrofális kimenetelű sérülések állatjólleti és gazdasági vonzata is jelentős [1]. Ezen sérülések leggyakrabban a lábvég csontjainak [2], azon belül is a csüdízületet alkotó csontok törései és egyéb elváltozásai miatt következnek be [3, 4]. Ahhoz, hogy helyesen értékeljük a versenylovak csüdtájéki elváltozásait, és csökkenthessük a fatális balesetek, ill. a karrier végéhez vezető sérülések előfordulásának számát, meg kell értenünk, hogy milyen folyamatok eredményeképpen jönnek létre azok az elváltozások, amelyek csüdízületi sérülésre hajlamosítanak. Jelen közleményben a csüdízület anatómiájának és biomechanikájának ismertetése után a mozgás szervrendszerének, különösképpen a csüdízületet alkotó csontok tréninghez való adaptációjának, fáradásának folyamatát írjuk le, majd egy következő cikkben a csüdízület angol telivér versenylovakra legjellemzőbb kórképeit mutatjuk be.

A versenylovak sportkarrierjének végét jelentő sérülések leggyakrabban a csüdízületet alkotó csontok töréseiből adódnak

A LOVAK CSÜDÍZÜLETÉNEK ANATOMIÁJA

A lovak csüdízületét a lábközépcsont, a csüdcsont, és a proximalis szezámcsontok alkotják

A lovak csüdje egy összetett ízület. Négy csont ízesülése révén jön létre: lábközépcsont, csüdcsont, és proximalis szezámcsontok. A lábközépcsont *distalis epiphysise* két konvex *condylusból* áll, egy nagyobb *medialisból*, és egy kisebb *lateralisból*, amelyeket a *sagittalis taraj* választ el egymástól. A csüdcsont proximalis ízületi felszíne a lábközépcsont distalis ízfelszínének a lenyomata. A két konkáv *fovea articularis* a *sagittalis árok* választja el, amelybe a lábközépcsont *sagittalis taraja* illeszkedik. A proximalis szezámcsontok piramis alakú csontok, az egyenítőkészülék szalagjai közé ágyazódva. A *medialis szezámcsont* proximodistalis irányban kisebb kiterjedésű, *lateromedialis* irányban szélesebb, mint a *lateralis* [5]. Az ízületi toknak három kiöblösödése van, a *dorsalis recessus* proximalisan a lábközépcsont és a közös ujjnyújtó ín között helyezkedik el, a *palmaro/plantaroproximalis recessus* proximalisan a lábközépcsont és az egyenítőszalag között található, a *palmaro/plantarodistalis recessus* pedig a kereszt szezámcsonti szalagok és a csüdcsont között lelhető fel [6, 7] (1.ábra).

1. ÁBRA. Egy ló elülső csüdjének három dimenziós komputer tomográfiasz rekonstrukciója. A teherviselt ízület szögelésétől való kis mértékű eltérés az állóhelyzetű vizsgálat következménye.

FIGURE 1. Three dimensional computer tomographic reconstruction of the fetlock of an equine forelimb. The slight difference from weight bearing joint angle is the consequence of the standing examination.



Az ízület túlnyújtása ellen dolgozik a csüdegyenítő készülék, amelynek legmarkánsabb tagja az egyenítőszalag

A lábközépcsont szalagdudrairól eredő collateralis szalagok a medialis és lateralis oldalon is két részből állnak. A hosszabb, egyenes, felületes rész a csüdcsont proximalis ízületi felszínétől distalisán tapad. A rövidebb, ferde, mély komponens a csüdcsont palmaro/plantaromedialis/ palmaro/plantarolateralis része mellett a proximalis szezámcsontok abaxialis felszínére is ad ágat. Az ízület túlnyújtása ellen dolgoznak a végtagok passzív statikai rendszerének csüdrégió áthaladó szalagjai, amelyeket összefoglaló néven *csüdegyenítő készülék*nek nevezünk. Az egyenítőkészülék legmarkánsabb tagja az *egyenítőszalag*. Az egyenítőszalag rostjainak nagy része a lábközépcsont proximopalmaris/plantaris részéről ered. Ezt egészítik ki a lateralis és a medialis kapocscsontok axialis részéről, valamint a hármás és négyes carpalis csontok palmaris részéről eredő járulékos rostok az elülső végtagon [8, 9]. A hátulsó végtagon a járulékos rostok a négyes tarsalis csont plantaris részéről erednek. Az egyenítőszalag két szárral a szezámcsontok proximopalmaris/plantaris részén abaxialisán tapad [10]. Működését funkcionálisan az alsó szezámcsonti szalagok egészítik ki. Ezek közül a három páros szalag, a ferde, a rövid, valamint a kereszt szezámcsonti szalag, a csüdcsonton, míg az egyenes szezámcsonti szalag a pártacsonton tapad. A collateralis szezámcsonti szalagok adják a szezámcsontok összeköttetését a lábközépcsonttal, valamint a csüdcsonttal. A két szezámcsontot egymással a *ligamentum intersesamoideum* köti össze. A szezámcsontokról eredően az egyenítőszalag két, nyújtó funkcióval rendelkező szárat ad a közös ujjnyújtó izomba, amelyeket *tractus appositus*nak hívnak.

A CSÜDÍZÜLET BIOMECHANIKÁJA

A csüdízület szerepet játszik az elülső végtag stabilizációjában és lengéscsillapításában, lehetővé téve a nagy sebességű munkavégzést

A mozgás az izmok aktív összehúzódása, és az ínak, szalagok passzív feszülése által generált energia révén jön létre [11]. A lovak végtagjainak a felépítése a törzsfelföldés során a nagy sebesség eléréséhez alkalmazkodott. A lábvégeken az izmos elemeket erős ínak váltják fel, amelyek járulékos szalagjaik segítségével megerősítik a végtagok passzív funkcióját [12]. A csüdízület egyike azon fontos képleteknek, amelyek szerepet játszanak az elülső végtag stabilizációjában és lengéscsillapításában, és ezzel lehetővé teszik a lovak számára a nagy sebességű munkavégzést. A csüdízület mozgása legtöbbször hajlításra és nyújtásra korlátozódik, de emellett kieforduló oldalirányú mozgás és rotáció is előfordulhat [13]. Normál esetben a lábközépcsont sagittalis taraja és a csüdcsont sagittalis árka közötti kapcsolat megakadályozza az oldalirányú mozgást és a rotációt. Nagy sebességű mozgás esetén fokozódik a taraj és az árok közötti kölcsönhatás [14], amely felerősíti sagittalis síktól eltérő mozgások biomechanikai hatását a csüdízület alkotó képletekre [15]. A csüdízület nyújtottságának fokával nő a sagittalis síktól eltérő mozgásformák gyakorisága [15, 16]. A csüdízület submaximalis nyújtásakor, és a légyszöveti elemek feszülésekor a csüdízületet alkotó csontok egymáshoz nyomódnak, és a növekvő teherrel az ízületi felszín közötti érintkezés mértéke is növekszik [14, 15, 17].

A felületes ujjhajlító ín passzív működése is elengedhetetlen a csüdízület támogatásához

A csüdízület nyújtása a rá ható függőleges irányú erőhatások miatt a lábvég elemeinek passzív működése révén következik be [18]. Talajfogáskor és korai súlyviseléskor jelentkező terhelést a csüdrégió palmaris/plantaris ínai és szalagjai fogják fel a csüdízület hyperextensioján keresztül, az ujjhajlító izmok és az egyenítőszalag egyidejű megnyúlásával [15]. Hyperextensionak nevezzük amikor az ízületet alkotó csontok által formált szög az élettani mozgástartományhoz képest túlnyúlik (2. ábra). Az ínak és szalagok ezen passzív megnyúlása csökkenti az aktív izommunka szükségét [11]. Súlyátvétel közben az egyenítőkészülék megfeszül és rugóként viselkedik, amely elengedhetetlen a földről visszaható erők csillapításában, majd rugalmasan visszatérve eredeti állapotába a tárolt energia visszatáplálásával csökkenti a mozgás energia igényét [19]. Az egyenítőkészülék mellett a felületes ujjhajlító izom passzív

működése is elengedhetetlen a csüdízület támogatásához annak hyperextensioja során. A felületes ujjhajlító izom elsődleges szerepe nem a végtag aktív hajlítása, hanem súlyátvétel során passzív módon energia tárolása, amely később, a talajról történő elrugaszkodás során újrahasznosul [20].

2. ÁBRA. Csüdízületi hyperextensio
(DR. KOVÁCS GÁBOR felvétele)

FIGURE 2. Hyperextension of the fetlock joint
(Courtesy of DR. GÁBOR KOVÁCS)



Versenygalopp során a belső elülső láb az utolsó, ami elhagyja a talajt, ennek következtében a legsérülékenyebb

Angol telivér versenylovak jármódja a galopp, ahol a lépések sorrendje a következő: külső hátsó láb, belső hátsó láb, külső elülső láb, végül belső elülső láb. Versenygalopp során lebegés fázisa előtt a belső elülső láb az utolsó, ami elhagyja a talajt (3. ábra), és ezáltal nagy fokú terhelésnek van kitéve, ennek következtében a legsérülékenyebb végtag galopp közben [19]. Fontos, hogy a galopp során fellépő tipikus erőhatásokat elkülönítsük a vágta okozta terheléstől, amelynek során a külső elülső végtag az, ami a legnagyobb erőhatásnak van kitéve [21].

3. ÁBRA. Angol telivér versenyló versenygalopp közben, lebegés fázisa előtt
Egyedül a belső elülső végtag (nyíl) érinti a talajt. (DR. KOVÁCS GÁBOR felvétele)

FIGURE 3. Thoroughbred race-horse during high speed gallop prior to suspension
Only the leading forelimb (arrow) is in contact with the ground
(Courtesy of DR. GÁBOR KOVÁCS)



A versenygalopp szélsőséges erőhatásoknak teszi ki a mozgás szervrendszerét. A mellső végtagok ügetés közben egyenként 120%-át [22], vágta alatt 120–150%-át [21], galopp közben pedig 170%-át viselik a teljes test súlyának [23]. Ennek következtében súlyátvétel fázisában a csüdízületi hyperextensio extrém mértéket ölt [20]. Ebben a pozícióban a palmaris/plantar is ínak feszülése maximális, ami hozzájárul a lábközépcsont és a proximalis szezámcsontok közötti erőhatások megemelkedéséhez. Mindemellett a csüdcsont dorsoproximalis része érintkezik a lábközépcsont dorsodistalis részével. Ez az érintkezés utal arra, hogy ilyenkor az ízület nyújtottsága meghaladja az élettani mozgástartományt [24]. A csüdízületi hyperextensio elengedhetetlen a pata talajfogása következtében keletkező rezgések elfojtásához, azonban, ha eléri a 70°-os szöveget, akkor hozzájárulhat a csüdízület sérüléseinek kialakulásához [24].

CSONTSZÖVETI ADAPTÁCIÓ

ÉPÜLÉS ÉS ÁTÉPÜLÉS

A csont épülése (modelling) alatt a csont alak- és méretbeli változását értjük

A csont átépülése (remodelling) az elfáradt csontszövet, új csontszövettel való helyettesítésére irányul, ami lehetővé teszi a csont adaptációját

A csontváz növekedése során a végtagok csontjainak hosszanti irányba történő növekedése az enchondralis csontosodás mechanizmusával zajlik. A csont épülése ('modelling') alatt a csont alak- és méretbeli változását értjük. Az épülés folyamata fontos szerepet játszik a csontok formálásában és újraformálásában a periostealis és az endostealis csontképzés révén. A csont épülése során az osteoblastok és osteoclastok térben és időben egymástól függetlenül működnek [25]. A csont átépülése ('remodelling') egy ettől eltérő folyamat, amelynek során az osteoclastok által irányított csontfelszívódás és az osteoblastok által véghezvitt csontképződés folyamatosan, egymást kiegészítve megy végbe [26]. A csont átépülése az elfáradt csontszövet, új csontszövettel való helyettesítésére irányul, valamint ez a folyamat teszi lehetővé a csont adaptációját az állandóan változó terheléshez, Wolff törvénye szerint [27]. Az átépülés folyamatai szigorú sorrend szerint játszódnak le az osteoclastok és osteoblastok irányítása alatt, amelyeket a hozzájuk kapcsolódó véredényekkel együtt csontátépülési egységnek hívunk. Az átépülés során első lépésként aktiválódik az átépülési egység, ezt követi a reszorpciós fázis, amelynek során az osteoclastok lebontják a csontszövetet, majd apoptózison mennek keresztül. A reszorpciós fázist a visszaalakulás fázisa követi, amelynek során mesenchymalis őssejtek, az osteoblastok prekursorai jelennek meg az átépülés helyén, amelyek előbb osztódnak, majd pedig osteoblastokká differenciálódnak. Végezetül a formációs fázisban az osteoblastok szerves mátrixot termelnek, amely mineralizálódik [25]. Átlagosan négy hónap kell ahhoz, hogy egy egység elvégezzen egy teljes átépülési ciklust [28].

A CIKLIKUS TERHELÉS HATÁSA, ADAPTÍV ÉS NEM-ADAPTÍV ÁTÉPÜLÉS

A gyors galoppmunka nagymértékű, ciklikus erőhatásokat fejt ki a csontozatra

A gyors galoppmunka nagymértékű, ciklikus erőhatásokat fejt ki a csontozatra [29]. A corticalis és a subchondralis csont tréning hatására átépül. A tréning következtében létrejövő csontátépülés gyorsan végbemegy, és elengedhetetlen a csontszövet erőhatásokkal szembeni megfelelő ellenállóképességéhez. Az átépülés lehet adaptív vagy nem-adaptív. Az adaptív forma esetében a csont átépülése képes lépést tartani az edzés intenzitásával. Nem-adaptív átépülésre akkor kerül sor, ha a csont nagyszámú, nagy intenzitású terhelési cikluson megy keresztül. Ennek következtében a csontszövet osteoblast-sejtjei nem tudnak olyan ütemben és mértékben mátrixot (sejtközi állományt) termelni amely lehetővé tenné a megnőtt terheléshez való adaptációt, így a túlterhelés miatt sérülések alakulnak ki.

Hosszan tartó ciklikus terhelés következtében létrejövő nem-adaptív átépülés a csontszövet sclerosisához, necrosisához, mikorepedések kialakulásához [30] és/vagy az ízületi porc kopásához vezet [14]. Muir és mtsai (2008) histomorphometriás vizsgálatokkal megfigyelték, hogy tréningben lévő lovak *metacarpalis condylus*ának

Hosszan tartó ciklikus terhelés a csontszövet sclerosisához, necrosisához, mikrorepedések kialakulásához és/vagy az ízületi porc kopásához vezet

subchondralis csontja gyakran scleroticus, és kórszövettani metszeteken nem tipikusan festődő csontmátrixot tartalmaz, rendellenes morfológiájú osteocytákkal. A subchondralis csont ezen átépülése merevebbé teszi a csont szerkezetét [31]. Az ízületek subchondralis csontállományának sűrűsége és vastagsága változó az ízfelszín különböző részein, és függ a terhelés gyakoriságától, minőségétől, a fizikai aktivitás szintjétől, és a ló végtagjának konformációjától is [32]. Valószínűsíthető, hogy egyes konformációs variánsok esetén nagy mértékű erőhatások érik a csontok bizonyos pontjait [27]. Jelenleg nem áll rendelkezésünkre elegendő információ ahhoz, hogy összefüggéseket állapítsunk meg bizonyos konformációk és stressz eredetű csontsérülések között.

A scleroticus *metacarpalis condylus* és a sagittalis taraj trabecularis csontállománya közötti strukturális különbség hozzájárul a nyíróerők növekedéséhez, amelynek következtében mikrosérülések keletkeznek [33]. A mikrosérülések keletkezése molekuláris szinten kezdődik a kollagénrostok lebontásával, és a kollagénrostok és az ásványi anyagok kapcsolatának megbomlásával [34]. Tréning hatására, a terhelési ciklusok számának növekedésével a molekuláris szintű elváltozások száma megnő, ami a szöveti mátrix diffúz károsodást, valamint mikrorepedések létrejöttét okozhatja [35]. A mikrorepedések összeolvadása a *condylus* ízületbe terjedő fáradásos töréseihez vezethet [29], amelyek legtöbbször a *sulcus condylaris*okból, parasagittalisán erednek [29, 36]. A fáradásos sérülések gyengítik a csont szerkezetét, így az kevésbé képes ellenállni a versenyek, sőt akár a hétköznapi során jelentkező terhelésnek [37]. Ezen sérülések közös jellemzői, hogy nem egy egyszeri esemény vagy trauma következményei, hanem az érintett csont folyamatosan ismétlődő terhelése és rendellenes átépülése miatt jönnek létre [38, 39]. A fáradásos csontsérülések tréningben nem lévő lovak esetében ritkák [27].

Tréningben lévő galopplovakban 36,8%-kal nagyobb a lábközépcsont *epiphysis*ének átlagos szöveti sűrűsége, mint edzésben nem levő lovak esetében [40]. A lábközépcsont sűrűségének tréning hatására való növekedése az epiphysis distopalmaris részén indul, ott, ahol érintkezik a proximalis szezámcsontokkal, és dorsoproximalis irányba halad, így a legkisebb sűrűségű terület a dorsodistalis rész marad. Ez legalább részben magyarázattal szolgálhat arra, hogy az angol telivérekre jellemző palmaris osteochondralis kórkép [41] miért a condylusok distopalmaris részén alakul ki. Az egyes lábközépcsontok medialis és lateralis condylusainak csontsűrűsége közötti különbség lehetséges magyarázata, hogy a lovak a tréning során mindig egy irányba haladnak [40].

A csüdcsont proximalis subchondralis csontsűrűsége függ az anatómiai helyzetéstől, a subchondralis csont vastagságától, a fizikai aktivitástól és a ló fejlettségétől [42]. Azon versenylovak subchondralis csontsűrűsége, amelyek az ellenoldali végtagjukon csüdcsonttörést szenvedtek, nagyobb változékonyságot mutat a csüdcsont proximalis subchondralis csontjának különböző pontjain, mint azon versenylovaké, amelyeknek nem volt csüdcsonttörése. Ez a változékonyság az edzés miatt létrejövő átépülés következtében kialakuló mikrorepedések eredménye. RUBIO-MARTÍNEZ és mtsai (2008) versenylovak condylusainak mechanikai tulajdonságait vizsgálva nem találtak különbséget ugyanazon ló jobb és bal oldali csontjai között. Így valószínűsíthető, hogy azok a lovak, amelyek csüdcsonttörést szenvedtek, a törés pillanatában éppen az átépülés azon fázisában voltak, amikor a csontfelszívódás folyamata dominált. Az így létrejövő porózusabb csont biomechanikai szempontból gyengébb volt [42]. Versenyző, valamint versenyben nem futó telivére csontsűrűsége között is találtak különbséget a csüdcsont sagittalis árkának középső, ill. palmaris részei között. A nagyobb csontsűrűség miatt feltételezhető, hogy ezek azok a részek, amelyek nagymértékű terhelésnek vannak kitéve nagy sebességű galopp munka mellett.

A subchondralis csont átépülésének egyszerre van védő és hátrányos hatása is az ízület funkciójára. Mindaddig, amíg a terhelés nem haladja meg azt az iramot,

Tréningben lévő galopplovakban 36,8%-kal nagyobb a lábközépcsont epiphysisének átlagos szöveti sűrűsége

A subchondralis csont átépülésének egyszerre van védő és hátrányos hatása is az ízület funkciójára

Fontos a lovakat egy-két éves korukban tréningbe venni a hatékonyabb csontátépülési folyamatok miatt

amivel a csontszövet átépülése lépést tud tartani, a védő hatás érvényesül. Amint a terhelés átlépi ezt a küszöböt, a hátrányos hatás kerül előtérbe, és sérülések alakulhatnak ki. A tréning hatására bekövetkező funkcionális adaptáció növeli azt az időtartamot, ami alatt a csontszövet elfárad. Ez az adaptáció egy protektív mechanizmus, amely nagy valószínűséggel védi a subchondralis csontot a normál terhelés mellett jelentkező sérülésektől [43].

ADAPTÁCIÓ A TRÉNINGBEVÉTEL IDŐSZAKÁBAN

Angol telivér versenylovak esetében különös figyelmet érdemel az egy-két éves kor közötti időszak. Tréningbevétel hatására ebben a korban a legintenzívebben a lábközépcsont állományának az átépülése [44]. A hosszirányú növekedés szakaszában lévő fiatal lovak csontszövege az epiphysisfugák záródása előtt gyorsabban képes alkalmazkodni, ezért fontos telivérek esetében, amelyek már két éves korukban versenyezhetnek, a korai, de fokozatos tréningbe vétel [27]. Angol telivér lovak esetében mind a lábközépcsont distalis, mind pedig a csüdcsont proximalis epiphysisfugájának záródása 8–14 hónapos kor között következik be [45]. Ez egybe esik azzal az időszakkal, amikor a versenylovakat tréningbe veszik, így azok a tréning kezdetén még növekedésben vannak. Számos tanulmány bizonyítja, hogy a tréning kezdetét követő két hónapon belül megnő a subchondralis csont sűrűsége az adaptív átépülés miatt [29, 46]. Ez az élettani reakció segíti elő, hogy a növekedésben lévő versenylovak csontjai ellenálljanak a tréning következtében fellépő kiújuló terhelésnek [43].

Ugyanakkor, fiatal lovak esetében az egyenítőkészülék éretlensége miatt még nem elég feszes ínak és szalagok nagyobb mértékű csüdízületi hyperextensiot tesznek lehetővé [19, 24]. A lazább egyenítőkészülék kevesebb rugalmas energiát képes tárolni, és csökkent mértékben képes a földről visszaható rezgések csillapítására [19]. Ezért megkérdőjelezhető, hogy a fiatal versenylovak mozgásszervrendszerének adaptációja képes-e lépést tartani ciklikusan ismétlődő nagyfokú terheléssel tréning alatt. Ezt az is alátámasztja, hogy a versenykarrier kezdetét követő egy éven belül nagyobb eséllyel szenvednek a versenylovak végzetes distalis végtagcsonttörést, mint később [2, 47, 48]. Érdekes módon ezen fatális balesetek száma újra nő öt év versenyzés után, amelynek feltételezhető oka, hogy a versenylovak karrierje alatt felhalmozódnak a nem adaptív csont átépüléséből származó sérülések [2].

MOZGÁSSZERVRENDSZERI SÉRÜLÉSEKET BEFOLYÁSOLÓ EGYÉB TÉNYEZŐK

A versenysebesség csökkentésével mérsékelhető a csontot érő terhelés

A ló kondíciójának optimális szinten tartásával csökkenthető a csüdízület terhelése

A versenysebesség csökkentésével mérsékelhető a csontot érő terhelés [27]. Több kutatásban is összefüggést találtak a keményebb, tehát kisebb nedvességtartalmú pályák, valamint a sérülések előfordulásának gyakorisága között. Ennek az lehet az oka, hogy keményebb talajon nagyobb sebesség elérésére képesek a versenylovak [49]. A puhább talajú pályákon a lassabb tempó, tehát az enyhébb terhelés miatt, kisebb eséllyel fordulnak elő katasztrófális kimenetelű sérülések, mint a keményebb talajú pályákon [49, 50]. Puhább, különösen mélyebb talajú pályákon azonban egyéb sérülések kockázata nőhet [51].

Hosszabb futamok és a nagyobb mezőny is növeli a sérülések előfordulásának esélyeit [47, 49], míg a ló kondíciójának optimális szinten tartásával csökkenthető a csüdízület terhelése. A lovas súlya is hozzájárul a felületes ujjhajlító ín és az egyenítőszalag feszüléséhez, ezáltal növeli a csüdízületre jutó terhelést [52]. Galoppversenyeken a szokásos testsúlyára, és annak monitorozására szigorú előírások vonatkoznak. Minél kevesebb súlyt cipel egy ló, annál nagyobb a versenyképessége [53].

A legnagyobb terhelést gyorsmunka közben a csüdízület kapja, a subchondralis csont sérülései a legtöbbször itt fordulnak elő [27]. A csüdízületet érő terhelés

**A több, rövid
gyorsmunkát beiktató
tréningprotokollok a
legmegfelelőbbek a
fáradásos sérülések
kockázatának
csökkentéséhez**

optimalizálását a megfelelő edzésterv összeállításán keresztül lehet elérni. A túl nagy intenzitású edzésterv, amelynek következtében mikrorepedések jönnek létre a csontállományban, túlzott vagy nem megfelelő átépüléshez vezet, amely káros a csontszövetre nézve, és katasztrofális sérülések okozója lehet [54, 55]. A hosszú galoppmunkát elkerülő, de több, rövid gyorsmunkát beiktató tréningprotokollok a legmegfelelőbbek a fáradásos sérülések kockázatának csökkentéséhez, és egyúttal segítenek a csontszöveti adaptációhoz nélkülözhetetlen ingerek fenntartásában is [56]. Gyorsmunka hiányában a csontszövet nem kap elég ingert ahhoz, hogy megfelelően alkalmazkodni tudjon a később, verseny során fellépő terheléshez. A túlzott mennyiségű munka is káros lehet, a megtett távolság összeadódása, nemcsak versenytempóban, de akár vágásban is, növeli a sérülések kockázatát [57, 58]. A subchondralis csont állományában tréning hatására létrejövő változások az edzésterv megváltoztatása után hat hónapig megmaradnak, ezért is nagyon lényeges a csontok egészsége érdekében, hogy a munka intenzitásának és/vagy mennyiségének megváltoztatásakor megfelelő időt hagyjunk a csont adaptálódásához [59, 60].

A pihenőidőszak utáni munkába való visszatérés időpontja is hatással lehet a sérülések előfordulására. A pihenőidőszak fontos a csont átépüléséhez, azonban ilyenkor csökken a lábközépcsont diaphysisének csontsűrűsége, és nő a condylusok porozitása [61, 62]. A pihenés után porózussá vált csontnak gyengébb a szerkezete, mint egy teljesen adaptálódott csontnak, így hajlamosabb a sérülésekre [27], ezért a fokozatos munkába vétel elengedhetetlen.

A mozgásszervrendszeri sérülések előfordulásának gyakoriságára ható, korábban tárgyalt környezeti faktorok mellett, egyes kutatások biológiai tényezők hatását is vizsgálták. Méneknél gyakrabban fordulnak elő a végtagok katasztrofális sérülései, mint kancák esetében [63]. Elsőszülött csikók kisebb eséllyel szenvednek el töréseket, és a kanca növekvő életkorával szintén csökken a csikók törésre való hajlama [64]. Ezt megmagyarázhatja, hogy egyes kutatások szerint az elsőszülött csikók, valamint az idősebb kancák csikói kisebb eséllyel lesznek sikeres versenylovak a születéskori kisebb testsúlyuk miatt, ami kihatással van a későbbi teljesítményükre [65, 66].

KONKLÚZIÓ

A csüdízületi sérülések kórélettani és biomechanikai hátterének megértése segítségünkre lehet a klinikai és képalkotó diagnosztikai vizsgálatok során észlelt elváltozások értelmezésében, valamint elősegítheti a potenciálisan súlyos sérülések megelőzésére irányuló módszerek kifejlesztését.

IRODALOM

1. Spargo KE, Rubio-Martínez LM, Wheeler DP, Fletcher L, Carstens A (2019) Catastrophic musculoskeletal injuries in Thoroughbred racehorses on racetracks in Gauteng, South Africa. *J S Afr Vet Assoc* 90:1–5
2. Parkin TDH, Clegg PD, French NP, Proudman CJ, Riggs CM, Singer ER, Webbon PM, Morgan KL (2004a) Horse-level risk factors for fatal distal limb fracture in racing Thoroughbreds in the UK. *Equine Vet J* 36:513–519
3. Cresswell EN, McDonough SP, Palmer SE, Hernandez JC, Reesink HL (2019) Can quantitative computed tomography detect bone morphological changes associated with catastrophic proximal sesamoid bone fracture in Thoroughbred racehorses? *Equine Vet J* 51:123–130
4. Denoix JM, Coudry V (2020) Clinical insights: Imaging of the equine fetlock in Thoroughbred racehorses: Identification of imaging changes to predict catastrophic injury. *Equine Vet J* 52:342–343
5. Beccati F, Gialletti R, Giontella A, Davanzo S, Di Meo A, Pepe M (2013) Morphologic Radiographic Study of the Proximal Sesamoid Bones of the Forelimb in Thoroughbred Racehorses in Training. *J Vet Med* 43:403–407
6. Liebich HG, König HE, Maierl J (2004) Forelimb or thoracic limb (membra thoracica). In: König HE, Liebich HG (eds) *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals*, Schattauer, Stuttgart pp 129–196
7. Vanderperren K, Ghaye B, Snaps FR, Saunders JH (2008) Evaluation of computed tomographic anatomy of the equine metacarpophalangeal joint. *Am J Vet Res* 69:631–638

8. Denoix JM, Coudry V, Jacquet S (2008) Ultrasonographic procedure for a complete examination of the proximal third interosseous muscle (proximal suspensory ligament) in the equine forelimbs. *Equine Vet Educ* 20:148–153
9. Nagy A, Dyson SJ (2009) Magnetic resonance anatomy of the proximal metacarpal region of the horse described from images acquired from low- and high-field magnets. *Vet Radiol Ultrasound* 50:595–605
10. Richardson DW, Dyson SJ (2011) The Metacarpophalangeal Joint. In: Dyson SJ, Ross MW (eds) *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. Elsevier Saunders, St. Louis pp 394–410
11. Harrison SM, Whitton RC, King M, Haussler KK, Kawcak CE, Stover SM, Pandy MG (2012) Forelimb muscle activity during equine locomotion. *J Exp Biol* 215:2980–2991
12. Denoix JM (1994) Functional anatomy of tendons and ligaments in the distal limbs (manus and pes). *Vet Clin N Am-Equine* 10:273–321
13. Fehér G (2000) A csontok összeköttetései, juncturae ossium. In: Fehér G (ed) *A háziállatok funkcionális anatómiája 1. A mozgás szervei*. Mezőgazda Kiadó, Budapest 101–126
14. Easton KL, Kawcak CE (2007) Evaluation of increased subchondral bone density in areas of contact in the metacarpophalangeal joint during joint loading in horses. *Am J Vet Res* 68:816–821
15. Singer E, Garcia T, Stover S (2012) How do metacarpophalangeal joint extension, collateromotion and axial rotation influence dorsal surface strains of the equine proximal phalanx at different loads in vitro. *J Biomech* 46:738–744
16. Clayton H, Sha D, Stick J, Elvin N (2007) 3D kinematics of the equine metacarpophalangeal joint at walk and trot. *Vet Comp Orthopaed* 20:86–91
17. Den Hartog SM, Back W, Brommer H, Van Weeren PR (2009) In vitro evaluation of metacarpophalangeal joint loading during simulated walk. *Equine Vet J* 3:214–217
18. Northrop AJ, Dagg LA, Martin JH, Brigden CV, Owen AG, Blundell EL, Hobbs SJ (2013) The effect of two preparation procedures on an equine arena surface in relation to motion of the hoof and metacarpophalangeal joint. *The Vet J* 198:137–142
19. Butcher MT, Ashley-Ross M (2002) Fetlock joint kinematics differ with age in Thoroughbred racehorses. *J Biomech* 35:563–571
20. Swanstrom MD, Zarucco L, Hubbard M, Stover SM, Hawkins DA (2005) Musculoskeletal Modeling and Dynamic Simulation of the Thoroughbred Equine Forelimb During Stance Phase of the Gallop. *J Biomech Eng* 127:318–328
21. Merckens HW, Schamhardt HC, Van Osch GJ, Hartman W (1993) Ground Reaction Force Patterns of Dutch Warmbloods at the Canter. *Am J Vet Res* 54:670–674
22. Hjerten G, Drevemo S (1994) Semi-Quantitative Analysis of Hoof-Strike in the Horse. *J Biomech* 27:997–1004
23. Kingsbury HB, Quddus MA, Rooney JR, Geary JE (1978) A Laboratory System for Production of Flexion Rates and Forces in the Forelimb of the Horse. *Am J Vet Res* 39:365–369
24. Symons JE, Hawkins DA, Fyhrie DP, Upadhyaya SK, Stover SM (2017) Modelling the effect of race surface and racehorse limb parameters on in silico fetlock motion and propensity for injury. *Equine Vet J* 49:681–687
25. Langdahl B, Ferrari S, Dempster DW (2016) Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis. *Ther Adv Musculoskel Dis* 8:225–235
26. Bentolila V, Boyce TM, Fyhrie DP, Drumb R, Skerry TM, Schaffler MB (1998) Intracortical remodeling in adult rat long bones after fatigue loading. *Bone* 23:275–281
27. Martig S, Chen W, Lee PVS, Whitton RC (2014) Bone fatigue and its implications for injuries in racehorses. *Equine Vet J* 46:408–415
28. Frost HM (1989) Transient-steady state phenomena in microdamage physiology: a proposed algorithm for lamellar bone. *Calcif Tissue Int* 44:367–381
29. Muir P, Peterson AL, Sample SJ, Scollay MC, Markel MD, Kalscheur VL (2008) Exercise-induced metacarpophalangeal joint adaptation in the Thoroughbred racehorse. *J Anat* 213:706–717
30. Davidson EJ (2003) Pathophysiology and Clinical Diagnosis of Cortical and Subchondral Bone Injury. In: Dyson SJ, Ross MW (eds) *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. Elsevier Saunders, St. Louis pp 935–946
31. Rubio-Martínez LM, Cruz AM, Gordon K, Hurtig MB (2008a) Mechanical properties of subchondral bone in the distal aspect of third metacarpal bones from Thoroughbred racehorses. *Am J Vet Res* 69:1423–1433
32. Beccati F, Pepe M, Di Meo A, Davanzo S, Moriconi F (2011) Radiographic evaluation of changes in the proximal phalanx of Thoroughbreds in race training. *Am J Vet Res* 72:1482–1488
33. Riggs C, Whitehouse G, Boyde A (1999) Structural variation of the distal condyles of the third metacarpal and third metatarsal bones in the horse. *Equine Vet J* 31:130–139
34. Burr DB, Forwood MR, Fyhrie DP, Martin B, Schaffler MB and Turner CH (1997) Bone microdamage and skeletal fragility in osteoporotic and stress fractures. *J Bone Miner Res* 12:6–15
35. Zarrinkalam KH, Kuliwaba JS, Martin RB, Wallwork MAB, Fazzalari NL (2005) New insights into the propagation of fatigue damage in cortical bone using confocal microscopy and chelating fluorochromes. *Eur J Morphol* 42:81–90
36. Muir P, McCarthy J, Radtke CL, Markel MD, Santschi EM, Scollay MC, Kalscheur VL (2006) Role of endochondral ossification of articular cartilage and functional adaptation of the subchondral plate in the development of fatigue microcracking of joints. *Bone* 38:342–349
37. Easton KL (2012) Effect of bone geometry on stress distribution patterns in the equine metacarpophalangeal joint. Dissertation, Colorado State University
38. Janes JG, Kennedy LA, Garrett KS, Engiles JB (2017) Common lesions of the distal end of the third metacarpal/metatarsal bone in racehorse catastrophic breakdown injuries. *J Vet Diagn Invest* 29:431–436
39. Olive J, Serraud N, Vila T, Germain J-P (2017) Metacarpophalangeal joint injury patterns on magnetic resonance imaging: A comparison in racing Standardbreds and Thoroughbreds. *Vet Radiol Ultrasound* 2017:1–10
40. Firth EC, Rogers CW, Jopson N (2000) Effects of racetrack exercise on third metacarpal and carpal bone of New Zealand thoroughbred horses. *J Musculoskel Neuron* 1:145–147
41. Davis AM, Fan X, Shen L, Robinson P, Riggs CM (2016) Improved radiological diagnosis of palmar osteochondral disease in the Thoroughbred racehorse. *Equine Vet J* 49:454–460
42. Noble P, Singer ER, Jeffery NS (2016) Does subchondral bone of the equine proximal phalanx adapt to race training? *J Anat* 229:104–113
43. Martig S, Hitchens PL, Lee PVS, Whitton RC (2019) The relationship between microstructure, stiffness and compressive fatigue life of equine subchondral bone. *J Mech Behav Biomed* 101:103439

44. Nunamaker DM, Butterweck DM, Provost MT (1990) Fatigue fractures in thoroughbred racehorses: Relationships with age, peak bone strain, and training. *J Orthop Res* 8:604–611
45. Rogers CW, Gee EK, Dittmer KE (2021) Growth and Bone Development in the Horse: When Is a Horse Skeletally Mature? *Animals* 11:3402
46. Rubio-Martínez LM, Cruz AM, Gordon K, Hurtig MB (2008b) Structural characterization of subchondral bone in the distal aspect of third metacarpal bones from Thoroughbred racehorses via micro-computed tomography. *Am J Vet Res* 69:1413–1422
47. Parkin TDH, Clegg PD, French NP, Proudman CJ, Riggs CM, Singer ER, Webbon PM, Morgan KL (2005) Risk factors for fatal lateral condylar fracture of the third metacarpus/metatarsus in UK racing. *Equine Vet J* 37:192–199
48. Vallance SA, Entwistle RC, Hitchens PL, Gardner IA, Stover SM (2013) Case-control study of high-speed exercise history of Thoroughbred and Quarter Horse racehorses that died related to a complete scapular fracture. *Equine Vet J* 45:284–292
49. Parkin TDH, Clegg PD, French NP, Proudman CJ, Riggs CM, Singer ER, Webbon PM, Morgan KL (2004b) Race- and course-level risk factors for fatal distal limb fracture in racing Thoroughbreds. *Equine Vet J* 36:521–526
50. Boden LA, Anderson GA, Charles JA, Morgan KL, Morton JM, Parkin TDH, Clarke AF, Slocombe RF (2007) Risk factors for Thoroughbred racehorse fatality in flat starts in Victoria, Australia (1989–2004). *Equine Vet J* 39:430–437
51. Crevier-Denoix N, Audigié F, Emond A-L, Dupays A-G, Pourcelot P, Desquilbet L, Chateau H, Denoix J-M (2017) Effect of track surface firmness on the development of musculoskeletal injuries in French Trotters during four months of harness race training. *Am J Vet Res* 78:1293–1304
52. Riemersma DJ, Van Den Bogert AJ, Jansen MO, Schamhardt HC (1996) Tendon strain in the forelimbs as a function of gait and ground characteristics and in vitro limb loading in ponies. *Equine Vet J* 28:133–138
53. Wilson G, Drust B, Morton JP, Close GL (2014) Weight-Making Strategies in Professional Jockeys: Implications for Physical and Mental Health and Well-Being. *Sports Med* 44:785–796
54. Stover SM, Murray A (2008) The California Postmortem Program: leading the Way. *Vet Clin N Am-Equine* 24:21–36
55. Vallance SA, Spriet M, Stover SM (2011) Catastrophic scapular fractures in Californian racehorses: pathology, morphometry and bone density. *Equine Vet J* 43:676–685
56. Nunamaker DM (2002) Relationships of exercise regimen and racetrack surface to modeling/remodeling of the third metacarpal bone in two yearold Thoroughbred racehorses. *Vet Comp Otophaed* 15:195–199
57. Cogger N, Perkins N, Hodgson DR, Reid SWJ, Evans DL (2006) Risk factors for musculoskeletal injuries in 2-year-old Thoroughbred racehorses. *Prev Vet Med* 74:36–43
58. Reed SR, Jackson BF, Wood JLN, Price JS, Verheyen KLP (2013) Exercise affects joint injury risk in young Thoroughbreds in training. *Vet J* 196:339–344
59. Firth EC, Rogers CW, Van Weeren PR, Barneveld A, McIlwraith CW, Kawcak CE, Goodship AE, Smith RKW (2012) The effect of previous conditioning exercise on diaphyseal and metaphyseal bone to imposition and withdrawal of training in young Thoroughbred horses. *Vet J* 192:34–40
60. Brama P, Firth E, Weeren P, et al. (2009) Influence of intensity and changes of physical activity on bone mineral density of immature equine subchondral bone. *Equine Vet J* 41:564–571
61. Firth E, Rogers C (2005) Musculoskeletal responses of 2-yearold Thoroughbred horses to early training. *Conclusions. N Z Vet J* 53:377–383
62. Whitton RC, Trope GD, Ghasem-Zadeh A, Anderson GA, Parkin TDH, Mackie EJ, Seeman E (2010) Third metacarpal condylar fatigue fractures in equine athletes occur within previously modelled subchondral bone. *Bone* 47:826–831
63. Estberg L, Stover SM, Gardner IA, Johnson BJ, Case JT, Ardans A, Read DH, Anderson ML, Barr BC, Daft BM, Kinde H, Moore J, Stolz J, Woods L (1996) Fatal musculoskeletal injuries incurred during racing and training in Thoroughbreds. *J Am Vet Med Assoc* 208:92–96
64. Verheyen KLP, Price JS, Wood JLN (2007) Fracture rate in Thoroughbred racehorses is affected by dam age and parity. *Vet J* 174:295–301
65. Barron JK (1995) The effect of maternal age and parity on the racing performance of Thoroughbred horses. *Equine Vet J* 27:73–75
66. Finocchio EJ, Rosenzweig M (1995) Significance of birthrank, maternal age and parity on race performance in Thoroughbreds. *P Annu Conv Am Equin* 41:64–67

Közlésre érkező: 2022. máj. 15.

**Multidetector CT-based
comparative heart
anatomy of dogs**

R. A. Alföldi¹
L. Z. Reinitz^{1*}
R. Garamvölgyi^{4,5}
D. Kőrösi^{4,6}
Ö. Petneházy^{2,3,4}

1. Állatorvostudományi Egyetem,
Anatómiai és Szövettani Tanszék,
H-1078 Budapest, István utca 2.

*e-mail: reinitz.laszlo.zoltan@univet.hu

2. Medicopus Nonprofit Kft.
Kaposvár

3. Justanatomy Kft.
Kaposvár

4. Magyar Agrár- és Élettudományi
Egyetem, Kaposvár Campus,
Kaposvár

5. Városkapu
Állatgyógyászati Központ,
Kaposvár

6. Kőszí-Vet Bt.
Kaposfő

A kutyaszív anatómiájának vizsgálata multidetector CT alkalmazásával

Alföldi Rozália Anna¹, Reinitz László Zoltán^{1*}, Garamvölgyi Rita^{4,5}, Kőrösi Dénes^{4,6}, Petneházy Örs^{2,3,4}

ÖSSZEFOGLALÁS

A kutya szívének általános anatómiája jól ismert, de az egyedi jellemzőiről, a különböző testméretű és testalkatú állatok esetében fennálló morfológiai jellegzetességekről kevés adat található a szakirodalomban. Jelen kutatás célja részben ilyen típusú adatok gyűjtése, részben az állatorvosi és állattudományi oktatásból hiányzó nagy felbontású 3D-modellek, valamint animációk készítése ezek segítségével. Vizsgálatukban a szerzők 15 kistestű kutyáról készítettek felvételeket EKG-vezérelt szívvizsgálati CT-protokollal. Az elkészült sorozatokon rekonstruálták a teljes szervet és a fő anatómiai képleteken méréseket végeztek. Az általunk elkészített rekonstrukciós anatómiai modellek a már rendelkezésre állókhöz képest nagyobb felbontással és az egyes struktúrák jobb elkülöníthetőségével segítik a hallgatók számára a szív anatómiájának alaposabb tanulmányozását és működésének megértését.

SUMMARY

Background: The general anatomy of the dog's heart is well known, but limited information is available on its individual morphological characteristics according to the dog's body sizes. High-resolution 3D models and animations about this organ are not properly available for the education. Data gained with cardiac CT examinations are good sources for the analysis of these parameters. Beside of clinical utilization, this imaging modality can deliver valuable information for 3D reconstructions, as well.

Objectives: The aim of this study is to explore possible correlations between the anatomical and morphological characteristics of the heart and the body size of the dog, using computer tomography (CT).

Materials and Methods: In the study, 15 dogs were examined. The CT scans were performed with a Siemens Definition Flash Dual scanner (Siemens AG, Erlangen, Germany) with an ECG-guided cardiac examination protocol at the Diagnostic and Oncoradiology Center of Dr. József Baka, Kaposi Mór Teaching Hospital, Somogy County. The recording sequences were processed and reconstructed with the 3D Slicer program.

In each heart the left and right ventricular warts (subauricular and subatrial papillary muscles), and the large vessels were reconstructed in diastole, and the main morphological parameters of the heart were also measured.

Results and Discussion: The mean body weight of the 15 dogs was 11,95±2,76 kg, and the mean volume of the left ventricle in diastole was 34,81±7,73 cm³ (95% confidence interval: 30,53-39,09). The mean volume of the right ventricle in diastole was 44,17±15,94 cm³ (95% confidence interval: 35,34-53,00).

Our measurements provide missing data for the heart morphological baseline values of dogs in this weight range. The reconstructed anatomical models help the students to understand the anatomy of the heart more thoroughly with a higher resolution and smaller slice thickness than those already available.

Az utóbbi években a 3D keresztmetszeti képalkotó (CT, MRI) eljárások egyre nagyobb teret nyernek a hagyományos vizsgálati módszerek mellett mind a kutatásban, mind a klinikai diagnosztikában.

Az állatorvostan-hallgatók részéről egyre nagyobb igény merül fel a különböző digitális eszközökön könnyen elérhető és feldolgozható segédanyagok iránt, mivel a számítástechnika oktatási irányú használata mindennapossá vált. A 21. század hallgatója könnyen és egyszerűen tud alkalmazkodni az internet adta új tanulási lehetőségekhez, amely technikák a tanulás eredményességét is kedvezően befolyásolják [1]. Ezek, a hagyományos oktatás eszközeivel ellentétben lehetővé teszik a különböző komplex anatómiájú szervek (mint a szív) *in vivo* viszonyainak tanulmányozását, így egyértelműen segítik az ismeretek elmélyítését.

Az utóbbi években a 3D keresztmetszeti képalkotó (CT, MRI) eljárások egyre nagyobb teret nyernek

A szív képleteinek azonosításához a rendelkezésre álló anatómiakönyvek leírásait [2–7] használtuk. A teljes és részletes magyarázat helyett a jelen tanulmány szempontjából legfontosabb struktúrákat emeltük ki, az elnevezésekhez az Állatorvosi Anatómiai Nevezéktant [8] alapul véve.

Állatorvosi térnyerésével párhuzamosan a CT-t több kutatásban is használták a mellkas és a szív vizsgálatára, valamint részletes keresztmetszeti anatómiai tanulmányok, atlaszok készítésére.

A morfológiai tanulmányok közül DE RYCKE és mtsai [9] 4 klinikailag egészséges német juhászkutyán, míg RIVERO és mtsai 4 felnőtt keveréken [10] végezték vizsgálataikat. Mindkét esetben, az állatokon altatásban, *sternalis* fektetésben készítették el a CT-felvételeket. Ezután egy [9] vagy több [10] állatot túlaltattak és a mellkas anatómiáját *post mortem* viszonyok között tovább vizsgálták.

A német juhászkutyák esetében az eutanázia után az érpályába nem fecskendeztek kontrasztanyagot vagy latex-et, a cadavert lefagyasztották. Ezután a testről 10 mm-es szeleteket és azokról felvételeket készítettek. Ezeket a megfelelő CT-képpel párosították, így bizonyították a képalkotó felvételek anatómiai pontosságát. Kiemelten fontos, hogy ebben az esetben más mellkasi struktúrák mellett a szív alakja és mérete, ill. az üregei és a billentyűk is megfigyelhetők voltak [9].

A másik kísérletben a négy vizsgált keverék kutyát először CT-vel vizsgálták *sternalis* fektetésben, majd a túlaltatásuk után színezett latexet fecskendeztek az erekbe, hogy azok megfelelően vizsgálhatóak legyenek. A kadavereket hasonló módon dolgozták fel, mint az előző kísérletben. Megfigyelhetők voltak a szív és üregei, ill. a mellkasi aorta és az összes mellkasi nagy ér. A négy megvizsgált kutya esetében ezek a struktúrák CT-képeken és az anatómiai felvételeken is jól látszottak. A szív alakja jól megfigyelhető volt, azonban az üregek, a billentyűk, koszorúerek és a *septum interventriculare* nem voltak elkülöníthetőek [10].

Egy ennél specifikusabb vizsgálat kifejezetten a kutya koszorús artériáira és a szívre fókuszált. Négy darab egy éves beagle kutyán végeztek CT-angiográfiát. A felvételeket VITREA 2 Version 4.0 (Vital Images, Minnetonka, MN, USA) program segítségével rekonstruálták. Az egyes koszorúerek hosszát és átmérőjét vizsgálták, majd a kapott eredményeket statisztikai alapon hasonlították össze. Ezen vizsgálat alapján kijelenthető, hogy a CT-vel kivitelezett angiográfiás felvételezés és rekonstrukció az anatómiai képletek pontos mérését és az adatok összehasonlítását tette lehetővé [11].

UEHARA és mtsai 226 kutyát vizsgáltak testtömegcsoportok szerint, a szív térfogatára és mellkason belüli elhelyezkedésére fókuszálva, szintén általános anesztéziában [12]. A CT-felvételek elemzését Osirix szoftverrel végezték (OsirixX MD, OsiriX Imaging Software, Bernex, Svájc). A mért adatok között szerepelt a mellkas magasság/szélesség aránya, amit az 5. bordaközti tér magasságában készült keresztmetszeti képek alapján határoztak meg. A szív magasságának a bal pitvari bázistól a szívcsúcsig mért egyenest tekintették. A kapott adatokból a relatív

A CT-t több kutatásban is használták a mellkas és a szív vizsgálatára, valamint részletes keresztmetszeti anatómiai tanulmányok, atlaszok készítésére

szívtérfogatot (szívtérfogat/ mellkastérfogat aránya), a relatív szívhosszúságot (a főhörgő és a gerinc közötti távolság /szívhosszúság aránya), valamint a szív hossz-, és keresztmetszeti átmérőjének a tracheánál mért arányát számították ki. Végül a kiszámolt és mért adatokat a kialakított csoportok között összehasonlították és statisztikai vizsgálatokat is végeztek. Eredményként megfigyelhető volt, hogy a relatív szívtérfogat a kis és közepes kutyák esetében nagyobb volt. A relatív DMBV (Distance from mainstem bronchi to vertebra – a főhörgők és a csigolya közötti távolság) kisebb volt kistestűek esetén a másik két csoporthoz hasonlítva, viszont a közepes tömegcsoportban is aránylag kisebb volt a nagyhoz viszonyítva. Regresszióanalízissel kimutatták, hogy az előbb felsorolt adatok szignifikáns összefüggésben vannak a testmérettel.

A szív 3D leképezése is régi hagyományokra tekint vissza, mind a humán, mind az állatorvosi kutatásban és a klinikai gyakorlatban

A szív 3D leképezése is régi hagyományokra tekint vissza, mind a humán, mind az állatorvosi kutatásban és a klinikai gyakorlatban. A patológiás elváltozások diagnosztikájában is jelentős segítséget tud nyújtani az egyes szervek 3D megjelenítése [13]. A szervek anatómiai demonstrációjára korábban inkább *ex vivo* technikákat alkalmaztak. Egy korai példája ennek a QTVR, egy fotorealisztikus szoftver, amely a 3D mozgatás illúzióját keltő képsorozatot hozott létre. Elkészítésének elve, hogy a feldolgozni kívánt képletről vízszintes és függőleges videofelvételt készítenek egy-egy fix tengelyen mozgó kamerával, és ezt a két felvételt egyesíti a megfelelő szoftver egy 3D-ben mozgatható ábrába. Kezdetben különböző szövethépleteket dolgoztak fel ezzel a technikával, de később a nagyobb anatómiai struktúrák virtuális leképezése is sorra került. A végeredménye a kész alkalmazásban egy szabadon pozícionálható és teljesen körbejárható térbeli modell volt, amit az angol nyelvű szakirodalom „*virtual reality-oriented*”-nek nevez [14].

Ma már a virtuális modellek nagy része más technikák felhasználásával készül. Leginkább a diagnosztikában kiegészítő vizsgálatként alkalmazott képalkotó eljárások adnak remek alapot elkészítésükhöz. A kívánt területről különböző keresztmetszeti felvételek készülnek és ezeket lehet a megfelelő, részben automatikus szegmentálással operáló program segítségével rekonstruálni, majd modellté alakítani, vagy animációt készíteni belőlük [15–17].

A mai, modern képalkotó eljárás előnye a jobb térbeli felbontás, ami részletesebb megjelenítésre ad lehetőséget és ezáltal a belőle készült modellek is sokkal valóságosabbak lesznek. A CT- és MRI-alapú felvételezés másik nagy előnye, hogy a szerveket *in vivo* viszonyok között, roncsolás és károsítás nélkül képes ábrázolni.

A legújabb, többdetektoros CT-kkel a szívről és a környező mellkasi szervekről is jó minőségű felvételek készíthetők, minimális mozgási műtermékkel

A szív CT-alapú leképezése az állatorvosi területen egy egyre gyakrabban alkalmazott technika [18] és mivel a legújabb MDCT-k (Multidetector Computed Tomography – többdetektoros CT) gyors és pontos térbeli és időbeli felbontással rendelkeznek, emiatt a szívről és a környező mellkasi szervekről is jó minőségű felvételek készíthetők, minimális mozgási műtermékkel. A CT nagy vizsgáló ablakában tudjuk a szívet, a *mediastinum*-mal és a tüdővel együtt is vizsgálni. A belső anatómiai struktúrái is jól elkülöníthetők, csakúgy, mint a kisebb képletek, mint a pulmonalis vagy atrioventricularis billentyűk, vagy a *trabecula carnea*e [19], ezen kívül jól azonosítható az aortaív és a szív fő erei is [20].

A kutyaszív anatómiájának MRI-alapú leképezésére [21] több példát is lehet találni a külföldi szakirodalomban.

MAI és mtsai 3 db, 20–25 kg közötti keverék kutyát vizsgáltak, kettőben szív-bázisdaganat volt jelen [22]. A daganatoknak a környező anatómiai struktúrákra (pl.: *v. cava caudalis*) gyakorolt hatását vizsgálták. A kísérletben használt *in vivo* EKG-vezérelt MRI-szekvencia jól alkalmazható volt kutyák esetében, mert a felvétel készítése gyors, és jó minőségű sorozatokat eredményezett. Az MRI-vizsgálat nagy előnye még, hogy a CT-vel szemben nem alkalmaz röntgensugárzást és nem minden esetben szükséges kontrasztanyag beadása sem.

Egy másik tanulmányban szintén MRI-t használtak a szív leképezéséhez, a fő cél a szív kamrák infarktusz utáni állapotának vizsgálata volt. *Ex vivo* állapotban

vizsgálták a szíveket MRI-vel és a megfelelő modellek elkészítését CARP szoftver csomaggal (CardioSolv, LLC, Baltimore, MD, USA) végezték. Ez a tanulmány alapvetően a szív anatómiájának infarktus utáni károsodására fókuszált és a 3D-s megjelenítésben is a kamrák és a kamrák falának elváltozása volt a fókuszban. Ez a technika egy sokkal pontosabb anatómiai modell létrehozását eredményezte, mint a korábbi vizsgálatok, azonban a szívet egészséges állapotában nem képezték le strukturálisan [13].

Egy CT- és ultrahang- (UH) alapú kutatás során [23] a macska szívéről készítették 3D-modellt, ehhez CT- és UH-keresztmetszeti képeket használtak. A virtuális grafikai alapú modellezés megszerkesztése azonban nem a felvételekre alapulva készült, hanem ezek a képalkotó eljárások csak segítségül szolgáltak hozzá, egyfajta modellként funkcionáltak, magát a megjelenítést grafikusok végezték.

Hazai példákat is találunk a kutyaszív 3D-anatómiájának leképezésére. PREVICs és mtsai egy 36 kg-os keverék kutya kadaver szívet tartósították és műgyantába ágyazták [24]. A preparátumról MR-felvételeket készítettek (T1-es súlyozás; vizsgálati mező: 206x300 mm; matrix: 640 × 640; szeletvastagság: 0,8 mm; RT: 292 ms). Az így elkészült felvételeket aztán a 3D Slicer (4.1-es Stable verzió) [15] segítségével virtuális modellt alakították. Az elkészített modellből a szív struktúráját szemléltető animációkat készítettek, amik térben forgathatók és realiztikusak voltak. A modelltől hiányoztak az erek (a nagyerek és a koszorúerek egyaránt), ill. a technikából következően a szív ciklus aktuális helyzetét se lehetett megítélni. A használt 5 mm-es szeletvastagság az általános áttekintésre jó, de a szemölcszomokot és billentyűket utólag kellett berajzolni.

ANYAG ÉS MÓDSZER

KÍSÉRLETI ÁLLATOK

A vizsgálatunk során 15 kifejlett keverék kutyán (*Canis familiaris*) végeztünk méréseket. A felvételek elkészítése előtt a kutyákat részletes fizikális vizsgálatnak vetettük alá, hogy a kizárjuk a szívet és a mellkast érintő betegségeket. A résztvevő állatok a kaposvári „Kutyatár Természet- és Állatvédő Egyesület” menhelyéről származtak, a mérések után visszazállítottuk őket tartási helyükre. Az állatkísérleti engedély száma: SOI/31/01/18- 7/2018.

A KOMPUTERTOMOGRÁFIÁS VIZSGÁLAT

A CT-felvételek elkészítésére a Somogy Megyei Kaposi Mór Oktató Kórház Dr. Baka József Diagnosztikai és Onkoradiológiai Központjában került sor. A vizsgálatokat egy Siemens Definition Flash Dual (Siemens AG, Erlangen, Németország) készülékkel végeztük, EKG-vezérelt szívvizsgálati protokollal, amelyet a kutyának az emberétől eltérő EKG-görbéjének megfelelően módosítottunk.

A CT-vizsgálat előtt a *v. cephalica*-ba a testméretnek megfelelő méretű iv. kanült helyeztünk (Vasofix Certo 20 és 22 G) majd iv. 6 mg/ttkg bolusban propofolt (Propofol 1% MCT/LCT Fresenius, Kabi, Németország) adagoltunk. Ennek célja az inhalációs anaesthesia indukciója és az állatok intubálhatóvá tétele volt. Ezután az alanyok légcsővébe a tracheaátmérőjüknek megfelelő méretű légcsőtubust (általában 6-os vagy 7-es) [25] helyeztünk és félig nyílt alátartórendszerre csatlakoztunk rá a kísérleti egyedeket. Az anaesthesia elmélyítésére 5,0 vol%, fenntartására 1,2–2 vol% isofluran-oxigén (Isoflurane, Abbott Lab. Ltd., Queenborough, Kent, Nagy-Britannia) gázelegyet használtunk 2 l/min áramlás mellett.

A megfelelő mélységű narkózis elérése után (szemhéjreflex megszűnése, stabil, nyugodt légzés megléte) után az állatokat egyenként, háti fektetésben (fejfel előre) a CT-készülék vizsgálóasztalára helyeztük. Mindkét felkar laterális oldalán a szőrt egy kb. 3 × 3 cm-es területen leborotváltuk. Ezen csupasz bőrterületekre, ill. a combok medialis oldalára 4 db EKG-elektrodát helyeztünk (ES GS 43 electrode,

A szerzők 15 kistestű kutyáról készítettek felvételeket EKG-vezérelt szívvizsgálati CT-protokollal, diastole fázisban

Esvico, Lengyelország), a Goldberger-féle unipoláris elvezetésnek megfelelően [26]. Az iv. kanült a kontrasztanyag vizsgálatokhoz használatos injektorhoz (MEDRAD Stellant, Bayer AG, Németország) csatlakoztattuk egy fiziológiás sóoldattal légtelenített hosszabbító közbeiktatásával. A félautomata injektor két fecskendőjét előzetesen 37,5 °C-ra melegített iomeprol kontrasztanyaggal (Iomeron 400 mg/l/ml, Bracco S.p.A., Milano, Olaszország), valamint fiziológiás sóoldattal töltöttük fel. A humán CT-vizsgálati protokoll alapján a mellkasról először egy kétirányú topogramot készítettünk (120 kV, 35mA).

A két felvételen pontosan kijelölhető volt a teljes szívet lefedő vizsgálati terület (*range*), ill. a premonitoring felvétel (120 kV, 20 mA, 10 mm-es szeletvastagság) síkja. Ennek során olyan területet választottunk, amin a szív és az *aorta descendens* is egyértelműen felismerhető volt. A szakirodalmi ajánlással ellentétben [19], saját tapasztalataink alapján a kisebb testméretű kutyák magasabb szívfrekvenciája miatt a triggerelési mezőt az *aorta* leszálló szakaszába célszerű helyezni [19].

A szív és a nagyerek precíz leképezéséhez nélkülözhetetlen volt iv. kontrasztanyag használata. A bolus térfogatát (2 ml/ttkg), a beadás sebességét (3,5 ml/s) és a kontrasztanyag beadása utáni, bemosásra szolgáló fiziológiás sóoldat mennyiségét (15–20 ml) testtömeg alapján az injektor vezérlőfelületén előzetesen beállítottuk. A kontrasztanyag beadásának indításakor, 3 másodperces késleltetést követően a készülék a kiválasztott síkban több felvételt készített, majd amikor a beállított trigger mezőben (ROI, region of interest) – jelen esetben az *aorta descendens*-ben – a denzitás értéke elérte a meghatározott értéket (110 HU, Hounsfield unit), elindította a sorozatfelvételeket (bolus tracking) [11, 19, 27, 28]. A felvételek 120 kV, 60 mA, 0,6 mm-es szeletvastagság beállításokkal készültek (kernel: B26f, spiral pitch factor: 0,35, table feed/rotation: 13,8 mm).

A szívvizsgálat befejeztével minden állatról a teljes testet lefedő sorozat készült (120 kV, 30 mA, 0,6 mm-es szeletvastagság).

A teljes vizsgálati idő, az állatok pozicionálásával és a felvételek elkészítésével 15–20 perc/egyed volt.

A felvételek elkészítése után a nyers adatokat a CT-készülék saját Syngo szoftverével rekonstruáltuk. A vizsgálati mezőnek a szívet legjobban lefedő területet választottuk. Ezután meghatároztuk a rekonstrukciós algoritmust (kernel). A CT a szív ciklus teljes ideje (0–100%) alatt, 5%-os lépésenként készít egy sorozatot, vagyis a teljes ciklus alatt 20 sorozat készül, ami 0,6 mm-es szeletvastagsággal nagyszámú felvételt eredményez. A teljes szív ciklusról készült, rekonstruált sorozatokat elmentettük.

SZÁMÍTÓGÉPES UTÓMUNKA – 3D REKONSTRUKCIÓ ÉS ANIMÁCIÓKÉSZÍTÉS

A felvételeket a 3D Slicer számítógépes program segítségével dolgoztuk fel, amihez az ingyenesen elérhető 4.10.2-es, ún. „stabil” verziót használtuk.

A programot megnyitva, a főoldalon a „Load DICOM Data” menüpontot használva importáltuk a már a számítógépre letöltött DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine) fájlokat a 3DSlicerbe. Az egyes állatok felvételesorozatai közül kiválasztottuk a szív és mellkasi felvételeket. A „MultiVolume Support” modul „MultiVolumeExplorer” alkalmazása segítségével kiválasztottuk a 20 szekvencia közül a diastolés felvételeket, „frame”-eket. Ennek során a saggitalis metszeten a zárt billentyűk állapotot tekintettük végdiastolénak megfelelő „frame”-nek, majd ezt a többi metszési síkban is ellenőriztük. A munkafolyamat többi részében diastolés képsorozatok alapján rekonstruáltuk a szívet. Ezeket véghez vittük a szív fő anatómiai képleteinek és a nagy ereknek a rekonstrukcióját. A billentyűk és a jobb oldali szemölcszímok nem voltak kellően prominensek a CT képeken, így ezekkel nem rekonstruáltuk.

**A szív és a nagyerek
 precíz leképezéséhez
 iv. kontrasztanyagot
 használtak**

**A felvételek elkészítése
 után a nyers adatokat
 a CT-készülék saját
 Syngo szoftverével
 rekonstruálták**

**A felvételeket a 3D
 Slicer számítógépes
 program segítségével
 dolgozták fel**

A rekonstrukció a program „Grow from seeds” algoritmusával történt. A megkülönböztetni kívánt (Táblázat) anatómiai képleteket különböző színekkel jelöltük, majd ezekből 3D-s modelleket alkottunk. Az algoritmus által végzett automata kijelölést minden esetben kézzel ellenőriztük és szükség szerint manuálisan korrigáltuk a még pontosabb anatómiai határok kijelölése érdekében (félautomata kijelölés).

TÁBLÁZAT. A szív üregeinek és a nagyereknek a rekonstrukció során alkalmazott határa

TABLE. The applied borders for the heart structures and large vessels during the reconstruction

Vizsgált képlet	Dorsalis/egyik határa	Ventralis/másik határa
aorta descendens	diaphragma	valva aortae dorsalis határa
ventriculus sinister	valva mitralis tapadása	valva aortae dorsalis határa
ventriculus dexter	valva tricuspidalis tapadása	valva trunci pulmonalis dorsalis határa
atrium dextrum	ostium venae cavae cranialis et caudalis	valva tricuspidalis tapadása
atrium sinistrum	ostia venarum pulmonalium	valva mitralis tapadása
vena cava caudalis	atrium dextrum	diaphragma
truncus pulmonalis	bifurcatio trunci pulmonalis	valva trunci pulmonalis

A bal kamra szemölcsizma
szemölcsizma
kézzel jelölték ki
a transzverzális
metszeteken

A bal kamra szemölcsizma (*m. papillaris subatrialis et subauricularis*) kézzel jelöltük ki a transzverzális metszeteken, szegmensről szegmensre (0,6 mm távolságonként), egyéni elbírálás alapján. A denzitáskülönbség ugyanis nagyon kicsi a myocardium és a szemölcsizma között, így a „Grow From Seeds” modul nem ismerte fel különálló elemekként ezeket.

A térfogtméréseket az egyes képletekre a program automatikusan végzi, a „Quantifications” menü „Label Statistics” felületén.

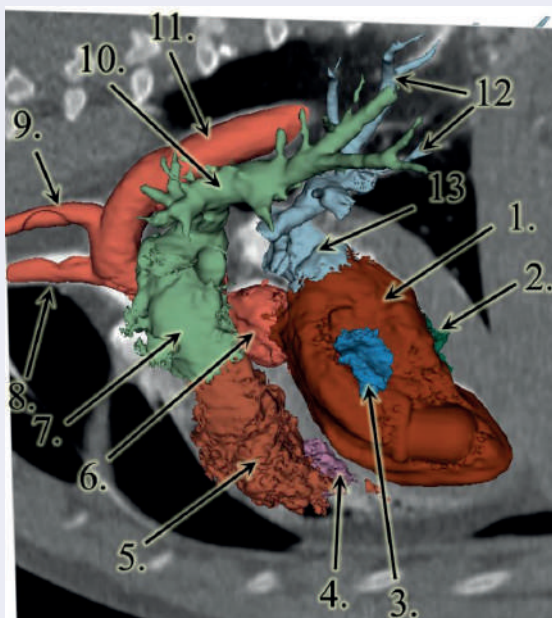
Az elkészült rekonstrukciók közül a K96-os alany, egy 12,5 kg-os keverék hím kutya szívéből készült modellt oktatási segédanyagot előállítás céljából további feldolgozásnak vetettünk alá (1. ábra). Ehhez a 3DS Max programot használtunk [29] és az elkészült modellekről a szoftver beépített alkalmazásaival nagy felbontású animációkat készítettünk (2. ábra).

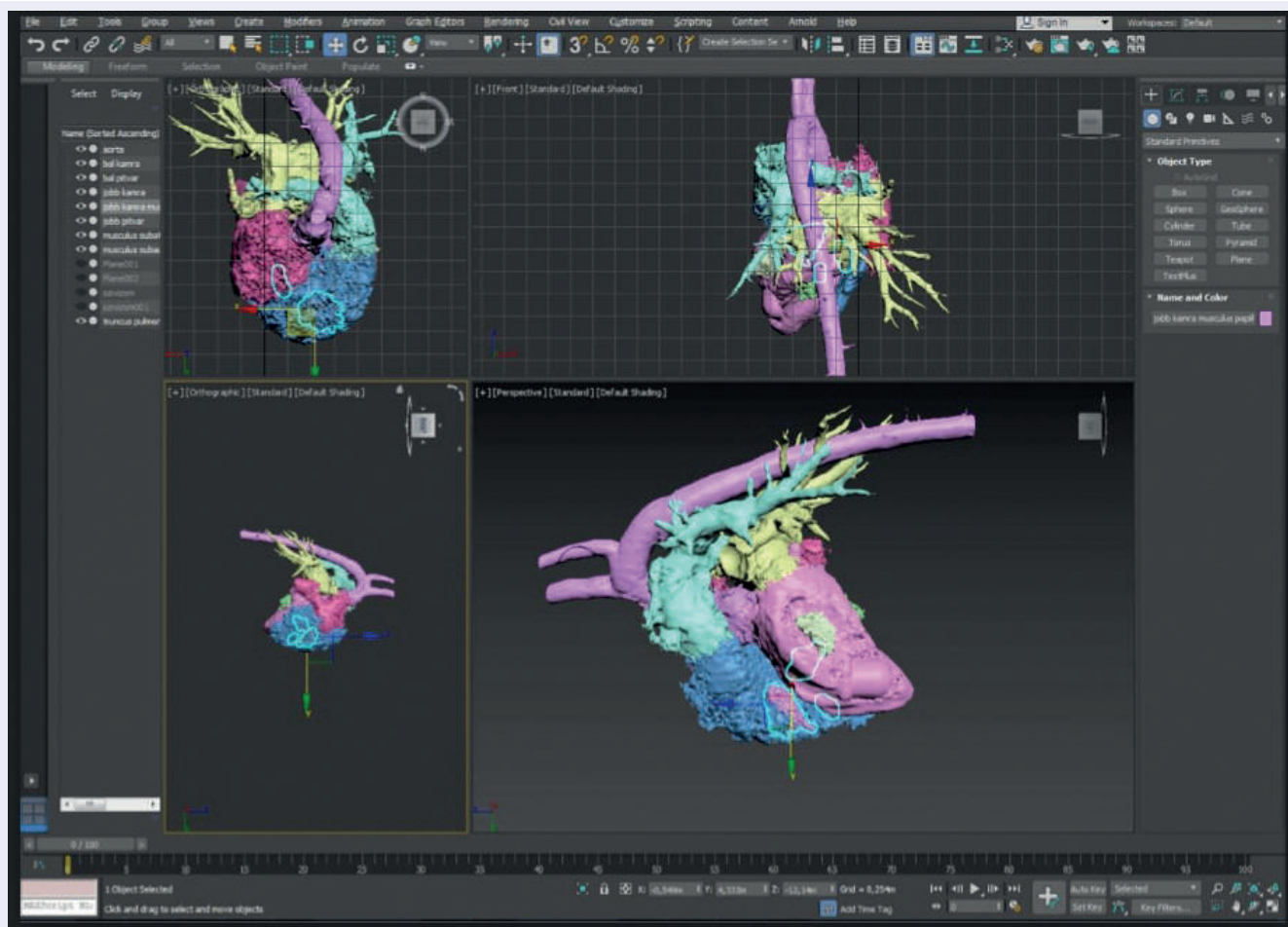
1. ÁBRA. A 3D Slicer által készített anatómiai rekonstrukciók és a CT felvétel fúziós képe

Bal oldali caudolateralis nézet, a szívizom eltávolítva. 1: ventriculus sinister, 2: m. papillaris subatrialis, 3: m. papillaris subauricularis, 4: m. papillaris magnus, 5: ventriculus dexter, 6: bulbus aortae, 7: conus arteriosus, 8: a. brachiocephalica, 9: a. subclavia sinistra, 10: truncus pulmonalis, 11: aorta thoracica, 12: vv. pulmonales, 13: atrium sinistrum

FIGURE 1. Screenshot in 3D Slicer following the reconstruction, embedded into the corresponding CT slice

Left caudolateral view, myocardium removed. 1: ventriculus sinister, 2: m. papillaris subatrialis, 3: m. papillaris subauricularis, 4: m. papillaris magnus, 5: ventriculus dexter, 6: bulbus aortae, 7: conus arteriosus, 8: a. brachiocephalica, 9: a. subclavia sinistra, 10: truncus pulmonalis, 11: aorta thoracica, 12: vv. pulmonales, 13: atrium sinistrum





2. ÁBRA. Screenshot a 3DS Max-ról a szív importálása után a nagyerekkel

A szívizom eltávolítva, fehér vonallal körberajzolva a jobb kamra szemölcsizmai. Bal felső port: cranialis nézet; jobb felső port: dorsalis nézet; bal alsó port: jobb oldali nézet; jobb alsó port: bal oldali nézet

FIGURE 2. Screenshot in the 3DS Max about the heart and the major vessels

Mycardium removed, the papillary muscles of the right ventricle are highlighted with a white contour. Left upper port: cranial view; right upper port: dorsal view; left lower port: right view, right lower port: left view

EREDMÉNYEK

STATISZTIKAI EREDMÉNYEK

A bal kamra esetében a térfogat és az állat testtömege közötti kapcsolat közepesen erős, a jobb kamra esetében pedig erős volt

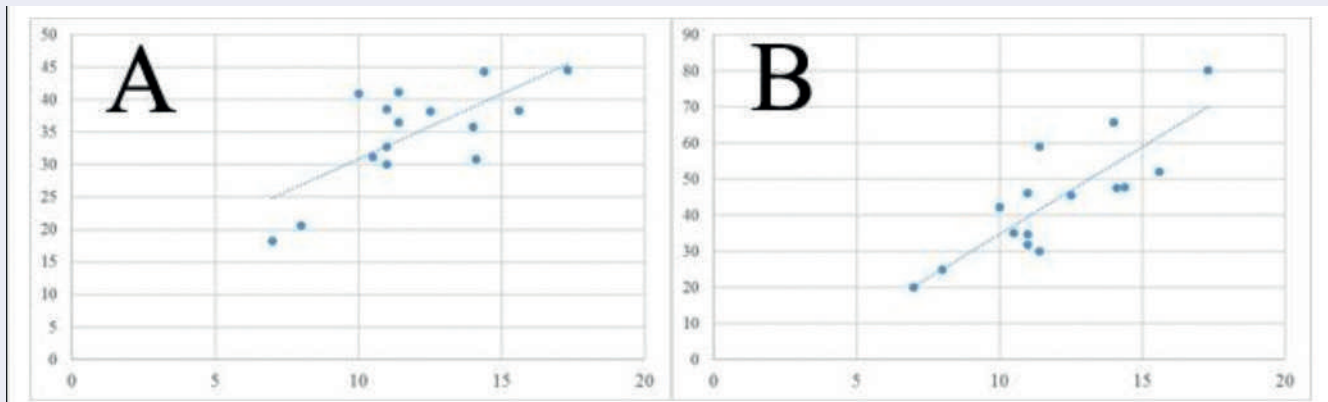
A vizsgált 15 kutya testtömege 7,0–17,3 kg között volt (átlag: 11,95; szórás: $\pm 2,76$). A bal kamra esetében a térfogat és az állat testtömege közötti kapcsolat közepesen erős ($\rho = 0,58$), a jobb kamra esetében pedig erős ($\rho = 0,80$) volt. Az összefüggés mindkét esetben szignifikáns ($p = 0,0236$ és $p = 0,0003$). Mindkét esetben lineáris volt az összefüggés, azaz a kamrák méretének és a testtömegnek hányadosa állandó, de ez az érték a bal kamra esetében kisebb, mint a jobb kamra esetében (3. ábra).

A bal kamra és szemölcsizmainak térfogatai közötti összefüggés vizsgálata során megállapítottuk, hogy a *m. papillaris subatrialis* esetében közöttük közepes mértékű ($\rho = 0,57$) kapcsolat van, amely nem szignifikáns ($p = 0,0277$). A *m. papillaris subauricularis* esetén pedig a kapcsolat gyenge ($\rho = 0,41$), amely nem szignifikáns ($p = 0,1280$). A trendvonalak alapján a szemölcsizmok térfogata nagyobb arányban nő, mint a kamra térfogata, miközben a *m. papillaris subatria-*

lis térfogatnövekedésének mértéke nagyobb, mint a *m. papillaris subauricularis* térfogatának növekedése (4. ábra).

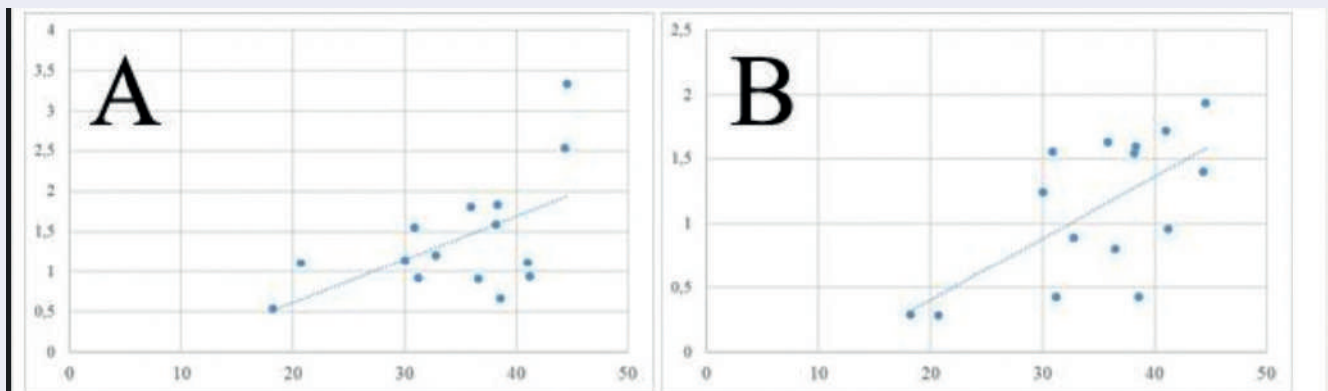
A bal kamra két szemölcsizmának térfogata között erős kapcsolat ($\rho = 0,76$) van, amely szignifikáns ($p = 0,0009$), de a kapcsolat nem egyenes arányú. Ebben az összefüggésben is az látszik, hogy a *m. papillaris subatrialis* térfogata a testtömeggel nagyobb arányban nő, mint a *m. papillaris subauricularis*-é (5. ábra).

A 3D Slicer-ben ezeket az anatómiai képleteket külön színnel ábrázoltuk, így az elkészült modellben a képletek látványosan elkülönülnek (6. ábra).



3. ÁBRA. A: A bal kamra térfogata („y” tengely, cm^3 -ben) a testtömeg („x” tengely, kg-ban) függvényében ábrázolva; **B:** a jobb kamra térfogata („y” tengely, cm^3 -ben) a testtömeg („x” tengely, kg-ban) függvényében ábrázolva

FIGURE 3. A: Plot and regression line for the correlation between the volume of the left ventricle (axis „y”, cm^3) and the bodyweight (axis „x”, kg); **B:** Plot and regression line for the correlation between the volume of the right ventricle (axis „y”, cm^3) and the bodyweight (axis „x”, kg)

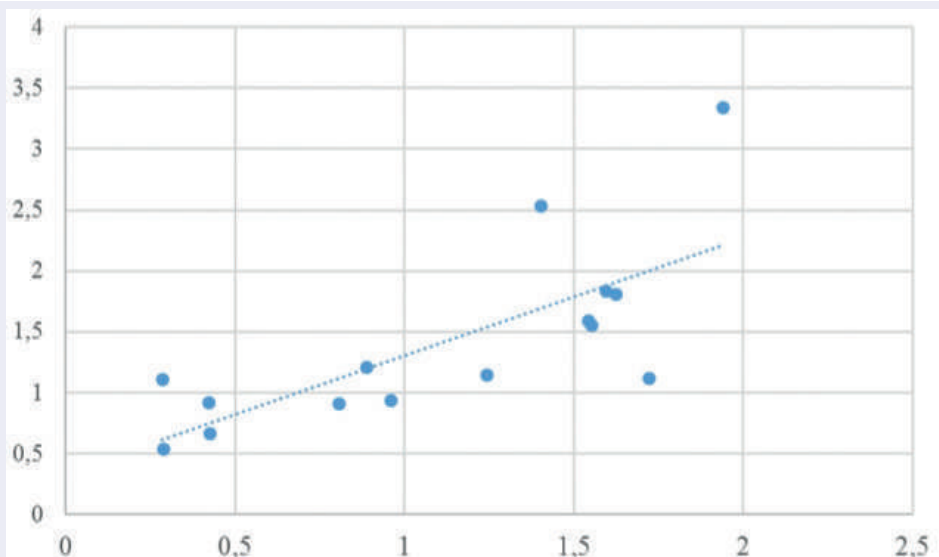


4. ÁBRA. A: A *m. papillaris subauricularis* térfogata („y” tengely, cm^3 -ben) a bal kamra térfogatának („x” tengely, cm^3 -ben) függvényében ábrázolva; **B:** a *m. papillaris subatrialis* térfogata („y” tengely, cm^3 -ben) a bal kamra térfogatának („x” tengely, cm^3 -ben) függvényében ábrázolva

FIGURE 4. A: Plot and regression line for the correlation between the volume of the *m. papillaris subauricularis* (axis „y”, cm^3) and the volume of the left ventricle (axis „x”, cm^3); **B:** Plot and regression line for the correlation between the volume of the *m. papillaris subatrialis* (axis „y”, cm^3) and the volume of the left ventricle (axis „x”, cm^3)

5. ÁBRA. A m. papillaris subauricularis térfogata („y” tengely, cm^3 -ben) a m. papillaris subatrialis térfogatának („x” tengely, cm^3 -ben) függvényében ábrázolva

FIGURE 5. Plot and regression line for the correlation between the volume of the m. papillaris subauricularis (axis „y”, cm^3) and the volume of the m. papillaris subatrialis (axis „x”, cm^3)

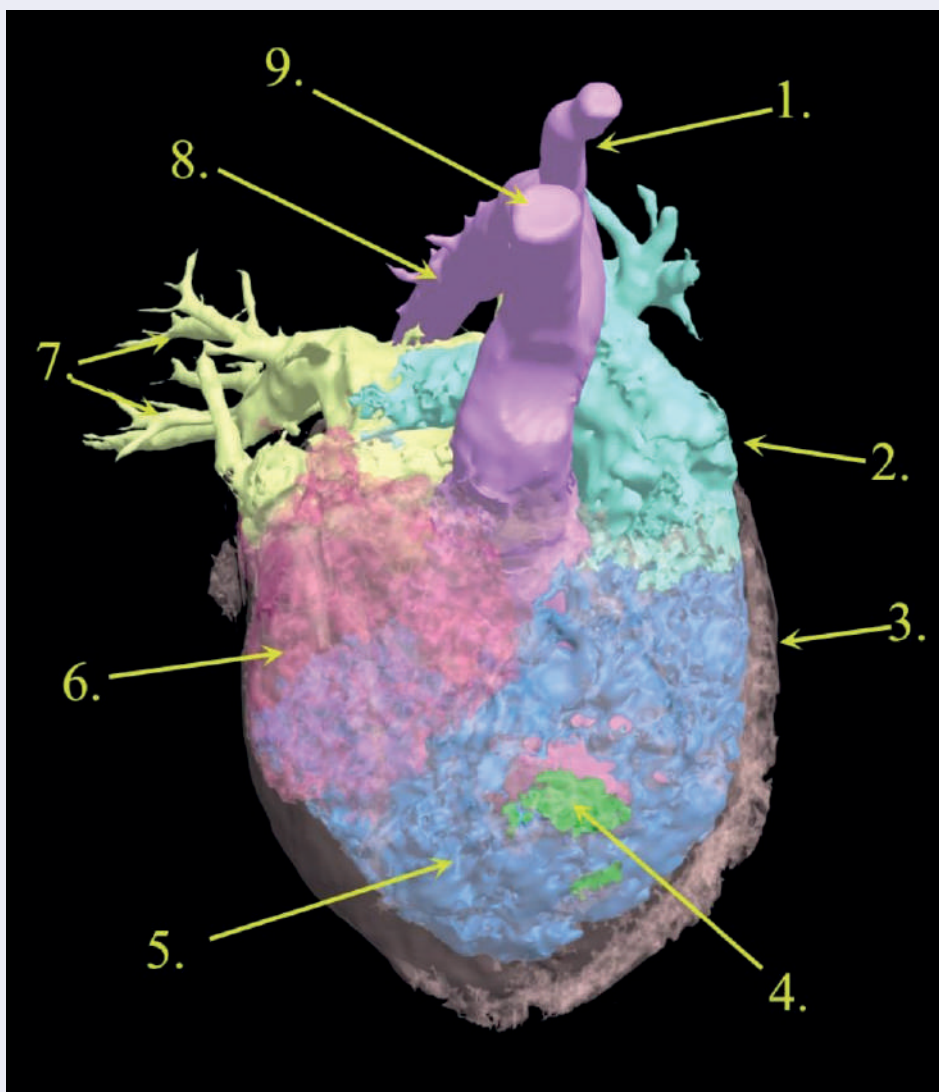


6. ÁBRA. A rekonstruált szív cranialis nézetben
A szívizom átlátszón ábrázolva, a jobb kamra fala a m. papillaris magnus felett eltávolítva.

1: a. subclavia sinistra, 2: conus arteriosus, 3: szívizom, 4: m. papillaris magnus, 5: ventriculus dexter, 6: atrium dextrum, 7: vv. pulmonales, 8: aorta thoracica, 9: a. brachiocephalica

FIGURE 6. The reconstructed heart model in cranial view
The myocardium is transparent, the wall of the right ventricle is removed dorsal to the m. papillaris subauricularis.

1: a. subclavia sinistra, 2: conus arteriosus, 3: myocardium, 4: m. papillaris magnus, 5: ventriculus dexter, 6: atrium dextrum, 7: vv. pulmonales, 8: aorta thoracica, 9: truncus brachiocephalicus



*A virtuálisból
3D-nyomtatással
létrehozható a szív
realisztikus modellje*

A 3D MODELLEK

A kutatás egyik fő célkitűzése a szív anatómiájának könnyebb megértését és elsajátítását segítő 3D-s virtuális és 3D-nyomtatással kézzelfoghatóvá tehető modell létrehozása. Az elkészített rekonstrukciós anatómiai modellek a kisebb szeletvastagság miatt, a rendelkezésre álló korábbi tanulmányoknál nagyobb térbeli felbontással segítik az adott anatómiai képletek megjelenését, ezzel tovább javítva a 3D-nyomtatás minőségét.

A 3D modell a szív realisztikus *in vivo* morfológiáját mutatja, az anatómiai képletek elhelyezkedése egymáshoz képest a valós diastolés helyzetüket tükrözi. A szívből kilépő nagyobb erek is megfelelően láthatók, az aorta esetében a teljes mellkasi szakasz megtekinthető, a *truncus pulmonalis* esetében pedig a kilépő értörzs egésze látszik.

A szív belső struktúráinak megjelenítéséhez az elkészített modellnél különböző metszési síkokat készítettünk, hogy szemléletesebben lehessen őket bemutatni mind a jobb, mind a bal kamra esetében. A szemölcsizmok megjelenítése különösen fontos a létrehozott modelleken, mivel ezek az anatómiai struktúrák általában nehezen megjeleníthetők térben és a megfelelő anatómiai viszonyok között.

MEGVITATÁS

A ma már hagyományosnak mondható kiegészítő képalkotó eljárások – röntgen, ultrahang, angiográfia – használatakor az állatorvosi praxisban szinte kizárólag 2D megjelenítést használnak. A 3D képalkotó vizsgálatok közül a CT a legmegfelelőbb [10, 27]. A kutatás során nehézséget okozott, hogy alapvetően humán diagnosztikára optimalizált és fejlesztett protokollokat az állatorvosi gyakorlatban is használható módszerré alakítsuk át.

A CT-vizsgálatok 60–65/min (flash mód) vagy 70–75/min (spirál mód) szívfrekvenciánál képesek jó minőségű és részletes képeket készíteni a szívről, azonban kutyáknál a szívfrekvencia általában véve magasabb. Kutatásunk során a kutyák esetében az átlagos szívfrekvencia 110/min körül volt, ami megnehezítette a képek értelmezését. Az emberek esetében a CT-vizsgálathoz optimális szívfrekvenciaérték a normál nyugalmi ritmusnak felel meg, így ezzel az eltéréssel magyarázható, hogy a kutyákról készült CT-felvételek minőségükben elmaradnak az emberekéhez képest. Ezen felül a kisebb testméret is rontja a kép térbeli felbontását, nehezíti az értelmezést.

Az alkalmazott kontrasztanyag megoszlását alapvetően a kutyák testtömege és perctérfogata határozza meg, így a kontrasztanyag mennyiségét a testtömeg alapján számoltuk ki (1,5 ml/ttkg) [11]. Ha a perctérfogat értéke a normál tartományban van, akkor a legnagyobb kontrasztkoncentráció a szívben röviddel (kb. 5–10 sec) a beadás után várható. Nagy perctérfogat esetén (pl. törpe termetű kutya-fajták, szepszis, anaemia) a kontrasztanyag megoszlása kevésbé kiszámítható. A kis perctérfogattal rendelkező egyedek esetében a kontraszt lassabban oszlik el és így a kontrasztgörbe is eltolódik. Ennek problémának a kiküszöbölésére több módszer is létezik. A szakirodalomban már említett bolus-teszt és az automatikus bolus-triggerelés vagy „bolus-tracking” módszerek közül mi a kutatásunk során a bolus-triggerelést használtuk [11, 30].

Az irodalmi adatokkal ellentétes előzetes tapasztalataink alapján a triggerelési mezőt az aorta leszálló ágába helyeztük, különben a kamrákban kialakuló nagy kontrasztdenzitás miatt a képi műtermék a kisebb anatómiai struktúrák elkülönítését nehezítette.

A kutyákat háti fektetésben vizsgáltuk. Ez a fektetési mód az EKG-elektrodák elvezetése miatt volt fontos, hogy ne érintkezzenek más testrésszel vagy egyéb tárgyakkal, mert az nagyban befolyásolhatja a szív ciklusról kapott eredményeinket. Korábbi kutatások során inkább a sternalis fektetést alkalmazták a vizs-

*A gyorsabb szívverés
miatt a kutyákról
készült CT-felvételek
minőségükben
elmaradnak az
emberekéhez képest*

Kisállatok szívvizsgálatára fejlesztett vagy pedig fajspecifikus EKG-vezérléssel rendelkező CT-készülék még nem áll rendelkezésre

A kis és közepes testtömegű kutyák relatív szívterfogata nagyobb, mint a nagytestűeké

gált kutyáknál [10]. Az EKG a CT-be épített, azzal összehangolt 4 elvezetéses, csatornás rendszerrel működött (ES GS 43 electrode, Esvico, Lengyelország). A klinikai gyakorlatban a mellkasi CT-vizsgálatok során általában a sternalis fektetés használatos [26, 31]. Vizsgálatainkban az állatok háti fektetését az indokolta, hogy ebben a pozícióban az EKG-jel tisztább, kevésbé zajos.

A CT-vizsgálati protokollhoz hasonlóan ma még kizárólag kisállatok szívvizsgálatára fejlesztett vagy pedig fajspecifikus EKG-vezérléssel rendelkező CT-készülék nem áll rendelkezésre. A humán protokollokban a felvételek készítése során a teljes szív ciklus alatt (0–100%) az EKG-jel alapján 5%-os lépésenként készül el egy sorozat. Egy vizsgálat alatt 0,6 mm-es szeletvastagsággal nagyszámú kép készül, amely megterheli a számítógépes tároló kapacitásokat, ezért a humán protokollban csak a kiértékeléshez szükséges fázisokat mentik el. A kutyák vizsgálata esetében ez az eljárás téves értékelést okozhat, mert a CT-vizsgálati protokollok humán EKG-ra optimalizáltak, a kutyák eltérő élettani paramétereire (szívfrekvencia, EKG-görbe eltérő lefutása) a két végállapot (systole és diastole) automatikus meghatározása pontatlan. A rekonstrukció során ezért a teljes szív ciklust ábrázoló képsorozatot rekonstruáltuk és manuálisan választottuk ki a systolét, ill. diastolét ábrázoló „frame”-et a billentyűk helyzete alapján.

A képkötő eljárás és a rekonstrukció erőforrásigénye miatt csak kevés állattal tudtunk dolgozni, amelyeket véletlenszerűen választottuk ki. A kis elemszám miatt a statisztikai eredményeink szignifikancia szintje is kisebb.

Egy korábbi vizsgálat során, nagyobb egyedszámmal végzett kísérletben, ahol mind a kutyák fajtája, mind a kutyák tömegű szélesebb határok között mozgott, arra a következtetésre jutottak, hogy a kis és közepes testtömegű kutyák esetében a relatív szívterfogat nagyobb volt, mint nagytestű fajtársaik esetében [12]. Kísérletünkben hasonló eredményre jutottunk, bár a kis mintaelemszám miatt a szignifikancia szintet az összefüggések nem érik el. Eredményeink azt mutatják, hogy még a mi, relatíve szűk testtömegtartományba tartozó állataink esetében is a szívterfogat és a testtömeg változása nem áll egyenes arányban egymással.

A vonatkozó szakirodalom áttanulmányozása során nem találtunk olyan publikációt, amely foglalkozott volna azzal, hogy a szemölcsizmok térfogata egymáshoz, ill. a kamra térfogatához hogyan viszonyul. A szemölcsizmok mérete hatással van a mitrális billentyű normális funkciójára [32], de erre vonatkozó, CT-re alapozott méréseket sem találtunk. Saját kutatásunkban a kamratérfogat és a szemölcsizmok térfogata között nem találtunk szignifikáns összefüggést, bár a kapcsolat statisztikailag fennáll, és nagyobb létszámú vagy szélesebb testtömeg-eloszlású állományon valószínűleg kimutatható lenne. Meglepő volt számunkra, hogy a két szemölcsizom térfogata egymáshoz képest nem azonos arányban változik a kamra térfogatának növekedésével. Méréseinket kizárólag a diastole állapotában végeztük el, a systolés állapottal való összevetés és ezen keresztül a szívterjesítményt, ill. a szemölcsizmok összehúzódásának mértékét nem vizsgáltuk.

A szív 3D modelljének megalkotásával kapcsolatban kevesebb szakirodalom állt a rendelkezésünkre, és ezek is alapvetően MRI-vizsgálatokon alapultak [24]. A kutatásunkhoz készített modellhez képest a legtöbb vizsgálat esetében gyengébb térbeli felbontással és nagyobb szeletvastagsággal dolgoztak, ami az elkészített modellt is kevésbé pontosá teszi. A kísérletek többségében *post mortem* módon vizsgálták a szívet, már preparált formában, az elkészült modell nem a szív *in vivo* viszonyait ábrázolja, ellentétben az általunk készített modellel. Példaként említhető, hogy egy korábbi kutatásban egy 37,5 kg-os egyedden végzett MRI-mérésen az 5 mm-es szeletvastagság miatt a szemölcsizmokat nem lehetett egyértelműen azonosítani a felvételeken, míg a saját kutatásunkban a jóval kisebb testtömegű állatokon a bal kamrai szemölcsizmokat sikerült rekonstruálnunk.

Más korábbi kísérletek során ugyan *in vivo* körülmények között vizsgálták a szívet CT-vel, azonban a vizsgálat után az állatot túllaltatták és a szívből és az ereiből

latex befecskendezése után készítették egy preparátumot [10]. Ez az eljárás etikai szempontok miatt is nehezen elfogadható. Saját kísérletünkben nagy térbeli felbontású CT és az előzetesen bejuttatott kontrasztanyag ellenére sem tudtuk a koszorúsereket a szívben elkülöníteni, ami korábban RIVERO és mtsainak sem sikerült a befecskendezett latex ellenére. DREES és mtsai beagle kutyákban gyógyszeresen lassították a szívfrekvenciát és értágítókat is alkalmaztak a koszorúserek megjelenítéséhez [11]. Mi el akartuk kerülni a túlzott gyógyszerhasználatot, mivel a kísérleti engedélyben leírt célokat anélkül is teljesítettük az állatok életének veszélyeztetése nélkül.

Egy specifikusabb kutatásban MRI-alapú, *in vivo* készítették a korábbiaknál pontosabb számítógépes 3D modelleket [13]. Ennek a kutatásnak a fókuszában kizárólag a szív bal kamrájának fala volt, aminek kidolgozása a modellen nagyon pontosra sikerült, de a szív általános anatómiájáról nem lehetett képet alkotni. Az általunk készített modelleknél minden fontos, rekonstruálható struktúra megjelenítésére, a teljes szív leképezésére törekedtünk.

A kutatásunk új és pontosabb betekintést enged a kutyaszív anatómiájának megértésére és ennek 3 dimenziós bemutatására. A meglévő modell 3D-nyomatása folyamatban van, a hallgatóság igénye szerint akár tömegesen is megvalósítható. A jövőben tervezzük a systolés mérések elvégzését és a szívteljesítmény vizsgálatát a vizsgált populáción. Tervezzük továbbá, hogy a kutatást kiterjesztjük 20–40 kg testtömegtartományba tartozó kutyák vizsgálatára, az így kapott adatok kiértékelésére és akár újabb modellek elkészítésére.

A jövőben tervezik a systolés mérések elvégzését és a szívteljesítmény vizsgálatát is a vizsgált populáción, ill. nagyobb kutyákon

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg. A támogatási szerződés száma: AZ EFOP-3.6.3-VEKOP- 16-2017-00005, címe: „Tudományos utánpótlás erősítése a hallgatók tudományos műhelyeinek és programjainak támogatásával, a mentorálás folyamatának kidolgozásával”.

A publikációt elkészültét a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíja (BO/00921/19) támogatta.

IRODALOM

- Pringle Z, Rea PM (2018) Do Digital Technologies Enhance Anatomical Education? Practice and Evidence of Scholarship of Teaching and Learning in Higher Education. Vol 13, No 1 pp 2–27
- Budras K, McCarthy P, Fricke W, Richter R, Horowitz A (2007) Anatomy Of The Dog. 5th ed, Hannover: Schlutersche
- Dyce, K, Sack, W, Wensing, C (2009) Textbook Of Veterinary Anatomy. Elsevier Science Health Science Division
- Evans H, De Lahunta A, Miller M (2013) Miller's Anatomy Of The Dog. 4th ed, St. Louis, Mo: Elsevier
- Fehér Gy, (2000) A Háziállatok Funkcionális Anatómiája II. Budapest: Mezőgazda Kiadó, pp 215–226
- König H, Aurich C, Liebich H (2014) Veterinary Anatomy Of Domestic Mammals. 6th ed, Germany: Schattauer GmbH.
- Nickel E, Schummer A, Seiferle E (2004) Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band III. Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
- Constantinescu G, Habel R, Hillebrand A, Sack W, Schaller O, Simoens P, De Vos N (2012) Illustrated Veterinary Anatomical Nomenclature. 3rd ed, Stuttgart: Enke
- De Rycke L, Gielen I, Simoens P, van Bree H (2005) Computed tomography and cross-sectional anatomy of the thorax in clinically normal dogs. Am J Vet Res 66:512–524
- Rivero M, Ramirez J, Vazquez J, Gil F, Ramirez G, Arencibia A (2005) Normal Anatomical Imaging of the Thorax in Three Dogs: Computed Tomography and Macroscopic Cross Sections with Vascular Injection. Anatomia, Histologia, Embryologia: J Vet Med Series C 34:215–219
- Drees R, Frydrychowicz A, Reeder S, Pinkerton M, Johnson R (2011) 64-Multidetector Computed Tomographic Angiography of the canine coronary arteries. Vet Radiol Ultrasound 52:507–515
- Uehara T, Orito K, Fujii Y (2019) CT-based anatomical features of large airway and heart volume in dogs of different body size. Vet J 246:21–26
- Arevalo H, Plank G, Helm P, Halperin H, Trayanova N (2013) Tachycardia in Post-Infarction Hearts: Insights from 3D Image-Based Ventricular Models. PLoS One 8:e68872
- Release RB, Nieder GL, Dorup J, Hansen MS (2000) Going virtual with quicktime VR: New methods and standardized tools for interactive dynamic visualization of anatomical structures. Anat Rec 261:64–77

15. Fedorov A, Beichel R, Kalpathy-Cramer J, Finet J, Fillion-Robin J-C, Pujol S, Bauer C, Jennings D, Fennessy F, Sonka M, Buatti J, Aylward SR, Miller JV, Pieper S, Kikinis R (2012) 3D Slicer as an Image Computing Platform for the Quantitative Imaging Network. *Magn Reson Imaging* 30:1323–1341
16. Kapur T, Pieper S, Fedorov A, Fillion-Robin JC, Halle M, O'Donnell L, Lasso A, Ungi T, Pinter Cs, Finet J, Pujol S, Jagadeesan J, Tokuda J, Norton I, Estepar RSJ, Gering D, Aerts HJWL, Jakab M, Hata N, Ibanez L, Blezek D, Miller J, Aylward S, Grimson WEL, Fichtinger G, Wells W M, Lorensen WE, Schroeder W, Kikinis R (2016) Increasing the Impact of Medical Image Computing Using Community-Based Open-Access Hackathons: The NA-MIC and 3D Slicer Experience. *Med Image Anal* 33:176–180
17. Kikinis R, Pieper SD, Vosburgh K (2014) 3D Slicer: a platform for subject-specific image analysis, visualization, and clinical support. In: Jolesz F (eds) *Intraoperative Imaging Image-Guided Therapy*, Springer, New York pp 277–289
18. Bertolini G, Prokop M (2011) Multidetector-row computed tomography: Technical basics and preliminary clinical applications in small animals. *Vet J* 189:15–26
19. Bertolini G, Angeloni L (2017) *Vascular and Cardiac CT in Small Animals* DOI: 10.5772/intechopen.69848
20. Hu KC, Kuo CJ, Hung J, Chen LK, Lin CT, Yeh LS (2008) Case report: multi-detector computed tomography of patent ductus arteriosus in a dog. *JVCS* 1:61–65
21. Contreras S, Vázquez J. M, Miguel A. D, Morales M, Gil F, López O, Arencibia A (2008) Magnetic resonance angiography of the normal canine heart and associated blood vessels. *Vet J* 178:130–132
22. Mai W, Weisse C, Sleeper M. (2010) Cardiac magnetic resonance imaging in normal dogs and two dogs with heart base tumor. *Vet Radiol Ultrasound* 51:428–435
23. Nautrup CP, Nautrup BP, Weber S, Kästner M (2014) Interactive three-dimensional real-time modeling of the feline heart, a new application not only for the anatomical training. *Anat Histol Embryol* 43(1. suppl):72
24. Prevcis D, Reinitz L, Petneházy O, Garamvölgyi R, Bajzik G, Sótónyi P (2015) Demonstrating the anatomy of the canine heart using MRI based 3D reconstruction technology. 8th meeting of Young Generation of Veterinary Anatomists; Poznan 2015
25. Shin C, Son W, Jang M, Kim H, Han H, Cha J, Lee I (2018) Selection of appropriate endotracheal tube size using thoracic radiography in Beagle dogs. *Vet Anaesth Analg* 45:13–21
26. Bertolini G (2017) *Body MDCT In Small Animals*. Springer International Publishing AG. pp 365–383
27. Henjes CR, Nolte I, Wefstaedt P (2011) Multidetector-row computed tomography of thoracic aortic anomalies in dogs and cats: patent ductus arteriosus and vascular rings. *BMC Vet Res* 7:57
28. Schwarz T, Saunders J (2011) *Veterinary Computed Tomography*. Chichester: Wiley- Blackwell
29. Boardman T (2006) 3DS max 7 - Alapvető technikák középfaladóknak - CD melléklettel, Kiskapu Kft.
30. Thierry F, Chau J, Makara M, Specchi S, Auriemma E, Longo M, Handel I, Schwarz T (2018) Vascular conspicuity differs among injection protocols and scanner types for canine multiphasic abdominal computed tomographic angiography. *Vet Radiol Ultrasound* 59:677–686
31. Asorey I, Pellegrini L, Canfrán S, Ortiz-Díez G, Aguado D (2020) Factors affecting respiratory system compliance in anaesthetised mechanically ventilated healthy dogs: a retrospective study. *J Small Anim Pract* 61:617–623
32. Kim M, Choi S, Choi H, Lee Y, Lee K (2019) Echocardiographic Assessment of Papillary Muscle Size and Function in Normal Beagle Dogs. *J Vet Clin* 36:155–158

Közlésre érk.: 2022. jan. 30.

Dr. Horváth László (1923–2022)

DR. HORVÁTH LÁSZLÓ 1923.06.13-án Földeákon kisiparos családban született két testvérével. Itt végezte el a négyosztályos elemi iskolát, majd Makón, nyolcosztályos gimnáziumban érettségizett. Egyetemünkön 1941-ben kezdte meg tanulmányait. Kiskunhalason hunyt el, 2022.06.03.-án.

Fordulatokban gazdag életében kiemelkedő szerepet kapott az 1956-os Forradalom és Szabadságharc, amelynek cselekvő részese és elszenvedője is volt. Pályáját, személyiségét élethűen mutatja be Horváth László kollégánk 2006-ban, a Forradalom és Szabadságharc 50. évfordulója alkalmával összeállított Korrajza:

„Négy rendszert éltem át és egy hatalmas világháborút. Megtapasztaltam, hogy mit jelentett a különböző korokban szerepelni, életben maradni, hogyan kellett megszenvedni, és áldozatot hozni a mindennapi életről. Ezt azért is tartom fontosnak, mert a háborúhoz, a fasizmushoz, a bolsevizmushoz képest bizony megbecsülendő még a mostani szabadságunk, és megbecsülendőek mostani lehetőségeink is. Most, mintha megint – ugyan finomabb, rafináltabb eszközökkel, "békés" úton – fölbukkant volna az a stílus, amely szerint, majd megmondják nekünk, hogyan kell jólérezni magunkat.

A "megmondás" – bármely diktatúra gyakorolta – vezetett, vezethetett olyan riasztó, személyesen is átélt borzalmakhoz és hétköznapi hősiességekhez, mint a nyilas karhatalmisták dunaparti tömegmészárlása, zsidók bűntudása, egyetemistaként az éhezés, a rettegés, a bevonulás SAS-behívóval, a kitelepítés az egyetemi zászlóaljjal, annak megélése, hogy mindössze nyolcan – hetvennégyből nyolcan – tértünk vissza, az együtt utazás-menetelés a koncentrációs táborok túlélőivel, hazatérve "nyugatos" minősítéssel élni, éveket várni, hogy selejt emberek "minősítsenek", 5 év késéssel diplomát kaphassak, s közben életben maradni, s életben tartani a reményt. Állatorvosként a Titó-féle láncoskutya-korszakban egy szerb nemzetiségű faluban megélni a falu 90%-ának kitelepítését, majd átélni a legszemélyesebb magánügyembe való beavatkozást, hogy kit választhatok társul. És, mert egy szerb leányt vettem feleségül, büntető helyekre kerülni állatorvosként, s ezért is büntetést, állásvesztést elszenvedni.



Át kellett élnem a mai hírhedt III/III-as ügynöknek megfelelő beszerzési kísérletet arra, hogy a listán megadott parasztokról terhelő adatokkal szolgáljak, átélni azt, ahogy ezeket a derék embereket sunyi, aljas módon tönkretették. Meg kellett vívni a harcot magammal is, hogy ember, s eskümhöz híven állatorvos maradjak ilyen körülmények között is, vagy teljesítsem a párt parancsát. Feleségemmel együtt úgy döntöttünk, emberek maradunk.

Át kellett élnem azt is, mi jár annak, aki ember akar maradni, ezért aljas emberek vádaskodásaival szemben védekezni, az emberként viselkedésért a léprecsalást átélni, következményként átélni az AVH-s kihallgatásokat, átélni egy kiváló ember, testi-lelki jóbarátom, sporttársam „eltűnését”, majd hazakerülését ronccsá verve, megvakítva, s néhány napon belül halálát, csupán azért, mert francia fogságba esett bátyjától, „nyugatról”, levelet kapott.

Nagy léptékben földidézve, ilyen előzmények után érkezett el számomra 56.

Én egy vidéki szürettről tértem haza, október 24-én. A falu főutcája tömve volt akkor már az emberekkel, megállították az autót, kiszedtek az autóból becsavartak jobbról-balról nemzeti zászlóval és egy pillanat alatt fölvittek a tanácsháza erkélyére, és ott szólnom kellett. Mondandómnak az volt a lényege, amit akkor szívből kívántunk, hogy oroszok haza, szabadság, egyenlőség, testvériség. Ezt követően megalakult a forradalmi bizottság, annak az elnökévé választottak. Fogadalmat tettünk, hogy nem lehetünk igazságtalanok és szubjektív módon nem vonhatunk felelősségre embereket. Bízunk az igazságszolgáltatásra, hogy kitartanak bűnösnek és kit nem, továbbá, hogy fegyvert nem engedünk a faluba hozni és nem fogadunk semmiféle fegyveres csapatot. Olyan hét következett be, amit az életben nem lehet elfelejteni. Felszabadult, ragyogó arcú emberek, magára talált a nemzet, olyan volt, mint egy igazi brazil karnevál. Az emberek sétáltak, nem mentek haza, éjjel-nappal az utcán voltak. Aztán az oroszok bejöttek és akkor vége lett mindennek.

Még '56 végén reménykedtem, hogy nem lesz megtorlás, mert kádár elvtárs az első fehér könyvében, amit kiadott rögtön október 23-a után, még jogosnak ismerte el a forradalmat, nem ellenforradalomról beszélt akkor még, hanem forradalomról, és megígérte, hogy teljesen más formában fogják berendezni az államot.

Az év végén a minősítés már ellenforradalom volt. 1957. január közepén Szegedről hazafelé menet – mint utólag megtudtam, országos körözést adtak ki ellenem – az út közepén föl tartottak, kiszedtek az autóból és a szegedi rendőrségre kerültem. Az autót, a leadás előtt álló 50 db hízómat és a bespájkolt takarmányt soha többet nem láttam.

Szegedről Budapestre kerültem a gyűjtőfogházba, onnan pedig a kistarcsai internálótáborba. Eltelt egy pár hónap és sikerült szereznem egy grafiteruza-belet, meg kevés WC-papírt és arra írtam egy panaszt, amit a legfelsőbb ügyésznek megcímeztem, majd, amikor a konyhába beosztottak krumplit pucolni, loptam egy egész krumplit, kettévágtam beletettem ezt a papírt, összekötöttem, és amikor sétáltunk, akkor kidobtam az internáltak kerítésén a közút felé. Ez a rabtársak segítségével sikerült, akik tudták előre, hogy mi a szándékom és a csoportnak tőlem távolabbi eső végén műbalhét csináltak, mire az örök odaszaladtak. Néhány nap múlva hívatnak az internáló tábor parancsnokához. Ott áll három civil és kezdenek faggatni, hogyan juttattam ki a panaszt, ki segített, kik a cinkosaim. Persze, nem mondtam el. Végül közölték, hogy kivizsgáltatta a legfőbb ügyész elvtárs az általam leírt panaszokat,

valóban nem igazak azok a vádak, amik alapján internáltak, s a kezembe adták a szabaduló levelet, azzal, hogy jelentkezsem a munkahelyemen, jelentkezsem a járási párttitkárnál, vegyem fel a munkát és dolgozzak, nem lesz semmi bajom.

Akkor éjjel átbeszéltük az éjszakát az édesanyámmal meg a lánytestvéremmel, mert a bírósági fogalmazó Öcsém szintén internálva volt, Tökölön, ugyanilyen okból. Másnap kilenc órakor bent voltam a makói járási párttitkárnál, délután ötkor kidobtak azzal, hogy nem kíván a párttitkár elvtárs velem találkozni. Elkesezve mentem haza, nem tudtam, hogy mitévő legyek. Éjszaka megoldódott a dolog, mert éjjel arra ébredtem föl, hogy valami hideg van az oldalamban, s amikor kinyitottam a szemem akkor egy pufajkás őr állt mellettem egy géppisztolyt nyomva az oldalamba. Az Édesanyám ájultan az egyik sarokban, az Édesapámat pedig a másik sarokban őrizte szintén egy pufajkás. Visszavittek a makói rendőrségre, ott elvették tőlem a legfőbb ügyésznek a szabadítólevelét, ott előttem összetépték azzal, hogy a legfőbb ügyész Budapesten parancsol, ők pedig itt. És elvittek Tökölre.

A Népköztársaság megdöntésére irányuló szervezkedés vezetésével vádoltak, aminek a büntetési tétele halál. A cellában, amelyikben nyolcan voltunk, a tárgyalásom előtt 8 nappal megjelent az a makói ügyész, aki elvitetett. Kezet fogott velem, hogy van Doktor úr, köszönöm jól, mondtam, mire Ő: nyolc napja van. Következő nap megint jött, Doktor úr hogy van, hét napja van, elkészült a legrosszabbra? S ez így ment tovább, a tárgyalásig.

A tárgyaláson a vád megdőlt, tizennégy vádlótanú volt, ebből tizenhárom elismerte azt, hogy kényszer alatt vallottak. Úgy, hogy a bíró háromszor is ki akarta üríttetni a termet, mert tombolt a közönség a tanúk ellen, és maga a bíró úgy fogalmazott, hogy a vádlott helyett Önöknek kellene itt ülni.

A lényeg, hogy szabadlábba kerültem, de, ahogy kiléptem a Csillag börtön ajtaján, már az ajtóban rendőri felügyelet alá helyeztek.

Olyan szerencsém volt, hogy a szabadlábba helyezésem után meg akartam keresni ezt a bírót, s pár évvel később sikerült is megtudnom a nevét, címét, s elmehettem megköszönni az emberségét. Elmondta az idős bíró, hogy fiam, nagyon nagy szerencséje volt, mert a maga tárgyalása előtt egy és fél évvel én még szemet lapátoltam a Szeged Újvárosi Állomáson, megbízhatatlan voltam és elküldtek a bíróságtól, majd rehabilitáltak, és így jutott hozzám a tárgyalása.

Harminc éves voltam.

Végigjártam az egész országot, és sehol nem kaptam még csak fizikai munkát sem. S akkor egy ismerősöm említette nekem, hogy Kiskunhalason van egy REYLE GÉZA nevű tanácselnök, próbálkozzak meg, hátha

tud segíteni. Aztán eljöttem ismeretlenként a REYLÉ-hez, átadtam neki a bírósági ítéletemet és Ő minden kérdés nélkül adott nekem egy segédmunkási állást a városnak a vágóhídján, ahol segédmunkás voltam, söprögettem és szedtem össze a hulladékokat, de már dolgozhattam.

Egy jó fél év után egyszer csak kért egy nyilatkozatot tőlem a REYLE GÉZA azzal, hogy betartom a játékszabályokat, nem vagyok a rendszernek ellensége, és hát együtt kívánok működni a tanáccsal. Kiderült, hogy akkor megüresedett egy állatorvosi állás Halason és keresztülvitte a bizottságnál, hogy ezt megkapjam. Aztán ismét szerencsém volt, mert a Mezőgazdasági Osztály vezetője TÓTH BALÁZS volt, aki fölkarolt, a kezdetben igen sűrűn jött politikai támadásoktól megvédett, mert megint makacs voltam, nem mentem el foxi-maxi egyetemre, soha nem köszöntem "Szabadsággal", ami a szabványköszönés volt. Nem gázsuláltam, és kezdetben gyakran kaptam emiatt támadást. TÓTH BALÁZS segített és keresztül tudta vinni, hogy 1967-ben a munkám elismeréseképpen városi vezető főállatorvossá neveztek ki anélkül, hogy párttag lettem volna.

Aztán 1990-ben jött a rendszerváltás. Parlamenti képviselőjelöltje voltam a Független Kisgazdapártnak, és igen magas támogatottsággal egyéni képviselőként a Parlamentbe kerültem.

A Nemzetbiztonsági Bizottságnak a titkára lettem, majd az alelnöke. Ez rossz is volt nekem, mert amikor bementem a Parlamentbe, akkor végig tudtam volna mutogatni, hogy kik voltak besúgók. 34 ilyen beszerzett ember volt az első Országgyűlésben, aki szolgálatot tett a kommunista rendszernek.

Aztán át kellett élnem a Kisgazdapárt Torgyán-korszakát, a Kisgazdapárt tönkretételét, a kirúgásomat a Pártból. Kísérteties volt a hasonlóság az 50-es évek módszeréhez. Mondvacsinált okokkal TORGYÁN meg akarta buktatni az Antall-kormányt is. Mi 36-an bent maradtunk a kormánykoalícióban, mert ezt vállaltuk, s végig kitartottunk az Antall-kormány mellett. Ennek a csoportnak a vezetője lettem, de a pártegységet nem sikerült már létrehozni.

1956 októbere végülis – a család mellett – az életem értelmét adta. A sorsnak csak köszönni tudom, hogy most tetteimmel elszámolhatok. Emberközelben tudtam maradni, sorstársaim között kiváló emberekkel ismerkedhettem meg. Jólesik most is, hogy amikor találkozom az emberekkel, fölcsillanó szemmel, jó ismerősként üdvözölnek. Ez az igazi elismerés, ezzel lettem én is kiskunhalasi, és ez az, amiért érdemes volt így élni.

Mindezt nem életrajzomként, hanem korrajzként szántam."

Ez HORVÁTH LÁSZLÓ 1956 ötvenedik évfordulója kapcsán 2006-ban készült önvallomása életéről, amelyet az alábbiakkal egészítünk ki:

Már az ostrom alatt, albérletben élő hallgatóként is megnyilvánult szociális érzékenységét megtartotta a Rákosi-időkben is, amikor a vidéki gazdálkodókat is éhezésre kényszerítette a rendszer. A körzeti állatorvosként a segítség szándékával a nehézsorsúak érdekében elkövetett – mondhatni nemegyszer „rózsasándori stiklikk” – följelentéssel és ÁVH-letartóztatással végződtek, amiből – a helyi csapat tehetséges futballistájaként – a szurkolók, s a csapat a hatalommal egybeként együttműködő „szponzorai” szabadították ki, s értek el számára egy időre enyhe büntetést.

1990-ben a reformpárti oktatók és hallgatók Egyetemünk Auláját megtöltő gyűlést szerveztek más egyetemek, politikusok részvételével. A gyűlés végeztével odajött hozzám egy általam addig nem ismert javok-rabeli kolléga azzal, hogy „HORVÁTH LÁSZLÓ vagyok, én veled, veletek értek egyet”. És attól kezdve korát meghazudtoló friss szemlélettel, szellemmel, lendülettel támogatta egy korszerű állategészségügyi szervezet és egy valódi rendszerváltozás (mert nem ragadtunk le csak a hivatásunknál), ügyét, az akkori 13 állatorvos-képesítésű országgyűlési képviselő között korelnökként is a legfiatalosabb szemlélettel. Nem rajta múlt néhány szervezeti reformunk kudarca.

Ugyanakkor Egyetemünk reformjának, Üllő, Dóra major Egyetemhez csatolásának is eredményes lobbistája volt.

1996-tól a MÁOK Bács-Kiskun Megyei Szervezet titkára, majd alelnöke, motorja, nélkülözhetetlen személyisége.

Támogatója és aktív résztvevője volt az 1977-ben kezdeményezett és megszervezett Magyar Állatorvosok I. Világtalálkozójának, az ekkor alakult Magyar Állatorvosok Világszervezetének pedig alapító és életében aktív tagja.

1998-tól Kiskunhalason önkormányzati képviselővé választják.

2003-ban, 80 évesen, megalakítja és első elnöke lesz Kiskunhalason az Állatvédő és Természetbarát Egyesületnek.

2011-ben Tolnay Sándor-díjat, 2013-ban Mócsy János-díjat, 2020-ban Gránit Diplomát kapott.

Élete példát mutat emberségből, kollegialitásból, segítőkészségből, kitartásból, a köz, a nemzet szolgálatából.

Kedves Laci, köszönöm megtisztelő és felejthetetlen barátságodat, nyugodjál békében!

dr. Szieberth István

Minipig
as laboratory animal

Literature review

A. Kiss*
A. Bersényi
G. Korsós
Zs. Wagenhoffer
K. Fodor

Állatorvostudományi Egyetem,
Laborállat-tudományi
és Állatvédelmi Tanszék
H-1078 Budapest, István utca 2.

*e-mail: kiss.annamaria@univet.hu

A törpesertés, mint laboratóriumi állat

Irodalmi összefoglaló

**Kiss Annamária*, Bersényi András, Korsós Gabriella,
Wagenhoffer Zsombor, Fodor Kinga**

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők irodalmi adatok alapján ismertetik a törpesertések laboratóriumi felhasználhatóságát, fontosabb jellemzőit és tartási körülményeit. A törpesertés az orvosbiológiai kutatásokban egyre gyakrabban használt állatfajnak tekinthető, hiszen anatómiai és élettani szempontból nagyon hasonlít az emberi szervezethez, így elsősorban a különböző szerveket (bőr, csontozat, emésztőtraktus, szív- és érrendszer, immunrendszer stb.) érintő humán betegségek modellezésére alkalmazzák. Állatorvosként fontos megismerni a fajta széleskörű kísérleti alkalmazását, altatásának kivitelezését, tartásmódbeli szükségleteit és leggyakoribb betegségeit.

SUMMARY

In the following article, the authors present the laboratory utility, key characteristics, and housing conditions of miniature pigs, which is considered to be an increasingly used species in biomedical research in experiments requiring large animals. The breed's anatomical and physiological features are very similar to the human body. Because of the similarity of the various organs (skin, bones, parenchymal organs, gastrointestinal tract, cardiovascular- and immune system) minipig is used to model human diseases. There are at least 30 minipig breeding groups in the world that are used systematically as laboratory animals, showing that how fast this use has been developed since the end of the 20th century. We distinguish at least 45 minipig breeds, of which the most commonly used are Göttingen, Yucatan, Sinclair and Hanford. According to the regulation of pharmaceutical testing and toxicology, two species are required to proof of safety, one rodent and one non-rodent. Among the non-rodents, the minipig is an increasingly accepted and useful animal model. Each minipig species has its own special research areas according to their characteristics. One of the most prominent areas is the exploration and treatment of cardiovascular diseases, and they play a significant role in dermatological experiments. They can be used successfully to study type 1 diabetes, innovate treatments, and perform other glycodynamic experiments.

As an important advantage of the minipig against the domestic pigs is the smaller size, which requires more cost-effective housing method. As a veterinarian, it is important to know the wide range of experimental indications of the breed, the implementation of its anesthesia, the housing needs, behaviour and the most common diseases. As a new Hungarian research a checklist will be developed for laboratory animals, which will help the workers of animal houses to control the optimal animal environmental care.

LABORÁLLAT

A legelső, sertéseket alkalmazó kísérletek a Kr.e. 304. évre tehetőek, amikor a légzés mechanizmusát kezdték tanulmányozni rajtuk. Később Rómában a keringési szervrendszer anatómiájának feltárására használták [1]. Kimondottan tudományos célokra szánt törpesertéseket a XX. század közepén a Minnesotai Egyetem Hormel intézetében tenyésztették ki négy vadtypusból (1. ábra) [2]. A legfrissebb adatok szerint legalább 30 törpesertés-tenyészcsoport létezik a világon, amelyeket rendszeresen bevonnak laboratóriumi kísérletekbe [3].

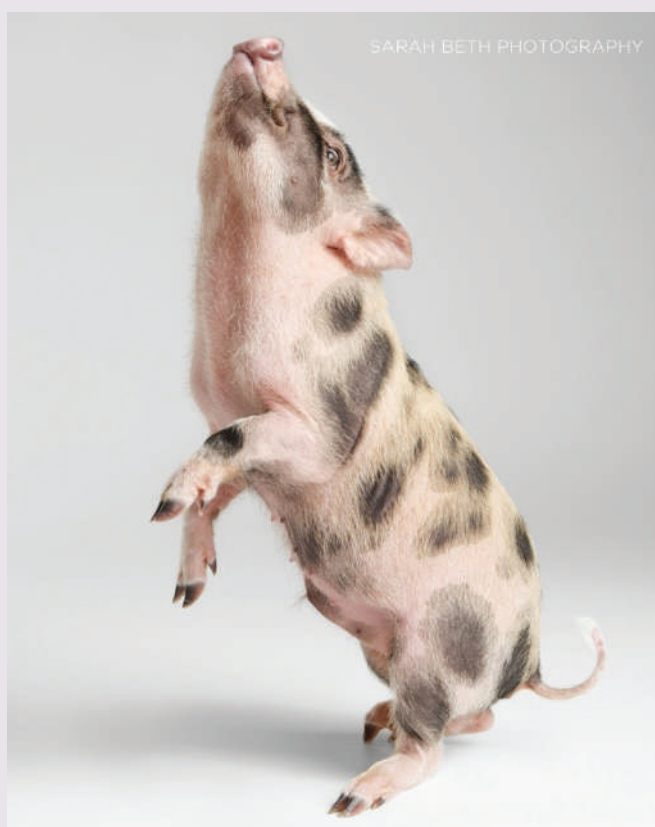
Sok kísérlet nem, ill. nehezen kivitelezhető, vagy nem ad pontos eredményt alacsonyabb rendű laboratóriumi állatfajok használatával (pl. gyógyszerkísérletek), ezért nagyon jelentős kísérleti állatcsoportot képez a sertés mint modellállat [1]. A törpesertésre sokkal lassabb növekedési erély jellemző, összehasonlítva a házi sertésekkel, emiatt is alkalmas kutatási célokra, ugyanis a hosszabb ideig tartó (krónikus) kísérletek feltétele, hogy a kísérleti állat testtömege és szerveinek mérete közel állandó legyen (1. táblázat) [4]. Emellett kisebb méretükből adódóan csökkenthető a hely-, takarmány-, gyógyszer- és egyéb anyagfelhasználás [2, 5].

A legelső, sertéseket alkalmazó kísérletek a Kr.e. 304. évre tehetőek

A törpesertésre a házi sertésnél sokkal lassabb növekedési erély jellemző

1. ÁBRA. Minnesota (Hormel) törpesertés [38]

FIGURE 1. Minnesota (Hormel) minipig [38]



1. TÁBLÁZAT. Törpesertés és házi sertés tulajdonságainak összehasonlítása [3]

TABLE 1. Comparison of the features of minipigs and domestic pigs [3]

	Törpesertés	Házi sertés
Kifejlett kori testtömeg	25–70 kg	>100 kg
Ivarérett kor	4–5 hónap	5–6 hónap
Vemhesség ideje	111 nap	115 nap
Növekedési ráta a kísérlet tartama alatt	Lassú	Gyors
Takarmányozás	lassabb fejlődés (13% nyers rost)	hízlalás (5–8% nyers rost)

A gyógyszerészeti vizsgálatok szabályai szerint két faj szükséges egy kísérlet elvégzéséhez egy rágcsáló és egy nem rágcsáló. A nem rágcsálók között egyre inkább elfogadott, és hasznosnak vélt álltafa a törpe-, ill. minisertés, amely a laboratóriumi célra történő fajtaalakítással egyre inkább teret nyer a többi általánosságban használt nem rágcsáló faj mellett. Ráadásul a sertéseket alkalmazó kutatásokat a kutyákat használó kísérletekkel összehasonlítva nem állapítottak meg lényeges anyagi többletet előbbire vonatkozóan [6].

A LEGGYAKORIBB TÖRPESERTÉSFAJTÁK ÉS KÍSÉRLETI FELHASZNÁLÁSUK

Legalább 45 törpesertésfajtát különböztetünk meg, amelyek közül a leggyakrabban a göttingeni, a yucatan, a sinclair és a hanford fajtákat használják [7, 8].

GÖTTINGENI TÖRPESERTÉS

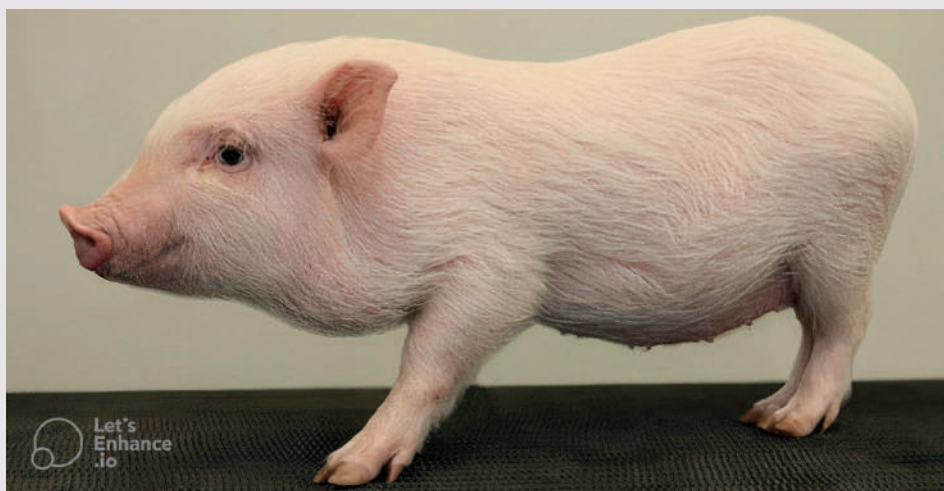
A Minnesota (Hormel) törpesertés több törpesertésmodell őse, mint pl. a göttingeni törpesertésé is (2. ábra), amelyet a 60-as évek második felében tenyésztettek ki a vietnámi csüngőhasú és a német landrace sertések bevonásával a Göttingeni Georg-August Egyetem egykori Állattenyésztési és Genetikai Intézetében [2, 9].

Ezt a fehér szőrű, kifejlett korban is csupán 30–40 kg körüli maximális testtömeget elérő fajtát elsősorban toxikológiai vizsgálatokban alkalmazzák, de felhasználják diabetológiai, ortopédiai, fogorvosi, sebészeti, valamint szív- és érrendszeri beavatkozásokban is [10–13]. A házi sertésfajtákhoz viszonyítva lassúbb, egyenletes fejlődés jellemzi, amely a kísérletek szempontjából kedvezőbb (3. ábra).

A 30–40 kg körüli maximális testtömegű Minnesota törpesertést leginkább toxikológiai vizsgálatokban alkalmazzák

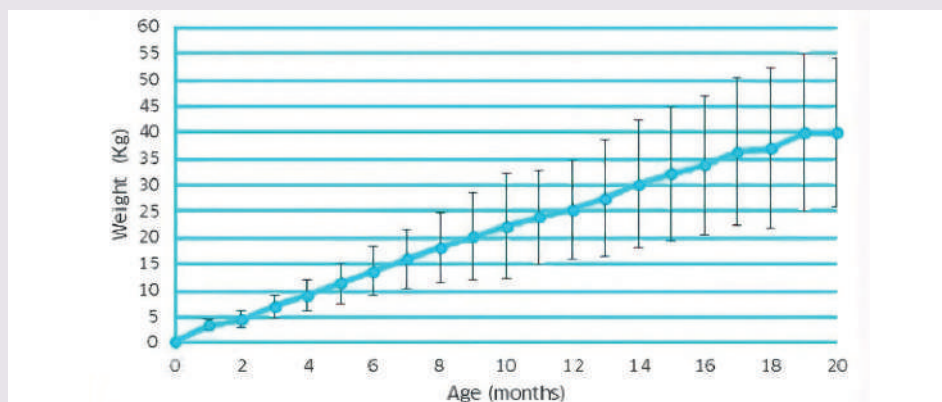
2. ÁBRA. Göttingeni törpesertés [39]

FIGURE 2. Göttingen minipig [39]



3. ÁBRA. A göttingeni törpesertés növekedési görbéje [1]

FIGURE 3. The growth of Göttingen minipigs [1]



**A yucatan törpesertés
65 kg-osra
növő, nyugodt
vérmérsékletű fajta**

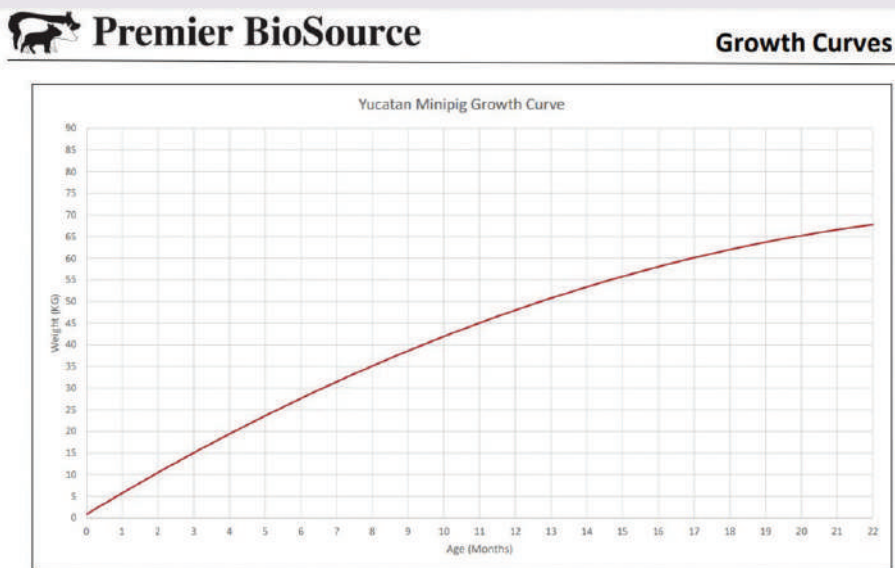
YUCATAN TÖRPESERTÉS

Viszonylag önálló fajta a yucatan törpesertés, amelyet a Coloradói Állami Egyetemen tenyésztettek ki 1960-ban a Yucatan-félszigetről származó ősből. A nyugodt vérmérsékletű állatokkal könnyű bánni, világosszürke, szőrtelen vonalait bőrgyógyászati kutatásokban használják. Testtömegét tekintve a nagyobb méretű törpesertések közé sorolható, kifejlett kori testtömege megközelítőleg 65 kg (4. ábra) [14]. Az állatok bőrében pigmentált, világos szürke és nem pigmentált, fehér területek is előfordulnak, lehetővé téve olyan gyógyszerhatások vizsgálatát, amelyeket a bőr melanintartalma befolyásolhat. Továbbá jó modelljei különféle farmako/toxikokinetikai és sebgyógyulási folyamatoknak.

Egy másik vonalban (5. ábra) az örökletes kamrafal-elégtelenség (VSD, ventricular septal defect) figyelhető meg, amelynek a tanulmányozásával kiemelkedő eredményeket értek el humán vonatkozásban [7]. Az elváltozás a szív ultrahangos (echokardiográfia) vizsgálatával már méhen belül is megállapítható. Újszülött malacokban a szisztolés szívzörejek (ejekciós és holoszisztolés regurgitációs zörejek) a 4. és 5. bordaközben a szegycsont közelében jól hallhatók. Ezért a kórkép diagnózisának és kezelésének egyedülálló nagyállatmodelljei [15].

4. ÁBRA. A yucatan törpesertés testtömeg-gyarapodási ütemének görbéje [40]

FIGURE 4. The growth curve of Yucatan minipig [40]



5. ÁBRA. Yucatan törpesertés [41]

FIGURE 5. Yucatan minipig [41]



A sinclair törpesertést melanomakutatásokban használják leginkább

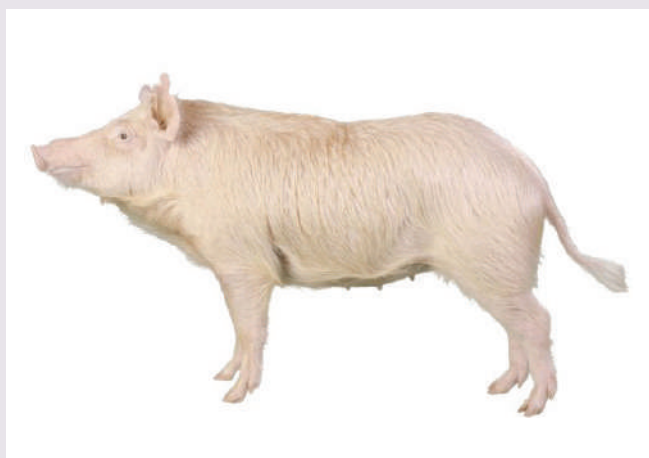
SINCLAIR TÖRPESERTÉS

A sinclair törpesertést (S-1) a Missouri Egyetemen alakították ki vad fajták keresztezésével (1965), amely a legkisebb tenyésztett fajtának bizonyult. Lassan fejlődik, szőrszíne többféle színváltozatban is megmutatkozhat (6. ábra). Egyes megfigyelések szerint bizonyos vonalaiban a rosszindulatú, agresszív melanoma spontán alakul ki. A bőrbeli elváltozások a megszületéskor, vagy nem sokkal később jelennek meg, aminek hatására immunválasz alakul ki. Ennek következtében a daganat visszafejlődik és az állat tünetmentes lesz. A melanomák kórszövegtana hasonló az emberéhez és áttétek is megfigyelhetők, így a sinclair törpesertésben jól nyomon lehet követni a normális pigmentsejtek átalakulását rosszindulatú melanomasejtekké, ill. a daganatsejtek metastatikus elhelyezkedését. Ezen kívül még számos kutatási terület – kiemelten az alkoholizmus szervei tüneteinek – állatmodellje [16].

A hanford törpesertés a legnagyobb testtömegű fajta, kifejlett korára akár 80–95 kg is lehet

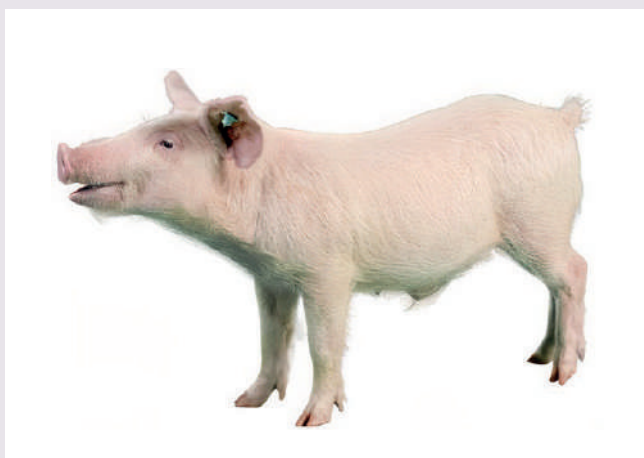
HANFORD TÖRPESERTÉS

Napjaink gyakori sertéslaborállat-fajtája a hanford törpesertés (7. ábra). A törpesertések között a legnagyobb testtömegű fajta, pedig összehasonlítva a többi fajtával a bőralatti zsírrétege kisebb. Ivarérett korában 25–40 kg, kifejlett korára akár 80–95 kg is lehet. Az orvosi biológiai kutatásokban gyakran használják a bőrgyógyászat mellett szív- és érrendszeri elváltozások és beültethető eszközök modelljeként, mivel a többi sertésfajta között a legnagyobb méretű szív- és érrendszerrel rendelkezik [17].



6. ÁBRA. Sinclair törpesertés [42]

FIGURE 6. Sinclair minipig [42]



7. ÁBRA. Hanford törpesertés [43]

FIGURE 7. Hanford minipig [43]

A TÖRPESERTÉSEK ALAPVETŐ SZÜKSÉGLETEI, MEGFELELŐ TARTÁSI KÖRÜLMÉNYEI

A kísérleti és egyéb tudományos célokra felhasznált gerinces állatok védelméről szól az Európai Egyezmény "A" függeléke tartalmaz egy általános részt iránymutatásokkal a kísérleti és egyéb tudományos célokra használt összes állat elhelyezésére és gondozására vonatkozóan. Külön fejezetekben található az általánosságban használt fajokra vonatkozó kiegészítő útmutatás a kutyák, macskák, görények, rágcsálók és nyulak, haszonállatok és törpemalacok, főemlősök, madarak, halak, kételtűek és hüllők számára [18, 19]. Hazánkban az 1998. évi XXVIII. törvény rendelkezik a laboratóriumi állatok védelméről, a kísérleti sertések gondozására és

elhelyezésére vonatkozó követelményeket pedig a 40/2013. (II. 14.) kormányrendelet 3. számú melléklet 7.3 táblázata tartalmazza. Ezek az előírások, amelyek 2017. január 1-jétől kötelezőek laboratóriumi sertések esetében [20]. Korábban társállatok vonatkozásában hazánkban már jelent meg olyan internetes felület, amely az állatok jóllétének felmérésére irányul [21], sőt nemzetközi kutatás is beszámol olyan program kialakításáról, amely a kísérletek során felhasznált állatok védelmét és számának csökkentését szolgálja a 3R szabályon keresztül, hiszen a kutya és a főemlősök helyét is kiválthatja a kísérletek során [22]. A kezdeményezés átvihető laboratóriumi alkalmazásra is, amellyel az állatházi dolgozók és a kísérletekben részt vevők számára megkönnyíthető a kísérleti állatok igényeinek megfelelő alapvető szükségletek és tartásmód biztosítása.

A FELASA (Federation of European Laboratory Animal Science Associations) nagyállatok (kérődzők és sertés) vonatkozásában is tett már ajánlásokat, kifejezetten a kutatási és oktatási, azaz kísérleti célból tartott egyedek egészségének megőrzése érdekében [23]. Jóllehet a törpesertések a nagyüzemi sertésfajtákhoz hasonlóan a nap 70–80%-át pihenéssel töltik, a fennmaradó időben igen aktívak. Ezért a megfelelő minőségű pihenőtér (tisza, száraz alomanyag) mellett nagy figyelmet kell fordítani a környezetgazdagításra, beleértve a rágási és turkálási szokások kielégítését. Az állatok nyugodt pihenése érdekében megfelelő hosszúságú sötét (10–12 óra), ill. világos időszakot kell biztosítani. Ha elegendő hely áll rendelkezésükre bélsár- és vizeletürítésre, akkor pihenőhelyüket nem szennyezik be. Társas állatokként egymás látványa, társasága, a szag- és hangingerek szükségesek a szociális stressz megelőzéséhez [1, 24].

A TÖRPESERTÉSEKET ÉRINTŐ JELLEGZETES BETEGSÉGEK

A laboratóriumi célra tenyésztett állatok esetében a cél a genetikai sokféleséget csökkentő mutációk akkumulálódásának kiküszöbölése. A legtöbb tenyésztőhelyen molekuláris genetikai módszereket alkalmaznak a heterozigótaság ellenőrzésére, igyekeznek minimalizálni a beltenyésztett keresztezések számát, ami kis egyedszámnál nem mindig lehetséges. Becslések szerint a szoros beltenyésztés elkerülése érdekében a tenyésztési csoport mérete legalább 28 egyed kell legyen, amelyből a kanok legalább négy nemzedékű vonalból, a kocák legalább négy családból származzanak. A törpesertés-állományokban előfordulhat a genetikai terhelés felhalmozódása. A káros hatás elsősorban a tenyésztők hibás döntéseinek következménye [3]. A betegségek kialakulási valószínűségét a beltenyésztési problémák mellett nagymértékben befolyásolják a tenyésztési és tartási körülmények, hiszen ezek alapvetően hozzájárulnak a törpesertések immunállapotának alakulásához. Összehasonlítva a házi sertés és a kísérleti célra tenyésztett törpesertés immunrendszerét a talált különbségek leginkább a környezeti viszonyok, tehát az állatházi és az istállóklíma eltéréseire vezethetők vissza [25].

A különböző besorolás alá eső állatházakban a kórokozótól védett, zárt tartásmód nagymértékben lecsökkenti a fertőző betegségek megjelenését az állományokban, így leginkább a nem fertőző betegségek érdemelnek figyelmet. A laboratóriumi állatok ketreces tartásánál fontos tényező a padozat optimális kialakítása az állat számára, a megfelelő alomanyag kiválasztása, továbbá a rendszeres csülökápolás (kb. fél, egy évente), amelyekkel megelőzhető a sántaság kialakulása. A mikroklimatikus tényezők között jelentős a tartási higiénia, amely összefüggésben áll az állománysűrűséggel, ami az agresszív viselkedés és a kannibalizmus kialakulásához vezethet. Mind a szellőzés, a hőmérséklet és az állománysűrűség hatással van az állatok egészségi állapotára, ugyanis könnyen felhevül az állatok teste, amelynek következtében hamar kialakulhat a sertés testében hőtörklődés, de alacsony hőmérséklet és túl hideg padozat esetén a gyér szőrzet miatt a kihűlés veszélye is fennállhat. A sertések kisméretű tüdőkapacitása következtében

A FELASA tett ajánlást kutatási és oktatási célból tartott nagyállatok egészségének megőrzésére

Nagy figyelmet kell fordítani a környezetgazdagításra, beleértve a rágási és turkálási szokások kielégítését

Nagyon fontos cél a beltenyésztettség elkerülése

A kórokozótól védett, zárt tartásmód nagymértékben lecsökkenti a fertőző betegségek megjelenését

a légzőszervi problémák is gyakoriak lehetnek a nem megfelelő levegőminőség (ammónia-koncentráció, szállópor mennyisége) miatt. Fontos még megemlíteni a nem parazita és nem fertőző eredetű bőrbetegségeket, amelyek kialakulásában szerepet játszhat az étrendbeli hiányosság. A sertések emésztőrendszere kifejezetten érzékeny, hiszen számos stresszor megjelenésére hasmenés, de akár gyomorfekély is kialakulhat. Ilyen tényezők a szállítás, az átcsoportosítás és a nem megfelelő minőségű, ill. mennyiségű takarmány [25].

VISELKEDÉS

A törpesertések kevésbé stresszesek és érzékenyek, vérmérsékletük nyugodtabb, mint a házi sertéseké

Fontos a környezetgazdagítás és unaloműző játékok biztosítása

Alapvetően a törpesertés és a házi sertés viselkedésformája szinte megegyezik, emiatt egészen hasonló igényekkel rendelkeznek. Megfigyelések szerint viszont a törpesertések kevésbé stresszesek és érzékenyek, vérmérsékletük nyugodtabb [13]. Bizonyos szükségletek hiánya befolyásolhatja az állatok viselkedését, növekedési, ill. fejlődési ütemét, valamint az adott kísérleti célra való megfeleléseit, tehát állatjóléti problémákat okozhat. Fontos a fajra jellemző táplálékkeresési módszer, valamint fontos a vemhes kocák fészkelési lehetőségének biztosítása is [26]. Amellett, hogy szükséges a természetes viselkedésformának megfelelő környezetet biztosítani az állatok számára, alapvető az unaloműző tárgyak beillesztése a tartási helyre. Törpesertések esetében a rágható játékok a legalkalmasabbak, amelyek közül is inkább a puha, hajlékonyak felelnek meg [28]. Ezen tárgyak biztosításával elkerülhető a fül-, és farokrágás, mint unaloműző tevékenység kialakulása, ennek következtében pedig a bakteriális, akár végzetes kimenetelű szövődmények megjelenése [26, 27]. A különböző hátrányos jellegű, ill. agresszív viselkedésformák kialakulásának megelőzése érdekében a sertések a kutyához hasonló módon szocializálhatók, taníthatók [25].

ALTATÁS

A törpesertések altatására számos módszer alkalmazható, amelyek közül az egyik altatószer gyors hatása és hasonlóan gyors felfüggeszthetősége miatt, a társállatoknál is széleskörben alkalmazott a *propofol*. Egy újabb kutatásban pedig Kínában mini sertéseken vizsgálták a propofolnál gyorsabb érzéstelenítő, ill. nyugtató hatást kiváltó *ciprofol* intenzív osztályon való alkalmazhatóságát [27]. A hosszú távú – 28 napos – humán szedációra használt anyagok összehasonlítására a többi kísérleti állatfajjal (pl. kutya vagy rágcsálók) szemben a kedvezőbb metabolikus clearance és a kevesebb paradox válasz miatt a legalkalmasabbnak ítélt faj a sertés, így rajtuk vizsgáltak három iv. adagolható hatóanyagot, a benzodiazepineket, a midazolamot és a remimazolamot [30].

A rövidebb ideig tartó altatás elvégezhető im. adott xylazin és tiletamin vagy zolazepam kombinációjával

A rövidebb ideig tartó altatás elvégezhető im. adott *xylazin* (2,2–4,4 mg/ttkg) és *tiletamin* vagy *zolazepam* (4,4 mg/ttkg) kombinációjával, azonban nem alkalmazható szív-, érrendszeri és veseproblémákkal terhelt egyedeknél. A *ketamin* önmagában is alkalmazható im. vagy sc. (11–33 mg/ttkg), amely kevésbé terheli meg a szív működést, mint a korábban leírt kombináció. Hosszabb ideig tartó beavatkozás esetén érdemes intubálni az állatot, mivel ez a faj hajlamos apnoes állapotba kerülni. A premedikációra alkalmazható egyik lehetőség az *azaperon*–*ketamin* kombináció, de megfelelő lehet a *xylazin*–*ketamin*–*atropin* is. Az *azaperon* (1–2 mg/ttkg) nyugtató és hányáscsillapító, de fájdalomcsillapító hatása nincs. A *ketamin* viszont bizonyítottan fájdalomcsillapító hatása a már feltárt agyi területekre kiterjedő NO–cGMP jelátviteli úton keresztül [31]. Vizsgálták azonban a *ketamin* allergizáló hatását is sertéseken, amelynek következtében erythema, tachycardia jelei mutatkoztak, végül légzés- és szívleálláshoz vezetett. A tünetek a lehetséges humán *ketamin*érzékenységet is modellezték, amely segítségül szolgál a vészhelyzetek megelőzésére, vagy mihamarabbi megszüntetésére [32].

Az *atropin-szulfát* (0,02–0,05 mg/ttkg) lecsökkenti a xylazin (2 mg/ttkg) arrhythmias hatását. Intubálás után az altatás izofluránnal folytatandó 4–5%-os bevezető dózist követően 2–3% fenntartó dózis optimális lehet. Amennyiben kivitelezhető, megfontolandó helyi érzéstelenítés egyedüli alkalmazása, amelynek során a lidocain 2 órán át, a bupivakain 4–8 órán keresztül biztosít fájdalomcsillapító hatást. A beavatkozások utáni fájdalomcsillapításra NSAID (ketoprofen: 3 mg/ttkg s.c. SID, meloxicam: 0,1–0,2 mg/ttkg sc. SID) és opiátok (buprenorfin: 5–20 µg/ttkg im. BID/TID/QID, butorphanol: 0,1–0,3 mg/ttkg im./sc. QID) egyedüli vagy kombinációban való alkalmazása javasolt 1–3 napig [24].

Az állatok végleges altatására leginkább elfogadott – más nagyállatoknál is alkalmazott – módszer a pentobarbital iv. túladagolása (150 mg/ttkg). A KCl injekció alkalmazása, valamint a general anesthesia alatt végzett kivéreztetés is lehetőségként merülhet fel [28]. A 40/2013. (II. 14.) Korm. rendelet 4. sz. mellékletében pontosan meg van határozva azon módszerek listája állatfajonként, amelyek az állatok leölésére engedélyezettek [20].

TÖRPESERTÉSEKEN VÉGZETT LEGGYAKORIBB KUTATÁSOK

Több eredményes kutatás is alátámasztja, hogy a törpesertéseknek – ugyanúgy, mint a sertéseknek – helye van a laboratóriumi állatok között, hiszen ezt számos humán és farmakológiai kísérletben bizonyítottak [33]. Leginkább az 1980-as évek óta mutat növekedést a különböző kísérletek során történő felhasználásuk [15].

Az egyik legkiemelkedőbb terület a szív- és érrendszeri betegségek, pl. az atherosclerosis, az infarktus, a szívizomelfajulás és -elhalás feltárása és orvoslása terén nyújtott tapasztalatszerzés volt, amely a törpesertés emberhez igen hasonló anatómiai felépítésén alapszik. Mind a koszorúerek, mind a szív felépítése és a nagy erek analógok [34]. Az érrendszerrel kapcsolatban egyetlen jelentős különbség a sertés esetében az ember keringési rendszerével szemben, hogy jelen van a bal oldali véna azygos, amely a szív koszorúereibe torkollik és ennek következtében az ide érkező vér keveredik a szív saját artériás vérellátásával. Ennek ellenére a szívizom felépítése és a szívritmus létrejöttének beidegzése 90%-ban megegyezik a humán szív felépítésével, így a szívinfarktussal és a ritmuszavarokkal kapcsolatos betegségek modellezésére kiválóan alkalmazható [7].

Jelentős a szerepük a bőrgyógyászatot érintő kísérletekben, mivel a gyér szőrzet, a bőr vérellátása és a mirigyek – a verejtékmirigyeket leszámítva – jó állapotban szolgálnak a plasztikai sebészet, a transzdermális toxikológia és a sebgyógyulás folyamatának fejlesztéséhez [35].

Bár a sertés veséjének felépítése némileg eltér az emberétől papillaris szerkezete miatt, még mindig jobban alkalmazható modellként, mint más laboratóriumi állatok. Leginkább a vesét érintő műtétek kivitelezésének megoldásait és más vesebetegségek – hydronephrosis, intrarenalis reflux, renalis hypertensio – gyógyításával kapcsolatos kísérletekre használható [36].

Az érrendszeren kívüli további szervi különbségek, amelyek eltérnek a humán anatómiától: sertések esetében a főhörgők elágazódása előtt az ún. *bronchus trachealis* tér a jobb tüdőszárny elülső (csúcsi) lebenyébe, ami megnehezíti az oldalszelektív intubálást. A nyirokcsomók felépítése fordított: a velőállomány kívül helyeződik, a kéregállománynak megfelelő lymphoid szövet (nyiroktüszők) pedig belül található. A jobb mellékvese a hátulsó üres véna közvetlen közelében fekszik, ezért teljes eltávolítása (adrenalectomia) nem rutin feladat [7].

A tüdő mérete, funkcionális kapacitása, a submucosamirigyek jelenléte szintén közel áll az emberéhez, emiatt a fokozott nyálkatermelés következtében kialakult krónikus bronchitis modellállata is. A reprodukciós vizsgálatokban kevésbé használatos amiatt, hogy a makromolekulák transzplacentáris átjutása nem lehetséges, viszont újszülöttkori humán betegségek közül alkalmas a vashiányos anaemia

Gyakran használnak törpesertéseket a szív- és érrendszeri betegségek, pl. az atherosclerosis, az infarktus, a szívizomelfajulás és -elhalás tanulmányozására

Gyér szőrzetük miatt jelentős a szerepük bőrgyógyászati kísérletekben is

A törpesertések jól használhatók az 1-es típusú diabetes vizsgálatára

vizsgálatára, az elhalásos vastagbélgyulladás modellezésére egyedülálló faj [37]. A törpesertések jól használhatók az 1-es típusú diabetes vizsgálatára, kezelési módjainak újítására és más glükodinamikai kísérletekben, mint a hosszú és rövid hatástartamú inzulinkészítmények farmakodinamikai hatására az emberhez hasonlóan reagáló modellek [35].

Összefoglalva számos előnyt találunk a törpesertés laboratóriumi célú felhasználása mellett. Bár hazánkban még kevésbé elterjedt, mint kísérleti állat, néhol foglalkoznak tartásával (pl: Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet, Herceghalom), és remélhetőleg a jövőben – alkalmazva a 3R-szabály fontos elemét, a helyettesítést – egyre inkább előtérbe kerülnek, csökkentve a kísérletbe vonható magasabb rendű emlősök számát.

IRODALOM

- Rozkot M, Václavková E, Bělková J (2015) Minipigs as laboratory animals. *Research in minipig breeding* 9 (2) Accessed 11 Dec 2021
- Bollen P, Ellegaard L (1997) The Göttingen Minipig in Pharmacology and Toxicology. *Pharmacol Toxicol* 80:3–4
- Shatokhin KS (2021) Problems of mini-pig breeding. *Vestn VOGiS* 25:284–291
- Whyte JJ, Prather RS (2011) Genetic modifications of pigs for medicine and agriculture: Genetic Modifications of Pigs. *Mol Reprod Dev* 78:879–891
- McAnulty PA, Dayan AD, Ganderup N-C, Hastings KL (eds) (2012) *The Minipig in Biomedical Research*. CRC Press pp 6–14
- Morse MA (2012) Minipig to Replace Non-Rodents in Nonclinical Safety Testing <https://www.criver.com/eureka/minipig-to-replace-non-rodents-in-nonclinical-safety-testing> Accessed 11 Dec 2021
- Smith AC, Swindle MM (2006) Preparation of Swine for the Laboratory. *ILAR J* 47:358–363
- Helke KL, Nelson KN, Sargeant AM, Jacob B, McKeag S, Haruna J, Vemireddi V, Greeley M, Brocksmith D, Navratil N, Stricker-Krongrad A, Hollinger C (2016) Background Pathological Changes in Minipigs: A Comparison of the Incidence and Nature among Different Breeds and Populations of Minipigs. *Toxicol Pathol* 44:325–337
- Köhn F, Sharifi A R, Simianer H (2007) Modeling the growth of the Goettingen minipig. *J Anim Sci* 85:84–92
- Pedersen HD, Mikkelsen LF (2019) Göttingen Minipigs as Large Animal Model in Toxicology. In: *Biomarkers in Toxicology*. Elsevier pp 75–89
- McAnulty PA, Dayan AD, Ganderup NC, Hastings, KL (2012) *The Minipig in Biomedical Research*. CRC Press Taylor and Francis Group pp 445–468
- Stubhan M, Markert M, Mayer K, Trautmann T, Klumpp A, Henke J, Guth B (2008) Evaluation of cardiovascular and ECG parameters in the normal, freely moving Göttingen Minipig. *J Pharmacol Toxicol Methods* 57:202–211
- Kőrösi D, Garamvölgyi R, Vorobcsuk A, Szabó A, Petrás Z (2020) Különböző sertéstípusok az orvostudományi kardiovaszkuláris kutatásokban. *AAK* 24:47–60
- Panepinto LM, Phillips RW, Wheeler LR, Will DH (1978) The Yucatan miniature pig as a laboratory animal. *Lab Anim Sci* 28:308–313
- Swindle MM, Thompson RP, Carabello BA, Smith AC, Hepburn BJ, Bodison DR, Corin W, Fazel A, Biederman WW, Spinale FG (1990) Heritable ventricular septal defect in Yucatan miniature swine. *Lab Anim Sci* 40:155–161
- Hook RR, Berkelhammer J, Oxenhandler RW (1982) Melanoma: Sinclair swine melanoma. *Am J Pathol* 108:130–133
- Nunoya T, Shibuya K, Saitoh T, Yazawa H, Nakamura K, Baba Y, Hirai T (2007) Use of Miniature Pig for Biomedical Research, with Reference to Toxicologic Studies. *J Toxicol Pathol* 20:125–132
- Revision of Appendix A. https://www.coe.int/t/e/legal_affairs/legal_co-operation/biological_safety_and_use_of_animals/Laboratory_animals/Revision%20of%20Appendix%20A.asp. Accessed 25 May 2022
- Ellegaard L, Cunningham A, Edwards S, Grand N, Nevalainen T, Prescott M, Schuurman T, Steering Group of the Rethink Project (2010) Welfare of the minipig with special reference to use in regulatory toxicology studies. *J Pharmacol Toxicol Methods* 62:167–183
- 20.40/2013. (II. 14.) Korm. rendelet az állatkísérletekről – Hatályos jogszabályok Gyűjteménye. <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?do-cid=a1300040.kor>. Accessed 26 May 2022
- Kiss A, Lorász G, Fekete SGy, Fodor K (2020) Az állatvédelem társadalmi, jogi és közegészségügyi vonatkozásai. *Magy Állatorvosok Lapja* 142:619–624
- Czubala MA, Eilles E, Staubli A, Ipseiz N, Vogt M, Ziegłowski L, Ernst L, Tolba RH, Taylor PR, Weiskirchen R (2022) 3R Blackboard: A platform for animal and organ sharing. *Lab Anim* 236772211067456. doi: 10.1177/00236772211067456. Online ahead of print.
- Berset (Convenor) FWG on FACM, Caristo ME, Ferrara F, Hardy P, Oropeza-Moe M, Waters R (2021) Federation of European Laboratory Animal Science Associations recommendations of best practices for the health management of ruminants and pigs used for scientific and educational purposes. *Lab Anim* 55:117–128
- Sinclair Bio Resources (2021) *Miniature Swine Book of Normals*. pp 18–19
- Amalraj A, Matthijs A, Schoos A, Neiryck W, De Coensel E, Bernaerdts E, Van Soom A, Maes D (2018) Health and management of hobby pigs: A review. *Vlaams Diergen Tijds* 87:347–358
- Lee JY, Kim SE, Lee HT, Hwang JH (2020) Comparative analysis of immune related genes between domestic pig and germ-free minipig. *Lab Anim Res* 36:44

27. Silva CA da, Manteca X, Dias CP (2016) Necessidade e desafios do uso de materiais de enriquecimento ambiental na suinocultura industrial. *Sem Ci Agr* 37:525
28. James GF, Lynn CA, Glen MO, Kathleen RPC, Mark TW (2015) *Laboratory Animal Medicine*, Third Ed. pp 706, 1167
29. Liu Y, Chen C, Liu N, Tong L, Nie Y, Wu J, Liu X, Gao W, Tang L, Guan X (2021) Efficacy and Safety of Ciprofol Sedation in ICU Patients with Mechanical Ventilation: A Clinical Trial Study Protocol. *Adv Ther* 38:5412–5423
30. Io T, Saunders R, Pesic M, Petersen K-U, Stoehr T (2021) A miniature pig model of pharmacological tolerance to long-term sedation with the intravenous benzodiazepines; midazolam and remimazolam. *Eur J Pharmacol* 896:173886
31. Liu W, Chen Y, Zhang Y, Li X, Li Y, Zhao J, Gao L (2019) Ketamine produces anesthesia and analgesia in miniature pigs via NO-cGMP signaling pathway. *Pak Vet J* 39:37–42
32. Wallace CK, Bell SE, LaTourette PC 2nd, Miedel EM, Carty AJ, Philips BH (2019) Suspected Anaphylactic Reaction to Ketamine in 3 Yucatan Swine (*Sus scrofa*). *Comparative med* 69:419–424
33. Lunney JK, Goor AV, Walker KE, Hailstock T, Franklin J, Dai C (2021) Importance of the pig as a human biomedical model. *Sci Transl Med* 13(621):eabd5758. doi: 10.1126/scitranslmed.abd5758
34. Bersényi A, Fodor K, Korsós G, Fekete SG (2018) Az emberi érelmeszesedés (atherosclerosis) állati modelljei. *Magy Állatorvosok Lapja* 140:375–383
35. Stricker-Krongrad A, Shoemake CR, Bouchard GF (2016) The Miniature Swine as a Model in Experimental and Translational Medicine. *Toxicol Pathol* 44:612–623
36. Bode G, Clausing P, Gervais F, Loegsted J, Luft J, Nogues V, Sims J, Steering Group of the Rethink Project (2010) The utility of the minipig as an animal model in regulatory toxicology. *J Pharmacol Toxicol Methods* 62:196–220
37. Swindle MM, Makin A, Herron AJ, Clubb FJ, Frazier KS (2012) Swine as Models in Biomedical Research and Toxicology Testing. *Vet Pathol* 49:344–356
38. Rudy Tooty : Minnesota Micro Pig Photography. In: Minneapolis St. Paul Pet Photography | Joy Sessions. <https://sarahbethphotography.com/2014/03/20/rudy-tooty-minnesota-micro-pig-photography/>. Accessed 26 May 2022
39. (2022) Göttingen minipig. Wikipedia
40. <http://www.premierbiosource.com/wp-content/uploads/2020/05/Growth-Curves-Yucatan.pdf>. Accessed 26 May 2022
41. Yucatan™ Miniature Swine. In: Sinclair Bio Resources. <https://sinclairbioresources.com/miniature-swine-production/yucatan-miniature-swine/>. Accessed 26 May 2022
42. Sinclair™ Miniature Swine. In: Sinclair Bio Resources. <https://sinclairbioresources.com/miniature-swine-production/sinclair-miniature-swine/>. Accessed 26 May 2022
43. Hanford Miniature Swine. In: Sinclair Bio Resources. <https://sinclairbioresources.com/miniature-swine-production/hanford-miniature-swine/>. Accessed 26 May 2022

Közlésre érk.: 2022. jan. 25.

Occurrence and molecular characterization of *Cryptosporidium* species in dogs from Roma settlements and domestic breeding in Slovak Republic

L. Pleva¹

M. Sučík^{3*}

A.Valenčáková³

B. Hurná³

K. Beňová³

F. Novotný²

I. Valocký²

1. Magánállatorvos,
925 02 Alsószele 728, Szlovákia

2. Kassai Állatorvostudományi
és Gyógyszerészeti Egyetem,
Lógyógyászati Klinika,
Szlovákia

3. Kassai Állatorvostudományi és
Gyógyszerészeti Egyetem, Biológiai
és Fiziológiai Tanszék,
Szlovákia

*e-mail: monikasucik@gmail.com

Cryptosporidium fajok molekuláris jellemzése és előfordulása szlovákiai romatelepekről származó és házi tenyésztésű kutyákban

Pleva László¹, Monika Sučík^{3*}, Alexandra Valenčáková³, Beáta Hurná³, Katarína Beňová³, František Novotný², Igor Valocký²

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők jelen tanulmányukban a romatelepeken és Kassa területén élő kutyákban előforduló *Cryptosporidium* fajok molekuláris azonosítására összpontosítottak. A megfigyelt kelet-szlovákiai romatelepeken hírhedten rosszak a higiéniai körülmények és aránytalanul sok házi és kóbor kutya él. A kezdeti feltételezés a négy megfigyelt romatelep közül háromban megerősítést nyert – itt molekuláris módszerekkel igazolták a *Cryptosporidium* fajok előfordulását a kutyákban. Éppen ezért szükséges felhívni a lakosság figyelmét a háziállattartással járó kockázatokra.

SUMMARY

Background: Currently, a great number of domestic animals live in the close proximity of humans. It is necessary to confirm or deny possible zoonotic transmission of parasites, such as *Cryptosporidium* species, from dogs to humans because dogs could be potential source of infection. Therefore, molecular identification of *Cryptosporidium* species in stray and domestic dogs is crucial.

Objectives: In this study we focused on the molecular identification of *Cryptosporidium* species in dogs in Roma areas and non Roma Košice city area, to resolve the above mentioned objectives. Monitored Roma localities in Eastern Slovakia are known for poor sanitary conditions and overabundance of domestic and stray dogs, which have access to human settlements. These dogs live in the immediate vicinity of humans and can act as main reservoirs of *Cryptosporidium* infection.

Material and Methods: From November 2019 to December 2021, one hundred samples of dog faeces were taken in Roma settlements in Eastern Slovakia and in Košice city. We monitored four Roma localities: the village of Rudňany, two Roma settlements - Zabijanec and Pätoracké, the village of Petrová and one locality of the majority population, the town of Košice. Samples of isolated DNA were analyzed by nested PCR. Samples, which were positive on agarose gel were sent for sequencing.

Results and Discussion: Our initial assumption was confirmed in three of the four monitored Roma localities, where we identified with the use of molecular methods the occurrence of *Cryptosporidium* species in dogs. In Rudňany, in the majority of positive samples *Cryptosporidium parvum* was identified, which is responsible for infections of dogs. We also identified *Cryptosporidium muris* and *Cryptosporidium andersoni*, but they were found only in village Pätoracke and Zabijanec. The total positivity rate for *Cryptosporidium* species was 7 % (7/100). That is why it is necessary to raise a public awareness about risks associated with keeping domestic animals and the possibility of transmission of parasitic infection and parasitic zoonoses.

PARAZITOLÓGIA

A *Cryptosporidium* nemzetségbe tartozó fajok zoonotikus, intracelluláris, extracitoplazmatikus protozoonok, amelyek a halak, kétélűek, hüllők, madarak, és több mint 280 emlősfaj (köztük az ember) bélrendszerét fertőzhetik meg [1, 2]. Ebbe a nemzetségbe számos faj és genotípus tartozik. Ezeket a XX. század elején fedezték fel [3], és még napjainkban is írják le új fajokat és genotípusokat [4]. Egyes *Cryptosporidium* fajok több gazdacsoportot is képesek megfertőzni; mások bizonyos csoportokra korlátozódnak, mint pl. a rágcsálók vagy a kérődzők [5]. Napjainkban intenzíven folyik e kórokozók tudományos kutatása, mivel a szakemberek szerint fenyegetést jelentenek a közegészségügyre.

Kutyák esetében a klinikai cryptosporidiosis ritka és általában tünetmentes

A *Cryptosporidium* fajok orofekális úton terjednek, miután az egyén közvetlenül vagy közvetve érintkezik a különböző forrásokból származó fertőző oocisztákkal. Ez a fertőzéses megbetegedések három lehetséges típusához vezet: antroponózishoz, zoonózishoz és szapronózishoz [6]. Az oociszták *Cryptosporidium*-fertőzést okoznak, ami az immunkompetens emberek esetében gyakran tünetmentes, vagy vízszertű, de nem véres hasmenéssel, hasi fájdalommal, hányingerrel, hányással, fáradtsággal, fokozott verejtékezéssel, ill. egyes esetekben lázzal és testtömegvesztéssel jár [7]. A vizes hasmenést okozhatja a bélhámsejtek pusztulása és a bélrendszer ezt követő működési zavara [8]. Immunkompromittált egyéneknél, pl. HIV-fertőzötteknél a *Cryptosporidium*-fertőzés előfordulása és súlyossága egyaránt megnövekszik [9]. Kutyák esetében a klinikai cryptosporidiosis ritka és általában tünetmentes [10].

Epidemiológiai vizsgálatok bebizonyították, hogy az emberi *Cryptosporidium*-fertőzés fő forrásai a fertőzött emberek, a háziállatok, az élelmiszerek, a szennyezett ivóvíz és a szennyezett, üdülési célú vizek [11]. Feltehetően a házi és kóbor kutyák is fontos szerepet játszanak e humán fertőzés járványtanában. Ezen faj egyedei az emberek közeli társainak tekinthetők, ezért a patogén paraziták, pl. a *Cryptosporidium* fajok hordozói lehetnek.

A morfológiailag nem megkülönböztethető fajok azonosítására használt molekuláris módszerek fejlődése lehetővé tette, hogy tisztázzuk a parazitafajok, a potenciális gazdaszervezetek és a lehetséges átviteli útvonalak közötti kapcsolatot.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A szerzők 2019 novembere és 2021 decembere között száz kutyaürülék-mintát vettek több kelet-szlovákiai romatelepen és Kassán

2019 novembere és 2021 decembere között száz kutyaürülék-mintát vettünk több kelet-szlovákiai romatelepen és Kassán. Négy, romák által lakott helyszínt figyeltünk meg, ide tartozott Ötösbánya (Rudňany) község, két romatelep (Zabijanec és Pätöracké), Végpetri (Petrová) község, ill. Kassa (Košice) városa, ahol a romák kisebbségben élnek. A kutyáktól származó minták további adatait a **Táblázat** tartalmazza.

TÁBLÁZAT. A pozitív egyedek száma és a kutyákban talált *Cryptosporidium* fajok száma a kiválasztott kelet-szlovákiai helyszíneken és Kassán

TABLE. Number of positive individuals and the number of *Cryptosporidium* species found in dogs at selected sites in Eastern Slovakia and Košice

Helyszín	Vizsgált egyedek		Pozitív egyedek		<i>Cryptosporidium</i> faj
	Leírás	db	db	%	
Ötösbánya (Rudňany)	Kutyák	10	5	50	<i>Cryptosporidium parvum</i>
Pätöracké	Kutyák	19	1	5,3	<i>Cryptosporidium muris</i>
Zabijanec	Kutyák	17	1	5,9	<i>Cryptosporidium andersoni</i>
Végpetri (Petrová)	Kutyák	13	0	0	-
Kassa (Košice)	Kutyák	41	0	0	-
Összesen	Kutyák	100	7	7	

A romatelepek hírhedtek a lakosok alacsony életszínvonaláról, a rossz higiénés körülményekről és a nagy számban előforduló állatok – különösen a háziállatok és a kóbor kutyák – szabad mozgásáról. A többségi lakosság a kutyáit családi házak közelében, ketrecben vagy bent a házban tartja. Feltételeztük, hogy a *Cryptosporidium* paraziták előfordulása kimutatható lesz a megfigyelt romatelepeken, ahol a higiénés körülmények elősegítik a *Cryptosporidium* fertőzés elterjedését az állatok között.

DNS-IZOLÁLÁS

Minden egyes bélsármintából DNS-izolálást végeztünk. A részletes eljárást HASAJOVÁ és mtsainak munkája [2] tartalmazza. A kinyert DNS-t a további feldolgozásig $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

NESTED PCR

Az izolált DNS-minták amplifikálására kétkörös, ún. nested PCR-t alkalmaztunk. A 18SSU jelű rNS gén töredékét a VKSSR1 és VKSSF1 primerek alkalmazásával nyertük az első reakcióban, ill. a VKSSR2 és VKSSF2 primerek alkalmazásával a második reakcióban [13]. A külső primerpár 658–662 bp hosszúságú, a belső primerpár pedig a 245–250 bp hosszúságú szakaszokat amplifikált. A reakcióelegy teljes térfogata és a reakció körülményei megfeleltek a HASAJOVÁ és mtsai által leírtaknak [12].

ELEKTROFORÉZIS ÉS SZEKVENÁLÁS

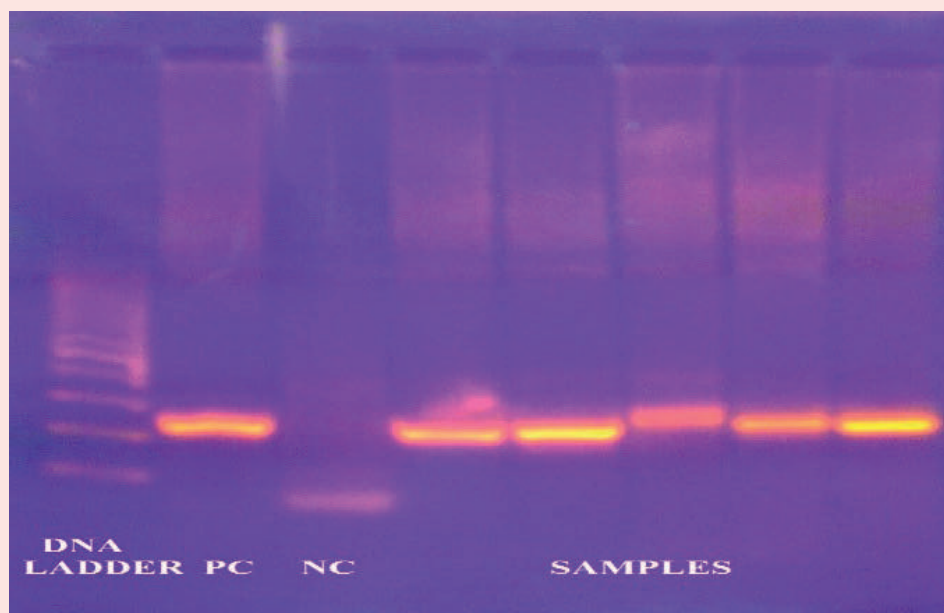
Az összes PCR-termékből mintát vettünk – az amplifikált DNS-eket 1,5 %-os agaróz gélen, TAE- (tris-acetát-EDAT) pufferben végzett elektroforézissel értékeltük. Az agarózzélen pozitívnak bizonyuló mintákat (Ábra) a gélből való kivágást és tisztítást követően szekvenálásnak vetettük alá. A végleges szekvenciákat BLAST szoftver (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) segítségével hasonlítottuk össze a GenBank adatbázisban tárolt homológ szekvenciákkal, és azonosítottuk a konkrét *Cryptosporidium* fajokat.

Az ürülékminták molekuláris vizsgálatához nested PCR-t alkalmaztak, majd meghatározták az ampikonok szekvenciáját

ÁBRA. *Cryptosporidium* PCR-vizsgálat

DNA ladder: molekulatömegmarker; PC: pozitív kontroll (*C. parvum*); NC: negatív kontroll; Samples: vizsgált pozitív minták

FIGURE. *Cryptosporidium*-positive PCR products were imaged by gel electrophoresis
DNA Ladder Line: 100 bp DNA size marker; PC line: positive control (*C. parvum*); NC line: negative control (without template DNA); Lines Samples 1-5: dog samples. *Cryptosporidium* generated visible bands with a size of 250 bp



EREDMÉNYEK

A teljes pozitívítási arány 7% volt

A megfigyelt helyszínekről származó mintákban nemzetségspecifikus primerekkel végzett nested PCR, elektroforézis és az azt követő szekvenálás segítségével bizonyítottuk a *Cryptosporidium*-fertőzés jelenlétét. Ötösbányában a pozitív minták többségében a kutyákat fertőző *Cryptosporidium parvum* fajt azonosítottuk. Kimutattuk a *Cryptosporidium muris* és a *Cryptosporidium andersoni* fajok jelenlétét is, de ezeket csak a Pätoracké és Zabijanec nevű telepeken találtuk (Táblázat). A *Cryptosporidium* fajok teljes pozitívítási aránya 7% (7/100) volt.

Az Ötösbányából származó minták mutatták a legnagyobb pozitívítási arányt a többi vizsgált helyszínhez viszonyítva. A kutyák esetében a fertőzési arány 50% (5/10) volt. Az ötösbányai kutyaürülék-mintákban csak egyetlen fajt – *C. parvum* – találtunk.

Pätoracké telepen a kutyaürülékben a *Cryptosporidium* fajok pozitívítási aránya 5,3% (1/19) volt. Itt mindössze egyetlen faj került diagnosztizálásra, a *C. muris*.

Az Ötösbányához közeli másik telepen, Zabijanecben a kutyaürülék 5,9%-ában (1/17) azonosítottunk *Cryptosporidium*-fertőzést. Ezekben a mintákban *C. andersoni* jelenlétét mutattuk ki.

Végpetriben és Kassán a *Cryptosporidium* fajok jelenlétét egyetlen kutyaürülék mintában sem sikerült kimutatni. Az összegyűjtött adatok a Táblázatban szerepelnek.

**Összesen 3
Cryptosporidium
fajt azonosítottak
a mintákban:
C. parvum-ot,
C. muris-t és
C. andersoni-t**

**A kutyákban
leggyakrabban
előforduló,
cryptosporidiosist
okozó fajok a
C. parvum és a C. canis**

MEGVITATÁS

A kutyák ürülékéből kimutatott *Cryptosporidium*-fertőzés esetei világszerte ismertek. Kutyákban a *Cryptosporidium*-fertőzést elsőként 1981-ben azonosították [14]. Két évvel később egy egyhetes, hasmenéses kölyökkutyánál jelentkezett először tünetekkel járó *Cryptosporidium*-fertőzés [15]. A kutyákban leggyakrabban előforduló, cryptosporidiosist okozó fajok a *Cryptosporidium parvum* és a *Cryptosporidium canis* [16]. A későbbiekben a *C. muris* által okozott fertőzésekről is beszámoltak [17]. A kutyák *Cryptosporidium*-fertőzését nehéz azonosítani, mivel többnyire tünetmentes, és az ürülő oociszták száma kicsi [18].

A legtöbb esetben a *Cryptosporidium* fajok jelenlétét más bélparaziták – pl. *Giardia duodenalis*, *Toxocara canis*, *Isospora spp.*, *Uncinaria stenocephala* – is kísérték, amelyek általában egy évnél fiatalabb kutyák esetében voltak jelen [2].

NIEMAND és SUTE bizonyították, hogy a *Cryptosporidium* fajok lehetnek az emberi bélgyulladás elsődleges forrásai is [19]. Kezdetben azt feltételezték, hogy csak egyetlen faj, a *C. parvum* felelős az emberben előforduló *Cryptosporidium*-fertőzésért. A molekuláris vizsgálatok azonban kimutatták, hogy ezt a fertőzést több különböző faj is okozhatja. Az emberi fertőzést okozó leggyakoribb fajok a *C. hominis* és a *C. parvum*, de okozhatják olyanok is, mint a *C. cuniculus*, a *C. meleagridis*, a *C. fayeri*, a *C. viatorum*, a *C. canis*, a *C. suis*, a *C. scrofarum*, a *C. ubiquitum*, a *C. felis*, a *C. muris* és a *C. andersoni* [17].

E vizsgálatok eredményei is igazolják, hogy a kutya az emberi közösségekben terjedő zoonotikus paraziták gazdaszervezete lehet.

Jelen tanulmányunkat a korábbi eredményekre alapoztuk, amelyek a gyomor- és bélrendszer zoonotikus parazitáit és a *Cryptosporidium*-fertőzés jelenlétét mutatták ki kutyák és emberek esetében [2, 12, 20]. Tanulmányunk célja a kiválasztott kelet-szlovákiai helyszínek megfigyelése volt, ahol a *Cryptosporidium*-fertőzések lehetséges gazdáira és a fertőzés forrásaira összpontosítottunk. A fő feladatunk az volt, hogy meghatározzuk a megfigyelt helyszíneken előforduló *Cryptosporidium* fajokat. A romatelepeken nagy számban élő kutyáknak szabad bejárásuk van az emberek házaiba és lakásaiba, gyakran alszanak egy ágyban az emberrel. Az emberek és a kutyák a hideg téli hónapokban egymást melegítik. Így ez a

**Az embert is számos
Cryptosporidium faj
megbetegítheti**

**Nemcsak a kutyák,
hanem más háziállatok
is lehetnek a zoonotikus
Cryptosporidium
fajok forrásai**

**A *C. muris* esetében
rágcsálók lehettek
a fertőzés forrásai**

közvetlen kapcsolat a *Cryptosporidium* fajok lehetséges átviteléhez vezethet, mivel a vizsgálati eredményeink arra engednek következtetni, hogy a kutyák a *Cryptosporidium*-fertőzések lehetséges gazdái és a fertőzés forrásai lehetnek.

Az emberi egészség megfigyelésének és megőrzésének fontos eleme a feltevés, hogy nemcsak a kutyák, hanem más háziállatok is lehetnek a zoonotikus *Cryptosporidium* fajok forrásai. A *Cryptosporidium* fajok zoonotikus potenciálja és a kutyákról emberre történő átjutás lehetősége egészségügyi kockázatot jelenthet, különösen bizonyos veszélyeztetett csoportok, pl. kisgyermek, idősek és immunhiányos betegek esetében.

Ebben a vizsgálatban a 18SSU jelű rRNS alegység nemzetségspecifikus primerrel történő amplifikációja és az azt követő szekvenálás alapján elsősorban a *C. parvum*, a *C. muris* és a *C. andersoni* zoonotikus fajokat mutatták ki. A *C. parvum* egy, túlnyomórészt emberekben azonosított zoonotikus faj.

A *C. muris* a rágcsálókra jellemző faj [17], ezért feltételezzük, hogy a rágcsálók lehetnek a fertőzés forrásai. A rossz higiéniás körülményű és társadalmilag hátrányos helyzetű romatelepekre jellemző az emberek lakókörnyezetében is előforduló rágcsálók túlszaporodása. Ez a rágcsálóürülék gyakori előfordulását is jelenti. Az ürülék fontos szerepet játszhat a *C. muris* okozta fertőzés kutyákra és emberekre történő átvitelében. A *C. andersoni* faj jelenlétét emberekben, valamint szarvasmarhákban, lóban és sertésekben is kimutatták [10, 21].

A kutyaürülék mintákat véletlenszerű mintavétellel gyűjtöttük be. A telepeken élő kutyák esetében sem a fertőzésre jellemző tünetek, sem hasmenés nem jelentkezett, azonban, mint már említettük, a *Cryptosporidium*-fertőzés gyakran tünetmentes. E tanulmány a különböző paraziták (pl. *Cryptosporidium*) fajoknak a rossz higiéniájú romatelepeken történt korábbi észleléseit leíró munkák [12] eredményeire támaszkodik; nélküle a *Cryptosporidium*-fertőzés és annak lehetséges zoonotikus átvitele észrevétlen maradhatott volna.

Ezért szükséges a lakosság figyelmét felhívni a háziállatok tartásával kapcsolatos kockázatokra, a parazitafertőzések lehetséges áttejedésére az emberre, és a paraziták okozta zoonózisokra. Az állattartók figyelmét fel kell hívni továbbá arra, hogy felelősséggel tartoznak saját és környezetük egészségéért.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A jelen projekt a Szlovák Köztársaság Oktatás-, Tudomány-, Kutatás- és Sportügyi Minisztériuma által létrehozott Tudományos Támogatási Ügynökség (VEGA) támogatásával jött létre. Projektazonosító: 1/0113/20.

IRODALOM

1. Fayer R (2010) Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp Parasitol* 124: 90–97
2. Uehlinger FD, Greenwood SJ, McClurea JT, Conboy G, O'Handley R, Barkema HW (2013) Zoonotic potential of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. and prevalence of intestinal parasites in young dogs from different populations on Prince Edward Island, Canada. *Vet Parasitol* 196:509–514
3. Caccio SM, Thompson RC, McLauchlin J, Smith HV (2005) Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends Parasitol* 21:430–437
4. Rosanowski SM, Banica M, Ellis E (2018) The molecular characterization of *Cryptosporidium* species in relinquished dogs in Great Britain: a novel zoonotic risk? *Parasitol Res* 117:1663–1667
5. Fayer R, Xiao L (2008) *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. CRC Press 2008:10
6. Hubalek Z (2003) Emerging human infectious diseases: anthroponoses, zoonoses, and saproponoses. *Emerg Infect Dis* 9:403–404
7. Thompson RC, Olson ME, Zhu G, Enomoto S, Abrahamsen MS, Hijjawi NS (2005) *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. *Adv Parasitol* 59:77–158
8. Sterling CR, Arrowood MJ (1992) *Cryptosporidia*. *Parasitic Protozoa*. Academic Press NY 6:1159–1125
9. Navin TR, Weber R, Vugia DJ, Rimland D, Roberts JM, Addiss DG, Visvesvara GS, Walhquist SP, Hogan SE, Gallagher LE, Juranek DD, Schwartz DA, Wilcox CM, Stewart JM, Thompson SE, Bryan RT (1999) Declining CD4+ T-lymphocyte counts are associated with

increased risk of enteric parasitosis and chronic diarrhea: results of a 3-year longitudinal study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovir* 20:154–159

10. Feng Y, Xiao L (2017) Molecular Epidemiology of Cryptosporidiosis in China. *Front Microbiol* 8:1701

11. Toledo RDS, Martins FDC, Freire RL (2017) Waterborne Giardia and *Cryptosporidium*: contamination of human drinking water by sewage and cattle feces. *Semin. Agrar* 38:3395–3415

12. Hasajova A, Valencakova A, Malcekova B, Danisova O, Halan M, Goldova M, Sak B, Kvetonova D, Kvac M, Halanova M (2014) Significantly higher occurrence of *Cryptosporidium* infection in Roma children compared with non-Roma children in Slovakia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 33:1401–1406

13. Leetz AS, Sotiriadou I, Ongerth J, Karanis P (2007) An evaluation of primers amplifying DNA targets for the detection of *Cryptosporidium* spp. using *C. parvum* HNJ-1 Japanese isolate in water samples. *Parasitol Res* 101:951–962

14. Tzipori S, Campbell I (1981) Prevalence of *Cryptosporidium* Antibodies in 10 Animal Species. *J Clin Microbiol* 14:455–456

15. Wilson RB, Holscher MA (1983) Cryptosporidiosis in a pup. *J Am Vet Med Assoc* 183:1005–1006

16. Miller DL, Liggett A, Radi ZA, Branch LO (2003) Gastrointestinal cryptosporidiosis in a puppy. *Vet Parasitol* 115:199–204

17. Šlapeta J (2013) Cryptosporidiosis and *Cryptosporidium* species in animals and humans: A thirty color rainbow? *Int J Parasitol* 43:957–970

18. Abe N, Sawano Y, Yamada K, Kimata I, Iseki M (2002) *Cryptosporidium* infection in dogs in Osaka, Japan. *Vet Parasitol* 108:185–193

19. Niemand HG, Suter PF (1996) Clinical practice in dogs. Bratislava H-H 1996, 214–215

20. Little SE, Johnson EM, Lewis D, Jaklitsch RP, Payton ME, Blagburn BL, Bowman DD, Moroff S, Tams T, Rich L, Aucoin D (2009) Prevalence of intestinal parasites in pet dogs in the United States. *Vet Parasitol* 166:144–152

Közlésre ér.: 2022. márc. 4.

**MEGA-plate -
New evolutionary
and coselection
microbiological method**

Á. Kerek^{1*}
B. Török²
Á. Jerzsele¹

1. ÁTE, Gyógyszertani
és Méregtani Tanszék,
H-1078 Budapest, István utca 2.

*e-mail: kerek.adam@univet.hu

2. Állatorvostudományi Egyetem,
hallgató

MEGA-plate – Új evolúciós és koszelekciós mikrobiológiai vizsgálati módszer

Kerek Ádám^{1*}, Török Bence², Jerzsele Ákos¹

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők bemutatják Magyarországon először a MEGA-plate (Microbial Evolution and Growth Arena) mikrobiológiai tenyésztő edény készítésének metodikáját, amely evolúciós és koszelekciós vizsgálatok laboratóriumi kivitelezésére nyújt lehetőséget. A polikarbonát edény gyártását követően először a megfelelő fertőtlenítési protokollt kellett kidolgozni. Végül a kolisztin hatóanyag példáján mutatjuk be a MEGA-plate-en történő agaröntés menetét. A módszer alkalmas az antibiotikum-rezisztencia kialakulásának ellenőrzött körülmények között történő indukálására és vizsgálatára. A korábbi passzálós módszerekhez képest méretéből eredően nagyobb teret biztosít a rezisztens törzsek szelekciójához, miközben a növekvő antibiotikumkoncentráció-grádiens fokozatos evolúciós nyomást biztosít.

SUMMARY

Background: Adaptive Laboratory Evolution (ALE) studies have been of interest to researchers since the 1980s. These systems allow, among other things, the evolution and coselection of microorganisms under controlled conditions. An important aspect is the maintenance of reproductive capacity, so that mutations can spread in the study population and become fixed in the offspring.

Objectives: The MEGA-plate is a giant Petri-dish developed by Harvard University, which we aim to implement in Hungary in the form of a 60 × 30 cm polycarbonate plate dish.

Materials and Methods: After production, we first had to develop an effective disinfection protocol using 7.5% hydrogen peroxide for 15 minutes of immersion, wiping the rest of the vessel with 0.9% NaOCl, and then exposing the vessel to UV light for 30 minutes after the hydrogen peroxide was removed. Before and after disinfection, sterile swabs were used to check the effectiveness of disinfection. After the test cast, Acryl dye was mixed into the bottom and middle agar layers to contrast the culture medium so that bacterial growth could be clearly seen. To avoid fungal overgrowth, 60 µg/ml cycloheximide was mixed into all layers of agar and for antibiotic testing, concentrations of bacterial MIC of 0×, 1×, 10×, 100× and 1000× were mixed into each compartment of the bottom layer.

Results and Discussion: We were the first in Hungary to prepare the MEGA-plate vessel, we developed a successful disinfection protocol, which completely eradicated the presence of undesirable microorganisms. After a successful test casting, we solved the contrasting of the culture medium with Acryl dye to clearly visualize the growth of bacterial colonies and then successfully started testing the individual antibiotics.

A *kísérleti evolúció* egy olyan kutatási módszer, amely lehetőséget ad az evolúciós folyamatok valós időben történő tanulmányozására. Ennek az egyik alapja a populációk versengéssel történő alkalmazkodása bizonyos megváltozott környezeti feltételekhez. A legtöbb adaptáció a kompromisszumokhoz kapcsolódik, tehát olyan tulajdonságok változásához, amelyek az adott környezetben növelik az élőlények fitneszét [1]. Ilyen kísérleti evolúciós vizsgálattal bizonyították pl., hogy a baktériumok az antimikrobiális peptidekkel szemben is képesek kialakítani rezisztenciát [2]. Ha egy ilyen vizsgálatot szemléltetni szeretnénk, az *Escherichia coli* (*E. coli*) citráthasznosításáért felelős mutáció létrejöttéhez 31 000 generációra volt szükség, és a megismételt 12 vizsgálatból is csak egy alkalommal következett be ez a változás [3]. Évtizedeken keresztül a kísérleti evolúció volt a vírusos és bakteriális betegségek elleni élő, attenuált vakcinák fejlesztésének módja, ennek során a kórokozókat sorozatosan passzálták más gazdafajokban vagy táptalajon, amíg azok patogenitása nem csökkent [4, 5]. A koevolúciós vizsgálat arra utal, hogy egy adott populáció génjei és tulajdonságai hatással vannak a faj egyes egyedeire, amely hatások az utódnemzedékekben figyelhetők majd meg. A mikrobákkal végzett vizsgálatok általában egyetlen klónból indulnak ki [6, 7].

A laboratóriumi evolúciós vizsgálatok alapja egy szelekciós nyomásként ható, folyamatos környezeti stressz alkalmazása a mikrobákra nézve

Az úgynevezett *laboratóriumi evolúciós vizsgálatok* (ALE, Adaptive Laboratory Evolution) megbízható, ellenőrzött körülmények között zajló evolúciós megfigyeléseket tesznek lehetővé, amelyek molekuláris vizsgálatokkal jól kiegészíthetők [8]. Elsőként BROWN és OLIVER 1982-ben dolgozott ki egy rendszert, amely során etanollal szemben toleráns gombafajok előállítását sikerült kísérletes úton megvalósítaniuk, folyamatos szelekciós nyomás segítségével [9]. A módszer alapja egy olyan folyamatos környezeti stressz alkalmazása a mikrobákra nézve, ami szelekciós nyomásként hat a populációjukra. Ez lehet szélsőséges hőmérséklet, pH, de akár gátló vagy toxikus anyag. A módszer során a stresszfaktor fokozatos növelése révén érik el a stressztűrő mutánsokra irányuló szelekciós nyomást. Fontos szempont a reprodukciós képesség fenntartása, hogy a mutációk a vizsgált populációban elterjedhessenek és az utódokban rögzüljenek [10]. BUTLER 1996-ban *Streptomyces* élesztőgombákon folytatta BROWN és OLIVER segítségével a korábbi kísérleteket [11]. Ekkor még az etanolt a tápközegbe szakaszosan, szabályozható pumpa segítségével juttatták be [10]. A baktériumok laboratóriumi evolúciós vizsgálatai kezdetben meghatározott gyógyszer-koncentrációkkal történtek, amihez olyan töménységet kellett kiválasztani, hogy az ún. *mutációs szelekciós ablak* (MSW, Mutant Selection Window) lehetőséget adjon egy-egy rezisztens mutáns szelekciójára. Ezt követően egyre nagyobb koncentrációkra volt szükség ahhoz, hogy a szelekciós nyomást fenntartsák. Ehhez olyan kísérleti rendszerre volt szükség, ami folyamatosan biztosította a növekvő hatóanyag-koncentrációt és így az evolúciós adaptációt [12, 13]. TOPRAK és mtsai 2011-ben kifejlesztettek egy olyan eszközt, amit *mobidosztátnak* neveztek, ezzel folyamatosan növekvő antibiotikumkoncentráció-szabályozással tudták fenntartani a mikrobák növekvő szelekciós nyomását. A módszerrel az *E. coli* klóramfenikol, doxiciklin és trimetoprim hatóanyagokkal szembeni rezisztenciaevolúcióját vizsgálták [14]. A rövidtávú evolúciós laboratóriumi vizsgálatok fejlődését a genomszekvenálás egyre szélesebb körben való elterjedése tette lehetővé. A mikrobák esetén az ilyen vizsgálatokat a rövid generációs idő, a kísérletek megismételhetősége, a nagy populációs méretek teszik lehetővé. Ezen vizsgálatok során sikerült feltárni az egyes mutációk közötti összefüggéseket, különös tekintettel az adaptációs mechanizmusokra [8].

A baktériumok esetén az antibiotikumokkal szembeni rezisztencia terjedéséhez különösen hozzájárul az egyes fertőzések során kialakult baktériumpopulációk mérete, pl. egy tuberkulózisos elváltozásban 10^7 – 10^8 CFU baktérium is előfordulhat [15]. A szelekciót elősegíti a nem megfelelően kiválasztott gyógyszerdózis

Baktériumok esetében a leggyakrabban használt szelekciós nyomás az antibiotikumok növekvő koncentrációja

A kísérleti evolúció lehetőséget ad az evolúciós folyamatok valós időben történő tanulmányozására

[16], a stressz [17], a kialakult rezisztencia mechanizmusok pedig mobilis genetikai elemek révén plazmidok, transzpozonok és integronok segítségével tovább adható [18]. Egy kísérletben mikrofluidikus eszközt használtak, amely ciprofloxacinnal egyenletesen növekvő koncentrációját tartalmazó speciális edény, az erre oltott baktériumok rezisztenciája mindössze 10 óra alatt kialakult, amihez három gén és egy nukleotid szubsztitúciós változására volt szükség [19].

2016-ban a Harvard Egyetem kutatói egy olyan evolúciós és koszelektív vizsgálatra alkalmas laboratóriumi közeget hoztak létre, ami alkalmas a baktériumok antibiotikumokkal szembeni rezisztencia kialakulásának vizsgálatára. A kísérleti eszköz a MEGA-plate, azaz a *Microbial Evolution and Growth Arena*. Újgenerációs genomszekvenálással az innen származó minták vizsgálata során az egyes mechanizmusokat kódoló gének megjelenése is nyomon követhető [20].

A szerzők célul tűzték ki, hogy Magyarországon elsőként valósítsák meg a MEGA-plate rendszert és adaptálják annak működését hazai viszonyok között. A továbbiakban bemutatják a sikeres hazai megvalósítás lépéseit, valamint a rendszer működését.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Az eredeti MEGA-plate egy 120 × 60 cm-es polikarbonát lemezből készült edény, amelynek a használatához egy külön szobát rendeztek be, a megfelelő környezeti feltételek biztosítása érdekében [20]. A laboratóriumi lehetőségeink egy kisebb rendszer kiépítésére adtak lehetőséget, a limitáló tényező a termosztát mérete volt. Ezért egy 60 × 30 cm-es polikarbonát edény elkészítését tűztük ki célul. Átlátszó polikarbonát lemezből, saját tervezés alapján (1. ábra) legyártattuk a saját MEGA-plate edényünket (2. ábra). A tenyésztőedény 5 mm-es polikarbonát lemezből készült, elkészítésében az Innoterm Kft. (Budapest) működött közre. A ragasztás tetrahidrofurán ragasztóval történt, ami vízmentes zárást biztosít. Az edény alja kilenc egyenlő sávra van osztva, amelyek biztosítják a növekvő antibiotikumkoncentrációt tartalmazó táptalajok alsó rétegben történő elkülönítését (3. ábra).



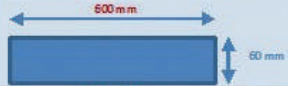


A szerzők egy 60 × 30 cm-es polikarbonát edény elkészítését tűztük ki célul

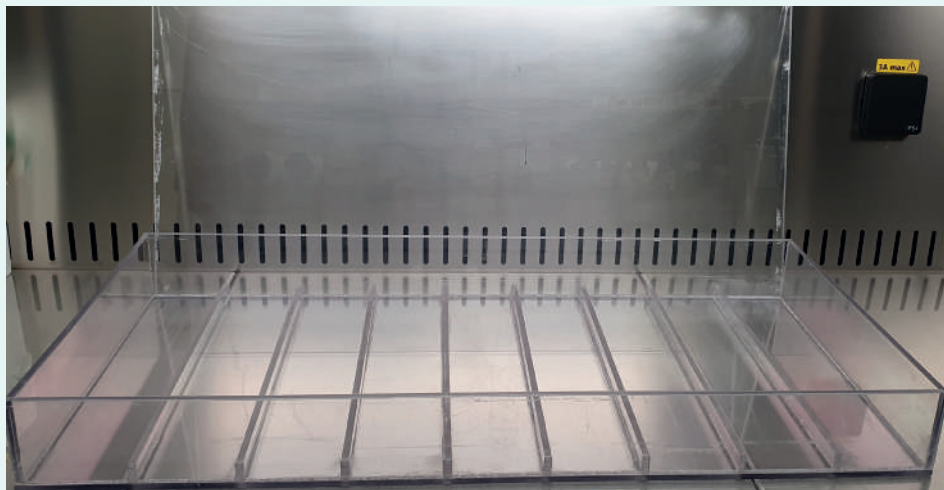
1. ÁBRA Magyarországi MEGA-plate terve

Hazai körülmények között 60 × 30 cm nagyságú áttetsző polikarbonát lemezből terveztük az edényt, amely egy alaplappól (600 × 300 mm), kettő rövid oldallappól (290 × 60 mm), kettő hosszú oldallappól (600 × 60 mm), egy tetőlappól (600 × 300 mm) és nyolc elválasztóból (12,5 × 290 mm) áll

FIGURE 1. Hungarian MEGA-plate blueprint

The vessel is designed with a 60 × 30 cm transparent polycarbonate sheet, consisting of a base plate (600 × 300 mm), two short side plates (290 × 60 mm), two long side plates (600 × 60 mm), a top plate (600 × 300 mm) and eight dividers (12.5 × 290 mm)

Megnevezés	Méret (mm)	Illusztráció
Alaplap (5 mm anyagvastagság)	600x300	
Rövid oldallap (5 mm anyagvastagság)	290x60	
Hosszú oldallap (5 mm anyagvastagság)	600x60	
Tetőlap (5 mm anyagvastagság)	600x300	
Elválasztók (5 mm anyagvastagság)	12,5x290	

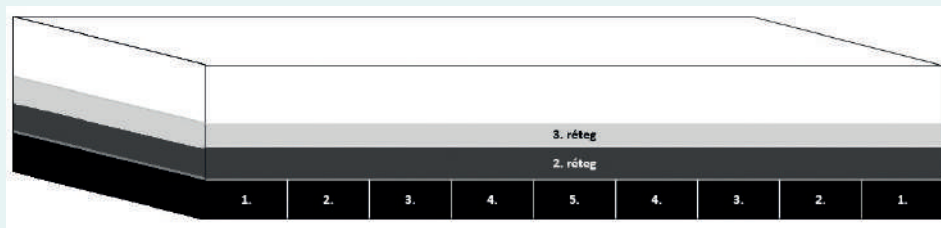


2. ÁBRA. Az elkészült MEGA-plate edény

Az elkészített edény átlátszó polikarbonát lemezből készült, ragasztása vízhatlan tetrahidrofurán ragasztóval történt. Az alsó réteget nyolc elválasztó osztja kilenc egyenlő részre

FIGURE 2. The finished MEGA-plate dish

The vessel is made of transparent polycarbonate sheet, glued with waterproof tetrahydrofuran glue. The bottom layer is divided into nine equal parts by eight dividers



3. ÁBRA. A MEGA-plate lemez öntése során kialakított rétegek

A táptalajöntés során három réteg kerül kialakításra. Az első réteg kilenc egyenlő rekeszből áll, amelyek a vizsgált antibiotikum 0×, 1×, 10×, 100× és 1000× koncentrációját tartalmazzák az edény két szélétől befelé növekvő sorrendben (1–5. rekeszek), a 2. réteg egy egybefüggő szilárd agarréteg, ami a homogenitást biztosítja az 1. és 3. réteg között. A 3. réteg egy félfolyékony agar, ami a baktériumok diffúz növekedését teszi lehetővé a növekvő hatóanyag koncentráció grádienssel szemben

FIGURE 3. Layers formed during the casting of MEGA-plate

Three layers are formed during the culture medium casting process. The first layer consists of nine equal compartments containing concentrations of the antibiotic of interest of 0×, 1×, 10×, 100× and 1000× in ascending order from the two edges of the dish (compartments 1–5), layer 2 is a continuous solid agar layer which provides homogeneity between layers 1 and 3. Layer 3 is a semi-liquid agar, which allows diffusive growth of bacteria against a gradient of increasing drug concentration

FERTŐTLENÍTÉSI PROTOKOLL

Az edény legyártását követően ki kellett dolgozni egy olyan módszert, ami hatékony fertőtlenítést tesz lehetővé, azért, hogy a kontaminációt elkerüljük. A Harvard Egyetem munkatársai 10%-os NaOCl-el (háztartási hipó) töltötték fel egy

A fertőtlenítéshez 7,5%-os hidrogén-peroxid-oldatot használtak

éjszakára az edényt [20]. Környezetvédelmi megfontolásból mi ezen a módszeren változtattunk, egyrészt mert a NaOCl jelentős környezetterhelést jelent, másrészt hogy ne maradjon maradékanyag a polikarbonát lemezen, ami befolyásolhatná a baktériumok növekedését. Ezért szakirodalmi adatokra hagyatkozva 7,5%-os hidrogén-peroxid-oldatot készítettünk, tömény (30%), stabilizált hidrogén-peroxid hígításával. A tömény hidrogén-peroxid egy literét hígítottuk fel három liter csapvízzel. A MEGA-plate lemezt steril fülke (lamináris boks) alá helyeztük, ezt követően feltöltöttük a 7,5%-os hidrogén-peroxiddal (4. ábra). Az edény peremét és a fedőlemez belső felületét NaOCl-oldattal töröltük át, amelyhez a kereskedelmi forgalomban kapható 4,5%-os oldatot négyszeresére hígítva 0,9%-os oldatot használtunk. A steril fülke alatt 15 perc inkubációs időt követően, vákuumszivattyú segítségével leszívuk a hidrogén-peroxidot az edényből. Ezt követően a steril fülke alatt 30 percre UV-fényt kapcsoltunk.



4. ÁBRA. A MEGA-plate fertőtlenítése

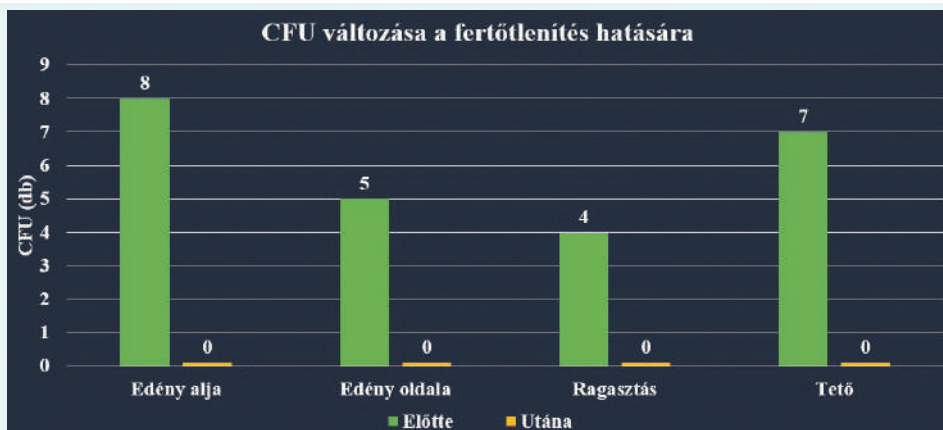
A fertőtlenítés során steril fülke alatt az edényt 7,5%-os hidrogén-peroxiddal töltjük meg, a peremét és a tető belső felületét 0,9%-os NaOCl-al töröljük át. 15 perc inkubációt követően vákuumszivattyú segítségével szívjuk le a hidrogén-peroxidot, majd 30 percre bekapcsoljuk az UV lámpát

FIGURE 4. Disinfecting the MEGA-plate

During the disinfection, the vessel is filled with 7.5% hydrogen peroxide under a sterile booth, the rim and the inner surface of the lid are wiped with 0.9% NaOCl. After 15 minutes of incubation, we aspirate the hydrogen peroxide with a vacuum pump and turn on the UV lamp for 30 minutes

A fertőtlenítést megelőzően és azt követően is tamponmintákat vettek baktériumtenyésztésre

A fertőtlenítés hatékonyságát úgy ellenőriztük, hogy a fertőtlenítés előtt steril vattapálcával mintát vettünk az edény aljáról, az oldalfaláról, a ragasztás mentén és a fedőlemez belső felületéről. A mintákat tripton-szója agart tartalmazó Petri-csészére oltottuk ki. A fertőtlenítést követően megismételtük a mintavételt. Ezen kívül az edényt feltöltöttük három liter tripton-szója levest (TSB) tartalmazó táplevessel. A kioltott mintákat és a lefedett edényt is 37 °C-os inkubátorba helyeztük. 24 órás inkubációt követően a fertőtlenítés előtt vett minták kis számban tartalmaztak baktériumtelepeket, az azt követően vett mintákból azonban nem nőtt ki telepformáló egység (CFU, Colony Forming Unit) és a táplevesben sem tapasztaltunk zavarosodást. A táplevessel feltöltött edényt további egy héten keresztül inkubáltuk 37 °C-on, azonban ezt követően sem tapasztaltunk benne elváltozást. Összességében tehát elmondható, hogy a fertőtlenítési protokollunk hatékonynak bizonyult (5. ábra) és egy hét inkubációt követően sem történt befertőződés (6. ábra).



5. ÁBRA. A fertőtlenítés hatékonyságának ellenőrzése tamponmintával

A fertőtlenítést megelőzően steril tamponnal mintát vettünk az edény aljáról, az edény oldaláról, a ragasztás mentén és a tetőről, majd ezt megismételtük a fertőtlenítést követően is. A mintákat ezután tripton-szója agart tartalmazó Petri-csészékre kentük le, amiket 24 órára 37 °C-os termosztátba helyeztünk. Az inkubációt követően megszámláltuk a Petri-csészéken a telepformáló egységeket, amelyből jól látszik, hogy a fertőtlenítést követően ez minden esetben nulla volt

FIGURE 5. Checking the effectiveness of disinfection with a swab sample

Prior to disinfection, samples were taken with a sterile swab from the bottom of the vessel, the sides of the vessel, along the adhesive and the roof, and repeated after disinfection. The samples were then smeared onto Petri dishes containing tryptone-soy agar and placed in a 37 °C thermostat for 24 hours. After incubation, the colony-forming units on the Petri dishes were counted, clearly showing that in all cases it was zero after disinfection



6. ÁBRA. A táplevessel feltöltött edény

A fertőtlenítés hatékonyságának ellenőrzésére három liter TSB-vel töltöttük fel a MEGA-pletet, majd azt egy hétre 37 °C-os termosztátba tettük. Egy hét elteltével is jól látszik, hogy a leves zavarodástól mentes

FIGURE 6. The dish filled with broth

To check the effectiveness of the disinfection, three litres of tryptone-soy broth was added to the MEGA plate and placed in a 37 °C thermostat for one week. After a week, it is clear that the soup is turbidity-free

A 2%-os agaralapú táptalajba cikloheximidet kevertek a gombás fertőzések megelőzésére

A táptalaj öntése három fázisban történt

MEGA-PLATE TÁPTALAJÖNTÉS

Táptalajként 2%-os BD Bacto Agart (Vwr International Kft., Debrecen, Magyarország) használtunk, tápanyagforrásként egy darab LB-Lennox (Vwr International Kft., Debrecen, Magyarország) kapszulát adtunk literenként a táptalajhoz. Saját tapasztalatunk azt mutatta, hogy a baktériumok nagyon lassan nőttek és egy bizonyos pont után nem akartak tovább nőni az edényben, ezt azzal sikerült kiküszöbölnünk, hogy a legfelső rétegbe plusz egy kapszulát raktunk. A gombás befertőződés elkerülése érdekében cikloheximidet (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) használtunk, 64 µg/ml koncentrációban.

A táptalaj öntése három fázisban történt. Először az elválasztott kilenc rekeszbe kellett elkészíteni a 2%-os szilárd táptalajt, amely egy-egy 252 ml térfogatú rekeszbe került. A kilenc elválasztott rekesz a növekvő antibiotikumkoncentrációt tartalmazó táptalajok elválasztására szolgál. Az egyes rekeszek táptalaját külön-külön Duran-üvegben készítettük el. Bemértük a szükséges agart, az ioncserélt vizet és üvegenként egy ml akrilfestéket. Ezt követően 40 percen keresztül 121 °C-on autoklávoztuk őket, majd amint 50 °C körüli hőmérsékletre hűlt vissza az agar, hozzáadtuk a cikloheximidet. A cikloheximid elkészítéséhez 226,8 mg cikloheximidből és 14 ml ioncserélt vízből készítettünk törzsoldatot, majd azt cellulóz szűrőn steril fülke alatt átszűrtük. Így az alsó réteg esetén mindegyik rekesz táptalajához 1 ml cikloheximid-törzsoldatot mértünk, ezzel elérve a 64 µg/ml koncentrációt. A második réteg 760 ml egybefüggő agarréteg, amely felülrétegi a különböző antibiotikumkoncentrációt tartalmazó rekeszeket, ezáltal megteremtve az alsó és legfelső harmadik réteg határfelületei közötti homogenitást. Ebbe a rétegbe 3 ml cikloheximid-törzsoldat és 3 ml festék került. Végül ennek megszilárdulását követően a harmadik réteghez egy 0,28%-os félfolyékony agar-réteget készítettünk, amibe 2 ml cikloheximid került, azonban ehhez tintát már nem adtunk (1. táblázat). Ez a félfolyékony réteg biztosítja a baktériumok táptalajban történő diffúz terjedését a növekvő antibiotikum-koncentrációval szemben. A legfelső réteg megszilárdulását követően a MEGA-plate lemez elkészült, a tetejét ráhelyezve, az illeszkedését pedig leragasztva megelőzhető a befertőződés.

1. TÁBLÁZAT. Az egyes rétegekben kialakított cikloheximid-koncentrációk

Törzsoldatot készítettünk 226,8 mg cikloheximidből 14 ml ioncserélt vízben. Miután cellulóz szűrőn átszűrtük, az első réteg mindegyik rekeszébe 1 ml oldatot, a második rétegbe 3 ml oldatot és a harmadik rétegbe 2 ml oldatot mértünk be, a gombás felülfertőződés megakadályozása érdekében

TABLE 1. Cycloheximide concentrations in each layer

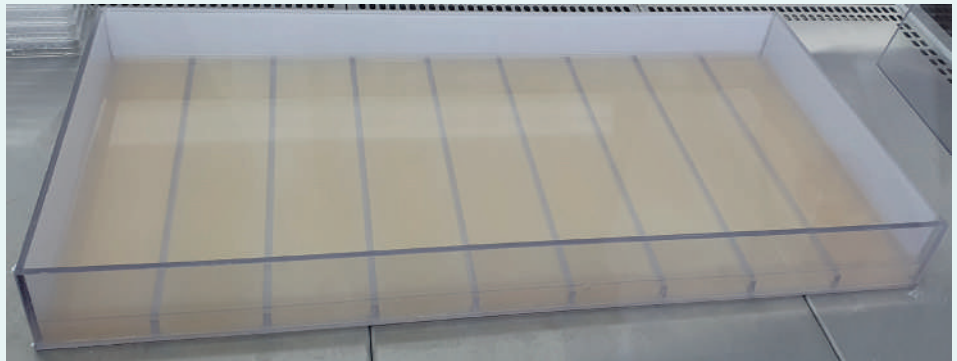
A stock solution of 226.8 mg cycloheximide in 14 ml of deionised water was prepared. After filtering through a cellulose filter, 1 ml of solution was added to each compartment of the first layer, 3 ml of solution to the second layer and 2 ml of solution to the third layer to prevent fungal overgrowth

Cikloheximid, 226,8 mg/14 ml											
	1. réteg									2. réteg	3. réteg
Mennyiség (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2
Cikloheximid (mg)	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	48,6	32,4
Agar összesen (ml)	252	252	252	252	252	252	252	252	252	760	500
Koncentráció (µg/ml)	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64

Következő lépésként ellenőriznünk kellett, hogy a baktériumot a legfelső rétegre ráolva egyenletesen benövi-e az a tenyésztőedényt. Ehhez először egy hatóanyagmentes agart készítettünk, majd mindkét rövid oldalának szélére 100–100 µl *E. coli* baktériumleves-szuspenziót oltottunk egyenletesen szét-

*A baktériumok
növekedésének
láthatóvá tételéhez
fekete akrilfestéket
használtak*

osztva. A tapasztalatunk az volt, hogy ha a legfelső réteg készítésénél abba plusz egy kapszulát tettünk, akkor a baktérium egyenletesen mindkét szélről a tenyésztőedény közepe felé haladva 3 nap alatt benőtte azt (7. ábra). Ahhoz, hogy a baktériumok növekedését szabad szemmel is jól nyomon tudjuk követni, kontrasztosításra volt szükség. Ehhez fekete akrilfestéket használtunk, amelyből 252 ml táptalajonként 1 ml-t adtunk, kivéve a legfelső réteget (8. ábra). Ezt követően a rendszer adott baktérium, adott hatóanyaggal szembeni növekvő koncentrációgrádienssel szemben kialakított evolúciós és koszelekciós rezisztencia vizsgálatára alkalmassá vált.



7. ÁBRA. *Első próbaöntés*

Az első próbaöntés során a táptalaj nem tartalmazott antibiotikumot, arra voltunk kíváncsiak, hogy a ráoltott *E. coli* mennyi idő alatt növi be az edényt. Ráoltást követően három nappal volt szüksége, hogy teljesen benője azt, azonban ehhez a legfelső fél folyékony rétegbe egy plusz kapszulát kellett raknunk

FIGURE 7. *First test cast*

In the first test cast, the medium did not contain any antibiotics, and we were curious to see how long it would take the inoculated *E. coli* to grow in the dish. After inoculation, it took three days to fully colonise, but this required an extra capsule in the top semi-liquid layer



8. ÁBRA. *A táptalaj kontrasztosítása fekete festékkel*

Ahhoz, hogy a baktérium telepek növekedése a felső harmadik rétegben jól látható legyen, fekete kontrasztra volt szükség az alsóbb második és első rétegekben, ezért ezek táptalajához Acryl fekete festéket kevertünk

FIGURE 8. *Contrasting the medium with black dye*

To make the bacterial colony growth in the upper third layer clearly visible, black contrast was needed in the lower second and first layers, so Acryl black dye was mixed with the medium

VIZSGÁLAT KOLISZTINTARTALMÚ MEGA-PLATEN *E. COLI* BAKTÉRIUMMAL

A baktériumok növekedésének láthatóvá tételéhez fekete akrilfestéket használtak

Elsőként a vizsgált mikroba adott antibiotikumra vonatkozó MIC-értékét kell meghatározni. *E. coli* esetén kolisztinre nézve ez 1 µg/ml volt. A két szélső sávba nem került antibiotikum. Ezt követően ki kell számolni, hogy a MIC-értéknek a tízes alapú növelése alapján a 2. rekeszbe 1 µg/ml, a 3. rekeszbe 10 µg/ml, a 4. rekeszbe 100 µg/ml és végül az 5. rekeszbe 1000 µg/ml hatóanyag szükséges. Egy rekesz 252 ml, tehát pl. a 2. sávba 252 µg hatóanyag volt szükséges és így tovább. A középső sáv esetén ez 315 mg volt, amit 25 ml ioncserélt vízben oldottunk fel, majd steril fülke alatt cellulóz szűrővel szűrtünk át. A két szélső sávba hatóanyag nem került, így azok 250 ml vízben oldott agarból készültek (1 ml tintával és 1 ml cikloheximiddel számolva), a többi hatóanyagot tartalmazó rekesz esetén 27 ml-el kevesebb vízzel készültek a táptalajok (1 ml tintával és 1 ml cikloheximiddel számolva/rekesz), hiszen az autoklávozást követően a táptalaj 50 °C körüli hőmérsékletre történő hűtését követően került sor steril fülke alatt az 1 ml cikloheximid és a hozzá tartozó 25 ml antibiotikumkoncentrátum bemérésére. Ez összeadva minden rekesz esetén 252 ml végtérfogatot jelentett. Az 5. rekesz törzsoldatából kettőt készítettünk, az egyik az 1000× koncentrációnak felel meg, ha azt az 5. rekesz táptalajához öntjük. A másiktól a többi réteghez ebből hígítva készítettünk törzsoldatot, méghozzá azon az elven, hogy a 4. rekeszhez ebből a törzsoldatból kimértünk 2,5 ml-t, amit 22,5 ml TSB-hez adtunk, így megkaptuk a 4. rekesz 25 ml törzsoldatát (100× koncentráció). A 3. rekeszhez kimértünk 0,25 ml-t, amit 24,75 ml TSB-hez adtunk, így megkaptuk a 3. rekesz 25 ml törzsoldatát (10× koncentráció). A 2. rekeszhez kimértünk 0,025 ml-t, amit 24,975 ml TSB-hez adtunk, így megkaptuk a 2. rekesz 25 ml törzsoldatát (1× koncentráció), ezzel elkészítve a 0×, 1×, 10×, 100× és 1000× hatóanyag-koncentrációkat (2. táblázat).

2. TÁBLÁZAT. A szükséges hatóanyag mennyiségének kiszámítása és a rendszer összeállítása a kolisztin példáján

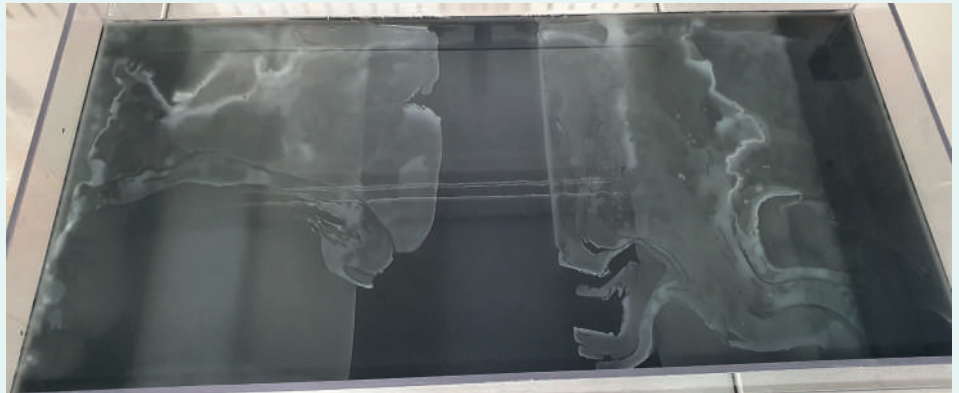
Antibiotikum hatóanyagot csak az első réteg tartalmaz, rekeszenként a vizsgált baktérium MIC-értékének 0×, 1×, 10×, 100× és 1000× koncentrációjában. A legegyszerűbben úgy készíthető el, hogy az 1000× középső rétegből 2 × 25 ml törzsoldatot készítsünk. Ebből az egyik a középső 1000× rétegbe kerül, a másikat tovább hígítva megkapjuk a 100×, 10× és 1× rekeszekhez szükséges 25–25 ml törzsoldatokat. Az autoklávozást követően, miután az egyes táptalajok kb. 50 °C-ig kihűltek, steril fülke alatt hozzájuk adjuk a megfelelő törzsoldatot

TABLE 2. Calculation and preparation of the required active substance using the example of colistin

Only the first layer contains antibiotic active ingredient, at concentrations of 0×, 1×, 10×, 100× and 1000× the MIC of the bacteria under test per compartment. The easiest way to prepare the 1000× middle layer is to prepare 2 × 25 ml of the 1000× middle layer. One of these is added to the 1000× middle layer and the other is further diluted to obtain the 25–25 ml stock solutions required for the 100×, 10× and 1× compartments. After autoclaving, after each medium has cooled to about 50 °C, the appropriate stock solution is added under sterile conditions

Koliszintartalmú MEGA-plate (1 µg/ml MIC)											
	1. réteg									2. réteg	3. réteg
Festék (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2
Cikloheximid (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2
Agar (ml)	250	225	225	225	225	225	225	225	250	754	496
TSB (ml)	-	24,975	24,75	22,5	-	22,5	24,75	24,975	-	-	-
5. törzsoldat (ml)	-	0,025	0,25	2,5	25	2,5	0,25	0,025	-	-	-
Koncentráció (µg/ml)	-	1	10	100	1000	100	10	1	-	-	-

Az egyes rétegek öntését, majd a baktérium ráoltását követően a MEGA-plate lemez tetejét az illesztés mentén leragasztottuk, legalább egy 10 cm-es szakasz kivételével, hogy a felesleges víz el tudjon párologni és ne okozzon kondenzvíz-lecsapódást az edényen belül, ami megzavarná a baktériumok terjedését. A lemezt 37 °C-os termosztátba helyeztük és naponta steril fülke alatt a tetejét eltávolítva jól nyomon követhető a baktérium diffúziója, amiből mintát lehet venni további vizsgálatokra (9. ábra).



9. ÁBRA. A kolisztint tartalmazó táptalajon növekvő *E. coli*

A kolisztin MIC-értékének 0×, 1×, 10×, 100× és 1000× koncentrációját tartalmazó edényt a szélére oltott *E. coli* a 100× koncentrációig 4 nap alatt benőtte, jól látszik, hogy az 1000× koncentráció határán a baktérium növekedése megállt. Ahhoz, hogy ezt a határt is áttörje a baktérium, még néhány napra szükség van

FIGURE 9. *E. coli* growing on medium containing colistin

E. coli inoculated at the edge of the dish containing MIC concentrations of colistin 0×, 1×, 10×, 100× and 1000× were overgrown up to 100× concentration in 4 days, clearly showing that at the 1000× concentration limit the bacterial growth stopped. To break through this limit, the bacterium needs a few more days

A tenyésztés során vett minták vizsgálatával megállapítható a rezisztencia kialakulása és annak genetikai háttere is vizsgálható

MEGVITATÁS

Magyarországon elsőként készítettünk MEGA-plate edényt. Sikeresen kidolgoztuk annak hatékony fertőtlenítési protokollját, majd fekete akrilfesték segítségével kontrasztosítottuk a táptalajt, hogy a növekvő baktériumtelepek terjedése jól látható legyen. A rendszer különböző mikroorganizmusok, adott antibiotikum növekvő koncentrációjával szemben kialakuló rezisztencia evolúciós és koszelekciós vizsgálatára alkalmas. Az egyes részekről vett minták újbóli MIC-értékének meghatározásával megállapítható a rezisztencia kialakulásának fenotípusos megnyilvánulása, újgenerációs szekvenálás segítségével pedig a genetikai változások is nyomon követhetők.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A projekt az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-20-3-I-ÁTE-1 és ÚNKP-21-2-I-ÁTE-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával, az Állatorvostudományi Egyetem Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottságának (NKB) támogatásával, valamint a TKP2020-NKA-01 számú projekt keretében a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a Tématerületi Kiválósági Program 2020 (2020-4.1.1-TKP2020) pályázati program finanszírozásában készült.

IRODALOM

1. Kawecki TJ, Lenski RE, Ebert D, Hollis B, Olivieri I, Whitlock MC (2012) Experimental evolution. *Trends Ecol Evol* 27:547–560
 2. Perron GG, Zaslhoff M, Bell G (2006) Experimental evolution of resistance to an antimicrobial peptide. *P R Soc B* 273:251–256
 3. Blount ZD, Borland CZ, Lenski RE (2008) Historical contingency and the evolution of a key innovation in an experimental population of *Escherichia coli*. *PNAS* 105:7899–7906
 4. Plotkin SA, Plotkin SL (2011) The development of vaccines: how the past led to the future. *Nat Rev Microbiol* 9:889–893
 5. Ebert D (1998) Experimental Evolution of Parasites. *Science* 282:1432–1435
 6. Lenski RE, Rose MR, Simpson SC, Tadler SC (1991) Long-Term Experimental Evolution in *Escherichia coli*. I. Adaptation and Divergence During 2,000 Generations. *Am Nat* 138:1315–1341
 7. Gerrish PJ, Lenski RE (1998) The fate of competing beneficial mutations in an asexual population. *Genetica* 102:127
 8. Conrad TM, Lewis NE, Palsson BØ (2011) Microbial laboratory evolution in the era of genome-scale science. *Mol Syst Biol* 7:509
 9. Brown SW, Oliver SG (1982) Isolation of ethanol-tolerant mutants of yeast by continuous selection. *European J Appl Microbiol Biotechnol* 16:119–122
 10. Lane PG, Hutter A, Oliver SG, Butler PR (1999) Selection of Microbial Mutants Tolerant To Extreme Environmental Stress Using Continuous Culture–Control Design. *Biotechnol Progr* 15:1115–1124
 11. Butler PR, Brown M, Oliver SG (1996) Improvement of antibiotic titers from *Streptomyces* bacteria by interactive continuous selection. *Biotechnol Bioeng* 49:185–196
 12. Lee HH, Molla MN, Cantor CR, Collins JJ (2010) Bacterial charity work leads to population-wide resistance. *Nature* 467:82–85
 13. Bryson V, Szybalski W (1952) Microbial Selection. *Science* 116:45–51
 14. Toprak E, Veres A, Michel J–B, Chait R, Hartl DL, Kishony R (2011) Evolutionary paths to antibiotic resistance under dynamically sustained drug stress. *Nat Genet* 44:101–105
 15. Sharma SK, Mohan A (2006) Multidrug-resistant tuberculosis: a menace that threatens to destabilize tuberculosis control. *Chest* 130:261–272
 16. Olofsson SK, Geli P, Andersson DI, Cars O (2005) Pharmacodynamic model to describe the concentration-dependent selection of cefotaxime-resistant *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 49:5081–5091
 17. Kohanski MA, DePristo MA, Collins JJ (2010) Sublethal antibiotic treatment leads to multidrug resistance via radical-induced mutagenesis. *Mol Cell* 37:311–320
 18. Alekshun MN, Levy SB (2007) Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell* 128:1037–1050
 19. Zhang Q, Lambert G, Liao D, Kim H, Robin K, Tung C, Pourmand N, Austin RH (2011) Acceleration of emergence of bacterial antibiotic resistance in connected microenvironments. *Science* 333:1764–1767
 20. Baym M, Lieberman TD, Kelsic ED, Chait R, Gross R, Yelin I, Kishony R (2016) Spatiotemporal microbial evolution on antibiotic landscapes. *Science* 353:1147–1151
- Közlésre érkező: 2022. ápr. 10.

Parazitológia, Állattan, Halkórtan

Az online szekcióban 7 előadás hangzott el. A szekció társelnökei FARKAS RÓBERT és BASKA FERENC voltak.

BOZÓ CSABA, FEHÉR ANDRÁS, HOLLÓS ÉVA, MOLNÁR BÉLA PÉTER, MAKAN GERGELY, MINGESZ RÓBERT, TRIF LÁSZLÓ és KUKOVECZ ÁKOS a „Szagdetektor-fejlesztés innovatív eredményei és alkalmazási lehetőségei a humán- és állatorvostudományban” című előadásukban a saját szagérzékelő fejlesztéseikről számoltak be. A szerzők igazságügyi rovarant érintő érzékelő fejlesztését az emberi és állati eredetű szagforrások felkutatása céljából tervezik elkészíteni. Valószínű, hogy e kutatás-fejlesztés eredményeit más területeken is alkalmazni lehet a jövőben. A szerzők célja az analitikai kémiai eljárásokkal ellenőrzött szenzorok (kereskedelmi és egyedi fejlesztésű) kombinációjával kifejlesztett szenzormátrix mérőrendszer építése, szenzorpanel elektronika fejlesztése, nanopórusos szagrögzítő anyagfejlesztése és szagrögzítő eljárás kidolgozása, valamint a szoftveres fejlesztések az adatok PCA és LCA statisztikai analíziséhez Python programozási nyelven, ill. a különféle 3D helyszínmodellek megalkotása volt. A kutatás-fejlesztési projekt során több prototípus készült, amelyek moduláris, mobilis eszközök, a célnak megfelelő érzékenységgel és statisztikai módszerekkel támogatott felhő alapú, valós idejű elemzéssel rendelkeznek. A készülék jelenleg kellő mértékű szelektivitással képes azonosítani különféle, nem csak emberi eredetű szagforrásokat. A felhasználó igényei szerint a szagdetektor a kívánt alkalmazás céljainak megfelelően módosítható, érzékenyíthető. A további fejlesztés iránya a szagadatbázis fejlesztés mellett a mesterséges intelligencia rendszerbe történő integrálása.

TUSKA-SZALAY BARBARA, HANNAH KELL és HORNOK SÁNDOR „Állat-egészségügyi jelentőséggel bíró egysejtű paraziták molekuláris vizsgálata fogságban tartott hüllők bélsarából” című előadásukban az írországi Nemzeti Hüllő Állatkertben élő 98 hüllő és egy kétéltű parazitológiai vizsgálatáról számoltak be. A vizsgálat 44 faj rendszertanilag négy rendbe volt sorolható (Testudines, Squamata, Crocodylia, Anura). A hüllők bélsármintáinak gyűjtése mesterséges kifutókban, ill. terráriumokban történt. Minden egyes mintát konvencionális PCR-rel vizsgálták a következő célcsoportokra: eukarióták széles köre (a citokróm c oxidáz I. alegység, azaz *cox1* gén alapján), valamint az egysejtű paraziták két neme (*Trichomonas* és *Trypanosoma* fajok) és egyes vektor-terjesztette baktériumok (Anaplasmataceae, Rickettsiaceae és rendszertanilag közeli családok). Egy leopárdgekkő (*Eublepharis macularius*) mintája pozitív lett a *Trichomonas* és rokon fajokat kimutató PCR-vizsgálat-

tal. A *cox1* génre épülő PCR sárga anakondában (*Eunectes notaeus*) egy fontos opportunistá *Acanthamoeba* genotípust mutatott ki, amit megerősített a 18S rRNS gént (*Rns ASA.S1* régióját) célzó PCR is. A szekvenálás *A. hatchetti* fajt azonosított, amelynek bázisrendje 100%-ban (407/407 bp) megegyezett egy Malajziában tengerparti és meleg forrásvízből származó izolátum GénBankban közölt szekvenciájával. Ezen fajnak ismert a klinikopatológiai jelentősége embereknél és állatoknál egyaránt. Ezen felül, további öt fajt találtak pozitívnak PCR-vizsgálattal: gila/mexikói viperagyík (*Heloderma suspectum/H. horridum*), sztyeppi varánusz (*Varanus exanthemicus*), galléros gyík (*Chlamydosaurus kingii*), keselyűteknős (*Macroclmys temminckii*) valamint zöld leguán (*Iguana iguana*). A vektor terjesztette baktériumok vizsgálata más csoportokba tartozó opportunistá kórokozók kimutatását eredményezte. Egy új-kaledóniai vitorlászgekkó (*Correlophus ciliatus*) bélsármintájában *Citrobacter freundii* DNS-ét találtak, további mintákban pedig a *Gordonibacter* és a *Paraeggerthella* nemekbe tartozó baktériumokét. Az említett, opportunistá kórokozókra vonatkozó eredmények a kedvtelésből tartott hüllők bélsárának protozoonokra és baktériumokra irányuló szűrésének jelentőségére hívják fel a figyelmet.

TUSKA-SZALAY BARBARA, VIZI ZSUZSANNA, REGINA HOFMANN-LEHMANN, VAJDOVICH PÉTER, TAKÁCS NÓRA, MARINA L. MELI, FARKAS RÓBERT, STUMMER-KNYIHÁR VIKTÓRIA, JERZELE ÁKOS, KONTSCHÁN JENŐ, SZEKERES SÁNDOR és HOR-NOK SÁNDOR „*Babesia gibsoni* magas prevalenciával és koinfekciókkal történő felbukkanása Magyarországon” című előadásukban 79 amerikai staffordshire terrier faj-tajjellegű kutya vérmintájának vizsgálatáról számoltak be. PCR és szekvenciavizsgálat alapján a *B. gibsoni* 32 kutyában (prevalencia: 40,5%) fordult elő. Emellett, a *Babesia vulpes*-t nyolc mintában (prevalencia: 10,1%) találtak kutyából elsőként Magyarországon. További 49 mintában (62%) hemoplazmák jelenlétét is megállapították: *Mycoplasma haemocanis* és „*Candidatus Mycoplasma haematoparvum*” önállóan 32 (40,5%), ill. kilenc (11,4%), és mindkét hemoplazma nyolc (10,1%) kutyában volt jelen. A 18S rRNS gén egy génszakaszának vizsgálata alapján a magyarországi *B. gibsoni* teljes szekvenciaazonosságot mutatott az Európából és Ázsiából már jelentett specifikus törzssel. Ezen izolátumnak a citokróm c oxidáz I. alegység (*cox1*) gén-szekvenciája a legközelebbi azonosságot a Japánból jelentett *B. gibsoni*-val mutatta, azonban volt egy nem szinonim mutációja (M33I). Továbbá, 11 *B. gibsoni*-pozitív minta, amelyeket a citokróm b (*cytb*) gén szekvenciaváltozataira elemeztek, ugyanazon mutáció jelenlétét mutatta (P310S). Mindezek mellett, a *B. gibsoni* további két mutációval rendelkező (M121I and F258L) egy kutyában, amelynek súlyos visszatérő

anaemiája volt az atovakvon kezelést követően. Filo-genetikai szempontból mindkét *cytb* szekvenciavariáns egyértelmű földrajzi mintázattal, együtt csoportosult, és a két Magyarországon azonosított haplotípus leg-szorosabb rokonságot a Kínából és Japánból származó haplotípusokkal mutatta. Európában ez az első *B. gibsoni cox1* és *cytb* génen alapuló jellemzése, valamint, a Földközi-tenger medencéjétől északra tartott „harci kutyákra” vonatkozóan ez az első eredmény egy ilyen nagy prevalenciájú piroplazma- és hemoplazma-fer-tőzőttségről.

GOSWAMI URVASHI, VARGA ÁDÁM, GHOSH SUBARNA, SZÉ-KELY CSABA és SELLEYI BOGLÁRKA növényi kivonatok, főként az indiai orgona kéreg, a halélősködő *Myxobolus pseudodispar* nyálkaspórák faj elleni hatásának vizsgálatáról számoltak be angol nyelven megtartott előadásukban. A nyálkaspórák gazdaságilag fontos parazitikus csalánzóók. Kétegzés fejlődésük során egy gerinces (általában hal) gazdában myxospórákat fejlesztenek, gerinctelen (gyakran kevéssertéjű féreg) gazdájukban pedig aktinospórákat. Az ellenük való védekezés egyik lehetősége növényi kivonatok alkalmazása lehet. A hatóanyagkísérletekhez a szerzők a *Myxobolus pseudodispar* Gorbunova 1936, a bodorka (*Rutilus rutilus*) gyakori intracelluláris izomparazitájának féreggazdából kijutó, halat fertőzni képes aktinospóra-stádiumait választották. Többek között az indiai orgona (*Azadirachta indica*) kéregkivonatát használták, ami egy régóta ismert, a tradicionális indiai gyógyászatban használt gyógynövény. Az indiai orgona kéregkivonatát 2–100%-os hígítási tartományban alkalmazták a parazitaellenes hatás vizsgálatára az aktinospórákon, amik laboratóriumi rendszerben fertőzött féreg gazdákból származtak. A kísérleteket 48 lyukú mikrolemezekben végezték 200 µl végtérfo-gatban, ami 1:1 arányban tartalmazta az aktinospóra-szuszpenziót és a hatóanyag-kivonatot. A parazita-sporák életképességét, morfológiai változását vizsgálták három párhuzamos mintasorban. Az aktinospórák fertőzőképességét parazitamentes bodorkák fertőzésével ellenőrizték. A legalább 10–20%-os, törzsoldatból hígított indiai orgona kéregkivonatot tartalmazó oldatok voltak a leghatékonyabbak az aktinospórák ellen, és egy órában belül végzetes morfológiai változásokat okoztak a spórákban. A fertőzőképesség vizsgálata során 10%-os hígítás esetén 100%-os parazitaellenes hatást figyeltek meg, míg 5%-os hígítás esetén a bodorkák 90%-a nem fertőződött, miközben a negatív kontrollként használt halak erősen fertőzöttek voltak *M. pseudodispar* plazmódiomokkal és myxospórákkal. Az elért eredményeik azt bizonyítják, hogy az indiai orgona kéregének kivonata alkalmas lehet a *M. pseudodispar* által okozott nyálkaspórák fertőzés megelőzésére.

PAPP MÁRTON, BÉKÉSI LÁSZLÓ, TÓTH ADRIENN GRÉTA, NAGY SÁRA ÁGNES, ERDÉLYI KÁROLY ÉS SOLYMOSSI NORBERT „Bakteriomvizsgálatok pontyos halgazdaságban” című előadásukban antibiotikumrezisztencia-gének jelenlétét vizsgálták elsősorban pontynyálka-bakteriom metagenomikai vizsgálatával. Pontyos tógazdaságokban évről-évre visszatérő jelenség az oktanilag tisztázatlan tavaszi elhullás. A helyzetet bonyolítja, hogy előfordulása nyomán a nagy gazdasági károk mellett a haltelepítések, horgásztavakba való halszállítás során gyakran jelentkezik minőségi kifogás, pereskedés is. A szerzők célja az volt, hogy a halak kültakaróját borító nyálkának és a tavak vízmintáinak metagenomelemzésével próbáljanak összefüggéseket keresni, amelyek segítenek megmagyarázni a régóta fennálló probléma okát. A metagenom-vizsgálatok célja többféle lehet. Az ún. profilvizsgálatoknál a mintákban előforduló organizmusok genomjára illeszkedő „readek” számának statisztikus összehasonlításából a csoportok közötti eltérések elemezhetők. Emellett az egyes mikroorganizmusok jelenléte külön-külön is vizsgálható. Jelen munka során egy dunántúli halgazdaság két pontyos tavából vettek 8 db hal és 2 db vízmintát 2021 szeptemberében. Ez a beszámoló csak a bakteriom elemzéséről szól, eseménymentes időszakban, amikor betegségi tünetek csak elvétve fordultak elő. A fagyasztott nyálkából és vízből a teljes genomiális DNS kivonása után Illumina szekvenátorral ún. paired-end readeket állított elő a Seqomics Kft. Az ún. shotgun-szekvenálással létrehozott „short readek” előszűrés után kerültek feldolgozásra. A nyers readek minőségi és duplikátumszűrése mentek keresztül, ill. a gazda-eredetű readeket szűrték ki, ezután jött a taxonszintű klasszifikáció Kraken2 szoftverrel. Itt elsősorban a nemzetközi szakirodalomból ismert „core bacteriome” mellett a kórokozó baktériumok előfordulására voltak kíváncsiak. Ezek, a Gamma proteobaktériumok közül a *Pseudomonas fluorescens* (fluoreszcensz-betegség), az *Aeromonas salmonicida/hydrophila* (Carp erithrodermatitis – pontyok fekélyes bőrgyulladás), a *Yesinia ruckeri* (Red mouth disease – RM bacterium), ill. a flavobaktériumok közül a *Flavobacterium columnare* (harcsaivadék Columnaris-betegsége). Azt tapasztalták, hogy ezek a fakultatív patogén baktériumok gyakorlatilag minden mintában előfordultak és kisebb számban a vízmintákban is megjelentek. A *Yesinia ruckeri* kiterjedt hazai előfordulásáról eddig nem volt információ. Érdekes megfigyelésnek tűnt még, hogy a *Streptomyces*-ek (Actinomycetales) a halmintákban jóval nagyobb arányban voltak jelen, mint a vízmintákban. Vizsgálataik hazai halastavakban úttörő munkának minősülnek és egyelőre tájékoztató jellegűek. Járványhelyzet időszakában jó támpontot nyújthatnak az oktani vizsgálatokhoz.

SELLYEI BOGLÁRKA, MOLNÁR KÁLMÁN ÉS SZÉKELY CSABA „Egy szokatlan klinikai megjelenésű *Dermocystidium*-fertőzés pontyban” című előadásukban ponty bőrében cisztát képző *Dermocystidium* faj kórtani, kórszövettani és molekuláris biológiai módszerekkel történt vizsgálatának eredményeit mutatták be. Régen a gombának és egysejtűnek is tekintett, ma azonban rendszertanilag be nem sorolt eukarióta halélősködő csoport, a dermocisztidiumok által okozott megbetegedések a gerinctelen és gerinces állatok széles körében egyaránt elterjedtek. Halakban az említett élősködők 18 faja jellemzett, amelyek főként a bőrben, az úszókon vagy a kopolytún, esetleg a belső szervekben, ciszták formájában okoznak kóros elváltozásokat. Pontyban – a jelenlegi ismeretek szerint – öt faj, a bőrben élősködő *Dermocystidium koi* Hoshina, Sahara, 1950, és feltehetőleg a faj ismételt leírásából származó *D. erschowi* Garkavi, Denisov, Afanasjev 1980, valamint a *D. kobiacevi* Allamuratov 1965 ismeretes, továbbá a kopolytűfertőzést előidéző *D. cyprini* Červinka et Lom, 1974 és szinonim faja a *D. kamilovi* Allamuratov. Magyarországon először Csaba és Láng (1991) hívta fel a figyelmet a pontyok bőrében kialakuló fertőzöttségre, a dermocystidiosis-ra. A jellegzetes bőrfertőzések során általában kicsiny, legfeljebb lencse, vagy babszem nagyságú hólyagos elváltozások alakulnak ki a hámrétegben, amelyek esetenként érintik a hipodermiszt is. A szerzők a fertőzés egy szokatlan formáját figyelték meg háromnyaras pontyban, amikor is a bőr alatt képződő ciszta nagy, tumorra emlékeztető duzzanattá fejlődött, érintve a mélyebben fekvő izomszövetet is. A vizsgált egyedben a bal testfélen, a háti részen nagyméretű duzzanat volt észlelhető. A hal keresztirányú vágásfelületén, közvetlenül a bőr alatt egy vastag tömlőszerű képlet volt látható, amely a hát közelében elhelyezkedő vörös izomzatot érintette. A fehér izomzat, ill. az ellenoldali vörös izomzat érintetlen maradt. A duzzanat átmeteszében, periférikusan, világosabb gombafonalakra emlékeztető képletek tömege, középtájon különböző mértékben károsodott vörös izomsejteket is tartalmazó, vörhenyes állomány volt látható. Kórszövettani vizsgálattal a *Dermocystidium* fajokra jellemző érett, kerek, 6,5–14 µm átmérőjű spórák tömegeit mutatták ki. A spórák közepén egy nagy fénytörő test helyezkedett el, amelyet a sejtfalhoz préselődő halvány citoplazma vett körül a perifériára szorult sejttaggal és számos granulummal. A molekuláris vizsgálatok megerősítették, hogy a kórtani elváltozás hátterében *Dermocystidium*-fertőzés állt. A meglepő megjelenési forma és az izomszövet érintettsége ellenére, a morfológiai sajátosságok a *D. koi* faj jelenlétére utaltak. A kórokozó egyértelmű molekuláris rendszertani meghatározását azonban a hiányos nukleinsavadatok és az adott taxonómiai csoport még kiforratlan filogenetikai jellemzése jelenleg nem teszi lehetővé.

VEREBÉLYI VIKTÓRIA, HARDY TÍMEA, ERDEI NOÉMI, KAJÁN GYŐZŐ LÁSZLÓ és ESZTERBAUER EDIT a „Hazai halgazdaságokban előforduló halpenész fajok (Oomycota, Saprolegniales) genetikai diverzitása: eddigi eredmények” című előadásukban nagyszámú hazai *Saprolegnia* izolátum filogenetikai elemzésének eddigi eredményeit mutatták be. A petespórás gombák (Oomycota) közé tartozó halpenészek (főként *Saprolegnia* spp.) minden édesvízi élőhelyen megtalálhatóak. A patogén *Saprolegnia* fajok minden évben számottevő veszteséget okoznak a halgazdaságokban a halikrák és halak károsításával. A halpenész gyakran jól látható fehéres, vattaszerű foltok formájában megjelenő elváltozást okoz a halak bőrfelületén, ill. az ikrákon. Korábban a saprolegniosis-t sikeresen kordában tartották a malachitzöld-oxalát nevű kezelőszerszettel. Azonban ennek étkezési célra szánt halakon történő használatát a fejlett országok nagyrészt már betiltották a vegyület feltételezett karcinogén hatása miatt. A szerzők egy jelenleg zajló kutatási projekt keretében átfogó képet kívánnak kapni a *Saprolegnia* fajok patogenitásának természetéről és a különféle fajok környezeti preferenciáiról. A munka során 6 hazai pontyos és pisztrángos halgazdaságban eddig több mint 200 *Saprolegnia* törzset izoláltak hal- és ikramintákból, valamint vízből és keltetőedények biofilmbevonatáról. A fajok azonosítását az ITS1 és ITS2 (internal transcribed spacer) régiók, valamint a kettő

között elhelyezkedő, 5,8S riboszomális RNS gén alapján végezték. A fajok és az izolátumok genetikai variabilitását és rokonsági viszonyait maximum likelihood (RAxML) és Bayesian inference (MrBayes) módszerrel végzett filogenetikai elemzéssel rekonstruálták. Eddig összesen 8 *Saprolegnia* és 2 *Leptolegnia* fajt mutattak ki a vizsgált hazai halgazdaságokban. Az azonosított fajok közül a *Saprolegnia parasitica* bizonyult a leggyakoribbnak és a legnagyobb kárt okozó fajnak. Emellett nagyszámú mintából izolálták a *S. ferax* és *S. australis* fajokat is. A *S. parasitica* fajt többször mutatták ki halról, ill. ikráról származó mintából, mint felületi vagy vízmin-tából. A *S. ferax* és *S. australis* fajok esetén ez a tendencia fordított volt, ezenkívül pontyos gazdaságokban volt gyakoribb a jelenlétük. Eddigi eredményeik alapján úgy tűnik, hogy a fajösszetétel mintavételi helyszínenként eltérést mutat, bár ennek az egyenlőtlen mintaszám is okozója lehet. Az elemzés során kimutatott nagyfokú DNS-szekvenciaazonosság (fajok között 88,3–98,9%; fajon belül 97,8–100%) azt jelzi, hogy az ITS gén leginkább csak fajszintű meghatározást tesz lehetővé. Ezért a szerzők további, a rokonsági viszonyok azonosítására alkalmas, nagyobb variabilitást mutató gének vizsgálatát tervezik.

**Dr. Eszterbauer Edit,
Dr. Hornung Erzsébet,
Dr. Sréter Tamás**

Élelmiszer-higiénia – Dr. Takács János Emlékülés

Állategészségügyi Igazgatás

A szekcióban 14 előadást jelentettek be. A szekció elnöke ÓZSVÁRI LÁSZLÓ volt.

NAGY ATTILA előadásában TAKÁCS JÁNOS állategészségügyi élelmiszer-biztonsági szolgálat tudományos és szervezeti alapjainak megteremtése érdekében végzett munkásságáról emlékezett meg. TAKÁCS JÁNOS 1951-ben publikálta a Közvágóhídon folyó mikrobiológiai laboratórium munkáját, amelynek hatására FM körrendeletet adtak ki és országszerte számos hús- és élelmiszer-biztonsági laboratóriumot alakítottak ki. Nívódíjas könyvét (TAKÁCS JÁNOS, SZÁZADOS IMRE: Húsvizsgálat képekben, 1977) és 1964-es kandidátusi disszertációját (Az *Enterobacteriaceae*-családba tartozó baktériumok elkülönítése a laboratóriumi húsvizsgálatban, különös tekintettel a salmonellákra) az Állatorvostudományi Egyetem könyvtára őrzi. MTA-doktori disszertációját 1978-ban írta Termobakteriológiai számítások a teljes húskonzervek hőkezeléséhez címmel. TAKÁCS JÁNOS korszerűsítette a húsipar-higiéniái követelményeket, a hozzá kapcsolódó hűtőházi és konzervipari higiéniai területeket és megnyílt a nemzetközi piac a magyar húsipari termékek előtt. Neve összeforrt a hús mikrobiológiájával, végtére is a teljes élelmiszerlánc állatorvosi szemleletű ellenőrzésével az élelmiszertermelés, -feldolgozás és -forgalmazás során. Az Állatorvostudományi Egyetem Élelmiszer-higiéniái Tanszékének már 3 éve volt vezetője, amikor tragikus hirtelenséggel elhunyt. Emléke előtt tiszteleg az idei Akadémiai beszámoló is.

ADRIÁN ERZSÉBET előadásában bemutatta a baromfiállományaink *Salmonella*-fertőzöttségének epideomológiai adatait. A salmonellosis elleni védekezés eredményeként a házityúk- és pulykaállományok fertőzöttsége hazánkban is jelentősen csökkent. Az Európai Bizottság által meghatározott célokat először 2012-ben teljesítettük és az utóbbi három évben minden hasznosítási típusnál sikerült megfelelő eredményeket elérni. Ugyanakkor, a 2000-es évek elejétől egyre növekedett a broilerállományaink *Salmonella* *Infantis* fertőzöttsége,

amely az EFSA 2008 évi ún. „baseline” felmérése idején Magyarországon 60% fölötti volt. Összefoglalóan megállapítható, hogy a baromfiállományaink *S. Enteritidis* és *S. Typhimurium* fertőzöttsége az EU elvárásoknak megfelelően kicsi. A broilerállományok és a nyers baromfihús *S. Infantis* fertőzöttsége tekintetében viszont – európai szinten is – további jelentős redukció lenne kívánatos.

SRÉTERNÉ LAN CZ ZSUSZANNA, MÁTÉ JULI ANNA, WACHÁNÉ HIRKA LU CA, SÁRVÁRINÉ LAKATOS ILKA, FIAS KRISZTINA és SZALAY ORSO LYA a gyorsfagyasztott zöldségek által okozott *Listeria monocytogenes* ST6 járvány felszámolásának tapasztalatairól számolt be. 2017-2018-ban IVb ST6 típusú *Listeria monocytogenes* törzs okozott járványt az EU több tagállamában. A járványhoz köthetően 11 halálest, ill. több mint 50 megbetegedés fordult elő. A gyors riasztási rendszeren keresztül érkezett információk szerint a gyanú egy magyar üzem által előállított gyorsfagyasztott zöldségre terelődött. A NÉBIH kivizsgálást indított az üzemben, ahol mind az előállított termékekből, mint a technológiai felületekről (élelmiszerrel érintkező, ill. potenciális rezervoárnak tekinthető egyéb felületekről) történtek mintavételek. Mind a termékek, mind a felületek vizsgálata során izolálták a megbetegedést okozó törzset, bizonyos tételek esetében 30–60 CFU/g mennyiségben. A hatósági vizsgálatok alapján a törzs az üzemben hosszú ideje perzisztált, de mivel önellenőrzés keretében csak kvantitatív vizsgálatot végeztek (100 CFU/g kvantifikálási határral), a probléma a gyártó által nem került azonosításra. A vizsgálati eredmények alapján a további megbetegedések elkerülése céljából a NÉBIH 2018 júniusában elrendelte az üzem összes, 2020 augusztusa utáni, termékének forgalomból történő kivonását, ill. visszahívását. A teljes érintett termék mennyiség meghaladta az 565 000 tonnát, 28 tagállamot és 86 harmadik országot érintett. A gyártó biztosítással nem fedett vesztesége 30 M EUR volt. A kivonás után a humán megbetegedések előfordulása gyakorlatilag megszűnt.

SZMOLKA AMA előadásában a hazai broilerállományokban domináns *Salmonella* *Infantis* törzsek genetikai diverzitásáról adott átfogó képet. A 2000-es évek elejére tehető szerovar-váltás óta a *S. Infantis* a hazai broilerállományok fertőzöttségének elsődleges forrása és egyúttal a humán salmonellosisokért felelős harmadik legjelentősebb szerovar. A klonális áthangolódás a B2 klón (PFGE) elterjedését eredményezte a hazai broiler és humán *S. Infantis* populációkban. Vizsgálataik elsőként tárták fel ezen ún. epidemias B2 klónba tartozó humán- és broilereredetű *S. Infantis* törzsek nagyfokú genomdiverzitását. A pSI54/04 kimutatására, a plazmidspecifikus rezisztencia- (tet(A)-merA-intI1-aadA1-sul1-tehA) és virulenciagénjeire (irp1-fyuA-htrE-

fael-pefC) tervezett tipizáló rendszert állítottak össze, amelynek eredményeként a pSI54/04 plazmid néhány változatát is kimutatták. A plazmidra jellemző rezisztencia- és virulenciamarker régiók szekvencia elemzése alapján a pSI54/04 nagyfokú homológiáját mutattak ki az izraeli humán *S. Infantis* törzsekben elterjedt pESI plazmiddal. A multirezisztens, jellemzően a pSI54/04 ill. pESI-like plazmidot hordozó klón törzsei nem csak a hazai, hanem más európai/közép-európai országok broilerállományában is elterjedtek. Véleményük szerint a regionális változatok megjelenése az európai baromfi és humán *S. Infantis* populációt érintő mikroevolúciós változások egyik hajtóereje lehet. Ezen változások egyes részleteinek felderítése a jelenleg folyó kutatásaik egyik fontos célját képezi.

BOGÁTH PÉTER JENŐ ismertette a nem állami laboratóriumok engedélyezésének, működésének folyamatát. 2021. március 10-én megjelent a 8/2021. (III. 10.) AM rendelet, az ÉLTV (2008. évi XLVI.) végrehajtási rendelet, amely a nem állami laboratóriumok engedélyezéséről, ellenőrzéséről és működéséről szól. A rendelet hatálybalépésével egyértelmű lett, hogy az élelmiszerláncban résztvevő laboratóriumoknak a NÉBIH-nél be kell jelentkezniük és működésükben meg kell felelniük a jogszabályban leírtaknak. A rendelet kitér rá, hogy a nem állami laboratóriumoknak két típusa létezik – szolgáltató- és üzemi laboratórium. A laboratóriumoknak engedélykérelmüket a megadott formában kell megtenniük, külön figyelmet fordítva a „három hasábos” táblázatra. Az engedélyezési eljárás 60 nap. A laboratóriumok működésénél a 17025:2018-as szabvány az irányadó. A rendelet egyebek mellett még kitér a laboratóriumvezetőre és helyettesére, az átvett vizsgálatok, módszerek validálására, 5 évente elvégzendő jártassági vizsgálatokra a teljes laboratóriumi scope-ra, és az éves jelentési kötelezettségre.

BUZÁS ANNA és LÁNYI KATALIN előadása betekintést nyújtott az alkalmazástechnika hatásaira a poszt-harveszt peszticidok élelmiszer-biztonsági viszonyai szempontjából. Az ún. „poszt-harveszt”, azaz betakarítás utáni növényvédelem terén újabb és újabb alternatív biológiai védekező stratégiák alkalmazása merül fel folyamatosan, a változó fogyasztói elvárások, és a fungicid szerek lehetséges egészségügyi kockázata miatt. Az új eljárások azonban az általánosan használt fungicideket felváltani nem tudják, ezek a szerek még nélkülözhetetlenek a piacon. Az említett fungicidek mind biológiailag aktív vegyületek, veszélyt jelenthetnek az ökoszisztéma minden tagjára bizonyos körülmények között. Az azoxistrobin, az iprodion és a tiabendazol a vízi élővilágra veszélyes elsősorban, az emberekre, madarakra és emlősökre enyhén toxikusak, a tiabendazol esetében bőrtotoxicitást mutattak ki. Az imazalil hepatotoxikus, egerekben és patkányokban pedig karcinogén. A difenokonazol hepatotoxicitását

mutatták ki egerekben, zebraadánióban pedig az embriónális fejlődésben regressziót, deformitást is okozott. Az azoxistrobín, az iprodion és a tiabendazol azért igazán veszélyesek, mivel bárki megvásárolhatja az ezeket a peszticideket tartalmazó permetszert, sokan a kertjükben permeteznek, majd ugyanitt mossák is ki a permetszert, ezáltal rögtön bekerül a körforgásba a peszticidmaradvány. Összességében elmondható a poszt-harvest peszticidek használata lényeges eleme az ételbiztonsági kritériumok teljesítésének és az ételbiztonság-hulladék mennyiségének csökkentésére irányuló erőfeszítéseknek. Ugyanakkor ezen szerek hatása az ökoszisztémák szintjén mind a mai napig nem tisztázott, és a humán toxikológiai adatok is igényelnek finomítást, tekintettel a változó fogyasztói szokások miatt megváltozott expozíciós utakra.

DARNAY LÍVIA, KARINA HIDAS, SZEPESSY ANNA és NYULASNÉ ZEKE ILDIKÓ beszámoltak egy olyan kutatásról, amelynek célja a kendermagital-alapú vegán fagyaltok fejlesztése volt. A fagyalt fogyasztásban is egyre nagyobb teret kap az a fogyasztói réteg, amelyik állatjóléti szempontból, tejcukor-érzékenység vagy tejfehérje-allergia miatt nem fogyaszt állati eredetű termékeket, de igénye van fagyasztott desszerttermékekre. Ezt a fogyasztói réteget egyre inkább jellemzi az a fiatal felnőtt korosztály, amelyik nyitott az alternatív megoldásokra és keresi az újdonságokat. A mikrobiális transzsglutamináz enzim állománykialakító szerepe a fagyaltkészítésben is érvényesülni tud, de pontos szerepe és alkalmazása még a tudományos világban alig ismert terület. A szerzők célja az volt, hogy a hagyományos ételbiztonság-minősítő, pszichoaktív hatással nem rendelkező, kendermagból készült ital felhasználásával készítsünk olyan fagyaltokat, amelyek kizárólag növényi összetevőkből állnak, de a szín-, íz-, illat- és állományjellemzőik tekintetében felvehetik a versenyt a már piacon lévő termékekkel. Eredményeink alapján elmondható, hogy a kendermagital mellett külön-külön alkalmazott kenderfehérje-, rizsfehérje-, diófehérje-, mandulafehérje-fagyalt karakteres szín- és ízjegyeket eredményezett. A kísérletek során alkalmazott guar-gumi, ill. mikrobiális transzsglutamináz enzim jelentősen befolyásolta a termékek végső állományát és a habosodását is. Azokban az esetekben, amikor finomszemcséjű por formájában volt hozzáférhető a fehérjeforrás, a szemcsézettség a késztermékben is érezhető volt, különösen a rizsfehérje esetén. A kenderfehérje önmagában olajzöld színt kölcsönzött a terméknek, amely jelentősen korlátozhatja a felhasználási lehetőségét ízesített fagyaltokban. A mandula és diófehérje nagyon jól érezhető, karakteres ízt és illatot is eredményezett a termékekben, így alkalmazásuk kifejezetten perspektivikus lehet, de számolni kell a jelentős beszerzési költségükkel is.

DARNAY LÍVIA, SZEPESSY ANNA, RAFFAEL JANZEN, FRIEDRICH LÁSZLÓ és LACZAY PÉTER előadásukban beszámoltak a vegetáriánus és vegán fogyasztók számára fejlesztett növényfehérje-alapú nuggetsekről. A kutatási munka célja olyan növényfehérje-alapú nuggets kifejlesztése volt, amely a vegetáriánus és a vegán fogyasztók számára is alternatívát jelenthet a csirkemellfiléből készülő, gyorséttermi forgalomban kapható termékhez képest. Fontos szempont volt, hogy a termék kinézete (alakja, mérete, panírozottsága) hasonló legyen, mint a boltokban már elérhető vegán nuggetsek esetében, de ezekkel ellentétben ne tartalmazzon szóját, glutént és lehetőleg tejet és tejszármazékokat sem. A fenti termék kifejlesztéséhez szükséges módszerek közé tartozott a pép, valamint a panír összetevőinek kiválasztása szín-, íz- és állományvizsgálatok alapján a sütési próbákat követően. A szín és állománymérés objektív (műszeres) és szubjektív (érzékszervi vizsgálat) módon történt. Ezen túlmenően vizsgálták a kísérleti termékek méreteit, sütési veszteségét, pH-értékét, szárazanyagtartalmát. Megállapították, hogy a borsófehérje a legalkalmasabb fő növényi összetevő, mert tartalmaz minden esszenciális aminosavat és a mikrobiális transzsglutamináz enzim megfelelően lép vele reakcióba. A borsófehérje mellett a vegetáriánusok számára készülő termékben a tejfehérje alkalmazása segítette az mTG állománykialakító szerepét, de a nagyobb enzimdózis (10 U/g fehérje) már nem okozott szignifikáns változást. A vegán fogyasztók számára a borsófehérje mellett az azték zsályamag (chia) alkalmazása lehet célszerű a megfelelő textúra elérése érdekében.

GAÁL GABRIELLA bemutatta a biochipalapú mérés-technika alkalmazásának lehetőségeit az állatgyógyászati szermaradék vizsgálatában. A biochip nanotechnológiával készül, a kompetitív ELISA elveit alkalmazza. Egy mintára egy chipet alkalmaztak, de ez több, adott hatóanyagcsoporton belüli komponens mérését teszi lehetővé. A detektálás kemilumineszcenciás jelen alapul, a jelet speciális kamera méri és 9 pontos kalibrációval való összehasonlítás alapján értékeli. Minden biochip egy belső ellenőrző helyet is tartalmaz, megakadályozva a téves eredményeket. A biochipalapú kvantitatív szűrőmódszer alkalmazásával a negatív (toleranciaszint alatti) minták gyorsan kiszűrhetők, a megerősítő vizsgálatok száma jelentősen csökkenthető, ezáltal jelentős megtakarítás, nagyobb hatékonyság és gyorsabb eredmény szolgáltatás érhető el. A biochipalapú módszerek által kapott eredmények alkalmasak arra, hogy az LC/MS/MS módszert csak a toleranciaszint feletti eredmény megerősítésére alkalmazzuk.

GYÖRKI GÁBOR előadásában beszámolt a 2021/808 rendelet alapján cut-off módszer szerint történt többkomponenses antibiotikum módszerről. A több mint 50 komponenst tartalmazó szűrőmodszert az újonnan megjelent 2021/808-as EU rendeletben foglalt szabályok alapján, valamint az új határértékeket és kötelezően mérendő vegyületeket figyelembe véve validálták újra cut-off módszerrel. Ennek lényege, hogy adott számú negatív, és megerősített minta elemzésével meghatározzák a szűrés kimutatási képességét (CC β), amely az a legkisebb analittartalom, amely egy mintából β hibavalószínűséggel kimutatható vagy számszerűsíthető. Az adott koncentrációsinten megerősített mintákra kapott válaszjeleknek nagyobbak kell lenni, mint a negatív minták válaszjelei. A validálást a mátrixok és a határértékek figyelembevételével három nagy részre osztották: izomszövetekre, tejre és tojásra, valamint mézre. A validálási szinteket az MRL-el rendelkező komponenseknél a 37/2010-es rendelet alapján, a méz esetében a csak ajánlással rendelkező komponenseknél az MPPR-ekre vonatkozó irányelvek alapján határozták meg, minden vegyületre az adott mátrixokban a legkisebb határérték vagy ajánlás felével megegyező koncentrációra.

NAGY ISTVÁN előadásának témája a száraztészta tojástartalmának meghatározása érdekében végzett módszerfejlesztés volt. A módszerfejlesztés végső célja az, hogy olyan módszert sikerüljön kidolgozni, amellyel megbízhatóan lehet a tojástartalmat meghatározni. Ha a fejlesztés során sikerül megfelelő analitikai módszert összeállítani, akkor annak megbízhatóságát mindenképpen laboratóriumok közötti összeméréssel vagy körvizsgálattal szükséges ellenőrizni. Ha rendelkezésre áll a megfelelő analitikai módszer, akkor azt kell vizsgálni, hogy a tojás, a tojáslé, ill. a tojáspor koleszterintartalma mennyire változó. Ha a különböző minták közötti eltérések nem nagyok, akkor használható a koleszterintartalom a tojástartalom ellenőrzésére. A kérdést széleskörű vizsgálatokkal és az eredmények statisztikai értékelésével lehet megválaszolni. Jelen pillanatban száraztészta vizsgálatok és visszanyerési vizsgálatok zajlanak, majd a különböző mintákon nagy elemszámokkal végrehajtandó vizsgálatok következnek.

PAPP ZITA, BARTHA ANDRÁS, BUDAI PÉTER és LEHEL JÓZSEF a tonhal (*Thunnus albacares*) nehézfém-szennyezettségének élelmiszer-biztonsági értékelését tárta elénk. 2019 tavaszán tonhalmintákat gyűjtöttek egy helyi közvetlen fogyasztói halpiacról. A mintaelőkészítést követően a minták nehézfém-tartalmát ICP-OES módszerrel határozták meg. A maximálisan felvehető összes arzén (szerves és szervetlen) ideiglenes tolerálható heti felvétel értéke (PTWI) 3,19-szer nagyobb volt az előírt szintnél

(15 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Ugyanakkor ez nem feltétlen jelent veszélyt a fogyasztó számára, mert a tengeri élőlények szöveteiből nagyobb százalékban (95%) szerves arzénvegyületeket mutattak ki, ami nem, vagy kevésbé toxikus. Az átlagértékek alapján a kadmium ideiglenes elviselhető havi mennyisége (PTMI) 0,16–0,19-szerese a hatóságilag előírt értéknek (25 $\mu\text{g}/\text{kg}$), így az élelmiszer-toxicológiai szempontból veszélytelennek mondható. A mintákban mért higanykoncentráció két esetben volt kimutatható, mindkét esetben a hatóságilag előírt határérték alatt volt (1 mg/kg). Azonban a vizsgált két mintában az elfogadható heti felvétel 17,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ és 20,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ volt, ez a szerves higanyra megállapított PTWI-érték (1,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 7,8–9,3-szorosa, amely tartós felvétel esetén már potenciális veszélyt jelenthet a fogyasztó számára. Az ólom PTWI-értéke 0,4–1,49-szerese volt a meghatározott határértéknek (25 $\mu\text{g}/\text{kg}$). A tonhal ólomtartalma erős változékonyságot mutatott: a vizsgálat során a mért minták 45%-a a kimutathatósági határ alatt maradt. Emellett 47,5%-uk a megengedett határérték fölött volt. Ez jelenthet élelmiszer-toxicológiai problémát, hozzájárulhat a fogyasztó ólomterheléséhez. Eredményeik alapján a tonhalminták fogyasztása közegészségügyileg nem kifogásolható arzén és kadmium szempontjából, ólom esetén biztonságos döntés nem hozható és a tonhalminták változatos higanykoncentrációja miatt, nem javasolt az általuk mért halak napi rendszeres fogyasztását.

PLEVA DÁNIEL, LÁNYI KATALIN, DARNAY LÍVIA és LACZAY PÉTER a grillezett csirkemellminták érzékszervi és műszeres állománymérési paramétereinek, érzékszervi és műszeres színelemzési eredményeinek, valamint heterociklikusamin-tartalmának összefüggéseit mutatták be. A húsmintáink kiskereskedelmi forgalomból kerültek beszerzésre és Egyetemünk Élelmiszer-higiéniai Tanszékének Technológiai Laboratóriumában hőkezelték őket egy DeLonghi CGH 1012D elektromos grillsütővel, nyitott és kontakt formában, bőrrel és bőr nélkül, 5–10–15 perces csoportokban 150–190–230 °C hőmérsékleteken. Az elkészült minták műszeres színmérése (LAB-rendszerben) ugyanezen laboratórium Konica Minolta CR-400 Chroma Meter eszközével történt, a HCA-tartalmat (PhIP, MeIQx, 4,8-DiMeIQx, harman és norharman) a Tanszék Élelmiszer-toxicológiai Laboratóriumában Shimadzu LCMS 8030 HPLC-MS/MS rendszerrel mérték. A műszeres állománymérés helyszíne a MATE Élelmiszertudományi Karának laboratóriuma volt, ahol a minták keménységét, rugalmasságát és kohezivitását vizsgálták Stable Microsystems SMS TA XTplus Texture Analyser műszer segítségével és ezen adatokból számoltuk ki a húsrághatóságát is. Az érzékszervi színelemzés és az állomány porhanyósságának, valamint szaftosságának vizsgálata tízfős laikus csoporttal történt. Eredményeik

alapján elmondható, hogy az összes adatot egybevetve a szaftosság paraméter mutatott csak erős ($|r| > 0,7$) korrelációt: negatív korrelációban volt az össz-HCA-tartalommal, és a hús érzékszervileg meghatározott színével (itt a magasabb érték a nyersebb színt jelentette). Külön vizsgálták az egyes csoportokat a bőr jelenléte és a sütés módja alapján is, eszerint a kontakt (zárt) sütés esetén például a hús szaftossága és porhanyóssága is negatívan korrelált a mért keménységgel és a rághatóssággal is, ami alátámasztotta a műszeres és érzékszervi eredmények közötti összefüggést.

TÓZSÉR DÓRA, MÉRI NIKOLETT és SZAKMÁR KATALIN példát mutatott be az indirekt redoxpotenciál-mérés alkalmazására penészgombák vizsgálatára. A redoxpotenciál-méréseken alapuló MicroTester készülék a Tanszék Mikrobiológiai Laboratóriumának egyik legjelentősebb kutatási és vizsgálati eszköze, amely gyors mikrobaszám-meghatározásra (validált, saját fejlesztésű vertikális módszerek alkalmazása akkreditált tevékenységként), ill. különböző anyagok mikrobaszaporodás-gátló hatásának vizsgálatára is alkalmas. Kutatásuk

célja a módszer fejlesztése, a megfelelő kísérleti elrendezés és mérőcellák kialakítása, az értékelés protokolljának tökéletesítése. Ehhez az elmúlt időszakban a nagy koncentrációban hozzáadott eritrit és szacharóz hatását vizsgáltuk egy penészgomba, a *Penicillium expansum* szaporodására. A kísérlet során a lekvárt igyekezték modellezni, amelynek nagy cukortartalma és kis pH-ja miatt a romlási mikroflóráját megfelelő gyártási és tárolási technológia esetében kizárólag penészek alkotják. 20–40 w/v% szacharózt, ill. eritritet tartalmazó, 10% glükózzal kiegészített tripton-szója levesben elszaporított *P. expansum* felett lévő KOH-oldat redoxpotenciálját monitorozták. A „markáns” (detektációs kritérium: +0,3 mV/perc) növekedésig eltelt TTD-k hossza, ill. megléte alapján értékelték a gátlóhatást. Az édesítőt nem tartalmazó kontrollhoz képest a szacharóz minden esetben gyorsította a szaporodást – hiszen tápanyagul szolgál a penésznek, a vízaktivitás-csökkenés pedig nem volt elegendő a gátláshoz – azonban az eritrit már 20%-ban is jelentősen lassította, 40%-ban pedig teljesen meggátolta a szaporodást.

Dr. Darnay Lívía



HERMAN OTTÓ INTÉZET

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



VAN MÉG MIT MONDANUNK:



LAPOZZON BELE
TOVÁBBI FOLYÓIRATAINKBA IS!

Archív lapszámok és előfizetési információk a www.agrarlapok.hu oldalon.

