

---

## A CAE-ra való fogékonyság vizsgálata

Kusza Szilvia<sup>1</sup> – Bősze Zsuzsanna<sup>2</sup> –  
Kukovics Sándor<sup>3</sup> – Jávor András<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum,  
Mezőgazdaságtudományi Kar,

Állattenyésztés- és Takarmányozástani Tanszék, Debrecen

<sup>2</sup>Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Gödöllő

<sup>3</sup>Magyar Kecsketartók és Tenyésztők Országos Szövetsége,

Herceghalom

kusza@helios.date.hu

### ÖSSZEFOGLALÁS

A *Caprine Arthritis Encephalitis* egy betegség csoport neve, amelyet egy retrovírus okoz, a *Caprine Arthritis Encephalitis* vírus. Ez a vírus a lentivírusok csoportjába, azon belül a retrovírusok családjába tartozik. Az egyik fehérvérsejt típusban él, így bármelyik váladék, amelyik ezt tartalmazza, potenciális fertőző forrása más kecskének az állományban. Ha egy kecske egyszer már megfertőződött a CAEV-val, egész élete során fertőzött maradt, és mivel jelenleg még nincs kezelése a betegségnek, az állat selejtezésre kerül.

Mivel azonban nem minden fertőzött kecskében alakulnak ki a betegség tünetei, nagyon fontos a szerológiai vizsgálat elvégzése (ELISA, AGID, IDT). Ezen szerológiai tesztek vagy antitestek jelenlétét mutatják ki a szérumban vagy a vírus genomját a fehérvérsejten. Azonban svájci eredmények (Dolf és Ruff, 1994) szerint a betegség kialakulása függ az egyedtől illetve fajától. Vizsgálatainkhoz ezt az eredményt tekintettük kiinduló pontnak. Mikroszatellit analízist végeztünk, hogy megtudjuk, van-e összefüggés a genotípus és a szerológiai eredmények között, illetve egy markert kerestünk, amely a betegségre való fogékonysággal kapcsolatban van. Eddig összesen 135 kecske került megvizsgálásra, azonban szignifikáns különbséget nem találtunk a szerológiai eredmény és a genotípus között.

**Kulcsszavak:** CAE, mikroszatellit, szerológiai vizsgálat, retrovírus

### SUMMARY

*Caprine Arthritis Encephalitis* (CAE) is a group of diseases in goats caused by a retrovirus, namely the *Caprine Arthritis Encephalitis Virus*. CAEV belongs to the lentivirus group within the retrovirus family. The CAEV is intimately associated with white blood cells, therefore any body secretions which contain white blood cells are a potential source of virus to other goats in the flock. Once goats are infected with CAEV, it remains infected for life and has to be eliminated.

Since not all goats infected with CAEV progress to disease, very important to test goats for infection using a serology test (ELISA, AGID, IDT). These serological tests demonstrate the presence of antibodies to CAEV in goat serum or detect the virus genome in the white blood cells. However, Swiss results (Dolf and Ruff, 1994) pointed out individual and species differences in predisposition for this disease. This result was considered as a starting point to our examination. Microsatellite analysis was used in order to find whether there was any association between genotype and serological results, and to look for a marker associated with this disease. To date, altogether 135 goats have been examined. Unfortunately, a significant association between serological results and genotype was not found using the  $\chi^2$  test.

**Keywords:** CAE, microsatellite, serological tests, Retrovirus

### BEVEZETÉS, TÉMAFELVETÉS

A kecske izületi gyulladással járó agyvelőgyulladás (Caprine Arthritis Encephalitis – CAE) egy lentivírus okozta betegség. A vírust 1982-ben írták le először az Egyesült Királyságban. A betegségről azonban már 1974-ben szóltak írárok Viral Leukoencephalitis of Goats (VLG) néven. Azonban mikor kiderült, hogy az izületi gyulladást is ugyanaz a vírus okozza, megváltozott a betegség neve Caprine Arthritis Encephalitis Syndrome-ra (Sherman, 1992). A megfertőzött kecske egész élete során hordozza a vírust és megbetegíti a társait. A fertőzést kizárólag vérvizsgálat során lehet kimutatni, és mivel a betegség kifejlődése nagyon lassú, gyakran hónapok, sőt évek telhetnek el, míg a klinikai tünetek megjelennek. A vírus az egyik fehérvérsejt típusban él, ezért a testnedvek útján fertőz (tej, nyál, ondó, vér). A betegség a komolyabb kecsketenyésztéssel rendelkező országokban igen elterjedt (Svájc, Franciaország, Hollandia stb.).

A KSH adatai szerint 50-55000 anyakecske van az országban, melyek 3 importált eredetű (alpesi, számentáli, búr) és négy hazai tenyésztésű (nemesített magyar kecske, tejelő fehér magyar kecske, tejelő barna magyar kecske, tejelő tarka magyar kecske) fajtába sorolható.

A CAE fertőzöttség a magyar kecskeállományban is jelen van, azonban mentesítésük idő- és pénzigényes folyamat (Kukovics, 2001). Számos országban végeztek szerológiai vizsgálatokat a vírus kimutatása céljából ELISA, IDT, AGID, IBA teszteket alkalmazva. Azonban svájci szerzők eredményei arra utalnak, hogy egyedi és fajta különbségek vannak a CAE-re való fogékonyságban. Dolf és Ruff (1994) DNS fingerprint módszert alkalmazott a CAEV fertőzöttség és a genotípus közötti összefüggés kimutatására. Egyértelmű kapcsolatot találtak a számentáli fajtában a vírus indukálta betegségre való érzékenységre és egy DNS sáv között. Azonban nem állt fenn ez a megállapítás az alpesi fajtánál. A toggenburgi fajtánál egy másik DNS sávot kaptak.

A fingerprint módszerrel történő vizsgálatokat azonban nem folytatták, mivel ezen technológia reprodukálhatósága igen alacsony. Helyette mikroszatellit vizsgálatokat indítottak (amit most ugyancsak nem folytatnak). Az MHC I osztály Be1 allélja összefüggésben van a CAEV indukálta arthritis illetve egyéb klinikai tünetek

megjelenésével, míg a Be7 allél pedig a tünetek kifejlődésének rezisztenciájával (Ruff-Lazary, 1988). További vizsgálataik szerint a svájci szánentáli állományban a Be1 allél együtt öröklődik a DRBP1 „213 bp” MHC II alléllal (Ruff, szóbeli közlés).

Vizsgálataim során a céljaim a következők voltak:

- Megvizsgálni, van-e összefüggés a genotípus és a betegség kialakulása között.
- Találni egy markert, ami a betegségre való fogékonysággal van összefüggésben.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

Kezdeti lépésben a tervezett 2000 állatból 56 szánentáli és 79 tejelő magyar kecske esetében végeztem el a vizsgálatot, amelyeknek a szerológiai vizsgálatát az Országos Állategészségügyi Intézetben végezték el ELISA és AGID módszert alkalmazva. A vizsgálatba bevont tejelő magyar kecske három színváltozatát különítjük el: fehér, barna és tarka. A kialakításukban résztvevő fajták a következők voltak:

**Fehér:** a kiinduló anyaállomány a hazai, ismeretlen tenyésztési háttérű, fehér színű kecske, amelynek fedezetéséhez hazai és import fehér színt örökítő tejelő kecskefajták ismert származású bakjait használták (szánentáli, német nemesített fehér kecske, szlovák-, cseh-, holland fehér kecske).

**Barna:** A kiinduló anyaállomány a hazai, ismeretlen tenyésztési háttérű, barna színű kecske és a fedezetésre barna színt örökítő tejelő fajták ismert származású bakjait használták (alpesi, toggenburgi).

**Tarka:** A hazai ismeretlen tenyésztési háttérű, tarka színű kecske képezi a kiinduló anyaállományt, amelynek a fedezetésére tarka színű tejelő fajták ismert származású bakjait használták (anglo-nubiai, máltai, holland toggenburgi).

Azonban ezt a 3 fajtát még nem különíthetjük el egyértelműen, mivel csak 4 éve kezdtek el külön fajtaként említeni őket, ezért én is egy fajtának tekintettem a vizsgálat kiértékelése során.

Egyedenként 1 ml vérminta levétele történt meg, ugyancsak 1 ml EDTA véralvadástól tartalmazó Eppendorf csövekbe, majd -20 fokon tárolásra kerültek használatukig.

A DNS vizsgálatokhoz a genomiális DNS kivonása fenol-kloroform alapú protokoll szerint történt (Bószé et al., 2000).

Ezután a vérmintákból tisztított DNS szakaszok PCR-rel való amplifikálása következett, majd fragment analízist végeztem. A fragment analízis során a belső standard 142; 162 bp; 252 és 275 bp., míg a külső standard 142; 162; 252; 275; 206 és 309 bp hosszú volt. A PCR elegy összetétele 25 µl-hez: 100 ng genomiális DNS, 0,38 µM Ready Mix (SIGMA, USA), 0,04 µM mindkét primerből (MWG-Biotech AG). A PCR reakcióhoz használt primerek:

F: 5'-GGA-CAC-GTT-CTT-GCA-GAT-ACA-ACT-AC-3'

R: 5'-GAA-CTC-TCC-TTA-AGC-ATA-CTT-GCT-C-3'

A PCR körülmények a következők:

kezdő szakasz	95 °C	5 min.	} 34X
denaturáció	95 °C	40 sec	
primerek feltapadása	58 °C	40 sec	
elongáció	72 °C	40 sec	
végző szakasz	72 °C	4 sec	

4 °C forever

Statisztikai vizsgálatához Chi<sup>2</sup> módszert használtam.

## EREDMÉNYEK

Vizsgálatom megkezdéséhez a szerológiai eredmények ismerete volt szükséges. Ezt az Országos Állategészségügyi Intézetben (Budapest) végeztek el ELISA és AGID tesztek alkalmazva. Az eredmények szerint a vizsgált állatok 30%-a szerológiai pozitív, azaz vírus hordozó (Kukovics et al., 2003). Ezen eredmények ismeretében kiválasztottam az elsőként vizsgálatra kerülő állatokat. A kiválasztás során a svájci szerzők eredményeit vettem figyelembe, így a szánentáli fajtából választottam ki az egyedeket olyan megoszlásban, hogy a szerológiai eredményeik közel fele-fele arányban legyen pozitív és negatív, majd tejelő magyar kecskéket is vizsgáltam, mivel ezek különböző genetikai háttérrel rendelkeznek, amelyeket a svájci szerzők ugyancsak vizsgáltak és kíváncsi voltam, hogy hasonló eredményt kapok-e.

Az egyes genotípusok darabszámát a két vizsgált fajtában, illetve a szerológiai eredményeik alapján való felbontásukat az 1. táblázatban mutatom be.

1. táblázat

A vizsgált fajták genotípusai

	Szánentáli(1)		Magyar tejelő(2)	
	pozitív (darab)(3)	negatív (darab)(4)	pozitív (darab)(3)	negatív (darab)(4)
AA	3	1	5	7
AB			1	1
AC	9	2	1	3
AD	1	0		
AE	1	0	8	3
AG	4	0		
AH	1	0		
BB	1	0	0	2
BE	0	1	1	2
CC	14	1	4	6
CE	3	0	6	2
CG	6	0		
DD	1	1	1	2
DE	1	0	0	2
EE	1	1	9	9
EG	1	0	0	0
FF			2	2
GG	2	0		
össz.(5)	49	7	38	41

Table 1: Genotype of examined breeds

Saanen(1), Dairy Hungarian(2), Positive (piece)(3), Negative (piece)(4), Total(5)

Az egyes genotípusok gyakoriságát az alábbi képletet használva kaptam meg:

$$P_i = N_i / n$$

ahol,

$P_i$  – az  $i$  genotípus gyakorisága,

$N_i$  – az  $i$  genotípusú egyedek száma,

$n$  – összes egyedszám.

Azt az eredményt kaptam, hogy a szánentáli fajtában a heterozigóta kecskék aránya (54%), míg a tejelő magyar kecske fajtában (62%) a homozigóta egyedek aránya a magasabb. Ezt az 1. ábra szemlélteti.

A minták genotípusának meghatározása után, az MHC II-DRBP1 gén allélfrekvencia értékeinek számítását végeztem el, az alábbi szabály szerint: a vizsgált allélt homozigótaként hordozó egyedek gyakoriságának kétszereséhez hozzáadtam az allélt heterozigótaként hordozó egyedek gyakoriságát. Ennek eredményét a 2. táblázatban mutatom be.

1. ábra: A heterozigóta és homozigóta egyedek megoszlása a vizsgált állományokban

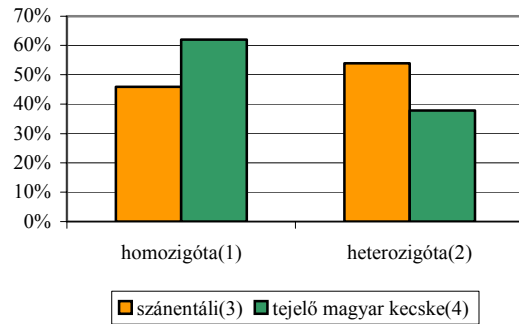


Figure 1: Distribution of heterozygous and homozygous goats in the examined herds

Homozygous(1), Heterozygous(2), Saanen(3), Dairy Hungarian Goat(4)

2. táblázat

#### DRBP1 allélfrekvencia értékek

Fajta(1)	n	A allél(2)	B allél(3)	C allél(4)	D allél(5)	E allél(6)	F allél(7)	G allél(8)	H allél(9)
Szánentáli(10)	56	0,232	0,027	<b>0,455</b>	0,054	0,098	-	0,134	0,009
tejelő magyar(11)	79	0,259	0,057	0,203	0,038	<b>0,380</b>	0,051	-	-

Table 2: Allele frequency values of DRBP1

Breed(1), A allele(2), B allele(3), C allele(4), D allele(5), E allele(6), F allele(7), G allele(8), H allele(9), Saanen(10), Dairy Hungarian(11)

A kapott eredményeim alapján megállapítható, hogy a C allél (209-213 bp) gyakorisága a legnagyobb. Ez az allél valószínűleg a Be1 allél, azonban ez még nincs bizonyítva. Amennyiben ez a megállapítás igaz a betegség a vizsgált állatok közel felében meg fog jelenni, azonban még egyszer hangsúlyozom, még nincs megerősítve, hogy az általam C allélnak nevezett bp intervallum és a Be1 allél ugyanaz lenne.

Mivel a tejelő magyar fehér kecske szánentáli vért is tartalmaz, megvizsgáltam, hogy a DRBP1 allélfrekvencia értékei hasonlóan alakulnak-e a szánentálihoz. A kapott eredményt a 2. ábra mutatja.

2. ábra: DRBP1 allélfrekvencia értékek a tejelő fehér magyar kecskében

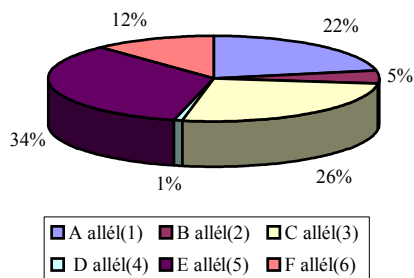


Figure 2: Values of DRBP1 allele frequency in Dairy Hungarian White Goat

A allele(1), B allele(2), C allele(3), D allele(4), E allele(5), F allele(6)

Az E allél a leggyakoribb a magyar tejelő fehér kecske fajtában is – a magyar tejelő fajtához hasonlóan –, de a következő leggyakrabban előforduló a C allél. Ez az eredmény a szánentáli hatásnak tulajdonítható. Azonban ez az eredmény annak is köszönhető, hogy az összes vizsgált 79 db magyar tejelő kecskéből 44 db tejelő magyar fehér kecske volt.

Statisztikai vizsgálataimat  $\chi^2$  próbával végeztem. Eredményeim alapján egyik fajta esetében sincs szignifikáns összefüggés a szerológiai eredmény és a genotípus között 5%-os hibahatár mellett.

#### KÖVETKEZTETÉSEK, ÖSSZEFOGLALÁS

A Caprine Arthritis Encephalitis egy lassú vírusos betegség, amely hasonlít az AIDS-hez illetve a juhok Maedi-Visna megbetegedéséhez. A vírus kimutatására számos módszert fejlesztettek ki, azonban mivel nincs ellenszere, a megbetegedett állatok selejtezésre kerülnek, így az lenne a leghatékonyabb módja az ellene való védekezésnek, ha meg tudnánk állapítani a megszületett kecskegida véréből, hogy az a betegségre genetikailag fogékony-e vagy sem. Több országban indultak kísérletek ennek céljából, azonban eddig sehol sem jártak eredménnyel. Svájci kutatók DNS fingerprint módszert alkalmazva jutottak legtovább az MHC II-DRBP 1 gén 2 alléljának vizsgálata során.

Vizsgálataim során megállapítottam, hogy a 209-213 bp intervallumba tartozó szakasz – amit C

---

allélnak neveztem el – a leggyakoribb a szánentáli állományban. Ez az eredmény további vizsgálatokat igényel annak érdekében, hogy megtudjuk, ez megegyezik-e a Bel alléllal, ami pedig a klinikai tünetek megjelenését eredményezi.

A statisztikai vizsgálat során azt az eredményt kaptam, hogy nincs szignifikáns kapcsolat a szerológiai eredmények és a genotípus között. Azonban tudnunk kell, hogy a szerológiai eredmények nem elegendőek a genetikai vizsgálatokhoz, mivel hamis eredmények születhetnek a következő okokból:

- Lehetséges, hogy nincs rezisztencia a vizsgált állományban (vagy talán egyik kecskefajtában sem). Eddigi tudásunk szerint nincs biztosan alátámasztott bizonyíték a CAEV genetikai fogékonyságra vagy rezisztenciára.
- A vizsgált családok számának, méretének ismeret különösen fontos, ha a CAEV-re vonatkozó immunválasz többtényezős.
- A fenotípus pontos meghatározása is szükséges. A szerológiai eredmények erősen függenek az egyed korától, élettani állapotától.

#### IRODALOM

- Bősze, Z.-Hiripi, L.-Virág, G.-Tóth, S.-Makovic, S.-Fontaine, M. L.-Devinoy, E. (2000): Polymorphism of the rabbit kappa casein gene and its influence on performance traits. *Pflugers Arch*, 439. (3 Suppl). R2-3.
- Dolf, G.-Ruff, G. (1994): A DNA fingerprinting band associated with the susceptibility to CAE virus-induced arthritis in goats. *Br. Vet. J.*, 150. 349-353.
- Kukovics S. (2001): A kecske és a CAE vírus. *Magyar Mezőgazdaság melléklete, Magyar Juhászat*, 9. 10. 4-5.
- Kukovics, S.-Molnár, A.-Ábrahám, M.-Dani, Z.-Kusza, Sz.-Fülöp, Gy. (2003): The presence of CAE in the Hungarian goat breeds. *EU konform mezőgazdaság és élelmiszerbiztonság, Gödöllő*, 219-228.
- Leroux, C.-Lerondelle, C.-Chastang, J.-Mornex, J. F. (1997): RT-PCR detection of lentiviruses in milk or mammary secretions of sheep or goats from infected flocks. *Vet. Res.*, 28. 115-121.
- Ruff, G.-Lazary, S. (1988): Evidence for linkage between the caprine leucocyte antigen (CLA) system and susceptibility to CAE virus induced arthritis in goats. *Immunogenetics*, 28. 303-309.
- Sherman, D. M. (1992): *Caprine Arthritis Encephalitis. Goat handbook.* Pennsylvania State Univ.