

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA  
SzIE ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK  
(2012. jan. 16-19)

**VIROLÓGIA, IMMUNOLÓGIA, BAKTERIOLÓGIA**

2011. évi 38. füzet

## ELŐSZÓ

Kedves Kolleganők és Kollegák !

Budapest, 2012. január

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és a SzIE Állatorvos-tudományi Doktori Iskolája 2012. január 16-19. között tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló, immár 38. „akadémiai beszámoló” ülésorozatot.

Az előző évek gyakorlatának megfelelően a beszámolókon PhD hallgatók szereplését külön is elvárjuk, s reméljük, hogy ez is egy jó alkalma lesz a különböző tudományos-szakmai műhelyeket és korosztályokat képviselő, egymás munkája iránt érdeklődő kolleganők/kollegák találkozásának.

Az egyes szekciók üléseinek helyét és idejét a mellékelt beosztásban tüntettük fel.

Az előadások és azt követő megvitatás időtartama legfeljebb: 10 + 5 perc.

Kérjük, hogy a megadott maximális időtartamot senki ne lépje túl! Előző évek gyakorlatának megfelelően, aki azonos témán belül jelentett be 2 vagy több előadást, a 10 + 5 percnél többre az se számítson! Ne az előadások számára, hanem azok szakma-tudományos értékére helyezzük a súlyt!

Az előadások összefoglalóit – szekciófüzetekbe csoportosítva – elektronikus úton adjuk közre.

A beszámoló füzetek anyaga az MTA ÁoKi honlapján ([www.vmri.hu](http://www.vmri.hu)/ MTA – Állatorvos-tudományi Bizottság) megtalálható. Kérjük, hogy az összefoglalók anyagát minden esetben - megvitatásra alkalmas formában – előadni szíveskedjenek.

Ami a vitát illeti, a résztvevőket, különösen pedig a bizottsági tagokat és az üléselnököket kérjük arra, hogy kérdéseikkel, hozzáfűzött megjegyzéseikkel, javaslataikkal, szíveskedjenek az előadottak részletesebb megismerését, értékelését és a beszámoló csoportok további munkáját segíteni. Sokan úgy véljük, hogy a tudományos előrehaladás és a fiatalok tudományos fórumokhoz való szoktatása szempontjából a vita (mégpedig a megfelelő kritikai elemeket sem nélkülöző vita) épp olyan fontos, mint maga az előadás.

Ezért a hasznos és előrevivő vitához szükséges „műhely légkör” kialakítását és fenntartását valamennyi résztvevőtől, de különösen a bizottsági tagoktól és az elnököktől ez úton is tisztelettel és nyomatékosan kérjük.

Az egyes szekciók titkárait arra is kérjük, hogy a szekcióülésről február végéig készítsenek és juttassanak el az Állatorvos-tudományi Bizottság elnökéhez (bnagy@vmri.hu) egy-egy rövid, közérthető formában megírt, a szekció elnökkel (elnökökkel) egyeztetett tájékoztatót (Magy.Áo. Lapja-ban való közlés céljából), mely szükség esetén tartalmazza nem csak az előadások, hanem a vita legfontosabb megállapításait is.

Kérjük az intézetek vezetőit, hogy az elektronikus úton megküldött anyagból továbbítsanak, ill. kellő példányszámban másoltassanak munkatársaik és érdeklődő nyugdíjasaik számára is. Kérjük, továbbá, hogy munkatársaikat segítsék és hívják az üléseken való aktív és sikeres részvételre.

Előre is köszönjük a szekció elnökök, a titkárok, a bizottsági tagok és valamennyi előadó munkáját, s külön is köszönjük Dr. Tuboly Tamásnak az állatorvos-tudományi bizottság titkárának az összefoglaló füzetek előállításában nyújtott nélkülözhetetlen segítségét.

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és a SzIE Állatorvos-tudományi Doktori Iskolája nevében,  
Sikeres, Boldog Új esztendőt kívánva,

Dr. Nagy Béla,  
elnök  
MTA Áo-tud. Bizottsága

Dr. Rusvai Miklós, egyetemi tanár  
elnök  
SzIE Áo-tud Dokt. Isk. Tanácsa

**MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és SzIE-ÁoTK DI, akadémiai beszámolóinak beosztása és szekcióbizottságai**  
(2012. január 16-19.)

<b>A szekció megnevezése</b>	<b>A szekcióülés ideje</b>	<b>A szekcióülés helye</b>	<b>Társelnökök</b>	<b>Titkár</b>	<b>Bizottsági tagok</b>
Élettan Biokémia Kórélettan Morfológia	<b>I. 16 hétfő</b> 8.30-tól	Élettan tanterem	Dr. Bartha Tibor Dr. Frenyó V. László Dr. Sótonyi Péter	Dr. Zsarnovszky Attila	Dr. Halasy Katalin Dr. Kovács Melinda Dr. Kutas Ferenc Dr. Vajdovich Péter Dr. Veresegyházi Tamás
Élelmiszerhigiénia	<b>I. 16 hétfő</b> 11.00 -tól	Továbbképzés tanterem	Dr. Laczay Péter Dr. Sas Barnabás	Dr. Székely Körmöczy Péter	Dr. Józwiak Ákos Dr. Kovács Sándor Dr. Lombai György Dr. Szita Géza
Állathigiénia Állattenyésztés Genetika Takarmányozástan	<b>I. 16. hétfő</b> 13-tól	Élettan tanterem	Dr. Brydl Endre Dr. Kovács Melinda Dr Szabó József	Dr. Bersényi András	Dr. Fekete Sándor Dr. Jakab László Dr. Ózsvári László Dr. Rafai Pál Dr. Zöldág László
Virologia, Immunológia,  Bakteriológia	<b>I. 17. kedd</b> 8.30-tól  13-tól	Élettan tanterem	Dr. Benkő Mária Dr. Harrach Balázs Dr. Tuboly Tamás  Dr. Bernáth Sándor Dr. Fodor László Dr. Varga János	Dr. Pálfi Vilmos  Dr. Jánosi Szilárd	Dr. Bakonyi Tamás Dr. Dán Ádám, Dr. Hornyák Ákos, Dr. Pénzes Zoltán Dr. Rusvai Miklós, Dr. Soós Tibor  Dr. Hajtós István Dr. Magyar Tibor Dr. Makrai László Dr. Nagy Béla Dr. Tenk Miklós, Dr. Tóth István
Parazitológia Állattan Halkórtan	<b>I. 18. szerda</b> 8.30-tól	Élettan tanterem	Dr. Kassai Tibor Dr. Hornung Erzsébet Dr. Molnár Kálmán	Dr. Baska Ferenc	Dr. Békési László Dr. Csaba György Dr. Farkas Róbert Dr. Varga István
Klinikumok Gyógyszertan Toxicológia	<b>I. 19. csütörtök</b> 8.30-tól	Belgyógyászat tanterem	Dr. Gálfi Péter Dr. Szenci Ottó Dr. Vörös Károly	Dr. Jerzsele Ákos Dr. Sterczner Ágnes	Dr. Hevesi Ákos Dr. Sályi Gábor Dr. Vajdovich Péter Dr. Zöldág László

## TARTALOMJEGYZÉK

### VIROLÓGIA - (2012. 01.17 délelőtt)

1. LESŐHARCSEA (*SILURUS GLANIS*) CIRCOVÍRUS KIMUTATÁSA ÉS GENETIKAI JELLEMZÉSE

*Lőrincz Márta, Dán Ádám, Woynárovichné Láng Mária, Csaba György, Tóth Ádám, Székely Csaba, Cságola Attila, Tuboly Tamás*

2. VESZETTSÉG ESETEK MAGYARORSZÁGON AZ ELMÚLT ÉVTIZEDBEN ÉS A KIMUTATOTT VÍRUSOK GENETIKAI JELLEMZÉSE

*Juhász Tamás, Szeredi Levente, Malik Péter, Hornyák Ákos*

3. A LÓ FERTŐZŐ KEVÉSVÉRŰSÉGE AKTUÁLIS HELYZETE A SZEROLÓGIAI ÉS VIROLÓGIAI VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI ALAPJÁN

*Stollár Katalin, Malik Péter, Dénes Béla, Hornyák Ákos, Bakonyi Tamás*

4. A NYUGAT-NÍLUSI VÍRUS HAZAI ELŐFORDULÁSÁRA IRÁNYULÓ SZEROLÓGIAI FELMÉRŐ VIZSGÁLATOK

*Barna Mónika, Erdélyi Károly, Ferenczi Emőke, Bakonyi Tamás*

5. NYUGAT-NÍLUSI LÁZ KÉK VÉRCSEKKBEN: FIÓKAKORI SZEROPREVALENCIA ÉS VEKTOROKBAN MÉRT VÍRUS PREVALENCIA BECSLÉSEK EGY POTENCIÁLIS HAZAI KÓROKOZÓ-REZERVOÁR RENDSZERBEN

*Fehérvári Péter, Soltész Zoltán, Bakonyi Tamás, Barna Mónika, Szentpáli-Gavallér Katalin, Solt Szabolcs, Palatitz Péter, Lázár Bence, Kotymán László, Harnos Andrea, Erdélyi Károly*

6. NYUGAT-NÍLUSI VÍRUS TELJES HOSSZÚSÁGÚ FERTŐZŐ KLÓNJÁNAK ELŐÁLLÍTÁSA, PATOGENITÁS MARKEREK VIZSGÁLATÁNAK CÉLJÁBÓL

*Szentpáli-Gavallér Katalin, Bálint Ádám, Dencső László, Dán Ádám, Erdélyi Károly, Bakonyi Tamás*

7. ADENOVÍRUS OKOZTA ZÚZÓGYOMOR FEKÉLY ÉS BELSŐ VÉRZÉS TOJÓTYÚKOKBAN

*Ivanics Éva, Palya Vilmos, Dán Ádám, Harrach Balázs, Thuma Ákos, Glávits Róbert*

8. ADENOVÍRUS OKOZTA BRONCHOPNEUMONIA PULYKÁKBAN

*Glávits Róbert, Palya Vilmos, Ivanics Éva, Szalay Dénes, Nemes Csaba, Gyuris Éva, Dán Ádám, Bálint Ádám, Harrach Balázs*

9. EGY TERMÉSZETES KULLANCENCEPHALITIS-GÓC KÉTÉVES VIZSGÁLATA

*Zöldi Viktor, Papp Tibor, Rigó Krisztina, Ádámszki Szabolcs, Egyed László*

10. BAKTÉRIUMOS FERTŐZÉSSSEL SZÖVÖDÖTT, ÚJ TÍPUSÚ PARAMYXOVÍRUS OKOZTA PNEUMÓNIA JÁVAI BOASIKLÓBAN

*Papp Tibor, Farkas Szilvia, Gál János*

11. ÚJONNAN KIMUTATOTT CSIRKE ÉS PULYKA PARVOVÍRUSOK KÓROKTANI SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA

*Gál János, Benyeda Zsófia, Palade Elena Alina, Nemes Csaba, Rusvai Miklós, Mándoki Míra*

12. ÚJ PARVOVÍRUSOK KIMUTATÁSA HÜLLŐKBEN

*Pénzes Judit, Benkő Mária*

13. ÚJ TÍPUSÚ SERTÉS PARVOVÍRUS FERTŐZÉSEK KIMUTATÁSA

*Csárgola Attila, LőrinczMárta, Cadar Dániel, Tombácz Kata, Biksi Imre, Tuboly Tamás*

14. A BLUETONGUE HAZAI ELSŐ KITÖRÉSÉNEK FELSZÁMOLÁSÁRÓL

*Hajtós István, Pálfi Vilmos, Jánki Lajos, Sréter Tamás, Gyulai Péter, Malik Péter*

15. SERTÉS CIRCOVÍRUS ELLENI VAKCINA ELŐÁLLÍTÁSA UBORKAMOZAIK VÍRUS ALAPÚ EXPRESSZIÓS RENDSZER FELHASZNÁLÁSÁVAL

*Tombácz Kata, Gellért Ákos, Salánki Katalin, Tuboly Tamás, Balázs Ervin*

16. AZ AUPHYL PLUS VAKCINA RÁFERTŐZŐ VÍRUS ÜRÍTÉS MÉRTÉKÉRE GYAKOROLT HATÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSA VÍRUS IZOLÁLÁSSAL ÉS KVANTITATÍV REAL-TIME PCR-REL

*Kiss István, Mató Tamás, Felföldi Balázs, Walkóné Kovács Edit, Palya Vilmos*

17. FERTŐZŐ BRONCHITIS ELLEN ALKALMAZOTT „PRIME-BOOST” VAKCINÁZÁSI PROTOKOLL HATÉKONYSÁGA HETEROLÓG FERTŐZÉSEKKEL SZEMBEN

*Walkóné Kovács Edit, Felföldi Balázs, Kiss István, Matóné Tatár-Kis Tímea, Mató Tamás, Palya Vilmos*

18. KLASSZIKUS SERTÉSPESTIS ELLENI VAKCINAJELÖLT VÍRUSTÖRZS HATÉKONYSÁGI VIZSGÁLATA ANYAI ELLENANYAGOKTÓL MENTES, 6 HETES MALACOKBAN

*Lévai Réka, Barna Tímea, Farsang Attila, Fábrián Katalin, Sandra Blome, Sandra Juanola, Ilse Vaengel, Frank Koenen, Kulcsár Gábor*

KLASSZIKUS SERTÉSPESTIS JÁRVÁNY NÓGRÁD MEGYE ÉS PEST MEGYE VADDISZNÓÁLLOMÁNYÁBAN A JÁRVÁNYÜGYI INTÉZKEDÉSEK TÜKRÉBEN

*Földi Zsolt, Joó Jenő*

## **BAKTERIOLÓGIA – (2012 01.17 délután)**

### **19. STAPHYLOCOCCUS AUREUS VIRULENCIA STÁTUSZÁNAK MEGHATÁROZÁSA KOMPLEX PCR MÓDSZERREL HÁZINYÚL ÁLLOMÁNYOKBAN**

Német Zoltán László, Dán Ádám, Szenci Ottó, Biksi Imre

### **20. ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE TÍPUSTÖRZSEK ELLEN TERMELT HIPERIMMUN SAVÓK VIZSGÁLATA**

Sárközi Rita, Makrai László, Tenk Miklós, Pálmai Nimród és Fodor László

### **21. ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE RÁFERTŐZŐ MODELL KIALAKÍTÁSA AZ EURÓPAI GYÓGYSZERKÖNYV KÖVETELMÉNYEI SZERINT**

Tenk Miklós, Pálmai Nimród, Gál Bence, Benyeda János, Glávits Róbert, Országgh Georges és Benaouda Kadra

### **22. MODELLKÍSÉRLET A CSIRKÉK ELHALÁSOS BÉLGYULLADÁSÁNAK (NECROTIC ENTERITIS) ELŐIDÉZÉSÉRE**

Gál Bence, Benyeda János, Glávits Róbert, Tenk Miklós

### **23. MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE ELLENI SEJTES IMMUNVÁLASZ VIZSGÁLATA ALLERGIÁS BŐRPRÓBA ÉS ELISPOT MÓDSZER SEGÍTSÉGÉVEL**

Tenk Miklós, Siklódi Botond Benyeda János és Terényi Nóra

### **24. A TULAREMIA EPIDEMIOLÓGIAI JELLEMZŐINEK VÁLTOZÁSA**

Gyuranecz Miklós, Reiczigel Jenő, Krisztalovics Katalin, Monse László, Szabóné Kükedi Gabriella, Szilágyi Andrásné, Szépe Bálint, Makrai László, Magyar Tibor, Erdélyi Károly

### **25. FRANCISELLA TULARENSIS ÉS FRANCISELLA-SZERŰ ENDOSYMBIONTÁK ELŐFORDULÁSA A HAZAI KULLANCSOKBAN**

Kreizinger Zsuzsa, Hornok Sándor, Dán Ádám, Makrai László, Magyar Tibor, Erdélyi Károly, Stanislav Hresko, Mangesh Bhide, Gyuranecz Miklós

### **26. BRUCELLA CANIS GAZDAFAJON BELÜLI EVOLÚCIÓJA EGY JÁRVÁNY SORÁN**

Gyuranecz Miklós, Brandy D. Rannals, Jánosi Szilárd, Magyar Tibor, Kreizinger Zsuzsa, Paul S. Keim, Jeffrey T. Foster

### **27. EGY TENYÉSZJUH-ÁLLOMÁNY BRUCELLA OVIS-FERTŐZÖTTSEGTŐL VALÓ MENTESÍTÉSI KÍSÉRLETÉNEK TAPASZTALATAI**

Gyuranecz Miklós, Horváth Gábor, Kreizinger Zsuzsa, Rónai Zsuzsanna, Szeredi Levente, Jánosi Szilárd, Makrai László, Sárközi Rita, Magyar Tibor, Dán Ádám, Hajtós István, Dénes Béla

28. Q-LÁZ ELŐFORDULÁSA MAGYARORSZÁGON

Gyuranecz Miklós, Dénes Béla, Hornok Sándor, Kovács Péter, Horváth Gábor, Jurkovich Viktor, Varga Tamás, Szabó Réka, Magyar Tibor, Vass Nóra, Hajtós István, Dán Ádám

29. KÜLÖNBÖZŐ GAZDAFAJOKBÓL SZÁRMAZÓ *BORDETELLA BRONCHISEPTICA* TÖRZSEK FLAGELLINJÉNEK VIZSGÁLATA HAGYOMÁNYOS ÉS MOLEKULÁRIS GENETIKAI MÓDSZEREKKEL

*Khayer Bernadett, Wehmann Enikő, és Magyar Tibor*

30. LÚDEREDETŰ ELTÉRŐ PATHOGENITÁSÚ *PASTEURELLA MULTOCIDA* TÖRZSEK VIRULENCIA GÉNJEINEK VIZSGÁLATA

*Varga Zsuzsanna, Volokhov, Dmitriy, Selleyi Boglárka, Ivanics Éva és Magyar Tibor*

31. ELTÉRŐ JELLEMZŐKKEL BÍRÓ A:1 SZEROTÍPUSÚ *PASTEURELLA MULTOCIDA* IZOLÁTUMOK KÓROKOZÓ KÉPESSÉGÉNEK VIZSGÁLATA CSIRKEFERTŐZÉSI KÍSÉRLETBEN

*Varga Zsuzsanna, Horváth Ernő, Ivanics Éva, Selleyi Boglárka, Fábrián Katalin és Magyar Tibor*

32. BAROMFIBÓL IZOLÁLT *PASTEURELLA MULTOCIDA* TÖRZSEK ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉGÉNEK ALAKULÁSA 2005-2010 KÖZÖTT

*Varga Zsuzsanna, Juhászné Kaszanyitzky Éva, Selleyi Boglárka, Ivanics Éva és Magyar Tibor*

33. AZ *ESCHERICHIA COLI* T22 TÖRZS (O157:H43) CITOLETÁLIS DUZZASZTÓ TOXIN (CDT-V) OPERONJA P2-SZERŰ PROFÁGBAN FOGLAL HELYET

*Sváb Domonkos, Tóth István*

34. *ESCHERICHIA COLI* REFERENCIA KOLLEKCIÓ (ECOR) LIZOGENITÁSA ÉS LITIKUS FÁGJAI

*Tóth István*

## LESÓHARCSEA (*SILURUS GLANIS*) CIRCOVÍRUS KIMUTATÁSA ÉS GENETIKAI JELLEMZÉSE

Lőrincz Márta<sup>1</sup>, Dán Ádám<sup>2</sup>, Woynárovichné Láng Mária<sup>2</sup>, Csaba György<sup>2</sup>, Tóth Ádám<sup>2</sup>, Székely Csaba<sup>3</sup>, Cságola Attila<sup>1</sup>, Tuboly Tamás<sup>1</sup>

**Bevezetés:** A circovírusok szimplaszálú, körkörös, 1,7-2,3 kilobázis DNS genommal rendelkező burok nélküli, kisméretű (17-22 nm) vírusok. A világszerte elterjedt vírusokat elsősorban számos madárfajból és sertésekből mutatták ki, valamint metagenomikai vizsgálatokkal csimpánzokban, emberi székletben, különféle húsokban, húskészítményekben, vizekben, denevérekben és szitakötőkben is leírtak a *Circoviridae* családba sorolt, valamelyest eltérő cyclovírusokat. Az első halakból (márna) kimutatott circovírus alapján feltételezhető volt, hogy a *Circovirus* genusba sorolható vírusok más halfajokban is jelen lehetnek.

**Előzmények és Módszerek:** 2011-ben az ívási időszakban a balatoni harcsák pusztulása szokatlan méretet öltött, de az elhullott állatokból az elvégzett diagnosztikai vizsgálatokkal nem lehetett egyértelmű okot találni a jelenségre. A kórszövetteni vizsgálatok alapján felmerült a toxikózis gyanúja. Hat harcsából származó mintát vizsgáltunk circovírusok jelenlétére polimeráz láncreakcióval. A hat vizsgált egyedből háromban igazoltuk a circovírus jelenlétét, ami az első szekvencia adatok alapján egy eddig ismeretlen vírusnak bizonyult. A kapott szekvenciára tervezett specifikus primerekkel két vírus esetében (CfCV-H5 és -H6) a teljes genomokat amplifikáltuk, majd szekvenáltuk és az adatokat elemeztük.

**Eredmények:** A vírusgenom mérete mindkét CfCV esetében 1966 bázis, a circovírusokra jellemző genom organizációval, azaz 2 ellentétes irányultságú nyílt olvasási kerettel rendelkeznek (ORF), amelyek a Capsid és a Replikációs fehérjét kódolják. A két ORF 5' intergenikus részen azonosítottuk a „stem loop” szerkezetet, amely tipikusan a *Circovirus* genus-ra jellemző. A nukleinsav szekvencia alapján elvégzett filogenetikai elemzés is azt mutatta, hogy a vírus közel áll ennek a nemzetségnek a tagjaihoz. A Capsid fehérje analízis alapján a CfCV együtt a márna circovírusokkal és egy emberben kimutatott (NG13) vírussal önálló csoportot képez a *Circovirus* és a *Cyclovirus* genusok között.

**Következtetések:** Egy eddig ismeretlen circovírust mutattunk ki, amelynek kórtani szerepe jelenleg nem ismert. A circovírusokra általában jellemző az erős immunszuppresszív hatás, ami alapján feltételezhető, hogy ha önállóan esetleg nem is, de társfertőzések háttéréként a vírus szerepet játszhat kóros folyamatokban.

**Köszönetnyilvánítás:** A vizsgálatokat a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatásával végeztük.



## VESZETTSÉG ESETEK MAGYARORSZÁGON AZ ELMÚLT ÉVTIZEDBEN ÉS A KIMUTATOTT VÍRUSOK GENETIKAI JELLEMZÉSE

Juhász Tamás<sup>1</sup>, Szeredi Levente<sup>2</sup>, Malik Péter<sup>1</sup> és Hornyák Ákos<sup>1</sup>

Hat évtized után először fordult elő hazánkban, hogy sem háziállatokban sem rókában nem diagnosztizált intézeti hálózatunk veszettség pozitív esetet, jelezve ezzel azt a hatalmas állategészségügyi sikert, melyet állatorvosok generációi vívtak ki áldozatos munkájukkal a veszettség elleni harcban. Az elmúlt 10 évben 6800 róka és 900 más fajtájú állat került évente veszettség kórjelzésre a hazai állategészségügyi intézeti hálózat keretei között. Ez a hatalmas mintaszám alkalmas volt arra, hogy a rókák orális immunizálása és a veszettség pozitív esetek száma közötti szoros korrelációt megalapozottnak tekinthessük. 2004-re befejeződött az ország egész területén a rókapopuláció legalább kétszeri csalétekkel történő immunizálása, melynek eredményeként 2005-re a korábbi évekhez képest majd 1/20-ára csökkent a pozitív rókák és 1/7-re a pozitív háziállatok aránya. Az öt különböző módszerrel vizsgált emberi érintkezéssel (IF, szövettan, immun hisztokémia, PCR és azt követő szekvenálás, valamint állatoltás) a találati arány ezreléknyire közelíti meg a 100%-ot, még akkor is, ha nem az 1-es genotípusú lyssavírussal kerülünk szembe (*sylvaticus* forma), hanem denevér veszettséggel, amelyre az utóbbi években többször is volt példa. Az 1999-ben IF és vírusizolálás módszerekkel kimutatott első hazai denevér veszettség esetet csak 2009-ben követte a második, majd 2010-ben a harmadik pozitív állat. Idén már két ízben került diagnosztizálásra intézetünkben denevér veszettség, ami jelzi egyrészt módszereink érzékenységét, másrészt ennek a kórformának a fokozódó jelentőségét hazánkban. A mintaszám emelkedésével arányban nőtt a denevér veszettség esetek száma: Átlagosan minden vizsgálatra kerülő 10. idegrendszeri tünetet mutató denevér pozitív volt! Hazánkban eddig csak a Kései denevérekben (*Eptesicus serotinus*) találtunk fertőzött állatokat.

A filogenetikai vizsgálatok a nukleokapszid génre kidolgozott PCR vizsgálat során felerősített, 640 bázispár hosszúságú amplikon nukleotid sorrendjére épültek. A törzsfarekonstrukció során a teresztriális és denevér veszettség vírusai jól elkülönültek egymástól, de mindkét víruscsoportnál a földrajzi csoportosulás kifejezettnak mutatkozott. A hazai denevér veszettség vírusai mind az EBLV-1a filogenetikai ágon található és legközelebbi genetikai rokonságot a 2001-es szlovák vírussal mutatják, valamivel nagyobb, de még mindig szoros a genetikai távolság a lengyel és német denevér veszettség vírusokkal, melyeket a 70-es és 80-as években izoláltak. A rókákból kimutatott vírusok a törzsfarekonstrukció szerint oroszországi és délszláv vírusokkal csoportosulnak, jelezve azt, hogy Magyarországra az utóbbi időben részben kelet felől, a Nagy Kelet-európai Síkságról származó, részben a volt Jugoszlávia területéről hazánkba átvándorló rókákkal kerül behurcolásra a *sylvaticus* veszettség vírusa. Mivel a jugoszláv utódállamok 2010-től immunizálják rókaállományukat és jobbra a mentes országok felől indították a vakcinázást, ennek az eseménysorozatnak tudható be országunkban idén nem fordult elő a veszettség vírusának 1-es genotípusa.

A denevérek a 7 különböző genotípusú veszettség vírusból 6-nak eredeti gazdaállatai, de valamennyi genotípusnak hordozói és terjesztői is. Az egyedüli repülő emlős a denevér, melynek temérdek faja az összes eddig feljegyzett mintegy 4800 emlős faj 1/5-ét teszi ki, rendkívül sűrű populációkban él és mindkét tényező: Fajgazdagság és populáció sűrűség kedvez a különböző kórokozók fajon belüli elszaporodásának, terjedésének és a biológiai sokféleségük kialakulásának. Ez a magyarázata annak, hogy számos vírusnak gazdaállata a denevér, mint a SARS-, HKU- (humán légzőszervi corona vírusok), Ebola-, Hendra- és Nipah-, St Luis encephalitis- valamint Adeno- és Parvovírusok

## A LÓ FERTŐZŐ KEVÉSVÉRŰSÉGE AKTUÁLIS HELYZETE A SZEROLÓGIAI ÉS VIROLÓGIAI VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI ALAPJÁN

Stollár Katalin<sup>1</sup>, Malik Péter<sup>1</sup>, Dénes Béla<sup>1</sup>, Hornyák Ákos<sup>1</sup>, Bakonyi Tamás<sup>2</sup>

A lovak fertőző kevésvérűsége (equine infectious anaemia, EIA), az Európai Unió más országaihoz hasonlóan, Magyarországon is előforduló fertőző betegség. Az 50-es éveket követően 2010-től ismét megállapítottuk a betegség sporadikus jelenlétét a hazai lóállományokban. A 113/2008. (VIII. 30.) FVM rendelet az állatbetegségek bejelentésének rendjéről, illetve a 41/1997. (V. 28.) FM rendelet az Állategészségügyi Szabályzat kiadásáról szabályozza a betegséggel kapcsolatos állategészségügyi feladatokat. Ennek értelmében a betegség bejelentési kötelezettség alá tartozik és a fertőzött állatok felderítése céljából a sportlovakat évente, minden más lovat háromévente rendszeres szerológiai vizsgálat alá kell vetni. A betegségtől való mentesség fenntartása céljából a jogszabály elrendeli a fertőzött állatok leölését és az együtt tartott állatok további szerológiai vizsgálatát.

A Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság laboratóriumába vizsgálatra érkező vérminták száma évente 15-20.000 között változik. A szerológiai vizsgálatokat a nemzetközi előírásoknak megfelelően (OIE) agargél immundiffúziós módszerrel (AGID) végezzük. A 2010. évben 8, míg 2011-ben 13 szeropozitív eset fordult elő az ország különböző megyéiben. A monitoring vizsgálatok során talált fertőzött állatokból és a környezetükben tartott többi lóból 21 nap elteltével ismét szerológiai vizsgálatot végzünk, mellyel egy időben, alvadásban gátolt vérmintából megkíséreljük a vírus kimutatását is. Ez a vizsgálat a változó vírushozadék okozta diagnosztikai nehézségek ellenére lehetőséget teremt a korai fertőzöttség megállapítására.

A kétszer szeropozitívnak bizonyult és leölt állatok szervmintáiból víruskimutatást végzünk. A vírustörzsek szekvenciájának meghatározása kiegészíti a járványügyi nyomozás eredményét, így segítséget jelenthet a fertőzés származásának megállapításában. A betegségtől való mentesség újbóli elérésében fontos szerepe van a lovak egyedi jelölésének és nyilvántartásának, az import állatok karanténzásának és ezen időszak alatti szerológiai vizsgálatának. A kötelező szerológiai monitoring vizsgálatok elvégzése, valamint az állattartók felvilágosítása lehetőséget teremt a tünetmentesen vírushordozó és vírusürítő lovak felderítésére, illetve a betegség behurcolásának megakadályozására.

## A NYUGAT-NÍLUSI VÍRUS HAZAI ELŐFORDULÁSÁRA IRÁNYULÓ SZEROLÓGIAI FELMÉRŐ VIZSGÁLATOK

Barna Mónika<sup>1</sup>, Erdélyi Károly<sup>2</sup>, Ferenczi Emőke<sup>3</sup>, Bakonyi Tamás<sup>1</sup>

Hazánkban a nyugat-nílusi vírus 2004 óta okoz tünetekben is megnyilvánuló megbetegedéseket madarak, lovak, valamint emberek körében. A járványtani folyamatok nyomon követésével és az egyes években kimutatott vírusok genetikai összehasonlító vizsgálataival megállapítottuk, hogy a vírus kettes genetikai vonalába tartozó törzs okoz diagnosztizált megbetegedéseket 2004 óta. A 2010. évi hazai, és görögországi, valamint a 2011. évi olaszországi regisztrált emberi nyugat-nílusi láz megbetegedések háttérében is ez a kórokozó állt. Mivel évről-évre okoz megbetegedéseket a vírus és megfigyelhető az intenzív földrajzi terjedése is, ez madár fenntartó gazda jelentőségét valószínűsíti. A kórokozó hazai elterjedésének pontosabb megállapítása céljából szerológiai vizsgálatokat hajtottunk végre vadon élő madarak, lovak, szarvasmarhák, továbbá emberek savóinak vizsgálatával.

A nyugat-nílusi vírus szerológiai diagnosztikájára számos módszer áll rendelkezésre, amelyeknél a különféle flavivírus fajok között több esetben is szerológiai keresztreakciókat lehet megfigyelni. A vírus diagnosztizálása szempontjából a leginkább specifikusnak tartott módszer a plakk-redukciós vírusneutralizációs próba. A kórokozó biológiai veszélyessége (háromas szintű biológiai biztonsági fokozatú), valamint a munka- és időigénye miatt csak bizonyos biztonsági laboratóriumokban és csak alacsonyabb számú minták esetén kivitelezhetőek a vizsgálatok. A hazai humán diagnosztikában indirekt immunfluoreszcens eljárást, valamint hemagglutináció gátlási próbát alkalmaznak. Az állategészségügyi diagnosztikai felmérő vizsgálatok céljára a kereskedelmi forgalomban hozzáférhető kompetitív ELISA módszert használtunk, amely gazdafajtól függetlenül képes kimutatni az ellenanyagok jelenlétét.

2009 és 2011 között összesen 340 savómintát vizsgáltunk meg, melyek közül 89 bizonyult pozitívnak a nyugat-nílusi vírus burokfehérjéje ellen termelődött ellenanyagokra. A 89 mintából 40 ló (*Equus caballus* / 113 minta), 5 szarvasmarha (*Bos taurus* / 90 minta), 23 galamb (*Columba livia* / 61 minta), 12 túzok (*Otis tarda* / 20 minta), 2 héja (*Accipiter gentilis* / 7 minta), 1 parlagi sas (*Aquila heliaca* / 1 minta), 3 fehér gólya (*Ciconia ciconia* / 8 minta), 1 barna rétihéja (*Circus aeruginosus* / 1 minta), 1 karvaly (*Accipiter nisus* / 1 minta), 1 barna kánya (*Milvus migrans* / 2 minta) savómintája mutatott pozitív eredményt.

A galambokban megfigyelhető nagyarányú szeropozitivitás a kórokozó terjesztésében való potenciális szerepüket támasztja alá. A lovak körében ELISA-val végzett felmérő vizsgálatok közel 40%-os pozitivitást mutattak, ezért a viszonylag gyakori tünetmentes fertőzések indokolttá tehetik, hogy a lovakat az immunizálás előtt szerológiai vizsgálatoknak vessük alá az esetleges tünetmentes fertőzésből származó védettség megállapítása céljából. Az emberi, kecske, valamint ló eredetű savók összehasonlító szerológiai vizsgálatainak eredményei arra utalnak, hogy keresztreakciók figyelhetők meg a kullancsencephalitis vírus ellen termelődött ellenanyagokkal, ezért az ELISA felmérő vizsgálatok eredményeinek megerősítéséhez szükséges specifikusabb szerológiai vizsgálat (pl. plakk-redukciós vírusneutralizációs próba) elvégzése is.

A kutatást az OTKA K 67900 pályázat, valamint az EDENext és Vectorie EU FP7 projektek támogatták.

## NYUGAT-NÍLUSI LÁZ KÉK VÉRCSEKBN: FIÓKAKORI SZEROPREVALENCIA ÉS VEKTOROKBAN MÉRT VÍRUS PREVALENCIA BECSLÉSEK EGY POTENCIÁLIS HAZAI KÓROKOZÓ-REZERVOÁR RENDSZERBEN

Fehérvári Péter<sup>1</sup>, Soltész Zoltán<sup>2</sup>, Bakonyi Tamás<sup>3</sup>, Barna Mónika<sup>3</sup>, Szentpáli-Gavallér Katalin<sup>4</sup>, Solt Szabolcs<sup>5</sup>, Palatitz Péter<sup>5</sup>, Lázár Bence<sup>1</sup>, Kotymán László<sup>6</sup>, Harnos Andrea<sup>1</sup>, Erdélyi Károly<sup>4</sup>

A kék vércse (*Falco vespertinus*) egy emblemikus kistestű sólyomfaj, mely hazánkban fokozottan védett és nemzetközi szinten is kiemelt természetvédelmi státuszba sorolódik. Korábban már e vonuló faj Kárpát-medencei populációjából is kimutattuk a zoonotikus jelentőséggel is bíró Nyugat-nílus vírus (West Nile virus, a továbbiakban WNV) jelenlétét. A vírus elsődleges gazdái a madarak, amelyek mind a vírus fenntartó gazdái, mind pedig – vonuló fajok estén – aktív terjesztői is lehetnek. A WNV fő vektorai a *Culex* nembe sorolt szúnyog fajok. Vizsgálatunk elsődleges célja hogy kvantifikáljuk a kék vércsek szerológiai áthangolódását és a madarak környezetében található vektorok, a szúnyog fajok WNV fertőzöttségét. Ezen paraméterek segítenek megbecsülni a vírus hatását a gazdafaj populációdinamikájára, továbbá alapot képezhetnek későbbi kompartment modell rendszerek felállításához és nem utolsósorban becsülhető ismeretükben a humán fertőződés veszélye is. A Kardoskút közelében található Vásárhelyi-pusztán mesterséges kolóniákban költő közel 120 kékvércse-párból választottunk ki 42 fészekaljat rétegzett random mintavétellel. A fészkekben növekedő fiókákból (134 egyed) 1ml vért vettünk, és a savóminták WNV ellenanyag szintjét a gyártói útmutatások alapján kompetitív ELISA-val (ID Screen® West Nile Competition ELISA kit, ID VET, Montpellier, France) határoztuk meg. Az alvadékban maradt vérsavóban DNS/RNS szimultán kivonást követően (Roche High Pure Viral Nucleic Acid kit) a vírus közvetlen jelenlétének kimutatását RT-PCR-rel végeztük. Ugyanezen fészkekben egy speciális rovarfogó csapdával tojásos, kisfiókás, illetve nagyfiókás korban mintáztuk a potenciális vektor fajokat. A befogott szúnyogokat a meghatározást követően, fészekaljanként 20-as poolokba (32 minta) és egyedi mintákba (146 minta) csoportosítottuk, hogy mind kvantitatív mind kvalitatív WNV kimutatásra is lehetőségünk legyen. A szúnyog mintákban a WNV jelenlétének kimutatását a fentebb leírtak alapján végeztük. Eredményeink szerint a kékvércse-fiókák 25%-a (95%-os KI: 18%-33%) szeropozitív. A folytonos skálán mért ELISA OD értékek szignifikánsan pozitív összefüggést mutatnak a fiókák napokban mért korával. Összesen 4592 szúnyog egyedet (*Cx. pipiens*, *Cx. modestus*, *Cq. richiardi*) sikerült fogni a mintázott fészkekben. Szignifikánsan több potenciális WNV vektor volt a nagyobb fészekaljokban. A vért szívott egyedek aránya kisfiókás korban volt a legmagasabb. Összesen 3 fészekaljból származó, 7 *C. pipiens* szúnyog mintájából sikerült a WNV jelenlétét kimutatni (6 egyedi és 1 pool). Eredményeink rávilágítanak arra, hogy a WNV cirkuláció fennállhat a kék vércse – *Culex* rendszerben, bár a magas szeropozitivitás prevalencia, illetve a tény, hogy idősebb fiókában alacsonyabb ellenanyag titer található, arra enged következtetni hogy a kék vércse fiókák esetében elsősorban a passzív, úgynevezett maternális immunitás lehet jelentős. Feltételezhető, hogy a gyors felezési idővel rendelkező maternális immunoglobulinok is sikeresen csökkenthetik a kék vércse fiókák klinikai WNV megbetegedésének esélyét a korai fiókakorra jellemző legmagasabb vektor kontakt ráta idején.

A vizsgálat az NKB (15950), az OTKA K67900 és az EDENext EU FP7 pályázatok támogatásával valósult meg.

## NYUGAT-NÍLUSI VÍRUS TELJES HOSSZÚSÁGÚ FERTŐZŐ KLÓNJÁNAK ELŐÁLLÍTÁSA, PATOGENITÁS MARKEREK VIZSGÁLATÁNAK CÉLJÁBÓL

Szentpáli-Gavallér Katalin<sup>1</sup>, Bálint Ádám<sup>1</sup>, Dencső László<sup>1</sup>, Dán Ádám<sup>1</sup>, Erdélyi Károly<sup>1</sup>, Bakonyi Tamás<sup>2</sup>

A Nyugat-níluszi vírus (WNV) egyes törzsei jelentős eltéréseket mutatnak a neuroinvazivitás vonatkozásában. A kutatás célja a WNV hazánkban felbukkant, kettes genetikai vonalához tartozó vírustörzséből teljes hosszúságú fertőző klón előállítása. Ezzel lehetőség nyílik különböző, a vírus patogenitását esetlegesen befolyásoló genetikai markerek vizsgálatára, a vírus DNS célzott mutagenézisével.

A teljes hosszúságú fertőző klón előállítása két különböző módszerrel, párhuzamosan történt. Első lépésként a VERO (zöldmajom vese) sejtvonalon elszaporított vírus tisztított RNS-éből egyszálú komplementer DNS készült, genomspecifikus primerek segítségével. A genomspecifikus primerek tervezése a kiindulási vírus szekvencia analízise alapján történt.

Az első módszer alapja a vírus teljes genomját lefedő, egymást átfedő polimeráz láncreakciók termékeiből felépülő fúziós PCR-ek sorozata volt. Az így kapott teljes hosszúságú, duplaszálú komplementer DNS, kiegészítve a humán cytomegalovírus (CMV), illetve a T7 bakteriofág promoterral, került transzfecció útján VERO sejtekbe.

A második módszer lényege a vírus teljes genomját tartalmazó komplementer DNS pBelobac 11 (Invitrogen) alacsony kópiaszámú plazmidba való beépítése. Az átfedő PCR termékek, illetve a plazmid restriktációs enzimekkel való emésztése után a vírus teljes genomjának megfelelő komplementer DNS három darabban, ligálással került a plazmidba. A kiindulási plazmid tartalmazta a CMV promotert, illetve a hepatitis delta vírus (HDV) ribozym-ot és a megfelelő transzkripció terminátor (bovine growth hormone, BGH) szekvenciát. Végül a vírus teljes genomját tartalmazó plazmid *E. coli* DH10B kompetens sejtekben lett felszaporítva. A transzkripció *in vivo* (a CMV promotor által, a cirkuláris vagy a linearizált plazmid VERO sejtekbe történt transzfecciója után), illetve *in vitro* módszerrel (mESSAGE mACHINE kit, Ambion) is történhet. Az utóbbi módszer az esetlegesen fellépő splicing mechanizmusok elkerülése miatt szükséges.

Irodalmi adatok alapján a vírusgenom NS3 fehérjét kódoló régiójában a 249. aminosav kodonjában bekövetkező mutációk szerepet játszhatnak a vírus patogenitásában. Az eddigi vizsgálataink a magyarországi 2010-es Nyugat-níluszi vírus izolátumok ezen markerének vizsgálatára összpontosultak. A teljes hosszúságú fertőző klón segítségével a jövőben kísérleti úton szeretnénk megerősíteni vagy cáfolni az említett patogenitásért felelős marker szerepét.

A kutatás a Vectorie EU FP7 projekt támogatásával történt.

## ADENOVÍRUS OKOZTA ZÚZÓGYOMOR FEKÉLY ÉS BELSŐ VÉRZÉS TOJÓTYÚKOKBAN

Ivanics Éva<sup>1</sup>, Palya Vilmos<sup>2</sup>, Dán Ádám<sup>1</sup>, Harrach Balázs<sup>3</sup>, Thuma Ákos<sup>1</sup>, Glávits Róbert<sup>1</sup>

Csirkékben az aviadenovírusok szerepe a sejtzárványos hepatitis, a hydropericardium szindróma, légzőszervi megbetegedés, hasnyálmirigy gyulladás és a fekélyes zúzógyomor-gyulladás eseteiben ismert. Az atadenovírus nemzetséghez tartozó EDS (egg drop syndrome) vírus tojáshozam csökkenést, a siadenovírus THEV (turkey haemorrhagic enteritis virus) splenomegaliát képes előidézni tyúkokban.

2010-ben az ország különböző részein elhelyezett két (A és B) tojótyúk állományban (24 hetes illetve 25 hetes életkorú, 11500 illetve 2500 létszámú) figyeltünk meg belső vérzéssel és elhullással járó fekélyes zúzógyomor-gyulladást.

A naponkénti veszteség mintegy 10-14 napon át 1-2-ről 8-12-re emelkedett. A hirtelen elhullásokat szembetűnő klinikai tünetek nem előzték meg, mindössze anaemia és esetenként a bélsár barnás-fekete elszíneződése volt megfigyelhető.

Az elhullott tyúkokban anaemia, a begyben és a gyomor-béltraktusban pedig véres béltartalom mutatkozott.

A zúzógyomor nyálkahártyájában 0,5-4 mm-es kimaródásokat, fekélyeket lehetett észlelni, amelyek szövettani vizsgálata során kezdetben a mirigyhámsejtek degenerálódása és hypersecretio jelei látszottak. A váladék kilépése felett a keratinoid réteg felemelkedett, szétesett. A mirigyhámsejtek magjában helyenként basophil zárványok fordultak elő. Előrehaladottabb stádiumban a nyálkahártyában vérzés, lymphocytás, histiocytás és heterophil granulocytás beszűrődés, necrosis és kifekélyesedés, majd a fekélyek alapján fibroticus demarkálódás látszott.

Az elváltozásokból csirke májsejt vonalon több vírustörzset izoláltunk, amelyek PCR vizsgálattal és DNS szekvenálással 1-es típusú tyúk-adenovírusnak bizonyultak.

A kórkép felnőtt tojótyúkokban való előfordulásáról a szakirodalomban nem találtunk adatot.

## ADENOVÍRUS OKOZTA BRONCHOPNEUMONIA PULYKÁKBAN

Glávits Róbert<sup>1</sup>, Palya Vilmos<sup>2</sup>, Ivanics Éva<sup>1</sup>, Szalay Dénes<sup>3</sup>, Nemes Csaba<sup>1</sup>, Gyuris Éva<sup>1</sup>, Dán Ádám<sup>1</sup>, Bálint Ádám<sup>1</sup>, Harrach Balázs<sup>4</sup>

Adenovírusok tünetmentes fertőzöttségként gyakran mutathatók ki a különböző gerinces fajokban, azonban az általuk okozott légzőszervi megbetegedés emlős- és madárfajokban csak ritkán fordul elő. A fürj bronchitis kórképből izolálták az első aviadenovírust 1950-ben, amely megbetegedést idézett elő. Kislibák tracheo-bronchitiséből EDS vírust izoláltunk, amellyel a kórkép kísérletesen reprodukálható volt. Hat-tíz hetes életkorú, tracheitisben beteg pulykapipékből amerikai szerzők aviadenovírust mutattak ki, azonban 7 napos pulykák orrüregbe fertőzésével nem sikerült klinikai tüneteket előidézniük.

Hazánkban 2003 óta nyolc 6-10 hetes életkorú növendék pulyka állományban figyeltünk meg adenovírus fertőzésre jellemző bronchopneumoniát, amelyből 4 aviadenovírus törzset izoláltunk. E vírusok különböztek minden korábban leírt adenovírustól, egymással azonban azonosnak tűnnek, és közeli rokonai a tyúk-adenovírusoknak. Különböznek a nemrég szekvenált pulyka adenovírus 1-től is, akár egy új vírusfaj képviselői is lehetnek.

A megbetegedések rendszerint az utónevelési periódus kezdetén 6-7 hetes életkorban jelentkeztek és az elhullások 3-4 héten át folytatódtak. A mortalitás elérte a 4-5,5%-ot.

Klinikailag tüszögés, nehezített légzés dominált. Kórbonctani és kórszövettani vizsgálattal deciliációval, hámproliferációval, metaplasiával és basophil és/vagy acidophil sejtmagzárványokkal járó savós-fibrines gége- és légcsőgyulladás, valamint a tüdőben bronchitis és oedemával kísért intersticiális, később hurutos tüdőgyulladás mutatkozott, amelyhez fibrines légzsák- és szívburokgyulladás társult.

Bakteriológiai vizsgálattal elsődleges kórokozónak tekinthető baktériumok (Bordetellák, Ornithobaktériumok stb), vagy Mycoplasma nem voltak kimutathatók. Virologiai és szerológiai (savópár) vizsgálattal a baromfipestis, a madárinfluenza, valamint a TRT vírusok oktatni szerepe egy eset kivételével kizárható volt. Utóbbiban alacsony patogenitású H9N2 madárinfluenza vírust is izoláltunk

Az izolált adenovírossal fertőzési kísérleteket tervezünk.

## EGY TERMÉSZETES KULLANCSEPHALITIS-GÓC KÉTÉVES VIZSGÁLATA

Zöldi Viktor<sup>1</sup>, Papp Tibor<sup>2</sup>, Rigó Krisztina<sup>3</sup>, Ádámszki Szabolcs<sup>4</sup>, Egyed László<sup>2</sup>

**Bevezetés:** A kullancsencephalitis (KE) Közép-Európában a leggyakoribb, vírus által előidézett, kullancs által terjesztett zoonotikus betegség. Fő vektora hazánkban az *Ixodes ricinus*. A fertőződés jellemzően a kullancs vérszívása közben, valamint alimentáris úton, nyers, forralatlan tej fogyasztásával következik be.

**Cél:** Egy 2007-ben, kecsketej közvetítésével kialakult KE-járvány gócaként azonosított terület (Lakhegy, Zala megye) vizsgálata, az ott előforduló kullancsok és kismélsők rendszeres gyűjtésével. A kullancsok feldolgozása KE-vírus izolálás céljából, illetve a kismélsők szerológiai vizsgálata KE-vírus ellenanyagra.

**Módszer:** A gyűjtőterületen – ahol közvetlenül a KE-vírus fertőződés előtt a kecskék bizonyítottan, rendszeresen legeltek – előzetes szerológiai vizsgálatok alapján összesen 49 db, 10 méter x 10 méteres kvadrátot jelöltünk ki, amelyek egy 7x7-es mátrixban helyezkednek el egymáshoz képest. A kullancsok begyűjtéséhez a dragging-módszert alkalmaztuk. A kullancsokat kvadrátonként Eppendorf-csőbe helyeztük és a feldolgozásig hűtőtáskában, majd hűtőszekrényben tároltuk. A kullancsokat a faj és stádium meghatározása után dörzsmozsárral homogenizáltuk és a meghatározott poolméret szerint 5 napos laboregerek agyába oltottuk. A kismélsők befogását a fogás-jelölés-visszafogás (CMR) módszer szerint végeztük, élvefogó ládacsapdákkal. A rágcsálók fajtát, nemét, testsúlyát feljegyeztük, majd az első lábujjperc vágásával való megjelölésüket követően a belső szemzúgból vért vettünk, további célzott szerológiai vizsgálatokra, majd az állatokat a csapdázási pontban visszaengedtük. A gyűjtéseket havonta ismételtük, 2010-ben április és október, 2011-ben április és november között. A legközelebbi meteorológiai mérőállomás időjárás-jelentési adatait folyamatosan gyűjtöttük.

**Eredmény:** A területen 3 kullancsfaj, az *I. ricinus*, a *Dermacentor reticulatus* és a *Haemaphysalis concinna*, valamint 3 rágcsálófaj, az *Apodamus flavicollis*, az *A. agrarius* és a *Myodes glareolus* egyedeit gyűjtöttük. Meghatároztuk a kullancsok és kismélsők szezonálisát, valamint a mintázott területen belüli előfordulási gyakoriságukat. Az egyik kvadrátban 2011. augusztusban gyűjtött, nagyszámú *I. ricinus* lárvák egyik poolját KE-vírusra pozitívnak találtuk. A pozitívítást ugyanebben a kvadrátban 2011. novemberben is igazoltuk. A kismélsők KE-szeropozitivitási vizsgálata folyamatban van.

**Következtetés:** A KE-góc rendkívül kicsi (80-100 m<sup>2</sup> méretű), és az ottani kullancsoknak is csak kis része fertőzött vírussal. A lárvák víruspozitivitása a transzvariális fertőzési út működését bizonyítja. A kullancs-, illetve rágcsálópopulációk szezonális görbéje hasonló mintázatot mutat, azonban a kullancsoké időben előzi a kismélsők populációváltozását.



## BAKTÉRIUMOS FERTŐZÉSSEL SZÖVŐDÖTT, ÚJ TÍPUSÚ PARAMYXOVÍRUS OKOZTA PNEUMÓNIA JÁVAI BOASIKLÓBAN

Papp Tibor<sup>1</sup>, Farkas Szilvia<sup>1</sup>, Gál János<sup>2</sup>

A hüllőkből eddig leírt paramyxovírusokat (reptilian paramyxovirus, rPMV) a *Paramyxovirinae* alcsalád újonnan létesített *Ferlavirus* nemzetségébe soroljuk. Ezek elsősorban kígyókban előforduló, megbetegedést és elhullást előidéző kórokozók, melyek a világ több táján felbukkantak, mind magángyűjteményekben, mind állatkertekben. Az rPMV fertőzés kígyókban általában légzőszervi tünetekkel jár, de előfordulhatnak idegrendszeri elváltozások vagy tünetmentes hordozás is.

A SZIE-ÁOTK, KIÁT, Egzotikus Állat és Vadegészségügyi Osztályán 2009. augusztusában kórbonctani-diagnosztikai vizsgálatra került egy fiatal jávai boasikló (*Homelopsis buccata*). A kígyó az elhullását megelőző pár napon képtelen volt a vízbe lemerülni, csak a felszínen lebegett és a táplálékot visszautasította.

A tetem boncolásakor a tüdőzsákban nagy mennyiségű, krémszerű, szürkésfehér tartalom volt megfigyelhető, a tüdőzsák elülső részén kifejezett bővülésrel. A kórszöveti vizsgálat során a tüdő légjárataiban nagy számban tűntek fel heterophil granulocyták, a kitért vérértékben nagy számban voltak jelen a leukocyták, melyek helyenként össze is csapódtak. Néhol a légjáratokban baktériumfelhőket is megfigyelhettünk. A tüdőzsákból színtenyészetben *Aeromonas hydrophila* baktériumokat tudtunk kitenyészteni.

A tüdőszövetből végzett virológiai vizsgálat során vipera szív sejtenyészeten nem sikerült vírust izolálni, ugyanakkor a tüdőszövetből nyert RNS kivonatból kimutatható volt rPMV jelenléte specifikus RT-PCR-ek alkalmazásával. A vírus 3 génjéből (U, HN, L) nyert szekvenciák elemzése alapján bebizonyosodott, hogy ez egy új típusba tartozó vírus, amely filogenetikailag egy recens németországi gabonasikló izolátummal rokonítható. E két vírus új csoportot látszik alkotni *Ferlavirus* nemzetségen belül a már meglévő kettő mellett, amelyekbe a korábbi évtizedekben USA-ból és Németországból származó több tucat kígyó- és gyík-rPMV eddig mind besorolható volt.

Esetünkben *Aeromonas hydrophila*-val szövődött heveny hurutos-gennyes jellegű tüdőgyulladást és következményes fulladást állapítottunk meg egy brakkvízi, hátsó méregfogas siklóban. Az általunk talált paramyxovírus egy korábban ismeretlen csoport tagjának bizonyult.

## ÚJONNAN KIMUTATOTT CSIRKE ÉS PULYKA PARVOVÍRUSOK KÓROKTANI SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA

Gál János<sup>1</sup>, Benyeda Zsófia<sup>1</sup>, Palade Elena Alina<sup>1</sup>, Nemes Csaba<sup>2</sup>, Rusvai Miklós<sup>1</sup>, Mándoki Míra<sup>1</sup>

Emelkedett elhullást mutató és főként enterális tünetekben (enteric disease, ED) megbetegedett brojlercsirke és -pulyka állományokat vizsgáltunk. A hullák a satnyaság és törpenövés szindróma (Runting-Stunting Syndrome, RSS, illetve „poult enteritis complex”) jellegzetes elváltozásait mutatták és az ebben a szindrómában szenvedő baromfifajok bélcsatornájából számos vírust, így különböző astro-, corona-, rota-, és reovírusokat mutattunk ki. Munkacsoportunk ezután igazolta több más vírus mellett a parvovírusok jelenlétét is.

A brojlercsirkék satnyaság és törpenövés szindrómája, valamint a pulykák enterális kórképe továbbra is jelentős gazdasági kárt okoz a baromfitenyésztőknek a növekedésben való visszamaradás, az állomány szétnövése és genetikailag elérhető fejlődési erély elmaradása miatt. A betegség háttérében feltételezett vírusok pathogenitása önmagában nem számottevő, és jelenlegi feltételezések szerint általában csak hajlamosító tényezők és koinfekciók mellett alakítják ki a megbetegedést.

Vizsgálatainkkal sikerült igazolni 28 csirke, valamint 51 pulykaállományban a vírusos vékonybélgyulladás jelenlétét, továbbá a limfoid képletek sorvadását. A parvovírus előfordulása és filogenetikai rokonsági viszonyainak vizsgálata mellett, a vírusantigén lokalizációját mutattuk ki indirekt immunhisztokémia (IH) felhasználásával. A vírus mind csirkében, mind pulykában egyéb szervek érintettsége mellett elsősorban a bélhámsejtekben, továbbá a Fabricius tömlőben, a májban és a hasnyálmirigyben is szaporodott hasonlóan más fajok ismert parvovírusaihoz.

A csirke parvovírus (Chicken parvovirus, ChPV) és a pulyka parvovírus (Turkey parvovirus, TuPV) mellett munkánk során leírtunk egy új parvovírus alcsoportot, amelyet TuPV-like ChPV-nak javasoltunk jelölni. Kidolgoztunk továbbá a 3 felsorolt madár parvovírus törzs gyors, egyszerű és megbízható elkülönítésére egy *AvaII* enzim alapú RFLP módszert.

Bár a parvovírusok konkrét vagy kizárólagos oktani szerepét még nem sikerült igazolni a fenti kórképek háttérében, az ED tüneteit mutató állományokban nagyobb számban lehetett kimutatni a parvovírusok jelenlétét.

Köszönetnyilvánítás: Vizsgálataink anyagi háttérét az NKB 15958 pályázat biztosította.

## ÚJ PARVOVÍRUSOK KIMUTATÁSA HÜLLŐKBEN

Pénzes Judit, Benkő Mária

A parvovírusok (*Parvoviridae*) kisméretű, envelop nélküli, ikozaéderes szimmetriájú, szimpla szálú DNS vírusok. Eddig ismert gazdaspektrumuk gerinceseket és ízeltlábúakat foglal magába. A gerincesek parvovírusait a *Parvovirinae* alcsaládba sorolják. Az emlősök és madarak mellett korábban hüllők parvovírusait is kimutatták. Elektronmikroszkópos vizsgálatok alapján több kígyófajban és szakállas agámában (*Pogona vitticeps*) is írtak le fertőzöttséget. Molekuláris módszerekkel azonban mindössze két kígyófaj parvovírusait vizsgálták. Ezek egyikét a kígyó-adenovírus 1 mellett izolálták, és ennek teljes genom szekvenciája is ismert. A másik kígyó-parvovírust, amelyből csak rövid szekvencia áll rendelkezésre, Hagen üregi viperájának egy példányából PCR-rel mutatták ki szintén adenovírus-fertőzöttség mellett. Filogenetikai vizsgálatok eredménye alapján mindkét vírus a *Dependovirus* nemzetségbe sorolható. Halak és kétéltűek parvovírusaira vonatkozóan egyelőre nincs semmiféle adat.

A *Parvovirinae* alcsalád *Dependovirus* nemzetségének neve arra utal, hogy az idesorolt vírusok replikációjához helper vírus jelenléte is szükséges. Az eddig ismert esetek többségében adenovírus töltötte be ezt a szerepet, így a genusban számos, ún. adeno-asszociált vírus (AAV) található. Kivételt képez a Derzsy-betegség vírusa és néhány, ahhoz hasonló törzs, melyek libában és pézsmakacsában önálló replikációra képesek. A filogenetikai eredmények és az autonóm replikáció alapján a nemzetséget Diapsida eredetűnek vélik.

A fenti hipotézis vizsgálata céljából szűrővizsgálatot végeztünk a hüllőkben és kétéltűekben esetleg előforduló parvovírusok felmérésére.

Korábban adenovírus-fertőzöttségre vizsgált, 60 kétéltű és 161 hüllő mintájának PCR-es szűrését végeztük el saját tervezésű, a parvovírusok fő kapszidfehérjéjét kódoló, ún. VP génre irányuló primerekkel. A kétéltűekből származó minták között nem volt pozitív. A hüllők mintái közül 6 esetben is kaptunk pozitív eredményt. Ezek négy szakállas agámából (*Pogona vitticeps*), egy rövidfarkú törpekaméleonból (*Rampholeon brevicaudatus*) és egy ásógyík fajtából (*Trogonophis wiegmanni*) származtak. A PCR termékek szekvenciája a négy szakállas agámában azonos volt, míg a kaméleonból és az ásógyíkból kimutatott parvovírusok ettől eltérő, új szekvenciával rendelkeztek. A parvovírusra pozitívnak talált minták közül kettőben (az egyik szakállas agámában, valamint az ásógyíkban) sem adenovírust, sem herpeszvírust nem lehetett kimutatni. A kapott szekvenciákkal törzsfarekonstrukciót végeztünk.

Mind gyíkokban, mind ásógyíkokban most első ízben mutattunk ki parvovírusos fertőzöttséget molekuláris módszerekkel. Ásógyíkokban (*Amphisbaenia*) eddig semmilyen vírusos fertőzöttség előfordulását nem írták le. A törzsfarekonstrukció alapján mindhárom, újonnan kimutatott vírus a *Dependovirus* nemzetség tagjának mutatkozott. Eredményeink szerint hüllőkben is előfordulhatnak autonóm replikációra képes dependovírusok.

## ÚJ TÍPUSÚ SERTÉS PARVOVÍRUS FERTŐZÉSEK KIMUTATÁSA

Cságola Attila<sup>1</sup>, LőrinczMárta<sup>1</sup>, Cadar Dániel<sup>3</sup>, Tombácz Kata<sup>1</sup>, Biksi Imre<sup>2</sup>, Tuboly Tamás<sup>1</sup>

**Bevezetés:** Az általánosan ismert és elterjedt sertés parvovírus 1 (PPV1) mellett az elmúlt évtized során számos, korábban ismeretlen sertés parvovírust azonosítottak és csoportosítottak. A *Parvovirus* genusba tartozó PPV2-t Ázsiában, a PPV3-at Ázsiában és Európában, a PPV4-et Észak-Amerikában és Kínában mutatták ki, míg a *Bocavirus* genus-ba sorolt sertés bocavírusok (porcine bocavirus, PBoV) közül a PBo-likeV-t Európában és Ázsiában, a PBoV1 és 2, valamint a 6V és 7V elnevezésűeket Ázsiában, a PBoV3 és PBoV4 típusokat Európában írták le. Az új parvovírusok jelenléte és elterjedtsége Magyarországon illetve néhányukra nézve Európa más részein is jelenleg nem ismert.

**Célok:** Az új parvovírusok kimutatására alkalmas diagnosztikai (PCR) módszerek kifejlesztése és a fertőzések elterjedtségének hazai felmérése mellett a kapott szekvenciák összehasonlító elemzése.

**Módszer:** 2006-2011 között gyűjtött, összesen 57 különböző sertés állományból származó 392 mintát vizsgálatunk PCR módszerrel, saját tervezésű primerekkel. A kapott PCR termékeket szekvenáltuk és az eredményeket elemeztük (BioEdit software, MEGA version 5 software).

**Eredmények:** Valamennyi vizsgált sertés parvovírus kimutatható volt Magyarországon. Az 57 állomány közül egyben volt jelen a PPV1, míg a PPV2 15, a PPV3 19, a PPV4 13, a PBo-likeV 6, a PBoV1 és 2 típusú vírus 8, a 6V és 7V típusú sertés parvovírus 6, a PBoV3 17 és a PBoV4 23 sertésállományból volt kimutatható. A 392 mintából 2 volt PPV1 pozitív, 25 PPV2, 38 PPV3, 25 PPV4, 6 PBo-likeV, 19 PBoV1 és 2 típusú vírus, összesen 7 6V és 7V típusú sertés parvovírus, 37 PBoV3 és 51 PBoV4 pozitív mintát találtunk. A PPV4, a PBoV4 és a magyar PBo-likeV szekvenciák 100%-ig azonosak voltak, a PPV3 szekvenciák 96-100%, a PBoV3 95-100%, a PPV2 szekvenciák 93-100%, PBoV1 és 2 típusú szekvenciák 84-96%, a 6V és 7V típusú szekvenciák mindössze 78-90% hasonlóságot mutattak. A PBoV 1 és 2 típusú szekvenciák között nukleotida triplet deléciók / inzerciók, valamint rekombinációk voltak megfigyelhetők.

**Következtetés:** A vizsgált parvovírusok leginkább bélsár- és vérmintákból voltak kimutathatók, de különböző szervmintákban is jelen voltak. Rövid nukleotida szekvenciák alapján végzett vizsgálatok alapján a PPV4, a PBoV4 és a PBo-likeV vírusok nagyfokú hasonlóságot mutattak, míg a többi vizsgált vírus esetében a divergencia nagyobb fokú. Jelenleg nincs kísérletes bizonyíték arra, hogy ezek az újonnan leírt sertés parvovírus fertőzések klinikai tüneteket okoznának. További vizsgálatok szükségesek patogenitásuk megállapításához, és annak kiderítéséhez, hogy a jövőben gazdasági jelentőséggel bíró kórokozókként kell-e számolnunk ezekkel az új típusú sertés parvovírusokkal.

**Köszönetnyilvánítás:** A vizsgálatokat a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj és az NKB 15945 támogatásával készítettük.

## A BLUETONGUE HAZAI ELSŐ KITÖRÉSÉNEK FELSZÁMOLÁSÁRÓL

Hajtós István<sup>1</sup>, Pálfi Vilmos<sup>2</sup>, Jánki Lajos<sup>1</sup>, Sréter Tamás<sup>2</sup>, Gyulai Péter<sup>1</sup>, Malik Péter<sup>2</sup>

**Bevezetés:** A kéknyelv-betegség (bluetongue: BT) vírusát 2008 júliusában Franciaországból importált, tünetmentes charolais szarvasmarhákkaal behurcolták Dél-Borsod egy-egy állattartó telepére (Gelej és Mezőnagy Mihály). A karanténzás ideje alatt Gelejen a BTV fertőzés áterjedt a külön istállókban lévő hazai szarvasmarhákra is. Ez utóbbi 2008. szeptember 5-én történt hivatalos megállapítása a BT hazai első kitörése volt. Az EU Pirbright-i referencia laboratóriuma a hazai vérmintákban a BT vírus 8-as szerotípusát (BTV8) mutatta ki.

**Cél:** A helyi zárlat alá helyezett szarvasmarha-állományokban a BTV fertőzöttség helyhez kötése, felszámolása és regionális továbbterjedésének megelőzése.

**Módszer:** Az importált állatok, valamint a velük azonos állattartó helyen lévő, de fizikailag elkülönített szarvasmarhák egyedi vérmintáinak szerológiai (ELISA) vizsgálatát, továbbá a szeropozitív egyedek alvadásban gátolt vérmintáinak virológiai (PCR) vizsgálatát végeztük el 4-5 hetes időközönként. A szeropozitív, illetve a szero- és víruspozitív egyedeket az állományokból kiemeltük és eltávolítottuk (állami kártalanítással történő elkülönített levágás, illetve leöletés).

A tartási helyek és azok környezetének szúnyogvektorok elleni kémiai és biológiai kezelését, a fogékony állatok és az állatszállító járművek szúnyogok elleni gyógyszeres /vegyszeres kezelését is elvégeztük. Rendszeres szúnyogcsapdázást folytattunk a fertőzött állattartó helyen és annak 20 km sugarú körzetében lévő, nagylétszámú (NL) juh- és szarvasmarhatartó telepeken. A csapdázott rovarmintákban a *Culicoides* spp. azonosítása az EU referencia laboratóriumi (IZS, Teramo; IAH, Pirbright) által közzétett határozókulcsok alapján történt. A csapdázott *Culicoides* spp. egyesített mintáiból BTV-re irányuló PCR vizsgálatot is végeztünk. A vérvételekhez, valamint a kérődző állatállományok szúnyog elleni gyógyszeres kezeléséhez magán állatorvosok közcélú igénybevetését rendeltük el. A fertőzött állattartó hely 20 km-es sugarú körzetének NL állományaiban szentinel szarvasmarhákát jelöltünk ki, amelyek egyedi vérmintáit havonként ellenanyag ELISA próbával vizsgáltuk meg. Az uniós és a hazai jogszabályoknak megfelelően állategészségügyi korlátozó intézkedéseket vezettünk be Gelej 20, 100 és 150 km sugarú körzetében.

**Eredmény:** A fenti diagnosztikai és igazgatási eljárásokkal, valamint kezelésekkal a BTV állományon belüli terjedését nem sikerült meggátolni, ezért Gelejen a teljes szarvasmarha-állományt felszámoltuk (stamping out). Dél-Borsodban *Culicoides imicola* nem fordult elő. A csapdázott rovaranyagban leggyakrabban *C. pulicaris*, *C. obsoletus* és *C. nubeculosus* fajcsoportba tartozó törpeszúnyogokat azonosítottuk, de ezek egyesített mintáiból a BTV-t nem tudtuk kimutatni. A szentinel szarvasmarhák két éven keresztül szeronegatívak maradtak.

**Következtetés:** A fent leírt „szelektív mentesítés” NL húshasznú szarvasmarha-állomány esetében alkalmatlan a BTV állományon belüli terjedésének megakadályozására. Az érintett szarvasmarha-állomány felszámolásával, a fertőzött állattartó helyen és annak 20 km sugarú körzetében végrehajtott szúnyogellenes kezelésekkal, valamint szigorú állategészségügyi intézkedésekkal sikerült megakadályozni egy regionális, vagy országos méretű járvány kialakulását. Hazánk teljes területe 2010. október közepétől hivatalosan BT mentes.

## SERTÉS CIRCOVÍRUS ELLENI VAKCINA ELŐÁLLÍTÁSA UBORKAMOZAIK VÍRUS ALAPÚ EXPRESSZIÓS RENDSZER FELHASZNÁLÁSÁVAL

Tombácza Kata<sup>1</sup>, Gellért Ákos<sup>2</sup>, Salánki Katalin<sup>3</sup>, Tuboly Tamás<sup>1</sup>, Balázs Ervin<sup>2</sup>

**Bevezetés:** A kettéstípusú sertés circovírus (porcine circovirus 2, PCV2) világszerte elterjedt és jelentős gazdasági károkat okoz. A védekezésben a vakcinázás kulcsfontosságú, erre a célra ma inaktivált és aleggység vakcinák állnak rendelkezésre. A jelenleg használt parenterális oltóanyagokkal szemben az etethető vakcinák több előnnyel is rendelkeznek. A takarmányba vagy ivóvízbe keverve egyszerű és kevésbé munkaigényes az alkalmazásuk, továbbá képesek lehetnek a nyálkahártyákon immunválasz kiváltására. Előállításuk egy lehetséges, gazdaságos módja a növényekben történő expresszió rekombináns növényvírusok segítségével.

**Cél:** A munka célja immunizálásra alkalmas, PCV2 epitopot expresszáló stabil rendszer létrehozása uborkamozai vírus (cucumber mosaic virus, CMV) segítségével, valamint a létrehozott rekombináns CMV vakcinaként történő alkalmazhatóságának vizsgálata *in vitro* és *in vivo* módszerek felhasználásával.

**Módszer:** A PCV2 kapszidfehérje (Cap) szerkezetének predikciója, az epitop jelöltek kiválasztása és a rekombináns virion modellezése számítógépes programokkal (I-TASSER, Symdock és Schrödinger programcsomagok, VIPERdp), valamint a kísérletes eredményekre alapozott irodalmi adatok összevetésével történt. A kiválasztott epitopokat kódoló DNS szekvenciákat egy korábban kidolgozott expressziós rendszer segítségével vittük a CMV genomba. Transzfekció után a vírusokat dohánynövény fajokon szaporítottuk. A vírusszaporodást vizuálisan és Northern-blot hibridizációval, a PCV2 epitop jelenlétét a rekombináns CMV felületén ELISA módszerrel ellenőriztük. Az immunogenitást egéroltási kísérletben indirekt immunfluoreszcenciával vizsgáltuk.

**Eredmény:** A PCV2 Cap fehérjén öt lehetséges epitopot azonosítottunk. Térszerkezeti sajátosságok miatt az ötödik (224-233 aminosavak) epitop előállításuk volt sikeres, a létrehozott rekombináns CMV a növényt szisztémásan fertőzte, amit a Northern blot analízissel igazolni lehetett. A PCV2 epitop megjelent a virion felszínén, az ELISA teszt alapján. Az egerek immunizálása a tisztított viriont inkomplett Freund adjuvánssal keverve, hasüregbe oltva sikeres volt. A rekombináns vírussal fertőzött dohánynövény levelét, vagy a tisztított vírust szájon át adva nem tudtuk szérumból PCV2 elleni ellenanyagot kimutatni.

**Következtetés:** A számítógépes predikció segítségével jóslott epitopok megegyeztek a korábban ismert, kísérletesen talált PCV2 epitopokkal, és egyikük stabil expressziója sikeres volt. A rekombináns CMV megtartotta fertőzőképességét, ezért szaporítása, és később, ha vakcinaként való használatra alkalmassá válik, termelése is könnyen gazdaságossá tehető. Parenterálisan adott antigénként képes volt szérumból kimutatható ellenanyag termelést indukálni, orálisan adva ez nem volt sikeres, ezért a kiváltható immunitás és a vakcina beadási módok lehetőségeinek további vizsgálatára van szükség.

**Köszönetnyilvánítás:** A vizsgálatokat az OTKA-NKTH CNK 78675 finanszírozásával végeztük.

## AZ AUPHYL PLUS VAKCINA RÁFERTŐZŐ VÍRUS ÜRÍTÉS MÉRTÉKÉRE GYAKOROLT HATÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSA VÍRUS IZOLÁLÁSSAL ÉS KVANTITATÍV REAL-TIME PCR-REL

Kiss István, Mató Tamás, Felföldi Balázs, Walkóné Kovács Edit, Palya Vilmos

**Bevezetés:** Az Aujeszky-betegségtől való, vakcinázáson alapuló mentesítési programok egyik fontos szempontja a vakcinázott állatok vírusürítésének mérséklése, ami az ürített vírus mennyiségének illetve az ürítés időtartamának csökkentését egyaránt jelenti. Ennek fontosságát az a megfigyelés is alátámasztja, mely szerint az egyedben megfigyelhető vírusürítés mérséklődés az állományban összeadódik, és az egyedek közötti vírusterjedés gátlását eredményezi.

**Cél és módszer:** Kísérletünkben az Auphyl Plus, élővírusos, Aujeszky betegség elleni vakcina (MNC+/10a, K61 törzs derivátuma, 2 ml im., 6.2 log<sub>10</sub>/ml) hatékonyságát vizsgáltuk 6 és 10 hetes korban vakcinázott, majd 13 hetes korban ráfertőzött malacokon.

A ráfertőzés után 2., 5. és 7. napokon gyűjtött orrtampon mintákat vírusizolálással és real-time PCR-rel vizsgáltuk a szaporodásra képes vírus ill. a vírus-nukleinsav mennyiségi meghatározása céljából.

**Eredmény:** Mindkét módszer szignifikánsan kevesebb vírust/nukleinsavat mutatott ki a vakcinázott állatokban, mint a kontrolokban, időben csökkenő tendenciát mutatva. Azonban, míg a kontrol állatokban az izolálható és a PCR eredményekből visszaszámolt vírus titerek körülbelül megegyeztek, a vakcinázott állatokban a PCR-rel mért érték következetesen magasabb volt. A ráfertőzés utáni hetedik napon a vakcinázott állatok már csak 20%-a ürített izolálható vírust, alacsony titerben, ugyanakkor az állatok 70%-a volt PCR pozitív, és 20% teljesen negatívnak bizonyult mindkét módszerrel.

**Következtetés:** Korábbi megfigyelésekkel összhangban az Auphyl Plus vakcinázás szignifikánsan csökkentette a ráfertőző vírus ürülését, és a real-time PCR alkalmazásával a megfigyelés „árnyalására” is lehetőség nyílt: a két módszerrel tapasztalt titer különbségek a vakcinázott állatokban indirekt módon jelzik az orrváladék vírusneutralizáló hatását.

A vírusürítés csökkentése fontos tényező a vírus terjedésének megakadályozásában, ezért az Auphyl Plus hatékonyan járulhat hozzá az Aujeszky-betegség elleni mentesítő programok sikeréhez.

**Köszönetnyilvánítás:** A szerzők köszönetüket fejezik ki Kun Gábornak a mintagyűjtés, Fodor Editnek a vírusizolálás, és Lénárt Magdolnának a real-time PCR vizsgálatok során nyújtott közreműködéséért.

**FERTŐZŐ BRONCHITIS ELLEN ALKALMAZOTT „PRIME-BOOST” VAKCINÁZÁSI PROTOKOLL HATÉKONYSÁGA HETEROLÓG FERTŐZÉSEKKEL SZEMBEN**

Walkóné Kovács Edit, Felföldi Balázs, Kiss István, Matóné Tatár-Kis Tímea, Mató Tamás, Palya Vilmos

A jelenleg forgalomban levő fertőző bronchitis elleni vakcinákkal immunizált baromfi-állományokban egyre többször lehet fertőző bronchitis okozta járvány esetekkel találkozni, amelyek esetenként súlyos gazdasági károkat okoznak. Ilyen esetekből izolált IBV törzsek genetikai elemzése során variáns J2 és Var-2 csoportokhoz tartozó vírusok széleskörű elterjedését igazoltuk, különösen a Közel-Kelet országaiban.

A vizsgálatunk célja az volt, hogy találjunk olyan vakcinázási programot, mely ilyen törzsekkel történő fertőződés esetén is megfelelő védelmet biztosít.

SPF csirkéket immunizáltunk H120 törzset tartalmazó vakcinával (CevacBron 120 L) napos korban, majd 10 nap múlva 1/96-os kísérleti attenuált vakcina-törzssel – amely a 793B szerotípusba sorolható – booster vakcinázásban részesítettük. Az állatokat 28 napos korban fertőztük három csoportba osztva: egy csoportot J2-es, két külön csoportot pedig két eltérő Var-2-es IBV izolátummal. A védelem értékelését a fertőzést követő 5. napon végeztük a klinikai tünetek pontozása, cilium-teszt, trachea szövettan, vírusizolálás és kvantitatív real-time PCR módszerekkel. A védettség mértékét a különböző módszerek eredményeiből számított score alapján határoztuk meg a pozitív kontroll csoportokhoz (azonos vírussal fertőzött, nem vakcinázott) viszonyítva.

A fertőzést követően kialakult klinikai tünetek a vakcinázott csoportokban jóval enyhébbek voltak és kevesebb állatot érintettek függetlenül a fertőzésre használt IBV törzstől. A kontroll csoportokban a légcső ciliáris epitheliumán teljes ciliostasist lehetett megfigyelni, és a légcsövekből a fertőzésre használt vírust nagy mennyiségben tudtuk kimutatni mind vírusizolálással, mind pedig PCR vizsgálattal. A cílium-teszt eredménye alapján a védelem a J2 törzs ellen kitűnő (81%), míg a két Var-2 ellen mérsékelt (36 illetve 38%) volt. A kórszövettani elváltozások súlyossága alapján jelentős és egyértelmű különbség mutatkozott a vakcinázott és kontroll csoportok között. A légcső mintákból történt ráfertőző vírus visszaizolálás alapján a J2 és D1456/1/5/10 jelű Var-2 IBV izolátummal fertőzött csoportokban 90%-os védelmet találtunk, míg a másik Var-2 IBV izolátummal szemben 58% védelmet kaptunk. A real-time PCR-rel mért vírusürítés mértéke a kontroll csoportokban statisztikailag szignifikánsan magasabbnak bizonyult a vakcinázott csoporthoz képest mindegyik ráfertőző törzs esetében.

Az eredményekből megállapítható, hogy a vizsgált vakcinázási protokoll a J2 IBV izolátummal szemben kitűnő, a Var-2 IBV izolátumokkal szemben pedig kielégítő védelmet nyújtott. A klinikai tünetek, a ciliostasis és a légcsőben található kórszövettani elváltozások mértéke a vakcinázott állatokban enyhe volt szemben a kontroll állatokban talált súlyos elváltozásokkal. A fertőző vírus elszaporodását a kialakult immunitás jelentős mértékben lecsökkentette a vakcinázott állatok légcsövében.



## KLASSZIKUS SERTÉSPESTIS ELLENI VAKCINAJELÖLT VÍRUSTÖRZS HATÉKONYSÁGI VIZSGÁLATA ANYAI ELLENANYAGOKTÓL MENTES, 6 HETES MALACOKBAN

Lévai Réka<sup>1</sup>, Barna Tímea<sup>1</sup>, Farsang Attila<sup>1</sup>, Fábíán Katalin<sup>1</sup>, Sandra Blome<sup>2</sup>, Sandra Juanola<sup>3</sup>, Ilse Vaengel<sup>4</sup>, Frank Koenen<sup>4</sup>, Kulcsár Gábor<sup>1</sup>

A klasszikus sertéspestis (CSF) a házi sertés (*Sus scrofa domestica*) és a vaddisznó (*Sus scrofa*) nagy gazdasági kártétellel járó, vírus által okozott betegsége. A vaddisznó, mint a vírus rezervoárja, központi szerepet játszik a betegség járványtanában, veszélyeztetve ezzel az adott területen tartott házi sertés állományokat.

A Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Állatgyógyászati Termékek Igazgatóságának (MgSzH ÁTI) Oltóanyag Osztálya több európai intézettel együtt 2004. óta vesz részt abban a tudományos projektben, melynek célja vaddisznók immunizálására alkalmas, szájon át adható, marker vakcina kifejlesztése a CSF ellen. Igazgatóságunk a projektben előállított CP7\_E2alf vakcinajelölt törzs hatékonyságát az Európai Gyógyszerkönyvi előírások (04/2008:50207) alapján beállított állatkísérletben vizsgálta.

A bemutatott kísérletbe 40 darab 6 hetes, anyai ellenanyagoktól mentes malacot állítottunk be. Három csoportot alakítottunk ki: egy oltatlan kontroll és két, orálisan, illetve intramuscularisan vakcinázott csoportot. A vakcinázást követő 14. napon nagy virulenciájú „Koslov” CSF vírustörzsszel fertőztük az állatokat. A kísérletet a fertőzést követő harmadik héten zártuk le. A malacok általános állapotát és testhőmérsékletét klinikai pontrendszer segítségével minden nap értékeltük, a moribund állatokat az állatvédelmi szempontok figyelembe vételével extermináltuk. A mintavételezési napokon a szerológiai vizsgálatokhoz natív vért, a PCR vizsgálatokhoz alvadásában gátolt vért, valamint orrtampon mintákat vettünk az állatokból. Az elhullott és exterminált állatokat kórboncoltuk, azokból immunhisztokémiai vizsgálatokhoz szervmintákat gyűjtöttünk.

Valamennyi kontroll állat a betegség tipikus klinikai tüneteit mutatva a kísérlet lezárása előtt elpusztult. A vakcinázott állatok a betegség tüneteit nem mutatták, a kísérlet lezárásáig egészségesek maradtak. Kivéve két, orálisan immunizált állatot, melyek közül az egyik elpusztult, a másik átvészelt. A szerológiai vizsgálatok eredményei alapján valamennyi kontroll állat szeronegatív maradt, a vakcinázott állatok megfelelően áthangelődtek, kivéve a fent említett elpusztult egyed. A PCR minták vizsgálata folyamatban van.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a vakcinajelölt vírustörzs az Európai Gyógyszerkönyv vonatkozó monográfiája szerint hatékonyak bizonyult.

A munka pályázati és pénzügyi háttérét a CSFV\_goDIVA nevű (azonosító: KBBE-227003) FP7 projekt biztosítja.

## KLASSZIKUS SERTÉSPESTIS JÁRVÁNY NÓGRÁD MEGYE ÉS PEST MEGYE VADDISZNÓÁLLOMÁNYÁBAN A JÁRVÁNYÜGYI INTÉZKEDÉSEK TÜKRÉBEN

Földi Zsolt<sup>1</sup> és Joó Jenő<sup>2</sup>

2007. január 22-én az MgSzH Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatósága Nógrád megyéből - a szlovák határ közeléből- származó három vaddisznóból a klasszikus sertéspestis vírusát mutatta ki. A Nemzeti Klasszikus Sertéspestis Szakértői Csoport javaslatára egész Nógrád megyét klasszikus sertéspestissel fertőzött területté nyilvánította a megyei állategészségügyi és élelmiszerellenőrző hatóság. Néhány nappal az első esetek után újabb két vaddisznóban került megerősítésre a betegség. Ezt követően 2007 májusáig nem történt újabb megállapítás, de ezt követően világossá vált, hogy nem szórványos esetekről, hanem járványról kell beszélnünk. Az év végére egyértelműen látszott, hogy nagy a valószínűsége annak, hogy a betegség a Pest megyei vaddisznó állományban is megjelenik. Ezért a klasszikus sertéspestissel fertőzött területre vonatkozó intézkedések elrendelésre kerültek Pest megyének a Duna, az M3-as autópálya, illetve Szlovákia és Nógrád megye által határolt területén is. Nem sokkal ezt követően, 2007 decemberében Pest megyében is megállapításra kerültek az első esetek. 2008 nyarán Borsod-Abaúj-Zemplén megye és Heves megye egyes részeire is ki kellett terjeszteni a klasszikus sertéspestissel fertőzött területre vonatkozó intézkedéseket, mivel jelentős kockázata volt annak, hogy a betegség e két megye vaddisznó állományát is érinteni fogja.

Összesen 268 klasszikus sertéspestis eset került megállapításra vaddisznóban, amelyből 120 Nógrád megyére, míg 148 Pest megye fertőzött területére esett. A végrehajtott járványügyi intézkedéseknek is köszönhetően Borsod-Abaúj-Zemplén megye és Heves megye területén nem került kimutatásra betegség kórokozója, de a klasszikus sertéspestis vírusával szembeni ellenanyagok kimutatását célzó szerológiai (ELISA) vizsgálatok során emelkedett a szeropozitív egyedek aránya. Nógrád megye esetében az utolsó eset 2009 februárjában fordult elő, míg Pest megye fertőzött területén 2009 október végén került utoljára megállapításra a betegség. Igen fontos kiemelni, hogy a járvány alatt sikerült megakadályozni, hogy az érintett területek házi sertésállománya fertőződjön. A 2010/2011. vadászati évtől kezdődően a szeropozitív vaddisznók százalékos aránya folyamatos csökkenést mutatott, illetve mutat jelenleg is vaddisznókban. Ennek köszönhetően 2011 nyarán – az EU Bizottság egyetértésével - Borsod-Abaúj-Zemplén megye és Heves megye mentesülhetett a klasszikus sertéspestis fertőzött területre vonatkozó intézkedések okozta hátrányoktól.

A mostani kedvező járványügyi helyzet kialakulásában döntő szerepük van a Nemzeti Klasszikus Sertéspestis Szakértői Csoport ülésein megfogalmazott határozati javaslatok alapján végrehajtott következetes járványügyi intézkedéseknek. Az MgSzH Központ még a járvány kezdeti időszakában megbízta a Szakértői Csoport vezetőjét az érintett megyék állategészségügyi és élelmiszerellenőrző hatóságai által végrehajtott intézkedések helyszíni ellenőrzésével. A járványügyi helyzet rendszeres elemzése, illetve a Szakértői Csoport vezetőjének a helyszíni ellenőrzések során nyert tapasztalatai alapján a Szakértői Csoport folyamatosan a járványügyi helyzethez igazította az általa javasolt intézkedéseket. A számos bevezetésre javasolt járványügyi intézkedés közül az egy év alatti vaddisznók állami kártalanítás melletti diagnosztikai célú kilövését és a kilőtt vaddisznók zsigereinek állati eredetű mellékterméket feldolgozó üzemben történő ártalmatlanítását szükséges kiemelni. A kilőtt vaddisznók szerológiai és virológiai vizsgálatainak eredményeit elemezve egyértelműen kijelenthető, hogy a mostani kedvező járványügyi helyzet kialakulásában e két intézkedés játszotta a legnagyobb szerepet. Fontos azonban leszögezni, hogy a Szakértői Csoport járványügyi helyzethez igazodó határozati javaslatai, valamint az érintett megyék állategészségügyi és élelmiszerellenőrző hatóságának áldozatos munkája mellett szükség volt a vadásztársadalom együttműködésére is.

A jelenlegi kedvező járványügyi helyzet fényében – ha csak váratlan negatív fordulat nem következik be – valószínűsíthető, hogy a 2012/2013. vadászati évben Nógrád megye és Pest megye esetében is feloldásra kerülhetnek a klasszikus sertéspestissel fertőzött területre vonatkozó intézkedések.

## STAPHYLOCOCCUS AUREUS VIRULENCIA STÁTUSZÁNAK MEGHATÁROZÁSA KOMPLEX PCR MÓDSZERREL HÁZINYÚL ÁLLOMÁNYOKBAN

Német Zoltán László<sup>1</sup>, Dán Ádám<sup>2</sup>, Szenci Ottó<sup>1</sup>, Biksi Imre<sup>1</sup>

Bevezetés: a staphylococcosis házinyúlban sepsisben és különféle szervekben elhalásos-gennyes gyulladásban megnyilvánuló, rendszerint félheveny vagy idült, enzootiásan jelentkező betegség. A kórokozó a *Staphylococcus aureus*. A betegség évtizedek óta jelen van a nyugat-európai és hazai nyúltelepeken egyaránt. A '90-es évek elejéig a megelőző kezelésekre használható hatóanyagok fejlődésével az állomány szintű veszteségeket alacsony szinten tudták tartani. 1992-től, valószínűleg a tartástechnológia fejlődése, és a modern tenyésztési vonalak előtérbe kerülése miatt az esetek száma sokszorosára emelkedett. 2002 után a multirezisztens, és magas virulenciájú törzsek széles körű elterjedésével a betegség ismét súlyos problémává vált. Mivel a házinyúl-állományok nagy részében megtalálható a *Staphylococcus aureus* baktérium, és a magas virulenciájú törzsek jelenléte alapvetően meghatározza a kórjóslatot, ezért alapvető fontosságú annak meghatározása, hogy a kimutatott kórokozó az alacsony (low virulence, LV) vagy a magas virulenciájú (high virulence, HV) csoportba tartozik-e. A magas virulenciájú törzsek kimutatása multiplex PCR módszerrel lehetséges. Ezen törzsek ellen hatékony hosszú távú védekezési mód nincs, a mentesítés csak teljes állománycserével érhető el. Ebből következik, hogy a HV/LV státusz ismerete minden nagyüzemi telep számára létkérdés.

Cél: hazai nyúltelepekről izolált *Staphylococcus aureus* törzsek HV/LV státuszának meghatározása.

Módszer: multiplex PCR rendszer a magas virulenciájú *Staphylococcus aureus* törzsekre jellemző gének kimutatására.

Eredmény: hazai nyúltelepekről klinikai megbetegedésekből több mint 100 *Staphylococcus aureus* törzset izoláltunk. Elvégeztük az izolált törzsek DNS-ének kivonását, a PCR-módszer beállítását, majd ezidáig 30 törzs PCR-vizsgálatát végeztük el. Minden eddig vizsgált törzs egy ún. atipikus HV törzsre jellemző mintázatot mutatott. A termék szekvenálása és a további törzsek vizsgálata folyamatban van.

Következtetés: az elérhető szakirodalom alapján magas virulenciájú törzsek jelenlétét Magyarországon még nem vizsgálták. Eredményeink alapján világossá vált, hogy a más nyúltenyésztő országokban már kimutatott és jelentős gazdasági károkat okozó törzsek hazánkban is jelen vannak.

A kutatás 2011. évben NKB támogatásban részesült.

## *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* TÍPUSTÖRZSEK ELLEN TERMELT HIPERIMMUN SAVÓK VIZSGÁLATA

Sárközi Rita<sup>1</sup>, Makrai László<sup>1</sup>, Tenk Miklós<sup>2</sup>, Pálmai Nimród<sup>2</sup> és Fodor László<sup>1</sup>

Az *Actinobacillus pleuropneumoniae* egy Gram-negatív, aerob, fakultatív anaerob, igényes baktérium, amely kizárólag a sertést betegíti meg. A baktérium világszerte, így hazánkban is előfordul. A kórokozó vérzéses-elhalásos tüdőgyulladással és fibrines mellhártyagyulladással járó megbetegedést okoz elsősorban a 12-16 hetes sertésekben. Fakultatív patogén baktériumként a hajlamosító tényezőknek nagy szerepe van a betegség kialakulásában. A baktérium a tonsilla kriptáiban képes tartósan megtelepedni, amely az állat élete végéig tartó hordozást és ürítést eredményezhet. A baktérium *in vitro* történő tenyésztése során az 1-es biotípusba tartozó törzsei NAD-ot igényelnek, míg a NAD-independens törzseket a 2-es biotípusba sorolják. A felületi antigénjeik alapján korábban 15 szerotípust különböztettek meg, manapság a szerotipizálási rendszerek egyesítése miatt 14 szerotípust lehet elkülöníteni.

Munkánk során az *Actinobacillus pleuropneumoniae* típus-törzsekből szuszpenziót készítettünk, amellyel szemben szerotípusonként 3-3 házinyúlban hiperimmun savót termeltünk. A hat, egymást követő oltás után a nyulakat elvéreztettük, és savójukat lefagyasztottuk. Valamennyi típus-törzset valamennyi hiperimmun savóval szemben passzív hemagglutinációs próbában megvizsgáltuk, és meghatároztuk a homológ, valamint a heterológ reakciókat.

Az így előállított típus-savókkal 50, kórtani mintából izolált *Actinobacillus pleuropneumoniae* törzs szerotipizálását végeztük el.

*Munkánkat a SZIE Állatorvos-tudományi Kara az NKB pályázat keretében támogatta.*

## *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* RÁFERTŐZŐ MODELL KIALAKÍTÁSA AZ EURÓPAI GYÓGYSZERKÖNYV KÖVETELMÉNYEI SZERINT

Tenk Miklós<sup>1</sup>, Pálmai Nimród<sup>1</sup>, Gál Bence<sup>2</sup>, Benyeda János<sup>2</sup>, Glávits Róbert<sup>3</sup>, Országgh Georges<sup>1</sup> és Benaouda Kadra<sup>1</sup>

A sertések *Actinobacillus (A.) pleuropneumoniae* okozta tüdőgyulladás jelentős gazdasági károkat okoz nagyüzemi sertésállományokban. Ez a kórokozó az egyik legjelentősebb a sertések légzőszervi komplex megbetegedésében (PRDC). A veszteségek közül a megbetegedett állatok elhullása mellett legjelentősebb a termelési mutatók jelentős visszaesése (takarmányértékesítés, vágótömeg eléréséhez szükséges napok száma).

A betegség kialakulása a kórokozóval már terhelt állományokban vakcinázással megelőzhető, így a veszteségek mérsékelhetők. Jelenleg a piacon a teljes sejtet tartalmazó vakcinák mellett az *A. pleuropneumoniae* fő virulencia-faktoraiként számon tartott Apx toxinjait inaktivált formában tartalmazó készítmények is elérhetők.

A vakcina fejlesztése során mindvégig figyelembe kell venni az Európai Gyógyszerkönyv (PhEur) követelményrendszerét. A fejlesztendő vakcinák hatékonyságának értékeléséhez megfelelő ráfertőző modellt kell kialakítani.

A sikeres modell kialakítása a megfelelő törzs és fertőző dózis megválasztása mellett számos egyéb tényezőn is múlik.

A kiértékelés során a klinikai tünetek súlyosságát, az elhullás arányát, a vágás után pedig a kialakult specifikus tüdőelváltozásokhoz rendelt pontszámot és a ráfertőző törzs visszaizolálásának arányát kell figyelembe venni.

A szerzők egy konkrét példa, *A. pleuropneumoniae* 1-es szerotípusú törzs ráfertőző modell kialakításával mutatják be a kapcsolódó fejlesztési folyamatot.

## MODELLKÍSÉRLET A CSIRKÉK ELHALÁSOS BÉLGYULLADÁSÁNAK (NECROTIC ENTERITIS) ELŐIDÉZÉSÉRE

Gál Bence<sup>1</sup>, Benyeda János<sup>1</sup>, Glávits Róbert<sup>2</sup>, Tenk Miklós<sup>3</sup>

A brojlercsirkék *Clostridium perfringens* baktériumok okozta elhalásos bélgulladás mind a mai napig komoly gazdasági károkat okoz világszerte. A megelőzési és kezelési módszerek hatékonyságának vizsgálatához alapvetően szükséges egy reprodukálható fertőzési modell felállítása.

Ennek kidolgozására a szerzők 75 brojlercsirkét *Clostridium perfringens* C baktériumtenyészet  $8 \times 10^8$  telepformáló egység (CFU) mennyiségével 4 egymást követő napon, (18, 19, 20 és 21 napos életkorban), naponta kétszer p.o. fertőztek, 75 csirke pedig fertőzés nélküli kontrollként szolgált. A betegség kiváltására hajlamosító tényezőként kokcidiózis elleni vakcina tízszeres dózisát alkalmazták szájon át 18 napos életkorban. Ahhoz, hogy a kártétel okát tisztán megállapíthassuk a kontroll csoport is részesült ez utóbbi kezelésben. Az állatok tartása konvencionális volt, 18 napos korukig rácspadozaton, majd mélyalmon helyezték el őket. Takarmányuk életkornak megfelelő, kokcidiosztatikum-mentes táp volt.

Vizsgálták a morbiditást, a klinikai tüneteket, és regisztrálták az elhullást. A 20, 21, 22, 23, 24, 25, 34 és 35 napos korban csoportonként 5-5 csirkét elvéreztettek. A spontán elhullott és a kiírtott csirkéket felboncolták. A bélbeli elváltozásokat makroszkóposan, pontozásos rendszerben bírálták, majd a vékonybelet ún. tekercs technikával (hosszanti felnyitás után „beigli”-szerűen feltekerve és koncentrikus alakzatban a vékonybél teljes hosszúságát tartalmazóan) szövettani módszerrel vizsgálták.

A fertőzés befejezését követő 3. és 8. napokon elhullott 3 csirke vékonybelében az elhalásos bélgulladás diffúz (a gyakorlati esetekkel megegyező típusos) formája alakult ki. Az elvéreztetett csirkékben az elhalásos bélgulladás multifocalisan volt felismerhető a különböző bélszakaszokban. Az elváltozás szövettani kritériumai a nyálkahártya kötőszöveti rétegeire is ráterjedő coagulatio elhalás, és az elhalt szövetekben *Clostridium* csoportjainak jelenléte, továbbá fibrinkiválással kísért gyulladásosejtes (lymphocytás, histiocytás és heterophil granulocytás) beszűrődés voltak. Emellett a bélnyálkahártya hámrétegének degenerációja, részleges leválása és a propria diffúz gyulladásosejtes beszűrődése volt még felismerhető.

A felsorolt elváltozások közül a coagulatio elhalást, az elvéreztetett fertőzött állatok 40%-ában, a hámd degenerációt és a diffúz gyulladást 78%-ukban lehetett igazolni. Az elváltozásokat tekintve a fertőzött és kontroll csoportok között szignifikáns különbség adódott. Az elhullások típusos eseteiből izolált anaerob baktériumokat PCR-módszerrel vizsgálva, ezek megegyeztek a fertőzéshez használt *Clostridium perfringens* C típusal.

A modellkísérletben sikeresen előidéztek az elhalásos bélgulladásra jellemző makroszkópos kórbonctani és kórsvetettani elváltozásokat, melyek megfelelő kísérleti elrendezésben lehetővé teszik a különböző védekezési módszerek hatékonysági vizsgálatát.

## MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE ELLENI SEJTES IMMUNVÁLASZ VIZSGÁLATA ALLERGIÁS BŐRPRÓBA ÉS ELISPOT MÓDSZER SEGÍTSÉGÉVEL

Tenk Miklós<sup>1</sup>, Siklódi Botond<sup>1</sup>, Benyeda János<sup>2</sup> és Terényi Nóra<sup>1</sup>

A sertések *Mycoplasma hyopneumoniae* okozta tüdőgyulladás világszerte elterjedt, a kórokozó a nagyüzemi sertésállományok nagy részében jelen van.

A betegség kórfejlődésében és a védettség kialakulásában) a sejtes (celluláris) immunválasznak kiemelt jelentősége van az ellenanyag alapú (humorális) immunválasszal szemben.

Már az állománydiagnosztika során igen nagy nehézségeket okoz, hogy a kereskedelemben elérhető humorális ellenanyag válaszon alapuló, többnyire ELISA alapú tesztek nem képesek kimutatni az egyedi fertőzöttséget, a vakcinázás utáni védettség monitorozására pedig még kevésbé alkalmasak.

A szerzők *M. hyopneumoniae* negatív állományból származó 4 hetes malacokat oltottak 3 hetes időközzel, két alkalommal, saját modell vakcina formulákkal, illetve a kereskedelemben kapható *M. hyopneumoniae* oltóanyagokkal.

A DTH allergiás bőrpróba során a vakcinázott és kontroll csoportokból random kiválasztott állatokat intradermálisan oltották *M. hyopneumoniae* antigénnel, valamint pozitív és negatív kontrollként rendre fitotohemagglutinin-nel és fiziológiás sóoldattal. A kialakult bőrpírt és duzzanatot tolmérő segítségével mérték a beoltást követő 24. és 36. órában.

Az antigén-specifikus T limfociták interferon gamma (IFN $\gamma$ ) termelését mérő ELISPOT próbához a DTH próbában nem vizsgált malacokból alvadásában gátolt vérmintákat vettek. Az izolált mononukleáris fehérvérsejt frakció in vitro antigén-stimulálhatóságát ELISPOT készülékben mérték.

Fentiek mellett a humorális immunválaszt a kísérlet során ELISA próbával monitorozták.

A vizsgálatok során mindkét próbával (bőrpróba és ELISPOT), valamennyi vakcina esetén jól mérhető, a kontrolltól elkülönülő választ kaptak, a különbségeket statisztikai próbákkal vizsgálták.

Vizsgálataik szerint mindkét módszer alkalmasnak bizonyult a vakcinák által indukált sejtes immunválasz mérésére.

## A TULAREMIA EPIDEMIOLÓGIAI JELLEMZŐINEK VÁLTOZÁSA

Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>, Reiczigel Jenő<sup>2</sup>, Krisztalovics Katalin<sup>3</sup>, Monse László<sup>4</sup>, Szabóné Kükedi Gabriella<sup>5</sup>, Szilágyi Andrásné<sup>3</sup>, Szépe Bálint<sup>4</sup>, Makrai László<sup>2</sup>, Magyar Tibor<sup>1</sup>, Erdélyi Károly<sup>5</sup>

Bevezetés: A *F. tularensis* ökológiai ciklusában a nyúlalakúak és rágcsálók játsszák a legfontosabb gazdaállat szerepét, és kullancsok, valamint vérszívó rovarok szolgálnak biológiai (kullancs) és mechanikai vektorként.

Cél: A tularemia epidemiológiai jellemzőinek a vizsgálata az Alföldön.

Módszer: A mintaterület Békés, Csongrád és Jász-Nagykun-Szolnok megyéket foglalta magába 1984. március 1. és 2010. február 28. közötti időtartamban. Évente vizsgáltuk a biológiai évre vonatkoztatott (március 1. – február 28.) mezei nyúl (*Lepus europaeus*) szeropozitivitási adatokat (2500-25000 nyúl/év – december, január), mezei nyúl sűrűséget (február), emberi megbetegedések számát, mezei pocok (*Microtus arvalis*) sűrűséget (november) és a három megyeszékhely napi időjárás adataiból számított különböző makroklimatikus adatokat. Spearman-féle rang-korrelációt használtunk az összefüggések kimutatására.

Eredmény: 2-3 éves ciklusosság volt jellemző a vizsgált adatokra. Az emberi megbetegedések száma pozitívan korrelált a mezei nyúl szeropozitivitási értékekkel (Spearman's rho=0.73, p<0.0001) és a mezei pocok sűrűséggel (Spearman's rho=0.77, p=0.0081). Negatív összefüggés volt kimutatható a mezei nyúl szeropozitivitási adatok és sűrűség között (Spearman's rho= -0.41, p=0.0365). Szignifikáns összefüggést találtunk két megyében a május, június, júliusi összcsapadék mennyisége és az emberi megbetegedések száma között (Spearman's rho= 0.39, 0.54, 0.35, p= 0.0465, 0.0046, 0.0775).

Következtetés: Korábbi vizsgálataink alapján a mezei nyúl és a *Haemaphysalis concinna* a *F. tularensis* fő rezervoárjai a vizsgált területen, s e fajok tartják fent a kórokozót a járványok közötti időszakban. A fertőzés intenzitására jellemző 2-3 éves ciklusosságot azonban a mezei pocok sűrűségének változása befolyásolhatja. Gradációs években a magas egyedsűrűség, a fajtársak közötti agresszió, s a vizelettel történő baktériumürítés révén megsokszorozódik a fertőző csírák száma a környezetben. Több mezei nyúl fertőződik meg, melyek közül többekben vérfertőzés alakul ki, amit elhullás követ, s ezáltal csökken az egyedszám. A csapadékosabb május, június, július hónapokban a párásabb mikroklíma révén fokozódhat *H. concinna* aktivitása, ami tovább kedvez a fertőzés terjedésének. Az emberi megbetegedések száma pedig a fertőzött nyulakkal és kullancsokkal történő kontaktus révén növekszik.

Köszönetnyilvánítás: A vizsgálatok az OTKA-78139 anyagi támogatásával készültek.



## FRANCISELLA TULARENSIS ÉS FRANCISELLA-SZERŰ ENDOSYMBIONTÁK ELŐFORDULÁSA A HAZAI KULLANCSOKBAN

Kreizinger Zsuzsa<sup>1</sup>, Hornok Sándor<sup>2</sup>, Dán Ádám<sup>3</sup>, Makrai László<sup>2</sup>, Magyar Tibor<sup>1</sup>, Erdélyi Károly<sup>2</sup>, Stanislav Hresko<sup>4</sup>, Mangesh Bhide<sup>4</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

**Bevezetés:** A tularemia kórokozója a *Francisella tularensis* egy Gram-negatív, zoonótikus baktérium. A kullancsok rezervoárjai és vektorai is a *F. tularensis*-nek, s gyakran közvetítik a fertőzést az emberek felé. A *Francisella*-szerű endosymbionták, olyan ismeretlen pathogenitású, rokon baktériumai a *F. tularensis*-nek, melyek a kullancsokban fordulnak elő, s jelenlétük gyakran diagnosztikai problémákat okoz.

**Cél:** Magyarország különböző területeiről gyűjtött, reprezentatív számú s fajú kullancs vizsgálata a *F. tularensis* és *Francisella*-szerű endosymbionták előfordulására, s genetikai variabilitásának felderítésére.

**Módszer:** Magyarország különböző területeiről 7 kullancs faj (*Ixodes ricinus*, *I. acuminatus*, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Haemaphysalis inermis*, *H. concinna*, *H. punctata*) 5402 példányát gyűjtöttük össze a vizsgálathoz. Átlag tíz egyedét számláló csoportokból végeztük a DNS kivonást, majd a 16S rRNS-géneken alapuló *Francisella* specifikus PCR rendszert alkalmaztunk. A pozitív minták szekvenciáit a GenBank-ban található *F. tularensis* és *Francisella*-szerű endosymbionta szekvenciákkal összevetettük, s neighbor joining típusú filogenetikai analízist végeztünk (MEGA5).

**Eredmény:** Összesen 14 pozitív kullancsot találtunk. A szekvenálás, s filogenetikai analízist követően 3 bizonyult *F. tularensis* ssp. *holarctica*-nak, melyek közül kettő *H. concinna*-ból (0,27%; 2/735), egy pedig *D. reticulatus*-ból származott (0,27%; 1/365). További tizenegy *D. reticulatus* csoportból pedig, a hazánkban s Bulgáriában az elmúlt években leírt *Francisella*-szerű endosymbiontát mutattunk ki, ami csoportonként 1 pozitív kullancssal számolva 3,01% (11/365) prevalenciát jelent.

**Következtetés:** Az alkalmazott PCR rendszer csak szekvenálással együtt alkalmas a *F. tularensis* kimutatására. Eredményeink alapján a *F. tularensis* ssp. *holarctica* prevalenciája napjainkban alacsonyabb hazánkban, mint amit a 90-es évek felmérő vizsgálatai során a környező országokban (Szlovákia, Ausztria, Csehország) megállapítottak. A nagy mintaszám ellenére *Francisella*-szerű endosymbiontát – hasonlóan a korábbi vizsgálatokhoz – csak a *D. reticulatus*-ból sikerült kimutatnunk, de közel háromszor nagyobb gyakorisággal.

**Köszönetnyilvánítás:** A vizsgálatok az OTKA-78139 anyagi támogatásával készültek.

## *BRUCELLA CANIS* GAZDAFAJON BELÜLI EVOLÚCIÓJA EGY JÁRVÁNY SORÁN

Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>, Brandy D. Rannals<sup>2</sup>, Jánosi Szilárd<sup>3</sup>, Magyar Tibor<sup>1</sup>, Kreizinger Zsuzsa<sup>1</sup>, Paul S. Keim<sup>4</sup>, Jeffrey T. Foster<sup>4</sup>

**Bevezetés:** A kutyák *Brucella canis* okozta megbetegedése jelentős gazdasági károkat okozhat a tenyészetekben. Nem rendelkezünk ismeretekkel a *B. canis* gazdafajhoz történő adaptációjáról, a gazdafajon belüli evolúciójáról.

**Cél:** Az első hazai *B. canis* járvány (31 kutyás kennel) három hónapja során izolált 8 törzs molekuláris tipizálása, annak érdekében, hogy megállapíthassuk a fertőzés terjedésének útját, s hogy miként változott a kórokozó genetikai állománya az idő előrehaladtával, s a különböző szervekhez alkalmazkodva.

**Módszer:** A törzsek faj szintű azonosítása real-time PCR-rel történt, majd egy 15 marker-es multi-locus variable-number tandem repeat analízist (MLVA) alkalmaztunk az egyes izolátumok finomabb tipizálására. A filogenetikai fa készítéséhez neighbour joining módszert használtunk.

**Eredmény:** A 15 marker közül, 10 egyáltalán nem mutálódott, míg 2 nagyon variábilis volt. A filogenetikai számítás során a 8 törzs 3 fő genetikai csoportba sorolódott, további alcsoportokkal. Az első csoportot a magzatból júniusban és az anya véréből júliusban izolált törzs alkotta. A második csoportba az anya hüvelyéből júliusban és egy kan kutyából júliusban (vér) és augusztusban (nyirokcsomó) kitenyészett izolátumok sorolódtak. A harmadik csoportba egy másik anyától márciusban valószínűleg fertőzötten született kölyökkutyából izolált 3 törzs (július-vér, augusztus-vér és nyirokcsomó) tartozott.

**Következtetés:** Az MLVA megfelelő módszernek bizonyult, az amúgy elkülöníthetetlennek tűnő törzsek tipizálására, s ezáltal a járványtani nyomozás kivitelezésére. Feltételezzük, hogy a kan kutya a vizsgálati idő alatt fertőződhetett a szuka kutyától kopuláció révén, míg a kölyökkutya valószínűleg veleszületett fertőzöttségét a molekuláris vizsgálatok alátámasztani látszanak. További mikro-evolúciós változásokat sikerült kimutatni egyazon egyedből, de különböző időpontban és/vagy szervből izolált törzsek között.

## EGY TENYÉSZJUH-ÁLLOMÁNY *BRUCELLA OVIS-FERTŐZÖTTSEGTŐL* VALÓ MENTESÍTÉSI KÍSÉRLETÉNEK TAPASZTALATAI

Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>, Horváth Gábor<sup>2</sup>, Kreizinger Zsuzsa<sup>1</sup>, Rónai Zsuzsanna<sup>3</sup>, Szeredi Levente<sup>3</sup>, Jánosi Szilárd<sup>3</sup>, Makrai László<sup>4</sup>, Sárközi Rita<sup>4</sup>, Magyar Tibor<sup>1</sup>, Dán Ádám<sup>3</sup>, Hajtós István<sup>2</sup>, Dénes Béla<sup>3</sup>

Bevezetés: A *Brucella ovis* a kosok mellékhere- és here gyulladását okozó baktérium.

Cél: Egy tenyészjuh-állomány *B. ovis*-fertőzöttségtől való mentesítése.

Módszer: A vizsgált állomány 93 tenyészkost és ~2400 anyajuhot számlált. A *B. ovis*-fertőzöttség felszámolása (mentesítés) érdekében a kosokat 30-40 naponként január és augusztus között klinikai és szerológiai (ELISA) vizsgálatoknak vetettük alá. A szeropozitív állatokat az októberi kényszervágásig az állománytól elkülönítve, egy másik telepen hizlalták. Tizennégy levágott, szeropozitív állat mellékheréjéből és heréjéből kórbonctani és bakteriológiai vizsgálatot végeztünk. A homogenizált mintákból 1% élesztőkivonatot tartalmazó véres agaron, 10% juhsavó tartalmú TSA táptalajon és *Brucella*-szelektív agaron baktériumizolálást végeztünk. A kitenyészett törzseket bakteriológiai módszerekkel és a *Brucella* fajokat elkülönítő multiplex PCR rendszerrel azonosítottuk. A mellékherékből és a herékből haematoxillin-eosinnal festett metszeteket készítettünk, továbbá széria metszeteken a *B. canis* törzs ellen nyúlban termelt hiperimmun savó felhasználásával immunhisztokémiai módszer segítségével kíséreltük meg kimutatni a baktériumot.

Eredmény: A havonta elvégzett szerológiai vizsgálatok során csökkenő számban találtunk a pozitív kosokat az állományban (33, 6, 2, 4, 1, 0, 0). A 14 további vizsgálatnak alávetett szeropozitív egyed közül 5-ben találtunk csak az egyik oldali mellékherére és herére korlátozó makroszkópos elváltozásokat. A mellékhere feji és testi részében mogorónyidiónyi, szürkés-sárga híg folyó tartalmú tályogokat figyeltünk meg, míg a hozzá tartozó here sorvadt volt. A többi 9 állatban a mellékhere állománya nehezen szakítható, kötőszövetesen átszövődött volt. Az immunhisztokémiai módszerrel a vizsgált 15 eset közül 6-ban mutattuk ki a baktériumot intra- és extracellulárisan. A 14 állat közül 12-ből sikerült a *B. ovis*-t kitenyésztenünk. A vizsgálatokhoz használt három táptalaj érzékenysége azonos volt.

Következtetés: A vizsgált tenyészjuh-állomány legértékesebb egyedei a tenyészkosok, melyek *B. ovis*-mentességét a minőségi piac megköveteli. A korábbi vizsgálatok tapasztalatait követve a klinikai és szerológiai vizsgálatokra alapozott szelektív mentesítést végeztünk, melynek eredményeképpen úgy tűnt, hogy nyár végére sikerrel eradikáltuk a kórokozót az állományból. A szeronegativitás (mentesség) eléréséhez és fenntartásához azonban a tulajdonos együttműködése is elengedhetetlen (a beteg és/vagy szeropozitív állatok kiselejtezése, a szűzkosok és a tenyészkosok elkülönített tartása, a zugkosok kizárása a tenyészetből). Sajnos ez nem valósult meg minden esetben, és az ősz folyamán ismeretlen kosok, köztük fertőzött egyedek jelentek meg az állományban.

## Q-LÁZ ELŐFORDULÁSA MAGYARORSZÁGON

Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>, Dénes Béla<sup>2</sup>, Hornok Sándor<sup>3</sup>, Kovács Péter<sup>3</sup>, Horváth Gábor<sup>4</sup>, Jurkovich Viktor<sup>3</sup>, Varga Tamás<sup>5</sup>, Szabó Réka<sup>1</sup>, Magyar Tibor<sup>1</sup>, Vass Nóra<sup>6</sup>, Hajtós István<sup>7</sup>, Dán Ádám<sup>2</sup>

**Bevezetés:** A Q-láz zoonózis, kórokozója a *Coxiella burnetii*, Gram-negatív, intracelluláris baktérium. Kérődzőkben vetéléssel, koraelléssel, terméketlenséggel járó kórképeket okozhat. Kullancs fajok vektor szerepet tölthetnek be a betegség járványtani ciklusában. Emberek a kérődző állatok méhváladéktól, tejtől, bélsártól, vizelettől, kullancstól fertőződhetnek. A megbetegedés általában influenzaszerű tünetekkel, súlyosabb esetben tüdő, máj és szívbelhártya gyulladással járhat.

**Cél:** A hazai tejelő szarvasmarha és juhállomány, kullancs populáció és kereskedelmi forgalomban kapható tejtermékek *C. burnetii* fertőzöttségének felmérése.

**Módszer:** Az ország különböző területein 15 tejelő szarvasmarha és 5 juhállomány esetében 20 állattól vér, közülük 10 egyedről tej mintákat vettünk, valamint a szarvasmarha állományoknál vizsgálati anyagot gyűjtöttünk a tanktejből is. Kilenc hazai tejipari cég által gyártott tejtermékből is mintát vettünk. Magyarország különböző területeiről 7 kullancs faj 5402 példányát gyűjtöttük össze a vizsgálathoz. A vérminták szerológiai vizsgálatához a komplementkötési (KK) próbát és az ELISA-módszert használtuk. A DNS kivonás után az IS1111-es régió alapuló TaqMan típusú real-time PCR rendszert alkalmaztuk a *C. burnetii* kimutatására a tej mintákból és kullancsokból.

**Eredmény:** Szarvasmarhák esetében 19,3% és 38,0%, míg a juhállományokban 0% és 6,0% *C. burnetii* specifikus szeropozitivitást találtunk a KK és ELISA vizsgálatok során. Az egyedi tej minták vizsgálata során a szarvasmarha tejek 8,7%-ban, míg a juhtejek 4,0%-ban tudtuk kimutatni a *C. burnetii* DNS-ét. A szarvasmarha állományok tanktej mintáinak 66,7%-volt fertőzött. A 9 megvizsgált kereskedelmi forgalomban kapható tejtermék közül 8-ból mutattuk ki a *C. burnetii* DNS-ét. A kullancsok PCR vizsgálata negatív eredménnyel zárult.

**Következtetés:** A szarvasmarha állományok Q-láz fertőzöttsége magasabb, a juh állományoké pedig alacsonyabb, mint az ismert nemzetközi átlag. Az előbbinek oka lehet, hogy a szarvasmarha minták többségének vizsgálata - az ELISA módszerhez képest kevésbé érzékeny - KK-próbával történt. Hasonlóan az elmúlt évek nyugat-európai járványai során tapasztaltakhoz, a kullancsok valószínűleg hazánkban sem játszanak fontos szerepet a betegség járványtani ciklusában. A tej minták magas *C. burnetii* fertőzöttsége, összhangban az emberi megbetegedések növekvő számával, felhívja a figyelmet a nyers tej fogyasztás veszélyeire.

## KÜLÖNBÖZŐ GAZDAFAJOKBÓL SZÁRMAZÓ *BORDETELLA BRONCHISEPTICA* TÖRZSEK FLAGELLINJÉNEK VIZSGÁLATA HAGYOMÁNYOS ÉS MOLEKULÁRIS GENETIKAI MÓDSZEREKKEL

Khayer Bernadett, Wehmann Enikő, és Magyar Tibor

A *Bordetella bronchiseptica* széles gazdaspektrummal rendelkező Gram-negatív kórokozó. Kiemelt szerepet játszik a sertések torzító orrgyulladásának és a kutyák kennel köhögésének kóroktanában, emellett számos házi és vadon élő emlősből is kimutatták; napjainkban a humán megbetegedésekben betöltött zoonotikus szerepe sem elhanyagolható.

A *B. bronchiseptica* széles gazdaköre, ami egyedülálló a *Bordetella* nemzetségen belül, felveti azt a kérdést, hogy vajon létezik-e a baktérium virulencia tényezőinek gazdafaj specifikussága (gazdaadaptáció). Vizsgálataink során azt is elemezni kívántuk, hogy hogyan képes a baktérium alkalmazkodni a környezet változásaihoz virulencia faktorai segítségével. A fentiek megválaszolására – a számos virulencia faktor közül – legalkalmasabb célpontnak a kórokozó mozgáskéességéhez nélkülözhetetlen flagellin (illetve az azt kódoló *flaA* gén) tűnt. A különböző gazdafajokból izolált reprezentatív törzsek mozgáskéességét hagyományos módszerrel, fél-folyékony LB és MgSO<sub>4</sub>-tal kiegészített LB táptalajokon, 24 és 36°C-on vizsgáltuk. A pontoltásból kifejlődő telepek nagyságát milliméter pontossággal olvastuk le. A *B. bronchiseptica* törzsek molekuláris genetikai elemzését első lépésben PCR-RFLP-vel oldottuk meg, *BglI*, *HincII* és *MspI* restriktációs endonukleázokat alkalmazva. Ezt követően a főbb hasítási mintázatokat adó törzseknél meghatároztuk a *flaA* gén részleges szekvenciáját (1045 bp), a filogenetikai összefüggések felderítésére pedig távolság mátrix alapú számításokat végeztünk mind nukleinsav, mind aminosav szinten.

Vizsgálataink során a törzsek alacsonyabb tenyésztési hőmérsékleten, valamint MgSO<sub>4</sub> jelenléte mellett kevésbé voltak mozgékonyak. A motilitási zóna nagysága és a gazdafaj, valamint a PCR-RFLP típusok között nem tudtunk egyértelmű összefüggést kimutatni.

PCR-RFLP elemzésekben eddig nyolc fő típust írtunk le (A-H), melyek összefüggésben állhatnak a gazdafajjal; a gazdaadaptáció jegyei eddig elsősorban szűk földrajzi környezetben mutatkoztak egyértelműnek.

A *flaA* gén szekvencia elemzésével feltártuk, hogy a vizsgált régió N- és C-terminális szakasza konzervatív, míg a közbülső, mintegy 450 nukleotidányi szakasz rendkívül variábilis (genetikai távolság: 0,0-14,5 %). Ez a variabilitás aminosav szinten is jelentkezik (genetikai távolság: 0,0-18,9 %). A *B. bronchiseptica*-nál korábban nem voltak ismertek ilyen jellegű adatok. Filogenetikai vizsgálatok során négy csoportot mutattunk ki, melyek összhangban vannak a gazdafajjal és a korábban leírt PCR-RFLP típusokkal.

Vizsgálataink rámutatnak arra, hogy a hagyományos módszerek (pl. motilitás vizsgálata fél-folyékony táptalajban) nem alkalmasak a gazdaadaptáció vizsgálatára, a molekuláris genetikai vizsgálatok azonban már elegendő adatot szolgáltathatnak ennek tanulmányozásához.

Munkánkat az OTKA K83332 sz. pályázata támogatta.

## LÚDEREDETŰ ELTÉRŐ PATHOGENITÁSÚ *PASTEURELLA MULTOCIDA* TÖRZSEK VIRULENCIA GÉNJEINEK VIZSGÁLATA

Varga Zsuzsanna<sup>1</sup>, Volokhov, Dmitriy<sup>2</sup>, Sellyei Boglárka<sup>1</sup>, Ivanics Éva<sup>3</sup> és Magyar Tibor<sup>1</sup>

A *Pasteurella multocida* baktérium kórokozó képessége madarakban igen változó, a túlheveny lefolyású baromfikolerától a kevésbé súlyos tüneteket mutató idült pasteurellózis kiváltásáig terjed, ill. klinikai megbetegedést nem mutató állatokból is kimutatható. Évek óta folyó vizsgálataink célja a lúdból izolált eltérő virulenciájú *P. multocida* törzsek minél sokrétűbb összehasonlítása a patogenitásban szerepet játszó elkülönítő bélyegek, sajátosságok feltárása céljából. Az eltérő virulenciával rendelkező törzsek elkülönítése napjainkig megoldatlan, sokszor kísérleti állatfertőzés segíti, de az izolátumok egereken mutatott kórokozó képessége csak tájékoztató jellegű, nem pontosan felel meg a madarakban mutatott patogenitásnak. Az elmúlt évek vizsgálatai során számos gén került a kutatók látóterébe, amelyek esetleg szerepet játszhatnak a törzsek kórokozó képességének létrejöttében. Ez utóbbiak jelenlétét vizsgáltuk lúdzizolátumaink esetén.

A *P. multocida* törzsek jellemzése során meghatároztuk azok alfaját, buroktípusát, Heddleston féle szomatikus szerotípusát, a szénhidrátok bontásán alapuló biotípusát, toxintermelő képességét és a ptfA gén alléltípusát. Utóbbi egyik típusának előfordulását jellemzőnek találtuk a perakut kolerás megbetegedést okozó törzsek elkülönítésekor. A perakut baromfikolera esetekből izolált törzsek a külső membránfehérjéik rajzolata alapján is elkülöníthetők voltak a többi törzstől és azonos jellemzőkkel bírtak. Ezek a hagyománytiszteletből létezésüket elsőként felvető kutatóról elnevezett un Szécsényi típusú izolátumok egységesen arabinózbontók, „A” buroktípus, Heddleston 1 szerotípus jellemzi őket, A típusú ptfA gén allélvariánssal rendelkeznek A thdF, atpD és sodA gének szekvenálása megerősítette, hogy a heveny kolerás esetekből izolált azonos jellemzőkkel bíró törzsek egységesek, és a *P. multocida ssp. gallicida* referens törzssel nagyfokú hasonlóságot mutatnak.

A patogenitással ezideig kapcsolatba hozott toxA, pmHAS, hsf1, nanB, nanH, hgbA, fcbD, hgbB, fimA, pfhA, tbpA és ptfA gének vizsgálatával kívántunk közelebbi magyarázatot kapni az izolátumok virulenciájára ill. az un. Szécsényi típusú törzsek fokozott kórokozó képességére. Eltérő szerológiai és biokémiai jellemzőkkel rendelkező lúdzizolátumok „virulencia gén mintázatát” vizsgáltuk. A Szécsényi típusú izolátumoknál a nanB és nanH gének nem adtak reakciót a PCR vizsgálatban, de ugyanezt a reakciót mutatta a kevésbé patogén maltózbontó P770 izolátum is. Utóbbi izolátumunk a Szécsényi típusú törzsek mellett ugyancsak egyedülként tartalmazza a ptfA gén A alléltípusát, és csirkefertőzési kísérletben igen jó védelmet ad a Szécsényi típusú törzs okozta fertőzéssel szemben. Az fcbD és a pfhA gén elkülönítette az F buroktípusú törzseket, míg a tbpA gén vizsgálatával elkülönítettük a *Pasteurella multocida ssp. septica* izolátumainkat.

Vizsgálataink eredményét összegezve megállapíthatjuk, hogy a *P. multocida* törzsek patogenitásával kapcsolatba hozott 12 „virulencia gén” jelenléte vagy hiánya nem adott kizárólagos elkülönítő módszert a kezünkbe a Szécsényi típusú törzsek felismerésére és gén szinten nem szolgált közvetlen magyarázattal a Szécsényi típusú izolátumok fokozott kórokozó képességére.

## ELTÉRŐ JELLEMZŐKKEL BÍRÓ A:1 SZEROTÍPUSÚ *PASTEURELLA MULTOCIDA* IZOLÁTUMOK KÓROKOZÓ KÉPESSÉGÉNEK VIZSGÁLATA CSIRKEFERTŐZÉSI KÍSÉRLETBEN

Varga Zsuzsanna<sup>1</sup>, Horváth Ernő<sup>2</sup>, Ivanics Éva<sup>3</sup>, Sellyei Boglárka<sup>1</sup>, Fábián Katalin<sup>2</sup> és Magyar Tibor<sup>1</sup>

A baromfikolera oktatás tanulmányozva leggyakrabban A buroktípusú, 1-es Heddleston szerotípusú *Pasteurella multocida* törzsek fordulnak elő. Az Országos Állategészségügyi Intézet 2005-2010 közötti vizsgálati anyagát áttekintve a baromfikolerás esetek háromnegyedéből azonos jellemzőkkel bíró törzstípus, az ún. Szécsényi típusú törzsek kerültek kimutatásra. Ugyanakkor tapasztaltuk, hogy az ezen törzsekre jellemző A:1 szerotípuson belül eltérő virulenciával rendelkező izolátumok is megtalálhatók voltak, amelyek ezzel párhuzamosan eltérő biokémiai és genetikai jellemzőkkel is rendelkeztek.

A csirkék fertőzéséhez 3 általunk izolált és eltérő tulajdonságokkal rendelkező izolátumot, valamint az ismert patogén, a vakcina hatékonysági vizsgálatoknál fertőzésre használt X-73 referens törzset használtunk. A P544 izolátum a Szécsényi típusú törzsek csoportjába tartozik, a P964 septica alfajú, míg a P770 maltózbontó képességével és csökkent virulenciájával tűnik ki. Utóbbi jellemzője, hogy *P. multocida* izolátumaink közül mindeddig csak ebben mutatott ki a Szécsényi típusú izolátumokra jellemző ptfA alléltípust.

Az első kísérletben a fertőzéshez 10 hetes SPF csirkéket használtunk, izolátumokként 6 hígítással 5-5 állatot im mellizomba oltottunk. Az elhullott állatokból visszaizoláltuk a *Pasteurella multocida* törzset, és meghatároztuk az LD<sub>50</sub>-et, amely a következőképp alakult:

P544: 18 csíra                      X-73: 40 csíra                      P964: 2000 csíra

A P770 izolátummal oltott állatok nem betegedtek meg. A tünetmentes csirkéket a fertőzést követő 21. napon im fertőztük a P544 izolátum 110 csírájával és itt az elhullások alapján az 50%-os protektív dózist határoztuk meg, amely 340 csírának adódott.

A második kísérletben a P770 izolátum védőhatását tanulmányoztuk. Csoportonként 20-20 db. 9 hetes SPF csirkét fertőztünk, 1 csoportot im oltottunk P770 levestenyészet 6x10<sup>7</sup> csírájával, a másodikat 3x10<sup>7</sup> csírával a két szem kötőhártyájára csepegtetve és a harmadikat 3x10<sup>8</sup> csírával itatással. Az állatok három hétig tünetmentesek voltak. Az oltást követő 21. napon minden állatot im fertőztünk 18 csíra P544 törzsszel, majd a megfigyelési időszak 10 napja alatt követtük az elhullásokat. Az im oltott csoportban megbetegedés sem fordult elő, a szem kötőhártyára fertőzötteknél 17/20, az itatotaknál pedig 15/20 volt az elhullási arány. A szentinel állatok mindegyike elhullott, a 10 kontroll állat közül 6 hullott el, 3 pedig nagybetegen került kiirtásra.

## BAROMFIBÓL IZOLÁLT *PASTEURELLA MULTOCIDA* TÖRZSEK ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉGÉNEK ALAKULÁSA 2005-2010 KÖZÖTT

Varga Zsuzsanna<sup>1</sup>, Juhászné Kaszanyitzky Éva<sup>2</sup>, Sellyei Boglárka<sup>1</sup>, Ivanics Éva<sup>2</sup> és Magyar Tibor<sup>1</sup>

Összesen 220 baromfiból származó *Pasteurella multocida* izolátum antibiotikum rezisztencia mintázatát vizsgáltuk a 2005-2010 közötti időszakból. Az antibiotikumok közül az aminoglükozidok csoportjából az apramycin és a neomycin, a makrolidok közül az erythromycin és a tularomycin, a quinolon/fluorquinolon származékok közül az oxolinsav, majd helyette a nalidixsav, a flumequin és az enrofloxacin, a penicillin származékok közül a penicillin és az amoxicillin/klavulánsav kombináció, a szulfonamidok közül a szulfonamid 300 és a szulfonamid/trimetoprim kombináció, a tetracyclin származékok közül a tetracyclin és a doxycyclin, a fenikol származék florfenicol, a lincosamid csoportba tartozó lincomycin és a glikopeptid csoportba tartozó vancomycin került vizsgálatra. Utóbbi 2 antibiotikummal szemben a *Pasteurella multocida* természetes rezisztenciával rendelkezik, vizsgálata a baktérium identifikálásához biztosít értékes adatot.

Diagnózis szerint csoportosítottuk az izolátumokat és megkülönböztettük a baromfikolerát és az atipikus pasteurellozist okozó izolátumokat. A baromfikolera csoporton belül elkülönítettük a heveny, nagy veszteséget okozó úgynevezett Szécsényi típusú törzseket az egyéb baromfikolerát okozó izolátumoktól. A Szécsényi típusú izolátumok antibiotikum érzékenységét vizsgálva 2 csoportot tudtunk megkülönböztetni: a 2005-2006. és a 2007-2010. között kitenyészett törzseket. A 2005-2006. években nagyszámban találtunk többszörösen rezisztens izolátumokat, amelyek 3-5 antibiotikum csoport 5-10 hatóanyagával szemben is rezisztenciát mutattak (átlagosan 2,87 antibiotikum csoport elleni rezisztencia/izolátum), de ez a sajátosság visszaszorult 2006. végére és a későbbi izolátumok kevesebb antibiotikumra voltak rezisztensek (1,72 rezisztencia/izolátum). Ezzel egyidejűleg valamennyi izolátum rezisztenssé vált a quinolonszármazékokkal szemben és a Szécsényi típusú izolátumok száma mintegy 50%-kal csökkent. A nem Szécsényi típusú kolerát okozó törzsek és az atipikus pasteurellozist okozó törzsek között nem tudtunk különbséget tenni az antibiotikum érzékenység tekintetében sem. Ezek az izolátumok vagy minden vizsgált antibiotikum iránt érzékenyek voltak (28/80) vagy maximum 2 antibiotikum csoporttal szemben mutattak rezisztenciát és az izolátumok száma sem mutatott csökkenést az idő függvényében. A "fajspecifikus" vancomycin rezisztencia in vitro vizsgálatban 7 Szécsényi típusú törzsnél érzékenységre változott.

Külön tanulmányozva a kisszámú vadmadárból származó izolátumot, a fácán eredetű törzsek mindegyike pasteurellózis diagnózissal került kitenyészésre. A 6 izolátumból 4 minden vizsgált antibiotikum iránt érzékeny volt, míg 2 quinolon rezisztenciát, ill. erythromycin és apramycin rezisztenciát mutatott. A vadkacsából származó 8 izolátumból 5 Szécsényi típusú volt, míg 3 a vadmadár eredetűnek tartott azonosítatlan buroktípusú Heddleston 7 szerocsoportba tartozott. Csak 1 tőkésréce törzs volt érzékeny minden antibiotikum iránt, s 2 kivételével valamennyi quinolon rezisztens volt, amelyekből 3 erythromycin, 2 apramycin, míg 1 szulfonamid rezisztenciát is mutatott. Érdekeségük, hogy 3 vadkacsából származó Szécsényi típusú izolátum ugyancsak in vitro vancomycin érzékenységgel rendelkezett.



**AZ *ESCHERICHIA COLI* T22 TÖRZS (O157:H43) CITOLETÁLIS DUZZASZTÓ TOXIN (CDT-V) OPERONJA P2-SZERŰ PROFÁGBAN FOGLAL HELYET**

Sváb Domonkos, Tóth István

**Bevezetés:** A citoletális duzzasztó toxinok (CDT) a ciklomodulinok prototípusai, operonjaik (*cdtABC*) számos Gram-negatív patogén baktérium genomjában megtalálhatók. *Escherichia coli*-ban a CDT öt genetikai variánsát (I-V) azonosították. Irodalmi adatok szerint a három génből álló *cdt-V* operon közvetlen környezetében P2-fág-szerű génszakaszok találhatók, azonban a közölt határoló szekvenciák hossza nem haladja meg az 1 kb-t.

**Célkitűzések:** A T22 jelzésű atípusos *E. coli* O157:H43 törzs *cdt-V* operonjának és az azt határoló szekvenciák megismerése, és az így felderített jellegzetes régiók elterjedtségének monitorozása, valamint a P2-szerű profág indukálhatóságának vizsgálata.

**Anyag és módszer:** Kozmid klónkönyvtárat hoztunk létre (pWEB TNC Cosmid Cloning Kit). A CDT-V pozitív klónokat PCR-rel szűrtük. Meghatároztuk a *cdt* operonnak és határoló régióinak nukleotid összetételét (BayGen Intézet, Szeged). Munkánk során SOLiD 4, IonTorrent, és Sanger-féle didezoxi-nukleotid módszert alkalmaztunk. Jellegzetes határoló génszakaszok jelenlétét PCR-rel vizsgáltuk nyolc CDT-V-hordozó egy-egy CDT-I, CDT-III és CDT-IV pozitív, továbbá nyolc CDT-negatív *E. coli* törzsből. Fágindukciós kísérleteket Mytomicin C-vel végeztünk.

**Eredmények:** A *cdt-V* operont egy 32,3 kb hosszúságú, legnagyobb hasonlóságot az L-413C jelzésű P2-szerű fággal mutató profág tartalmazza. A *cdt-V* operon a profág TO régiójában foglal helyet. A profág szekvenciájának G+C tartalma 54%, míg *cdt-V* operon G+C tartalma 43%. A *cdt-V* operon környezetében lévő profág gének / orf-ek csak a CDT-V pozitív törzseket jellemzik. A *gpC* gént csak az atípusos *E. coli* O157 törzsek hordozzák, a *gpQ* egyik szakaszát pedig csak a T22-höz hasonlóan O157:H43 szerotípusú törzsekből mutattuk ki. A T22 törzsből lítikus fágot nem sikerült izolálni.

**Következtetések:** Az *E. coli* P2-szerű profágjainak TO régiójában eddig a CDT-V az egyetlen igazolt virulencia-faktor, mely eredményeink és az irodalmi adatok alapján ilyen genetikai környezetben fordul elő. A G+C %-beli eltérés arra utal, hogy a CDT-V beépülése a fágba viszonylag késői evolúciós esemény lehetett. A szekvencia adatok mellett a fágindukciós kísérletek sikertelensége azt mutatja, hogy ez a P2-szerű fág a T22 kromoszómába történt integrációját követően temperálódott. A különböző szero- és patotípusú CDT-V-hordozó törzsek esetében a profág-szekvenciák eltérnek egymástól, jelezve, hogy a P2-szerű fágok adaptálódtak a különböző baktérium gazdákhöz.

**Köszönetnyilvánítás:** A szekvencia analízisben nyújtott segítségért köszönetet mondunk Maróti Gergelynek és Horváth Balázsnak (BayGen Intézet, Szeged). Munkánk az OTKA (K81252) támogatásával valósult meg.

**ESCHERICHIA COLI REFERENCIA KOLLEKCIÓ (ECOR) LIZOGENITÁSA ÉS LITIKUS FÁGJAI**

Tóth István

Bevezetés: A bakteriofágok (fágok) a bioszféra legelterjedtebb replikonjai. A fágok a baktériumok genomjába integrálódva temperált fágként (profág) vagy lítikus fágként fordulnak elő. A fágok számos esetben vektorai a különböző virulencia faktorokat kódoló géneknek, s ezért kiemelkedő szerepet játszanak a pathogén baktériumok evolúciójában.

Cél: Az *Escherichia coli* fajt reprezentáló referencia kollekciónak (ECOR) lizogén státuszának vizsgálata az *E. coli* O157 "specifikus" profág gének monitorozásával. Lítikus fágok izolálása, a fágok baktérium gazda specificitásának meghatározása és morfológiai jellemzése.

Módszer: 12 Sakai O157:H7 fág (SP) marker génjének monitorozása multiplex PCR-rel. Fágindukciós kísérletek végzése. Lítikus fágok izolálása, propagálása, a fágok baktérium gazda spektrumának vizsgálata „spot” módszerrel. Elektron mikroszkópos vizsgálatok.

Eredmény: A 72 ECOR törzsből 66-ban fordult elő SP gén, a gének száma 1 és 5 között változott. 15 ECOR törzsből izoláltunk lítikus fágot. Eltérő filogenetikai csoportokból származó öt, a *C. rodentium* ICC 169 törzset is oldó fágot jellemeztünk. Morfológiájuk alapján 4 ECOR eredetű fág Myoviridae-nek bizonyult és egy fág besorolása további vizsgálatot igényel. A lítikus fágok baktérium gazda specificitása eltért, de mindegyik jól szaporodott egy *S. sonnei* törzsön is. Transzmissziós elektron mikroszkóppal demonstráltuk egy lítikus fágok a propagáló baktériumhoz való tapadását és penetrációját.

Következtetés: Az ECOR törzsek jelentős lizogenitását figyeltük meg. Az izolált lítikus fágok további jellemzése különösen indokoltnak tűnik.

Köszönetnyilvánítás: OTKA (K81252)