

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA
Szie ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK
(2014. jan. 27-30)

BAKTERIOLÓGIA, VIROLÓGIA, IMMUNOLÓGIA
(2014. január 28, Élettan tanterem, 8.30-tól és 13.00-tól)

2013. évi 40. füzet

ELŐSZÓ

Kedves Kollegánók és Kollegák!

Budapest, 2014. január

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és a SzIE Állatorvos-tudományi Doktori Iskolája 2014. január 27-30. között tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló, immár **40. „akadémiai beszámoló”** ülésorozatot. E jubileumról 27-n a két testület közös nyilvános ülése keretében (Élettan szekció előtt) megemlékezünk, s erre valamennyiüket ez úton is tisztelettel hívjuk.

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 kollegánók/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! Az előző évek gyakorlatának megfelelően, nem az előadások számára, hanem azok szakmai-tudományos értékére helyezzük a súlyt. Aki azonos témán belül jelentett be 2 vagy több előadást, kérjük, próbálja meg ezeket összevonni!

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

A beszámoló füzetek anyaga az MTA ATK ÁOTI honlapján (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 előrevívő 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 (Magyar Állatorvosok 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 titkáranak az összefoglaló füzetek előállításában, s szekció ülések szervezésében nyújtott nélkülözhetetlen munkáját..

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 ÁoTK Doktori Iskola

MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és SzIE-ÁOTK Doktori Iskola akadémiai beszámolóinak beosztása és szekció-bizottságai
(2014. január 27-30)

A szekció Megnevezése	A szekcióülés ideje	A szekcióülés helye	Társelnökök	Titkár	Bizottsági tagok
MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és ÁOTK Doktori Iskola közös ülése	I. 27 hétfő A 40. évi jubileum 8:30-9.00	Élettan tanterem	Dr. Nagy Béla Dr. Rusvai Miklós	Dr. Zsarnovszky Attila	A testületek tagjai, a szekciók elnökei, titkárai és a szekciók bizottsági tagjai
Élettan, Biokémia Kórélettan, Morfológia	9.00-től		Dr. Bartha Tibor Dr. Frenyó V. László Dr. Sótonyi Péter		Dr. Bárdos László, Dr. Halasy Katalin Dr. Jakab Csaba, Dr. Kutas Ferenc Dr. Vajdovich Péter
Élelmiszerbiztonság Állategészségügyi Igazgatás	I. 27 hétfő, 11.00 -tól	Továbbképzés tanterem	Dr. Laczay Péter Dr. Ózsvári László Dr. Pleva György	Dr. Erdősi Orsolya	Dr. Józwiak Ákos, Dr. Kovács Sándor Dr. Lombai György, Dr. Szita Géza Dr. Visnyei László
Állathigiénia Állattenyésztés, Genetika Takarmányozástan	I. 27. hétfő 13.00-tól	Élettan tanterem	Dr. Kovács Melinda Dr. Könyves László Dr. Szabó József	Dr. Bersényi András	Dr. Brydl Endre, Dr. Cseh Sándor Dr. Fekete Sándor, Dr. Gáspárdy András, Dr. Jakab László, Dr. Rafai Pál
Bakteriológia	I. 28. kedd, 8.30-tól	Élettan tanterem	Dr. Magyar Tibor Dr. Varga János	Dr. Jánosi Szilárd	Dr. Gyuranecz Miklós, Dr. Hajtós István Dr. Makrai László, Dr. Nagy Béla Dr. Tenk Miklós, Dr. Tóth István
Viroológia Immunológia	13.00-tól		Dr. Bakonyi Tamás Dr. Harrach Balázs Dr. Tuboly Tamás	Dr. Pálfi Vilmos	Dr. Benkő Mária, Dr. Dán Ádám, Dr. Hornyák Ákos, Dr. Péntes Zoltán Dr. Rusvai Miklós, Dr. Soós Tibor
Parazitológia Állattan	I. 29. szerda 8.30-tól	Élettan tanterem	Dr. Farkas Róbert Dr. Hornung Erzsébet Dr. Kassai Tibor	Dr. Baska Ferenc	Dr. Békési László, Dr. Csaba György Dr. Hornok Sándor, Dr. Majoros Gábor Dr. Molnár Kálmán, Dr. Varga István
Klinikumok Gyógyszertan Toxicológia	I. 30. csütörtök 8.30-tól	Belgyógyászat tanterem	Dr. Gálfi Péter Dr. Németh Tibor Dr. Szenci Ottó Dr. Vörös Károly	Dr. Bohák Zsófia Dr. Jerzsele Ákos Dr. Pápa Kinga	Dr. Bajcsy Árpád Csaba, Dr. Biksi Imre Dr. Sályi Gábor, Dr. Sterczér Ágnes Dr. Vajdovich Péter, Dr. Zöldág László

TARTALOMJEGYZÉK

Bakteriológia (8.30-tól)

1. A POPULÁCIÓ-BIOLÓGIAI VÁLTOZÁSOK ÉS A GÜMŐKÓR KÓRBONCTANI PREVALENCIÁJÁNAK ÖSSZEFÜGGÉSEI VADDISZNÓBAN
Csivincsik Ágnes, Nagy Gábor, Balog Tamás, Varga Gyula, Rónai Zsuzsanna, Jánosi Szilárd
2. HAZAI *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* IZOLÁTUMOK GENETIKAI DIVERZITÁSÁNAK ÉS TETRACIKLIN-REZISZTENCIÁJÁNAK FELMÉRÉSE
Kardos Gábor, Kecskeméti Sándor, Székely Éva, Fodor László
3. HAZAI *MANNHEIMIA HAEMOLYTICA* IZOLÁTUMOK GENETIKAI DEVERZITÁSÁNAK ÉS TERRACIKLIN-REZISZTENCIÁJÁNAK FELMÉRÉSE
Kardos Gábor, Kecskeméti Sándor, Székely Éva, Fodor László
4. HEVENY LEPTOSPIROSIS KÖLYÖKKUTYÁBAN; ESETISMERTETÉS
Kovács-Kozák Réka Erzsébet, Bogár István, Sproch Ágnes, Szeredi Levente
5. HAZAI *BRUCELLA SUIIS* BIOVAR 2 TÖRZSEK MLVA (MULTIPLE-LOCUS VARIABLE-NUMBER TANDEM REPEAT ANALYSIS) MÓDSZEREN ALAPULÓ FILOGENETIKAI ÉS EPIDEMIOLOGIAI VIZSGÁLATA
Kreizinger Zsuzsa, Jeffrey T. Foster, Rónai Zsuzsanna, Sulyok Kinga Mária, Wehmann Enikő, Jánosi Szilárd, Gyuranecz Miklós
6. *FRANCISELLA TULARENSIS* SSP. *HOLARCTICA* TÖRZSEK ÉS KÜLÖNBÖZŐ FOGÉKONYSÁGÚ GAZDAFAJAIK IMMUNRENDSZERE KÖZTI FEHÉRJESZINTŰ KÖLCSÖNHATÁSOK VIZSGÁLATA
Kreizinger Zsuzsa, Elena Bencurova, Mangesh R. Bhide, Gyuranecz Miklós
7. A *COXIELLA BURNETII* ÉS A CHLAMYDIALES RENDBE TARTOZÓ BAKTÉRIUMOK SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A HAZAI KÉRŐDZŐK VETÉLÉSES KÓRKÉPEIBEN
Kreizinger Zsuzsa, Szeredi Levente, Bacsady Árpád, Nemes Csaba, Sugár László, Varga Tamás, Sulyok Kinga Mária, Szigeti Alexandra, Ács Kornél, Tóbiás Enikő, Gyuranecz Miklós
8. HÁZINYÚLÁLLOMÁNYOK *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* FERTŐZÖTTségÉVEL KAPCSOLATOS VIZSGÁLATOK
Német Zoltán László, Dán Ádám, Bányai Krisztián, Szenci Ottó, Biksi Imre
9. HAZAI *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* TÖRZSEK SZEROTÍPUSAINAK VIZSGÁLATA
Sárközi Rita, Makrai László, Horváth Pálma, Fodor László

10. HAZAI ÉS ETIÓP *COXIELLA BURNETII* TÖRZSEK GENOTIPIZÁLÁSA, A MÓDSZER GYAKORLATI ALKALMAZÁSA JÁRVÁNYHELYZETBEN
Sulyok Kinga Mária, Kreizinger Zsuzsa, Dán Ádám, Hornok Sándor, Simor Zoltán, Heide M. Hornstra, Talima R. Pearson, Paul S. Keim, Balla Eszter, Szigeti Alexandra, Getachew Abichu Duressa, Bajnóczy Pál, Gyuranecz Miklós
11. HAZAI *MYCOPLASMA BOVIS* TÖRZSEK GENETIKAI JELLEMZÉSE
Sulyok Kinga Mária, Fekete Lilla, Kreizinger Zsuzsa, Jánosi Szilárd, Schweitzer Nóra, Turcsányi Ibolya, Makrai László, Gyuranecz Miklós
12. MAGYARORSZÁGI *MYCOPLASMA BOVIS* TÖRZSEK ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉGÉNEK VIZSGÁLATA
Sulyok Kinga Mária, Fekete Lilla, Hrivnák Veronika, Jánosi Szilárd, Schweitzer Nóra, Turcsányi Ibolya, Makrai László, Gyuranecz Miklós
13. ETIÓP KULLANCSOK VIZSGÁLATA *FRANCISELLA TULARENSIS* ÉS *FRANCISELLA-SZERŰ* ENDOSZIMBIONTÁK ELŐFORDULÁSÁRA
Szigeti Alexandra, Kreizinger Zsuzsa, Hornok Sándor, Getachew Abichu Duressa, Gyuranecz Miklós
14. AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM SINUS INFRAORBITALIS RÁFERTŐZŐ MODELL KIALAKÍTÁSA, ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA ÉS ALKALMAZÁSA VAKCINA HATÉKONYSÁGI VIZSGÁLATOKBAN
Tenk Miklós, Márton Zsuzsanna, Pálmai Nimród, Szórádi Mária Alejandra, Imre Ariel, Makrai László, Fodor László, Jérôme Thevenon
15. CORYNEBACTERINAE ALRENDBE TARTOZÓ TŐGYGYULLADÁS-KÓROKOZÓ BAKTÉRIUMOK DIAGNOSZTIKAI VIZSGÁLATAI
Valkó Anna, Rónai Zsuzsanna, Jánosi Szilárd
16. SZARVASMARHA EREDETŰ ATÍPUSOS *E. COLI* O157 TÖRZSEK VIRULENCIAGÉNJEINEK SZEKVENCIAANALÍZISE
Sváb Domonkos, Horváth Balázs, Maróti Gergely, Tóth István
17. KELTETŐI NAPOS CSIBÉK ANTIBIOTIKUM REZISZTENCIA ÉS VIRULENCIA MINTÁZATÁNAK MICROARRAY ALAPÚ JELLEMZÉSE
Szmolka Ama, Nógrády Noémi, Pászti Judit, Imre Ariel, Nagy Béla

Virologia (13.00-tól)

18. ÚJONNAN AZONOSÍTOTT SERTÉS PARVOVÍRUSOK VIZSGÁLATA EGY SERTÉSÁLLOMÁNYBAN
Cságola Attila, Zádori Zoltán, Tombácz Kata, Tuboly Tamás
19. ASTROVÍRUS FERTŐZÉS IGAZOLÁSA MENHELYRE KERÜLT KUTYÁKBAN
Kovács Eszter, Lengyel György, Marton Szilvia, Farkas Szilvia, Tuboly Tamás, Bányai Krisztián
20. EGY NÉMETORSZÁGI BOZÓTVIPERÁBÓL (*ATHERIS SQUAMIGERA*) IZOLÁLT ORTHOREOVÍRUS TÖRZS TELJES GENOMSZEKVENCIÁJÁNAK MEGHATÁROZÁSA ÉS ELEMZÉSE, VALAMINT ORTHOREOVÍRUSOK ELŐFORDULÁSÁNAK ÉS GENETIKAI DIVERZITÁSÁNAK VIZSGÁLATA EGZOTIKUS HÜLLŐFAJOKBAN MAGYARORSZÁGON
Ihász Katalin, Farkas L. Szilvia, Lengyel György, Gál János, Rachel E. Marschang, Bányai Krisztián
21. LOVAK ROTAVÍRUS FERTŐZÉSEINEK MOLEKULÁRIS EPIDEMIOLÓGIAI SAJÁTSÁGAI
Papp Hajnalka, Bányai Krisztián
22. GYROVÍRUSOK KIMUTATÁSA VADÁSZGÖRÉNY SZÉKLETMINTÁKBAN
Fehér Enikő, Kovács Eszter, Lengyel György, Pazár Péter, Bányai Krisztián
23. KÖZÉP-EURÓPÁBÓL SZÁRMAZÓ SERTÉS CIRCOVÍRUSOK FELMÉRÉSE
Lőrincz Márta, Tombácz Kata, Cságola Attila, Tuboly Tamás
24. CIRKOVÍRUS REP SEKVENCIÁK KIMUTATÁSA ŐSIBB GERINCSEKBE
Tarján Zoltán László, Péntes J. Judit, Tóth P. Róza, Benkő Mária
25. ADENOVÍRUS FIBER FEHÉRJÉK HÁROMDIMENZIÓS SZERKEZETÉNEK VIZSGÁLATA RÖNTGENDIFFRAKCIÓS MÓDSZERREL
Ballmann Mónika, Abhimanyu Kumar Singh, Thanh Nguyen, Vidovszky Márton, Harrach Balázs, Mark J. van Raaij
26. GENOMIC AND BIOINFORMATICS ANALYSIS OF SIMIAN ADENOVIRUS 19 CONFIRMS THE NEED TO ESTABLISH A NEW ADENOVIRUS SPECIES
Podgorski, Iva, Harrach Balázs, Benkő Mária
27. AZ EQUID HERPESVIRUS 5 KÓRTANI SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA LOVAK MULTINODULÁRIS TÜDŐFIBRÓZISÁBAN, VALAMINT KIMUTATÁSA, EGÉSZSÉGES ÉS LÉGZŐSZERVI TÜNETEKET MUTATÓ LOVAKBÓL
Moravszki Letícia, Bakonyi Tamás, Sárdi Sára, Bohák Zsófia, Mikó Péter, Balogh Nándor, Nagy Krisztina, Kutasi Orsolya
28. KUTYÁK NYUGAT-NÍLUSI VÍRUSFERTŐZÉSÉNEK SZEROLÓGIAI FELMÉRŐ VIZSGÁLATAI MAGYARORSZÁGON
Somhegyiné Barna Mónika, Zdenek Hubálek, Kubik Noémi, Juhász Tamás Attila, Ivo Rudolf, Helga Lussy, Szomor Katalin, Norbert Nowotny, Bakonyi Tamás

29. EGY TERMÉSZETES KULLANCSENCEPHALITIS-GÓC 4 ÉVES VIZSGÁLATA, 2010-2013
Zöldi Viktor, Papp Tibor, Rigó Krisztina, Farkas János, Egyed László
30. A VESZETTSÉG ISMÉTELT HAZAI ELŐFORDULÁSA ÉS AZ EDDIG KAPOTT
EREDMÉNYEKBŐL LEVONHATÓ KÖVETKEZTETÉSEK
Juhász Tamás, Rigó Dóra, Malik Péter, Kecskeméti Sándor, Hornyák Ákos
31. ADATOK A VESZETTSÉGI POSZTINFEKCIÓS ÁLLATOLTÁSOKRA VONATKOZÓ
JOGSZABÁLY KIEGÉSZÍTÉSÉHEZ
Hornyák Ákos
32. HAZAI SZARVASMARHATELEPEK BVDV-FERTŐZÖTTségÉNEK LEGFŐBB OKÁT
KÉPEZŐ PI-EGYEDEK AZONOSÍTÁSA IDEXX BVDV ANTIGEN „POC FARMTESZT”
SEGÍTSÉGÉVEL
Szabára Ágnes, Bárdos Krisztina, Hajtós István, Ózsvári László
33. A BVD ELLENI VÉDEKEZÉS JOGSZABÁLYI ALAPJAI
Szabára Ágnes

¹Somogy MKH Élelmiszerlánc-biztonsági és Állategészségügyi Igazgatóság

²Kaposvári Egyetem, Környezettudományi és Természetvédelmi Intézet, Vadbiológiai és Etológiai Tanszék

²SEFAG Erdészeti és Faipari Zrt., Vadászati Osztály

³NÉBIH Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság

A POPULÁCIÓ-BIOLÓGIAI VÁLTOZÁSOK ÉS A GÜMŐKÓR KÓRBONCTANI PREVALENCIÁJÁNAK ÖSSZEFÜGGÉSEI VADDISZNÓBAN

Csivincsik Ágnes¹, Nagy Gábor², Balog Tamás³, Varga Gyula³, Rónai Zsuzsanna⁴, Jánosi Szilárd⁴

A szarvasmarha-állományok gümőkór mentességének legfőbb veszélyeztető tényezője a vadállományban fennálló fertőzöttség, ezért a világ fejlett szarvasmarha-tartó országai törekszenek a vadállomány okozta kockázat csökkentésére. A rezervoár-fajok állományainak gyérítése logikus megoldásnak tűnhet, mivel a kisebb sűrűségű populációban csökkenhet a fertőzést közvetítő kontaktusok száma. Vadon élő állatok esetében azonban számolni kell a gyérítési tevékenység okozta nem kívánatos migrációval, ami a kiindulási állapotnál kedvezőtlenebb járványhelyzetet teremthet.

A zselici vaddisznó-állományban 2008. óta folyik átfogó kórbonctani surveillance-vizsgálat. A szabad területi állományban tapasztalható kórbonctani prevalencia – az állomány folyamatos növekedése ellenére – változatlan, a felnőtt és a fiatal korosztályban statisztikailag megegyező. A kerti állományban – az állandó, magas populációsűrűség (1 egyed/ha) ellenére – ingadozó a gümőkórra gyanút keltő kórbonctani elváltozások előfordulási aránya.

A 2012/2013-as vadászati évben a szabad területi állományban fokozott vadászatot hajtottak végre a vizsgált területen (9.000 ha), míg a vele határos területen (7.600 ha) egyáltalán nem folyt vadászat. A kerti állományban pedig nagyobb arányú állomány-átcsoportosítást végeztek az egyes kertrészek között.

A szabad területi állományban 2013. decemberig kilőtt egyedekben a korösszetétel megváltozott: a kilőtt állomány 64%-a felnőtt korosztályú volt (a korábbi évek 40-50 %-os arányához képest). A gümőkórra gyanút keltő elváltozások előfordulási aránya a teljes populációban a korábbi évekéhez hasonló maradt, ugyanakkor az egyes korosztályok érintettsége megváltozott: a felnőtt korosztályban jelentősen nőtt, a fiatalok körében minimálisra csökkent. Kórbonctani elváltozásokat kizárólag a feji – elsősorban az áll alatti – nyirokcsomókban tapasztaltunk. Adataink a fiatalok – azon belül is elsősorban a kórbonctanilag pozitív egyedek – közötti nagyarányú elhullásra engednek következtetni.

A zavart kerti állományban a kórbonctani prevalencia az előző évekhez képest jelentősen megnövekedett, a növekedés valamennyi korosztályt egyenlő mértékben érintette. A vizsgált egyedek közül egy 1,5 éves koca generalizált gümőkór kórbonctani tüneteit mutatta. Adataink alapján a kerti állományokban a gümőkóros egyedek mortalitása nem jelentős.

Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a zavarás járványtani hatása a vaddisznó esetében nagyobb jelentőséggel bír, mint a populációsűrűség. A két ökológiai tényező kölcsönhatása további vizsgálatokat igényel.

NÉBIH, Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság Debreceni telephelye¹
Debreceni Egyetem Orvosi Mikrobiológiai Intézet²
Szent István Egyetem, ÁOTK, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék³

HAZAI *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* IZOLÁTUMOK GENETIKAI DIVERZITÁSÁNAK ÉS TETRACIKLIN-REZISZTENCIÁJÁNAK FELMÉRÉSE

Kardos Gábor^{1,2}, Kecskeméti Sándor¹, Székely Éva¹, Fodor László³

Az *Actinobacillus pleuropneumoniae* törzsek sertések nagy veszteségekkel járó tüdő- és mellhártyagyulladásának kórokozói, az 1-es biotípusú törzsek tömeges, a 2-es biotípusú törzsek sporadikus megbetegedést okoznak. A munka célja a hazai izolátumok genetikai diverzitásának felmérése volt, továbbá vizsgáltuk emellett a tetraciklin rezisztencia gének és a rezisztencia integronok előfordulását.

Összesen 72 hazai izolátumot hasonlítottunk össze, emellett nyolc referenciatörzset is vizsgáltunk. Mindegyik izolátum és törzs fajazonosságát fajspecifikus PCR-rel igazoltuk. A genetikai diverzitás felmérését két pulzáló mezejű gélelektroforézissel (PFGE) végeztük, a makrorestrikcióhoz az egyik esetben ApaI a másikban SpeI enzimet alkalmaztunk. A *tetB*, *tetH*, *tetL*, *tetO* gének és az I, II és III osztályú integronokat specifikus PCR-rel kerestük. A megtalált gének azonosságát szekvenálással igazoltuk.

A PFGE az összesen 44 1-es biotípusba tartozó izolátumot számos különböző csoportba sorolta, három olyan csoportot találtunk, amely háromnál több izolátumot tartalmazott. Az A csoportba 19, ezek az ország különböző pontjairól kerültek elő, a B csoportba 7 izolátum tartozott, ezek a Kiskunság északi részéről származtak, a C csoportot további 7 izolátum alkotta, amelyeket békési és zalai mintákban találtunk. Az 1-es biotípusú izolátumok közül két, egy állományból származó rokon izolátumban találtunk *tetB* gént, illetve a C csoport egy tagja hordozott *tetH* gént. Integronokat nem találtunk.

Ezzel szemben a 28 2-es biotípusú izolátum két csoportba volt besorolható, az egyikbe három nagykanizsai, a másikba 25, az ország számos különböző pontjáról (Győr-Moson-Sopron, Komárom-Esztergom, Tolna, Bács-Kiskun, Jász-Nagykun-Szolnok megyékből) gyűjtöttünk. Ez a csoport gyakran hordozott tetraciklin rezisztencia géneket is, 9 *tetL* és 1 *tetB* gént találtunk. Integronokat a 2-es szerotípusú izolátumok sem hordoztak.

A 2-es biotípusba gyakran tetraciklin rezisztens járványtörzs terjedésének további nyomon követése lenne szükséges annak eldöntésére, hogy a tetraciklinek alkalmazása hozzájárul-e a törzs terjedéséhez.

A munkát az OTKA84220 pályázat támogatta. A kutatás a TÁMOP-4.2.1.B-11/2/KMR-2011-0003 és a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

NÉBIH, Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság Debreceni telephelye¹
Debreceni Egyetem Orvosi Mikrobiológiai Intézet²
Szent István Egyetem, ÁOTK, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék³

HAZAI *MANNHEIMIA HAEMOLYTICA* IZOLÁTUMOK GENETIKAI DEVERZITÁSIÁNAK ÉS TERRACIKLIN-REZISZTENCIÁJÁNAK FELMÉRÉSE

Kardos Gábor^{1,2}, Kecskeméti Sándor¹, Székely Éva¹, Fodor László³

A *Mannheimia haemolytica* (korábbi néven *Pasteurella haemolytica*) törzsek kérődzőkben jelentős veszteségekkel járó tüdőgyulladást, septikaemiát és tőgygyulladást okoznak, a korábban *P. haemolytica*-nak tartott, ma *M. glycosida* fajba sorolt törzsek szintén tüdőgyulladást, míg a *Bibersteinia trehalosi* törzsek növendék bárányokban heveny szisztémás pasteurellosist okoznak. Összesen 99 *M. haemolytica*, *M. glycosida* és *B. trehalosi* törzset vizsgáltunk meg, amelyből 63 1991 és 2008 között borjú vagy juh orrváladékából vagy tüdőmintájából gyűjtött hazai izolátum, a többi pedig referencia törzs volt. A referencia törzsek között 1 *M. glycosida* és 5 *B. trehalosi* volt, a hazai izolátumok közül 62 *M. haemolytica* és 1 *B. trehalosi* volt a biokémiai azonosítás eredményei alapján. Az izolátumokban a tetraciklin rezisztenciáért felelős *tetB*, *tetG*, *tetH*, *tetL* és *tetM* géneket, valamint, I, II és III osztályú rezisztencia integronokra jellemző géneket PCR-rel kerestük, a genetikai diverzitás felmérése pulzáló mezejű gélelektroforézissel (PFGE), Sall makrorestrikciós módszerrel történt.

A *M. haemolytica* szerotípusok eloszlása változatos volt, a leggyakoribb az A1, A2, A6 és A8 volt. A PFGE további szerotípusokon belüli különbségeket derített fel, mind a négy relatíve gyakori szerotípuson belül több különböző makrorestrikciós profilt találtunk. Nem volt összefüggés a genetikai hasonlóság és a mintatípusok vagy a minta gazdafaj szerinti származása között, mind a juh, mind a borjú eredetű törzsek igen változatosak voltak.

A vizsgált tetraciklin rezisztencia gének ritkán fordultak elő, összesen 2 *tetH*, 3 *tetL* és 2 *tetM* hordozó izolátumot találtunk, *tetB* és *tetG* gén nem fordult elő. Rezisztencia integronokat egyik izolátum sem hordozott.

A nagy genetikai diverzitás arra utal, hogy hazánkban a vizsgált periódusban széles elterjedésű járványtörzs nem volt jelen. Érdeemes volna a vizsgálatot friss izolátumokkal megismételni a jelen helyzet megismerése érdekében.

A munkát az OTKA84220 pályázat támogatta. A kutatás a TÁMOP-4.2.1.B-11/2/KMR-2011-0003 és a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

HEVENY LEPTOSPIROSIS KÖLYÖKKUTYÁBAN; ESETISMERTETÉS

Kovács-Kozák Réka Erzsébet¹, Bogár István¹, Sproch Ágnes², Szeredi Levente²

Hazánkban kutya leptospirózisról utoljára 1971-ben *canicola* fertőzés nyomán megbetegedett két emberi esettel kapcsolatban számoltak be. Az érintett 8 hetes nőtény labrador kutya három napos betegséget követően epileptiform görcsök kíséretében hullott el 2012 októberében. Az első napon csak emésztőszervi panaszokban szenvedő állat (nyomásra fájdalmas has, hányás, hasmenés, étvágytalanság) a következő naptól már sárgaságot, gennyes orrfolyást, a hasi fájdalom fokozódását, anuriát valamint izomremegést és izomgörcsöket is mutatott. A testhőmérséklet mindvégig normális maradt. A vér kémiai vizsgálatával a haematocrit csökkenését, és a fehérvérsejtszám valamint az alkalikus foszfatáz aktivitás emelkedését mutatták ki. Az antibiotikum adása valamint a kiegészítő terápia ellenére a kutya állapota folyamatosan romlott, és a 3. napon elhullott. A kórbonctani és kórszövetteni vizsgálattal a hasmenés jelei és a kifejezett sárgaság mellett számos szervben friss keletű vérzéseket, heveny máj- és veseelfajulást, lympho-histiocytás interstitialis szívizom- és tüdőgyulladást, lympho-histiocytás agyburok- és agyvelőgyulladást, az agytörzsben pedig, számos gócban, friss keletű vérzéssel elhalást lehetett megfigyelni. Az ezüstimpregnációs eljárással csak a vesében találtak *Leptospira* alakot, míg az immunhisztokémiai vizsgálattal, a húgyhólyag kivételével valamennyi vizsgálat szervben kimutatták a *Leptospirák*at. A húsevők parvovírusa, a szopornyicavírus és az 1-es szerotípusú kutya adenovírus kimutatását célzó immunhisztokémiai vizsgálatok negatív eredményre vezettek.

A klinikai tünetek és a laboratóriumi vizsgálatok eredményei alapján heveny leptospirosist állapítottak meg. A fertőzési forrást nem lehetett beazonosítani. Más állat vagy ember megbetegedését az esettel kapcsolatban nem figyelték meg.

HAZAI *BRUCELLA SUIIS* BIOVAR 2 TÖRZSEK MLVA (MULTIPLE-LOCUS VARIABLE-NUMBER TANDEM REPEAT ANALYSIS) MÓDSZEREN ALAPULÓ FILOGENETIKAI ÉS EPIDEMIOLOGIAI VIZSGÁLATA

Kreizinger Zsuzsa¹, Jeffrey T. Foster², Rónai Zsuzsanna³, Sulyok Kinga Mária¹, Wehmann Enikő¹, Jánosi Szilárd³, Gyuranecz Miklós¹

Európában a *Brucella suis* biovar 2 endémiás, fenntartó gazdafajai a vaddisznó (*Sus scrofa*) és a mezei nyúl (*Lepus europeus*). A vadállatok a szabadon tartott sertések számára potenciális fertőzési forrást jelentenek, valamint a baktériumot viszonylag nagyobb távolságokra is képesek elhordani.

Célunk a sertés brucellózis hazai helyzetének feltérképezése volt a Magyarországon izolált *B. suis* bv. 2 törzsek MLVA (multiple-locus variable-number tandem repeat analysis) szekvencia típusainak meghatározásával és összevetésével, valamint a hazai és Európában eddig leírt törzsek szekvencia típusainak filogenetikai elemzésével.

A Magyarországon izolált 68 *B. suis* bv. 2 törzs szekvencia típusát az ún. MLVA-16 módszerrel határoztuk meg. Az analízis során a polimeráz láncreakciókkal kapott termékek méretét gélelektroforézissel, illetve fragment analízis segítségével becsültük meg, majd a méreteik alapján a lókuszokhoz hozzárendeltük a bennük lévő ismétlődő szakaszok számát. A minták 16 lókuszának ismétlődő szakasz száma alapján kapott profilját, azaz szekvencia típusát (az európai törzsekkel együtt összesen 167 típus) Neighbor-Joining és Minimum Spanning Tree módszerekkel elemeztük.

A *B. suis* bv. 2 törzsek hazai populációján belül viszonylag nagy genetikai diverzitást tapasztaltunk, a szekvencia típusok között azonban csoportokat sem származási hely, sem pedig kronológiai szempontok alapján nem lehetett megkülönböztetni. A mezei nyulakból izolált törzsek szekvencia típusai ennek ellenére jól elkülönültek a vaddisznó mintákból származó törzsek típusaitól. Az összehasonlító, filogenetikai elemzések alapján az európai törzsek többnyire származási országok szerinti csoportokba sorolhatóak, illetve a házi sertésekből izolált törzsek minden esetben szoros genetikai kapcsolatot mutattak a vadállatokból izolált törzsekkel.

A Magyarországi *B. suis* bv. 2 törzsek diverzitásának hátterében a megnövekedett vaddisznó-állomány, az állatok szabad vándorlása, illetve, azok emberek által történt áttelepítése állhat. További vizsgálatok szükségesek annak megerősítésére, hogy a mezei nyulakból, illetve vaddisznókból kimutatható baktérium törzsek valóban gazdafajhoz kötötten vannak-e jelen. A házi sertésekből izolált törzsek közeli rokonsági foka a vadállatokból izolált törzsekhez alátámasztja azt a megállapítást, miszerint a vadállatok jelentős szerepet töltenek be, mint fertőzési források.

A vizsgálatok anyagi forrását a Lendület pályázat (LP2012-22) biztosította.

FRANCISELLA TULARENSIS SSP. HOLARCTICA TÖRZSEK ÉS KÜLÖNBÖZŐ FOGÉKONYSÁGÚ GAZDAFAJAIK IMMUNRENDSZERE KÖZTI FEHÉRJESZINTŰ KÖLCSÖNHATÁSOK VIZSGÁLATA

Kreizinger Zsuzsa¹, Elena Bencurova², Mangesh R. Bhide², Gyuranecz Miklós¹

A baktériumok különböző utakon képesek elkerülni a gazdafajok immunrendszerét, ami elősegíti a gazdafajon belüli túlélésüket és szaporodásukat. A komplement rendszer az elsődleges immunválasz része, három úton aktiválódhat (klasszikus, alternatív és lektin-függő út), és a komplement kaskád lefutásához, a baktérium sejtek líziséhez, vagy opszonizációjához és fagocitózisához vezet, illetve gyulladásszerű mediátorokat szabadít fel. Emberek esetében leírták, hogy a *F. tularensis* képes a komplement rendszert szabályozó H-faktorhoz kapcsolódni, és ennek segítségével megakadályozni a sejtlyízishez szükséges membrán-károsító komplex létrejöttét, és elősegíteni a baktérium sejt opszonizációját.

A vizsgálat célja a *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzsek és gazdafajaik komplement rendszere közti kölcsönhatás megfigyelése, a kölcsönhatásban részt vevő fehérjék azonosítása, illetve annak megállapítása volt, hogy van-e összefüggés a gazdafajok fogékonysága és az észlelt kölcsönhatások között.

A megfigyelések során gyengített virulenciájú, élő vakcina (LVS) és vad, virulens *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzsek *in vitro* érzékenységét vizsgáltuk egér (nagyon fogékony), mezei nyúl (mérsékelten fogékony, rezervoár) és szarvasmarha (ellenálló, de szerológiai áthangolódhat) komplement rendszerével szemben. A komplement érzékenységi próbák során áramlási citometriával és fluoreszcens mikroszkóp segítségével határoztuk meg az élő és elhalt sejtek számának arányát. A baktérium felületi fehérjéi és a gazdafaj adott komplement rendszert szabályozó fehérjéje (H-faktor) közti kapcsolatot Western blot módszerrel vizsgáltuk.

A komplement érzékenységi próbák során a szarvasmarha és mezei nyúl komplement rendszere az LVS törzshöz tartozó baktérium sejtek túlnyomó részét elölte, míg a vad törzssel kölcsönhatásba lépett, és a baktérium sejtek életben maradtak. Az egér komplement rendszere kölcsönhatásba lépett mind a gyengített, mind a vad virulens törzsekkel. A Western blot próbák során a vizsgált állatfajok komplement rendszerét szabályozó H-faktor és a baktérium törzsek felületi fehérjéi között specifikus kölcsönhatás nem volt észlelhető.

A komplement érzékenységi próbák bizonyították, hogy a *F. tularensis* és gazdafajainak komplement rendszere között kölcsönhatás léphet fel. A vad törzshöz tartozó baktériumok képesek voltak elkerülni a szarvasmarha komplement rendszerének sejtlyízáló hatását, ami magyarázhatja, miért hangolódhat át immunológiailag ez, a tularémiával szemben egyébként ellenálló állatfaj. A vizsgált állatfajok komplement rendszerének elkerülésében, az emberekkel ellentétben a baktérium és a H-faktor kapcsolatának nem bizonyított szerepe.

A vizsgálatok anyagi forrását a Lendület pályázat (LP2012-22) és a SAIA szlovák pályázat (66801) biztosították.

A *COXIELLA BURNETII* ÉS A CHLAMYDIALES RENDBE TARTOZÓ BAKTÉRIUMOK SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A HAZAI KÉRŐDZŐK VETÉLÉSES KÓRKÉPEIBEN

Kreizinger Zsuzsa¹, Szeredi Levente², Bacsady Árpád², Nemes Csaba², Sugár László³, Varga Tamás⁴, Sulyok Kinga Mária¹, Szigeti Alexandra¹, Ács Kornél³, Tóbiás Enikő¹, Gyuranecz Miklós¹

A *Coxiella burnetii* és a Chlamydiales rend tagjai obligát intracelluláris, Gram-negatív baktériumok, széles gazdaspektrummal rendelkeznek. Kérődzőkben elsősorban szaporodásbiológiai rendellenességeket, vetéléseket idéznek elő. A Chlamydiales rendbe tartozó családok közül a Chlamydiaceae (*Chlamydophila abortus*), Parachlamydiaceae (*Parachlamydia acanthamoebae*), és Waddliaceae (*Waddlia chondrophila*) családba tartozó baktériumokat mutattak ki kérődzők vetélt magzatburkaiból.

Vizsgálataink során a *C. burnetii* és Chlamydiales rendbe tartozó baktériumok hazai előfordulását mértük fel házi kérődzők vetélt magzatburkaiból, valamint vadászatokon elejtett, vadon élő kérődzők magzatburkaiból származó minták alapján.

Az ország különböző területeiről, összesen 111 házi kérődző vetélése esetéből (szarvasmarha $n=85$, juh $n=21$, kecske $n=5$), valamint 91 vadon élő kérődzőből (gím $n=36$, dák $n=22$, őz $n=33$) származó magzatburok méhpogácsa mintát vizsgáltunk *C. burnetii* és Chlamydiales fajok jelenlétére real-time polimeráz láncreakcióval (PCR), valamint kórszöveti és immunhisztokémiai módszerekkel. A Chlamydiales rendbe tartozó baktériumok további azonosítását a PCR termékek szekvenálásával végeztük el.

Kórszöveti vizsgálatokkal 31 házi kérődzőben mutattunk ki placentitist. Polimeráz-láncreakció során 50 állatban detektáltunk *C. burnetii* ($n=33$) vagy Chlamydiales ($n=32$) fertőzöttséget, ezek közül 15 esetben kettős fertőzöttséget tapasztaltunk. Immunhisztokémiával is igazolódott a *C. burnetii* jelenléte 3 juhból származó mintában, valamint *C. abortus* esetén 15 juh és egy kecske mintában. Vadon élő kérődzőkben *C. burnetii* fertőzöttséget két gímszarvasból származó mintában találtunk, kórszöveti vizsgálat során csak enyhe placentitis volt észlelhető és immunhisztokémiai módszerrel nem tudtuk kimutatni a kórokozót. A Chlamydiales rend egyéb családjaihoz tartozó baktériumokat szarvasmarhákban és vadon élő kérődzőkben sikerült kimutatni PCR segítségével, de csak a diagnosztikai határértéket meghaladó Ct értékek mellett.

Jelen eredmények megerősítették a korábbi szerológiai felméréseink eredményeit, ami szerint a *C. burnetii* fontos oktatási tényezője lehet a hazai kérődző vetéléseknek. A juhak vetélése kórképeiben talált magas *C. burnetii* és *C. abortus* előfordulási arány és magas csíraszám közegészségügyi szempontból is fokozott elővigyázatosságra hívja fel a figyelmet. A nyugat-európai tapasztalatokkal ellentétben az egyéb Chlamydiales rendbe tartozó baktériumokat nem tudtuk diagnosztikus titerben kimutatni a vetélt magzatburkókból.

A vizsgálatok anyagi forrását a Lendület pályázat (LP2012-22) biztosította.

HÁZINYŰLÁLLOMÁNYOK *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* FERTŐZÖTTSÉGÉVEL KAPCSOLATOS VIZSGÁLATOK

Német Zoltán László¹, Dán Ádám², Bányai Krisztián³, Szenci Ottó¹, Biksi Imre¹

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. 2002 után a multirezisztens, és magas virulenciájú törzsek széles körű elterjedésével a betegség súlyos gazdasági veszteségek forrásává 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. Magyarországon a klinikai-kórbonctani-járványtani kép alapján nagyon valószínű, hogy nem csak alacsony virulenciájú törzsek fordulnak elő. A magas virulenciájú törzsek kimutatása multiplex PCR módszerrel lehetséges. A hazai állományokból kimutatott törzsek nem sorolhatóak be egyértelműen, az elkülönítéshez használt három nukleotid-szekvencia közül csak az egyik jelenléte igazolható. A magas virulenciájú törzsek ellen hatékony hosszú távú védekezési mód nincs, a fertőzés felszámolása csak teljes állománycserével érhető el. Ezen törzsek teljes genetikai állománya nem ismert, a korábbi kutatások előre meghatározott gének meglétének vagy hiányának megállapítását célozták. A házi nyúlban előforduló törzsek teljes genomjának meghatározása, valamint a genetikai állományok összehasonlítása új utakat nyithat a hatékonyabb gyógykezelés, diagnosztika és végső soron a betegség teljes felszámolása felé.

Cél: magas virulenciájú (HV) típustörzs, valamint hazai nyúltelepekről izolált *Staphylococcus aureus* törzsek teljes genomjának feltérképezése.

Módszer: Teljes genom leolvasás IonTorrent rendszerrel, genom-összeállítás DNASTar LaserGene programcsomag segítségével.

Eredmény: Magas virulenciájú típustörzs, valamint hazai állományból származó törzs genomjának leolvasása megtörtént. Interneten elérhető génbankból származó *Staphylococcus aureus* genomokat referenciaként használva kiderült, hogy a házi nyulból származó törzsek jelentős méretű, több tízezer bázispár hosszúságú inzerciókban és deléciókban eltérnek a már ismert genomoktól. Ennek következtében a vizsgált törzsek genomjának feltérképezése referencia genomra épülő módszerrel nem lehetséges, *de novo* genom felépítés szükséges. A *de novo* genom összeállításához a jelenleg kapott adatok nem alkalmasak, bár a későbbiekben az eredmények pontosításához hasznosak lehetnek. A munka folytatásához más típusú (nagyobb read hosszúságú) leolvasást lehetővé tevő készlettel végzett vizsgálat lesz szükséges.

Következtetés: az eddig elért eredmények alapján a házi nyúlban klinikai problémát okozó törzsek genetikai állománya jelentősen eltér az elérhető *Staphylococcus aureus* genomoktól, ezért ezek nem használhatók referenciaként a genom meghatározás során. A *de novo* genom összeállításához további vizsgálatok szükségesek.

A kutatás 2013. évben NKB támogatásban részesült.

HAZAI *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* TÖRZSEK SZEROTÍPUSAINAK VIZSGÁLATA

Sárközi Rita¹, Makrai László¹, Horváth Pálma², Fodor László¹

Az *Actinobacillus pleuropneumoniae* egy Gram-negatív, fakultatív anaerob, igényes baktérium, amely kizárólag a sertést betegíti meg. A baktérium világszerte, így hazánkban is előfordul, és vérzéses-elhalásos tüdőgyulladással és fibrines mellhártyagyulladással járó megbetegedést okoz sertésekben. Fakultatív patogén kórokozóról lévén szó a hajlamosító tényezőknek nagy szerepe van a betegség kialakulásában.

A vizsgálataink célja az volt, hogy adatokhoz jussunk a hazai *A. pleuropneumoniae* törzsek szerotípusának gyakoriságáról és összehasonlítsuk az indirekt hemagglutinációs próbával, valamint a toxingének kimutatására épülő PCR próbával nyert szerotipizálás eredményeit.

Munkánk során harminc *A. pleuropneumoniae* törzset vizsgáltunk meg, amelyeket vágóhídról származó, kórtani elváltozásokat mutató sertéstüdőből izoláltunk klasszikus bakteriológiai módszerekkel. Az izolátumok tenyésztési és biokémiai tulajdonságai alapján a törzseket a NAD-dependens, 1-es biotípusba soroltuk. A vizsgálatba további hatvan, a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszéki törzsgyűjteményből származó 1-es biotípusba tartozó *A. pleuropneumoniae* törzset is bevontunk. Az izolátumok szerotípusát passzív hemagglutinációval, a felületi antigénjeik alapján határoztuk meg. 46 törzs a 2-es szerotípusba, 6 törzs a 8-as, 12 törzs a 9-es, valamint 21 törzs a 12-es szerotípusba tartozott. Öt törzset nem sikerült egyik szerotípusba sem besorolni. A többlépcsős polimeráz láncreakció (PCR) a toxinokat kódoló gének kimutatásán alapszik, mivel pedig az egyes szerotípusok jellemző toxinokat termelnek, ennek alapján a baktériumok szerotipizálhatók. Hús, általunk izolált *A. pleuropneumoniae* törzs szerotipizálása során 9 izolátum 2-es és 8-as szerotípus is lehet, 3-3 törzs 1-es és 5a/5b szerotípus is lehet. Egy minta 12-es szerotípusnak bizonyult, 4 törzset pedig nem tudtunk besorolni egyik szerotípusba sem.

A molekuláris biológiai módszerrel, PCR-rel történő szerotipizálás hazánkban még nem került leírásra, így munkánk alapját képezheti egy alaposabb, nagyobb mintaszámot feldolgozó, hiánypótló vizsgálatnak. A felhasznált mintaszám alapján nem mondhatjuk ki, hogy a PCR módszer érzékenyebb, és biztosabb eredményt nyújt, viszont biztató az az eredmény, amit a passzív hemagglutinációval nem szerotipizálható törzsek esetében kaptunk. További vizsgálatot igényel a két módszer eltérő eredményeit okozó háttér feltérképezése.

Köszönet-nyilvánítás: Munkánkat a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottság (NKB), az OTKA84220 pályázat és a TÁMOP-4.2.1.B-11/2/KMR-2011-0003 pályázat támogatta.

MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet¹
NÉBIH Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság²
SzIE Állatorvos-tudományi Kar, Állattani és Parazitológiai Tanszék³
Baranya megyei Kormányhivatal⁴
Northern Arizona University, Center for Microbial Genetics and Genomics⁵
OEK Bakteriológia I. osztály⁶

Bakteriológia

HAZAI ÉS ETIÓP *COXIELLA BURNETII* TÖRZSEK GENOTIPIZÁLÁSA, A MÓDSZER GYAKORLATI ALKALMAZÁSA JÁRVÁNYHELYZETBEN

Sulyok Kinga Mária¹, Kreizinger Zsuzsa¹, Dán Ádám², Hornok Sándor³, Simor Zoltán⁴,
Heidie M. Hornstra⁵, Talima R. Pearson⁵, Paul S. Keim⁵, Balla Eszter⁶, Szigeti Alexandra¹,
Getachew Abichu Duressa³, Bajnóczi Pál⁴, Gyuranecz Miklós¹

A *Coxiella burnetii* zoonótikus Gram-negatív baktérium, a Q láz kórokozója. A *C. burnetii* fő rezervoárjai a házi kérődzők, melyek legtöbbször tünetmentes hordozói a kórokozónak, de vetélés, koraellés vagy terméketlenséggel járó kórkép is kialakulhat bennük. Emberi fertőzések leggyakrabban légúton, esetenként tejfogyasztással vagy kullancscsípéssel történnek. A *C. burnetii* emberben magas lázzal, tüdő- és májgyulladással járó akut megbetegedést, vagy krónikus szívbelhártya gyulladást okozhat.

A vizsgálat célja Magyarország különböző területeiről gyűjtött, és Etiópiából származó *C. burnetii* minták genetikai karakterizálása volt, valamint a Baranya megyei Q láz járvány során kimutatott humán és juh eredetű törzsek genotipizálása a járvány forrásának azonosítása céljából.

A *C. burnetii* DNS-ének kimutatására és hozzávetőleges mennyiségi meghatározására a kórokozó genomjának IS1111 szakaszára specifikus real-time PCR rendszert alkalmaztunk. Összesen 23 hazai szarvasmarha, juh, humán, illetve etióp kullancs mintából kimutatott törzs (Ct 33>) genotipizálását végeztük el multi-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) és multispacer sequence typing (MST) módszerekkel.

A hazai kérődző mintákban öt MLVA (I, J, M, AF, AG), valamint három szekvencia típust (ST20, ST28, ST35) különböztettünk meg. Az I, J és M MLVA típusok mind ST20 profilúak voltak és kizárólag szarvasmarhákból mutattuk ki őket. A juhokból származó, új AF és AG MLVA típusok az újonnan leírt ST35 és a már korábban leírt ST28 genotípusokat adták. Az Etiópiából származó minták között két új MLVA típust (AJ és AK) és egy új MST típust (ST36) írtunk le. A baranyai járvány során gyűjtött juh és humán minták MLVA profilja egy nagy mutációs rátával rendelkező mikroszatellit (Ms23) kivételével megegyezett (AH, AI), MST profiljuk (ST18) teljesen azonos volt. A járványból származó *C. burnetii* izolátumok MST és MLVA típusa különbözött az ország más területeiről származó izolátumokétól.

A hazai kérődzőkből származó *C. burnetii* izolátumok között mindkét módszer segítségével szarvasmarhához, illetve juhhoz adaptált genotípusokat és azok mikrovariánsait különböztettük meg. Vizsgálataink alapján a baranyai járvány forrásaként egy nagy létszámú juhászatot azonosítottunk be.

A vizsgálatokhoz az anyagi fedezetet a Lendület program (LP2012-22) biztosította.

HAZAI *MYCOPLASMA BOVIS* TÖRZSEK GENETIKAI JELLEMZÉSE

Sulyok Kinga Mária¹, Fekete Lilla¹, Kreizinger Zsuzsa¹, Jánosi Szilárd², Schweitzer Nóra², Turcsányi Ibolya², Makrai László³, Gyuranecz Miklós¹

A *Mycoplasma bovis* világszerte elterjedt baktérium. Szarvasmarhákban légúti megbetegedést, valamint tőgy- és ízületi gyulladást okoz, így nagy gazdasági jelentőséggel bír. A baktérium elsősorban közvetlen kontaktussal, az egyedek állományok közötti cserélődésével terjed. Egy hatékony genotipizáló rendszer szükséges a fertőzés nyomon követéséhez, járványtani vizsgálatához.

Vizsgálatunk célja a magyarországi *M. bovis* populáció genetikai jellemzése multi locus sequence typing (MLST) és multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) módszerekkel, valamint a két tipizáló módszer összehasonlítása volt.

Magyarország különböző területein lévő szarvasmarha állományokból gyűjtöttünk orrtampon és tüdő mintákat 2010 és 2013 között. A mintákból *Mycoplasma* tenyésztést végeztünk, majd az izolátumokat az *uvrC* génre specifikus polimeráz láncreakcióval (PCR) azonosítottuk. Összesen 31 hazai *M. bovis* törzs genetikai analízisét végeztük el. Az MLST során négy háztartási gént (*fusA*, *gyrB*, *lepA*, *rpoB*) elemeztünk, míg az MLVA kilenc tandem ismétlődő egység vizsgálatán alapult.

Az MLST analízis eredményeként tíz vizsgált *M. bovis* törzsből hat szekvencia típust (ST) különböztettünk meg, az MLVA vizsgálat során a harmincegy törzs között húsz különböző genotípust találtunk. Az egy állományból származó *M. bovis* törzsek genotípusai általában azonosak voltak vagy közeli rokonságban álltak egymással, de ugyanazon állományon belüli eltérést is megfigyeltünk. Mindkét módszer a hazai törzsek között két fő kládot különböztetett meg számos elágazással és alcsoporttal, de a két tipizáló módszer eredményei között átfedést nem találtunk.

Az MLST általánosan egy közepes felbontású, egymástól viszonylag távoli izolátumok tipizálására alkalmas eljárásnak tekinthető, ennek ellenére a hazai *M. bovis* törzsek között meglepően nagy genetikai variabilitást mutattunk ki a módszer segítségével. Az MLVA egy nagyobb felbontású, egymáshoz közel rokon izolátumok rokonsági viszonyainak megállapítására alkalmas módszer, melyet eredményeink is alátámasztottak. Mivel azonban a két eljárás eredményei között nem volt átfedés, ezért valószínűleg mindkét módszer további fejlesztésekre szorul.

A vizsgálatokhoz az anyagi fedezetet a Lendület program (LP2012-22) biztosította.

MAGYARORSZÁGI *MYCOPLASMA BOVIS* TÖRZSEK ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉGÉNEK VIZSGÁLATA

Sulyok Kinga Mária¹, Fekete Lilla¹, Hrivnák Veronika¹, Jánosi Szilárd², Schweitzer Nóra², Turcsányi Ibolya², Makrai László³, Gyuranecz Miklós¹

A *Mycoplasma bovis* egy sejtfal nélküli, világszerte elterjedt baktérium. Az egyik legjelentősebb gazdasági károkat okozó szarvasmarha patogén, borjakban tüdő- és ízületgyulladást, tehenekben tögygyulladást okoz. Mivel a *M. bovis* ellen nem áll rendelkezésre hatékony vakcina, ezért az antibiotikus terápia a védekezés legfontosabb eszköze. A klinikai *M. bovis* izolátumok antibiotikum érzékenységi profiljának meghatározása elősegíti a megfelelő terápia szer kiválasztását, így növelve a kezelés hatékonyságát.

A vizsgálat célja a hazai *M. bovis* törzsek *in vitro* érzékenységének meghatározása volt 11 különböző antibiotikummal szemben.

A vizsgálatba bevont 35 *M. bovis* törzset 2010 és 2013 között Magyarország különböző területeiről gyűjtött szarvasmarha orrtampon és tüdő mintákból izoláltuk. A törzsek azonosítása az *uvrC* génre specifikus polimeráz láncreakció (PCR) segítségével történt. A minimális gátló koncentrációkat (MIC) mikroleves-hígítási módszer segítségével határoztuk meg. A kapott MIC értékeket a Klinikai és Laboratóriumi Szabványok Intézetének (CLSI) érzékenységet jelző, szintén szarvasmarha légúti megbetegedést okozó baktériumok (*Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*) határértékeivel vetettük össze.

Az összes hazai *M. bovis* törzs érzékeny vagy mérsékelten érzékeny volt az általunk vizsgált aminoglikozidokkal (MIC₉₀ értékek: gentamicin: 8 µg/ml, spektinomicin 64 µg/ml) szemben. A fluoroquinolonokkal (MIC₉₀ értékek: danofloxacin: 0,312 µg/ml, enrofloxacin: 0,312 µg/ml, marbofloxacin: 0,625 µg/ml) szemben három törzs bizonyult rezisztensnek. Az általunk tesztelt tetraciklinekre (MIC₉₀ értékek: oxitettraciklin: 64 µg/ml, tetraciklin: 16 µg/ml) több törzs is rezisztens volt. A vizsgált makrolidokra (MIC₉₀ értékek: tylosin: 128 µg/ml, tilmicosin: 128 µg/ml), a fenikolok csoportjába tartozó florfenikolra (MIC₉₀: 8 µg/ml), valamint a linkozamidok közé tartozó lincomycinre (MIC₉₀: 64 µg/ml) a hazai törzsek nagyobb része rezisztens volt.

Rezisztens magyarországi törzset mindegyik antibiotikum csoportra nézve találtunk, ami az antibiotikumok elleni rezisztencia széles elterjedtségére hívja fel a figyelmet. Ezért is lenne célszerű megbízható és gyors molekuláris módszerek kifejlesztése a rezisztens és érzékeny izolátumok elkülönítésére, hogy gyógykezelés esetén a célzott antibiotikus terápiát mielőbb meg lehessen kezdeni.

A vizsgálatokhoz az anyagi fedezetet a Lendület program (LP2012-22) biztosította.

ETIÓP KULLANCSOK VIZSGÁLATA *FRANCISELLA TULARENSIS* ÉS *FRANCISELLA*-SZERŰ ENDOSZIMBIONTÁK ELŐFORDULÁSÁRA

Szigeti Alexandra¹, Kreizinger Zsuzsa¹, Hornok Sándor², Getachew Abichu Duressa², Gyuranecz Miklós¹

A *Francisella tularensis*, a tularemia kórokozója 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 endoszimbionták (FLE) ismeretlen patogenitású, rokon baktériumai a *F. tularensis*-nek, melyek PCR keresztreakció következtében gyakran okoztak diagnosztikai problémát. A tularemia elsősorban Európában, Ázsiában és Észak-Amerikában előforduló betegség, a *Francisella tularensis* és a FLE-k Afrikában való előfordulásáról valamint elterjedtségéről nagyon kevés információ áll rendelkezésünkre.

Célunk Etiópiából származó, különböző fajú kullancsok szűrése *F. tularensis* és FLE-k előfordulására, valamint a kimutatott baktériumok összehasonlító genetikai vizsgálatának elvégzése volt.

Száztizennyolc *Amblyomma variegatum*, 100 *A. cohaerens*, 2 *A. lepidum*, 50 *Rhipicephalus decoloratus*, 17 *R. evertsi*, 8 *R. praetextatus* és 1 *Hyalomma rufipes* Etiópiából származó kullancsból (összesen 296 példány) DNS kivonást végeztünk, majd a *Francisella* 16S rRNS génre specifikus polimeráz láncreakciót alkalmaztunk. A pozitív minta szekvenciáját a GenBank-ban található *F. tularensis* és FLE szekvenciákkal összevetettük, s Neighbor-Joining típusú filogenetikai analízist végeztünk (MEGA5).

Egy pozitív mintát találtunk (0,34 %; 1/296). A *H. rufipes* kullancsból kimutatott törzs a szekvencia elemzést követően FLE-nek bizonyult. Az endoszimbionta 16S rRNS gén szekvenciája 1069 bázispáron teljes azonosságot mutatott a 2011-ben Bulgáriában *R. sanguineus*-ből és *H. marginatum*-ból leírt FLE 16S rRNS gén szekvenciájával.

Az irodalmi adatoknak megfelelően mi sem tudtunk *F. tularensis*-t kimutatni afrikai mintákból. FLE-t eddig csak két alkalommal írtak le a kontinensen, egy Namíbiából származó *H. truncatum* és egy szintén Dél-Afrikából származó *Ornitodoros porcinus* kullancsból. A Bulgáriából származó FLE-k és az általunk leírt FLE a namíbiai FLE-vel áll a legközelebbi genetikai rokonságban. Bár *H. rufipes* Európában is előfordul, eddig ebben a kullancs fajban nem számoltak be FLE előfordulásáról.

A vizsgálatot a Lendület program (LP2012-22) támogatta.

AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM SINUS INFRAORBITALIS RÁFERTŐZŐ MODELL KIALAKÍTÁSA, ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA ÉS ALKALMAZÁSA VAKCINA HATÉKONYSÁGI VIZSGÁLATOKBAN

Tenk Miklós¹, Márton Zsuzsanna¹, Pálmai Nimród¹, Szórádi Mária Alejandra¹, Imre Ariel¹,
Makrai László², Fodor László² és Jérôme Thevenon¹

A baromfi *Avibacterium (A.) paragallinarum* okozta fertőző náthája (coryza) növendék és felnőtt állományokban sokszor tömegesen jelentkezik és jelentős gazdasági károkat okoz - a várt testtömeg gyarapodás elmaradása illetve a tojástermelés visszaesése miatt.

A betegség elleni védekezés egyik, bevált módszere az előlt baktérium antigént tartalmazó oltóanyagokkal történő vakcinázás. Ezen készítmények hatékonyságát virulens törzssel történő ráfertőzéssel lehet vizsgálni.

A ráfertőzési tesztek standardizálása a kórokozó, sokszor még az adott törzs adott passzázsán belül is megfigyelhető, meglehetősen változékony megbetegítő-képessége miatt, rendkívül nehéz feladat.

A szerzők egy *A. paragallinarum* A szerotípusú ráfertőző törzssel, sinus infraorbitalisba történő direkt fecskendezéses ráfertőző modellt alakítottak ki. Ezt a modellt összehasonlították az ugyanazon törzssel végzett intranazális ráfertőzéssel. Mindkét modell esetében 12 hetes Leghorn hibrideket használtak. Az infraorbitalis sinus módszer esetén két dózisszintet alkalmaztak. A közvetlenül ráfertőzött állatok mellett, a kórokozó horizontális terjedésének megfigyelése céljából, minden csoportban, jelző (sentinel) állatok is voltak. A ráfertőző szuszpenzió csíraszámának (CFU) becslésére több hullámhosszon, optikai denzitás-CFU kalibrációt végeztek. A tényleges ráfertőző szuszpenziót frissen készítették, csíraszámát a kalibráció során nyert összefüggéssel becsülték. A ráfertőzést követően a klinikai tüneteket 14 napon keresztül figyelték meg, azokat súlyosságuk szerint pontozták, majd értékelték. A kísérlet végén a kórokozót a kiirtott állatok sinusából visszaizolálták.

Vizsgálataik alapján mindkét modell eredményes volt, mivel az állatok több, mint 70%-ában specifikus klinikai tüneteket figyeltek meg. Az értékelést követően a megbetegedett állatok aránya és a klinikai pontszámaik átlaga tekintetében a két modell között nem találtak szignifikáns különbséget.

A további vizsgálatokhoz, szakirodalomban megfogalmazott aggályok ellenére, az intrasinus fertőzési módszert választották, amelyet sikeresen alkalmaztak egy vakcina hatékonysági kísérletben.

CORYNEBACTERINAE ALRENDBE TARTOZÓ TŐGYGYULLADÁS-KÓROKOZÓ BAKTÉRIUMOK DIAGNOSZTIKAI VIZSGÁLATAI

Valkó Anna (végzős hallgató)¹, Rónai Zsuzsanna², és Jánosi Szilárd²

Tejelő tehenészetek esetében a legmagasabb prevalenciájú és a legnagyobb gazdasági jelentőségű megbetegedések közé tartozik a tőgygyulladás, melyet leggyakrabban baktériumok okoznak. Az ismert kórokozók visszaszorításával egyre inkább előtérbe kerülnek a kevésbé vizsgált környezeti patogének, melyek közé sorolhatóak a Corynebacterinae alrendbe tartozó Mycobacterium, Corynebacterium, Rhodococcus, Nocardia és Dietzia nemzetség képviselői, valamint saját vizsgálataink alapján a Gordonia nemzetségbe tartozó Gordonia paraffinivorans is, melynek tőgygyulladásban megnyilvánuló szerepének leírására a szakirodalom alapján még nem került sor. Tanulmányunk célja az volt, hogy egy olyan diagnosztikai eljárást dolgozzunk ki, amely segítségével ezek a különleges kórokozók is azonosíthatóvá válnak egy rutin laboratórium számára.

A 2006 óta gyűjtött tejmintákat Columbia táptalajon szélesztettük, 37°C-on illetve szobahőmérsékleten kétszer 48 óráig inkubáltuk, majd a kinőtt telepeken morfológiai vizsgálatot, Gram és Ziehl-Neelsen szerinti festést, kataláz, oxidáz és indol próbákat végeztünk el. Egy telep Columbia vagy Middlebrook táptalajra oltásával szintenyészetet készítettünk, amelyből ureáz és nitrát próbákat teszteltünk. 52 törzset vizsgáltunk meg a Biolog™ Microlog M rendszerrel, 62 törzset pedig multiplex polimeráz láncreakció és szekvenálás segítségével határoztunk meg.

A hosszabb inkubációs idő alatt fejlődő baktériumtelepek a gyorsesztek és a klasszikus biokémiai vizsgálatok alapján nem voltak egyértelműen elkülöníthetőek, ezért próbáltuk meg a 94 tulajdonságot vizsgáló Microlog™ rendszer szerinti meghatározást, amely azonban az 52 vizsgált törzsből csak 16-ot azonosított faji szinten, és ebből csak kettő bizonyult pontosnak. A szekvenálással meghatározott törzsek közül 34 Mycobacterium smegmatis, 1 Mycobacterium fortuitum, 2 Gordonia paraffinivorans, 2 Nocardia sp., valamint egy-egy Corynebacterium bovis, Rhodococcus erythropolis és Dietzia sp. volt.

A Microlog™ adatbázisából hiányoznak a szekvenálás során meghatározott Mycobacterium és Gordonia fajok, de a rendszer lehetőséget nyújt egy saját panel létrehozására, amelyet nagyobb mintaszámmal elvégzett további vizsgálatok alapján megalkotva a program alkalmassá válhat a gyakorlat számára ezen lassan növvő tőgygyulladás-kórokozó baktériumok azonosítására. A biokémiai tulajdonságok alapján elkészítettük a vizsgált baktériumok törzsfáját, ami nem mutatott egységes képet, bár a főbb csoportok elkülöníthetőek voltak.

A továbbra is 'gold standard'-nak tekinthető molekuláris biológiai vizsgálatok során kapott szekvenciák azonos faj esetében sem mutattak teljes egyezést, az egyes helyeken konzekvensen eltérő szakaszok elemzése későbbi kutatás tárgyát képezheti.

SZARVASMARHA EREDETŰ ATÍPUSOS *E. COLI* O157 TÖRZSEK VIRULENCIAGÉNJEINEK SZEKVENCIAANALÍZISE

Sváb Domonkos¹, Horváth Balázs², Maróti Gergely², Tóth István¹

Bevezetés: Az enterohaemorrhágiás *Escherichia coli* (EHEC) törzsek jelentős élelmiszer-közvetítette kórokozók. A tipikus EHEC O157:H7/NM szerotípusú törzsek Shiga-toxint (Stx) termelnek, és a LEE (Locus of Enterocyte Effacement) patogenitási szigetet hordozzák genomjukban. Klinikai és járványtani jelentősége miatt számos EHEC O157:H7/NM törzs teljes genom szekvenciáját meghatározták. Jóval kevesebb adat áll azonban rendelkezésre az O157 szerocsoport egyéb H antigénnel rendelkező, valamint *stx*-negatív tagjairól.

Célkitűzések: Munkánk célja korábban általunk izolált, ritka H antigénnel rendelkező, *stx*- és LEE-negatív, egészséges szarvasmarhákból származó, O157 szerocsoportba tartozó *E. coli* törzsek genetikai vizsgálata volt, különös tekintettel két virulenciafaktorra, a citoletális duzzasztó toxin V-ös típusára (CDT-V), és a long polar fimbria 2-es típusára (Lpf2), mely egy feltételezett adhezin.

Anyagok és módszerek: a T22 jelzésű, O157:H43 szerotípusú *E. coli* törzs kozmid-klónkönyvtárából a *cdt-V* és *lpf2* tartalmú klónok nukleotid-szekvenciáját meghatároztuk új-generációs és Sanger-féle dideoxinukleotid módszerrel. A szekvenciákat a CLC Genomic Workbench 6.0 programmal illesztettük, az annotációt az NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline programmal végeztük. Az *cdt-V* és *lpf2* operonok ilyen módon megismert határoló génjeinek jelenlétét PCR reakciókkal vizsgáltuk további patogén és kommenzalista *E. coli* törzsekben.

Eredmények: Az *E. coli* T22 O157:H43 *cdt-V* operont egy P2-szerű profág (32,1 kb) genomjában foglal helyet, melynek 20 vizsgált szakaszából a *cdt-V+* atípusos *E. coli* O157 törzsek (n=5) legalább 18-at hordoztak, a *cdt-V+* O157:NM EHEC törzsek (n=3) csak 15-16-ot, a CDT-V-t nem termelő törzsek közül egy volt, mely 12 szakaszt hordozott, a többi legfeljebb négyet.

Az *lpf2* nagy valószínűséggel része egy patogenitási szigetnek. Az *lpf2*_{ABCDE} operon szekvenciája esetében nagyfokú konzerváltságot és elterjedtséget tapasztaltunk, a vizsgált határoló szakaszok a monitorozott törzsek többségében (16/21) hiánytalanul jelen voltak.

Következtetések: Mind a *cdt-V*, mind az *lpf2* horizontális géntranszferrel terjedhetett el az atípusos *E. coli* O157 törzsek körében, melyek rezervoárként szolgálhatnak mind a patogén, mind a kommenzalista törzsek evolúciójában.

Köszönetnyilvánítás: Munkánk anyagi fedezetét az OTKA K 81252 számú pályázata biztosította.

KELTETŐI NAPOS CSIBÉK ANTIBIOTIKUM REZISZTENCIA ÉS VIRULENCIA MINTÁZATÁNAK MICROARRAY ALAPÚ JELLEMZÉSE

Szmolka Ama¹, Nógrády Noémi², Pászti Judit², Imre Ariel¹, Nagy Béla¹

Bevezetés: Korábbi hazai és nemzetközi közleményekből ismert, hogy a baromfi extra-intesztinális megbetegedését okozó *E. coli* (ExPEC) valamint a bélflórából izolált, feltételezhetően kommenzalista intesztinális *E. coli* (IntEC) mind virulencia mind rezisztencia tulajdonságok tekintetében számos hasonlóságot mutat. Ennek alapján feltételezhetjük, hogy e tulajdonságok napos baromfi esetében részben már a keltetőből származhatnak.

Cél: Feltételezésünk nyomán, vizsgálataink elsősorban azon kérdés megválaszolására irányultak, hogy a kelés utáni 24-48 órában vizsgált csibék IntEC törzsei valóban ennél idősebb baromfi ExPEC/IntEC törzsekhez hasonló rezisztencia és virulencia mintázatokkal rendelkeznek-e?

Anyagok és módszer: A jellemezni kívánt *E. coli* izolátum keltetőből szállított, életük első 24-48 órájában vakbél *E. coli* tartalomra vizsgált csibékből (Bábolnai keltető, Ross-380 nagyszülő) származott. A mintavétel négy különböző időpontban történt, melyek során az egyes állományokat feldolgozásonként 5-6 csibéből izolált (n=20) keltetői eredetű IntEC törzssel reprezentáltuk.

A rezisztencia fenotípus meghatározását követően a keltetői törzseket előzetesen PCR segítségével vizsgáltuk az ismertebb rezisztencia és virulencia génekre. Ezen túlmenően, a törzsek rezisztencia és virulencia genotípusát AMR05 illetve Ec03 típusú PCR-microarray rendszerekben jellemeztük.

A vizsgálatokba komparatív célból, részben már jellemzett 11 IntEC (elhullott néhány napos/hetes csibék vakbeléből izolált) valamint 11 ExPEC (coli szeptikémia tüneteivel elhullott csibék elváltozott szerveiből izolált) törzseket is bevontunk (Nógrády és mtsai., 2006), melyek rezisztencia és virulencia genotípusának részletes elemzését a fenti microarray rendszerekkel ugyancsak elvégeztük.

Eredmény: A keltetői napos csibékből származó vakbél eredetű *E. coli* törzsek mindegyike multirezisztenciát mutatott. Leggyakrabban az aminoglikozid-ampicillin-kinolon-szulfonamid alapú rezisztencia mintázatok fordultak elő.

Az összesen 42 *E. coli* törzsen elvégzett microarray vizsgálatok alapján általában elmondható, hogy a vizsgált antibiotikum rezisztencia gének valamint az integron hordozás tekintetében a keltetői eredetű/elhullott csibékből származó intesztinális és extraintesztinális *E. coli* törzsek lényeges eltérést nem mutattak. A hasonló mértékű gyakoriság a mobilis genetikai elemek (plazmid, integron) által közvetített rezisztencia determinánsokra is vonatkozott. A multirezisztencia háttérében álló gén-asszociációkat elsősorban a plazmidok vizsgálatával tervezzük tovább jellemezni.

A virulencia gének tekintetében viszont jól érzékelhetően nagyobb gyakoriságot tapasztaltunk az ExPEC törzsek esetén, de meglepő módon jelentős számban fordultak elő egyes virulencia gének (*iss*, *tsh*, *iutA*) a keltetőből frissen szállított napos csibék kommenzalista *E. coli* baktériumaiban is.

Következtetés: Adataink alapján elmondható, hogy a baromfi patogén ExPEC és IntEC törzsek multirezisztenciája és virulencia mintázata részben a keltetőre vezethető vissza. Az egyes mintázatok együttes terjedésének háttérében feltételezhetően ismert rezisztencia és/vagy virulencia plazmidok és azok változatai keresendők.

Köszönet: Vizsgálatainkat az EU FP7 (PROMISE) no. 265877 nemzetközi pályázat támogatta. Szmolka Ama a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János ösztöndíjasa.

ÚJONNAN AZONOSÍTOTT SERTÉS PARVOVÍRUSOK VIZSGÁLATA EGY SERTÉSÁLLOMÁNYBAN

Csághola Attila¹, Zádori Zoltán², Tombácza Kata¹, Tuboly Tamás¹

Bevezetés: Az állatfajok széles köréből mutathatók ki parvovírusok. Ezek közül számos fertőzés klinikai tünetekben is megnyilvánul, de a parvovírusok többsége szubklinikai vagy tünetmentes fertőzés formájában van jelen. A rendkívül gyorsan fejlődő nukleinsav amplifikációs módszereknek köszönhetően az elmúlt néhány évben korábban ismeretlen sertés parvovírusok (porcine parvovirus, PPV) és bocavírusok (porcine bocavirus, PBoV) kerültek leírásra, név szerint: PPV2, PPV3, PPV4, porcine boca-like virus, PBoV1-2 típusú parvovírus, PBoV3, PBoV4, PBoV5, 6V és 7V típusú parvovírusok. Az újabb parvovírusok mindegyike jelen van Magyarországon is.

Célok: PPV2-vel és PPV3-mal szemben képződő ellenanyagok kimutatására alkalmas, ELISA módszerek kifejlesztése. A kifejlesztett módszerekkel felmérjük, hogy egy sertés állományban a születéstől kezdve hogyan alakulnak a különböző vírusokkal szembeni ellenanyag titerek. A begyűjtött vérmintákból megvizsgáljuk, mikor alakul ki virémia.

Módszer: Vérminták gyűjtése különböző korú (2 napos, 1 hetes, 2 hetes, 3 hetes, választáskori) sertésekből, korcsoportonként 5-5 alom, 3-3 malacából és az anyaállatokból, továbbá a választást követően 1, 2 és 4 héttel 5 csoport 3-3 állatából, illetve 3, 4 és 5 hónapos korban 15-15 sertésből.

A szerológiai vizsgálatokhoz az antigént pBAD/TOPO^R ThioFusionTM Expression Kit (Invitrogen) segítségével állítottuk elő. A virémia megállapításához a Phusion Blood Direct PCR Kit-et (Finnzymes, Part of Thermo Fisher Scientific) használtuk.

Eredmények: A születés utáni PPV2 és PPV3 specifikus maternális ellenanyag szint 14 napos korra lecsökkent. A PPV2 specifikus ellenanyag szint 56 napos, a PPV3 specifikus ellenanyag szint 120 napos kor körül kezdett emelkedni. Mindkét vírus esetében 90 napos korban kezdett a virémia kialakulni. A 120 napos sertések vérmintáinak több mint 50%-ából volt kimutatható PPV3, a PPV2 15 mintából csak 1 esetben volt kimutatható.

Következtetés: Ma még nem ismert, hogy az újonnan leírt sertés parvovírusok milyen hatást gyakorolnak a gazdaszervezetre. Ennek megállapítása esetünkben azért is nehéz feladat, mert más kórokozók, mint a sertés circovírus és az influenza vírus is jelen voltak a vizsgált állományban. Ha a parvovírusok tünetekben megnyilvánuló megbetegedést nem is okoznak, jelenlétük feltehetően hatással van a termelés gazdaságosságára. Ezért fontosnak tartjuk a továbbiakban a különböző parvovírusok gazdaszervezetre gyakorolt hatásának vizsgálatát, amihez nélkülözhetetlen újabb, megbízható diagnosztikai módszerek fejlesztése.

Köszönetnyilvánítás: A vizsgálatokat a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, OTKA PD100405 és a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottság (NKB) támogatásával készítettük.

ASTROVÍRUS FERTŐZÉS IGAZOLÁSA MENHELYRE KERÜLT KUTYÁKBAN

Kovács Eszter¹, Lengyel György³, Marton Szilvia¹, Farkas Szilvia¹, Tuboly Tamás², Bányai Krisztián¹

Az astrovírusok az *Astroviridae* család tagjai (astron = csillag, görög er.), burok nélküli, egyszálú egyszálú RNS vírusok. A vírust először 1975-ben mutatták ki, gyermekek hasmenéses székletéből. A vírus jelenlétét azóta igazolták madarakban (*Avastrovirus* genus) és számos emlősfajban is (*Mamastrovirus* genus). Az avian nephritis virus (ANV) csirkékben és pulykákban okoz intersticiális nephritist és fejlődésben visszamaradást. A kacsák vírusos májgyulladását is astrovírus okozza, a kórkép fiatal állatokban jelentős elhullással jár együtt.

Emlősökben az astrovírusok leggyakrabban hasmenésben megnyilvánuló megbetegedést idéznek elő, azonban gyakran előfordulnak tünetmentes fertőzések is. A közelmúltban nyércek és borjak esetében írtak le idegrendszeri tünetekkel járó kórképből új astrovírusokat.

A kutyák astrovírus fertőzéseiről kevés információnk van. Kutyából astrovírust először 1980-ban mutattak ki hasmenéses egyedek bélsárában elektron mikroszkópos vizsgálattal. Később normál konzisztenciájú, egészséges állattól származó bélsárban is igazolták az astrovírus jelenlétét. Az első molekuláris genetikai adatok csak pár éve láttak napvilágot. Ezek alapján a kutyák astrovírusai egyértelműen a *Mamastrovirus* genusba tartoznak és a legközelebbi genetikai rokonságot az ember, a sertés és a macska astrovirusaival mutatják.

Vizsgálataink célja az volt, hogy igazoljuk az astrovírusok jelenlétét Magyarországon és felmérjük szerepét a kutyák enterális kórképeiben.

Összesen 58 darab bélsármintát gyűjtöttünk Miskolc környéki menhelyről, egészséges állatokból és klinikai esetekből egyaránt. A bélsármintákból szuszpenziókat készítettünk, majd ülepítő centrifugálást követően a felülúszóból innuPREP Virus DNA/RNA kit segítségével nukleinsav kivonást végeztünk. Egyes mintákat random PCR és új generációs szekvenálás segítségével vizsgáltunk. A vírus metagenomikai eredményekre és az irodalmi adatokra támaszkodva pedig a kevert (pool-ozott) mintákon különböző enterális vírusokra (parvovírus, coronavírus, rotavírus, kobuvírus, astrovírus) specifikus PCR alapú szűrővizsgálatokat végeztünk. Az így kapott pozitív eredményeket Sanger szekvenálással erősítettük meg.

Vírus-metagenomikai és PCR alapú szűrővizsgálattal mindösszesen öt mintából sikerült astrovírust kimutatni. Három minta fiatal (≤ 4 hónapos), két minta felnőtt állatoktól származott. Két fiatal egyednek volt hasmenése, de mindkettő bélsármintája parvovírusra is pozitív volt. A két egészséges felnőtt példány bélsármintájából nem tudtunk kimutatni más enterális vírust. Az azonosított astrovírus törzsek részleges genomszekvenciáját génbanki adatokkal összehasonlítva három esetben olaszországi (98-99%), egy esetben pedig braziliai kutya astrovírusokkal (96%) találtuk a legnagyobb genetikai hasonlóságot. Az egyik fiatal, hasmenéses egyedből kimutatott törzs nem mutatott jelentős genetikai rokonságot egyik ma ismert mamastrovírossal sem, a legnagyobb nukleotid azonosság 70% volt.

Vizsgálataink nem sugallják azt, hogy az astrovírusok a jelentős enterális kórokozók közé tartoznak kutyákban, bár a korlátozott mintaszám és a vizsgált populáció sajátosságai miatt ez talán nem is volt meglepő. Ugyanakkor adataink a felnőtt állatok vírusürítését mutatják és azonosítottunk egy lehetséges új astrovírus speciest is. Laboratóriumi diagnosztikai szempontból vizsgálva eredményeinket az is világossá vált, hogy a hagyományos PCR módszert az új generációs szekvenálással kombinálva növelhető az enterális vírusok kimutatásának hatékonysága.

¹MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet

Virologia

²Honvéd Egészségügyi Központ, Budapest

³SZIE-ÁOTK Egzotikus Állat- és Vadegészségügyi Tanszék

⁴Institute of Environmental and Animal Hygiene, Hohenheim University, Stuttgart, Germany

EGY NÉMETORSZÁGI BOZÓTVIPERÁBÓL (*ATHERIS SQUAMIGERA*) IZOLÁLT ORTHOREOVÍRUS TÖRZS TELJES GENOMSZEKVENCIÁJÁNAK MEGHATÁROZÁSA ÉS ELEMZÉSE, VALAMINT ORTHOREOVÍRUSOK ELŐFORDULÁSÁNAK ÉS GENETIKAI DIVERZITÁSÁNAK VIZSGÁLATA EGZOTIKUS HÜLLŐFAJOKBAN MAGYARORSZÁGON

Ihász Katalin¹, Farkas L. Szilvia¹, Lengyel György², Gál János³, Rachel E. Marschang⁴, Bányai Krisztián¹

A hüllő betegségek kóroki háttere sok esetben nem tisztázott és a már kimutatott vírusok esetében gyakran csak részleges szekvencia-adatok állnak rendelkezésünkre jelentősen megnehezítve az egyes vírusok diagnosztikáját. A korábban kimutatott hüllő reovírusokbólis többnyire csak az RNS-függő RNS-polimeráz egy rövid szakaszának szekvenciája ismert. Éppen ezért kutatásaink céljaul egy németországi bozótviperaából (*Atherissquamigera*) izolált 47/02-es orthoreovírus törzs teljes genomszekvenciájának meghatározását, valamint hazai egzotikus hüllőkben található reovírusok kimutatását, izolálását és genetikai sokszínűségének vizsgálatát tűztük ki.

A vipera szívsejteken elszaporított 47/02-es törzs teljes genomszekvenciájának meghatározását új-generációs szekvenálás segítségével végeztük. A genomszegmensek 5' és 3' végeinek meghatározását, valamint a szekvencia-adatok helyességének ellenőrzését Sanger-féle szekvenálással végeztük. Szekvencia-elemzés során megállapíthattuk, hogy bozótvipera reovirusa számos, az orthoreovirusokra jellemző tulajdonságokkal rendelkezik. Az egyes genomszegmensek filogenetikai elemzése során a vírus a Broome vírussal és a pávián orthoreovírussal monofiletikus ágat képez, mely a vírusok közös eredetére utalhat.

Vizsgálataink keretében a reovirusok kimutatását hazai gyűjteményekben és állatkereskedésekben elhullott állatok szervmintáiból hüllő sejtvonalakon vírusizolálással, illetve a mintákból izolált RNS reverz transzkripció polimeráz láncreakció (PCR) módszerrel történő elemzésével végeztük el. A hüllő reovirusok jellegzetes citopatogén hatással rendelkeznek, sejtvonalakon óriássejteket képeznek. Az alkalmazott általános, az *Orthoreovirus* nemzetség tagjainak kimutatására kidolgozott kétkörös (nested) PCR az RNS-függő RNS-polimeráz gén egy konzervatív szakaszát amplifikálja. A sikeresen felszaporított PCR termékek nukleotid-sorrendjét Sanger-féle szekvenálással határoztuk meg. Az így kapott adatokat bioinformatikai módszerekkel elemeztük, filogenetikai számításokkal vizsgáltuk a kimutatott vírusok rokonsági viszonyait.

Összesen 16 hüllőfaj 76 egyedének szerveiből próbáltunk meg reovirusot kimutatni a fent említett módszerekkel, melyekből 3 királypilon (*Python regius*), egy zöld leguán (*Iguana iguana*) és egy azonosítatlan fajú kígyó mintája lett pozitív. Sejttenyészetben valamennyi kimutatott vírus jól látható sejtfúzióval járó elváltozást okozott. A szekvencia-adatok alapján mindegyik vírus a hüllő orthoreovirus faj tagjának bizonyult az *Orthoreovirus* nemzetségben belül. Az így azonosított törzsek teljes genomszekvenciájának meghatározását a későbbiekben tervezzük. A felhalmozott adatok segítségével lehetőség nyílik a vírusok genetikai diverzitásának felmérésére, valamint új diagnosztikai PCR rendszerek fejlesztésére.

LOVAK ROTAVÍRUS FERTŐZÉSEINEK MOLEKULÁRIS EPIDEMIOLÓGIAI SAJÁTSÁGAI

Papp Hajnalka, Bányai Krisztián

A rotavírusok burok nélküli virionnal és duplaszálú RNS genommal rendelkeznek. Genomjuk szegmentált, a 11 szegmens egy kivétellel monocisztronos. Az eddig megismert 7 vírushaj (Rotavirus A – G) közül emlősökben és madarakban egyaránt a Rotavirus A a legfontosabb. Vírushajokon belül hagyományosan szerotípusokat különítenek el a virion két felszíni antigénjének (VP4 és VP7) szerológiai tulajdonságai alapján. Mára a szerotipizálást felváltotta a nukleinsav szekvencia alapú genotípus meghatározás, melyet az utóbbi években kiterjesztettek mind a 11 génszegmensre, mégpedig úgy, hogy az egyes génekhez rendelt genotípust egy-egy betű és szám kombinációjával adják meg.

Lovakban világszerte jól ismertek a rotavírus fertőzések. Egyes földrajzi régiókban (pl. USA, Írország, Japán) a Rotavirus A tehető felelőssé a csikók nagy morbiditással és mortalitással járó hasmenéses megbetegedéseiről. Ezekben a területeken ma vakcinázással védekeznek a rotavírus fertőzések ellen.

A vakcinák hatékonyságát figyelemmel kell kísérni. Ennek egyik összetevője annak vizsgálata, hogy a vakcinaként használt oltóanyagban szereplő vírustörzs(ek) milyen hatékonyságot mutatnak a területen cirkuláló törzsekkel szemben. Az elmúlt évben átfogó irodalmi összegzést végeztünk a ló RV-ok epidemiológiájának jobb megismerése érdekében. A feldolgozott szakirodalmi adatok alapján megállapítottuk, hogy az elmúlt három évtized során jellemzett ló RV-ok két fő genotípusba tartoznak (G3P[12] és G14P[12]; összesített gyakoriság 99%), elenyésző hányaduk pedig feltételezhetően más gazdafajból származik.

Kísérletes munkánk célja a különböző földrajzi területekről gyűjtött ló RV-ok genetikai összehasonlítása volt, teljes genom meghatározással és filogenetikai elemzéssel. A hazai mintákon végzett szűrővizsgálatok negatív eredménnyel zárultak. Így ezt a munkát külföldi együttműködés keretében végeztük, melynek során két, Írországból származó ló RV teljes genomját és további három törzs részleges genomját határoztuk meg. Előadásunkban ezeknek a törzseknek a szekvencia és filogenetikai elemzését ismertetjük. Az ír törzsek filogenetikai elemzését további tizenegy ló rotavírus törzs genomjának analízisével tettük teljesebbé.

A vizsgálati eredmények azt mutatják, hogy viszonylag szűk neutralizációs antigén repertoárjuk mellett a ló RV törzsek erősen konzervatív genom konfigurációval rendelkeznek, amely nagymértékben eltér más gazdafajok RV-aitól. Ezen belül azonban a ló RV törzsek három leszármazási vonalra különülnek el. Az általunk meghatározott két törzs is két külön leszármazási vonalon helyezkedik el, ráadásul az egyik leszármazási vonalat az egyik törzs önállóan képviseli. A vizsgált ló RV törzsekben reasszortációt elsősorban a VP7, VP6 és NSP4 géneknél lehetett megfigyelni.

GYROVÍRUSOK KIMUTATÁSA VADÁSZGÖRÉNY SZÉKLETMINTÁKBAN

Fehér Enikő¹, Kovács Eszter¹, Lengyel György², Pazár Péter³, Bányai Krisztián¹

A *Circoviridae* család jelenlegi besorolás szerint a *Circovírus* és *Gyrovírus* nemzetségeket foglalja magába. A gyrovírusok legismertebb képviselője a csirke anaemia vírus (CAV), amely a házi tyúk fiatal egyedek súlyos, a csontvelő és thymus progenitor sejteket érintő betegségét, az egyedek elhullását okozza. A vírust más állatfajok székletében is sikerült kimutatni, ám jelenléte valószínűleg fertőzött hús fogyasztásának köszönhető. Az utóbbi években több, a CAV-hoz hasonló, különböző vírustípusként számon tartott gyrovírust (GyV) azonosítottak csirke szérumban és húsban, valamint humán bőr, vér és széklet mintákban.

Vizsgálataink során egy vadászgörény-állományból származó székletmintákat vírus-metagenomikai vizsgálatoknak vetettünk alá újgenerációs szekvenálással. Az eredmények kiértékelése során a CAV mellett új típusú gyrovírusok jelenlétére utaló szekvencia szakaszokat is azonosítottunk. Tanulmányunk célja közt szerepelt ezekben a vadászgörény székletmintákban a metagenomikai vizsgálatokkal detektált gyrovírusok teljes genomi szekvenciájának meghatározása, összehasonlítása az ismert vírusgenomokkal, illetve a különböző gyrovírusok előfordulásának felmérése.

A vírus-metagenomikai vizsgálatok kiértékelését követően, a gyrovírus szekvencia adatok alapján a vírusok teljes, körülbelül 2000-2300 bázispár hosszúságú genomjának amplifikálására alkalmas primerpárokat terveztünk. Az amplifikált genomok szekvenciájának meghatározása "primer walking" módszerrel történt/történik. A gyrovírusok előfordulásának felmérése, különböző típusainak kimutatására típus-specifikus polimeráz lánreakciót (PCR) alkalmaztunk.

Eredményeink a vizsgált 20 vadászgörény székletmintájában CAV, madár gyrovírus 2 (AGV2), humán gyrovírus (HGyV), GyV3, és GyV4 jelenlétére utaltak. Öt esetben végeztük el a teljes kódoló régió szekvenálását. A génbanki adatokkal összevetve három vírusgenom HGyV-vel, egy AGV2-vel, egy pedig GyV4-gyel mutatott rokonságot. A típus-specifikus PCR-ek és a metagenomikai eredmények alapján 11 CAV, 14 HGyV/AGV2, 2 GyV3, és 2 GyV4 szekvenciát hordozó székletmintát azonosítottunk. 11 székletmintában legalább két különböző típusú vírus szekvencia volt jelen (7 mintában HGyV+CAV, 2 mintában HGyV+GyV3+CAV, 2 mintában HGyV+GyV4+CAV).

Tanulmányunkban előzetes metagenomikai eredményekre alapozva egy vadászgörény-állomány székletmintáiban előforduló gyrovírusok előfordulását mértük fel. A 20 vizsgált egyedből 14-ben kimutattuk valamelyik gyrovírus típusát, illetve igen gyakori volt a különböző gyrovírusok egyidejű jelenléte. A táplálékkal elfogyasztott vírusok bélsárral történő ürítése jól ismert jelenség, és esetünkben a CAV és az AGV2 jelenléte is erre utalhat. Azonban az eddig csupán emberből kimutatott variánsok azonosítása új kérdéseket vet fel. Elképzelhető, hogy hobbiállatként az emberrel közeli kapcsolatba kerülő vadászgörények rezervoár, illetve közvetítő szerepet töltenek be a humán gyrovírusként ismert variánsok terjesztésében.

KÖZÉP-EURÓPÁBÓL SZÁRMAZÓ SERTÉS CIRCOVÍRUSOK FELMÉRÉSE

Lőrincz Márta, Tombácz Kata, Cságola Attila, Tuboly Tamás

Bevezetés: A *Circovirus* genus tagjai kisméretű, körkörös, egyszálú DNS genommal rendelkező vírusok. Közülük, a sertéseket megbetegítő porcine circovirus 2 (PCV2) világszerte elterjedt. Genetikai sajátosságai alapján ezeket a vírusokat három genotípusba (PCV2a, PCV2b és PCV2c), ezen belül 8 szubtípusba sorolják. A vírusgenom rendkívül változékony, a DNS vírusokhoz mérten igen magas mutációs rátával rendelkezik. A járvány kezdetén jellemző nagyfokú genetikai diverzitás az utóbbi hét-nyolc évben a beszűkülés jeleit kezdte mutatni, ami alapján feltételezhető, hogy az ismeretlen eredetű vírus sertéshez történő adaptációja befejeződőben van. Ezt a természetes folyamatot azonban befolyásolhatja, hogy mind szélesebb körben folynak a circovírus elleni vakcinázások. Jelentős tényező lehet továbbá, hogy a PCV2-vel fertőzött vaddisznó állományok folyamatos vírus utánpótlásként szolgálnak.

Az első, Közép-Európát érintő kiterjedt PCV2 genetikai felmérés 2007-ben zajlott. Mostani munkánk során a térségünkben származó circovírusok genetikai felmérése mellett elvégeztük a 2007 óta azonosított és a 2007 előtt leírt PCV2 genomszekvenciák összehasonlító vizsgálatát is azzal a céllal, hogy megállapítsuk, a vírus genetikai állománya milyen változásokon ment keresztül, valóban megfigyelhető-e egyfajta genetikai homogenizálódás, illetve a 2007-ben elindult PCV2 vakcinázás hatással lehetett-e erre a folyamatra

Anyag és Módszer: A felmérés során 5 magyarországi, 3 romániai, 5 szerbiai, 10 horvátországi és 2 lengyelországi PCV2 teljes genomot szekvenáltunk, amikhez kiegészítésként további 67 közép-európai és 691 a világ más területeiről származó, GenBankból letöltött szekvenciával dolgoztunk. A teljes genomok nukleotid- és a jószolt kapszid fehérjék aminosav- sorrendjét is összehasonlítottuk, a Lasergene MEGA 5.2 programcsomag segítségével.

Eredmények: A szekvenciákat országonként összehasonlítottuk. Ezek alapján a 95 % fölötti volt az egyezés a vírusgenomok között. A filogenetikai analízis eredményeként sem PCV1, sem PCV2a genotípust nem találtunk. A szubtípusok közül elsősorban a PCV2b-A terjedt el térségünkben, emellett PCV2b-B szubtípust és a legújabb elnevezés szerinti PCV2d genotípust (PCV2b-C) is azonosítottunk.

Következtetések: A kapszid fehérje vizsgálatával készített filogenetikai fa alapján a PCV2b-n belül a szubtípusok nem voltak elkülöníthetőek, így ennek használatát a további elemzéseknél elvetettük. Megállapítottuk, hogy vírusok ebbe a mesterségesen kialakított rendszerbe nem minden esetben illeszkednek, hiszen nemcsak a mutáció, de a rekombináció sem ritka jelenség a vírusok között. Vizsgálataink alapján Közép-Európában a várt PCV2 genetikai beszűkülés figyelhető meg, ám a világ más tájain a vírusok között egy olyan variáns is terjedőben van, amelynek a kapszid fehérjéje eggyel több aminosavból áll, ami magyarázatot adhat arra a jelenségre, hogy egyes területeken a vakcinázások hatékonysága a vártnál kisebb mértékű. Ezt az új vírusváltozatot a térségünkben kimutatott PCV2-k között is azonosítottuk.

Köszönetnyilvánítás: A vizsgálatokhoz szükséges anyagi támogatást az NKB15929 biztosította.

CIRKOVÍRUS REP SZEKVENCIÁK KIMUTATÁSA ŐSIBB GERINCESEKBEN

Tarján Zoltán László, Péntes J. Judit, Tóth P. Róza, Benkő Mária

Évtizedekig csak a madarak és a sertés cirkovírusos fertőzöttsége volt ismert. A kimutatási technikák tökéletesedésének köszönhetően az utóbbi néhány évben számos újabb cirko- és cirko-szerű vírus genomjának részleges vagy teljes szekvenciája vált ismertté különféle környezeti mintákból és szennyvizekből. A *Circoviridae* családba sorolható, kis, cirkuláris, szimplaszálú DNS vírusok újabb képviselőit gerinctelenekben, további emlősökben, sőt emberben is kimutatták. Nemrégiben magyar kutatók halakban fedeztek fel cirkovírusokat. Azonban mindeddig nem volt adat cirkovírusok kételtűekben és hullókben való előfordulására vonatkozóan. Vizsgálataink célja az ősbibb gerincesek vírusai által képviselt biodiverzitás feltárása és a gazda-vírus kapcsolatok feltérképezése. Ennek keretében végeztünk szűrővizsgálatot cirkovírusok kimutatására.

Összesen csaknem 300 olyan mintát vizsgáltunk, amely korábban adeno- és herpeszvírusok jelenlétére negatívnak bizonyult. A 236 hal (34 faj), 9 kételtű (2 faj) és 49 hulló (4 faj) minta hazai természetes élőhelyekről, halgazdaságokból vagy állatkereskedésekből származott. A DNS kivonásához a belső szervek keverékét, vagy élő egyedek esetében kloaka tampont használtunk. A cirkovírusok kimutatását a Halami és mtsai (2008) által tervezett, konszenzus, kétkörös PCR-rel végeztük, amely a replikációs fehérje génjének (*rep*) kb. 350 bp méretű szakaszát erősíti fel. A PCR termékek nukleotid-sorrendjét meghatároztuk, majd elemeztük, és filogenetikai számításokat végeztünk.

A halminták közül 6 (2,5%), a kételtűek mintái közül pedig 3 (33,3%) bizonyult pozitívnak, míg valamennyi hulló eredetű minta negatív volt. Egy dévérkeszegben (*Abramis brama*) a korábban hazai pontyfélékben kimutatott cirkovírusokéhoz hasonló szekvenciájú DNS-t mutattunk ki. Egy-egy balin (*Aspius aspius*), bodorka (*Rutilus rutilus*) és feketeszájú géb (*Neogobius melanostomus*) mintájából kinyert szekvenciák szintén újak bizonyultak, de a legközelebbi rokonságot különféle természetes vizek vagy szennyvizek vizsgálata során, korábban külföldön leírt cirkovírus-szerű szekvenciákkal mutatták. A kételtűek közül egy elhullott barna varangy (*Bufo bufo*) mintájában a szintén hazai felfedezésű harcsa-cirkovíruséhoz hasonló, új szekvenciát mutattunk ki. Az ausztrál levelibéka (*Litoria caerulea*) egy elhullott és egy élő példányában azonos *rep* szekvenciát találtunk, ami a filogenetikai fán legközelebb a madarak cirkovírusainak ágához került. Meglepetésünkre két halban, nevezetesen egy dévérkeszegben és egy folyami gébben (*Neogobius fluviatilis*) 2-es típusú sertés-cirkovírus (PCV2) szekvenciát mutattunk ki.

A szekvenciák egyikében sem találtunk stop kodont vagy leolvasási kereteltolódást (frameshift), így feltételezhető, hogy replikációra képes vírusok genomjából erősítettünk fel DNS-szakaszokat. Mivel a minták többsége tartalmazott emésztőcsatorna eredetű szövetet és/vagy bélsarat, eredményeinkből kellő óvatossággal tudunk következtetéseket levonni. A feltételezett vírusok jelenléte nem szükségszerűen jelenti a gazda aktív fertőzöttségét. A PCV2 a halakba legvalószínűbben passzív kontamináció útján jutott, és kimutatása felhívja a figyelmet a fertőzés vízzel vagy hallal való közvetítésének lehetőségére. Az újabban felismert gazdáiban az új cirkovírusok esetleges kórokozó hatásának vizsgálata érdekes eredményeket ígér. Az új vírusok megerősítéséhez tervezzük a genomok teljes nukleotid-sorrendjének meghatározását a részleges *rep* szekvencia alapján kidolgozott, inverz PCR segítségével.

Kutatásaink anyagi feltételeit az OTKAK100163 pályázata biztosítja.

ADENOVÍRUS FIBER FEHÉRJÉK HÁROMDIMENZIÓS SZERKEZETÉNEK VIZSGÁLATA RÖNTGENDIFFRAKCIÓS MÓDSZERREL

Ballmann Mónika Z.^{1,2}, Abhimanyu Kumar Singh², Thanh Nguyen², Vidovszky Márton Z.¹, Harrach Balázs¹, Mark J. van Raaij²

Az adenovírusok (AdV-ok) sejtmembránhoz való elsődleges kapcsolódása antenneszerű fehérjényűlványaik, az úgy nevezett fiberek útján jön létre. A homotrimerikus fiber fehérje három szerkezeti egységre osztható. Az amino-terminális farok domén a virionok csúcsain található kapszomerbe, a penton-alapba ágyazódik. Egy penton-alapon általában egy, de az aviadenovírusok esetében két fiber található függetlenül a fiber-gének számától. A fiber középső, szár része vírusfajonként eltérő hosszúságú lehet, és ennek megfelelően flexibilitása is változatos. A globuláris feji domén felelős a gazdasejthez való kapcsolódásért, így a virionok sejt-specifitásban is meghatározó szerepe van; aminosav összetétel és méret szempontjából nagy variabilitást mutat. A fiberek háromdimenziós szerkezetére vonatkozó ismereteink zömét a humán AdV-ok vizsgálatával nyerték. Az *Aviadenovirus* nemzetségből csak egyetlen vírus, a tyúk-adenovírus 1 fibereinek szerkezetét tanulmányozták, míg a többi nemzetség tagjaiban előforduló fiberek szerkezetét alig ismerjük.

Célunk, hogy meghatározzuk minél több, különböző nemzetségbe sorolt, állati adenovírus fiber fehérjéinek háromdimenziós szerkezetét.

A kiválasztott AdV-ok teljes vagy az 5'-végén különböző mértékben deletált fiber génjét PCR segítségével felerősítettük, majd a pET-28a+ expressziós vektorba klónoztuk. A BL21 (DE3), C41 (DE3) és/vagy JM109 (DE3) *E. coli* törzsekkel kifejeztetett fehérjéket Ni-NTA oszlopon, és ioncserés kromatográfia segítségével tisztítottuk. A kristályosítást kristályosító lemezekon gözdiffúziós ülcsepp technikával végeztük. A keletkezett kristályokat mikro-hurkokkal összegyűjtöttük, majd folyékony nitrogénben fagyasztottuk. A fehérjék háromdimenziós szerkezetét röntgen-krisztallográfiás módszerrel határoztuk meg.

Eddig négy AdV öt fiber fehérjéjét sikerült oldható formában kifejeznünk és tisztítanunk. A *Mastadenovirus* nemzetségből a 2-es típusú egér-adenovírus (MAdV-2), a siadenovírusok közül a THEV, az *Atadenovirus* nemzetségből a 4-es típusú szarvasmarha-adenovírus (BAdV-4) fiberét vizsgáltuk. Tanulmányoztuk továbbá a 2-es típusú gyík-adenovírust (LAdV-2) is, az első olyan atadenovírust, amely két (1-es és 2-es) fiber-génnel rendelkezik. Mind az öt fehérjét sikeresen kristályosítottuk. A LAdV-2 1-es fiberének aminosav szekvenciája 35% azonosságot mutatott az 1-es típusú kígyó-adenovírus fiberével, így ennek alapján a LAdV-2 fiber feji doménjének szerkezetét molekuláris helyettesítés módszerével tudtuk meghatározni. A THEV, MAdV-2, BAdV-4, valamint a LAdV-2 másik (2-es) fiber fehérjéjének hasonlósága a már ismert szerkezetű fiberek szekvenciájához túl alacsony (<20%), ezért a molekuláris helyettesítés nem alkalmazható. Szerkezetük meghatározásához további, nehézatomot tartalmazó módosított fehérjék létrehozása szükséges. Ezt a THEV fiberével már elvégeztük.

A fiber térszerkezetének ismeretében az AdV-ok tropizmusa, sejthez való kapcsolódásuk mechanizmusa és a használt sejt receptorok természete tanulmányozható. Az adatok hasznosak lehetnek génkifejező vektorok és alegység vakcinák előállításához is.

Köszönet Papp Tibornak és Péntes Juditnak a LAdV-2 DNS-ért és szekvenciájáért. Támogatás: OTKA NN107632, FEMS Research Fellowship.

GENOMIC AND BIOINFORMATICS ANALYSIS OF SIMIAN ADENOVIRUS 19 CONFIRMS THE NEED TO ESTABLISH A NEW ADENOVIRUS SPECIES

Podgorski, Iva, Harrach Balázs, Benkő Mária

Adenoviruses (AdVs) are icosahedral, non-enveloped viruses with double stranded, linear DNA genome. Because of their widespread occurrence in a variety of vertebrate hosts, AdVs make an ideal model for the study of viral evolution. They also keep gaining popularity as gene delivery vectors to be used as recombinant vaccines or therapeutic agents in genetic diseases and tumors. However, preexisting antibodies in the human population significantly limit the medical use of human AdVs (HAdVs). In the framework of an EU-financed project, we seek animal AdVs that could serve as appropriate alternatives. Our research group is also interested in the taxonomy of the *Adenoviridae* family.

More than 50 HAdV types are classified into seven HAdV species (HAdV-A to HAdV-G) within the genus *Mastadenovirus*. While HAdVs are among the best-studied viruses, the AdVs of the more ancient simian lineages especially those of the New World monkeys are hardly known. Species *Simian adenovirus A* (SAdV-A) is so far the only species officially approved for monkey AdVs exclusively. The purpose of the present work was to examine the genetic content and phylogenetic relationships of an Old World monkey AdV (SAdV-19) isolated from yellow baboon (*Papio cynocephalus*).

Full genome sequencing of the prototype strain (VR-275) of SAdV-19 was performed. Consensus and specific PCR primers were applied to amplify conserved genome fragments and to connect them, respectively. Program Artemis was used for the genome annotation, while the Mobyle portal and ProtTest program were used for phylogenetic calculations.

The SAdV-19 genome was found to consist of 34,063 bp with an average G+C content of 52%. Every gene characteristic of the genus *Mastadenovirus*, including that of the hypothetical agnoprotein, could be identified. Among the 38 putative genes, we found a single VA-RNA gene, and two genes of different lengths predicted to code for the adenoviral cellular attachment protein, the fiber. For the first time in SAdVs, the two other exons belonging to the so-called U exon were also identified. Since the initiation of this project, genomic study of several novel AdVs from Old World monkeys has been published by others. These included two new baboon AdV strains (BaAdV-2 and BaAdV-3) proposed to form novel species *Simian adenovirus C* (SAdV-C).

Phylogenetic calculations based on the major capsid protein, the hexon, implied that SAdV-19, BaAdV-2 and BaAdV-3 represent three different (sero)types within the proposed species SAdV-C. However, significant divergence was found between the shorter fiber proteins (fiber1) of SAdV-19 and BaAdV-2 or BaAdV-3. The closest relative of fiber1 of SAdV-19 in the GenBank was that of SAdV-1, sharing ~47% amino acid sequence identity. This finding reflects that a usually rare, inter-species homologous recombination event took place between two viruses (or their close ancestors or relatives) in the past.

Support: EU FP7 ADVance grant.

AZ EQUID HERPESVIRUS 5 KÓRTANI SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA LOVAK MULTINODULÁRIS TÜDŐFIBRÓZISÁBAN, VALAMINT KIMUTATÁSA, EGÉSZSÉGES ÉS LÉGZŐSZERVI TÜNETEKET MUTATÓ LOVAKBÓL

Moravszki Letícia¹, Bakonyi Tamás², Sárdi Sára¹, Bohák Zsófia¹, Mikó Péter¹, Balogh Nándor³, Nagy Krisztina¹, Kutasi Orsolya¹

Az equid herpesvirus 5 (EHV-5) kimutatásra került mind egészséges, mind pedig légzőszervi betegségekben szenvedő lovakból vett mintákban, 2007 óta pedig összefüggésbe hozzák a lovak multinoduláris tüdőfibrózisával (EMPF) is. Több közleményben tanulmányozták kórtani szerepét, valamint lóállományokban való elterjedését. Előfordulási gyakorisága nagyon változékony. A magyarországi állományokban való előfordulásáról nincsenek széleskörű, friss adataink.

Vizsgálatunk célja, hogy meghatározzuk az EHV-5 előfordulási gyakoriságát egészséges és krónikus légzőszervi tüneteket mutató lovakban, illetve utóbbiak esetében vizsgáljuk az esetleges kóroki szerepét az EMPF kialakulásában. Felmérjük, hogy milyen mintavételi módszer a legalkalmasabb a fertőzöttség megállapítására.

Bronchoalveoláris lavage során nyert folyadékot (BALF) gyűjtöttük a SzIE ÁOTK Nagyállatklinikájára kivizsgálásra érkező 92 lóból (5 esetben orrtampon és vérmintákat is), továbbá orrtampon, vér és BALF mintákat gyűjtöttünk 20 lipicai lóból, orrtampon, vér és BALF mintákat 11 sportló fajtájú ugrólóból, továbbá orrtampon és vérmintákat 16 ugrólóból. Az EHV-5 nukleinsavának jelenlétét polimeráz láncreakció segítségével, vírus specifikus primerek felhasználásával vizsgáltuk.

A kutatásban résztvevő 139 állatból 24 (17,3%) esetben került kimutatásra az EHV-5 legalább a vizsgált minták egyikéből. Az orrtampon minták esetében 20/52 (38,5%), a vérminták esetében 4/52 (7,7%), míg a BALF mintáknál 8/123 (6,5%) volt pozitív. A pozitív csoportból 11 (45,8%), a BALF mintán EHV-5 pozitív lovak közül pedig mindegyik mutatott krónikus légzőszervi tünetet. Három esetben a kórszöveti eredményekre, tüdő biopsziára, valamint post- mortem szövetmintákra alapozva bizonyítottan EMPF, 2 esetben a mellkasi ultrahang leletekre, EHV-5 pozitivitásra valamint intracelluláris zárványokra alapozva, feltételezhetően szintén EMPF volt a tünetek hátterében. Az EMPF-el diagnosztizált lovak BALF mintája minden esetben EHV-5 pozitív volt. A három EMPF-ben elpusztult ló közös genetikai háttérrel rendelkezett.

Az EHV-5 viszonylag széles körben fordul elő a hazai lóállományokban. A fertőzöttség megállapítására, az orrtampon minta a legalkalmasabb, mert a vírus jóval többször került kimutatásra ebből a mintából. Az EHV-5 jelenléte a BALF mintákban szignifikáns összefüggést mutatott az EMPF diagnózisával (Fisher teszt, $p < 0,001$). Az EMPF kialakulásának hátterében viszont a vírusfertőzés mellett további faktorok, pl. genetikai, szükségessége is feltételezhető.

Köszönettel tartozom a lovak tulajdonosainak és a Szilvásvárad Állami Ménesgazdaságnak, a laboratóriumi munka elvégzéséért és a mintavételekért a SzIE ÁOTK NÁK dolgozóinak, valamint a Kutatói Karnak az Új Kutatási Témában kapott pénzügyi támogatásért.

SzIE, ÁOTK, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék¹ Virologia
Cseh Tudományos Akadémia, Gerinces-biológiai Kutatóintézet, Brno, Csehország²
SzIE, ÁOTK, Belgyógyászati Tanszék és Klinika³
MgSzH, Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság⁴
Országos Epidemiológiai Központ, Virális Zoonózisok Nemzeti Referencia Laboratóriuma⁵
Állatorvos-tudományi Egyetem, Virologiai Intézet, Bécs, Ausztria⁶
Sultan Qaboos Egyetem, Orvos- és Egészség-tudományi Kar, Muscat, Oman⁷

KUTYÁK NYUGAT-NÍLUSI VÍRUSFERTŐZÉSÉNEK SZEROLÓGIAI FELMÉRŐ VIZSGÁLATAI MAGYARORSZÁGON

Somhegyiné Barna Mónika¹, Zdenek Hubálek², Kubik Noémi³, Juhász Tamás Attila⁴, Ivo Rudolf², Helga Lussy⁶, Szomor Katalin⁵, Norbert Nowotny^{6,7}, Bakonyi Tamás^{1,6}

A *Flaviviridae* család, *Flavivirus* nemzetségébe sorolt vírusfajok számos közös felszíni antigénnel rendelkeznek, ezért a szerológiai diagnosztikai vizsgálatok során keresztreakciókat lehet megfigyelni köztük. Ez megnehezíti a pontos diagnózis felállítását, főként azokon a területeken, ahol többféle flavivírus is endemikus. Magyarországon három flavivírus faj, a kullancsencephalitis vírus (Tick-borne encephalitis virus, TBEV), a nyugat-níluszi vírus (West Nile virus, WNV,) és az Usutu vírus (USUV) előfordulása ismert. Az utóbbi években halmozottan fordultak elő nyugat-níluszi vírusfertőzéshez köthető idegrendszeri megbetegedések emberekben, valamint vadon élő és háziállatokban (főként lovakban), mind Magyarországon, mind közép- és dél-Európa más országaiban. Kutya nyugat-níluszi vírusfertőzésre való fogékonyságát az elmúlt évtizedben több esetben igazolták. Jelen kutatás során hazai kutya savómintáit vizsgáltuk meg nyugat-níluszi vírus elleni ellenanyagok kimutatására azzal a céllal, hogy megállapítsuk, hogy milyen gyakorisággal fertőződnek kutya ezzel a vírussal.

Magyarország különböző régióiból, 2006 és 2013 között gyűjtött, flavivírus fertőzés tüneteit nem mutató, 343 kutya savómintáját vizsgáltuk meg kompetitív ELISA módszerrel, WNV IgG ellenanyagok jelenlétére. A vizsgálatok során 77 pozitív és 4 kétes savómintát találtunk. Az eredmények megerősítése céljából a pozitív savómintákat ismételtén megvizsgáltuk a leginkább specifikusnak tartott plak-redukciós vírusneutralizációs próbával, WNV, TBEV és USUV antigénekkkel. Emellett 21, ELISA-pozitív savómintát indirekt immunfluoreszcenciás (IIF) és haemagglutináció gátlási (HAG) próbával is megvizsgáltunk mindhárom antigénnel.

A megvizsgált kutya 24%-nál flavivírus-elleni ellenanyagokat mutattunk ki az összehasonlító szerológiai vizsgálatok során, és 18 esetben (5%) az egyes antigénekkkel szembeni neutralizáló ellenanyag-szintek közötti eltérések arra utaltak, hogy nyugat-níluszi vírusfertőzésen eshettek át ezek az állatok. Hat kutyanál feltételezhető, hogy korábban USUV fertőzésen eshettek át, bár nem lehetett egyértelműen felállítani a diagnózist az alacsony- vagy hasonló ellenanyag szintek miatt. TBEV elleni neutralizáló ellenanyagokat csak egy savómintából lehetett kimutatni, alacsony titerben. Az IIF és HAG próbákkal kevésbé egyértelműen lehetett azonosítani az ellenanyagok specifikusságát. A vizsgálatok eredményei arra utalnak, hogy a kutya körében viszonylag gyakori a tünetmentes átvészeléssel járó WNV fertőzés. Mivel a kutya társállatok, hasonló mértékben lehetnek kitéve WNV fertőzésnek, mint gazdáik. Ezért a kutya passzív szerológiai felmérése (pl. egyéb vizsgálatok céljából gyűjtött kutya-savóminták ELISA vizsgálata) alkalmas eszköz lehet az emberi WNV fertőzések kockázatának előjelzésére, a vírus endémiás jelenlétének kimutatására. Az ELISA-alapú vizsgálatok eredményeit neutralizációs próbával szükséges megerősíteni.

A kutatást az EDENext és Vectorie EU FP7 projektek támogatták.

Országos Epidemiológiai Központ¹
MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet²
SZIE Állatorvos-tudományi Kar, Parazitológiai és Állattani Tanszék³
ELTA Természettudományi Kar, Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék⁴

Virologia

EGY TERMÉSZETES KULLANCSEPHALITIS-GÓC 4 ÉVES VIZSGÁLATA, 2010-2013

Zöldi Viktor¹, Papp Tibor², Rigó Krisztina³, Farkas János⁴, Egyed László²

Bevezetés: Egy korábbi, kecsketej közvetítette kullancsencephalitis járvány kapcsán 2009-ben területileg pontosan azonosítottuk a feltételezett kullancsencephalitis gócot.

Cél: Az azonosított, kb. 0,5 hektár méretű góc, és benne a vírus–kullancs–rágcsáló természeti ciklus vizsgálata, havi rendszerességgel ismételt terepi kullancs- és kisemlős gyűjtésekkel, annak érdekében, hogy új virológiai és ökológiai adatokat nyerjünk a kullancsencephalitis epidemiológiájáról.

Módszer: A kullancs- és kisemlős gyűjtést egy Zala megyei település mellett, több mint 20 éve felhagyott, egykori szilvafaültetvényen, egymás mellett hét sorban elhelyezkedő, összesen 49 darab, 10x10 méteres kvadrátban végeztük, 2010 áprilisa és 2013 októbere között, összesen 29 kiszállási alkalom során. A táplálékkereső kullancsokat dragging módszerrel gyűjtöttük a növényzetről és a talajról, fajukat és stádiumukat meghatároztuk, majd belőlük poolokban próbáltunk kullancsencephalitis vírust izolálni. A kisemlősöket élve fogó csapdákkal fogtuk be, vérmintákat gyűjtöttünk, majd megjelölés után a csapdázás helyén visszaengedtük, a szérumokat pedig kullancsencephalitis vírus specifikus ellenanyagok jelenlétére nézve megvizsgáltuk.

Eredmény: Az összesen gyűjtött 7247 kullancsból három alkalommal (három poolból) izoláltunk kullancsencephalitis vírust. A vizsgált 539 kisemlős szérumból 30 bizonyult szeropozitívnak. A vírus a túléléséhez olyan területeket igényel, ahol mind a kullancs, mind a kisemlős populáció sűrű, ám a prevalenciája a kullancsokban (0,404%) és szeropozitivitása a kisemlősökben (5,57%) is nagyon alacsony.

Következtetés: Az adott pillanatban vírusátviteli kockázatnak kitett területek mindig kis, néhány négyzetméter nagyságú pontok, ahol a vírushordozó kullancs adultok, nimfák vagy lárvák éppen táplálékkereső aktivitást mutatnak. A természeti góc számos ilyen, előre nem jelezhetően változó helyzetű fertőző pontból áll, amely legfeljebb a vírushordozó adultok gazdaszervezet általi elszállításakor kerülhet néhány kilométer távolságra. Ezen természeti gócok felszámolása gyakorlatilag lehetetlen, esetenként a növényzet ritkításával lehet kedvezőtlenebbé tenni a viszonyokat, mind a kisemlősök, mind a kullancsok számára.

Köszönetnyilvánítás: Köszönjük Ádámszki Szabolcsnak a gyűjtésben való részvételét 2011-ben, valamint a Rákóczi családnak a terepmunka szervezésében nyújtott segítségüket. A munkát az OTKA K81258 és K103937 támogatásával végeztük.

A VESZETTSÉG ISMÉTELT HAZAI ELŐFORDULÁSA ÉS AZ EDDIG KAPOTT EREDMÉNYEKBŐL LEVONHATÓ KÖVETKEZTETÉSEK

Juhász Tamás, Rigó Dóra, Malik Péter, Kecskeméti Sándor, Hornyák Ákos

Bevezetés: 2013 szeptemberében Kecskemét mellett rendellenesen viselkedő rókát lőttek ki, melynek diagnosztikai vizsgálata során IF és qRT-PCR módszerekkel veszetséget állapítottunk meg. A további laborvizsgálatok a diagnózist egyértelműen megerősítették. A betegség megjelenése az ország nem immunizált középső területén nemcsak váratlan, de első látásra megmagyarázhatatlan is volt.

Cél: Munkatársainkkal két elsődleges célt tűztünk ki: a szekvenálás módszerével megállapítani a vírus genotípusát, mely alapvető fontosságú a góccimmunizálás elkezdése szempontjából. Másik tisztázandó kérdés volt a vírus eredetének kiderítése: behurcolás történt-e vagy egy hazai maradványgócból indult ki a rókapopuláció újrafertőződése, esetleg a határsáv immunizálási hatékonyságának a csökkenése miatt lobbant fel ismételten a járvány.

Módszer: A diagnosztikai módszerek a következők voltak: (IF, qRT-PCR, VI, KÁ, szövettan, IHC és szekvenálás. Ez utóbbit a nukloproteint kódoló génen kezdtük, majd a glükoprotein génen folytattuk, itt további lehetőség az intergenikus régió szekvenálása az L-polimeráz irányában.

Eredmény: A járványgóc földrajzilag jól körülhatárolható területről indult: Kecskemét – Lakitelek – Tiszajenő, amely a három héttel később elkezdett góccimmunizálás idejét követően is növekedett elsősorban északi és déli irányban. December 3. hetében két elhullott szarvasmarhában is diagnosztizáltuk a betegséget. Az eddig elvégzett 21 szekvenálási eredmény a nukleoprotein génen egy vírusbehurcolást mutatott, valamennyi izolált vírus a Kárpátokban élő rókapopuláció veszetségvírusának vonalába tartozott. Az újonnan izolált hazai vírusok mindössze 3 pozícióban és maximum 1 nt-dal tértek el egymástól, közülük 10 vírus 100%-os azonosságot mutatott, további 8 vírus, majd további 2 vírus egymással ugyancsak 100%-ban volt azonos.

Következtetés: A veszetség kórjelzése, annak legsúlyosabb közegészségügyi vonatkozásai miatt is döntő fontosságú az állatorvosi gyakorlat számára. Laborunk törekedett az országot sújtó gazdasági válság idején is a veszetség diagnosztikai módszereinek fejlesztésére. Jelenleg 7 egymástól különálló módszerrel történik intézetünkben a betegség kórjelzése, melyek együttes alkalmazása mára már kizárja a bármilyen irányban történő tévedést. A gyors diagnózis és a 3 héten belül elkezdett góccvakcinázás eredményeként a fertőzött állatok előfordulási gyakorisága december végére lecsökkent, a háziállatok közül ezidáig csak a legelőn tartott szarvasmarhák betegedtek meg. A genetikai vizsgálatok eddigi eredményei tisztázták a vírus genotípusát és az immunizálás megvalósíthatóságát a hagyományos kereskedelmi forgalomban kapható csalétekbe rejtett vakcinával. A glükoprotein génen történt szekvenálási eredményekről és az azokból levonható következtetésekről a januári beszámolón tudunk tájékoztatást adni.

Köszönetnyilvánítás: Közvetlen munkatársaimnak köszönöm megbízható, lelkiismeretes, erőn felüli, megfeszített és hatékony munkájukat, a NÉBIH vezetésének pedig a gyors reagálását valamint a góccvakcinázás azonnali megszervezését és végrehajtását.

ADATOK A VESZETTSÉGI POSZTINFEKCIÓS ÁLLATOLTÁSOKRA VONATKOZÓ JOGSZABÁLY KIEGÉSZÍTÉSÉHEZ

Hornyák Ákos

Bevezetés: Az elmúlt évben a budapesti ÁDI-ban 1020, az előző évben 1048 egér esett áldozatul a veszettség diagnosztikát szabályozó 81/2002-es FVM rendeletben foglalt, a kísérleti állatoltást elrendelő jogszabálynak. A kérdés mára különösen aktuálissá vált, mert a hazánkban újra megjelenő szilvatikus veszettségnél biztosan számíthatunk a gazdasági haszonállatok és a társállatok fertőződésére is. Ez utóbbi esemény a múltban mindig megemelkedett veszettségre gyanús mintaszámot és azon belül megemelkedett emberi kontaktust követő kísérleti állatoltást is eredményezett. Ennek értelmében a következő évben megduplázódhat, esetleg megháromszorozódhat az eddig sem kevés egéroltások száma.

Cél: Fő célkitűzésem annak bemutatása nyilvános szakmai fórum előtt, hogy a kísérleti állatok ilyen tömegű kínzása és leölése mára, a tudomány ugrásszerű fejlődésének időszakában teljesen értelmetlenné és fölöslegessé vált! Szeretném a beszámolón bemutatott adataimmal elősegíteni az azonnali jogszabály módosítást ebben a kérdésben!

Módszer: IF; időigény 1,5 óra, qRT-PCR; időigény 3,5 óra, VI; időigény 48 – 72 óra, KÁ; időigény 672 óra = 4 hét. A fenti módszerek összehasonlítása érzékenység, specifikusság és ismételhetőség területeken.

Saját eredmény: Az IF módszer első vizsgálatra 38 pozitív 1 kétes és 17 negatív eredményt adott a vizsgálatba vont 56 mintából. A qRT-PCR módszerrel az első vizsgálat ugyanazon eredményei: 38 pozitív és 18 negatív! A vírusizolálással ez az adatsor: 39 pozitív és 17 negatív! A megismételt vizsgálatok a vírusizolálás eredményeit igazolták.

EURL összegyűjtött eredményei: Az IF módszer 4,7% fals pozitív és 1,7% fals negatív eredményt adott, ez utóbbi minden esetben denevér veszettség mintákkal volt kapcsolatos. A VI 7 veszettségvírus 4 genotípusából 25 NRL-ből 2 fals negatív eredményt adott (8%, mindkét minta EBLV volt!) Fals pozitív eredmény nem volt! PCR vizsgálattal ugyanezekből a mintákból 27 NRL-ből 3 fals pozitív eredményt adott (11%). A qRT-PCR módszerrel 150 mintából 9 volt fals negatív (6%, ebből 7 fals negatív eredmény denevér veszettség mintákkal volt kapcsolatos). Az eredményekből egyértelműen kitűnik, hogy a VI nemcsak megfelelően érzékeny, de 100%-ig specifikus módszer volt a mind a saját, mind a vizsgálatban résztvevő többi NRL-ek körében.

Következtetés: A veszettség körjelzésének gyorsasága életbevágó a szó legszorosabb értelmében. A sorozatoltást az érintett személyeknél elméletileg két hétig érdemes elkezdni, ezt követően az immunizálás már nem biztosít védelmet a betegség kórokozója ellen. Az egérfertőzéssel szemben tehát nemcsak morális ellenérvek, de az eredmény megszületésének késedelmessége is hangsúlyozandó és ez utóbbi tény az orvosi ellátásban is nagy súllyal esik a latba. Emellett a posztexpozíciós védőoltások számát a felére lehetne csökkenteni az egéroltás helyetti két másik labordiagnosztikai módszer bevezetésével és így a gyorsabb eredményközléssel, ami nem elhanyagolható gazdasági előnyt is jelent. A PCR és a VI jól kiegészítik egymást; mindkettő nagyon érzékeny és a VI 100%-ig specifikus is. A címben feltett kérdésre tehát egyértelmű a válasz: Nem szükséges és egyáltalán nem is indokolható ez a barbár, középkori módszer! Az idevonatkozó jogszabályt nem kell megszüntetni, csak kiegészíteni a következő mondattal: Amennyiben egy állategészségügyi diagnosztikai laborban rendelkezésre áll a megfelelő szakmai jártasság, műszerezettség, sejtenyésztő részleg és PCR gép, úgy a kísérleti állatoltás kiváltható a két fejlettebb módszer (PCR és vírusizolálás N2a sejteken) egyidejű alkalmazásával, ahogyan ez az OIE Manual-ban (2.1.13.) olvasható. *Wherever possible, virus isolation on cell culture should be considered in preference to the mouse inoculation test (MIT).*

Köszönetnyilvánítás: Közvetlen munkatársaimnak köszönöm megbízható, lelkiismeretes, erőn felüli, megfeszített és hatékony munkájukat, a NÉBIH vezetésének pedig a remélhetően gyors reagálását a mielőbbi jogszabály módosítás elindítására.

SzIE ÁOTK, Állat-egészségügyi Igazgatástani és Agrár-gazdaságtani Tanszék¹

Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft.²

BAZ megyei Kormányhivatal, Élelmiszerlánc-biztonsági és Állat-egészségügyi Igazgatóság³

HAZAI SZARVASMARHATELEPEK BVDV-FERTŐZÖTTségÉNEK LEGFŐBB OKÁT KÉPEZŐ PI-EGYEDEK AZONOSÍTÁSA IDEXX BVDV ANTIGEN „POC FARMTESZT” SEGÍTSÉGÉVEL

Szabára Ágnes¹, Bárdos Krisztina², Hajtós István³, Ózsvári László¹

A szarvasmarha vírusos hasmenése (BVD) ellen számos európai ország sikeres védekezési, ill. mentesítési programot alkalmaz. Az Európában széles körben alkalmazott sikeres skandináv mentesítési program három alapvető eleme: 1. megelőző járványügyi intézkedések; 2. fertőzött állományokban a perzisztensen fertőzött (PI) egyedek felismerése és mielőbbi eltávolítása az állományból; 3. a mentes állományok folyamatos monitoring vizsgálata. Egy szarvasmarha-állományban a legfőbb fertőzési, ill. BVDV fenntartó forrás a PI-egyed, ezért mentesítés esetében a BVD elleni hatékony védekezés a PI-egyedek állományból való eltávolításával, az újonnan bekerült állatok egyedi antigén vizsgálatával, valamint a született borjak legalább egy évig tartó vírus monitorozásával kezdődik, függetlenül attól, hogy az állomány védekezési programja vakcina használatán, vagy vakcina használata nélkül a kórokozó behurcolásának megakadályozásán alapul.

Munkánk során célul tűztük ki, hogy két hazai tejelő tehenészetben a BVDV-fertőzöttségének legfőbb okát képező PI-egyedeket azonosítsuk *Iddex BVDV Antigen POC* farmteszt segítségével és az eredmények alapján az adott állományra vonatkozó mentesítési tervet dolgozunk ki.

- 1. telep:** az Észak-Dunántúli régióban található, 380 tehénből álló tejelő tehenészet. Az állományt 2010-ig BVD ellen Bovipast BVD vakcinával immunizálták. Az állományban 2013-ban jelentkező és növekvő tendenciát mutató szaporodásbiológiai problémák (két ellés közötti idő: 463 nap, vemhesülési arány: 30%, nagyarányú embriófelszívódás) miatt évközben összesen 22 tehen véréből végeztek BVD-re vonatkozóan szerológiai (VN) vizsgálatot, amelyből 10 minta volt pozitív. A szeropozitivitást elsősorban a korábban történt vakcinázás eredményének tekintették, mivel mind a 10 tehenet immunizálták BVD ellen..
- 2. telep:** a Duna-Tisza közének déli részén található 770 tehénből álló tejelő tehenészet. Az állományban 2002 óta BVD-re vonatkozóan rendszeresen történik szerológiai vizsgálat (VN), emellett vetelés, ill. export-előkészítés esetén vírusizolálás is, amelyek eredményei 2013 januárjáig negatívak voltak (nem deklarált mentes állomány). 2013 februárja óta az állományban rendszeres szerológiai és a vírusűrtő egyedek felderítésére RT-PCR vizsgálatokat végeznek.

Az 1. telepen a szaporodásbiológiai problémák háttérében esetlegesen felmerülő BVD-fertőzöttség következtében a PI-egyedek felderítése céljából teljes állományszűrést tervezünk (eddig 62 borjú és 240 tehen fülporc-vizsgálata történt meg). A 2. telepen 2013 novembere óta minden újonnan született borjú fülporc-vizsgálata történik a kolosztrum megítatása előtt *Iddex BVDV Antigen POC* farmteszttel. A BVDV-antigén kimutatására alkalmas gyorsteszt használata esetén 2,5 mm átmérőjű fülporc mintát használtunk (100% specificitás, 100% szenzitivitás) (95 CI). A gyorsteszt optimális működéséhez szükséges hőmérséklettartomány 10-40 °C, a minta kiértékeléséhez szükséges idő 15-30 min.

Az 1. telep esetén az eddig vizsgált 302 egyed mintája mind negatív eredményű lett. A 2. telepen 165 borjú fülporc-mintájának vizsgálata során 11 esetben kaptunk pozitív eredményt. *Tudományos munkám anyagi feltételeinek biztosításáért szeretném kifejezni köszönetemet a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottságnak.*

A BVD ELLENI VÉDEKEZÉS JOGSZABÁLYI ALAPJAI

Szabára Ágnes

A hazai szarvasmarha-ágazat számára a legnagyobb közvetlen (termelési) vagy közvetett (kereskedelmi) kárt okozó fertőző betegségektől való sikeres mentesítések Európai Unió általi elismerésének elmaradása (szarvasmarha gümőkór, brucellózis), vagy a mentesítési programok nem megfelelő kivitelezése, elhúzódása (enzootiás bovin leukózis, IBR) tartós versenyhátrányt jelent azokhoz az uniós tagállamokhoz képest, amelyek ezen betegségektől már hivatalosan mentesek. A szarvasmarha vírusos hasmenése (BVD) ellen számos európai ország sikeres védekezési, ill. mentesítési programot alkalmaz. A hazai szarvasmarha-ágazat nemzetközi versenyképességének megtartása érdekében a BVD-vel szembeni védekezés kérdésköre Magyarországon is aktuális.

A BVD 2006 óta a nemzetközi élőállat-forgalom szempontjából fontos, OIE listás betegségek közé tartozik, ennek ellenére az Állategészségügyi Világszervezet szárazföldi állatokra vonatkozó Nemzetközi Állat-egészségügyi Szabályzata (Terrestrial Animal Health Code) ez idáig nem határozta meg a BVD szempontjából mentes állomány, régió, vagy ország fogalmát, valamint az ehhez kapcsolódó vizsgálati és igazgatási követelményeket. A 82/894/EGK tanácsi irányelv a BVD-t nem sorolta a közösségi szinten bejelentési kötelezettség alá tartozó fertőző betegségek körébe. Hazánkban a BVD, a 113/2008. (VIII. 30.) FVM rendelet szerint jelenleg szintén nem tartozik a bejelentési kötelezettség alá vont fertőző állatbetegségek csoportjába.

Az EU tagállamai a Bizottság által jóváhagyott nemzeti ellenőrzési, vagy mentesítési programot dolgozhatnak ki, majd ennek alapján, a Közösségen belüli kereskedelemben a más tagállamból érkező állatokkal kapcsolatban kiegészítő garanciákat követelhetnek meg. A hazai Állat-egészségügyi Szabályzat lehetőséget biztosít arra, a továbbtartásra és tenyésztésre szánt nőivarú állatok belföldi forgalomba hozatalának feltételeként a minisztérium BVDV-re irányuló és negatív eredményű előzetes vérvizsgálatot írhat elő. Hazánkban a gazdasági haszonállatok szaporításának, a szaporítóanyag előállításának és belföldi forgalomba hozatalának állat-egészségügyi követelményei egyenértékűek az OIE és az EU vonatkozó előírásaival.

A BVDV szarvasmarha állományok közötti terjedésének megelőzésében fontos, hogy a karanténzás alatt megköveteljék az Állat-egészségügyi Szabályzat 12. számú függelékének I. szakaszában előírtakat, míg az EU tagállamokból, vagy ún. harmadik országokból származó tenyészállatok behozatalakor az említetteken túlmenően a II. szakaszában meghatározott külön követelményeket is.

A kórokozó mentes állományokba történő behurcolásának megakadályozása érdekében a megelőző járványvédelmi rendszabályokat szigorúan be kell tartani, ill. a fertőzött, esetleg tünetmentes állományban fel kell ismerni és mielőbb el kell távolítani a perzisztensen fertőzött (PI) – vagyis a kórokozó hordozó és vírusürítő, de szerológiailag negatív – egyedeket. Hazánkban egy esetleges kötelező országos mentesítési program kezdetéig a BVDV-től való mentesítésre önkéntes alapon vállalkozó gazdaságok esetében egyedi mentesítési terveket szükséges kidolgozni a külföldi és hazai ajánlások figyelembevételével.