

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA  
ÁTE ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

**AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK**  
(2023. JANUÁR 30-31.)

**IMMUNOLÓGIA**  
**BAKTERIOLÓGIA**  
**VIROLÓGIA**

2022. évi 49. füzet

## ELŐSZÓ

### **Kedves Kollegánók és Kollegák!**

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és az Állatorvostudományi Egyetem Állatorvostudományi Doktori Iskolája 2023. január 30-án és 31-én tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló **Akadémiai Beszámolók** ülésorozatot, amelyre idén 49. alkalommal kerül sor az Állatorvostudományi Egyetemen.

Az előző évek gyakorlatának megfelelően a beszámolókon PhD-hallgatók és a kiemelkedő munkát végző TDK-hallgatók szereplését külön is szorgalmazzuk, és reméljük, hogy a rendezvény jó alkalmat nyújt a különböző tudományos-szakmai műhelyeket és korosztályokat képviselő, egymás munkája iránt érdeklődő szakemberek találkozására.

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

Az Akadémiai Beszámolókat több év után ismét személyes részvétel formájában tartjuk az Állatorvostudományi Egyetem Tolnay Sándor termében. Az előadások kis száma miatt az egyes szekcióülések közvetlenül követik egymást. Az előadások időtartama legfeljebb 10 perc, további 5 percet számoltunk a kérdésekre és hozzászólásokra. Kérjük, hogy a megadott időtartamot senki ne lépje túl. Az előző évek gyakorlatának megfelelően, nem az előadások számára, hanem azok szakmai-tudományos értékére helyezzük a súlyt.

Kérjük az egyes szekcióbizottságok elnökeit, titkárait és tagjait, hogy az akadémiai beszámolón aktívan vegyenek részt, kérdéseikkel, hozzászólásaikkal biztosítva a rendezvény magas színvonalát.

A szekciók titkárait arra is kérjük, hogy a szekcióülésről február végéig készítsenek és juttassanak el az Állatorvos-tudományi Bizottság titkárához (fodor.laszlo@univet.hu) egy-egy rövid, közérthető formában megírt, a szekcióelnökökkel egyeztetett tájékoztatót a Magyar Állatorvosok Lapjában való közlés céljából, amely tartalmazza az előadások legfontosabb megállapításait.

Kérjük az intézetek vezetőit, hogy az elektronikus úton megküldött anyagot szíveskedjenek munkatársaik és érdeklődő nyugdíjasaik számára is továbbítani.

Előre is köszönjük a szekció elnökök, a titkárok, a bizottsági tagok és valamennyi előadó munkáját.

Szeretettel várunk minden érdeklődőt, az előadóknak pedig sikeres előadást kívánunk.

Solti László  
MTA ÁTB elnöke

Sótonyi Péter  
Rektor, TDK elnök

Bartha Tibor  
ÁODI elnöke

Fodor László  
MTA ÁTB titkára

**MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és az ÁTE DI akadémiai beszámolóinak PROGRAMJA és szekcióbizottságai**  
(2023. január 30-31.)

<b>A szekció megnevezése</b>	<b>A szekcióülés ideje</b>	<b>A szekcióülés helye</b>	<b>Társelnökök</b>	<b>Titkár</b>	<b>Bizottsági tagok</b>
Élettan és biokémia Kórtan Gyógyszertan és toxikológia Morfológia	2023. január 30. 8.00-12.15	Tolnay Sándor terem	Bartha Tibor Jerzsele Ákos Sótonyi Péter	Farkas Orsolya Mátis Gábor	Csikó György Halasy Katalin Rácz Bence Zsarnovszky Attila
Élelmiszerhigiéna Állategészségügyi Igazgatás	2023. január 30. 12.15-12.45	Tolnay Sándor terem	Ózsvári László Nagy Attila Süth Miklós	Darnay Lívია	Józwiak Ákos, Kovács Sándor, Nagy Attila, Lehel József, Szita Géza
Immunológia Bakteriológia  Virologia	2023. január 30. 13.30-17.15	Tolnay Sándor terem	Fodor László Magyar Tibor  Dénes Béla Harrach Balázs	Sváb Domonkos  Kaján Győző	Bernáth Sándor, Hajtós István Jánosi Szilárd, Gyuranecz Miklós Makrai László, Szmolka Ama, Tenk Miklós  Benkő Mária, Dán Ádám, Pénzes Zoltán, Rusvai Miklós, Soós Tibor, Zádori Zoltán
Parazitológia Állattan Halkórtan	2023. január 31. 8.30-10.00	Tolnay Sándor terem	Baska Ferenc Farkas Róbert	Eszterbauer Edit Hornung Erzsébet Sréter Tamás	Békési László, Csaba György Hornok Sándor, Kassai Tibor Molnár Kálmán, Majoros Gábor Varga István
Klinikumok	2023. január 31. 10.00-13.00	Tolnay Sándor terem	Bakos Zoltán Bodó Gábor Cseh Sándor Németh Tibor Manczur Ferenc	Becker Zsolt Szelényi Zoltán	Biksi Imre, Gál János, Sterczer Ágnes, Szenci Ottó, Vajdovich Péter
Állathigiéna Állattenyésztés Genetika Takarmányozástan	2023. január 31. 13.30-15.00	Tolnay Sándor terem	Könyves László Szabó József	Bersényi András	Brydl Endre, Cseh Sándor Fekete Sándor, Gáspárdy András Jakab László, Rafai Pál, Zöldág László

# Tartalomjegyzék

## Immunológia

1. A FÉM-OXID INHALÁCIÓ IMMUNTOXIKOLÓGIAI HATÁSAI - SAJÁT VIZSGÁLATOK AZ IRODALMI ADATOK TÜKRÉBEN  
Szücs-Somlyó Éva, Lőrincz Márta, Kővágó Csaba

## Bakteriológia

2. *MYCOPLASMA HYORHINIS*-LIKE IZOLÁTUMOK JELLEMZÉSE  
Beleczi Nikolett, Földi Dorottya, Salvatore Catania, Gyuranecz Miklós
3. MOLEKULÁRIS MÓDSZEREK FEJLESZTÉSE A *MYCOPLASMA IOWAE* GENETIKAI VÁLTOZATOSSÁGÁNAK MEGHATÁROZÁSÁHOZ  
Buni Dominika, Kovács Áron Botond, Földi Dorottya, Bányai Krisztián, Bali Krisztina, Janet Bradbury, Marco Bottinelli, Salvatore Catania, Inna Lysnyansky, Kovács László, Gróznér Dénes, Gyuranecz Miklós, Kreizinger Zsuzsa
4. *MYCOPLASMA HYORHINIS* ÉS *MYCOPLASMA HYOSYNOVIAE* ELŐFORDULÁSI GYAKORISÁGA HÍZÓ SERTÉSÁLLOMÁNYOKBAN  
Nagy Eszter Zsófia, Földi Dorottya, Madzig Fruzsina, Tóth Fruzsina, Gyuranecz Miklós
5. SALMONELLA SZEROVAROK ÉS COHABITÁNS ESCHERICHIA COLI TÖRZSEK BIOFILM VIZSGÁLATA  
Rapcsák Fanni, Fodor Zsófia Csenge, Szalai Ninetta, Szmolka Ama
6. *MYCOPLASMA HYORHINIS* ADHERENCIA GÁTLÁSÁNAK VIZSGÁLATA  
Tóth Lilla, Földi Dorottya, Nagy Eszter Zsófia, Beleczi Nikolett, Gyuranecz Miklós

## Viroológia

7. AZ ATIPIKUS SERTÉS-PESTIVÍRUS MAGYARORSZÁGI PREVALENCIÁJÁNAK VIZSGÁLATA  
Dénes Lilla, Igriczi Barbara, Balka Gyula
8. A SERTÉS-PARAINFLUENZAVÍRUS 1 (PPIV-1) VIZSGÁLATA MAGYARORSZÁGON  
Igriczi Barbara, Dénes Lilla, Balka Gyula
9. PRRSV TÖRZSEK KIMUTATÁSA ÉS JELLEMZÉSE NGS-ALAPÚ AMPLIKON SZEKVENÁLÁSSAL  
Jakab Szilvia, Bálint Ádám, Bányai Krisztián
10. ÚJ SZARVASMARHA-ADENOVÍRUS ELŐZETES MOLEKULÁRIS JELLEMZÉSE  
Mitró Gergő, Dán Ádám, Varga Tamás, Biksi Imre, Albert Ervin, Harrach Balázs, Vidovszky Márton

11. REKOMBINÁNS MARKER FEHÉRJÉT KIFEJEZŐ *ESCHERICHIA COLI* TÖRZSEK SZUKCESSZÍV MENNYISÉGI VÁLTOZÁSAI SPF CSIRKÉK BÉLFLÓRÁJÁBAN  
Mészáros István, Olasz Ferenc, Tamás Vivien, Rapcsák Fanni, Göttl Eszter, Oláh Barbara, Szmolka Annamária, Erdélyi Károly, Magyar Tibor, Zádori Zoltán
12. INFLUENZA HEMAGGLUTININ ANTIGÉNEK KIFEJEZÉSE *ESCHERICHIA COLI* KÜLSŐ MEMBRÁNJÁBAN  
Olasz Ferenc, Mészáros István, Tamás Vivien, Trembáczy Nikoletta, Göttl Eszter, Bálint Ádám, Zádori Zoltán
13. ALACSONY PATOGENITÁSÚ MADÁRINFLUENZA H5 TÖRZSEK MOLEKULÁRIS JELLEMZÉSE, IN VIVO CHALLENGE KÍSÉRLET A BÉLSÁRRAL TÖRTÉNŐ VÍRUSÜRÍTÉS MEGHATÁROZÁSÁRA  
Bálint Ádám, Vásárhelyi Balázs, Mészáros István, Zádori Zoltán
14. POLIÓMAVÍRUSOK KIMUTATÁSA EURÓPAI ÁLLATKERTEKBEN TARTOTT FŐEMLŐSÖK MINTÁIBÓL  
Surján András, Liptovszky Máttyás, Vidovszky Márton
15. SERTÉS CITOMEGALOVÍRUS AZONOSÍTÁS NANOPORE SZEKVENÁLÁS ALAPÚ METAGENOM VIZSGÁLAT SORÁN  
Tóth Adrienn Gréta, Fiam Regina, Becsei Ágnes, Spisák Sándor, Csabai István, Makrai László, Reibling Tamás, Solymosi Norbert

ÁTE, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék Immunológia Csoport<sup>1,2</sup>  
ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék<sup>3</sup>  
szucs-somlyo.eva@univet.hu

## A FÉM-OXID INHALÁCIÓ IMMUNTOXIKOLÓGIAI HATÁSAI - SAJÁT VIZSGÁLATOK AZ IRODALMI ADATOK TÜKRÉBEN

Szücs-Somlyó Éva<sup>1\*</sup>, Lőrincz Márta<sup>2</sup>, Kővágó Csaba<sup>3</sup>

Az emlős szervezetbe bejutó fémek-fémoxidok a bejutás módjától függően eltérő hatásokat fejthetnek ki. A szervezet számára az orális bejutási út a megszokott, itt a fémek felszívódása jól kontrollált, és nem okoznak egészségügyi problémát megfelelően kis dózisban adagolva. Ezzel ellentétben inhaláció esetén már kis koncentrációban is kóros elváltozásokat okozhatnak olyan biogén fémek is, mint pl. a cink, a réz vagy a mangán. Az emberek egy részében a cink- vagy rézoxid huzamos, szubtoxikus mennyiségben való belélegzése influenzaszerű tüneteket okoz, ezt nevezik „öntőláznak” is. Bár számos kutatást végeztek, de a tünetegyüttes pontos patomechanizmusa máig nem tisztázott, hátterében immunológiai és oxidatív-stressz folyamatokat gyanítanak.

Munkánk célja a humán öntőláz tünetegyüttesének kiváltása egérmodellen (Balb-C törzs), szubtoxikus koncentrációjú ZnO részecskék inhalációja útján. Az expozíciót követően különböző időpontokban vett mintákban az immunmediátor anyagok megjelenését követtük a kórfolyamat feltárása érdekében. Előkísérletben az állatokat 3 egymást követő napon, napi 4 órán keresztül termikus úton előállított ZnO-tartalmú levegővel kezeltük. Kiválogattuk azokat az egyedeket, melyek érzékenynek mutatkoztak a tünetek kialakulására. A fent említett módon kezeltük ezeket az állatokat, majd az expozíciót követően a 3. és 12. órában az egereket extermináltuk és a tüdőt és tüdő körüli nyirokcsomókat eltávolítottuk. Ezekből a mintákból kvantitatív PCR módszerrel meghatároztuk több gyulladási mediátorokat kódoló gén mRNS expresszióját és ezeket kezeletlen, egészséges egerek eredményeihez hasonlítottuk.

A génextpressziós változások a vizsgált gének többségében monoton up-regulációt mutattak. Eredményeinken keresztül nyomon követhetjük egy neutrophil sejt akut gyulladás folyamatát (Csf3, Cxcl5, IL-17), ugyanakkor elsőként írhatjuk le a cinkoxid inhaláció hatására létrejött késői típusú hiperszenzitivitási folyamatra utaló citokinek (Ccl24, IL-3, IL-4, IL-5, IL-13) génextpressziójának up-regulációját a tüdőben.

Ezúton kívánunk köszönetet mondani az NKFIH-nak a 129055 számú FK\_18 pályázati keret által a kutatáshoz adott anyagi támogatásáért.

## MYCOPLASMA HYORHINIS-LIKE IZOLÁTUMOK JELLEMZÉSE

Belec Nikolett<sup>1,2\*</sup>, Földi Dorottya<sup>1,2</sup>, Salvatore Catania<sup>3</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1,2</sup>

A *Mycoplasma hyorhinis* egy világszerte elterjedt, malacokat fertőző fakultatív patogén baktérium, ami főként savóshártya- és ízületi gyulladást, valamint kötőhártya gyulladást okoz. Azonban több publikációban is leírtak már olyan kötőhártyáról izolált *Mycoplasma* törzseket, amelyek bár nagy hasonlóságot mutatnak *M. hyorhinis* törzsekkel, nem sorolhatók be egyértelműen ebbe a fajba.

Célul tűztük ki, hogy ilyen *M. hyorhinis* törzsekhez hasonló, Olaszországból származó izolátumokat vizsgáljunk proteomikai (elektroforézis és western blot) és biokémiai módszerekkel, illetve meghatározzuk sejttenyészet fertőző képességüket.

Vizsgálatainkat három szemből és egy tüdőből származó olaszországi izolátumon végeztük, kontrollként pedig a *M. hyorhinis* típus törzs és egy ízületből származó klinikai izolátum szolgált. A proteomikai vizsgálatokhoz a detergens segítségével feltárt sejtek fehérjéit SDS poliakrilamid gélelektroforézissel elválasztottuk, majd Coomassie brilliant blue festéssel tettük láthatóvá. A western blot vizsgálatot nyúlban termelt anti-*M. hyorhinis* hiperimmun savó segítségével végeztük. A biokémiai különbségek vizsgálatához a törzseket módosított ATCC levesben felszaporítottuk, vizsgáltuk a glükóz, fruktóz, urea és arginin bontó képességüket, majd a glükóz bontó képességet több hőmérsékleten is megnéztük. A sejttenyészet fertőző képesség meghatározására kutya vese sejt vonalat (MDCK) használtunk. A citopatogén hatás megjelenése után a sejteket emésztettük, majd tripánkék festéssel elkülöníthetővé tettük az élő és halott sejteket, melyeket Bürker-kamra segítségével számoltunk.

A fehérje mintázatok esetében két törzs - a tüdőből származó és a legfrissebb szemből származó - mutatott jelentős eltérést a fehérjék kifejeződésében. Ezeket az eltéréseket a western blot vizsgálat is alátámasztotta. A vizsgálatok során nem tapasztaltunk azonban különbséget a törzsek között vizsgált metabolitok bontásának képességében és a sejttenyészet fertőző képesség esetében. Mind a hat vizsgált izolátum egyformán bontotta a glükózt és a fruktózt a vizsgált hőmérsékleteken, illetve egyik esetében sem tapasztaltunk arginin vagy urea bontást. Minden vizsgált izolátum hasonló mértékben fertőzte meg a vizsgált MDCK sejt vonalat is.

Eddigi eredményeink alapján nem eldönthető, hogy a vizsgált izolátumok új fajt képviselnek a *Mycoplasma* nemzetségben belül, vagy a *M. hyorhinis* egyik alfajának tekinthetők. Ennek eldöntésére a továbbiakban növekedés gátlási próbát fogunk végezni anti-*M. hyorhinis* savó segítségével, illetve összevetjük az olasz izolátumok teljes genom szekvenciáját a rendelkezésünkre álló *M. hyorhinis* genomok szekvenciáival.

A kutatást az MTA Lendület (LP2022-6/2022) és az RRF-2.3.1-21-2022-00001 pályázatok, valamint az ITM Kooperatív Doktori Programja (KDP-2020) támogatták.

## MOLEKULÁRIS MÓDSZEREK FEJLESZTÉSE A *MYCOPLASMA IOWAE* GENETIKAI VÁLTOZATOSSÁGÁNAK MEGHATÁROZÁSÁHOZ

Buni Dominika<sup>1,2\*</sup>, Kovács Áron Botond<sup>1,2</sup>, Földi Dorottya<sup>1,2</sup>, Bányai Krisztián<sup>1,2</sup>, Bali Krisztina<sup>1,2</sup>, Janet Bradbury<sup>2</sup>, Marco Bottinelli<sup>3</sup>, Salvatore Catania<sup>3</sup>, Inna Lysnyansky<sup>4</sup>, Kovács László<sup>5</sup>, Gróznér Dénes<sup>1,2</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1,2</sup>, Kreizinger Zsuzsa<sup>1,2</sup>

A *Mycoplasma iowae* világszerte elterjedt nagy gazdasági jelentőségű baktérium, mely elsősorban csökkent keltethetőséget és lábdeformitásokat okoz fiatal pulykákban. A járványkitörések felszámolásában fontos szerepet játszanak a molekuláris biológiai tipizáló módszerek. Ilyen rendszer az MLST (multilocus sequence typing), mely jelenleg a leghatékonyabb eszköz a *M. iowae* rokonsági viszonyainak elemzésére.

A kutatás célja különböző felbontással rendelkező, *M. iowae* specifikus tipizáló rendszerek fejlesztése volt, valamint a törzsgyűjteményünkben válogatott tagok rokonsági viszonyainak összehasonlítása a kifejlesztett és már meglévő módszerekkel.

Összesen 99 változatos eredetű *M. iowae* törzset választottunk a vizsgálathoz, melyeknek meghatároztuk a teljes genom szekvenciáját. Ezen adatok segítségével terveztük a core genome MLST-t (cgMLST) olyan kódoló szekvenciák (Coding Sequence, CDS) kiválasztásával, melyek közösek a törzsek 95 százalékában. Az MLVA (multi-locus variable number of tandem-repeats analysis) rendszer fejlesztéséhez változatos tandem repeat (TR) szakaszokat választottunk, melyekre specifikus hagyományos PCR rendszereket terveztünk. A kifejlesztett MLVA és cgMLST, valamint az ismert MLST módszerek segítségével elvégeztük a 99 diverz törzs összehasonlító vizsgálatát.

A cgMLST beállításához 676 CDS szakaszt használtunk, az MLVA fejlesztéséhez végül hét lókuszt választottunk ki a vizsgált 29 allél közül. Az MLVA rendszer segítségével 18 genotípus, az MLST és cgMLST-vel 22 és 72 szekvencia típus különböztethető meg. Közös a három különböző módszerrel készült törzsfán, hogy azonos közeli rokon törzsek képeznek négy nagy csoportot. A nagyobb csoportokon belül egyes esetekben a törzsek eredete szerinti alcsoportok is elkülöníthetőek.

A kifejlesztett rendszerek alkalmasnak bizonyultak változatos eredetű *M. iowae* törzsek genetikai kapcsolatainak feltérképezésére filogenetikai vizsgálatok és járványügyi nyomozások számára egyaránt. Az eredményeink alapján az MLVA költséghatékony, gyors és korlátozottabb laboratóriumi körülmények között is könnyen használható módszer, mely jó alternatívája a cgMLST és a már meglévő MLST rendszereknek.

A kutatást az FK21 (137809), TKP2021-EGA-01 és az RRF-2.3.1-21-2022-00001 pályázatok, valamint az ITM Kooperatív Doktori Programja támogatták.



## MYCOPLASMA HYORHINIS ÉS MYCOPLASMA HYOSYNOVIAE ELŐFORDULÁSI GYAKORISÁGA HÍZÓ SERTÉSÁLLOMÁNYOKBAN

Nagy Eszter Zsófia<sup>1,2\*</sup>, Földi Dorottya<sup>1,2</sup>, Madzig Fruzsina<sup>1,2</sup>, Tóth Fruzsina<sup>3</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1,2</sup>

*Mycoplasma hyorhinis* és *M. hyosynoviae* széles körben elterjedt, fakultatív patogén kórokozók, melyek a sertések felső légútjait, illetve manduláit képesek kolonizálni. A *M. hyorhinis* jellemzően 3-10 hetes malacokban az ízületek- illetve savós hárttyák gyulladását okozhatja, valamint ritkább esetekben tüdőgyulladást is kialakíthat. A *M. hyosynoviae* 10-24 hetes malacokban megjelenő ízületgyulladásért tehető felelőssé. A fertőzés következtében kialakuló megbetegedések és elhullások jelentős gazdasági károkat eredményeznek.

Kutatásunk célja a *M. hyorhinis* és *M. hyosynoviae* előfordulási gyakoriságának felmérése volt hazánkban, illetve három szomszédos országban; Horvátországban, Csehországban és Szlovákiában. A vizsgálathoz levágásra került, 6 hónapos hízó sertések manduláit gyűjtöttük össze, Magyarország három legnagyobb vágóhidjáról (Kaposvár, Kiskunfélegyháza és Mohács). Vágóhidanként 50, összesen 150 állományból 15 egyed manduláját mintáztuk meg. A 15 mandulát ötösével pooloztuk, majd homogenizálás, illetve DNS kivonás történt. A mintákat ezt követően fajspecifikus TaqMan-típusú qPCR rendszerekkel vizsgáltuk, illetve megkíséreltük a kórokozók izolálását is.

A *M. hyorhinis* az összes vizsgált állományból kimutatható volt (150/150) PCR segítségével, míg a *M. hyosynoviae* jelenlétét a csoportok 88%-ában (132/150) tudtuk detektálni. Az izolálás során 122 esetben tenyésztettünk ki *M. hyosynoviae*-t, a *M. hyorhinis* kimutatása pedig 107 alkalommal bizonyult sikeresnek.

Tudomásunk szerint ez az első kutatás, mely a *M. hyorhinis* és a *M. hyosynoviae* prevalenciáját vizsgálta hízó sertések manduláiban a közép-európai régióban. A kutatás során azt tapasztaltuk, hogy a sertésállományok igen nagy arányban fertőzöttek mindkét kórokozóval. Tartástechnológiai és állategészségügyi eszközök segítségével törekedni kell a klinikai tünetekben megnyilvánuló megbetegedések elkerülésére. Az ízület és savós hárttya gyulladással járó elváltozások esetén gondolni kell e kórokozók esetleges kórtani szerepére.

A kutatást az MTA Lendület (LP2022-6/2022) és az RRF-2.3.1-21-2022-00001 pályázatok, valamint az ITM Kooperatív Doktori Programja (KDP-2020) támogatták.

## SALMONELLA SZEROVAROK ÉS COHABITÁNS ESCHERICHIA COLI TÖRZSEK BIOFILM VIZSGÁLATA

Rapcsák Fanni\*, Fodor Zsófia Csenge, Szalai Ninetta, Szmolka Ama

*Bevezetés.* A hazai brojler állományokban a 2000-es évek elején történt Salmonella szerovar váltás a *S. Enteritidis* drasztikus visszaszorulását és a multirezisztens (MDR) *S. Infantis* törzsek egyidejű megjelenést eredményezte. Feltételezésünk szerint a *S. Infantis* törzsek előretörésében és globális elterjedésében a vele társultan előforduló (cohabitáns) MDR *E. coli* törzsek is aktív szerepet játszottak.

*Cél.* A jelen kutatás célja *S. Enteritidis*, *S. Infantis* és cohabitáns *E. coli* törzsek biofilm aktivitásának vizsgálata, a biofilm morfológiai és kvantitatív paraméterei közötti kapcsolat feltárása.

*Módszerek.* Vizsgálataink során brojler vakbél mintákat reprezentáló *S. Infantis* (n=20), cohabitáns *E. coli* (n=69) és humán eredetű *S. Enteritidis* (n=20) törzsek biofilm aktivitását hasonlítottuk össze. A törzsek biofilm morfortípusát Congo Red (CR) táptalajon teszteltük, a lemezeket 28°C-on 96 órán keresztül inkubáltuk. A törzsek kvantitatív biofilm-képző hatékonyságát kezeletlen 96 lyukú polisztirol plate-en vizsgáltuk ugyanezen paraméterek mellett.

*Eredmények.* A CR táptalajon végzett vizsgálat során a törzseknél a következő biofilm morfortípus eloszlást figyeltük meg: 1. az *E. coli* törzseket nagyfokú változatosság jellemezte mind szín, mind felület szempontjából, de elmondható, hogy az rdar (red dry and rough) morfortípus volt a leggyakoribb (51%); 2. a *S. Enteritidis* törzsek esetében 3-féle morfortípust azonosítottunk, a bas (brown and smooth) (43%) az rdar (35%) és a pdar (pink dry and rough) (22%) morfortípusokat; 3. míg az *Infantis* törzsek kivétel nélkül bas típusú biofilmet képeztek. Az ugyanazon vakbél mintákból izolált cohabitáns *E. coli* törzsek változatos morfortípus mintázatot mutattak, a 20 vakbél mintából mindössze két olyan minta volt, amelyben csak bas típusú társult *E. coli* törzseket izoláltunk.

A kvantitatív biofilm vizsgálatok eredményeként többszörös különbséget mutattunk ki a két Salmonella szerovar biofilm aktivitása között a *S. Infantis* javára. Ennek megfelelően, a vizsgált *S. Infantis* és *S. Enteritidis* törzsek biofilm-képző képessége között min. 3×-os, míg a *S. Infantis*-*E. coli* összehasonlításban min. 2×-es eltérést detektáltunk. A szerovarok közötti különbség az antibiotikum rezisztenciában is megnyilvánult. Míg a *S. Infantis* törzsek között a „klasszikus” Nal-Sul-Tet rezisztencia dominált, a *S. Enteritidis* törzseknél mindössze néhány esetben mutattunk ki Nal rezisztenciát. A biofilm morfortípus és a produktivitas vonatkozásában általában elmondható, hogy a smooth morfortípus fajtól függetlenül a rough típusnál magasabb biofilm képző képességgel társult.

*Következtetés.* A megnövekedett biofilm aktivitással járó környezeti adaptációs előny egyik magyarázata lehet a *S. Infantis* elterjedésének és a *S. Enteritidis* szembeni kompetíciós sikerének a hazai brojlerállományokban.

*Köszönetnyilvánítás.* Jelen kutatást az NKFI K 140349 projekt támogatta.

## MYCOPLASMA HYORHINIS ADHERENCIA GÁTLÁSÁNAK VIZSGÁLATA

Tóth Lilla<sup>1,2\*</sup>, Földi Dorottya<sup>1,2</sup>, Nagy Eszter Zsófia<sup>1,2</sup>, Beleczy Nikolett<sup>1,2</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1,2</sup>

A *Mycoplasma hyorhinis* világszerte elterjedt fakultatív patogén kórokozó, mely választási korú malacok megbetegedését okozza, ezzel jelentős gazdasági károkat eredményezve a gazdáknak. A *M. hyorhinis* különböző adhéziós molekulákkal kapcsolódik a sejtekhez (adherencia). Fertőzés vagy vakcinázás után az állatokban termelt ellenanyag gátolja a baktérium sejtekhez való kötődését (neutralizáció), ezzel megakadályozva a megbetegedés kialakulását.

Munkánk során célunk volt egy adherencia gátlási teszt kidolgozása, melynek segítségével a vakcina fejlesztés során képesek leszünk az immunizálás hatására termelődő ellenanyagok minőségi vizsgálatára.

Az adherencia gátlási teszt beállítását két sejtvonalon végeztük el, melyekről tudjuk, hogy a *M. hyorhinis* képes megfertőzni, ezek sertés (PK-15) és kutya (MDCK) eredetű vese sejtvonalak. A *M. hyorhinis* típusörzs mellett egy klinikai izolátummal is elvégeztük a vizsgálatokat. A teszt beállításához három különböző adjuvánssal elegyített inaktivált oltóanyaggal nyulakat immunizáltunk, majd vérvétellel savót gyűjtöttünk 5 héten keresztül. A törzsekből származó pelletet inkubáltuk a savóval, majd ezzel fertőztük a sejteket, és 22 órát vártunk az adherencia kialakulására. Ezt követően a sejtenyészeteket alaposan lemostuk a nem kötődött baktériumok eltávolítása végett, majd a sejteket leemésztettük és DNS kivonás után a *M. hyorhinis* mennyiségét fajspecifikus TaqMan qPCR segítségével határoztuk meg. Negatív kontrollnak nem immunizált nyúlból származó nyúlsavót használtunk, a megismételhetőség érdekében a sejteket minden esetben  $10^6$  sejt/ml mennyiségben raktuk le a fertőzéshez és  $10^5$  színváltó egység (CCU)/ml kópiájú törzsszel fertőztük.

Eredményeink alapján mindkét sejtvonalon vizsgálható a termelődő ellenanyagok adherencia gátló hatása. A negatív kontrollhoz viszonyítva az ellenanyaggal kezelt mintákban mindkét sejtvonalon és mindkét izolátum esetében megközelítőleg egy kitevőnyi kópiaszám csökkenést tapasztaltunk a leghatásosabb készítmény esetén. Azonban a PK15 sejtvonal esetében ez a csökkenés jobban követhető volt, a negatív mintában  $10^5$  genom ekvivalens (GE)/reakció, a leghatásosabb kezelt mintában  $10^4$  GE/reakció kópiaszámot tapasztaltunk. Míg az MDCK esetében a negatív kontrollból csak alacsonyabb,  $10^3$  GE/reakció mintát nyertünk vissza, de a legjobb kezelt minta esetében a további csökkenés így is látható volt ( $10^2$  GE/reakció).

Sikeresen beállítottunk egy protokollt, mely alkalmas az immunizálás után termelt ellenanyagok minőségi vizsgálatára *M. hyorhinis* adherencia gátlásának meghatározásával. A kapott eredményeink alapján a PK15 sejtvonal alkalmasabbnak bizonyult ilyen vizsgálatok elvégzéséhez.

A kutatást az MTA Lendület (LP2022-6/2022) és az RRF-2.3.1-21-2022-00001 pályázatok, valamint az ITM Kooperatív Doktori Programja (KDP-2020) támogatták.

## AZ ATÍPIKUS SERTÉS-PESTIVÍRUS MAGYARORSZÁGI PREVALENCIÁJÁNAK VIZSGÁLATA

Dénes Lilla<sup>1\*</sup>, Igriczi Barbara<sup>1</sup>, Balka Gyula<sup>1</sup>

Az atipikus sertés-pestivírus (APPV) a *Pestivirus* nemzetség tagja, amelyet az AII típusú reszketőkór (CT) kórokozójaként azonosítottak. A CT világszerte jól ismert és eddigi ismereteink alapján a vírus nagymértékben elterjedt a főbb sertésenyésztő területeken, így célul tűztük ki az APPV magyarországi prevalenciájának feltérképezését.

Vizsgálataink során a 2018 és 2022 közötti időszakban 22 telepről összesen 2650 vérsavómintát ellenőriztünk, 5-ös poolokban. Az alábbi korcsoportok mintáit vizsgáltuk: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 18 hetes állatok, továbbá süldők, kétszer és négyszer fialt kocák. Ezen telepekről további 169 herelési folyadékmintát és 198 rágókötel mintát (10 és 20 hetes állatoktól) is gyűjtöttünk. További 7 telepről reszketőkóros választás előtti malacok szövetmintáit is vizsgáltuk. A vírus örökítőanyagát Indispin/Cador Pathogen Mini Kit (Qiagen) segítségével nyertük ki QIAcube készülékben (Qiagen). A vírus kimutatására szolgáló qRT-PCR-vizsgálatot a OneStep RT-PCR Kit (Qiagen) segítségével, APPV-specifikus primerek felhasználásával végeztük. A részleges NS2–3 szekvenciameghatározást külsős szolgáltató biztosította (Eurofins BIOMI Kft.), a szekvenciák illesztése és összehasonlítása MEGA X szoftver segítségével, Maximum Likelihood módszerrel történt.

Az APPV-t összesen 24 magyarországi telepen azonosítottuk, a keresztmetszeti prevalencifelmérés során pedig 18 telep (67%) bizonyult fertőzöttnek. A pozitív telepek esetében átlagosan a szérumminták 21%-ában, a herelési folyadékminták 57%-ában és a rágókötel minták 72%-ában volt kimutatható az APPV-genom. A szérumminták esetében a minimum és maximum érték 6,3% és 50%, a herelési folyadékok esetében 20% és 100%, a rágókötelminták esetében pedig 10% és 100% volt. A pozitív rágókötelminták 65%-a 20 hetes állatoktól származott. A vírust az összes, reszketőkór tüneteit mutató állat szövetében azonosítottuk. Meglepő módon csak a 6 hetesnél idősebb sertések szérummintái voltak APPV-pozitívak, a fertőzött állatok aránya a 10 hetes (27%), továbbá a 14 és 18 hetes (15%) állatok esetében volt a legmagasabb. A kocasüldőkből gyűjtött vérsavópoolok mindössze ~6%-ában, és csak két telep esetében azonosítottuk a vírust, a többször fialt kocák mintái minden esetben negatívak voltak. A Magyarországon azonosított törzsek nem alkotnak telepenként külön-külön monofiletikus csoportot, többnyire európai szekvenciákkal mutatnak közelebbi rokonságot. A hazai törzsek esetében 1,1–11,2% genetikai távolságot figyeltünk meg, az átlagos genetikai távolság pedig 7,6%.

Eredményeink azt mutatják, hogy az APPV magyarországi elterjedtsége jelentős, és leginkább a 10, 14 és 18 hetes állatokból nyert szérummintákban és 20 hetes rágókötelmintákban található meg, így állománymonitoring szempontjából ezek lehetnek a legmegbízhatóbb mintatípusok. A hazai törzsek genetikai diverzitását valószínűleg az élőállat-kereskedelem segítette elő.

Szeretném megköszönni Schönhardt Kittinek, hogy szakmai tudásával hozzájárult kutatómunkámhoz.

## A SERTÉS-PARAINFLUENZAVÍRUS 1 (PPIV-1) VIZSGÁLATA MAGYARORSZÁGON

Igriczi Barbara\*, Dénes Lilla, Balka Gyula

Az elmúlt néhány évtizedben számos új paramyxovírust fedeztek fel, amelyek állatokban és emberekben változatos megjelenésű, többnyire légzőszervi jellegű megbetegedéseket okoznak. Ide sorolható a sertés-parainfluenzavírus 1-es típusa (PPIV-1, Porcine parainfluenza vírus 1; species: *Porcine respirovirus 1*), amelyet először 2013-ban sertések vágóhídi végbél- és orrtampon-mintáiban azonosítottak Hongkongban. A PPIV-1 15 kb. hosszú, negatív irányultságú ssRNS genommal rendelkezik és 6 fő fehérjét kódol, amelyek közül a hemagglutinin-neuraminidase (HN) és fusion (F) fehérjék fontos szerepet játszanak a vírus célsejthez való kötődésében és gazdasejten belüli replikációjában. Ezen gének szekvenciájának meghatározása és filogenetikai elemzése hasznos lehet a PPIV-1 járványtanának feltérképezésében. A vírust világszerte több országban is detektálták, Európában kutatócsoportunk írta le először. Nemrég megjelent filogenetikai vizsgálatok arra engednek következtetni, hogy az európai és észak-amerikai törzsek egymástól függetlenül fejlődtek és feltehetően fertőzött állatokkal jutottak el Ázsiába.

Kutatásunk célja sertéstelepekről származó (i) rágókötélmintákból PPIV-1 kimutatása valós idejű RT-qPCR módszerrel (ii) a PPIV-1 pozitív telepekről orrtamponminták gyűjtése majd a vírus kimutatása RT-qPCR módszerrel (iii) a gyűjtött PPIV-1-törzsek F-génjének szekvenciameghatározása Sanger-módszerrel, (iv) ezek alapján a magyarországi PPIV-1-törzsek filogenetikai elemzése, amely segíthet eredetük, terjedésük és genom-evolúciójuk megismerésében.

Összesen 23 hazai és egy szlovákiai sertéstartó telepről érkező, 221 rágókötélminta RT-qPCR vizsgálatát végeztük el. Négy PPIV-1 pozitív telepről orrtamponmintákat is gyűjtöttünk 2-, 4-, 6-, 8- és 10 hetes állatokból. A 28 alatti Ct értékkel rendelkező orrtamponminták F fehérjét kódoló régiójának szekvenciáját Sanger-módszerrel határoztuk meg, majd filogenetikai elemzés útján összehasonlítottuk a GenBank-ban található PPIV-1 és egyéb Respirovírus-szekvenciákkal.

A vizsgált 23 hazai telep közül 10 esetben (43%), továbbá az egyetlen szlovákiai telepről érkező mintákban is kimutattuk a vírus jelenlétét. Az ezt követő, célzott, keresztmetszeti jellegű orrtampon-mintavételezés négy PPIV-1-pozitív telepről jelentős víruscirkulációt mutatott a fiatal állatok esetében. A pozitív állatok száma és a vírus mennyisége összességében a 6 hetes korcsoport esetében volt a legnagyobb (52%), de a jelentős eltéréseket tapasztaltunk az egyes telepek között. Míg három telepen a 6 hetes korcsoportban fordult elő leggyakrabban a vírus, egy telep esetében a 2 hetes állatok voltak a leginkább érintettek. A filogenetikai elemzés alapján a magyar és szlovák szekvenciák egyezése 93% feletti, és egyes lengyel és kínai törzsekkel szoros filogenetikai rokonságban állnak.

Eddigi eredményeink alapján elmondható, hogy a PPIV-1 Magyarországon is elterjedt és a fertőzés leginkább a 2–6 hetes állatokat érinti. A vírus légzőszervi megbetegedésekben játszott szerepének megismeréséhez még további széleskörű vizsgálatok szükségesek.

## PRRSV TÖRZSEK KIMUTATÁSA ÉS JELLEMZÉSE NGS-ALAPÚ AMPLIKON SZEKVENÁLÁSSAL

Jakab Szilvia<sup>1\*</sup>, Bálint Ádám<sup>2</sup>, Bányai Krisztián<sup>1,3</sup>

A sertések szaporodási és légzőszervi tünetekkel járó szindrómája világszerte előforduló, nagy gazdasági veszteséget okozó, vírusos eredetű megbetegedés. Kórokozói, a *Betaarterivirus suid 1* (PRRSV-1) és a *Betaarterivirus suid 2* (PRRSV-2), közel 15 kbp hosszúságú, pozitív irányultságú, egyszálú RNS genommal rendelkeznek.

Munkánk célja, hogy attenuált PRRSV-1 vakcina törzsek (Porcilis MLV és Unistrain MLV) teljes genom szekvenciájának meghatározásához, illetve mindkét PRRSV faj ORF7 régiójára kidolgozzunk gyors és hatékony amplikon szekvenálási módszereket.

Az amplikon szekvenáláshoz az Illumina készülékekkel kompatibilis DNS könyvtárakat kétlépéses PCR rendszer segítségével állítottuk elő. Ennek során először a cél régiók kerülnek felszaporításra, majd egy következő PCR-rel a termékhez kapcsoljuk a DNS adaptereket és vonalkódokat. Vizsgálatainkhoz sertés savó mintákat, illetve törzsiszolátumokat és vakcina törzseket használtunk fel. A minták kísérleti NGS futtatása Miseq készüléken zajlott.

Vakcina mintákat vizsgálva eredményeink azt mutatták, hogy a Porcilis és Unistrain vakcina törzsekre specifikus, amplikon alapú teljes genom szekvenálással közel 100%-os genom lefedettség érhető el.

Törzsiszolátumokon végzett vizsgálataink szerint az ORF7 régiót célzó amplikon szekvenálás szintén eredményesnek bizonyult, a szekvenálás 100%-os lefedettséget mutatott, a kimutatási határ a PRRSV-1 és PRRSV-2 esetében egyaránt  $Ct \leq 35$ . Tíz különböző, hazánkban előforduló kládba sorolt PRRSV-1 poolozott savó mintából ( $n=15$ ;  $Ct < 31$ ) készült amplikon könyvtárak alapján kimondhatjuk, hogy a kidolgozott módszer megfelelően alkalmazható széles PRRSV-1 genetikai diverzitást lefedő klinikai mintákon. A szekvencia adatok további elemzése során öt mintában minimum két különböző szekvencia variánst határoztunk meg, a terepi variánsok mellett nagyrészt vakcina törzseket azonosítottunk.

Előzetes vizsgálataink során igazolást nyert, hogy a kétlépéses PCR alapú, PRRSV teljes genom és ORF7 amplikon szekvenálásához használt NGS könyvtárazási módszer egyszerűségével, gyorsaságával, megfelelő érzékenységgel és specificitásával könnyen adaptálható munkafolyamat lehet a diagnosztika számára. A telepeken keringő vakcina eredetű törzsek ORF5 régió alapján történő azonosítása mellett a teljes genom meghatározásával további lényeges információ nyerhető a törzsek eredetéről. Az ORF7 amplikon szekvenálás alkalmazása a diagnosztikában hozzájárul az egyeden belüli kevert fertőzések illetve a telepeken egyidejűleg keringő törzsek hatékony kimutatásához.

A kutatást a KDP-2020 és az Állatorvostudományi Egyetem NKB pályázata támogatta.

## ÚJ SZARVASMARHA-ADENOVÍRUS ELŐZETES MOLEKULÁRIS JELLEMZÉSE

Mitró Gergő<sup>1\*</sup>, Dán Ádám<sup>2</sup>, Varga Tamás<sup>3</sup>, Biksi Imre<sup>4</sup>, Albert Ervin<sup>4</sup>, Harrach Balázs<sup>1</sup>, Vidovszky Márton<sup>1</sup>

Az *Adenoviridae* víruscsaládon belül eddig tíz szarvasmarha-adenovírus (BAdV) típust írtak le, jellemzően valamilyen korábbi megbetegedéssel összefüggésben. Ezek a típusok két nemzetségbe sorolhatóak: a csak emlősöket fertőző adenovírusokat tartalmazó *Mastadenovirus*-, és a gazda specifikusság tekintetében diverz *Atadenovirus* nemzetségbe.

Gyomor- és bélrendszeri tüneteket mutató, vagy elpusztult borjaktól származó bélsár-, illetve szerv-mintákat szűrtünk adenovírus jelenlétére. Célunk volt a mintákban előforduló adenovírusok kimutatása, az újonnan kimutatott vírusok diverzitásának vizsgálata, azok rokonsági viszonyainak feltérképezése és ez alapján a vírus–gazda koevolúció elmélet tanulmányozása.

Az adenovírus-szűrésre degenerált PCR-t alkalmaztunk, ami a DNS-függő DNS-polimeráz gén (*pol*) egy rövid, erősen megőrzött szakaszát erősíti fel. A PCR eredményeket minden esetben DNS-szekvenálás segítségével erősítettük meg. Újonnan kimutatott adenovírus esetén az adott mintát további három adenovírus-PCR-rel is vizsgáltuk (IVa2, hexon, pVIII). A vírus-genom minél nagyobb szakaszának megismerése érdekében a meghatározott génszakaszok közötti vírus-genom szakaszok PCR-es felerősítésére is kísérletet tettünk. Az adatokat bioinformatikailag kiértékeljük és filogenetikai törzsfá-rekonstrukciót végeztünk.

A vizsgálat során két mintában BAdV-3-at, egy szerv minta esetén BAdV-10-et és egy bélsár mintában egy eddig csupán a laboratóriumunk által kimutatott adenovírus *pol*-t azonosítottunk. Az új adenovírus a *pol* szekvencia alapján jelentős különbséget mutat a korábban leírt BAdV típusokhoz képest. A később megállapított hexon gén szekvencia-szakasz alapján azonban a kimutatott vírus egy USA-ban (Wisconsin) végzett, szarvasmarha telep adenovírus szűrése során azonosított, tovább nem vizsgált, és eddig nem tipizált adenovírussal egyezik meg. A teljes *pol* alapján végzett filogenetikai elemzés azt mutatja, hogy az új adenovírus (BAdV-11) a *Mastadenovirus* nemzetségbe tartozik és a BAdV-1-gyel és -2-vel mutatja a legközelebbi rokonságot.

A kimutatott BAdV-3 fiatal (3-6 hónapos) borjakban okoz enyhe lefolyású megbetegedéseket, idősebb állatokban jellemzően tünetmentesen van jelen. A BAdV-10-et laboratóriumunk mutatta ki elsőként Magyarországon és másodikként a kontinentális Európában. A többi szarvasmarha-mastadenovírushoz képest a BAdV-10 idősebb (6-12 hónapos) borjakat is érintő, nagyobb kórokozó-képességet mutat. A BAdV-11-et eddig csak mi mutattuk ki Magyarországon és Európában is. Noha az állatorvosi köztudatban az volt az általános vélekedés, hogy mára az adenovírusok eltűntek a hazai szarvasmarha állományokból, eredményeink alapján elmondható, hogy ismételten több BAdV típus is jelen van („re-emerging”), sőt újonnan megjelent („emerging”) típusokat is kimutattunk.

A munka elvégzését anyagilag az OTKA NN140356 sz. pályázat biztosította.

## REKOMBINÁNS MARKER FEHÉRJÉT KIFEJEZŐ *ESCHERICHIA COLI* TÖRZSEK SZUKCESSÍV MENNYISÉGI VÁLTOZÁSAI SPF CSIRKÉK BÉLFLÓRÁJÁBAN

Mészáros István<sup>1</sup>, Olasz Ferenc<sup>1</sup>, Tamás Vivien<sup>1</sup>, Rapcsák Fanni<sup>1</sup>, Göltl Eszter<sup>1</sup>, Oláh Barbara<sup>1</sup>, Szmolka Annamária<sup>1</sup>, Erdélyi Károly<sup>1</sup>, Magyar Tibor<sup>1</sup>, Zádori Zoltán<sup>1</sup>

**Bevezetés:** A természetes mikrobiomban élő, nem patogén rezidens baktériumok alkalmas vektorként szolgálhatnak mukozális immunitás kiváltására. Egyes enterális baktériumokat (pl. *Escherichia coli*) immunológiailag még különlegesebbé teszi az a képességük, hogy a gazdában az IgA mellett képesek erős IgM, IgG és IgD választ is kiváltani, ami segít a szisztémás bakteriális fertőzések kialakulásának megakadályozásában. Okkal feltételezhető, hogy az enterobaktériumok nemcsak saját antigénjeik, hanem az általuk expresszált más kórokozóból származó idegen fehérjék ellen is képesek olyan immunválaszt kiváltani a szervezetben, ami megakadályozhatja a kórokozók nyálkahártyákon keresztüli bejutását és/vagy szisztémás fertőzések kialakulását.

**A munka célja:** Munkánk távlati célja madárinfluenza elleni orális vakcina fejlesztése olyan *E. coli* törzsek segítségével, melyek protektív influenzavírus epitopokat/fehérjéket expresszálnak, és a felszínükön megjelenítik azokat. Első lépésként egy olyan expressziós plazmid-baktérium kísérleti rendszer összeállítása volt a célunk, amellyel elérhető, hogy a rekombináns fehérjét expresszáló *E. coli* tartósan és nagy arányban fennmaradjon kísérleti állatokban.

**Módszerek:** 36 db SPF tyúktojást (*Gallus gallus domesticus*) 6 csoportba osztottunk. Az állatokat keltetés után orálisan fertőztük broiler csirkékből izolált és az általunk létrehozott ampicillin rezisztens tdTomato-t kifejező plazmid konstrukciót tartalmazó *E. coli* törzsekkel. A fertőző törzsek előállításánál során egy gyenge és egy erős promoterral rendelkező plazmid konstrukciót három *E. coli* törzsbe (S1-3) vittünk be, ezáltal hat törzs-promoter kombinációval dolgoztunk. A törzsek jelenlétét négy héten követjük nyomon, miközben az 1. napon, majd hetente kloaka tamponmintát vettünk az állatokból. Az összes és a markerfehérjét hordozó *E. coli* törzsek csíraszámát antibiotikummentes és ampicillines táptalajon is meghatároztuk.

**Eredmények:** Az 1. napon a csoportokban a marker fehérjét hordozó baktériumok arányának mediánja 45% és 100% között változott. A hetedik napra ez az arány meredeken csökkent, 0% és 2,7% közé. A 2. hétre már csak három csoportban (0%, 0,25% és 0,015%-os mediánnal), míg a 3. és 4. héten egyedül a gyenge promoteres plazmidot hordozó S1 törzsszel fertőzött csoportban tudtuk kimutatni a rekombináns fehérjét (0,07%).

Az ampicillint tartalmazó táptalajon kinőtt baktériumtelepek 100%-a expresszálta a marker fehérjét az 1. napos és egyhetes csirkékben, majd a 2. héttől kezdődően az ampicillin rezisztens baktériumok között is csökkenni kezdett a rekombináns fehérjét hordozók aránya. Viszont egészen a 3. héten ki tudtuk őket mutatni az összes csoportban ( $10^2$ - $10^3$  cfu/ml-es titerrel), valamint a 4. héten az S1 törzsszel fertőzött kettő és az egyik S3 törzsszel fertőzött csoportban.

**Következtetések:** A két plazmid konstrukció közül egyértelműen az bizonyult hatékonyabbnak, amelyben a marker fehérje génjét egy gyenge promoter szabályozta. Emellett az S1 és az S3 *E. coli* törzseket találtuk a legalkalmasabbnak a rekombináns fehérje tartós expressziójára. A legsikeresebb kombináció a gyenge promoteres plazmiddal transzformált S1 törzs volt. A 2. héttől fokozatosan csökkent a marker fehérjét hordozó ampicillin rezisztens *E. coli* telepek aránya, ami felveti annak a lehetőségét, hogy a rezisztencia gént hordozó baktériumok elvesztették a marker fehérje génjét.

**Köszönetnyilvánítás:** A vizsgálatokat a TKP 2021-EGA-01 és az SA-98/2021-es pályázatok finanszírozták.



## INFLUENZA HEMAGGLUTININ ANTIGÉNEK KIFEJEZÉSE *ESCHERICHIA COLI* KÜLSŐ MEMBRÁNJÁBAN

Olasz Ferenc<sup>1</sup>, Mészáros István<sup>1</sup>, Tamás Vivien<sup>1</sup>, Trembácz Nikoletta<sup>1</sup>, Göttl Eszter<sup>1</sup>, Bálint Ádám<sup>2</sup>, Zádori Zoltán<sup>1</sup>

Utóbbi években világszerte növekszik a magas patogenitású madárinfluenza (HPAI) járványok száma. Az endémiás területeken a haszonmadarak vakcinázása megakadályozza a szisztémás fertőzést, de nyálkahártyán szaporodó vírusok ürítését az oltások nem gátolják.

A természetes mikrobiomban élő, nem patogén rezidens baktériumok vektorként szolgálhatnak a mukozális immunitás kiváltására. Az irodalomban Erre célra több laktobaktérium alapú vektor teszteléséről számoltak be irodalomban, azonban gyakorlati körülmények között végzett vizsgálatok eddig nem igazolták vissza a laboratóriumi kísérletek keltette várakozásokat.

Az *Enterobacteriaceae* családba tartozó fajok (pl. *Escherichia* és *Salmonella* fajok) a laktobaktériumoktól némileg eltérők, a gazdában az IgA mellett képesek erős IgM, IgG és IgD választ is kiváltani, ami segíthet a szisztémás bakteriális fertőzések kialakulásának megakadályozásában. Okkal feltételezhető, hogy enterobaktériumok nemcsak saját antigéneik, hanem az általuk expresszált más kórokozókból származó idegen fehérjék ellen is hasonló hatékonysággal képesek immunválaszt indukálni.

**A munka célja:** Olyan vektorkonstrukció létrehozása, amely stabil *Escherichia coli*-ban, a róla leíró fúziós fehérje integrálódik a baktérium külső membránjában és a madárinfluenza hemagglutininje helyes konformációban prezentálódik.

**Módszerek:** Első lépésben teszteltük a promoter szekvenciákat. A tdTomato-pBAD bakteriális expressziós vektorban a  $P_{BAD}$  indukálható promotert konstitutívra (minden körülmények közt aktívra) cseréltük. Négy különböző erősségű (LacUV5, 5DR, 5DL, WTDL nevű változat) promoterral vizsgáltuk a tdTomato gén (piros fluoreszcens fehérje) expresszióját. Az expressziót fluoreszcens mikroszkóppal ellenőriztük.

A második lépésben H5 alacsony patogenitású madárinfluenza hemagglutinin fehérjéjét fuzionáltattuk bakteriális külső membránproteinnel. Az irodalmi eredmények alapján két bakteriális fehérjét választottunk ki: az *Escherichia coli* AIDA autotranszporter fehérjéjét, illetve a foszfolipid szintézisben résztvevő *pgsA* proteint. A hemagglutinin fehérjét két eltérő változatban kapcsoltuk a bakteriális fehérjékhez; összesen három fúziós konstrukciót (H5stalk-AIDA, HA1-AIDA, PgsA-Hstalk) készítettünk. Mindegyik tartalmazott 3xFLAG markert, amely lehetővé tette expressziójuk detektálását immunfluoreszcenciás és Western blot módszerrel.

**Eredmény:** A WTDL-lel nem észleltük a tdTomato expressziót, míg a LacUV5 túlexpresszálta. Azt a következtetést vontuk le, hogy a fúziós proteinek *in vivo* expressziójához az 5DR, 5DL promoter változatok bizonyulhatnak optimálisnak. Így összesen hat influenza antigéneket kifejező vektor konstrukciót hoztunk létre.

Az immunfluoreszcenciás mikroszkópos vizsgálattal sikeresen megerősítettük, hogy a H5stalk-AIDA konstrukció expresszálódik a baktériumok külső membránjában. A másik két hemagglutinin konstrukciónál attól függetlenül nem detektáltunk expressziót, hogy melyik promotert használtuk.

**Következtetés:** A HA1-AIDA, PgsA-HA konstrukció sikertelenségére lehetséges magyarázat lehet, hogy a fúziós fehérje térszerkezete miatt a 3XFLAG vagy nem hozzáférhető az ellenanyag számára, vagy túl alacsony az expresszió szintje.

**Köszönetnyilvánítás:** A vizsgálatokat az SA-98/2021 és a TKP-2021-EGA-01 pályázatból finanszíroztuk.

## ALACSONY PATOGENITÁSÚ MADÁRINFLUENZA H5 TÖRZSEK MOLEKULÁRIS JELLEMZÉSE, IN VIVO CHALLENGE KÍSÉRLET A BÉLSÁRRAL TÖRTÉNŐ VÍRUSÜRÍTÉS MEGHATÁROZÁSÁRA

Bálint Ádám<sup>1\*</sup>, Vásárhelyi Balázs<sup>1</sup>, Mészáros István<sup>2</sup>, Zádori Zoltán<sup>2</sup>

A madárinfluenza az utóbbi években egyre kiterjedtebb járványokat okoz Európában, és az ellene való védekezés egyre inkább szükségessé teszi a vakcinák használatát. A hagyományos módszerekkel végzett vakcinázás (elölt vírusok, aleggység vakcinák) főleg IgY ellenanyagokat indukál, amelyek sok esetben megakadályozzák a szisztémás fertőzést, és megszüntetik az influenzavírus okozta tüneteket, ám a nyálkahártyán szaporodó vírusok ürítését az állatokból csak csökkenteni tudják, megakadályozni nem. Ezért a modern influenza vakcinákkal szemben támasztott egyik fő követelmény a védettség biztosítása mellett a vírusürítés megakadályozása vagy jelentős csökkentése.

**A munka célja:** Olyan kísérleti gazda-vírus-diagnosztika rendszer kidolgozása, amellyel a vakcinák ürítést korlátozó hatása technikailag egyszerűen és jól mérhető.

**Módszerek:** A NÉBIH ÁDI archív vírusgyűjteményéből az alábbi három, vadmadaraktól izolált, alacsony patogenitású madárinfluenza törzs (LPAI) teljes genom szekvenálását és szekvenciaanalízisét végeztük el: 277/2005 (H5N2), 34341/2009 (H5N2), 10234/2017 (H5N9). Hús db SPF tyúktojást keltettünk a NÉBIH ÁDI Virologiai Laboratóriumában. A kikelt állatokat 6 hetes korukig tartottuk szobahőmérsékleten, ebből 1 hetes korukig infra lámpa alatt. A 6 hetes állatokat a fent említett három vírustörzs 100 ul 10<sup>4</sup> TCID<sub>50</sub> titerű inokulumával fertőztük oronazálisan. Az állatokból kloaka tamponokat vettünk naponta a kísérlet 0-14. napjáig. A tamponokat a PCR vizsgálatok kezdetéig -80 °C-on tároltuk. A tamponokat 1 ml PBS-ben áztattuk 30 percig, 10 percenként vortexelve azokat. Az RNS kivonása a QIAamp RNA Mini Kit-tel történt a gyártó ajánlásai alapján. Az LPAI kópiaszám meghatározására a NÉBIH ÁDI akkreditált kvantitatív PCR tesztjét alkalmaztuk a Qiagen OneStep RT-PCR Kit felhasználásával Rotorgene Q PCR készüléken. Standard sorként 1 ml 10<sup>7</sup> TCID<sub>50</sub>/ml titerű LPAI 10-es alapú hígítási sorát alkalmaztuk.

**Eredmény:** A három LPAI teljes genom szekvencia analízise arra az eredményre vezetett, hogy az izolátumok a legközelebbi rokonságot az adott időben Európában jelen lévő, vadmadaraktól származó törzsekkel mutatták. A törzsek humán, valamint emlős adaptációra jellemző, illetve gyógyszer rezisztencia markereket nem tartalmaztak. A teljes genomsekvencia meghatározása lehetőséget nyújtott olyan vektorkonstrukciók létrehozására, melyek *Escherichia coli*-ban megfelelő módom expresszálják a madárinfluenza különböző fehérjéit. A fertőzési kísérlet eredményei azt mutatták, hogy a 10234/2017 (H5N9) törzs nem replikálódott az általunk felállított kísérleti rendszerben. A 277/2005 (H5N2) törzs a második napon kezdett a bélsárral ürülni, a maximális, 1,5x10<sup>5</sup> TCID<sub>50</sub>/ml titer a fertőzés utáni 4. napon érte el, a vírusürítés pedig a 7. napon megszűnt. Hasonló eredményekre vezetett a 34341/2009 (H5N2) törzssel végzett ráfertőzéses kísérlet, azonban a mért legmagasabb titer a 4. napon elérte a 2,5x10<sup>5</sup> TCID<sub>50</sub>/ml titer.

**Következtetés:** Az eredmények alapján a vakcinák vírusürítést korlátozó hatásának mérését lehetővé tévő rendszer felállításához, illetve további kísérletekhez a 34341/2009 (H5N2) izolátum bizonyult legalkalmasabbnak.

**Köszönetnyilvánítás:** A vizsgálatokat az SA-98/2021 és a TKP-2021-EGA-01 pályázatból finanszíroztuk.

## POLIÓMAVÍRUSOK KIMUTATÁSA EURÓPAI ÁLLATKERTEKBEN TARTOTT FŐEMLŐSÖK MINTÁIBÓL

Surján András<sup>1, \*</sup>, Liptovszky Mátyás<sup>2</sup>, Vidovszky Márton<sup>1</sup>

A poliómavírusok (PyV-ok) a *Polyomaviridae* családba tartozó, kisméretű, cirkuláris genomú, duplaszálú DNS onkovírusok. Kapszidjuk ikozaéder-szimmetriájú, fehérje burokkal nem rendelkeznek, átmérőjük 40-50 nm. Az állatvilágban széles körben elterjedtek, elsősorban emlősökben és madarakban fordulnak elő, de leírták már halakból, és ízeltlábú fajok mintáiból is metagenomikával. A PyV-ok általában perzisztens fertőzést okoznak az urogenitális szervrendszerben. Apatogének, de a gazdaszervezet immunrendszerének legyengülése esetén okozhatnak kóros, akár tumoros elváltozást is. Világszerte egyre több fajból írnak le új PyV-okat, rendszertanuk emiatt is fejlődő, gyakran változó.

PhD munkám célja új PyV-ok kimutatása emlősökből, molekuláris és filogenetikai vizsgálatok, a koevolúciójuk feltárása céljából. Ennek részeként vizsgáltam PyV-ok jelenlétét európai állatkertekből származó, szívbetegségben elpusztult emberszabású majmok, illetve egy angliai állatkertben élő főemlősök bélsár mintáiban.

A PyV-ok kimutatására kétkörös („nested”) PCR-t használunk, a szakirodalomban bevált, degenerált primereket alkalmazva. A módszer a VP1, elsődleges szerkezeti fehérjét kódoló, génnek egy erősen megőrzött ~230 bp szakaszát erősíti fel. A jelenlegi tudásunk szerint, ezzel a módszerrel, az emlős- és madár-PyV-ok nagy része kimutatható. A diagnosztikai módszert eredetileg is főemlős mintákon használták.

A vizsgált szívszövet és bélsár minták összesen hét főemlős fajhoz tartoztak. Öt minta bizonyult pozitívnak, melyek öt különböző fajtól származtak. Két pozitív minta szívszövet, három pedig bélsár eredetű volt. A szekvenált rövid szakaszokon alapuló előzetes genetikai vizsgálatok alapján a három bélsár minta esetében a vizsgált gazdafajtól eltérő, más főemlős PyV-ra hasonlító PyV volt jelen a mintában. A kimutatott három vírus magas hasonlóságot mutat különböző csimpánz PyV-okkal, valamint a Human polyomavirus 13-mal is. Valószínűsíthetően mindhárom PyV új típus. A vírusok teljes genom felerősítése és a filogenetikai vizsgálata még folyamatban van.

Vizsgálatunkkal PyV-ok jelenlétét igazoltuk állatkerti főemlősökben. Eredményeink alapján a fajspecifikusság gyengülni tűnik a vizsgált Homínidae családba tartozó fajok PyV-ai esetén. Valószínűsíthetően az egyes, főemlősöket fertőzni képes PyV-ok, előfordulhatnak más Homínidae családba tartozó fajokban is, bár ennek tényleges megállapítására szélesebb körű vizsgálatokra van szükség. A szerv mintákból való kimutatás igazolhatja, hogy a PyV-ok képesek szívszövetben is tartósan replikálódni, amely egy, a szakirodalomban egyelőre nem leírt tulajdonságuk. A szív mintákban kimutatott PyV-oknak azonban feltehetően nincs köze az állatokban tapasztalt szívgyulladásához.

A kapott mintákért köszönetünk a Twycross Zoo-nak. Anyagi támogatás: OTKA NN140356.

## SERTÉS CITOMEGALOVÍRUS AZONOSÍTÁS NANOPORE SZEKVENÁLÁS ALAPÚ METAGENOM VIZSGÁLAT SORÁN

Tóth Adrienn Gréta<sup>1\*</sup>, Fiam Regina<sup>2</sup>, Becsei Ágnes<sup>2</sup>, Spisák Sándor<sup>3</sup>, Csabai István<sup>2</sup>, Makrai László<sup>4</sup>, Reibling Tamás<sup>1</sup>, Solymosi Norbert<sup>1</sup>

Az állat-, valamint humánegészségügyi krízishelyzetek során meghatározó jelentőséggel bírhat a fertőző betegségek gyors diagnosztizálása. Az Oxford Nanopore Technologies (ONT) cég szinte azonnali eredményeket nyújtó szekvenátorainak köszönhetően a klinikai metagenomika nagy jelentőséget nyerhet az állatorvosi gyakorlatban is.

Vizsgálatunk célja, egy magyarországi sertéstelepen évek óta problémát jelentő, fiatalabb egyedeknél jelentkező felső légúti tünet okának metagenomikai alapú, harmadik generációs nanopore szekvenálás segítségével történő meghatározása volt, mivel a sertések tüneteit a korábbi diagnosztikai és kezelési eljárások nem tudták eliminálni.

Nyolc 5 hetes malacból, valamint nyolc-nyolc 16 és 19 hetes hízósertéstől orrtamponmintát vettünk. A mintákat a megfelelő DNS koncentráció elérése érdekében pool-oztuk, így végül egy malac és négy hízósertés mintán végeztük el a további lépéseket. A DNS-kivonás és a metagenom könyvtárkészítési laboratóriumi lépések után nanopore szekvenátorral hajtottuk végre a szekvenálást. A keletkező fájlok kétféleképpen történő (fast és high-accuracy) basecalling-ja után elvégeztük a long readek minőségi szűrését és taxonómiai klasszifikációját. A találatok között volt *Suid betaherpesvirus 2* (másnéven *Suid cytomegalovirus*, PCMV) is, ami az említett tünetek kialakításában szerepet kaphatott. A vírus *glycoprotein B* (*gB*) génjére illeszkedő readek segítségével filogenetikai analízist is végeztünk.

A 72 órán keresztül zajló szekvenálás során 5,94, valamint 5,97 gigabázisnyi adatot generáltunk, basecalling módszertől függően. A hízósertés mintákban összesen 16 PCMV genomra illeszkedő long readet azonosítottunk, míg a malacoknál 315-öt, ez utóbbiak a teljes referenciagenom 53,69%-át lefedték. A *gB* génnek megfelelő genomrészletet lefedő, 650 bázispár hosszúságú read 94%, valamint 96%-os szekvenciális azonosságot mutatott a referencia *gB* génnel, basecalling módszertől függően. A *gB* génben deléciókat, valamint inszerciókat is azonosítottunk a referenciagénhez viszonyítva. A high-accuracy basecalling után kevesebb polimorfizmust, és rövidebb deléciókat detektáltunk.

A vizsgálatainknak köszönhetően Magyarországon másodszor azonosítottuk a PCMV-t. A filogenetikai elemzés alapján a legközelebbi törzsek Japánból (AF268041.2, LC064808.1), Kínából (FJ870563.1, KF017583.1) és Spanyolországból (AF268040.2) származnak. Az inszerciók és deléciók közötti különbségek tekintetében a pontosabb basecalling eredményeket ígérő high-accuracy eljárás tekinthető megbízhatóbbnak. Az 5 hetes malacokból származó mintában jelentősen több PCMV eredetű long read generálódott, amit a betegségre jellemzőbb, fiatalkori megjelenés magyarázhat.

A kutatás a 2022. évi NKB pályázatnak köszönhetően valósulhatott meg.