

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA  
ÁTE ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

**AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK**  
(2018. JANUÁR 22-25.)

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

2017. évi 44. füzet

## ELŐSZÓ

### **Kedves Kolleganók és Kollegák!**

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és az Állatorvostudományi Egyetem Állatorvostudományi Doktori Iskolája 2018. január 22-25. között tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló **Akadémiai Beszámolók** ülésorozatot, amelyre idén 44. 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. A beszámoló füzetek anyaga az MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet honlapján ([http://aoti.agrar.mta.hu/mta\\_beszamolok](http://aoti.agrar.mta.hu/mta_beszamolok)) megtalálható.

Az előadások és azt követő megvitatás időtartama legfeljebb 10 + 5 perc. 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. Aki azonos témán belül jelentett be 2 vagy több előadást, kérjük, próbálja meg ezeket összevonni.

A résztvevőket, különösen a bizottsági tagokat és az üléelnököket arra kérjük, hogy kérdéseikkel, megjegyzéseikkel, javaslataikkal, segítsék az előadottak részletesebb megismerését, értékelését és a beszámoló szakmai műhelyek további munkáját. A tudományos előrehaladást a fiatalok tudományos fórumokhoz való szoktatását a vita éppúgy szolgálja, mint maga az előadás.

Az egyes szekciók titkárait arra is kérjük, hogy a szekcióülésről február végéig készítsenek és juttassanak el az Állatorvos-tudományi Bizottság titkárához ([magyar.tibor@agrar.mta.hu](mailto:magyar.tibor@agrar.mta.hu)) egy-egy rövid, közérthető formában megírt, a szekció elnökökkel egyeztetett tájékoztatót (a Magyar Állatorvosok Lapjában való közlés céljából), amely tartalmazza nem csak az előadások, hanem a vita legfontosabb megállapításait is.

Kérjük az intézetek vezetőit, hogy az elektronikus úton megküldött anyagot továbbítsák munkatársaik és érdeklődő nyugdíjasaik számára is. Kérjük, továbbá, hogy tegyék lehetővé munkatársaik részvételét az üléseken.

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

Kívánunk mindenkinek eredményes és hasznos tanácskozást.

Gálfi Péter  
MTA ÁTB elnöke

Sótonyi Péter  
Rektor, TDK elnök

Vörös Károly  
ÁODI elnöke

Magyar Tibor  
MTA ÁTB titkára

**MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és az ÁTE Állatorvostudományi DI akadémiai beszámolóinak programja és szekcióbizottságai**  
(2018. január 22-25.)

<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 Patológia Gyógyszertan és toxikológia Morfológia	<b>I. 22. hétfő</b> 8.30-	Tolnay Sándor előadóterem	Bartha Tibor Frenyó V. László Csikó György Sótonyi Péter	Jakab Csaba Jerzsele Ákos Mátis Gábor	Halasy Katalin Kutas Ferenc Rácz Bence Neogrády Zsuzsanna Sályi Gábor Zsarnovszky Attila
Élelmiszer-higiénia Állategészségügyi Igazgatás	<b>I. 22. hétfő</b> 9.00-	Zlamál Vilmos előadóterem	Lacza Péter Ózsvári László	Erdősi Orsolya	Józwiak Ákos Kovács Sándor Lehel József, Szita Géza
Bakteriológia	<b>I. 23. kedd</b> 8.30-	Tolnay Sándor előadóterem	Nagy Béla Fodor László Magyar Tibor	Kreizinger Zsuzsa	Hajtós István, Bernáth Sándor Gyuranecz Miklós Makrai László, Tenk Miklós, Tóth István
Viroológia Immunológia	13:00-		Bakonyi Tamás Harrach Balázs	Kaján Győző	Benkő Mária, Dán Ádám, Hornyak Ákos, Péntes Zoltán Rusvai Miklós, Soós Tibor
Állathigiénia Állattenyésztés Genetika Takarmányozástan	<b>I. 23. kedd</b> 13.30-	Zlamál Vilmos előadóterem	Könyves László Szabó József	Bersényi András	Brydl Endre, Cseh Sándor Fekete Sándor, Gáspárdy András Jakab László Rafai Pál, Zöldág László
Parazitológia Állattan Halkórtan	<b>I. 24. szerda</b> 8.30-	Tolnay Sándor előadóterem	Baska Ferenc Farkas Róbert	Eszterbauer Edit Sréter Tamás	Békési László, Csaba György Hornok Sándor, Kassai Tibor Molnár Kálmán Majoros Gábor, Varga István
Klinikumok	<b>I. 25. csütörtök</b> 8.30-	Tolnay Sándor előadóterem	Bodó Gábor Cseh Sándor Németh Tibor Vörös Károly	Bakos Zoltán Pápa Kinga Szelényi Zoltán	Biksi Imre Gál János Vajdovich Péter

## TARTALOMJEGYZÉK

### Bakteriológia (8.30-tól)

1. BAROMFI EREDETŰ ATIPIKUS ENTROPATOGÉN *ESCHERICHIA COLI* (EPEC) VIZSGÁLATA  
Adorján András, Könyves László, Tóth István
2. *MYCOPLASMA* SP. 1220, *M. ANSERIS*, *M. ANATIS* ÉS *M. CLOACALE* TÖRZSEK TELJES GENOM SZEKVENÁLÁSA  
Gróznér Dénes, Forró Barbara, Sulyok Kinga Mária, Marton Szilvia, Bányai Krisztián, Gyuranecz Miklós
3. *MYCOPLASMA* SP. 1220, *M. ANSERIS*, *M. ANATIS* ÉS *M. CLOACALE* SPECIFIKUS PCR RENDSZEREK FEJLESZTÉSE  
Gróznér Dénes, Sulyok Kinga Mária, Kreizinger Zsuzsa, Rónai Zsuzsanna, Jánosi Szilárd, Gyuranecz Miklós
4. MULTI-LOCUS SEQUENCE TYPING ÉS MULTI-LOCUS VARIABLE-TANDEM REPEAT ANALYSIS RENDSZEREK FEJLESZTÉSE *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM* TÖRZSEK GENOTIPIZÁLÁSA CÉLJÁBÓL  
Jánosi Katalin, Bekő Katinka, Kreizinger Zsuzsa, Sulyok Kinga Mária, Felde Orsolya, Gróznér Dénes, Gyuranecz Miklós
5. *MYCOPLASMA SYNOVIAE* TÖRZSEK ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉGI PROFILJÁNAK MEGHATÁROZÁSA  
Kreizinger Zsuzsa, Gróznér Dénes, Sulyok Kinga Mária, Kristin Nilsson, Hrivnák Veronika, Dušan Benčina, Gyuranecz Miklós
6. *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM* VAKCINA ÉS VAD TÖRZSEK ELKÜLÖNÍTÉSÉRE ALKALMAS MOLEKULÁRIS-BIOLÓGIAI RENDSZEREK FEJLESZTÉSE  
Sulyok Kinga Mária, Forró Barbara, Marton Szilvia, Bányai Krisztián, Gyuranecz Miklós
7. KÖZÉP-EUÓPAI *SALMONELLA* INFANTIS TÖRZSEK MOLEKULÁRIS JELLEMZÉSE  
Szmolka Ama, Pászti Judit, Horton Robert, Karpíšková Renata, Prukner-Radovic Estella, Mićunović Jasna, Penchev Krasen, Nagy Béla
8. ÚJ, ÉLELMISZER EREDETŰ T5-SZERŰ BAKTERIOFÁGOK JELLEMZÉSE  
Sváb Domonkos, Linda Falgenhauer, Manfred Rohde, Szabó Judit, Trinad Chakraborty, Tóth István
9. *PASTEURELLA MULTOCIDA* HUMÁN KLINIKAI IZOLÁTUMOK VIZSGÁLATA  
Ujvári Barbara, Weiczner Roland, Deim, Zoltán, Terhes Gariella, Urbán Edit, Tóth Anita Réka, Magyar Tibor

10. JUHOK ÉS KECSKÉK FERTŐZŐ ELAPASZTÁSÁNAK MEGÁLLAPÍTÁSA BORSOD-ABAÚJ-ZEMPLÉN MEGYÉBEN  
Hajtós István, Bacsadi Árpád, Kecskemétiné Turcsányi Ibolya, Minár Gyula
11. *BIBERSTEINIA TREHALOSI* OKOZTA TÖMEGES ELHULLÁS FELNŐTT JUHOKBAN  
Szeredi Levente, Rausch Ferenc, Szelezcky Zsófia, Jánosi Szilárd
12. *MYCOPLASMA HYORHINIS* TÖRZSEK ANTIBIOTIKUM-ÉRZÉKENYSÉGI PROFILJÁNAK MEGHATÁROZÁSA  
Bekő Katinka, Felde Orsolya, Kreizinger Zsuzsa, Kiss Krisztián, Biksi Imre, Hrivnák Veronika, Gyuranecz Miklós
13. *MYCOPLASMA HYORHINIS* TÖRZSEK GENOTIPIZÁLÁSA MULTI-LOCUS SEQUENCE TYPING (MLST) MÓDSZER SEGÍTSÉGÉVEL  
Bekő Katinka, Felde Orsolya, Sulyok Kinga Mária, Kiss Krisztián, Biksi Imre, Hrivnák Veronika, Gyuranecz Miklós
14. MAGYARORSZÁGON IZOLÁLT *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* TÖRZSEK GENOTIPIZÁLÓ VIZSGÁLATA P146 GÉN SZEKVENCIA ELEMZÉSÉVEL, MULTI LOCUS SEQUENCE TYPING ÉS MULTIPLE-LOCUS VARIABLE-NUMBER TANDEM REPEAT ANALYSIS MÓDSZEREKKEL  
Felde Orsolya, Kreizinger Zsuzsa, Sulyok Kinga Mária, Kiss Krisztián, Biksi Imre, Marton Szilvia, Bányai Krisztián, Korbuly Katalin, Gyuranecz Miklós
15. HAZAI *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* TÖRZSEK ANTIBIOTIKUM-ÉRZÉKENYSÉGI VIZSGÁLATA MIKROLEVES HÍGÍTÁSOS MÓDSZERREL  
Felde Orsolya, Kreizinger Zsuzsa, Sulyok Kinga Mária, Kiss Krisztián, Biksi Imre, Hrivnák Veronika, Gyuranecz Miklós

#### **Virológia, immunológia (13.00-tól)**

1. ATÍPIKUS SERTÉS-PESTIVÍRUS KIMUTATÁSA ÉS GENETIKAI JELLEMZÉSE MAGYARORSZÁGON  
Dénes Lilla, Biksi Imre, Bálint Ádám, Rác Bence, Albert Mihály, Balka Gyula
2. VADMADÁR EREDETŰ ADENOVÍRUS TÖRZSEK MOLEKULÁRIS TIPIZÁLÁSA  
Máté Lilla Katalin, Kaján Győző
3. MACSKA RETROVÍRUSOK IN SITU HYBRIDIZÁCIÓS VIZSGÁLATA  
Szilasi Anna, Dénes Lilla, Balka Gyula, Talita Resende
4. A TRANZMISSIBILIS GASTROENTERITIS SZEROLÓGIAI FELMÉRÉSE MAGYARORSZÁGON  
Valkó Anna, Tuboly Tamás, Dán Ádám, Ursu Krisztina, Bálint Ádám, Cságola Attila

5. SERTÉS PARVOVÍRUS (PPV1) SPECIFIKUS ELLENANYAG SZINTEK VÁLTOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA INDIREKT IMMUNFLUORESZCENCIÁS MÓDSZERREL  
Bartsik Ágnes, Lőrincz Márta, Valkó Anna, Zádori Zoltán, Cságola Attila
  
6. AZ ELEKTROPORÁCIÓS ELJÁRÁS, MINT ÚJ OLTÁSI TECHNIKA ELSŐ HAZAI ALKALMAZÁSA ÁLLATKÍSÉRLETEKBEN  
Felföldiné Lévai Réka, Fábián Katalin, Hajdú Dorottya, Paul McKay, Gabriella Scarlatti, Kulesár Gábor

## BAROMFI EREDETŰ ATIPIKUS ENTEROPATOGEN *ESCHERICHIA COLI* (EPEC) VIZSGÁLATA

Adorján András<sup>1\*</sup>, Könyves László<sup>1</sup>, Tóth István<sup>2</sup>

A baromfi termékek előállítása a világban nagy jelentőségű, amelyet a centralizáció és az intenzív tartástechnológia jellemez, lehetőséget teremtve ezzel a kórokozók feldúsulásának és akár zoonotikus betegségek terjedésének.

Célkitűzésünk volt intenzív és extenzív tartási rendszerekben tartott házi tyúkokban előforduló patogén *Escherichia coli*-k előfordulását feltérképezni és ezeket jellemezni.

A baktériumokat szelektív táptalajon való tenyésztéssel izoláltuk (n=165), frissen levágott baromfi bélszakaszaiból, a carcassról, vágóhídi szennyvízből és környezeti mintákból két mintavételi időpontban (2016, 2017). A coliform baktériumokat MALDI-TOF módszerrel azonosítottuk. A törzskollekciót PCR módszerrel szűrtük pathotípus specifikus gének jelenlétére. Meghatároztuk az izolátumok filogenetikai csoportját és szerocsoportját. Vizsgáltuk a törzsek, colicintermelő és haemolizáló képességét, valamint korong diffúziós módszerrel a patogén *E. coli* antibiotikum érzékenységét 10 csoportba tartozó 15 antibiotikummal szemben.

A vágóhídi (intenzív állományból származó) frissen izolált törzsek 30%-a (35/118) bizonyult intimin pozitívnak (*eae*): béltartalom (18/57), carcass (16/57), szennyvíz (1/4), míg az extenzív állományokból nem sikerült kimutatni (0/47). A gyűjteményünkben egyéb pathotípusú törzset nem sikerült azonosítani. Ezen enteropathogén *E. coli* törzsek (EPEC) egységesen atípusosnak (aEPEC; *eae*<sup>+</sup>, *bfp*<sup>-</sup>, *eaf*) bizonyultak. Az EPEC törzsek változatos O szerocsoportba tartoztak (O14, O45, O108) és filogenetikailag is különböztek. A 35 aEPEC törzs közül 22 A, 12 B2 és 1 D filogenetikai csoportba tartozott. A 83 kommenzalista *E. coli* törzs filogenetikai megoszlása a következő volt: 23 A, 23 B1, 2 B2 és 35 D. Az EPEC törzsek gyakran multi rezisztensnek (MDR) bizonyultak. 2016-ban a törzsek 23%-a (3/13), míg a 2017-ben izolált EPEC törzsek mindegyike (22/22) MDR volt.

Az aEPEC magas gyakorisággal fordult elő intenzíven felnevelt baromfiban és az abból előállított húson. Ezzel szemben az extenzív állományokban patogén *E. coli* törzset nem azonosítottunk. Az EPEC izolátumok több klónt reprezentáltak, hiszen a törzsek változatos O szerocsoportba és filogenetikai csoportokba tartoztak. A baromfi eredetű aEPEC zoonotikus potenciálja mellett további aggodalomra adhat okot, hogy ezen törzsek gyakran multi drug rezisztensek is.

Köszönetnyilvánítás: Mag Tünde (OKI, Budapest). Makrai László (ÁTE, Budapest). A kutatás az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósult meg (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.1-16-2016-00024).

## MYCOPLASMA SP. 1220, *M. ANSERIS*, *M. ANATIS* ÉS *M. CLOACALE* TÖRZSEK TELJES GENOM SZEKVENÁLÁSA

Grózner Dénes\*, Forró Barbara, Sulyok Kinga Mária, Marton Szilvia, Bányai Krisztián, Gyuranecz Miklós

Vízibaromfi fajokat fertőző baktériumok a *Mycoplasma* sp. 1220 (vagy más néven *M. anserisalpingitis*), a *M. anatis*, a *M. anseris* és a *M. cloacale*. Társfertőzésben vagy akár önállóan is súlyos megbetegedéseket, ennek következtében pedig jelentős gazdasági károkat okozhatnak. Ennek ellenére a vízibaromfi patogén *Mycoplasma* fajok genetikájáról rendkívül kevés ismeretanyag áll rendelkezésre. A szekvencia adatbázisokban egyik faj esetében sincs elérhető teljes genom.

Célul tűztük ki az említett vízibaromfi patogén *Mycoplasma* fajok törzseinek *de novo* teljes genom szekvenálását.

A teljes genom szekvenálást a *M. anserisalpingitis* (ATCC BAA-2147), a *M. anatis* (NCTC 10156), a *M. anseris* (ATCC 49234), a *M. cloacale* (NCTC 10199) referens törzseken és kettő *M. sp. 1220* klinikai izolátumon (MYCAV93 és MYCAV177) végeztük Illumina NextSeq500 NGS készülékkel. A *de novo* genomokat a St. Petersburg genome assembler (SPAdes) bioinformatikai szoftverrel illesztettük össze. A meghatározott nukleotid sorrendek, azaz kontigok ellenőrzését és javítását Geneious programmal, a kódoló és nemkódoló géneket ingyenes, interneten elérhető szoftverekkel végeztük. A genomokat a kontigok végére tervezett primer párokkal és Sanger-féle szekvenálással cirkularizáltuk. A genomok kétséges szekvencia részleteit PCR rendszerekkel validáltuk.

A *de novo* meghatározott *M. sp. 1220* genom 908 787 bp, a *M. anatis* genom 956 093 bp hosszú. A *M. anseris* genom 750 010 bp, a *M. cloacale* genom 659 552 bp nagyságúak. A genomok méreteiben és a kódolt gének tekintetében, ezen kívül fenotípusos jegyek alapján is hasonlóság figyelhető meg a *M. sp. 1220* és a *M. anatis*, illetve a *M. anseris* és a *M. cloacale* között, amely közeli rokonsági viszonyt feltételez.

A *de novo* létrehozott vízibaromfi patogén *Mycoplasma* teljes genomok elősegítik e kevésbé vizsgált fajok megismerését és alapul szolgálnak további genetikai kutatásoknak. Meglétükkel lehetőségünk van például fajspecifikus PCR rendszerek fejlesztésére, genotipizálásra vagy antibiotikum rezisztencia gének felderítésére.

A vizsgálatokhoz az anyagi fedezetet a Lendület program (LP2012-22) biztosította. Gyuranecz Miklós munkáját a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.



## MYCOPLASMA SP. 1220, *M. ANSERIS*, *M. ANATIS* ÉS *M. CLOACALE* SPECIFIKUS PCR RENDSZEREK FEJLESZTÉSE

Gróznér Dénes<sup>1\*</sup>, Sulyok Kinga Mária<sup>1</sup>, Kreizinger Zsuzsa<sup>1</sup>, Rónai Zsuzsanna<sup>2</sup>, Jánosi Szilárd<sup>2</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

A *Mycoplasma* sp. 1220, a *M. anatis*, a *M. anseris* és a *M. cloacale* vízibaromfi patogén baktériumok. A fertőzött lúd vagy kacsza állományokban az általuk kiváltott főbb tünetek a kloákagyulladás, a nemi szervek gyulladása, csökkent tojástermelés, gyakoribb embrió elhalás és légzőszervi megbetegedések. Gyakran egy állatot több *Mycoplasma* faj is megfertőzhet, így meghatározásuk fontos feladat. A fajok azonosítása és tenyésztése során problémát jelent, hogy fenotípusos jegyek alapján nem különíthetők el egymástól. Molekuláris módszerekkel történő azonosításuk a 16S/23S rRNS gének közötti régióra tervezett *Mycoplasmatales* specifikus PCR termék szekvenciájának meghatározásával lehetséges, ez azonban pénz- és időigényes folyamat.

Célul tűztük ki, hogy a *M. sp. 1220*, *M. anatis*, *M. anseris* és *M. cloacale* fajokra specifikus PCR rendszereket tervezzünk.

A primer tervezéshez a szekvencia adatbázisokból elérhető madár patogén *Mycoplasma* genomokat és a kutatócsoportunk által *de novo* létrehozott vízibaromfi patogén *Mycoplasma* genomokat használtuk fel. A gének illesztését és a primer szekvenciák tervezését Geneious szoftverrel végeztük. A primerek tervezésénél továbbá a NetPrimer és a BLAST internetes programokat is használtuk. A PCR rendszerek specificitását 15 madár patogén *Mycoplasma* típus törzsön, 29 klinikai izolátumon és 26 klinikai mintán teszteltük. Az érzékenységüket hagyományos géll alapú és EvaGreen típusú real-time PCR-eken is vizsgáltuk.

A *M. sp. 1220* fajnál az RNS polimeráz béta alegységét kódoló (*rpoB*) génre, a *M. anatis* és *M. cloacale* fajoknál a DNS polimeráz III gamma és tau alegységeket kódoló (*dnaX*) génre, míg a *M. anseris* esetében az ATP-függő DNS helikázt kódoló (*uvrD/pcrA*) génre terveztünk fajspecifikus primereket. A vizsgálatok során a tervezett rendszerek specifikusnak mutatkoztak, keresztreakciót nem tapasztaltunk. A PCR rendszerek érzékenyek,  $10^1$ - $10^3$  DNS templát kimutatását is lehetővé teszik.

A tervezett molekuláris módszerek költséghatékonyan, gyorsan és megbízhatóan képesek azonosítani a vízibaromfi patogén *Mycoplasma* fajokat, elősegítve e fajok okozta megbetegedések diagnosztizálását és a célzott beavatkozást a fertőzött telepeken.

A vizsgálatokhoz az anyagi fedezetet a Lendület program (LP2012-22) biztosította. Kreizinger Zsuzsa és Gyuranecz Miklós munkáját a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

## MULTI-LOCUS SEQUENCE TYPING ÉS MULTI-LOCUS VARIABLE-TANDEM REPEAT ANALYSIS RENDSZEREK FEJLESZTÉSE *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM* TÖRZSEK GENOTIPIZÁLÁSA CÉLJÁBÓL

Jánosi Katalin\*, Bekő Katinka, Kreizinger Zsuzsa, Sulyok Kinga Mária, Felde Orsolya, Gróznér Dénes, Gyuranecz Miklós

A *Mycoplasma gallisepticum* a Mollicutes osztály *Mycoplasma* genusába tartozó, kis méretű, sejtfal nélküli kórokozó baktérium, amely világszerte előfordul, jelentős gazdasági kártételt okozva a tyúk- és pulykaágazatban. A *M. gallisepticum* által okozott megbetegedések közül a legnagyobb jelentőséggel a krónikus légzőszervi megbetegedés és a fertőző sinusitis bír. A *M. gallisepticum* izolátumok molekuláris genetikai jellemzésére korábban számos metodikát dolgoztak már ki, amelyek azonban alacsony ismételhetőségük mellett, igen munka- és költségigényesek, így nem alkalmasak minden esetben molekuláris epidemiológiai vizsgálatokra.

Vizsgálatunk célja olyan molekuláris tipizáló módszerek kidolgozása a *M. gallisepticum* izolátumok genetikai jellemzésére, mint a multi-locus sequence typing (MLST), valamint a multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) rendszerek. További célunk, hogy a két rendszer eredményeit összevegyük, amelyek így a diagnosztikai munka során is megbízhatóan alkalmazhatóvá válnak.

A módszerek fejlesztése összesen 44 – földrajzilag és gazdaspektrumát tekintve is változatos eredetű – *M. gallisepticum* DNS mintán történt, továbbá három vakcinatörzs (F törzs, 6/85, ts11) és a referens törzs (ATCC-19610) DNS mintáját is bevontuk vizsgálatainkba. Az MLST rendszer fejlesztése során a genomban egyenletesen elhelyezkedő, nagy változatosságú háztartási gének, míg az MLVA fejlesztése során a genomban fellelhető tandem ismétlődő régiók amplifikálásra terveztünk PCR rendszereket. A PCR vizsgálatokat az MLST során a szekvenenciaanalízis követte; az MLVA során az amplikonok méretét határoztuk meg. Eredményeinket a MEGA5 program segítségével neighbour-joining és maximum-likelihood törzsfákon ábrázoltuk.

Az általunk fejlesztett MLST rendszert 6 háztartási gén alkotja: az *atpG*, *dnaA*, *fusA*, *rpoB*, *ruvB* és az *uvrA*. Összesen 36 szekvenciatípust tudunk elkülöníteni a 48 vizsgált törzsben. A Simpson-féle diverzitási index számításakor, a rendszert 0,983-as diverzitás jellemezte. Az MLST törzsfá kisebb csoportjaira jellemző, hogy ezekbe nagyrészt ugyanazon földrajzi régióból származó törzsek kerültek. Az MLVA rendszerben 5 VNTR-régió bizonyult alkalmasnak a vizsgált minták jellemzésére.

A módszerek a *M. gallisepticum* törzsek nagyfokú diverzitását tárta fel, ami összhangban áll a felhasznált minták változatosságával. Az eddigi eredmények alapján a módszereink alkalmasak lehetnek a *M. gallisepticum* törzsek közötti filogenetikai kapcsolatok feltárására és járványtani nyomonkövetés céljára.

A munka anyagi forrásait a Lendület (LP2012-22) program biztosította. Kreizinger Zsuzsa és Gyuranecz Miklós munkáját a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

## MYCOPLASMA SYNOVIAE TÖRZSEK ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉGI PROFILJÁNAK MEGHATÁROZÁSA

Kreizinger Zsuzsa<sup>1\*</sup>, Gróznér Dénes<sup>1</sup>, Sulyok Kinga Mária<sup>1</sup>, Kristin Nilsson<sup>2</sup>, Hrivnák Veronika<sup>1</sup>, Dušan Benčina<sup>3</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

A *Mycoplasma synoviae* világszerte elterjedt, komoly gazdasági károkat okozó baktérium, amely légzőszervi megbetegedéseket, fertőző synovitist és tojáshéj-elváltozást okozhat a baromfi- és pulykaállományokban. A fertőzés elleni védekezés egyik pillére az antibiotikus kezelés, mely elsősorban a tünetek enyhítésére, s a gazdasági károk mérséklésére szolgál. Hagyományosan *in vitro* leves hígítási módszer segítségével határozzák meg a *Mycoplasma* fajok antibiotikum érzékenységét, mely azonban körülményes és időigényes folyamat, ezért ritkán végzik el a fertőzött állományok kezelése előtt.

Vizsgálataink célja a Közép-Kelet Európából származó *M. synoviae* törzsek antibiotikum érzékenységi profiljának meghatározása volt 14 antibiotikumra és egy antibiotikum kombinációra vonatkozóan.

Munkánk során összesen 41 *M. synoviae* törzs antibiotikum érzékenységét vizsgáltuk. A baktérium törzseket 2015 és 2016 között tyúkokból és pulykákból tenyésztettük ki, melyek Magyarországról (n=26), Ausztriából (n=3), Csehországból (n=3), Szlovéniából (n=3), Ukrajnából (n=3), Oroszországból (n=2) és Szerbiából (n=1) származtak. Az antibiotikumok minimális gátló koncentráció (MIC) értékeit leves hígítási módszerrel határoztuk meg. Összesen 8 antibiotikum csoport (fluorokinolonok, tetraciklinek, pleuromutilinek, makrolidok, linkozamid, aminoglikozid, aminociklitol, fenikol) 14 tagjának, valamint a linkomicin és spektinomicin 1:2 arányú kombinációjának *in vitro* hatékonyságát vizsgáltuk.

Eredményeink alapján a *M. synoviae* törzsekkel szemben a leghatékonyabb antibiotikumok: a tetraciklinek (doxiciklin, oxitetraciklin és klórtetraciklin), a makrolidok (tilvalozin, tilozin és tilmikozin), a pleuromutilinek (tiamulin és valnemulin), a linkomicin és a linkomicin-spektinomicin kombinációja. Emelkedett MIC értékeket tapasztaltunk azonban számos törzs esetében fluorokinolonokkal (enrofloxacin és difloxacin), neomicinnel, spektinomicinnel és florfenikollal szemben.

A *M. synoviae* fertőzések kezelése előtt fontos lenne elvégezni az antibiotikum érzékenységi vizsgálatokat és azok körültekintő elemzését, hogy a leghatékonyabb szereket alkalmazhassuk és csökkentjük a rezisztencia kialakulásának esélyét. A vizsgálatok azonban időigényesek, így inkább a rezisztencia profilok időszakos felmérése, s telepi adatbázisok felállítása javasolt. Ezek hiányában pedig eredményeink adhatnak támpontot a közép-kelet európai régióban az állományok kezeléséhez.

Munkánk anyagi fedezetét a Magyar Tudományos Akadémia Lendület (LP2012-22) és a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal K\_16 (119594) pályázatai biztosították. Kreizinger Zsuzsa és Gyuranecz Miklós munkáját a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

## MYCOPLASMA GALLISEPTICUM VAKCINA ÉS VAD TÖRZSEK ELKÜLÖNÍTÉSÉRE ALKALMAS MOLEKULÁRIS-BIOLÓGIAI RENDSZEREK FEJLESZTÉSE

Sulyok Kinga Mária<sup>1\*</sup>, Forró Barbara<sup>1</sup>, Marton Szilvia<sup>1</sup>, Bányai Krisztián<sup>1</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

A *Mycoplasma gallisepticum* az egész világon elterjedt, a baromfi- és pulykaállományokban jelentős gazdasági károkat okozó baktérium. A védekezésben a hajlamosító tényezők kiiktatása mellett fontos szerepe van a vakcinázásnak. A gyakorlatban élő, csökkentett virulenciájú vakcinákat alkalmaznak, mint a ts-11 (Vaxsafe<sup>®</sup> MG, Bioproperties Pty Ltd.), a 6/85 (Nobilis<sup>®</sup> MG6/85, MSD Animal Health) és az F (Cevac<sup>®</sup> MG-F, Ceva-Phylaxia Zrt.) vakcina törzsek. A vakcinázási programok eredményes kivitelezéséhez kulcsfontosságú a hatékony DIVA rendszerek (differentiating infected from vaccinated animals) kidolgozása és alkalmazása.

Vizsgálatunk célja a vakcina törzsekre egyedileg jellemző mutációk azonosítása és ezek kimutatására alkalmas gyors és költséghatékony molekuláris biológiai tesztek fejlesztése és validálása volt.

Elvégeztük a ts-11 és a 6/85 vakcina törzsek teljes genom szekvenálását új generációs szekvenáló platform segítségével és összehasonlítottuk a GenBank-ban elérhető F vakcina és további 11 *M. gallisepticum* törzs teljes genom szekvenciájával. Az azonosított, aminosav szinten is kifejeződő pontmutációk kimutatására ún. mismatch amplification mutation assay (MAMA) teszteket, míg a deléciók, illetve addíciók kimutatására ún. high resolution melt (HRM), vagy egyszerű PCR amplifikációt követő agaróz gél elektroforézis rendszereket dolgoztunk ki.

A rendszerek hatékonyságát 200 különböző eredetű *M. gallisepticum* törzs és klinikai izolátum DNS-én teszteltük. Vizsgáltuk a reakciók érzékenységét és specifitását is, valamint teszteltük a rendszerek hatékonyságát kevert mintákon is.

A ts-11 esetén a *plpA* és *glpK* gének, míg az F vakcina törzsnél a *hlp2* és *crmA* gének 1-1 pontmutációját célzó MAMA rendszereket terveztünk. A 6/85 vakcina kimutatására a *gapA* génben elhelyezkedő pontmutációt célzó MAMA és a *crmA* gén 3' végét vizsgáló HRM rendszert fejlesztettünk. Az összes MAMA rendszer azonos hőprofilon, egy időben futtatható.

A kidolgozott eljárás alkalmas a ts-11, 6/85 és F vakcina törzsek szimultán elkülönítésére. A módszer segítségével a rutin diagnosztikában az állatokból vett mintákból közvetlenül kivont DNS felhasználásával elkülöníthetőek a *M. gallisepticum* vad és vakcina törzsek. Összességében a fejlesztett módszerek segítségével a gyakorlatban könnyen, gyorsan és költséghatékonyan megkülönböztethetőek a *M. gallisepticum* vad, ts-11, 6/85 és F vakcina törzsek.

A vizsgálatokhoz az anyagi forrást a Lendület (LP2012-22) program biztosította. Gyuranecz Miklós munkáját a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet, Budapest, Magyarország<sup>1</sup> Bakteriológia  
Országos Epidemiológiai Központ, Budapest, Magyarország<sup>2</sup>  
Állat- és Növényegészségügyi Intézet (APHA), Addlestone, Egyesült Királyság<sup>3</sup>  
Állatorvos-tudományi Kutatóintézet, Brno, Cseh Köztársaság<sup>4</sup>  
Zágrábi Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar, Zágráb, Horvátország<sup>5</sup>  
Mikrobiológiai és Parazitológiai Intézet, Ljubljana Egyetem, Ljubljana, Szlovénia<sup>6</sup>  
PVSGEU, Bulgária<sup>7</sup>  
\*szmolka.annamaria@agrar.mta.hu

## KÖZÉP-EURÓPAI *SALMONELLA* INFANTIS TÖRZSEK MOLEKULÁRIS JELLEMZÉSE

Szmolka Ama<sup>1</sup>, Pásztai Judit<sup>2</sup>, Horton Robert<sup>3</sup>, Karpíšková Renata<sup>4</sup>, Prukner-Radovic Estella<sup>5</sup>,  
Mićunović Jasna<sup>6</sup>, Penchev Krasen<sup>7</sup>, Nagy Béla<sup>1</sup>

Az elmúlt két évtized során a *Salmonella* Infantis endémiássá vált a hazai broiler állományokban és egyúttal a humán szalmonellózisokat okozó harmadik leggyakoribb szerovar. A *S. Infantis* törzsek 2000-es évek elejére tehető hazai elterjedése egybeesett az ún. B klaszter (PFGE) megjelenésével, melynek legfontosabb jellemzője a Nal-Sul-Tet rezisztencia és a multirezisztenciát meghatározó ~277 kb méretű pSI54/04 prototípus plazmid. Korábbi, 2006-2010-es adataink szerint a B klaszter és plazmidos törzsei nem csak hazánkban, hanem más európai országokban is gyakoriak voltak. Legutóbbi adataink szerint pedig a B klaszter dominanciája a frissen (2011-2013) gyűjtött hazai *S. Infantis* törzsek között is stabilizálódott. A fentiek alapján fölmerült a kérdés, hogy a *S. Infantis* tekintetében, a magyarországihoz képest érzékelhető-e lényeges eltérés a környező közép-európai országokban? Ezért, a vizsgálataink folytatásaként a 2010-2016 között izolált *S. Infantis* törzsek molekuláris jellemzését végeztük el, az alábbiak szerint.

Összesen 116 főként broiler eredetű *S. Infantis* törzset vizsgáltunk (n:87), de összehasonlítás végett humán klinikai mintákból (n:25) és tojókból (n:4) származó törzseket is bevontunk a vizsgálatba. A törzsek Bulgáriából, a Cseh Köztársaságból, Horvátországból, Németországból, Lengyelországból, Romániából és Szlovéniából származtak. Valamennyi törzsnek meghatároztuk az antibiotikum rezisztencia fenotípusát, majd az egyes fenotípusok és országok képviselőjében 39 törzset jelöltünk ki molekuláris vizsgálatokra. A törzsek klonalitását és plazmid mintázatát PFGE analízissel és Kado-Liu szerinti plazmid profil vizsgálattal határoztuk meg. A pSI54/04 plazmidot antibiotikum rezisztencia- (*tetA-merA-intII-aadAI-sulI-tehA*) és virulencia- (*irpI-fyuA-htrE-faeI-pefC*) marker génekre tervezett PCR rendszerek segítségével tipizáltuk.

A törzsek ~70 %-a multirezisztens (MDR) volt. Ezen belül a Nal-Sul-Tet vagy a Nal-Sul-Tet-Tmp rezisztencia fenotípusok domináltak, mégpedig 63%-ban a broiler és 49%-ban a humán törzsek között. Ezen törzsek túlnyomó többsége, PFGE vizsgálat alapján a multirezisztens B klaszterbe tartozott. A törzsek 21%-a csak Nal-rezisztenciát mutatott vagy valamennyi antibiotikummal szemben érzékeny volt, s ezek képezték a horvátországi izolátumok 80%-át.

A *S. Infantis* B klaszterre jellemző, korábban ismertett pSI54/04 MDR plazmid jellemzően a Nal-Su-Tet/-Tmp fenotípusú törzsekben fordult elő, melyek ezúttal is a B klaszterbe tartoztak. Ezen kívül, érdekességként az ampicillin rezisztencia megjelenését s ezzel együtt a pSI54/04 plazmidnak a *bla*<sub>TEM-1</sub> plazmidokkal való társulását mutattuk ki. A Nal-Su-Tet/-Tmp fenotípusú és jellemzően a pSI54/04 MDR plazmidot hordozó, B klasztert képviselő *S. Infantis* törzsek nem csak a hazai, hanem más európai, és közép-európai országok broiler állományában is jellemzően elterjedtek, melyek mellett azonban újabb típusú plazmidokat is hordozó variánsok is megjelennek.

A támogatást az OTKA K 101546 projekt és az MTA Bolyai János Ösztöndíj Kuratóriuma (Szmolka Ama részére) biztosította.

## ÚJ, ÉLELMISZER EREDETŰ T5-SZERŰ BAKTERIOFÁGOK JELLEMZÉSE

Sváb Domonkos<sup>1\*</sup>, Linda Falgenhauer<sup>2</sup>, Manfred Rohde<sup>3</sup>, Szabó Judit<sup>4</sup>, Trinad Chakraborty<sup>2</sup>, Tóth István<sup>1</sup>

Világszerte egyre nagyobb gondot jelent a bakteriális kórokozók, köztük az élelmiszer közvetítette patogének antibiotikum-rezisztenciája. Az ellenük történő védekezés, a lehetőségeinek kutatásában megnőtt az érdeklődés a lítikus bakteriofágok, mint antibakteriális ágensek élelmiszerbiztonsági célú, ún. biokontroll alkalmazására.

Célunk volt élelmiszerből enterális patogéneket, elsősorban *Escherichia coli* intesztinális patotípusú törzseit oldani képes bakteriofágok izolálása, majd részletes fenotípusos jellemzésük, későbbi esetleges biokontroll ágensnek való alkalmasságuk meghatározása. Jelen munka tárgyát 12 új, T5-szerű bakteriofág jellemzése képezte.

A bakteriofágok izolálása az élelmiszerminták elődúsítását követően *E. coli* K-12 C600 törzsön történt lágyagaros rétegzéssel (spot assay). Ugyanezen módszerrel végeztük a fágok gazdaspektrumának és gazdaspecifikus oldási hatékonyságának (EOP, efficiency of plating) meghatározását több patotípust képviselő *E. coli*, *Shigella* és *Salmonella* törzseken. Szaporodási hatékonyságukat egy lépéses növekedési kísérlettel, stabilitásukat különböző pH értékek és hőmérsékletek mellett vizsgáltuk. A fágok morfológiáját transzmissziós elektronmikroszkópiával határoztuk meg. A genom szekvencia meghatározása Illumina NextSeq platformon történt, a szekvenciaillesztés CLC Genomic Workbench 9.0 programmal, az annotációt a RAST szerver segítségével végeztük. A filogenetikai vizsgálatok a MEGA5 és a VICTOR programokkal történtek.

Összesen 12 új bakteriofágot izoláltunk, melyek morfológiájuk alapján a Siphoviridae családba tartoztak, genomi jellemzők alapján pedig a T5-szerű bakteriofágok közé. Gazdaspektrumuk alapján a fágok két csoportot alkottak. Az izoláláshoz használt *E. coli* K-12 törzsön kívül, bár alacsonyabb EOP-vel, alkalmas gazdájuknak bizonyult számos patogén *E. coli* törzs, köztük enterohemorragiás (EHEC) O103:H2 szerotípusú, enteroinvazív (EIEC), enterotoxikus (ETEC), ismeretlen patotípusú multidrog-rezisztens (MDR) *E. coli*, továbbá *Shigella sonnei*, *S. dysenteriae*, és több serovart képviselő *Salmonella enterica* törzsek. A fágok genomja 120.618 és 121.986 bp közti hosszúságú, 164 és 168 közt számú ORF-et és 18 tRNS gént tartalmaz, átlagos GC tartalmuk 39,5 %. A filogenetikai vizsgálatok azt mutatták, hogy az újonnan izolált fágok két eltérő gazdaspektrumú csoportja a T5-szerű fágokon belül két új, egymástól viszonylag távol eső genotípust képviselnek.

Az izolált összesen tizenkét bakteriofág két új genetikai csoportot képviselnek a korábban jelentős modell-fágként ismert T5 fág rokonai közt. Széles, jelentős enterális kórokozókat felölelő gazdaspektrumuk, szigorúan lítikus életsiklusuk, ismert virulencia- és rezisztenciagénektől való mentességük jó jelöltté teszik őket biokontroll alkalmazást vizsgáló jövőbeni kísérletekhez.

Anyagi támogatás EU FP7 PROMISE 26587. Köszönettel tartozunk Makrai Lászlónak (ÁTE Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék) a *Salmonella* törzsek szíves rendelkezésre bocsátásáért.

## PASTEURELLA MULTOCIDA HUMÁN KLINIKAI IZOLÁTUMOK VIZSGÁLATA

Ujvári Barbara<sup>1\*</sup>, Weiczner Roland<sup>2</sup>, Deim, Zoltán<sup>3</sup>, Terhes Gariella<sup>4</sup>, Urbán Edit<sup>4</sup>, Tóth Anita Réka<sup>5</sup>, Magyar Tibor<sup>1</sup>

A *Pasteurella multocida* egy széles gazdaspektrummal rendelkező, világszerte előforduló baktériumfaj. A főként állatokat megbetegítő kórokozó emberre elsősorban karmolás vagy harapás (macska, kutya) révén juthat át. A baktérium helyi tünetként felületi sebeket, vagy seb körüli tályogképződést okozhat. Súlyosabb esetekben ízületi gyulladás, csontvelőgyulladás, tüdőgyulladás, szívbelhártya-gyulladás, vagy agyhártyagyulladás is kialakulhat. A humán esetekből származó törzsekről jelenleg kevés adat áll rendelkezésre a szakirodalomban.

Munkánk célja a *P. multocida* humán klinikai izolátumok részletes vizsgálata, és macska eredetű törzsekkel való összehasonlítása volt.

A molekuláris fajazonosítást követően polimeráz láncreakciók segítségével határoztuk meg a törzsek buroktípusát. A szomatikus szerotípus meghatározásához az agargél precipitációs módszert alkalmaztuk. A feltételezett virulencia gének vizsgálatához PCR reakciókat használtunk fel, melyek segítségével a toxint (*toxA*), vaskötő fehérjéket (*tbpA*, *hgbA*, *hgbB*), neuraminidázt (*nanH*) és adhezineket (*pfhA*, *fimA*, *hsf-1*, *hsf-2*, *tadD*) kódoló génszakaszokat azonosítottuk. Az alfajok meghatározását a 16S rDNS PCR-RFLP módszerrel végeztük. A törzsek közötti filogenetikai viszonyokat multi-lókuszos szekvencia tipizálással (MLST) térképeztük fel. A törzsek antibiotikum-érzékenységi profilját minimális gátló koncentráció értéket megadó tesztsíkok segítségével határoztuk meg, 14 antibiotikummal szemben, a Clinical and Laboratory Standards Institute ajánlásainak megfelelően.

A leggyakoribb buroktípus gazdafajtól függetlenül az „A” típus volt (93%). Az általánosan előforduló 1-es és 3-as szerotípusok mellett a ritkán felbukkanó, 6-os és 8-as típusokat is azonosítottuk. A vizsgált törzsek 80%-át a *septica* alfajba soroltuk be, és az MLST alapján összesen 11 új szekvencia típust határoztunk meg. A humán és macska eredetű törzsek azonos, vagy közeli rokon szekvencia típusokat képviseltek. A vizsgált törzsek virulencia gén profilja és antibiotikum-rezisztencia mintázata nagymértékű hasonlóságot mutatott. A törzsek mindegyike ellenállónak bizonyult erythromicinnel, klindamicinnel és szulfamethoxazollal szemben, valamint az izolátumok 87%-a tilmikozinnal szemben is rezisztenciát mutatott. A vizsgálatok során hatékonynak bizonyult az ampicillin, a cefazolin, a cefpodoxim, a kloramfenikol, a florfenikol, a doxiciklin, a tetraciklin, a streptomycin, a gentamicin és az enrofloxacin.

Eredményeink arra utalnak, hogy a házimacskák a *P. multocida* rezervoárjaként szolgálnak, és így humán megbetegedések forrásai lehetnek.

A kutatást az OTKA K124457 pályázat támogatta.

## JUHOK ÉS KECSKÉK FERTŐZŐ ELAPASZTÁSÁNAK MEGÁLLAPÍTÁSA BORSOD-ABAÚJ-ZEMPLÉN MEGYÉBEN

Hajtós István<sup>1\*</sup>, Bacsadi Árpád<sup>2</sup>, Kecskemétiné Turcsányi Ibolya<sup>2</sup>, Minár Gyula<sup>3</sup>

A kecskék és a juhok fertőző elapasztása (contagious agalactia: CA) elsősorban a mediterrán térség országaiban fordul elő és az érintett állományokban, régiókban esetenként súlyos gazdasági veszteségeket okoz. A tenyészállatok Közösségen belüli kereskedelmében állategészségügyi követelmény a származási állomány e betegség klinikai tüneteitől való mentessége is. A fertőző elapasztás hazai megállapításáról 20 évvel ezelőtt Bajmócy és mtsai (Magyar Állatorvosok Lapja, 1998. 120. 390-394.) számoltak be.

A munka célja: Borsod-Abaúj-Zemplén megyében 2015 szeptember elején egy nagylétszámú (445 juhból és 13 kecskéből álló) állományban megállapított CA kitörés tapasztalatainak ismertetése, valamint javaslattétel a tenyésztésre szánt juhok és kecskék belföldi forgalmazását érintő jogi szabályozás módosítására.

A fertőzött állományban végzett helyszíni járványügyi, klinikai és kórbonctani vizsgálatokat kiegészítettük egy elhullott anyajuh szerveinek intézeti kórbonctani és bakteriológiai vizsgálatával. A mycoplasmák kitenyésztése, hagyományos biokémiai és molekuláris biológiai próbákkal való faji azonosítása, valamint az izolált *Mycoplasma agalactiae* törzs antibiotikum-érzékenységének meghatározása a NÉBIH ÁDI mindennapi (rutin) diagnosztikai előírásai szerint történt.

A fent említett állományban a megbetegedések 2015 augusztus vége és október eleje között jelentkeztek. A fertőző elapasztásra gyanút keltő „három tünetcsoport” (mastitis/agalactia, arthritis, kerato-conjunctivitis), továbbá láz, bágyadtság, étvágytalanság és lesóványodás a juhokon és a kecskéken is megfigyelhető volt. Az antibiotikummal nem kezelt, elhullott anyajuh szerveiből *M. agalactiae* törzset izoláltunk, amely tilozinra rezisztensnek bizonyult. Az intézeti gyógyszer-érzékenységi vizsgálatok előtt tilozint tartalmazó injekcióval gyógykezelt nyolc anyajuh elpusztult. Az érintett állományból az elmúlt öt évben juhot és kecskét csak vágásra értékesítettek. Az állomány által használt legelőn időnként vadon élő kérődzők (őz és gímszarvas) is előfordultak.

A *M. agalactiae* fertőzést valószínűleg az egyik szomszédos megyéből vásárolt, tünetmentes tenyészkosokkal és/vagy növendék kecskével hurcolták be. A fertőző elapasztással más hazai juh- és kecskéállományokban is számolni lehet. A tenyésztésre szánt juhok és kecskék belföldi forgalomba hozatalának állategészségügyi feltételeit meghatározó 87/2012. (VIII. 27.) VM rendeletet módosítani kellene, összhangban a 91/68/EGK tanácsi irányelv 6. cikkének előírásaival.

Előadásunk tisztelgés dr. Áldásy Pál (1928-1988), a Miskolci Állategészségügyi Intézet első igazgatójának emléke előtt születésének 90. évében.



## *BIBERSTEINIA TREHALOSI* OKOZTA TÖMEGES ELHULLÁS FELNŐTT JUHOKBAN

Szeredi Levente<sup>1</sup>, Rausch Ferenc<sup>2</sup>, Szeleczky Zsófia<sup>1</sup>, Jánosi Szilárd<sup>1</sup>

A *Bibersteinia trehalosi* egy fakultatív patogén kórokozó baktérium, amely a 6-12 hónapos korú juhokban okozhat szisztémás megbetegedést. A kórkép viszonylag ritkán hazánkban is előfordul.

Az alábbiakban egy olyan eset kerül ismertetésre, ahol a *B. trehalosi* kizárólag a felnőtt állatokban okozott szisztémás fertőzést és tömeges elhullást.

Öt kifejlett juh hulla (4 db. nőtény, 1 db. kos) rutin kórbonctani, kórszövettani és bakteriológiai vizsgálatát követően immunhisztokémiai vizsgálatot végeztek a pasteurellák kimutatása céljából. Az izolált baktériumtörzseket telepmorfológia, Gram festés és biokémiai tulajdonságaik alapján határozták meg.

A hosszú évek óta működő juhászatban 3 egymással szomszédos karámban tartották az állatokat. A megbetegedések csak az „A” karámban fordultak elő, ahol 616 anyát és 12 kost helyeztek el. A másik két karámban az állatok egészségesek maradtak („B” karám: 200 db. vágásra szánt állat, „C” karám: 146 db. előző évben született bárány). Az elhullások 2017 májusának elején 8 nappal a nyírás és 3 nappal a parazitaellenes kezelés (Dectomax inj, Zoetis, Vermitan oral, CEVA) valamint vakcinázás (Coglamune vaccine, CEVA) után kezdődtek, és hat napon át tartottak. Az „A” karámban összesen 70 állat (11 %) pusztult el előzetes klinikai tünetek nélkül, vagy rövid megbetegedést (láz, savós orrfolyás, nyálzás, hasmenés), esetleg vetélést követően. Néhány esetben varas szájfájásra utaló elváltozásokat is meg lehetett figyelni. A beteg egyedeknél ugyan többféle antibiotikus kezelést is kipróbáltak (Draxxin 100 mg/ml inj., Cobactan 2,5% inj, Enroxil 50 mg/ml inj.), de azok egyike sem bizonyult igazán hatékonynak.

A kórbonctani és kórszövettani vizsgálatokkal valamennyi esetben heveny vérfertőzésre utaló elváltozásokat találtak (lép- és nyirokcsomó-duzzanat, testszerte vérzések, tüdőben és májban baktérium-embólusok frisskeletű elhalással). Valamennyi esetben nagy mennyiségű pasteurella-antigént mutattak ki a tüdőben és a májban. A bakteriológiai vizsgálatokkal a tüdőből és a lépből valamennyi esetben dús, szintenyészetben *B. trehalosit* izoláltak.

A *B. trehalosi* által okozott szisztémás megbetegedések leírása kapcsán a legtöbb esetben beszámolnak valamilyen immunrendszert hátrányosan befolyásoló körülményről. A bemutatott járvány esetében is megfigyelhető volt ilyen körülmény (nyírás, parazitaellenes kezelés, vakcinázás). Az eddigi közleményektől eltérően azonban ebben az esetben nem a fiatal, hanem a kifejlett, idősebb állatok között jelentkezett tömeges megbetegedés és elhullás. Hasonlóan más, heveny pasteurellosis kórképekhez az antibiotikus kezelés jelen esetben sem bizonyult hatékonynak a beteg állatok gyógyítására.

## MYCOPLASMA HYORHINIS TÖRZSEK ANTIBIOTIKUM-ÉRZÉKENYSÉGI PROFILJÁNAK MEGHATÁROZÁSA

Bekő Katinka<sup>1\*</sup>, Felde Orsolya<sup>1</sup>, Kreizinger Zsuzsa<sup>1</sup>, Kiss Krisztián<sup>2</sup>, Biksi Imre<sup>3</sup>, Hrivnák Veronika<sup>1</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

A *Mycoplasma hyorhinae* sertésekben a felső légutak nyálkahártyájának felszínén előforduló kórokozó. Alapvetően kommenzalista, de a szövetek közé betörve képes szisztémás megbetegedést is előidézni, mely leggyakrabban a 3 hónapnál fiatalabb sertésekben az ízületek és savóshártyák gyulladásában nyilvánul meg. A betegség heveny formája akár az állat elhullásához is vezethet, de idült formában is jelentős gazdasági károkat okozhat. A *M. hyorhinae* ellen hatékony vakcina jelenleg nem áll rendelkezésre, így a kórokozó elleni küzdelem legfontosabb eszköze az antibiotikum-terápia.

Célul tűztük ki az egyes – elsősorban hazai sertésállományokból származó – *M. hyorhinae* törzsek *in vitro* antibiotikum-érzékenységi profiljának meghatározását 15 különböző, gyakorlati szempontból is fontos antibiotikummal szemben.

A vizsgálatokhoz 2014 és 2017 között 36 *M. hyorhinae* izolátumot gyűjtöttünk össze különböző sertésállományokból. A minimális gátló koncentráció (MIC) értékeket ismert kópiaszámú szintenyészeteket tartalmazó táplevesek felhasználásával, mikrolevességek hígítási módszer segítségével határoztuk meg. A vizsgálatokkal párhuzamosan minőségi kontrollként minden esetben elvégeztük a *M. hyorhinae* referencia-törzs (ATCC 17981) antibiotikum-érzékenységének meghatározását is.

Az egyes törzsek antibiotikum-érzékenységének vizsgálata során egyetlen olyan törzset sem találtunk, mely *in vitro* érzékeny lett volna fluorokinolonokra (enrofloxacin, marbofloxacin) vagy spektinomycinre. A tetraciklinek (doxiciklin, oxitetraciklin), makrolidok (tilozin, tilmikozin, tilvalozin, tularomicin, gamitromicin), linkomicin és florfenicol esetében a vizsgált törzsek többsége az érzékeny vagy intermedier kategóriába tartozott, azonban olyan törzset is találtunk, melyek rezisztensek voltak ezekre a hatóanyagokra. A vizsgált *M. hyorhinae* törzsekkel szemben *in vitro* leghatékonyabbnak a gentamicin és a pleuromutilin (tiamulin, valnemulin) bizonyultak.

Aktuális adatokat szolgáltatunk a magyarországi *M. hyorhinae* izolátumok antibiotikum-érzékenységéről, mely segítséget nyújthat a fertőzött sertésállományok gyógykezelésében. Egyes hazai *M. hyorhinae* törzsek a vizsgált antibiotikumok többségével szemben rezisztensek bizonyultak, ezért különösen fontos hangsúlyozni az antibiotikum-érzékenységi profil meghatározás és célzott antibiotikum-kezelés jelentőségét a gyakorlatban.

A vizsgálatokhoz az anyagi fedezetet a Lendület program (LP2012-22) biztosította. Kreizinger Zsuzsa és Gyuranecz Miklós munkáját a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

## MYCOPLASMA HYORHINIS TÖRZSEK GENOTIPIZÁLÁSA MULTI-LOCUS SEQUENCE TYPING (MLST) MÓDSZER SEGÍTSÉGÉVEL

Bekő Katinka<sup>1\*</sup>, Felde Orsolya<sup>1</sup>, Sulyok Kinga Mária<sup>1</sup>, Kiss Krisztián<sup>2</sup>, Biksi Imre<sup>3</sup>, Hrivnák Veronika<sup>1</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

A *Mycoplasma hyorhinis* egy kommenzalista baktérium, mely sertések felső légúti nyálkahártyájának felszínén fordul elő. A szövetek közé betörve szisztémás megbetegedést idézhet elő, mely leggyakrabban az ízületek és savóshártyák gyulladásával jár. A betegség heveny és idült formája is előfordul, mindkét esetben jelentős az anyagi kár. A kórokozó terjedése, a fertőzés módja még napjainkban sem teljesen tisztázott, ezen kérdések megválaszolásához egy hatékony genotipizáló módszer használata nélkülözhetetlen.

Vizsgálatunk célja az egyes – elsősorban hazai sertésállományokból származó – *M. hyorhinis* törzsek genotipizálása volt, annak érdekében, hogy információkat gyűjtsünk az itthon előforduló törzsek genetikai diverzitásáról és az egyes törzsek közötti filogenetikai kapcsolatokról.

A vizsgálatokhoz 32 *M. hyorhinis* izolátumot használtunk, melyeket 2014 és 2017 között különböző – elsősorban hazai – sertéstelepekről gyűjtöttünk, és elvégeztük a *M. hyorhinis* referencia-törzs (ATCC 17981) szekvenciatípusának meghatározását is. A genotipizálást összesen hat háztartási gén (*dnaA*, *rpoB*, *gyrB*, *gltX*, *adk*, *gmk*) szekvenciájában előforduló pontmutációk alapján, multi-locus sequence typing (MLST) módszer segítségével végeztük. A filogenetikai törzsfát Mega5.2 software segítségével, Maximum Likelihood módszerrel, Hasegawa-Kishino-Yano 85 modell alapján készítettük el.

Az MLST módszer segítségével a hazai *M. hyorhinis* izolátumokat összesen 25 szekvenciatípusba tudtuk sorolni. Ezek között 22 új, az online MLST adatbázisban még nem szereplő szekvenciatípust találtunk, melyek közül 8 esetben írtunk le új kombinációt, 14 esetben pedig új allél variánst. A filogenetikai törzsfán a hazai izolátumok három nagyobb csoportba és számos alcsoportba sorolódtak. Megfigyelhető volt az ugyanazon vagy egymáshoz közeli sertéstelepekről származó törzsek genetikai közelsége is.

A genotipizáló módszerek közül jelenleg az MLST a legmegbízhatóbb, egymáshoz nagyon közeli törzsek megkülönböztetésére azonban kevésbé alkalmas. Ennek ellenére a hazai *M. hyorhinis* törzsek között viszonylag nagy genetikai variabilitást tapasztaltunk, mely bizonyítja, hogy egy igen változékony kórokozóról van szó.

A vizsgálatokhoz az anyagi fedezetet a Lendület program (LP2012-22) biztosította. Gyuranecz Miklós munkáját a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

## MAGYARORSZÁGON IZOLÁLT *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* TÖRZSEK GENOTÍPIZÁLÓ VIZSGÁLATA P146 GÉN SZEKVENCIA ELEMZÉSÉVEL, MULTI LOCUS SEQUENCE TYPING ÉS MULTIPLE-LOCUS VARIABLE-NUMBER TANDEM REPEAT ANALYSIS MÓDSZEREKKEL

Felde Orsolya<sup>1\*</sup>, Kreizinger Zsuzsa<sup>1</sup>, Sulyok Kinga Mária<sup>1</sup>, Kiss Krisztián<sup>2</sup>, Biksi Imre<sup>3</sup>, Marton Szilvia<sup>1</sup>, Bányai Krisztián<sup>1</sup>, Korbuly Katalin<sup>1</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

A *M. hyopneumoniae* világszerte elterjedt baktérium, az enzootiás pneumonia kórokozója. A megbetegedés jelentős gazdasági károkat okoz a fajlagos takarmány értékesítés romlásán, a vágósúly csökkenésén, valamint a megelőzés és mentesítés többlet költségein keresztül.

Vizsgálataink célja egy saját *M. hyopneumoniae* törzsgyűjtemény létrehozása után a gyűjtemény tagjainak genetikai összehasonlító vizsgálata volt a *p146* gén szekvenciájának elemzése alapján, valamint multilocus sequence typing (MLST) és multiple-loci variable-number of tandem repeats analysis (MLVA) módszerekkel.

Kutatásunk során 44 *M. hyopneumoniae* izolátumot vizsgáltunk. A *p146* gén szekvencia elemzése során a variable-number tandem-repeat (VNTR) régió szerin egységei számának meghatározásával, valamint pontmutációk elemzésével mértük fel a törzsek rokonsági kapcsolatait. A MLST alkalmas egymástól viszonylag távoli törzsek tipizálására. Az eljárás során 7 háztartási gén (*efp*, *metS*, *recA*, *pgiB*, *adk*, *rpoB*, *tpiA*) pontmutációit elemeztük. Az MLVA rendszer alkalmas közel rokon törzsek kapcsolatainak a felmérésére VNTR régiók méretének elemzésével. MLVA vizsgálatunk során 4 lókuszt segítségével becsültük meg a törzsek rokonsági kapcsolatait. A filogenetikai fák MEGA 5.2 szoftver segítségével készítettük el Neighbor-Joining és Maximum Likelihood módszerekkel.

A három genotipizáló rendszer három különböző topológiájú filogenetikai fát adott, melyek közül a szakirodalmi adatoknak megfelelően az MLVA felbontó képessége volt a legnagyobb. A *p146* gén analízisével a 44 *M. hyopneumoniae* törzset 25 genotípusba soroltuk. Míg az MLST rendszer segítségével 27 szekvencia típust (ST) azonosítottunk. Az MLVA módszer segítségével 38 különböző genotípusba soroltuk az izolátumokat. Az azonos eredetű izolátumok többsége azonos genotípusba sorolódott mindhárom rendszer szerint.

Mindhárom módszer alkalmazása során találtunk azonos származású, mégis eltérő genotípusú törzseket. Ennek magyarázataként szolgálhat a mycoplasmákra jellemző magas mutációs ráta, valamint, hogy egy sertéstelepen akár több törzs is jelen lehet egyszerre. A legmegbízhatóbb eljárás filogenetikai célokra a hét gén pontmutációit elemző MLST vizsgálat. A *p146* gén VNTR régiója magas variabilitást mutat, nem alkalmas filogenetikai vizsgálatokra, járványtani nyomozás céljára az MLST kiegészítéseként azonban megfelelő. Az MLVA segítségével sikeresen tovább bonthatók az MLST alapján azonos szekvencia típusba sorolt törzsek, ennek megfelelően a diagnosztikában a két módszer kombinációját javasoljuk.

A vizsgálatokhoz az anyagi fedezetet a Lendület pályázat (LP2012-22) biztosította. Kreizinger Zsuzsa és Gyuranecz Miklós munkáját a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

## HAZAI *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* TÖRZSEK ANTIBIOTIKUM-ÉRZÉKENYSÉGI VIZSGÁLATA MIKROLEVES HÍGÍTÁSOS MÓDSZERREL

Felde Orsolya<sup>1\*</sup>, Kreizinger Zsuzsa<sup>1</sup>, Sulyok Kinga Mária<sup>1</sup>, Kiss Krisztián<sup>2</sup>, Biksi Imre<sup>3</sup>, Hrivnák Veronika<sup>1</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

A *M. hyopneumoniae* számos sertésállományból kimutatható kórokozó, amely több gazdaságilag jelentős kórkép, így az enzootiás pneumonia és a porcine respiratory disease complex (PRDC) kialakításában játszik szerepet. A megfelelő antibiotikus gyógykezelés egyes esetekben elengedhetetlen a gazdasági károk csökkentése érdekében.

Vizsgálataink célja egy hazai *M. hyopneumoniae* törzsgyűjtemény felállítása és az összegyűjtött izolátumok antibiotikum-érzékenységi profiljának meghatározása volt 8 antibiotikum-csoport 15 tagjával szemben.

Kutatásunk során összesen 44, magyarországi vágóhidakról származó, *M. hyopneumoniae* izolátum érzékenységét vizsgáltunk fluorokinolon, tetraciklin, pleuromutilin, makrolid, linkóزامid, aminoglikozid, aminociklitol és fenikol típusú antibiotikumokkal szemben. Az egyes törzsek minimal inhibitory concentration (MIC) értékének megismeréséhez ismert kópiaszámú színtenyészetek felhasználásával mikrolevés hígításos módszert alkalmaztunk. A 96-lyukú mikrotitráló lemezen a megfelelő antibiotikum-hígítási sora mellett, sterilitási-, pH- és növekedési kontrollt is használtunk.

Eredményeink alapján a vizsgált magyarországi *M. hyopneumoniae* törzsek többsége mind a 15 antibiotikummal szemben érzékenynek bizonyult *in vitro* körülmények között. Azonban fluorokinolonokkal (enrofloxacin, marbofloxacin) szemben a törzsek csökkenő érzékenységét, intermedier és rezisztens törzsek megjelenését figyeltük meg. Továbbá makrolidokkal (tilozin, gamitromicin, tulatromicin) és linkomicinnel szemben kifejezetten magas értékeket mutató rezisztens tartományba tartozó törzset is találtunk. Vizsgálati eredményeink szerint *M. hyopneumoniae* kezelés céljára a gentamicin, tilozin, tilvalozin és valnemulin a leghatékonyabb antibiotikumok, de a linkomicin, tiamulin és florfenikol is megfelelő.

Vizsgálatunk során elsőként szolgáltatunk adatokat magyarországi *M. hyopneumoniae* törzsek *in vitro* antibiotikum-érzékenységi profiljáról. A baktérium izolálásának nehézségei, illetve a vizsgálat időigényessége miatt a *M. hyopneumoniae* fertőzött sertésállományok kezelése előtt, a telepen jelenlévő törzsek antibiotikum-érzékenységi profiljának felmérése nem számít rutin diagnosztikai eljárásnak. Eredményeink emiatt fontos támpontot adhatnak a hazai sertéstelepek *M. hyopneumoniae* fertőzésének célzott antibiotikum kezelése során.

A vizsgálatokhoz az anyagi fedezetet a Lendület pályázat (LP2012-22) biztosította. Kreizinger Zsuzsa és Gyuranecz Miklós munkáját a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

Állatorvostudományi Egyetem, Patológiai Tanszék<sup>1</sup>

Viroológia

Állatorvostudományi Egyetem, Haszonállat-gyógyászati Tanszék és Klinika<sup>2</sup>

NÉBIH Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság<sup>3</sup>

Állatorvostudományi Egyetem, Anatómiai és Szövetani Tanszék<sup>4</sup>

CEVA-Phylaxia Oltóanyagtermelő Zrt. (Ceva Sante Animale)<sup>5</sup>

\*denes.lilla@univet.hu

## ATIPIKUS SERTÉS-PESTIVÍRUS KIMUTATÁSA ÉS GENETIKAI JELLEMZÉSE MAGYARORSZÁGON

Dénes Lilla<sup>1\*</sup>, Biksi Imre<sup>2</sup>, Bálint Ádám<sup>3</sup>, Rácz Bence<sup>4</sup>, Albert Mihály<sup>5</sup>, Balka Gyula<sup>1</sup>

Az atipikus sertés-pestivírus (atypical porcine pestivirus, APPV) egy nemrégiben, újgenerációs szekvenciameghatározásos módszerrel azonosított, a *Pestivirus* nemzetséghez tartozó kórokozó, amelyet egyértelműen összefüggésbe hoztak a malacok A-II-es típusú reszketőkórjával (Congenital Tremor, CT). A vírust azonosították már az USA-ban, Európában, Ázsiában és Dél-Amerikában is.

Kutatásunk célja a hazánkban eddig ismeretlen sertésvírus elterjedtségének feltérképezése, filogenetikai elemzések segítségével az itthoni és külföldi törzsek összehasonlítása, a fertőzött állományokban az egyes korcsoportok érintettségének és fertőzőkövetítő szerepének felderítése, továbbá egy RNS-alapú *in situ* hibridizációs technika (RNAscope-eljárás) adaptálása a vírus szöveti elváltozásokban való kimutatására.

A diagnosztikai RT-PCR-vizsgálatokat reszketőkór tüneteit mutató, újszülött malacok agyvelőmintáin végeztük Postel és mtsai (2016) által leírt primerek segítségével. A pozitív minták esetében a vírus NS2 és az NS3 régióját is meghatároztuk az említett primerpárok segítségével. Az így kapott szekvenciákat MEGA7 szoftver segítségével összehasonlítottuk egymással és a génbankban talált szekvenciákkal Maximum Likelihood algoritmus segítségével. RNAscope-módszer segítségével, valamint transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálattal megkíséreltük a vírus szövetekben, sejtekben való eloszlásának kimutatását.

A vírust hat hazai telepről származó, 24 mintában mutattuk ki, nyolc esetben végeztünk részleges szekvenciameghatározást az NS2 és NS3 génszakaszon. A szekvenciák filogenetikai elemzése alapján azok három jól elkülönülő csoportba illeszkedtek. RNAscope-módszerrel a vírust kimutattuk reszketőkóros malacok kis- és nagyagyvelőmintáiban is.

Az eddigi filogenetikai elemzések alapján elmondható, hogy a magyarországi vírustörzsek különálló leszármazási vonalakba tartoznak, jelentős hasonlóságot mutatnak osztrák és spanyolországi törzsekkel, így feltételezhető, hogy a vírus több forrásból került az országba. Szeretném megköszönni hisztopatológiai szakasszisztensünknek, Pop Renátának, hogy szakmai tudásával hozzájárult kutatómunkámhoz.

## VADMADÁR EREDETŰ ADENOVÍRUS TÖRZSEK MOLEKULÁRIS TIPIZÁLÁSA

Máté Lilla Katalin\*, Kaján Győző

A vadmadár eredetű adenovírusok diverzitásának feltérképezése a mai napig kiaknázatlan lehetőségeket rejtő területe a virológiának. Kutatásom során a magyarországi vadmadár populáció fertőzöttségének monitorozását tűztem ki célul, illetve később chilei királypingvinekből (*Aptenodytes patagonicus*) származó minták vizsgálatát is elvégezhettem, ami főként azért érdekes, mert bár pingvinekből mutattak már ki adenovírust, az említett fajból egyelőre még nem rendelkezünk leírt adatokkal.

A mintákban az adenovírusok detektálására kétkörös polimeráz láncreakciót (PCR) alkalmaztam. A detektált pingvin-adenovírus esetében a szialidáz gén meglétét is vizsgáltam, illetve a fajon belüli tipizálásra a fő kapszidfehérje, a hexon génjének egy részletét is felerősítettem.

Vizsgálataink során a 38 mintából mindössze kettőben kaptam pozitív eredményt: egy léprigóban (*Turdus viscivorus*) és egy királypingvinben. A származtatott részleges DNS polimeráz aminosav-szekvenciák elemzése azt az eredményt hozta, hogy a léprigóból detektált adenovírus minden eddig leírt fajtól 15% fölötti eltérést mutat, ezért azt feltételezzük, hogy az *Aviadenovirus* nemzetségen belül egy új faj képviselhet. Az általunk leírt pingvin-adenovírus ugyanazon génszakasz vizsgálata szerint a *Pingvin siadenovirus A* fajba tartozik, de a hexon elemzése alapján azon belül egy különálló, új típusba sorolhatjuk. Munkahipotézisünk, mely a pingvin-adenovírusok hexon fehérjéinek komparatív filogenetikai analízisének alapul, öt monofiletikus klád, azaz öt vírustípus elkülönülését valószínűsíti a fajon belül. Megerősítettem továbbá, hogy a pingvin-siadenovírusok nem rendelkeznek a génsz névadó jellegzetességével, a szialidáz génnel.

## MACSKA RETROVÍRUSOK IN SITU HYBRIDIZÁCIÓS VIZSGÁLATA

Szilasi Anna<sup>1\*</sup>, Dénes Lilla<sup>1</sup>, Balka Gyula<sup>1</sup>, Talita Resende<sup>2</sup>

A macskák retrovírusok által okozott fertőzései közül a leukózis vírus (Feline Leukaemia Virus, FeLV) és a macska immunhiány vírusa (Feline Immunodeficiency Virus, FIV) okozza világszerte a legnagyobb károkat. Korábban a FeLV-fertőzéshez köthető betegségek okozták a házi macskák körében a legtöbb elhullást, ez mára némileg csökkent. A FIV jelenleg is számos kutatás tárgyát képezi – mint az emberi immunhiány vírusa (Human Immunodeficiency Virus, HIV) – modellje, mivel sok vonatkozásban nagyon hasonló tulajdonságokat mutatnak.

Kutatásunk korábbi eredményeire építve célunk volt a tanszékre beérkezett, az említett vírusokkal fertőzött macskák szerveinek kórszövettani vizsgálata. A kórbonctani vizsgálat során makroszkóposan FeLV- és /vagy FIV-fertőzésre gyanús, vagy az anamnesisben szereplő adatok alapján gyaníthatóan fertőzött macskákból először diagnosztikai PCR-vizsgálatokat végeztünk. Amennyiben a fertőzésről megbizonyosodtunk, a paraffinba ágyazott mintákon RNS-alapú *in situ* hybridizációs (RNAscope<sup>®</sup>) vizsgálatokat kíséreltünk meg.

Az RNAscope<sup>®</sup> *in situ* hybridizációs (ISH) módszer a korábbi ISH-vizsgálatoktól annyiban tér el, hogy annál sokkal érzékenyebb, és kevesebb ún. háttérzajjal működik. Ezt a megnövekedett szenzitivitást és specifitást az teszi lehetővé, hogy a célzott RNS-szakaszhoz két, egymástól független próbának kell tudnia kapcsolódnia egymás mellett, egyidőben, hogy a későbbi amplifikáció létrejöhessen. Ezek a próbák „Z” alakúak, alsó részük 18–25 bázispár (bp) nagyságú, komplementer a célzott RNS-szakasszal, felső részük 14 bp hosszúságú. A dupla kapcsolódásnál 28 bp hosszúságú szakaszt nyerünk, ahova az „L” alakú molekulák tudnak kötődni. Ez utóbbiakhoz később további, immár kromogén enzimmel jelölt próbák kapcsolódnak, így annál erősebb jelet kapunk, minél több „Z” próba kötött be a célzott RNS-szakaszra. Ezeket a jeleket, valamint ezek kiterjedését és erősségét fénymikroszkóppal lehet vizsgálni. Ennek a módszernek az előnye, hogy akár egyetlen keresett RNS-molekulát képes kimutatni az amplifikáció által.

Kutatásunk fő célja, hogy feltérképezzük a FeLV és FIV által fertőzött sejtek megoszlását, típusát a különböző szöveteken belül, ezzel hozzájárulva a vírusok patomechanizmusának vizsgálatához. További célunk összehasonlítani a különböző vizsgálati módszereket (ELISA, PCR, *in situ* hybridizáció), azok használhatóságát a klinikai munkában és kutatásban.

Köszönetemet szeretném kifejezni mindazoknak, akik nélkül a kutatásom nem zajlana ilyen hatékonyan: kórszövettani szakasszisztensünknek, Pop Renátának, valamint tanszéki kollégáimnak a támogatást, a bécsi és minnesotai kollégáknak a technikai segítséget.



## A TRANZMISSZIBILIS GASTROENTERITIS SZEROLÓGIAI FELMÉRÉSE MAGYARORSZÁGON

Valkó Anna<sup>1\*</sup>, Tuboly Tamás<sup>1†</sup>, Dán Ádám<sup>2</sup>, Ursu Krisztina<sup>2</sup>, Bálint Ádám<sup>3</sup>, Cságola Attila<sup>4</sup>

A sertéstartásban az egyik leggyakrabban jelentkező és jelentős gazdasági veszteséget okozó hasmenés hátterében a régóta felfedezett transzmisszibilis gastroenteritis vírusa (TGEV) is állhat. Ugyanakkor, az általa okozott klinikai megbetegedés Európa-szerte szórványossá vált, mely a légzőszervi coronavirus (PRCV), egy általában tünetmentes fertőzéssel járó, de keresztreakció miatt a TGEV ellen is védelmet nyújtó vírus megjelenésével hozható összefüggésbe. Előzetes vizsgálataink során 13 sertéstelepről származó összesen 296 bélsárminta mindegyike negatívnak bizonyult TGEV-re, mely alapján a kórkép kialakulását megakadályozni képes, nagy mértékű szerológiai áthangoltságot feltételeztünk. Munkánk célja az volt, hogy ezen hipotézisünk igazolására országos szintű felmérést végezzünk.

A sertés reprodukciós és légzőszervi szindróma (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome, PRRS) elleni mentesítésre küldött szérummintákból összegyűjtöttük 93 telep főként kocákból származó 908 mintáját, valamint kiválasztottunk egy korábbi vizsgálatból származó 174 mintát, melyeket egy Heves megyei telepről szállítottak hozzánk és több korosztályt (2, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 60, 90, 120, 150 napos sertések és kocák) is lefednek. A 2013-ban Magyarországon izolált TGEV újbóli elszaporítása és a vírustiter meghatározása után a vírust sertés here sejteken indirekt immunfluoreszcenciás vizsgálatra alkalmas szövettenyésztő lemezekre fixáltuk, melyeken minden szérummintát kvalitatív módon teszteltünk. A Heves megyei telep pozitív savómintáit titrálással is vizsgáltuk.

A 93 telep szérummintái közül összesen 140 minta bizonyult pozitívnak. Ezek 41 telepről származtak és csak egyetlen esetben fordult elő, hogy az egy telephez tartozó összes minta pozitív eredményt adott. A Heves megyei telep 174 mintája közül 31 volt pozitív korosztály szerint a következő megoszlásban: 11 db 2 napos, 2 db 7 napos, 5 db 14 napos, 2 db 21 napos, 2 db 35 napos, 1 db 60 napos, 8 db 90 napos. A minták titere jellemzően alacsony volt egy 1:4-től 1:128-ig terjedő skálán.

Ezen eredmények alapján az eredeti feltevésünk nem helytálló, mert a minták csak kis arányú szerológiai áthangoltságot mutatnak, ami nem magyarázza a transzmisszibilis gastroenteritis (TGE) klinikai előfordulásának hiányát. A pozitív reakciók sem feltétlenül a TGEV ellen termelt ellenanyagok megjelenésével hozhatók összefüggésbe, a keresztreakáló PRCV szerepének tisztázásához további vizsgálatok szükségesek.

Munkánkhöz a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottság (NKB 2017) nyújtott anyagi támogatást.

## SERTÉS PARVOVÍRUS (PPV1) SPECIFIKUS ELLENANYAG SZINTEK VÁLTOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA INDIREKT IMMUNFLUORESZCENCIÁS MÓDSZERREL

Bartsik Ágnes<sup>1\*</sup>, Lőrincz Márta<sup>1</sup>, Valkó Anna<sup>1</sup>, Zádori Zoltán<sup>2</sup>, Cságola Attila<sup>3</sup>

A sertés parvovírus 1 (Porcine parvovirus 1, PPV1, új néven Ungulate protoparvovirus 1) világszerte, így hazánkban is széles körben elterjedt. Eltérő patogenitású törzseit írták le. A fertőzésnek minden életkorban immunszuppresszív hatása van, ezért a társfertőzések súlyosabb formában jelentkeznek. Szeronegatív előhasi kocákban a fertőzés reprodukciós zavarokat okoz. A vakcinázásoknak köszönhetően úgy tűnt, a kórokozó visszaszorult, kártételének jelentősége csökkent. Németországban azonban egy olyan, magas patogenitású törzs jelenlétét mutatták ki, mely képes áttörni a vakcinás védelmet. Ezt követően Európa szerte kimutatták házi és vaddisznó állományokból is. Munkánk célja egy reprodukciós zavarokkal terhelt hazai, vakcinázott állományban a PPV1 specifikus ellenanyag szintek alakulásának vizsgálata, és egy esetlegesen a német törzshöz hasonló törzs jelenlétének kimutatása.

A követéses vizsgálatunk során összesen 366 szérummintát vizsgáltunk meg. A minták 9 random kiválasztott kocából, és malacaikból (mindig ugyan azokból az állatokból) 9 időpontban kerültek begyűjtésre. A vérvételekre a kocák vemhességi idejének felénél, majd az ellés utáni második napon a malacokkal azonos időpontban, ezt követően a malacokból 1, 2, 3, 4 hetes valamint 2, 3, 4, 5 hónapos korban került sor. A PPV1 specifikus ellenanyag szintek alakulását indirekt immunfluoreszcencia (iIF) és vírus neutralizáció (VN) módszerével egy vakcina törzset illetve egy német törzssel azonos, közép-magyarországi sertés állományból származó vírustörzset alkalmazva vizsgáltunk. A vizsgálatokkal párhuzamosan sikerült hagyományos PCR módszerrel a telepről származó elhullott malacok nyirokcsomóiból PPV1 vírust kimutatnunk. A szekvencia meghatározása folyamatban van.

Az eredményeinkből kiderül, hogy a vakcina törzssel szemben a választási korig megfelelően magasak az ellenanyag szintek, de két hónapos kortól már fennáll a fertőződés lehetősége, ezért célszerű lenne a malacok 6 hetes korban történő vakcinázását megfontolni. Az összes módszerrel az volt kimutatható, hogy az ellenanyag szintek 2-3 hónapos korra érik el mélypontjukat. Ezt követően 4-5 hónapos korban a titerek enyhén emelkedettek voltak, de nem érték el az egy hónapos korban mért értékeket. A közép-magyarországi törzs esetében mind az iIF, mind pedig a VN módszerrel mért értékek jóval elmaradtak a vakcina törzssel végzett vizsgálat eredményeitől. Ezek alapján kijelenthető, hogy a vizsgált savókban jelen lévő ellenanyagok az PPV1 új variánsát sokkal kisebb hatékonysággal képesek neutralizálni, mint a vakcina törzset, ami összhangban van korábbi megfigyelésekkel.

Munkánkhöz a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottság (NKB 2017) nyújtott anyagi támogatást.

## AZ ELEKTROPORÁCIÓS ELJÁRÁS, MINT ÚJ OLTÁSI TECHNIKA ELSŐ HAZAI ALKALMAZÁSA ÁLLATKÍSÉRLETEKBEN

Felföldiné Lévai Réka<sup>1\*</sup>, Fábíán Katalin<sup>1</sup>, Hajdú Dorottya<sup>2</sup>, Paul McKay<sup>3</sup>, Gabriella Scarlatti<sup>4</sup>, Kulcsár Gábor<sup>1</sup>

A „European AIDS Vaccine Initiative” (EAVI2020) elnevezésű tudományos projekt keretében új oltási technikát próbáltunk ki házinyulakon. Az EAVI2020 kilenc ország 23 intézetét egyesíti egy összesen 23 millió euró összköltségvetésű projektben, amelynek célja, hogy megoldást találjon az egész világon 35 millió embert érintő HIV fertőzés ellen. Az ún. elektroporációs eljárást hatékonyan alkalmazzák már *in vitro* körülmények között sejtek, baktériumok célzott transzfektálására, azaz DNS/RNS nagyon pontos sejtbe juttatására. A csupasz DNS izomba történő injektálása jól működik egerekben, azonban emberekben az így bejuttatott antigén nem eléggé immunogén.

Az 5 éves projekt céljai között szerepel, hogy a NÉBIH ÁTI gödöllői, zárt állatházában olyan modell állatkísérleteket végezzünk el házinyulakon, amelyekben a partnerek által előállított speciális HIV immunogének, mint vakcinajelöltek hatékonysága és ártalmatlansága vizsgálható. Az elektroporációs eljárás kipróbálásával az volt a célunk, hogy a DNS célzott izomba juttatásának sikerét növeljük.

Az elektroporációs eljárás során a pulzáló elektromos mezőt használjuk ki: segítségével ideiglenesen pórusokat nyitunk a célsejt membránjában, ugyanakkor a membrán emellett egy időre a félig áteresztő tulajdonságát is elveszíti. Ez a múltó és visszafordítható membránkárosodás lehetővé teszi a plazmid DNS izomsejt általi felvételét. A kísérletbe 48 db. új-zélandi fehér nyulat vontunk be, táplálékhoz és vízhez a kísérlet során *ad libitum* jutottak. A plazmid DNS-ek, mint immunogének alapján nyolc, egyenként hat egyedből álló csoportot alakítottunk ki, a nyolcadik csoportot ún. fehérjekontrollként állítottuk be. A nulladik, majd a 2., 4., 6., 8., 10., 16., 20. és 22 héten az állatok fülvényéből savókészítés céljából alvadásában nem gátolt vért vettünk. A 0., a 4. és a 8. héten a nyulakat elaltattuk, majd elektroporációs technikával immunizáltuk azokat. A 20. héten az ún. booster oltást proteinekkal, intramuscularisan végeztük el. A kísérletet az előzetes laboratóriumi vizsgálatok eredményeinek ismeretében a 28. héten az állatok exterminálásával zártuk. A savókat a londoni Imperial College-ben és a milánói San Raffaele Scientific Institute-ban különböző szerológiai módszerekkel vizsgálják (antigén specifikus ELISA, vírusneutralizációs próba, T-sejt/B-sejt ELISpot)

A laboratóriumi vizsgálatok még jelenleg is zajlanak, azonban az előzetes eredmények ígéretesek: az elektroporációs eljárás kimutathatóan fokozta az izomsejtek plazmid DNS felvételét, ugyanis az eredmények az összes konstrukt esetében az IgG-k mennyiségének folyamatos növekedését mutatják.

A projekt a Horizon 2020, az EU kutatási és innovációs keretprogramja támogatásával valósul meg. Támogatási megállapodás száma: 681137.