

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA
SZENT ISTVÁN EGYETEM
ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK

VIROLÓGIA, BAKTERIOLÓGIA

2009. évi 36. füzet
(beszámolók: 2010. január 25-28.)

ELŐSZÓ

Kedves Kolleganők és Kollegák !

Budapest, 2010. január

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és a SzIE Állatorvos-tudományi Doktori Iskolája 2010. január 25-28 között tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló, immár 36. „akadémiai beszámoló” ülésorozatot, melyen a PhD hallgatók szereplését külön is elvárjuk.

Az egyes szekciók üléseinek helyét és idejét a mellékelt beosztásban tüntettük fel.
Az előadások és azt követő megvitatás időtartama legfeljebb: 10 + 5 perc.
Kérjük, hogy a megadott maximális időtartamot senki ne lépje túl !

Az előadások összefoglalóit – ezen szekciófüzetekbe csoportosítva – elektronikus úton adjuk közre. Kérjük, hogy az összefoglalók anyagát minden esetben - megvitatásra alkalmas formában – előadni szíveskedjenek.

Ami a vitát illeti, a résztvevőket, különösen pedig a bizottsági tagokat és az üléselnököket kérjük arra, hogy, kérdéseikkel, hozzáfűzött megjegyzéseikkel, javaslataikkal, szíveskedjenek az előadottak részletesebb megismerését, értékelését és a beszámoló csoportok további munkáját segíteni. Mivel sokan úgy véljük, hogy a tudományos előrehaladás és a fiatalok tudományos fórumokhoz való szoktatása szempontjából a vita majdnem olyan fontos mint maga az előadás, ezért a hasznos és előrevivő vitához szükséges „műhely légkör” kialakítását és fenntartását valamennyi résztvevőtől de különösen a bizottsági tagoktól és az elnököktől ez úton is tisztelettel kérjük.

Az egyes szekciók titkárait arra is kérjük, hogy a szekcióülésről február végéig készítsenek és juttassanak el hozzám egy-egy rövid, közérthető formában megírt, s a szekció elnökkel(elnökökkel) egyeztetett tájékoztatót (a Magyar Állatorvosok Lapja részére), mely tartalmazza az elhangzott legfontosabb megállapításokat.

A szekció ülések anyagait az MGSZH Központ Állatgyógyászati Termékek Igazgatósága (Dr. Soós Tibor bizottsági titkár úr) irányítása alatt rendezte füzetekbe és küldte meg az egyes intézeteknek, illetve személyeknek. Kérjük az intézetek vezetőit, hogy az elektronikus úton megküldött anyagból továbbítsanak ill. kellő példányszámban másoltassanak munkatársaik és érdeklődő nyugdíjasaik számára is. Kérjük, továbbá, hogy munkatársaikat segítsék az üléseken való aktív és sikeres részvételben.

Előre is köszönjük a szekció elnökök, a titkárok, a bizottsági tagok és valamennyi előadó munkáját, s külön is köszönjük az összefoglaló füzeteket előállító munkacsoport (Németh Veronika és dr. Vinczer Péterné) nélkülözhetetlen segítségét.

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

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

Dr. Huszenicza Gyula, egyetemi tanár
elnök
SzIE Áo-tud. Dokt. Isk. Tanácsa

Az akadémiai beszámolók beosztása és szekcióbizottságai (2010. január 25-28)

A szekció megnevezése	A szekcióülés ideje	A szekcióülés helye	Társelnökök	Titkár	Bizottsági tagok
Élettan Biokémia Kóreléttan Morfológia	I. 25 hétfő 8.30-tól	Élettan tanterem	Dr. Frenyó V. László Dr. Sótónyi Péter Dr. Veresegyházi Tamás	Dr. Bartha Tibor	Dr. Kutas Ferenc Dr. Halasy Katalin Dr. Vajdovich Péter
Ételmszerhigiénia	I. 25 hétfő 13.00 -tól	Továbbképzés tanterem	Dr. Laczay Péter Dr. Sas Barnabás	Dr. Székely Körmöczy Péter	Dr. Bíró Géza Dr. Lombai György Dr. Szita Géza Dr. Kovács Sándor
Virologia, Immunológia,	I. 26. kedd, 8.30-tól	Élettan tanterem	Dr. Harrach Balázs Dr. Soós Tibor	Dr. Benkő Mária	Dr. Rusvai Miklós Dr. Pálfi Vilmos Dr. Tekes Lajos Dr. Drén Csaba
Bakteriológia			Dr. Nagy Béla Dr. Fodor László Dr. Bernáth Sándor	Dr. János Szilárd	Dr. Makrai László Dr. Magyar Tibor Dr. Tóth István
Allathigiénia Allattenyésztés Genetika Takarmányozás	I. 27. szerda 8.30-tól	Továbbképzés tanterem	Dr. Szabó József Dr. Brydl Endre	Dr. Bersényi András	Dr. Fekete Sándor Dr. Rafai Pál Dr. Zöldiág László Dr. Kovács Melinda Dr. Jakab László
Parazitológia Allattan Halkórtan	I. 27. szerda 8.30-tól	Élettan tanterem	Dr. Kassai Tibor Dr. Molnár Kálmán Dr. Hornung Erzsébet	Dr. Baska Ferenc	Dr. Békési László Dr. Csaba György Dr. Farkas Róbert Dr. Varga István
Klinikumok Gyógyszerfan Toxicológia	I. 28. csütörtök 8.30-tól	Belgyógyászat tanterem	Dr. Gálfi Péter Dr. Vörös Károly Dr. Szenci Ottó Dr. Hevesi Akos	Dr. Sterczler Ágnes Dr. Németh Tibor	Dr. Sályi Gábor Dr. Semjén Gábor Dr. Várnagy László Dr. Zöldiág László

TARTALOMJEGYZÉK

MAJOM-ADENOVÍRUSOK MOLEKULÁRIS JELLEMZÉSE

Jánoska Máté, Pantó Laura, Doszpoly Andor, Harrach Balázs

ÚJ ADENOVÍRUS KIMUTATÁSA TÖRPE SELYEMMAJOMBÓL

Hornyák Ákos, Gál János, Palade Elena Alina, Demeter Zoltán, Forgách Petra, Bakonyi Tamás, Rusvai Miklós

A 2-ES SZEROTÍPUSÚ EGÉR-ADENOVÍRUS GENOMJÁNAK ÉS MÁS EGÉRFÉLÉK ADENOVÍRUS-RÉSZSZEKVENCIÁINAK JELLEMZÉSE

Vidovszky Márton, Sandra Ramelli, Willy Decurtins, Justyna Ruminska, Doszpoly Andor, Skoda Gabriella, Jánoska Máté, Gyuranecz Miklós, Urs Greber, Silvio Hemmi, Harrach Balázs

INTRAUTERIN BOVIN HERPESZVÍRUS 4 FERTŐZÉS.

Egyed László, Sassi Gergely, és Szenci Ottó

SERTÉS HOKOVÍRUSOK MAGYARORSZÁGON

Cságotla Attila, Lőrincz Márta, Tombác Kata, Biksi Imre, Balka Gyula, Tuboly Tamás

A BROJLERCSIRKÉK SATNYASÁG ÉS TÖRPE NÖVÉS TÜNET-EGYÜTTESÉNEK („RUNTING-STUNTING SYNDROME”) KÓROKTANÁBAN RÉSZTVEVŐ VÍRUSOK VIZSGÁLATA

Elena Alina Palade, Zoltán Demeter, Mihály Dobos-Kovács, Miklós Rusvai, János Kisary, és Míra Mándoki

PRRS VÍRUSOK ORF7 RÉGIÓJÁNAK OLVDÁSPONT-VIZSGÁLATA VALÓS IDEJŰ PCR MÓDSZERREL

Balka Gyula, Dán Ádám, Hornyák Ákos, Ladinig Andrea, Rusvai Miklós

KULLANCSENCEFALITISZ VÍRUS ÜRÜLÉSE KECSKETEJJELEN

Balogh Zsuzsanna, Egyed László, és Ferenczi Emőke

ÁLLATGYÓGYÁSZATI OLTÓANYAGOK TORQUE TENO VÍRUS (TTV) SZENNYEZETTSÉGE

Farsang Attila, Kulcsár Gábor

ELTÉRŐ PATOGENITÁSÚ MADÁRINFLUENZA VÍRUSTÖRZSEK (H5N1, H5N2, H3N8, H10N4) KÍSÉRLETES VIZSGÁLATA FÁCÁN- ÉS TÖKÉSRÉCE-EMBRIÓBAN

Rigó Dóra, Pálmai Nimród, Dán Ádám, Ph.D., Ursu Krisztina, Szeleczy Zsófia, Szeredi Levente, Glávits Róbert

TÉRBE STRUKTURÁLT SEIR MODELLEK ÁTLAGOLT ÉRINTKEZÉSI RÁTÁVAL

Lang Zsolt, Reiczigel Jenő

A HAZAI SZARVASMARHA-ÁLLOMÁNYOK ATÍPUSOS MYCOBACTERIUM FERTŐZÉSEI, A DIAGNOSZTIKA NEHÉZSÉGEI

Rónai Zsuzsanna, Dán Ádám, Dencső László és Jánosi Szilárd

ELHULLÁSRA VEZETŐ LÉGZŐSZERVI MEGBETEGEDÉSEK VIZSGÁLATA BORJAKBAN

Szeredi Levente, Pálfi Vilmos, Jánosi Szilárd

A MYCOPLASMA FERTŐZÖTTség NEGATÍV HATÁSÁNAK KIVÉDÉSE

Béres Andrea, Marca Joan és Stipkovits László

A *HISTOPHILUS SOMNI* MOLEKULÁRIS EPIDEMIOLOGIAI VIZSGÁLATA

Kardos Gábor, Jánosi Katalin, Fodor László, Kiss István

A MGSZH ÁDI DEBRECENI MIKROBIOLÓGIAI OSZTÁLYÁNAK DIAGNOSZTIKAI CÉLLAL VÉGZETT MOLEKULÁRIS TÍPIZÁLÁSSAL KAPCSOLATOS TAPASZTALATAI

Kardos Gábor, Kecskeméti Sándor, Bajmócy Endre, Kiss István

HAZAI BROILER EREDETŰ VÁGÓHÍDI *CAMPYLOBACTER* IZOLÁTUMOK GENETIKAI DIVERZITÁSÁNAK FELMÉRÉSE

Kardos Gábor, Gulyás Márta, Kiss István

NAPOSKACSÁK KÍSÉRLETES FERTŐZÉSE *BRACHYSPIRA PILOSICOLIVAL* ILLETVE *B. ALVINIPULLIVAL*

Thuma Ákos, Dán Ádám, Juhászné Kaszanyitzky Éva, Dencső László, Fazekas Béla, Glávits Róbert

BRACHYSPIRA FERTŐZÖTTség VIZSGÁLATA NÖVENDEKKACSA ÁLLOMÁNYOKBAN

Thuma Ákos, Ivanics Éva, Dán Ádám, Juhászné Kaszanyitzky Éva, Glávits Róbert

A MEZEI HÖRCSÖG (*CRICETUS CRICETUS*) *FRANCISELLA TULARENSIS*-FERTŐZÖTTségÉNEK VIZSGÁLATA EGY MAGYARORSZÁGI ÉLŐHELYEN

Gyuranecz Miklós, Dénes Béla, Dán Ádám, Rigó Krisztina, Földvári Gábor, Szeredi Levente, Sallós Alexandra, Jánosi Katalin, Fodor László, Erdélyi Károly, Makrai László

A TULAREMIA JÁRVÁNYTANI CIKLUSÁNAK VIZSGÁLATA EGY ENDEMIKUS TERÜLETEN

Gyuranecz Miklós, Rigó Krisztina, Dán Ádám, Földvári Gábor, Makrai László, Dénes Béla, Fodor László, Majoros Gábor, Tirják László, Lengyel Tibor, Hauser Zsófia, Mitru Szilvia, Rády Rebeka, Erdélyi Károly

FRANCISELLA TULARENSIS SSP. *HOLARCTICA* KÍSÉRLETES FERTŐZÉS MEZEI POCOKBAN (*MICROTUS ARVALIS*)

Gyuranecz Miklós, Dán Ádám, Szeredi Levente, Ráczné Mészáros Ágnes, Rempört Ágnes, Erdélyi Károly, Fodor László, Dénes Béla, Makrai László

BRUCELLA CANIS OKOZTA VETÉLÉSEK EGY HAZAI KUTYATENYÉSZETBEN

Gyuranecz Miklós, Rónai Zsuzsanna, Dénes Béla, Dán Ádám, Szeredi Levente, Pálmai Nimród, Dencső László, Hauser Zsófia, Lami Erzsébet, Makrai László, Jánosi Szilárd

BORDETELLA BRONCHISPETICA IZOLÁTUMOK FLAGELLIN GÉNJÉNEK VIZSGÁLATA PCR-RFLP MÓDSZERREL

Khayer Bernadett, Wehmann Enikő, Magyar Tibor

LIBÁKBÓL IZOLÁLT ELTÉRŐ PATHOGENITÁSÚ *PASTEURELLA MULTOCIDA* TÖRZSEK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA

Varga Zsuzsanna, Selleyi Boglárka, Ivanics Éva és Magyar Tibor

EGYEDI, MACSKA SZÁJFLÓRA EREDETŰ, *PASTEURELLA DAGMATICUS*-SZERŰ TÖRZSEK FENO-, ÉS GENOTÍPUSOS JELLEMZÉSE

Selleyi Boglárka, Wehmann Enikő, Makrai László és Magyar Tibor

HAZAI ÉS KÜLFÖLDI BROILER EREDETŰ *SALMONELLA INFANTIS* TÖRZSEK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA FENO- ÉS GENOTÍPIZÁLÓ MÓDSZEREKKEL

Nógrády Noémi, Király Margit és Nagy Béla

EXTRAINTESTINÁLIS ÉS INTESZTINÁLIS EREDETŰ BAROMFI *ESCHERICHIA COLI* VIRULENCIA ÉS FILOGENETIKAI TIPIZÁLÁSA

Tóth István, Ulrich Dobrindt, és Nagy Béla

ESCHERICHIA COLI O157 TÖRZSEK LONG POLAR FIMBRIÁINAK GENOTÍPIZÁLÁSA

Sváb Domonkos László, Tóth István

HUMÁN-PATOGÉN ÉS KOMMENZALISTA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* TÖRZSEK ÖSSZEHASONLÍTÓ GENETIKAI ÉS PATOGENETIKAI VIZSGÁLATA

Szmolka Ama, Emődy Levente, Lutz Wiehlmann, Nina Cramer és Nagy Béla

MAJOM-ADENOVÍRUSOK MOLEKULÁRIS JELLEMZÉSE

Jánoska Máté, Pantó Laura, Doszpoly Andor, Harrach Balázs

Az eddig kimutatott 54 humán adenovírust (HAdV-t) hét speciesbe (HAdV-A–G) lehet sorolni, melyek közül a HAdV-B, -C, -E és -G tartalmaz majom-eredetű vírusokat is. Egy species, a *Simian adenovirus A* (SAdV-A) csak majom-adenovírusokat tartalmaz. Az elmúlt évig csak 25 majom-adenovírus szerotípus volt ismert, ekkor azonban váratlanul 25, korábban még szerológiailag sem azonosított, új majom-adenovírus teljes genomját publikálták amerikai kutatók. A majom-adenovírusok első 20 szerotípusának legtöbbjét 40 évvel ezelőtt izolálták, a járványos gyermekbénulás (poliomyelitis) vakcina előállításakor, a felhasznált primer sejttenyészetekből. Ezek a vírusok tehát óvilági, nem emberszabású majmok szöveteiből származnak. A nem emberszabású majmok adenovírusairól máig hiányosak az ismereteink. Bár 5 vírusból a teljes genom ismert (SAdV-1, -3, -6, -7, -20), de a legtöbb esetben csak egy nagyon rövid DNS szekvencia, a vírus-asszociált RNS szekvenciája, vagy semmi sem található meg a GenBank adatbázisában.

Vizsgálataink során ezekből a nem jellemzett vírusokból erősítettünk fel rövid szekvenciákat kettős (nested) PCR segítségével a DNS polimeráz, a IVa2, valamint a penton bázis génekből. A kapott eredményeket egy korábbi, laboratóriumunkban készült szakdolgozat részleges hexon génjein (nem közölt eredmények) alapuló törzsfával is összehasonlítottuk. Az óvilági, nem emberszabású majmokban nyert SAdV izolátumok mellett egy újvilági majmokban, valamint egy-egy orángutánból és gorillából kimutatott adenovírust is vizsgáltunk PCR segítségével. A reakciótermékeket az alkalmazott primerek segítségével megszekvenáltuk és a BLASTX homológiakereső program segítségével a kódolt aminosav-szekvenciákat azonosítottuk. A filogenetikai analízist a MOBYLE szerver segítségével, a PHYLIP programcsomag alkalmazásait használva, online végeztük. A bioinformatikai elemzés során a SAdV-6 és -20 szerotípusokat is vizsgáltuk, mivel ezeknek a speciesbe osztása sem történt még meg, annak ellenére, hogy teljes genomjuk megtalálható a GenBank adatbázisban. Eredményeink alapján a vizsgált vírusok felét be lehet osztani a már jelenleg is elfogadott HAdV-G és SAdV-A speciesekbe. A fennmaradó vírusok számára négy új species felállítását javasoljuk, egy esetben pedig még további vizsgálatokra lesz szükség a javasolt taxonómiai besorolás megállapításához. Jelenlegi eredményeink azt bizonyítják, hogy a HAdV-ok közül számos a majom gazdából került az emberekbe.

Köszönettel tartozunk Alistair Kiddnek és Alexander Zakartchouknak a vírusizolátumok, valamint Dán Ádámnak az újvilági majom minta megszerzésében nyújtott segítségükért, Bernhard Ehlersnek a még nem publikált primereinek az elküldéséért, valamint az OTKA K72484 sz. pályázat támogatásáért.

ÚJ ADENOVÍRUS KIMUTATÁSA TÖRPE SELYEMMAJOMBÓL

Hornyák Ákos¹, Gál János², Palade Elena Alina², Demeter Zoltán², Forgách Petra¹, Bakonyi Tamás¹, Rusvai Miklós²

A selyem majmok a szélesorrú majmok (újvilági) csoportjában élő négy család egyikébe (Csuklyásmajomfélék) tartoznak, elterjedési területük Brazília, Kolumbia, Ecuador és Peru. Az ide tartozó majom fajok számos vírusos betegségét írták már le a kutatók, de adenovírus okozta megbetegedésről ez idáig nem számoltak be. A SzIE-ÁOTK, Kórbonctani és Igazságügyi Állatorvostani Tanszékére 2009. augusztus 15.-én egy kb. 2,5 éves, 118 gramm tömegű, hím törpe selyemmajom került kórbonctani-diagnosztikai vizsgálat céljából. A majom az elhullást megelőző 3 nappal kedvtelen volt, nem szívesen hagyta el az odút, időnként tüszögött és az étvágya is jelentősen csökkent.

A boncolás és a szövettani vizsgálat során mellvízkór kialakulását, félheveny, a bronchusok hámszövetének proliferációjával és desquamatiojával, továbbá a tüdő alveolus hámszövetének leválásával és óriássejt képződéssel járó tüdőgyulladást állapítottunk meg. A tüdőelváltozások hátterében felmerülő chlamidophylosis és a vírusok okozta kórképek kizárása érdekében szervmintákat küldtünk a Kar Járványtani és Mikrobiológiai Tanszékére. Viroológiai vizsgálatra lép, máj tüdő és vékonybél szakasz érkezett, melyből vírusizolálással a tüdőből kloroform rezisztens, halogénezett dezoxi-uridin származékokkal multiplikációjában gátolható, amfofil sejtmagzárványokat képező, sejtlekerekedést okozó vírust sikerült izolálnunk sertéshere (ST) sejtvonalon. Az ezzel a vizsgálattal egyidejűleg elvégzett, az adenovírusok polimeráz génjének konzervatív szakaszára korábban Hanson és mtsai által tervezett primerekkel egy 1020 nt-nyi nagyságú génszakaszt sikerült felerősíteni mind az eredeti mintából, mind a sejtenyészet felülúszójából.

A kapott terméket kitisztítottuk és a Bécsi Állatorvos-tudományi Egyetemen nukleotid sorrendjüket meghatároztuk. A szekvenciák elemzéséhez a BLAST és CLUSTAL X számítógépes programokat használtuk. Megállapítottuk, hogy a vírus polimeráz génjének 951 bázispár sorrendje meglepő módon a kutya 2-es típusú adenovírusával és egy németországi újonnan leírt törpedenevér adenovírussal mutat rokonságot. A hasonlóság mindkét esetben nukleotid szinten 72% volt, míg a bázissorrendből következtethető aminosav sorrend kutya 2-es típusú adenovírusával 75%-os, a törpedenevér adenovírusával 73%-os egyezést mutatott. Ugyanezek a rokonsági viszonyok a CAV-2 és a törpedenevér adenovírusai között 74% ill. 73%. Az amplifikációs terméket szekvenciájának meghatározását követően törzsfarekonstrukciós vizsgálatnak vetettük alá, megjelenítéséhez és szerkesztéséhez a TreeView version 1.6.6 számítógépes programot használtuk.

A további vizsgálatok során, az ugyanabból az állományból származó két majom egyikének vérsavója AGID teszttel pozitívnak bizonyult a mastadenovírus csoportspecifikus antigénnel szemben, de negatív volt az atadenovírus csoportspecifikus antigénjével szemben. Az ezen állatokból vett orrváladék minták vírusizolálási és PCR eredménye mindkét esetben negatívnak bizonyult.

A szerológiai és szekvencia vizsgálatok eredményei alapján megállapítottuk, hogy az általunk izolált vírus a mastadenovírus nemzetség új, eddig még nem publikált törzse, mely a legkonzervatívabbnak tartott polimeráz génen is csak 72% hasonlóságot mutat a kutya és a szarvasmarha törzsekkel, míg humán és majom adenovírusokkal ugyanezen a génen csak 67-68% a rokonsági foka.

A 2-ES SZEROTÍPUSÚ EGÉR-ADENOVÍRUS GENOMJÁNAK ÉS MÁS EGÉRFÉLÉK ADENOVÍRUS-RÉSZSZEKVENCIÁINAK JELLEMZÉSE

Vidovszky Márton¹, Sandra Ramelli², Willy Decurtins², Justyna Ruminska², Doszpoly Andor¹, Skoda Gabriella¹, **Jánoska Máté¹**, Gyuranecz Miklós³, Urs Greber⁴, Silvio Hemmi², Harrach Balázs¹

Az egér két ismert adenovírus szerotípusa (murine AdV-1 és 2) meglehetősen eltérő biológiai tulajdonságokat mutat, ám csak a MAdV-1 genomja volt ismert. Ezért a MAdV-2 K87-es törzsének teljes genomját szekvenáltuk, amely 35.203 bp hosszúnak és 63,35% G-C tartalmúnak bizonyult. A MAdV-2 genomja jelentősen hosszabb, mint a MAdV-1 és az időközben talált és szintén szekvenált MAdV-3 genomja (30.944 bp és 30.570 bp). A méretkülönbségért a gének mérete, nem pedig a számuk felelős. A filogenetikai fán a MAdV-ok monofiletikusak és ősi, mint más ismert mastadenovírusok. A MAdV-3 sokkal jobban hasonlít a MAdV-1-re mint a MAdV-2-re. A filogenetikai távolság a MAdV-1 és a MAdV-3 közt is meghaladja a 10%-ot, míg a MAdV-1 és MAdV-2 között ez az érték még nagyobb. Tehát a MAdV-2-t egy új, a MAdV-1-től (MAdV-A) és a MAdV-3-tól (MAdV-C) különböző MAdV fajba kell sorolni. Javaslatunkra a nemzetközi vírus taxonómiai bizottság (ICTV), fenntartotta a MAdV-B nevet, a már korábban felfedezett, de még nem publikált MAdV-2 későbbi besorolására. A MAdV-1 és 2 genom szerveződése kis eltérésekkel megegyezik egymással. Jelentősebb eltérés csak a korai génkifejeződési régiókban van. Így az E1A 19K gén mérete a három típusnál nagyon eltér (23, 175, 330 aminosav). Az E3 régió első génje (12.5K) jelen van a MAdV-2-ben, míg hiányzik a MAdV-1 és 3-ból. Ez a gén egy eddig ismeretlen, nem létfontosságú működésért felelős, és csaknem minden mastadenovírusban jelen van. A MAdV-2 másik E3 génje nem mutat homológiát a MAdV-1 és MAdV-3 hasonló elhelyezkedésű fehérjéjével. A MAdV-1 genom jobb végén az E4 régióban lévő, ismeretlen funkciójú 5 ORF-ből (A-tól E-ig) 4-re némi homológiát mutató ORF (A, C, D, E) megtalálható a MAdV-3-ban is. A MAdV-2 E4 régiójában csupán kettő ORF található, de egyik se mutat homológiát a MAdV-1 E4 ORF-jeivel.

Állatkerti bélsár minták monitorozása során találtunk néhány a MAdV-2-höz nagyon hasonló, de azzal meg nem egyező adenovírust. Ezek feltételezhetően az állatkertben elszaporodott és szabadon futkározó rágsálóktól származhatnak. Az általános adenovírus primerekkel kimutattunk egy adenovírust egerész ölyvből is, mely a filogenetikai elemzések után meglepően a mastadenovírusok közé, a filogenetikai törzsfán a MAdV-1 és a MAdV-2 közé esett. Mivel eddig sohasem mutattak ki mastadenovírust madárból (vagy bármilyen nem emlős gazdából), jogos a feltételezés, hogy az adenovírust a gazda által elfogyasztott préda állatból mutattuk ki. Ugyanezen PCR-rel találtunk (eddig ismeretlen) adenovírust mezei hörcsög és pocok mintákban is. A filogenetikai számítás az egérfélék ezen adenovírusainak közös eredetére utal.

Köszönettel tartozunk Susan R. Compton-nak a MAdV-2 K87-es izolált vírustörzserért, és Klaus Überlanak a MAdV-3 szekvencia, publikáció előtt történő rendelkezésre bocsátásáért.

INTRAUTERIN BOVIN HERPESZVÍRUS 4 FERTŐZÉS.

Egyed László¹, Sassi Gergely², és Szenci Ottó²

Bevezetés:

A négyes típusú szarvasmarha herpeszvírus a nagyüzemi állományokban világszerte általánosan elterjedt klinikai tünetekhez bizonyítottan nem köthető gammaherpeszvírus. Immunszuppresszív szerepét, sokféle kórformában (Méh-tőgygyulladások, idült tüdőgyulladások) szerepét feltételezik.

Cél:

Vérsavó-szerológia, és vírus DNS-PCR vizsgálatokkal szeretnénk volna kimutatni, hogy mikor, mitől, és hogyan fertőződnek a borjak, ami a vírusfertőzés elleni mentesítések szervezésének szempontjából lenne fontos adat.

Módszer:

Alvadásgátolt és nem gátolt vérsavómintákat vettünk 31 ellő Holstein-fríz tehénből és borjaikból közvetlenül ellés után, a kolosztrum itatás előtt. A borjaktól még a 11., 23. napokon és a 8. héten. A kísérlet alatt a telepen történt 7 halvaellés borjainak lépét és a 31. tehén kolosztrumát is megvizsgáltuk PCR módszerrel.

A savómintákat indirekt ELISA-val vizsgáltuk, a vírus DNS-ét nested PCR módszerrel mutattuk ki 1 ug DNS-ből.

Eredmény:

A 31 borjú közül 17 (54%) kolosztrum itatás előtt vett vérmintája pozitív volt a vírusra, miközben minden frissen ellet borjú szeronegatív volt. Az összes borjú szeropozitívvá vált a 11. napra, az anyai ellenanyagtiter lassan csökkent. Minden tehén és kolosztum minta pozitív volt, a 7 halvaellett borjúlép közül 4.

Következtetés:

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a BoHV-4 klinikai tünetek nélkül (minden borjú, tehén, egészséges volt, az ellések normálisan zajlottak le) képes átjutni a placentán és intaruterin fertőzést okozni. A fertőzés ideje módja ismeretlen, feltételezhetően a vírus közvetlenül átjut a placenta barrier 3 sejtrétegén, érdekes módon klinikai tüneteket, fejlődési problémákat nem okozva. Szintén feltételezhető, hogy egy ilyen intrauterin fertőzés károsítja a fejlődő immunrendszert és bizonyos későbbi immunfunkciók gátja lehet. Az állatok szeronegatívan születnek, azaz a vemhesség utolsó harmadában már immunkompetens borjú nem reagál ellenanyagképzéssel, ami ideiglenes immuntoleranciát jelent. Ez az intaruterin fertőzés alapja lehet a vírus későbbi immunszuppresszív hatásának, rossz antigenitásának és a neutralizáló ellenanyagok hiányának.

Köszönetnyilvánítás: Köszönjük Mádl Istvánnak, és Tibold Jánosnak, az Agroprodukt Zrt. vezetőinek, hogy munkánkat, mintavételezéseinket telepükön lehetővé tették.

Támogatás: OTKA K72484 pályázat.
SZIE-ÁOTK
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék¹
Kórbonctani és Igazságügyi Állatorvostani Tanszék²

Virologia

SERTÉS HOKOVÍRUSOK MAGYARORSZÁGON

Cságola Attila¹, Lőrincz Márta¹, Tombácz Kata¹, Biksi Imre², Balka Gyula², Tuboly Tamás¹

Bevezetés: A klasszikus sertés parvovírus (porcine parvovirus, PPV) törzseknek tulajdonítható szaporodásbiológiai zavarokat okozó fertőzőtség világszerte elterjedt, különösen azokban az állományokban, ahol a vakcinázási protokollokat helytelenül alkalmazzák, vagy ahol a vakcinázás hatékonyságát immunszuppresszív tényezők csökkentik. A rohamosan fejlődő nukleinsav amplifikáló módszereknek köszönhetően az utóbbi években új sertés parvovírusokat írtak le. Myanmarban addig ismeretlen parvovírust mutattak ki sertés szérumból, melynek genomja távoli rokonságban állt a korábban megismert PPV szekvenciákkal, ezért PPV2-nek nevezték el. 2007-ben újabb parvovírust izoláltak hong kongi sertésekből, így ezeket sertés hokovírusnak (porcine hokovirus, PHoV) nevezték el. A sertés hokovírusról kiderült, hogy közeli rokona a szintén nemrégiben azonosított négyes és ötös típusú humán parvovírusoknak (PARV4, 5) és a szarvasmarha hokovírusnak. Az PHoV földrajzi elterjedtsége ma még nem ismert.

Cél: Munkánk célja az volt, hogy kiderítsük, jelen van-e a vírus Magyarországon, és ha igen, mennyire elterjedt, valamint hogy összehasonlítsuk a hazánkban előforduló vírusszekvenciákat a GenBankból letölthető PHoV genomokkal.

Módszer: Sertés eredetű szervmintákat (tüdő, máj, vese, lép és nyirokcsomó) gyűjtöttünk vágóhidakról, valamint a SZIE Kórbonctan és Igazságügyi Tanszék vizsgálati anyagából, 2006-tól 2009-ig. A mintákat standard nukleinsav tisztítási módszerekkel dolgoztuk fel, majd megvizsgáltuk hokovírus genomok jelenlétére polimeráz láncreakcióval, amit szekvenálással egészítettünk ki. Több primerpárt terveztünk, egy diagnosztikai primer párt (130 bázis hosszúságú szakasz), valamint olyanokat, amelyeket a vírus genom szekvenálására használtunk.

Eredmény, következtetés: Eredményeink szerint a PHoV a vizsgált minták 39%-ából kimutatható volt, ez a gyakoriság megfelelt a szakirodalmi adatoknak. Nem találtunk összefüggést a pozitív minták származási helye és a vírus előfordulásának gyakorisága között. A pozitív minták arányának növekedését tapasztaltuk 2006 és 2009 között.

Köszönetnyilvánítás: A kutatást az NKB 15945 számú pályázat finanszírozta.

A BROJLERCSIRKÉK SATNYASÁG ÉS TÖRPENÖVÉS TÜNET-EGYÜTTESÉNEK („RUNTING-STUNTING SYNDROME”) KÓROKTANÁBAN RÉSZTVEVŐ VÍRUSOK VIZSGÁLATA

Elena Alina Palade¹, Zoltán Demeter¹, Mihály Dobos-Kovács¹, Miklós Rusvai¹, János Kisary², és Míra Mándoki¹

A brojlercsirkék satnyaság és törpenövés szindrómája (RSS) széles körben jelentkező komplex enterális betegség, amely sem megjelenési formájában, sem oktanilag nem egységes, hanem számos kórkép gyűjtőneve. Ezek a kórképek esetenként más és más kórbonctani elváltozás mellett közös klinikai tünetben (pl. levertség, hasmenés) nyilvánulnak meg. A morbiditás és a mortalitás változó, de minden esetben fellelhető a fejlődésben való visszamaradás, a fejletlenség és az állomány szétnövése, ami jelentős gazdasági kártételt okoz különösen annak fényében, hogy a RSS általában a gyors növekedési erélyű brojlercsirkéket érinti legsúlyosabban többnyire korai fertőződés után, a 4-5 héten.

Különböző kutatócsoportok különböző vírusokat neveztek meg a satnyaság és törpenövés szindróma okozójaként, így a rota-, reovírusok, továbbá astro-, parvo- és coronavírusok is említésre kerültek, de ezek a vírusok gyakran egészséges állatok bélcsatornájának vizsgálata során is kimutathatók. A betegség hátterében feltételezett vírusok pathogenitása önmagában nem számottevő, és általában csak hajlamosító tényezők és koinfekciók mellett alakítják ki a megbetegedést. A gazdasági kárt az okozza, hogy még a gyenge pathogenitású vírus szaporodása is megtorpanást idéz elő a csirkék fejlődésében, vagyis az állatok kizökkennek genetikailag meghatározott fejlődési erélyükből. Napjainkban a védekezésre nem áll rendelkezésre vakcina.

A Kórbonctani és Igazságügyi állatorvostani Tanszéken folyó diagnosztikai munka során öt különböző, emelkedett elhullást tapasztaló brojler-állományt vizsgáltunk. A hullák a satnyaság és törpenövés szindróma jellegzetes makroszkópos, továbbá kórszövetteni képét mutatták. Munkacsoportunk ezután elektronmikroszkópos és molekuláris biológiai (PCR) diagnosztikai módszerrel igazolta parvo, különböző astro (avian nephritis, chicken astro és avian astro) valamint reo, rota vírusok egyidejű jelenlétét és vizsgálta a talált vírusok előfordulását, gyakoriságát, variabilitását, genetikai tulajdonságait és a következményes elváltozásokat. Meghatároztuk a mind az öt vizsgált állományban jelenlévő csirke parvo vírus (chicken parvovirus - ChPV) szekvenciáját. A filogenetikai vizsgálat alapján kiderült, hogy a magyarországi törzsek nagyon hasonlóak egymáshoz és a korábban leírt pulykában előforduló parvo vírus törzsekhez.

A vizsgálat megerősítette, hogy a természetes körülmények között fertőződött brojler-állományokban mindig az együttes fertőzések (koinfekciók) alakítják ki a RSS szindrómát. Szűrővizsgálataink alapján kimondható, hogy a széles körben előforduló vírusok együttes jelenléte súlyosbítja a kialakuló elváltozásokat, továbbá eredményeink hangsúlyozzák a pulykák esetleges fertőzőkövetítő szerepét a csirke parvovírus okozta megbetegedés járványtanában.

Kórbonctani és Igazságügyi Állatorvostani Tanszék¹

MgSZH-ÁDI²

SzIE Állatorvos-tudományi Kar, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék³

Bécsi Állatorvos-tudományi Egyetem, Sertésklinika⁴

PRRS VÍRUSOK ORF7 RÉGIÓJÁNAK OLVDÁSPONT-VIZSGÁLATA VALÓS IDEJŰ PCR MÓDSZERREL

Balka Gyula¹, Dán Ádám², Hornyák Ákos³, Ladinig Andrea⁴, Rusvai Miklós¹

A sertések reprodukciós zavarokkal és légzőszervi tünetekkel járó szindrómája (porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS) széles körben elterjedt vírusos megbetegedés, melyet a PRRS vírusa (PRRSV, porcine arterivirus) által okozott fertőzés idéz elő. Nevét onnan kapta, hogy kocákban reprodukciós zavarokat, fiatal állatokban pedig légzőszervi tüneteket idéz elő. A PRRSV az eddig ismert egyik legváltozékonyabb RNS vírus, az egyes vírustörzsek genetikai változékonyága pedig még az adott genotípuson belül is rendkívül, így a betegség diagnosztikája rendkívül nagy kihívást jelent.

Munkacsoportunk által korábban kidolgozott valós idejű PCR módszer PriProET elven alapul. A módszer legfontosabb előnye, hogy olyan vírusgenomokhoz is képes tapadni, melyek szekvenciája eltér a próbától. A reakciók után elvégzett olvadáspont-vizsgálat azt méri, hogy milyen erősen kapcsolódik a próba a célterülethez, milyen magas hőmérsékleti értéken válik le a templátról. Kutatásaink célja az volt, hogy biztosan pozitív mintákon elvégzett PriProET reakciót követő olvadáspont-vizsgálatokkal, illetve az adott génszakasz nukleotidszekvencia vizsgálatával megállapítsuk, hogy a próba célterületen megfigyelt mutációk száma illetve helyeződése milyen hatással van az olvadáspont értékekre.

Ehhez PRRSV pozitív mintákat gyűjtöttünk hazánkból, Ausztriából, Németországból, Szerbiából, megvizsgáltuk emellett az Európában beszerezhető élővírusos vakcinatörzseket, továbbá egy európai III-as szubtypusba tartozó fehéroros, illetve egy magas patogenitású, Bhutánból származó szekvenciát.

Az általunk vizsgált 25 vírusszekvencia, az olvadáspont értékek alapján összesen 8 különböző csoportba volt sorolható 62.4°C-os olvadáspont értékektől egészen a tökéletes illeszkedést mutató törzsek esetében megfigyelhető 76°C-ig. A primerek illetve a próba tervezésekor a génbankból letöltött 235 szekvencia adatai alapján az volt látható, hogy az amerikai genotípusú törzsek esetében a próba tapadási területén (egy általánosan, az 5' vég közelében megfigyelhető deléció következtében) legalább 4 mismatch van, mely olvadáspont vizsgálatot követően lehetővé teszi a különböző genotípusú törzsek elkülönítését. Ezzel szemben egyes, napjainkban kimutatott európai szekvenciák vizsgálata azt bizonyította, hogy a mutációk pozíciója sokkal nagyobb hatással van az olvadáspont értékekre, mint azok száma. Minél közelebb van az eltérés a próba tapadási helyének 3' végéhez, az annál nagyobb hőmérséklet csökkenést eredményez az olvadáspont vizsgálat során. Így számos újonnan talált európai genotípusú PRRSV minta alacsonyabb olvadásponttal rendelkezett, mint bármely eddig vizsgált amerikai törzs.

KULLANCSENCEFALITISZ VÍRUS ÜRÜLÉSE KECSKETEJJEL.

Balogh Zsuzsanna¹, Egyed László², és Ferenczi Emőke¹

Bevezetés:

A kullancsencefalitisz vírusa egy Flavivirus, amely leggyakrabban kullancs-csípés következtében fertőz emlősállatokat és embert. A betegség jóindulatú, a nagy többség tünetmentesen átvészeli a fertőzést, az esetek kb. 6%-ban alakulnak ki tartós (enyhe) bénulások, mozgászavarok, 0,1-0,2%-ban fordulnak elő halálesetek.

Cél:

A kullancsencefalitisz vírusa gyakran nyers kecsketej fogyasztással fertőzi meg az embert (2007-ben 30/62 eset). Egy 20 anyakecskés kísérletben szeretnénk volna tisztázni, hogy a fertőzött állatok meddig ürítik a vírust, fertőzik-e gidáikat, van-e klinikai tünet, vakcinázással kivédhető-e a vírusürítés?

Módszer:

A 20 szoptató kecskét 4 db. 5 fős csoportra osztottuk. Az első csoportot virulens vírussal fertőztük, a másodikat előzetes immunizálás után oltottuk vírussal, a harmadik csak vakcinát kapott a negyedik csoport semmilyen kezelést sem. Másnaponta vér és naponta vett tejmintákból próbáltuk kimutatni a vírust, illetve ellenanyagot kísérleti állatoltással, RT-PCR-el, IF, HAG és ELISA módszerekkel (VN folyamatban). Az állatok testhőmérsékletét naponta mértük, mindvégig klinikai megfigyelés alatt voltak.

Eredmény:

Klinikai tünetet a vírusfertőzés nem okozott. Tejjel (nagy egyedi különbségekkel) a 2-23 napok között ürült vírus, virémia nagyon rövid, alig kimutatható volt a 2-3 napokon. HAG titerek 1/40-1/320 között mozogtak. ELISA hasonló eredményeket hozott nagyobb szórással. Az előzetes (inaktivált) vakcinázás kivédte a tejjel való vírus ürítést. Fél évvel a kísérlet után vett vérminták vizsgálata bizonyította, hogy a gidák fertőződtek a tejjel.

Következtetés:

Eredményeink alapján kimondható, hogy a TBEV-t a fertőző kecskék klinikai tünetek nélkül nagy egyedi eltérésekkel 2-18 napon át ürítik tejjükkel, gidáikat is megfertőzve, szerológiailag áthangolva. Előzetes immunizálás (természetben előző kullancscsípés) kivédi a további heveny fertőzödések, a virémia nagyon rövid ideig tart és alacsony szintű. Diagnosztikai szempontból a HAG próba megbízhatóbban működött, mint az ELISA, a kísérleti állatoltás kissé érzékenyebbnek mutatkozott, mint az RT-PCR.

Köszönetnyilvánítás: Köszönjük dr. Hajtós István BAZ megyei Áeü-i Állomás igazgatóhelyettesének és dr. Farkas Imre állatorvosnak a kísérlet megszervezésében, a mintavételezésben nyújtott fontos segítségüket, támogatásukat. Köszönjük Kaposi Tamásné szakasszisztens rendkívül aktív segítségét a kísérletek lebonyolításában.

ÁLLATGYÓGYÁSZATI OLTÓANYAGOK TORQUE TENO VÍRUS (TTV) SZENNYEZETTSÉGE

Farsang Attila¹, Kulcsár Gábor¹

Bevezetés: Az ártalmatlanság az állatgyógyászati oltóanyagok kiemelten fontos kritériuma, amelyre állandó veszélyt jelent az idegen ágensekkel való szennyeződés lehetősége. Az oltóanyag gyártása, mint biológia folyamat több, a potenciális szennyeződés szempontjából, kritikus lépésből áll. A jelenlegi jogi és szakmai szabályozás képes arra, hogy minimálisra csökkentse az idegen ágenssel való szennyeződés esélyét, de teljesen védelmet nem képes biztosítani.

A gyártók mellett a nemzeti kompetens hatóságok, illetve a hivatalos ellenőrző laboratóriumok is fontos szerepet játszanak az oltóanyagok minőségének biztosításában elsősorban a gyártóhelyek engedélyezési eljárása, illetve inspekcója, a törzskönyvi dokumentáció értékelése, illetve a végtermék vizsgálata révén. A magyar hatóság régre visszanyúló tradícióval bír az oltóanyag ellenőrzés terén, azonban szükséges az állandó megújulás, mivel számos új eljárás jelenik meg főleg a kutatói szférából, amelyek lehetővé teszik bizonyos, speciális vakcina-ellenőrzési problémák jobb, hatékonyabb megoldását. Az új eljárások mellett pedig újabb, addig ismeretlen idegen ágensek feltűnésével is számolni kell. A TTV az Anellovírus genusba tartozó ún. nem-burkos vírus. A genom egyszálú, negatív irányítottságú cirkuláris DNS. A TT vírust először Japánban, humán páciensből izolálták, de megtalálták sertésben, szarvasmarhában, birkában, kutyában, macskában, illetve csirkében is. Kóroktani szerepe nem teljesen tisztázott, de egyre több közlemény hozza összefüggésbe különböző állati, illetve emberi megbetegedésekkel (pl. PMWS, asztma, hasnyálmirigy tumor, máj elváltozások).

Cél: Vizsgálataink célja a TT vírus esetleges jelenlétének vizsgálata volt állatgyógyászati oltóanyagokban.

Módszer: A vírus DNS-ét közvetlenül ampullából vontuk ki standard DNS extrakciós technikával, majd a nem-kódoló régió (NCR) 230 bázisnyi szakaszát PCR-rel amplifikáltuk, illetve megszekvenáltattuk (Biomi Kft., Gödöllő). A kapott szekvenciákat a BioEdit program segítségével hasonlítottuk össze a hasonló génbanki szekvenciákkal. Összesen 11 gyártó 35 oltóanyagát vontuk vizsgálat alá beleértve 15 baromfi betegség elleni oltóanyagot.

Eredmény: A PCR öt baromfi és tíz emlős betegség elleni vakcina esetében mutatott ki TTV szennyezettséget. Valamennyi baromfi vakcina baromfipestis elleni oltóanyag volt. Az emlős vakcinák közül 6 kutya parvovirózis elleni vakcina, egy PRRS és két macska pánleukopénia vírus elleni oltóanyag volt TTV-re pozitív.

Következtetés: A TT vírust számításba kell venni, mint lehetséges idegen ágens. A széles gazdaspektrumának köszönhetően nem csak az emlős vakcinák lehetnek érintettek, hanem akár baromfi vakcinák esetében is számítani lehet TTV szennyeződésre. Az oltóanyag-gyártásban felhasznált kontaminált borjúsavó, illetve tojás lehet a legfontosabb szennyezést közvetítő anyag. Megfelelő hatásági álláspontot kell kialakítani az újonnan felbukkanó idegen ágensek, így a TTV esetére is.

ELTÉRŐ PATOGENITÁSÚ MADÁRINFLUENZA VÍRUSTÖRZSEK (H5N1, H5N2, H3N8, H10N4) KÍSÉRLETES VIZSGÁLATA FÁCÁN- ÉS TÖKÉSRÉCE-EMBRIÓBAN

Rigó Dóra, Pálmai Nimród, Dán Ádám, Ph.D., Ursu Krisztina, Szeleczy Zsófia, Szeredi Levente, Glávits Róbert

A Magyarországon 1975-ben izolált H5N2, H10N4 és a 2007-ben izolált H3N8 altípusú, gyenge patogenitású vírustörzsek, valamint a 2006-ban izolált, erősen patogén H5N1 altípusú vírustörzs tulajdonságait vizsgáltuk fácán- és tőkésréce-embriók kísérletes fertőzésével.

Összesen 80, 17 napig előkeltetett fácánembriót és 60, 21 napig előkeltetett tőkésréce-embriót a címben jelzett vírustörzsek valamelyikével allantois-üregbe fertőztünk, majd vizsgáltuk a testtömeg növekedést és a naponkénti elhullást. Az embriókat boncoltuk, teljes testüket és a chorioallantois membran-t (CAM) szövettani és immun-hisztokémiai (IH) módszerekkel, az agyat, a szívet, a tüdőt, a májat a vékonybelet és a hasnyálmirigyet RRT-PCR módszerrel tanulmányoztuk.

A H5N1 vírustörzs 48 órán belül megölte a fácánembriókat, azonban a tőkésréce-embrióknak csupán egy részét pusztította el. A fennmaradó réceembriók életben maradtak, és a vírus nem szaporodott el bennük. A H5N1 vírus a megfertőzött embriók chorioallantois membran-jának mindegyik rétegében, valamint az embriók vérereinek falában és valamennyi szervében (köztük az agy-gerincvelőben) nagy mennyiségben volt kimutatható.

A H5N2 és a H10N4 vírustörzsek a fácán- és tőkésréce-embriók csupán kisebb hányadában szaporodtak el, és okoztak elhullást. IH vizsgálattal a CAM hámsejtjeiben, valamint az intracanalicularis úton elérhető szervek (orrüreg, kötőhártya, légcső, tüdő, mirigyegyomor stb.) hámsejtjeiben voltak kimutathatóak.

A H3N8 altípusú vírustörzs a fácánembriókban ugyanolyan mértékben szaporodott el, mint a másik két gyenge patogenitású vírustörzs. Tőkésréce-embriók esetében viszont nagyobb arányú elhullást okozott, és nagyobb mennyiségben lehetett kimutatni IH vizsgálattal a CAM hámsejtjeiben, valamint az intracanalicularis úton elérhető szervekben.

A H5N1 vírustörzs az embriók szervezetében – szemben a gyenge patogenitású vírustörzsekkel – angiotrop tulajdonságot mutatott, ami neurotrop tulajdonságával együtt magyarázhatja a betegség gyors lefolyását és fatális kimenetelét.

TÉRBEEN STRUKTURÁLT SEIR MODELLEK ÁTLAGOLT ÉRINTKEZÉSI RÁTÁVAL

Lang Zsolt, Reiczigel Jenő

Térben heterogén prevalenciájú fertőző betegségek terjedését nagyméretű szimulációs kísérletekkel lehet modellezni, ami alapvetően empirikus megközelítés. SEIR-típusú modellekkel egyszerűbben írható le a betegség terjedésének dinamikája, azonban fel kell tenni a homogén térbeli keveredést, vagyis azt, hogy minden személy ugyanakkora valószínűséggel érintkezik egymással. Ez túlzott egyszerűsítés.

Néhány éve parazitákkal fertőzött gazdaállatok populációjára a paraziták zsúfoltságát mérő, statisztikailag jól kezelhető indexeket dolgoztunk ki. Ezek az indexek általánosíthatók fertőző betegségek terjedését leíró modellekben a fogékony – fertőző kapcsolat intenzitásának, „zsúfoltságának” számszerűsítésére. Olyan térben átlagolt érintkezési rátáról van szó, ami az intenzitás mellett kifejezi a térbeli heterogenitást és korrelációt is. Az indexet a klasszikus SEIR modellekbe építve átlátható szerkezetű modell fejleszthető térben heterogén mintázatú betegségek terjedésére. Az alkalmazott korrekció ugyanaz mind a sztochasztikus, mind pedig a determinisztikus SEIR modellek esetében. Az egyszerűsítés alkalmazhatóságához fel kell tételeznünk, hogy az átlagos érintkezési ráta időben nem változik.

Az átlagos érintkezési ráta statisztikai becslésére, tesztelésére és konfidenciaintervallum szerkesztésére eljárásokat alakítottunk ki.

Modellünk alkalmazhatóságát a 2008 január-februári időszakban lezajlott humán influenza A vírus okozta magyarországi megbetegedések járványának adataihoz illesztve mutatjuk be.

A HAZAI SZARVASMARHA-ÁLLOMÁNYOK ATÍPUSOS MYCOBACTERIUM FERTŐZÉSEI, A DIAGNOSZTIKA NEHÉZSÉGEI

Rónai Zsuzsanna, Dán Ádám, Dencső László és Jánosi Szilárd

Közismert, hogy a gümőkór mellett más mycobacteriumok okozta fertőzések is előfordulnak szarvasmarhában. Mind a *M. avium* komplexbe tartozó, mind pedig az atípusos Mycobacterium törzsek okozta fertőzések során kialakulhat allergiás áthangelődés (a mycobacterium fajok közötti antigénszerkezeti hasonlóság miatt), amely pozitív tuberkulinreakciókat eredményezhet, és ezzel megnehezíti a szarvasmarha-gümőkór *in vivo* diagnosztikáját.

A laboratóriumunkba az elmúlt négy évben érkezett több mint 3000 db nyirokcsomó mintából - a közelmúltban bevezetett fejlesztéseknek köszönhetően - közel 350 egyéb mycobacterium törzset izoláltunk. Ezen törzsek több mint 60%-a a Mycobacterium avium komplexbe tartozott, közel 130 törzs pedig atípusos, sem a Mycobacterium avium, sem pedig a Mycobacterium tuberculosis komplexbe nem tartozó, ún. nem-tuberculosis mycobacteriumnak (NTM) bizonyult.

Az atípusos mycobacterium fajok száma mára már több mint száz. A fajok igen jelentős része a közelmúltban került leírásra, így a hagyományos tenyésztési-növekedési tulajdonságokon és biokémiai vizsgálatokon alapuló identifikáláshoz nem állnak rendelkezésre korszerű adatbázisok. A tudomány fejlődését követve molekuláris biológiai módszereket kerestünk a kitenyésztett törzsek pontos faji meghatározásához. A kereskedelmi forgalomban kapható rendszerek közül kettőt próbáltunk ki (INNO-LiPA MYCOBACTERIA (Innogenetics, Ghent, Belgium), GenoType Mycobacteria (Hain Lifescience, Nehren, Germany), melyek nukleinsav szekvencia alapú amplifikációs módszerrel (PCR) és az azt követő hibridizációs lépéssel 14-29 mycobacterium fajt képesek azonosítani. A meghatározható fajok listái -véltően- elsősorban a humán klinikai gyakorlat szempontjai alapján kerültek kialakításra, azonban jellemzően magukban foglalják a klasszikus módszerekkel azonosítható baktériumfajokat. A könnyebb kivételezhetőség, és a meghatározható fajok nagyobb száma (29 db) miatt a GenoType Mycobacteria CM és AS kittel végeztünk kiterjedtebb vizsgálatokat.

Az elmúlt évek során szarvasmarha nyirokcsomó mintákból kitenyésztett törzseink egy válogatott csoportját GenoType Mycobacteria kitekkel vizsgálva a következő eredményeket kaptuk. A vizsgálatba vont 61 törzsből 2 *M. gordonae*, 2 *M. shimoidei*, 2 *M. phlei*, 1 *M. malmoense*, 5 *M. intermedium*, 9 pedig *M. kansasii* volt. 40 mycobacterium törzset (66%) nem tudtunk azonosítani ezzel a módszerrel.

A nemzetközi szakirodalomban számos próbálkozást találtunk atípusos mycobacterium törzsek DNS szekvencián alapuló meghatározására. Előkísérletben összehasonlítottuk hat, különböző génekre (*ITS1*, *rpoB*, *hsp65*, *sod*, *tuf*, *ssrA*) tervezett primerpárral végzett szekvenálás eredményeit, és kiválasztottuk a legmegfelelőbbnek tűnőt, mellyel reményeink szerint azonosítani tudjuk majd a Geno Type kittel meg nem határozható törzseinket.

ELHULLÁSRA VEZETŐ LÉGZŐSZERVI MEGBETEGEDÉSEK VIZSGÁLATA BORJAKBAN

Szeredi Levente, Pálfi Vilmos, Jánosi Szilárd

Bevezetés: A borjak légzőszervi megbetegedésének kialakításában a tartási, a takarmányozási és az időjárási viszonyok mellett fontos szerep jut a fertőzéseknek. A vírusos és baktériumos eredetű tüdőgyulladások hazai felmérő vizsgálatáról több mint 10 évvel ezelőtt jelent meg utoljára közlemény.

Cél: A borjak között napjainkban előforduló, elhullásra vezető, fertőző légzőszervi megbetegedések felmérő vizsgálata.

Módszer: A 2005 és 2007 között eltelt 3 év során 27 állományból diagnosztikai vizsgálatra az Intézetbe küldött, 3 napos és 11 hónapos kor között, légzőszervi tünetek kíséretében elhullott 48 borjú tüdőmintáját vizsgáltuk meg rutin kórbonctani, kórszövettani, bakteriológiai és virológiai módszerrel. Immunhisztokémiai (IH) vizsgálatokat végeztünk a bovin adenovírus (BAV), a bovin coronavírus (BCV), a bovin herpesvírus (BHV)-1, a bovin respiratory syncytial vírus (BRSV), a bovin viral diarrhoea vírus (BVDV), a Chlamydiaceae, az A típusú influenza vírus, a Mannheimia/Pasteurella, valamint a *Mycoplasma (M.) bovis* kimutatása céljából.

Eredmények: 47 esetben figyeltünk meg tüdőgyulladást, amelyek közül 40/47 (85%) esetben mutattunk ki légzőszervi kórokozót. Mannheimia/Pasteurella: 36 (90%); *A. pyogenes*: 16 (40%); *M. bovis*: 12 (30%); BRSV: 4 (10%); *H. somni*: 2 (5%); BHV-1: 1 (2,5%); BVDV: 1 (2,5%); Parainfluenzavírus 3-as típusa: 1 (2,5%); BAV, BCV, A típusú influenza vírus, Chlamydiaceae: 0 esetben. A vírusfertőzéseket egy kivétellel baktériumos társfertőzés is kísérte. Tisztán baktériumos fertőzést 33/40 (82,5 %) esetben mutattunk ki. Az esetek 42,5 %-ban csak egyféle kórokozót találtunk a tüdőben. A kórszövettani vizsgálattal hurutos-gennyes bronchopneumoniát, kruppos pleuropneumoniát, interstitialis pneumoniát és ezek különféle kombinációját találtuk. Kórokozó-specifikus kórszövettani elváltozásokat a BRSV, a BHV-1, az *Arcanobacterium (A.) pyogenes*, a Mannheimia/Pasteurella és a *M. bovis* fertőzések esetében figyeltünk meg.

Megbeszélés: A borjak elhullásra vezető tüdőgyulladását elsősorban baktériumok okozzák. Az esetek közel 2/3-ában kombinált fertőzések fordulnak elő. Az eredmények megerősítik a 10 évvel ezelőtti kutatásokat, ahol a borjakban a Mannheimia/Pasteurella baktériumok bizonyultak a legjelentősebb légúti fertőzéseknek. Hazai körülmények között első alkalommal mutattuk ki, hogy a *M. bovis* az esetek közel 1/3-ában játszik szerepet a borjak elhullásra vezető tüdőgyulladásában. Ez az eredmény felhívja a figyelmet az anti-mycoplasma aktivitással is rendelkező antibiotikumok gyakorlati használatának jelentőségére. Az eredményeink alapján a vírusos eredetű légzőszervi megbetegedések háttérben leggyakrabban a BRSV fertőzés áll. Az IH módszer és a Brown-Brenn festés alkalmazása lehetővé tette kórokozó-specifikus kórszövettani elváltozások meghatározását. Ezek ismerete hozzásegíthet egy előzetes, gyors diagnózishoz, és a megfelelő, célzott kiegészítő laboratóriumi módszer kiválasztásához.

A MYCOPLASMA FERTŐZÖTTSÉG NEGATÍV HATÁSÁNAK KIVÉDÉSE

Béres Andrea¹, Marca Joan² és Stipkovits László¹

A Mycoplasma fertőzöttség jelentős mértékben elterjedt háziállatainkban és emberben is. Negatívan befolyásolja a gazdaszervezet immunrendszerét. A negatív hatás több szinten valósul meg. Mindezek következtében Mycoplasma fertőzéskor könnyebben terjednek a különféle vírusos és másodlagos bakteriális fertőzések, súlyosabb kórképet előidézve.

Kutatásaink célja annak vizsgálata volt, hogy az immunrendszer megfelelő stimulálásával csökkenteni lehet-e a *Mycoplasma gallisepticum* fertőzöttség okozta klinikai tüneteket és kórbonctani elváltozásokat. Erre a célra olyan immunstimulánst használtunk, amely célzottan a makrofágokat stimulálja.

Az első kísérletben a *M. gallisepticummal* fertőzött csirkéknek a fertőzés előtt, vagy a fertőzéstől számítva 3-3 napon át adtuk az immunstimulánst (Immunair (Calier, Spanyolország), 1ml / 1 liter ivóvíz). A kísérleti eredményekből azt láttuk, hogy a fertőzött állatokban a kórbonctani elváltozások súlyossága az immunstimuláns kezelés hatására jelentősen csökkent a fertőzött, de nem kezelt állatokéhoz viszonyítva. Ugyanakkor a kezelés hatására mind az IgM mind az IgG titer a vérsavóban jelentősen emelkedett, különösen akkor, ha a kezelést a fertőzést követően végeztük.

A következő kísérletekben 5 általánosan használt antibiotikumos kezelés (tilozin, oxitetraciklin, klórtetraciklin, doxiciklin, linkospektin) hatékonyságát vizsgáltuk immunstimuláns kezeléssel kombinálva. (Az antibiotikumokat a *M. gallisepticum* fertőzés után javasolt dózisokban adagoltuk. A immunstimulánst a korábban említett dózisban, vagy az antibiotikum kezelés előtt, vagy alatt, 3 napon át adagoltuk. A Mycoplasma fertőzés hatására a fertőzött csirkék testtömege 15-20 %-kal kisebb lett a nem fertőzött állatok testtömegéhez viszonyítva, bennük súlyos légzsákgyulladás alakult ki. Antibiotikum kezelés hatására a csirkék testtömege csak kismértékben nőtt, a kórbonctani elváltozások súlyossága csak enyhén csökkent. Ezzel szemben az antibiotikummal és immunstimulánssal egyidejűleg kezelt állatok testtömege azonos lett a nem fertőzött kontrol állatokéval, a kórbonctani elváltozások súlyossága pedig jelentősen csökkent a csak antibiotikummal kezelt csoport leletéhez viszonyítva. Ezzel egyidejűleg a savók IgM és IgG titere is megnőtt. Ha az immunstimulánst antibiotikum kezelés előtt adagoltuk, a kedvező hatás az előzőhöz képest gyengébb volt.

Összességében kijelenthetjük, hogy az antibiotikum kezelés hatékonyságát egyidejű immunstimuláns adagolással nagymértékben növelni lehetett.

MgSZH Központ, Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság¹,
Mikrobiológiai Osztály Debrecen
DEOEC Orvosi Mikrobiológiai Intézet²
SZIE ÁOTK Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék³

Bakteriológia

A *HISTOPHILUS SOMNI* MOLEKULÁRIS EPIDEMIOLÓGIAI VIZSGÁLATA

Kardos Gábor^{1,2}, Jánosi Katalin³, Fodor László³, Kiss István¹

A MOLECULAR EPIDEMIOLOGY STUDY ON HISTOPHILUS SOMNI

Gábor Kardos^{1,2}, Katalin Jánosi³, László Fodor³, István Kiss¹

Correspondence to: G. Kardos; kg@dote.hu

A *Histophilus somni* kérődzők légúti és genitális kórképeit okozó opportunistá patogén, amely főleg borjúállományokban okozhat komoly gazdasági kártételt. A kórokozó a nyálkahártyákat kolonizálja, a megbetegedést valamilyen stresszhatás eredménye.

A munka célja volt, hogy *H. somni* törzsek tipizálására alkalmas pulzáló mezejű gélelektroforézis (PFGE) módszert dolgozzunk ki, és ennek segítségével hazai *H. somni* izolátumok közötti összefüggéseket térképezzünk fel.

Összesen 94, 1984 és 2007 között 6 juh-, 5 szarvasmarha-, 14 borjú- és 2 kecskeállományból gyűjtött izolátumot, és két borjú eredetű (tüdőből illetve agyból származó) típus-törzset vizsgáltunk. A PFGE során SmaI és Cfr9I restrikciós enzimeket alkalmaztunk. A SmaI-gyel 21 törzs nem volt tipizálható, ezért annak DNS-metilációra nem érzékeny izoskizomerjét, a Cfr9I-et alkalmaztuk. A két enzim hasítási mintázatát minden izolátum esetében összehasonlítottuk. A törzsfán a >85%-os hasonlóságot mutató izolátumokat tekintettük genetikailag rokonnak.

A két enzim mintázata minden izolátum esetén >85%-os hasonlóságot mutatott, három izolátum kivételével a hasonlóság >95% volt. Az egyes állatfajok izolátumai genetikailag elkülönültek, nem találtunk rokon izolátumokat tehén- és borjúállományok között sem. Mind a tehén, mind a juh állományok esetében találtunk egyazon állományban genetikailag független törzseket, a legnagyobb diverzitást egy juhállományban mutattuk ki (17 izolátum összesen 7 független törzsbe tartozott). Egy borjúállományban egy törzs évekig tartó perzisztenciáját találtuk. Juh-, tehén- és borjúállományok is hordoztak egyazon faj különböző állományaiban rokon izolátumokat, két, egy illetve két esetben. Ezek általában időben és térben egymáshoz közel álló izolátumok voltak. Egy borjúállományokra jellemző klón azonban az ország három régiójából, összesen négy állományból is kimutattunk. Ehhez a klónhoz tartozott még 5 ismeretlen borjúállományból származó izolátum és a két invazív típus-törzs is.

A *Histophilus somni* törzsek körében kifejezett gazdafaj- és anatómiai hely szerinti szegregációt figyeltünk meg. Az egy állományon belül megfigyelhető nagy genetikai diverzitás arra utal, hogy a törzsek nagy része kolonizáló, opportunistá törzs. Felmerült azonban egy borjú eredetű törzs esetében, hogy a klón megfelelhet egy virulens, invazív törzsnek. Az alkalmazott módszer és a létrehozott ujjlenyomat-könyvtár alkalmas a feltételezhetően patogén törzsek nyomon követésére. Az állományok szállítást megelőző szűrésével a magas kockázatú törzseket hordozó egyedek illetve állományok kiszűrhetőek, így a bemutatott módszer a borjú histophilosisok megelőzésére adhat lehetőséget.

Köszönetnyilvánítás: munkánkat az OTKA (62663) támogatta.

A MGSZH ÁDI DEBRECENI MIKROBIOLÓGIAI OSZTÁLYÁNAK DIAGNOSZTIKAI
CÉLLAL VÉGZETT MOLEKULÁRIS TÍPIZÁLÁSSAL KAPCSOLATOS
TAPASZTALATAI

Kardos Gábor^{1,2}, Kecskeméti Sándor¹, Bajmócy Endre¹, Kiss István¹

EXPERIENCE WITH MOLECULAR TYPING APPLIED FOR VETERINARY DIAGNOSTIC PURPOSES
IN THE DEBRECEN MICROBIOLOGY DEPARTMENT OF THE VETERINARY DIAGNOSTIC
DIRECTORATE OF THE CENTRAL AGRICULTURAL OFFICE

Gábor Kardos^{1,2}, Sándor Kecskeméti¹, Endre Bajmócy¹, István Kiss¹

Correspondence to: G. Kardos; kg@dote.hu

Az intézetben a molekuláris tipizálással 2003-ban kezdtünk el foglalkozni, PCR-alapú technikákat és pulzáló mezejű gélelektroforézist (PFGE) alkalmazunk. A PFGE vizsgálat 2008 óta megrendelhető az ÁDI-tól; *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Histophilus somni*, *Riemerella anatipestifer*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Pseudomonas*, *Campylobacter* és *Flavobacterium psychrophilum* tipizálásában gyűjtött tapasztalatot a laboratórium. A laboratórium 2006-ban a PulseNet Europe tagja lett, az *E. coli* O157 és *Salmonella* tipizálása nemzetközi standardoknak megfelelően történik.

A molekuláris tipizálás alkalmazási területe, többek között, a járványtanilag összefüggő izolátumok genetikai rokonságának kizárása vagy igazolása. A feldolgozott izolátumok egy ujjlenyomat-könyvtárba kerülnek, a további izolátumok mintázatait ezekhez hasonlítjuk egy szoftver (Fingerprinting II) segítségével. Két példán, a *Riemerella anatipestifer* és a *Flavobacterium psychrophilum* példáján keresztül mutatjuk be a PFGE nyújtotta diagnosztikai lehetőségeket.

Egy külföldi megrendelő számára 2007-ben 75 különböző forrásból származó *Riemerella anatipestifer* PFGE-tipizálását végeztük. Egy nagyobb és több kisebb rokonsági csoportot azonosítottunk, a legnagyobb csoportba 28, 2004 és 2007 között gyűjtött izolátum tartozott; ezek egyazon kacsállóományból származtak. A későbbi megrendelések során szintén ebből az állományból származó további 34 izolátum vizsgálatát végeztük el összesen öt alkalommal. Minden izolátum az adatbázis nagy rokon csoportjába tartozott, tehát az adott *Riemerella* törzs folyamatos perzisztenciáját igazoltuk. A többi az adatbázis építés során vizsgált állományból nem kaptunk izolátumokat.

Szintén külföldi megrendelésre vizsgáltunk meg 21 2006-ból és 2007-ből származó *Flavobacterium psychrophilum* izolátumot, amelyek járványtanilag kapcsolatban álló tenyésztett lazacállóományokból származtak. Közülük 15 alkotott egy rokonsági csoportot, míg a többi izolátum genetikailag függetlennek bizonyult. 2008-ban még 11 izolátum vizsgálatát végeztük el további három alkalommal. Ezek közül egy izolátum a korábban megtalált csoportba tartozott a törzs perzisztenciájára utalva, öt genetikailag az addig vizsgált izolátumoktól független volt (sporadikus törzsek), és két új genetikai csoportot találtunk, amelyek három, illetve két törzset foglaltak magukba.

A módszert mindegyik bemutatott esetben kulcsfontosságú járványtani adatok gyűjtésére alkalmaztuk. Ilyen módon a sporadikus izolátumok biztonsággal megkülönböztethetők mind a perzisztáló, mind pedig az újonnan behurcolt járványos törzsektől.

Köszönetnyilvánítás: A munkához szükséges előzetes kutatás-fejlesztést részben a GVOP-3.1.1.-2004-05-0472/03, részben az OTKA K62663 pályázat során végeztük.

MgSzH Központ, Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság¹,
Mikrobiológiai Osztály Debrecen
DEOEC Orvosi Mikrobiológiai Intézet²
MgSzH Központ, Élelmiszer- és Takarmánybiztonsági Igazgatóság³

Bakteriológia

HAZAI BROILER EREDETŰ VÁGÓHÍDI CAMPYLOBACTER ISOLÁTUMOK GENETIKAI DIVERZITÁSÁNAK FELMÉRÉSE

Kardos Gábor^{1,2}, Gulyás Márta³, Kiss István¹

INVESTIGATION OF THE GENETIC DIVERSITY OF HUNGARIAN CAMPYLOBACTER ISOLATES OF SLAUGHTERHOUSE-DERIVED BROILER MEAT ORIGIN

Gábor Kardos^{1,2}, Márta Gulyás³, István Kiss¹

Correspondence to: G. Kardos; kg@dote.hu

A munka célja a 2008-as baseline Campylobacter vizsgálat során május és december között kitenyészett termotoleráns Campylobacter izolátumok genetikai diverzitásának felmérése volt. A minták a baseline felmérésre beküldött vágóhídi test és coecum minták voltak, összesen 237 állomány mintáit dolgoztuk fel. Az állományok 70,46%-a (167/237) volt Campylobacter pozitív, a test 135 esetben, a coecum minta 118 esetben. Mindkét minta pozitív volt 86 állomány esetében. A kitenyészett Campylobacter izolátumok közül 85-öt vizsgáltunk tovább. Ezek esetében species-specifikus PCR-t végeztünk, a fluorokinolon rezisztenciát a Thr86Ile mutációra specifikus PCR-rel vizsgáltuk, majd a tipizálást pulzáló mezejű gélelektroforézis (PFGE) segítségével, a KpnI és a SmaI makrorestrikciós mintázatok vizsgálatával, valamint ERIC-PCR-rel végeztük. Genetikailag rokonnak tekintettük az izolátumokat, ha mindkét makrorestrikciós mintázat >85%-os hasonlóságot mutatott.

A species specifikus PCR-rel 19 izolátum bizonyult *C. coli*-nak. Mindegyik *C. coli* izoátum, valamint a *C. jejuni* izolátumok 79,1%-a hordozta a ciprofloxacinnal szembeni rezisztenciát biztosító mutációt.

A genetikai diverzitás nagyobb volt a *C. coli* izolátumok körében. A PFGE a 67 *C. jejuni* izolátum esetén 9 rokon párt, 6 genetikai csoportot és 19 egyedi izolátumot mutatott ki. Egy állományból a test és a coecum eredetű izolátumok közeli rokonoknak bizonyultak. A legnagyobb rokon csoportba 11 izolátum tartozott, ezek egy földrajzi területről (két szomszédos megyéből), de összesen négy vágóhídról, 10 különböző állományból származtak, és időben is két csoportra különültek el. Más rokon csoportok esetében nagyobb térbeli és időbeli távolság is előfordult az izolátumok között.

C. coli esetében egyetlen rokon csoportot találtunk, a maradék 16 izolátum mindegyike egyedi volt, beleértve az egy állományból származó test és coecum eredetű két-két izolátumot is. A rokon csoportba két szomszédos megyéből, három különböző vágóhídon vágott három különböző állomány izolátumai tartoztak.

A hazai broiler vágásból izolált Campylobacter törzsek túlnyomó többsége fluorokinolonokkal szemben rezisztens. Adataink *C. jejuni* esetében a törzsek állományok közötti terjedésére illetve perzisztenciájára utalnak, a *C. coli* esetében a genetikai diverzitás jóval kifejezettebb. Az állományok közötti terjedés útvonalainak felderítése fontos feladat lesz a jövőben a broilerek Campylobacter kontaminációjának visszaszorítása érdekében.

NAPOSKACSÁK KÍSÉRLETES FERTŐZÉSE *BRACHYSPIRA PILOSICOLIVAL*
ILLETVE *B. ALVINIPULLIVAL*

Thuma Ákos, Dán Ádám, Juhászné Kaszanyitzky Éva, Dencső László, Fazekas Béla, Glávits Róbert

Szerzők brachyspirosisban megbetegedett törzskacsákból izolált *B. pilosicoli* ill. *B. alvinipulli* törzsek tenyésztésével p.o. fertőztek napos kacsá csoportokat (12-12 állat), és a gyarapodást, és a klinikai tüneteket. Az egyes csoportokból hetente 3-3 állatot elvérzetettek, és vizsgáltak. Regisztrálták a toxin okozta elváltozásokat, valamint a brachyspiráknak a különböző bélszakaszokban immunhisztokémiai módszerrel történő kimutathatóságát, és visszaizolálhatóságát.

A csak brachyspirákkal fertőzött csoportok testtömeggyarapodása négy héten át minden alkalommal szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a kontroll. A brachyspirákkal fertőzött és T-2 toxint tartalmazó tápot fogyasztott állatokban az elmaradás szignifikánsan súlyosabb volt. Utóbbi csoportokban a 14., 21. és 28. napokban a száj nyálkahártya elhalásos gyulladása valamint a lymphoid szervek, szövetek sorvadása mutatkozott. Elhullás egyik csoportban sem fordult elő.

Mindkét *Brachyspira* törzs immunhisztokémiai módszerrel kimutatható és tenyésztéssel visszaizolálható volt mindegyik vizsgálati időpontban az állatok egy részének vastagbélből (vakbélből, vagy remesebélből), ritkábban a csípőbélből. A brachyspirák a nyálkahártyák felületén, és a mirigyek üregében nagy számban voltak fellelhetők. A brachyspira kolonizáció mértéke (az érintett állatok száma, ill. az érintett bélszakaszok száma) tekintetében a T-2 toxinnal szennyezett és a normál tápot fogyasztott kacsák között nem volt szignifikáns a különbség.

BRACHYSPIRA FERTŐZÖTTSÉG VIZSGÁLATA NÖVENDÉKKACSA
ÁLLOMÁNYOKBAN

Thuma Ákos, Ivanics Éva, Dán Ádám, Juhászné Kaszanyitzky Éva,
Glávits Róbert

Az elmúlt években a szerzők beszámoltak a lúd és a kacsza intestinális spirochaetosisáról (brachyspirosisról). Mindkét fajban a megbetegedések és elhullások felnőtt törzsállományokban, a tojásrakási periódus második felében jelentkeztek, és elsősorban a vastagbél (vakbél, remese-, végbél) fibrines-elhalásos gyulladásában, továbbá szubakut nephropathiában nyilvánultak meg.

Jelen vizsgálatokban a brachyspira fertőzöttség előfordulását, és kórtani szerepét a felnevelés során, fiatal növendékkacsa állományokban tanulmányozták. Négy-hét hetes életkorú, összesen 3 pecsenyekacsa és 1 törzskacsa állományból 32 elhullott madarat vizsgáltak. A Brachyspira fertőzöttséget valamennyi állományban az állatok többségének vastagbelében immunhisztokémiai, baktériumtenyésztéses és molekuláris biológiai vizsgálatokkal igazolták. Az izolált 10 Brachyspiratorzs többsége *B. pilosicolinak* volt meghatározható. Az elhullások emelkedése rendszerint 3-4 hetes korban kezdődött, és a 7000-15000 létszámú állományok mintegy 7-9 %-át érintette.

Az elhullott állatok korbonctani és kórszövettani vizsgálata során az intestinális spirochaetosisra jellemző vastagbél elváltozások (fibrines-elhalásos gyulladás) enyhébb formában voltak felismerhetők, mint ami a felnőtt kacsák brachyspirosisa esetén látható. Emellett két állományban takarmányozási ártalomra gyanút keltő máj- és veseelváltozásokat (májelfajulást, heveny tubulonephrosist), egyben kacsza circovírus fertőzöttséget, egyben anatipestifer betegséget, és egyben pedig nem megfelelő tartási körülményekre jellemző leleteket is észleltek.

A fiatal törzskacsa állomány havonta ismételt monitoring vizsgálatával 8 és 9 hónapos korban fibrines-elhalásos vastagbélgyulladást és szubakut nephropathiát – azaz a felnőtt törzsállományok brachyspirosisára jellemző elváltozásokat – figyeltek meg.

Az eredmények arra utalnak, hogy a Brachyspira fertőzöttség kialakulására növendékkacsa állományokban a nem megfelelő tartási körülmények, a rossz minőségű takarmány etetése, vagy immunszuppresszív hatású (pl. circovírus) fertőzés hajlamosíthat, és gyakran más betegségekkel együtt fordul elő. Emiatt a növendékkori kacsaelhullásokban a kórtani jelentőséget az említett tényezők és az adott állományban jelenlévő egyéb megbetegedések együttes figyelembe vételével célszerű értékelni.

A MEZEI HÖRCSÖG (*CRICETUS CRICETUS*) *FRANCISELLA TULARENSIS*-FERTŐZÖTTségÉNEK VIZSGÁLATA EGY MAGYARORSZÁGI ÉLŐHELYEN

Gyuranecz Miklós¹, Dénes Béla², Dán Ádám², Rigó Krisztina³, Földvári Gábor³, Szeredi Levente², Sallós Alexandra⁴, Jánosi Katalin¹, Fodor László¹, Erdélyi Károly², Makrai László¹

A tularemia járványtani ciklusában a nyúlalakúak és a rágcsálók játsszák a legfontosabb gazdaállat szerepét, és kullancsok, valamint vérszívó rovarok szolgálnak biológiai (kullancs) és mechanikai vektorként. Hazánkban az első emberi megbetegedést 1951-ben figyelték meg. Az évente bejelentett emberi esetek száma az elmúlt húsz évben 20 és 148 között ingadozott. Ezek közül több esetben mezei hörcsöggel (*Cricetus cricetus*) történt közvetlen kontaktus szerepelt a kórelőzményben. Vizsgálataink célja a mezei hörcsög *Francisella tularensis* fertőzöttségének felmérő vizsgálata volt.

Telekgerendás, Gerendás és Csorvás falvak által határolt termőföldeken élő hörcsögpopulációt vizsgáltuk 2008-ban és 2009-ben. Összesen 900 állatot boncoltunk fel, és vérmintákat gyűjtöttünk belőlük szerológiai vizsgálatra. 2008. májusában 250, 2009. májusában 500, míg októberben 150 állat savóját vizsgáltuk meg tárgylemez agglutinációs és csőagglutinációs próbával. Utóbbinál határértéknek az 1/40 titert tekintettük. 2009. májusában és októberében 50-50 állatból, egyedenként tüdő-, lép-, máj- és vesemintát vettünk. Ugyanezen időszakban kullancsokat is gyűjtöttünk a hörcsögről, amelyeket 10-esével egyesítettünk. Egy-egy hörcsög egyesített szervmintáit és a kullancs mintákat *Francisella tularensis* specifikus, TaqMan típusú, real-time PCR-rel vizsgáltuk. Két élő, kifejtett, hím hörcsögöt is befogtunk, s az egyiket 1×10^3 CFU *F. tularensis*-szel fertőztünk intramuszkulárisan, a másikat pedig 1×10^5 CFU-val szájon át. Az állatokat elhullásuk után tárgylemez agglutinációs próbával, valamint kórbonctani, kórszöveti és immunhisztokémiai módszerrel megvizsgáltuk.

Mind a 900 hörcsög szerológiai vizsgálata negatív eredménnyel zárult. Az állatokról 374 *Ixodes acuminatus* kullancs nimfát (6) és nőtényt (368) gyűjtöttünk, melyek real-time PCR vizsgálva negatívak lettek. A 100 hörcsög egyedével egyesített szervmintáinak real-time PCR-rel történő szűrése ugyancsak negatív lett. A két, mesterségesen fertőzött állat a 8., illetve 9. napra pusztult el. Szerológiai áthangolódást nem lehetett kimutatni. Az egyetlen makroszkópos kórbonctani elváltozás az erősen duzzadt lép volt. Az intramuszkulárisan fertőzött állat esetében ezentúl túszúrásnyi, szürkésfehér góccok is előfordultak a lépben. Az immunhisztokémiai vizsgálat során intenzív extra és intracelluláris festődés volt tapasztalható valamennyi szervben, ami vérfertőzésre utal.

A TULAREMIA JÁRVÁNYTANI CIKLUSÁNAK VIZSGÁLATA EGY ENDEMIKUS TERÜLETEN

Gyuranecz Miklós¹, Rigó Krisztina², Dán Ádám³, Földvári Gábor², Makrai László¹, Dénes Béla³, Fodor László¹, Majoros Gábor², Tirják László⁴, Lengyel Tibor⁴, Hauser Zsófia⁵, Mitru Szilvia⁵, Rády Rebeka⁵, Erdélyi Károly³

Kevés információ áll rendelkezésre a *Francisella tularensis* természetben történő előfordulásáról, rezervoárjairól, vektorairól. Az elmúlt év során a Körös-Maros Nemzeti Park területén, a dévaványai-ecsegi pusztákon végeztünk vizsgálatokat, hogy felmérjük, milyen emlős és ízeltlábú fajok vehetnek részt a *F. tularensis* járványtani ciklusában, fenntartásában egy endemikus területen, járványmentes időben.

Tárgylemez-agglutinációs próbával szűrtük a mezei nyulakat 2008. és 2009. decemberében, a vadászatok alkalmával. A kórokozó izolálása céljából egereket oltottunk. Vért vettünk 50 racka és 50 cigája juhtól, 50 magyar szürke marhától és 50 bivalytól 2009. májusában, amelyeket csőagglutinációs próbával vizsgáltunk. Határértéknek az 1/40-es titert tekintettük. Két eltérő biotópban; egy nyílt füves területen és egy kocsánytalan tölgyes-körises erdőben kisemlősöket csapdáztunk (50-50 Sherman csapda, 5 csapda éjszaka) április, július, október és november hónapokban. A kisemlősök vérért tárgylemez-agglutinációs próbával vizsgáltuk, illetve egyedenként tüdő-, lép-, máj- és vesemintákat vettünk, majd a szervmintákat egyedenként egyesítettük. A kisemlősökről a kullancsokat és bolhákat szintén összegyűjtöttük egyedenként. Április, július és október hónapokban minkét területen három-három óra gyűjtés során a növényzetről kullancsokat, illetve hét különböző vízfolyásból vízmintákat vettünk. Az állatokról és a növényzetről gyűjtött kullancsokat és bolhákat fajmeghatározás után egyesítettük (lárva-30, nimpha-15, adult /ivar/-10). A vízmintákból 250 ml-t 0,2 µm-es szűrőn átszűrtük. A kisemlősökből származó, az ektoparazita mintákat és a vízsűrőket *F. tularensis* specifikus, TaqMan típusú, real-time PCR-rel vizsgáltuk. Az így pozitívnak talált mintákat a 17-kDa lipoprotein génen alapuló 400 bp nagyságú terméket adó konvencionális PCR-rel igyekeztünk felerősíteni és a DNS-szakasz szekvenciáját meghatározni.

2008. decemberében 75 mezei nyúl közül 4 volt szeropozitív (5,3%), és két állatból sikerült a *F. tularensis*-t izolálni (2009-es évi vizsgálat folyamatban). A 200 kórözdő vérsavójának szerológiai vizsgálata negatív lett. Az év során a mezőn a rágcsáló állomány végig alacsony volt, míg az erdőben az év előrehaladtával növekedett a kisemlősök száma. Összesen 177 kisemlőst gyűjtöttünk: 110 sárganyakú erdei egeret (*Apodemus flavicollis*), 39 mezei pockot (*Microtus arvalis*), 15 pirók egeret (*Apodemus agrarius*), 8 törpe cickányt (*Sorex minutus*) és 6 erdei cickányt (*Sorex araneus*). A kisemlősökről és a növényzetről gyűjtött 2007 kullancs faji megoszlása a következő volt: 75% *Ixodes ricinus* és 25% *Haemaphysalis concinna*, illetve 1 *Ixodes acuminatus*. A kullancsok faji aránya a hónapokkal változott. A kisemlősökről 15 *Ctenophthalmus assimilis* és 10 *Nosopsyllus fasciatus* bolhát sikerült összegyűjteni. Egy-egy, nyáron, mezőn gyűjtött *H. concinna* nimfa és nőtény poolból és egy, októberi sárganyakú erdei egérből sikerült PCR-rel és szekvenálással is kimutatni a *F. tularensis* ssp. *holarctica*-t.

FRANCISELLA TULARENSIS SSP. *HOLARCTICA* KISÉRLETES
FERTŐZÉS MEZEI POCOKBAN (*MICROTUS ARVALIS*)

Gyuranecz Miklós¹, Dán Ádám², Szeredi Levente², Ráczné Mészáros Ágnes², Rempert Ágnes³, Erdélyi Károly², Fodor László¹, Dénes Béla², Makrai László¹

A tularemia járványtani ciklusában a rágcsálók fontos szerepet játszanak. Feltételezések szerint a pocok fajok (*Microtus* spp.) képesek lehetnek a *Francisella tularensis* hosszan tartó hordozására, járványok közötti fenntartására a természetben, így rezervoár fajként szolgálhatnak. Természetes fertőződésük feltételezhetően szájon át történik a vizelettel szennyezett táplálék vagy kannibalizmus révén. *F. tularensis* ssp. *holarctica* szájon át történő beadása után kialakult tularemia fertőzés kórfejlődésének tanulmányozását (szerológiai áthangolódás, vér citológiai, kórbonctani, kórszövettani, immunhisztokémiai elváltozások) tűztük ki célul mezei pocokon (*Microtus arvalis*), hogy eredményeink alapján következtetéseket vonhassunk le a mezei pocok tényleges járványtani szerepével kapcsolatban.

Kísérleteinkhez fogságban tenyésztett, 3-6 hónapos mezei pocokot használtunk. Előzetes vizsgálataink során 1×10^5 , 10^4 és 10^2 CFU dózissal történt fertőzés esetén is 100%-os elhullást tapasztaltunk a 7. napon. A jelen kísérletben 1×10^4 CFU dózissal fertőztük a pocokot, majd 10 napon át, naponta CO₂-dal történő túlaltatás után, a *vena axillaris* átvágásával, 5-5 egyed elvéreztettünk. További 5 egyed és 5 nem fertőzött, kontroll állatot a 28. napon véreztettünk el. A vért heparinnal alvadásban gátoltuk, tárgylemez agglutinációval vizsgáltuk a szerológiai áthangolódást és vérkeneteket (Giemsa-festés) készítettünk. Kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálatok céljából az alábbi szervekből vettünk mintát: szív, tüdő, gátor közti nyirokcsomó, lép, máj, vese, gyomor, vékony és vastag bél, bélfodri nyirokcsomó, húgyhólyag, méh, here, áll alatti nyirokcsomó és agyvelő. Naponta 4 állat lépéből kb. 50 mg tömegű szervdarabokat gyűjtöttünk *Francisella tularensis* specifikus, TaqMan típusú, real-time PCR vizsgáltra.

Az előzetes vizsgálatok során tapasztalt mortalitás nem következett be. A kísérletben 5 állat pusztult el (4-6. napokon), illetve további két állat volt moribund állapotban az elvéreztetéskor (6., 8. napokon). Az első 10 napon elvéreztetett állatok szerológiaiilag nem hangolódtak át. A 28. napon elvéreztetett 5 állatban szintén nem tudtunk ellenanyag választ kimutatni. Makroszkópos kórbonctani elváltozást (duzzadt lép) csak a moribund és az elhullott állatokban észleltünk. A PCR vizsgálatok során csak a két moribund és egy, a 6. napon elvéreztetett, enyhén duzzadt lépű egyedben sikerült a *F. tularensis*-t kimutatni. (Az elhullott állatokat nem vizsgáltuk PCR-rel.) A kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálatok, valamint a vérkenetek kiértékelése folyamatban van.

BRUCELLA CANIS OKOZTA VETÉLÉSEK EGY HAZAI KUTYATENYÉSZETBEN

Gyuranecz Miklós¹, Rónai Zsuzsanna², Dénes Béla², Dán Ádám², Szeredi Levente², Pálmai Nimród², Dencső László², Hauser Zsófia³, Lami Erzsébet², Makrai László¹, Jánosi Szilárd²

A *Brucella canis* okozta kutya brucellózis vetéléssel, terméketlenséggel és az ivarszervek gyulladásával járó fertőző betegség, amely állatról emberre is áttejedhet (zoonosis). A korábbi években hazánkban elvégzett szerológiai vizsgálatok a betegség előfordulását nem igazolták. Az alábbi esetismertetésben egy kutyatenyészetben kitört járvány kapcsán elvégzett diagnosztikai vizsgálatok eredményeiről számolunk be.

Az összesen 30 kutyát számláló, havanese (20 szuka, 2 kan) és beagle (7 szuka, 1 kan) tenyészetben 2008. októberétől szórványos vetélések kezdődtek. 2009. július elején két vetélt magzat és egy magzataburok került diagnosztikai vizsgálatra. A beküldött mintákból *Brucella* sp.-t izoláltunk. A kitenyészett baktérium apró, Gram-negatív, coccoid pálca, kataláz és oxidáz pozitív volt és R telepmorfológiát mutatott. Az S teleptípus ellen termelt monovalens savóval agglutinált és a *Brucella* fajokat elkülönítő multiplex PCR rendszerben, a *B. suis*-ra jellemző nagyságú termékeket adott. Valamennyi egyedtől hüvely, torok és vérmintákat vettünk bakteriológiai vizsgálat céljából, valamint a vérsavók szerológiai vizsgálatát is elvégeztük. A bakteriológiai vizsgálattal egy vetélt szuka (BC3) hüvelyéből, továbbá egy tenyészkan (BC2) és egy fél éves szuka kutya (BC21) haemokultúrájából sikerült brucellákat izolálni. A torok- és a további vérminták bakteriológiailag negatívak voltak. Hat állat, köztük a három fenti egyed kiirtásra és diagnosztikai boncolásra került. A BC2 és BC21 jelzésű állat nyirokcsomó-, lép- és máj homogenizátumából sikerült a kórokozót kitenyészteni. Ezt követően az összes állat (24 tenyész + 16 kölyök) intézeti vizsgálat céljából kiirtásra került. Ezen állatok bakteriológiai vizsgálata negatív eredménnyel zárult. A szénforrás hasznosításán alapuló rendszerben (Biolog) a kitenyészett baktériumokat *B. suis*/*B. canis*-nak határoztuk meg. A *Brucella* sp. azonosítására további, 5 SNP kimutatásán alapuló molekuláris biológiai eljárást alkalmaztunk, ami a *B. canis*-t és a *B. suis* biotípusokat különíti el egymástól. Ennek eredményeként az izolált baktériumok egyértelműen *B. canis*-nak bizonyultak.

A vérminták szerológiai vizsgálata során *B. suis*-ra irányuló Rose-Bengal, komplementkötési és agglutinációs próbát, míg *B. canis*-ra irányuló Rose-Bengal tesztet végeztünk. A BC3, BC21- valamint egy harmadik kutyákban *B. canis*-al szembeni ellenanyagokat mutattunk ki.

A BC21 kutya véréből kitenyészett törzs felhasználásával hyperimmun nyúlsavót állítottunk elő. Ezen reagens segítségével immunhisztokémiai módszerrel is sikerült a kórokozót a szervekből készült metszetekben detektálni.

A járványtani körülmények és a diagnosztikai vizsgálatok alapján *B. canis*-okozta vetélést állapítottunk meg.

BORDETELLA BRONCHISEPTICA IZOLÁTUMOK FLAGELLIN GÉNJÉNEK VIZSGÁLATA PCR-RFLP MÓDSZERREL

Khayer Bernadett, Wehmann Enikő, Magyar Tibor

A *Bordetella bronchiseptica* a természetben meglehetősen elterjedt, széles gazdaspektrummal rendelkező Gram-negatív baktérium. Képes megbetegíteni a sertést, kutyát (kennel köhögés), macskát, nyulat, de szórványos emberi megbetegedésekről is beszámoltak már. A sertések torzító orrgyulladásában kóroktanában betöltött szerepe intenzíven kutatott terület, mivel a betegség súlyos gazdasági károkat okoz a modern sertéstartásnak.

Munkánk során az elmúlt 25 évből, különböző földrajzi helyekről és gazdafajokból izolált *B. bronchiseptica* törzseket elemeztünk. Ezek közül 38 sertésből, 14 kutyából, 13 nyúlból, 5 lóból, 4 tengerimalacból, 2 koalából és 2 pulykából, valamint 7 humán megbetegedésből származott.

A törzsek flagellin-génszakaszát (*flaA*) vizsgáltuk PCR-RFLP módszerrel. A flagellint egy kétkomponensű szabályozó rendszer által represszált gén kódolja, ami antigén moduláció során fejeződik ki. Az irodalomban eddig csak kevés adat áll rendelkezésre a *flaA*-ról és a gazdafajhoz való adaptálódásban betöltött szerepéről.

Vizsgálatainkhoz három restrikciós endonukleázt (*BglI*, *HincII*, *MspI*) használtunk, és a hasítási mintázatok alapján összesen 10 csoportba soroltuk törzseinket. Az összes izolátum 89 %-a három domináns típusba került, néhány hasítási mintázatot pedig csak 1-1 törzs reprezentált. Azonos gazdafajból származó törzsek általában (minimum 80 %) egy hasítási típusba tartoztak, kivételt a pulyka és a humán törzsek képeztek. Hasonló eredményeket kaptunk a külföldi eredetű *B. bronchiseptica* izolátumoknál is, viszont a hazai törzseknél nagy egyezést találtunk a gazdafaj és a hasítási mintázat között. Megállapítható, hogy szűk földrajzi környezet elemzésekor a gazdafajhoz való adaptálódás jegyei fellelhetők. A humán eredetű törzseknél tapasztalt nagyfokú változatosság az esetleges zoonózis veszélyére hívja fel a figyelmet.

Távolabbi céljaink további virulencia faktorok (filamentózus haemagglutinin, fimbriák, pertaktin, adenilát-cikláz toxin) gazdafaj specifikusságának elemzése, illetve annak feltárása, hogy a baktérium hogyan képes a virulenciát szolgáló tényezők segítségével alkalmazkodni a környezet változásaihoz.

LIBÁKBÓL IZOLÁLT ELTÉRŐ PATHOGENITÁSÚ *PASTEURELLA MULTOCIDA* TÖRZSEK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA

Varga Zsuzsanna¹, Sellyei Boglárka¹, Ivanics Éva² és Magyar Tibor¹

A *Pasteurella multocida* baktérium igen elterjedt a hazai baromfiállományokban, madarakban baromfikolerát vagy idült pasteurellózist okozhat. A baromfikolera, különösen annak túlhevény formája súlyos károkat okozó fertőző betegség, amely nagyüzemi csirke és pulyka állományokban a zárt tartási rendszer következtében gyakorlatilag megszűnt, de a félig zárt tartású vízi baromfiállományokban továbbra is jelentős veszteségeket képes előidézni. Az eltérő virulenciával rendelkező törzsek morfológiai, tenyésztési vagy molekuláris biológiai elkülönítése mindmáig megoldatlan, a diagnosztikai intézetek kísérleti állatfertőzéssel döntenek a kevésbé virulens törzsek patológiás folyamatokban játszott szerepéről. Vizsgálataink célja az azonos állatfajból izolált eltérő virulenciájú *P. multocida* törzsek minél sokrétűbb összehasonlítása a patogenitásban szerepet játszó elkülönítő bélyegek, sajátosságok feltárása céljából.

A vizsgálathoz liba eredetű törzseket választottunk, mert ez volt az egyetlen madárfaj, ahol mind kolerás, mind pedig pasteurellosis kórképből származó nagyobb számú izolátummal rendelkezünk. A többi vízi szárnyas állományban, kacsá, barbarie és mulard kacsá esetében szinte mindenkor kolera lépett fel.

A *P. multocida* törzsek jellemzése során meghatároztuk azok alfaját, Heddleston féle szomatikus szerotípusát, buroktípusát, a szénhidrátok bontásán alapuló biotípusát, toxintermelő képességét, tanulmányoztuk a külső membránfehérjék (omp) poliakrilamid gélen mutatott mintázatát és a gazdaszervezethez történő tapadásban szerepet játszó ptfA gén alléltípusát.

A perakut esetek többségéből, illetve kolerás kórképek egy részéből elkülönítettünk egy jellemző sajátosságokkal bíró erősen patogén törzstípust, amelyet már legkorábbi, 1990-ből származó izolátumaink között is kimutattunk. A törzsek közös jellemzője a septica alfajba, a Heddleston féle első szerotípusba való tartozás, az A buroktípus és a 6-os biotípus. Az e csoportba tartozó törzsek az omp mintázat alapján a filogenetikai törzsfák elkülönülő ágán ülnek, s a ptfA gén esetében valamennyien azonos A típusú allélmintázatot mutatnak. Ez az a törzs, amelyet Szécsényi István, az ÁEG baromfi osztályának vezetője már az 1950-es években felismert klinikai, laboratóriumi és járványtani megfigyelései alapján, amelyet azonban akkor nem lehetett elkülöníteni a többi *P. multocida* törzstől a kor adott technikai színvonala miatt.

Az izolátumok többi része a *P. multocida*-ra jellemző változatosságot mutatta, multocida vagy septica alfajba tartoztak A vagy F buroktípussal, 1, 3, 3x4, 4x5 Heddleston féle szomatikus szerotípus, 1, 2, 3, 7, 13 és besorolásba nem illő maltózbontó biotípus jellemezte őket. Találtunk azonos jellemzőkkel bíró, kolerát sohasem okozó 3-as szomatikus szerotípusú törzseket, és azonos jellemzőkkel, de eltérő patogenitással bíró törzseket, mint a 3x4(x5) Heddleston szerotípusú törzsek. Utóbbi törzsek eltérő virulenciáját alátámasztotta a kísérletes állatfertőzés is. Az omp mintázat alapján az F buroktípusú törzsek és az A:1 szerotípusú maltózbontó törzs elkülönülő ágra került, és az utóbbtól eltekintve valamennyi törzset B típusú ptfA allél jellemezte.

EGYEDI, MACSKA SZÁJFLÓRA EREDETŰ, PASTEURELLA DAGMATIS-SZERŰ TÖRZSEK FENO-, ÉS GENOTÍPUSOS JELLEMZÉSE

Sellyei Boglárka¹, Wehmann Enikő¹, Makrai László² és Magyar Tibor¹

A *Pasteurella dagmatis* a húsevők, elsősorban a macskák szájüreg, és szájgarat nyálkahártyáin megtelepedő Gram-negatív baktérium, amely mind telepmorfológiájában, mind egyéb fenotípusos sajátágaiban kísértetiesen hasonlít az emlősök felső légutait bélelő nyálkahártyákon gyakran előforduló rokon fajra, a *P. multocida*-ra. A nagyfokú hasonlatosság megnehezíti a sokszor együttesen izolált két faj megkülönböztetését. Elkülönítésükre csak néhány fermentációs sajátág alkalmas. Bár a macskakarmolást, harapást követő humán fertőzésekben egyre növekszik a *P. dagmatis* jelentősége, igen keveset tudunk e fajról.

Munkánk célja, alapvetően, 60 *P. multocida* gyanús macska szájflóra eredetű izolátum pontos faji meghatározása volt, melynek során 12, 8 különböző macskából származó, törzset emeltünk ki részletes vizsgálatokra. Ezeket az izolátumokat, első lépésben, hagyományos fermentációs, majd szénforrás-hasznosítási vizsgálatnak (Biolog Microstation™ ID System) vetettük alá. Az így kapott eredmények megerősítésére reprezentatív izolátumok 16S rRNS és *sodA* (mangán-függő szuperoxid-diszmutáz enzim) génjének szekvencia elemzését végeztük el.

A vizsgálatra szánt izolátumok kiválasztása eltérő telepmorfológiájuk alapján történt. A fennmaradó 48 törzs mind telepmorfológia, mind feno-, és genotípusos vizsgálatokban egyaránt *P. multocida*-ának bizonyult. A 12 izolátumot fermentációs sajátágai és szénforrás-hasznosítási eredményei alapján ugyan *P. dagmatis*-ként lehetett azonosítani, de a macska eredetű izolátumok több ponton eltérést mutattak (aszparaginsav, szukcinilsav) a *P. dagmatis* referencia törzsek adataitól. Az így felmerülő bizonytalanságot a 16S rRNS, majd *sodA* génszekvencia alapú filogenetikai elemzéssel kívántuk eloszlatni. Mindkét vizsgálat azonos, de nem várt eredményt hozott. A macska eredetű izolátumok a *P. dagmatis* és *P. multocida* fajtól egyaránt elkülönülő, önálló, monofiletikus csoportot alkottak. Számottevő szekvenciális homológiát egyetlen, rendszertanilag hibásan besorolt *P. pneumotropica*-val mutattak.

Összegzésként elmondható, hogy a macska szájflóra eredetű izolátumok vizsgálata során egy telepmorfológiájában egyedi, fenotípusos sajátágaiban leginkább a *P. dagmatis* fajhoz hasonlatos, de attól genetikai szinten egyértelműen elkülönülő *P. dagmatis*-szerű baktérium törzset sikerült izolálni és jellemezni. Az izolátumok pontos rendszertani besorolása és ezzel együtt megfelelő elnevezése további, kiterjedt filogenetikai vizsgálatokat igényel. Jelenleg, a rendelkezésünkre álló adatok tükrében *P. dagmatis*-szerű törzseinket és a velük közeli rokonságot mutató [*P. pneumotropica*] törzset a *Pasteurella* nemzetségen belüli új „genomospecies”-ként jegyezhetjük.

HAZAI ÉS KÜLFÖLDI BROILER EREDETŰ *SALMONELLA* INFANTIS TÖRZSEK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA FENO- ÉS GENOTIPIZÁLÓ MÓDSZEREKKEL

Nógrády Noémi¹, Király Margit¹ és Nagy Béla²

Nemrégiben hazai húscsirkék bélsarából és húsból 2004-2005-ben izolált *Salmonella* Infantis törzsek jellemzése során egy domináns multirezisztens klón hazai terjedéséről számoltunk be (Nógrády és mtsai, 2007, 2008). Ezen klónba tartozó törzseket azonos, vagy közeli rokon fágtípus és makrorestrikciós mintázat, egy azonos méretű (>168 kb) nagy plazmid, nalidixinsav-tetracyclin-streptomycin-sulphonamid rezisztencia és (a nagy plazmidon) egy 885 bp méretű 1-es típusú integron jellemezte. Tekintettel arra, hogy a magyar baromfi állományokban a *S. Infantis* (S.I) rendkívül elterjedt, jelen munkában arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a magyar broiler állományokat jellemző *S. Infantis* klón mennyire egyedi.

A vizsgálatba 8 országból származó összesen 76, broilercsirkékből (hús és bélsár) 2004-2009. években izolált *S. Infantis* törzset vontuk be. Ezek közül 18 német, 16 osztrák, 12 lengyel, 10 magyar, 9 angol, 9 olasz, egy cseh és egy román eredetű volt. Összehasonlításképpen a vizsgálatba 6 korábbi, (1994-es) magyar izolátumot is bevontunk. Vizsgáltuk a törzsek fágtípusát, antibiotikum érzékenységét, plazmid- és makrorestrikciós (PFGE, *Xba*I enzimmel) mintázatát. Az *spvC*-nek mint ismert, virulencia plazmidhoz köthető génnek, valamint az 1-es típusú integronoknak meglétét PCR módszerrel vizsgáltuk.

Eddigi eredményeink szerint a törzseket (9 kivételével) a PFGE mintázataik (pulzotípusuk) alapján (90%-os hasonlósági határértéket figyelembe véve) két nagy genetikai csoportba („A” és „B” clusterbe) lehet sorolni. Az „A” clusterbe tartozó törzsek (n=39) többféle fágtípusba tartoznak, és zömükben érzékenyek a megvizsgált antibiotikumokkal szemben. Nem hordoznak integront, és kevés kivétellel nem rendelkeznek plazmiddal sem. A német, az olasz és az angol eredetű törzsek zömén túl ebbe a csoportba tartoznak az 1994-ből származó hazai izolátumok, néhány lengyel és egyetlen osztrák törzs is. Érdekes módon ezen a clusteren belül viszont elkülönült csoportot képvisel 9 német törzs, amelyeket azonos pulzotípus, egy azonos méretű (125 kb) nagy plazmid, valamint sumetrolim, vagy sumetrolim és ampicillin rezisztencia jellemez. A „B” clusterbe (n=34) ezzel szemben zömében olyan törzsek tartoznak, amelyeket 213-as fágtípus, nalidixinsav-tetracyclin-streptomycin-sulphonamid rezisztencia, a 885 bp méretű, 1-es típusú integron, és a 168 kb nagy plazmid jellemez. Ide tartozik az összes recens hazai izolátum, valamint az osztrák törzsek döntő zöme és két lengyel törzs, valamint a román és egy Angliában izolált (de eredetileg török import broiler szülő csirkéből származó) S.I. törzs is. Utóbbiak csak fágtípusukban térnek el a fent említett törzsektől. A szerotípusra jellemzően, egyetlen törzs sem rendelkezett *spvC* génnel.

A fentiekén túl, 6 ország 9 S.I. törzse egy jól elkülönülő, de heterogén csoportot alkotott, melyek nagy plazmidot vagy integront nem hordoztak, s főként 213-as fágcsoporthoz tartoztak.

Következésképp, a recens hazai S.I. törzsek által képviselt klónba tartozó törzsekkel azonos vagy nagyon hasonló tulajdonságokat mutató törzseket zömében az osztrák, (esetenként a lengyel, valamint a román és a török) eredetű törzsek között találtunk. A hasonlóság adódhat a földrajzi közelségből, kereskedelmi kapcsolatokból, hasonló technológiából (antibiotikum és fertőtlenítőszer használat). Az azonosság viszont adódhat a broiler szülők azonos eredetéből.

Köszönetnyilvánítás: A külföldi kollégáknak köszönjük a törzsek küldését, az EU FP6 Med-Vet-Net projektnek pedig az anyagi támogatást. A technikai asszisztenciáért Orbán Juditot és Bohuss Mariannát illeti köszönet.

EXTRAINTESZTINÁLIS ÉS INTESZTINÁLIS EREDETŰ BAROMFI *ESCHERICHIA COLI* VIRULENCIA ÉS FILOGENETIKAI TIPIZÁLÁSA

Tóth István¹, Ulrich Dobrindt², és Nagy Béla¹

Az avian *Escherichia coli* (APEC) törzsek kizárólag extraintesztinális megbetegedések okozói. Intesztinális colibacillozist a baromfiban nem ismerünk. Az intesztinális eredetű *E. coli* törzsek esetleges extraintesztinális rezervoár szerepe, és filogenetikai eredete viszont érdekessé teszi ezen normál béllakók vizsgálatát is. Éppen ezért célunk volt a különböző extraintesztinális fertőzésekből származó napos és növendék, valamint egyéb betegségben elhullott hasonló korú csibék és pulykapipék vakbeléből izolált *E. coli* törzsek virulencia génjeinek összevetése és a törzsek filogenetikai csoportosítása.

Jelen munkánkban 71 extraintesztinális (ExPEC) és 43 intesztinális eredetű *E. coli* (IntEC) törzsben vizsgáltuk a *vat* (vacuolating autotransporter), *pic* (serine protease precursor/ toxin subunit, *sit* 1A), *iss* (increased serum survival) *kpsM* (polysaccharide transport protein) és *malX* (transcriptional antiterminator/MalX) gének jelenlétét. A jellegzetes APEC virulencia gének közül leggyakrabban a szérum rezisztenciát meghatározó *sis* gént (90,4%) mutattuk ki. A törzsek 28%-a bizonyult *kpsM*-, 19,3%-a *vat*-, 9%-a *pic* és 4,4%-a *malX* pozitívnak. A *vat*, *pic*, *iss*, *kpsM* gének nagyobb gyakorisággal jellemezték az ExPEC törzseket, az *malX* gén azonos gyakorisággal fordult elő az ExPEC és intesztinális eredetű törzsekben. A törzsek közel azonos gyakorisággal reprezentálták a négy filogenetikai főcsoportot: „A” (34%), „B1” (24,6%), „B2” (14,9%) és „D” (26,3%). Érdekes módon a vizsgált ExPEC törzsek közül a legtöbb az „A” filogenetikai csoportba (40,8%) tartozott, és 15,5% bizonyult „B2” és 29,6% „D” csoportúnak, mely csoportok a humán eredetű ExPEC törzsek jellegzetes filogenetikai csoportjainak felelnek meg. Az intesztinális eredetű törzsek között viszont a legtöbb törzs a „B1” filogenetikai csoportba tartozott. Eredményeink az intesztinális eredetű baromfi *E. coli* törzsek többségének az ExPEC-től eltérő genetikai vonalát jelzik, de egyes vonalakra nézve azok potenciális rezervoár szerepét is mutatják.

A baromfi eredetű *E. coli* törzseknek a további jellemzése, függetlenül azok eredetétől, különösen fontos, hiszen egyre több irodalmi adat bizonyítja az APEC és humán ExPEC törzsek virulencia génjei- és filogenetikai eredetének hasonlóságát, esetenkénti egyezését.

ESCHERICHIA COLI O157 TÖRZSEK LONG POLAR FIMBRIÁINAK GENOTIPIZÁLÁSA

Sváb Domonkos László, Tóth István

A long polar (hosszú poláris) fimbriák (LPF) az enterohemorhágiás *Escherichia coli* (EHEC) törzsek nemrég felfedezett és egyre nagyobb jelentőséggel bíró virulenciafaktorainak számítanak. Az újabb kutatások szerint hozzájárulnak a béltraktus kolonizálásához, így az intimin mellett mint újabb adhéziós faktorról lehet velük számolni. Az EHEC patotípus legjelentősebb képviselőinek számító O157:H7 törzsekben e fimbriáknak két operonját azonosították: *lpfA1* és *lpfA2*. Ezek homológjai megtalálhatók számos különböző sero- és patotípusokba tartozó *E. coli* törzsekben. Az LPF variánsok elkülöníthetők egy nemrég publikált PCR alapú tipizáló sémával.

Jelen munkánkban összesen 50 *E. coli* O157 törzset vizsgáltunk, melyek közül 42 egészséges szarvasmarha, 8 pedig beteg humán eredetű volt. Három humán eredetű *E. coli* O157:NM törzs szorbit bontó (SF) volt, míg a többi törzs nem értékesítette a szorbitot (SNF). Célunk az volt, hogy az eddig megismert virulenciafaktorok mellett jellemezzük az egyre nagyobb jelentőséggel bíró long polar fimbriákat is, felhasználva a fent említett genotipizáló rendszert.

Az 50 *E. coli* O157 törzs közül 48 (96%) hordozott legalább egy LPF operont. A 19 EHEC O157:H7/NM (non-motil) törzs, valamint a 22 EPEC O157:H7 törzs (n=41, 82%) mindkét LPF operont hordozta, az *lpfA1*-ből a 3-as allélt, az *lpfA2*-ből a 2-es allélt. Ezen kombináció a genotipizáló rendszert leíró közlemény szerint is megbízható markere a jellegzetes *E. coli* O157:H7/NM serotípusoknak. A 9 atipikus (*stx*-, *eae*-) törzs közül 7 (14%) az *lpfA2* 1-es allélját hordozta, mely korábbi közleményekben *lpfO113* néven szerepelt, és túlnyomórészt nem O157 törzsekben terjedt el. A maradék 2 atipikus törzsből (4%) LPF gén nem volt kimutatható.

A fenti eredmények a korábbi, háztartási és virulencia géneken alapuló vizsgálatokkal együtt tovább erősítik azon hipotézist, hogy az atipikus *E. coli* O157 törzsek egy vagy több új leszármazási vonalat képviselnek az O157 törzsekben belül.

HUMÁN-PATOGÉN ÉS KOMMENZALISTA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* TÖRZSEK ÖSSZEHASONLÍTÓ GENETIKAI ÉS PATOGENETIKAI VIZSGÁLATA

Szmolka Ama¹, Emődy Levente^{1,2}, Lutz Wiehlmann³, Nina Cramer³ és Nagy Béla¹

A *Pseudomonas aeruginosa* (*P.a*) humán oportunistá patogénként a legismertebb, de rendkívül változatos genetikai tulajdonságainak köszönhetően számos életteret képes benépesíteni. Úgy az állati szervezetben mint a környezetben megtalálható, így orvosi jelentősége mellett állatorvosi-, és esetleges élelmiszerbiztonsági fontossága sem elhanyagolható. A *P.a* patogenitásáért felelős gének nagy része nagyfokú variabilitást mutató kromoszómális egységeken, un. genomi szigeteken és mobilis elemeken helyezkedik el, fenntartva a virulencia- és egyéb tulajdonságok átadásának lehetőségét. Értelemszerűen nagy hangsúly helyeződik a humán törzsek genetikai vizsgálatára, de az állati és a környezeti *P.a* izolátumokról e tekintetben is még nagyon kevés ismeretünk van.

Ezen hiány részbeni pótlását célozták az elmúlt évi beszámolóban ismertetett vizsgálataink, melyek folytatásaként felmerült annak igénye, hogy a rendelkezésünkre álló hazai humán-, szarvasmarha, valamint környezeti *P.a* törzsek konzervatív és variábilis génállományát, továbbá virulenciáját összehasonlítsuk. Vizsgálatainkkal ugyanis közelebb kerülhetnénk annak megválaszolásához, hogy a környezeti és állati eredetű kommenzalista *P. aeruginosa* izolátumok genetikai hovatartozásuk és patogenetikai tulajdonságaik alapján jelenthetnek-e közvetlen, vagy közvetett humán-egészségügyi és élelmiszerbiztonsági kockázatot.

Jelen munkában humán klinikai mintákból és egészséges szarvasmarhákból (bélsár, remese, tej) származó, valamint mélykúti eredetű környezeti *P. aeruginosa* törzsek microarray-alapú geno- és patotipizálását végeztük el és összehasonlítottuk a kapott génmintázatokat. A fenti hannoveri intézet korábban kidolgozott, s itt alkalmazott, *P. aeruginosa* Tube-Array génkészlete a főbb konzervatív kromoszómális lókuszokat és a nagyfokú variabilitással jellemezhető ismertebb genomi szigetek génjeit egyaránt lefedte, beleértve a fontosabb virulencia géneket is (Wiehlmann és mtsai, 2007). Az egyes klónokat 13 génre vonatkozó SNP mintázat alapján azonosítottuk be.

A genetikai vizsgálatok eredményeként elmondható, hogy a fenti három különböző eredetű csoport (humán, bovin, környezeti) egymástól jól elkülönült. Az SNP mintázatuk alapján a vizsgált *P. aeruginosa* törzsek 22 klónra oszthatóak, melyek egy része nemzetközileg ismert, de 14 közülük új klón, mely egyelőre csak a hazai kollekciónban található. Az egyes klónok jellegzetesen egységes eredetűnek bizonyultak (eredet függő klonalitás). A nem-humán klónok egy részét viszont korábban humán cisztás fibrózis esetekből izolált törzsekben is azonosították, mely azonnal fölveti a törzsek humán-egészségügyi jelentőségének lehetőségét.

A genetikai vizsgálatokat követően a három különböző eredetű csoport 3-3 törzsének tüdő- és lép inváziós készségéről valamint letalitásáról – egér tüdő modellben végzett vizsgálatokkal - szereztünk információt. Az egér kísérletek szerv inváziós és letalitási adatai - a genetikai eredményekkel összhangban - a környezeti eredetű *P.a* törzsek lényegesen alacsonyabb virulenciáját, valamint, a humán-, és bovin *P.a* törzsek közel azonos virulenciáját jelezték.

Eddigi adataink szerint, a vizsgált bovin eredetű (kommenzalista) *P. aeruginosa* izolátumok közül egyesek, genetikai hovatartozásuk és patogenetikai tulajdonságaik alapján, közvetlen, vagy közvetett humán-egészségügyi és élelmiszerbiztonsági kockázatot jelenthetnek.