

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA  
ÁTE ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

**AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK**  
(2022. JANUÁR 18.)

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

2021. évi 48. füzet

## ELŐSZÓ

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

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és az Állatorvostudományi Egyetem Állatorvostudományi Doktori Iskolája 2022. január 17-én és 18-án online tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló **Akadémiai Beszámolók** ülésorozatot, amelyre idén 48. alkalommal kerül sor az Állatorvostudományi Egyetemen.

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

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

Tekintettel az érvényben lévő járványügyi korlátozásokra, a lebonyolítás on-line formában a zoom program használatával történik. A szekciókhoz a programban szereplő időpontban a <https://us02web.zoom.us/j/85430206032?pwd=dHJHJz1d6a3J5SDI2aDNhcG9KMWdOUT09> linken keresztül lehet csatlakozni. Az előadások időtartama legfeljebb 10 perc, további 2 percet számoltunk a kérdésekre. Kérjük, hogy a megadott időtartamot senki ne lépje túl. Az előző évek gyakorlatának megfelelően, nem az előadások számára, hanem azok szakmai-tudományos értékére helyezük a súlyt.

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

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

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

Kívánunk mindenkinek eredményes előadást.

Solti László  
MTA ÁTB elnöke

Sótonyi Péter  
Rektor, TDK elnök

Bartha Tibor  
ÁODI elnöke

Fodor László  
MTA ÁTB titkára

**MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és az ÁTE Állatorvostudományi DI akadémiai beszámolóinak programja és szekcióbizottságai**  
(2022. január 17-18.)

| A szekció megnevezése   | A szekcióülés napja               | A szekcióülés időpontja | Társelnökök  | Titkár   | Bizottsági tagok   |
|---|-----------------------------------|-------------------------|--|--|--|
| Élettan és biokémia<br>Kórtan<br>Gyógyszertan és toxikológia<br>Morfológia        | <b>2022. január 17.<br/>hétfő</b> | <b>8.30-12.00</b>       | Bartha Tibor<br>Jerzsele Ákos<br>Neogrady Zsuzsanna<br>Sótonyi Péter | Farkas Orsolya<br>Mátis Gábor                        | Csikó György<br>Halasy Katalin<br>Rác Bence<br>Zsarnovszky Attila  |
| Élelmiszer-higiéna: Dr.<br>Takács János Emléktűlés<br>Állategészségügyi Igazgatás | <b>2022. január 17.<br/>hétfő</b> | <b>13.00-16.00</b>      | Lacay Péter<br>Nagy Attila<br>Ózsvári László                         | Darnay Lívia   | Józwiak Ákos<br>Kovács Sándor, Lehel József,<br>Süth Miklós, Szita Géza  |
| Viroológia<br>Bakteriológia<br>Immunológia  | <b>2022. január 18.<br/>kedd</b>  | <b>8.30-11.30</b>       | Dénes Béla<br>Harrach Balázs<br>Fodor László<br>Magyar Tibor         | Kaján Győző<br>Kreizinger Zsuzsa                     | Benkő Mária, Dán Ádám,<br>Pénzes Zoltán, Rusvai Miklós,<br>Soós Tibor, Zádori Zoltán,<br>Bernáth Sándor, Hajtós István,<br>Jánosi Szilárd, Gyuranecz Miklós,<br>Makrai László, Szmolka Ama,<br>Tenk Miklós |
| Parazitológia<br>Állattan<br>Halkórtan  | <b>2022. január 18.<br/>kedd</b>  | <b>11.30-13.00</b>      | Baska Ferenc<br>Farkas Róbert  | Eszterbauer Edit<br>Hornung Erzsébet<br>Sréter Tamás | Békési László, Csaba György,<br>Hornok Sándor, Kassai Tibor,<br>Molnár Kálmán, Majoros Gábor,<br>Varga István  |
| Klinikumok  | <b>2022. január 18.<br/>kedd</b>  | <b>13.00-15.40</b>      | Bakos Zoltán<br>Bodó Gábor<br>Cseh Sándor<br>Németh Tibor            | Becker Zsolt<br>Szelényi Zoltán                      | Biksi Imre,<br>Gál János<br>Szenci Ottó<br>Vajdovich Péter   |
| Állathigiéna<br>Állattenyésztés<br>Genetika<br>Takarmányozás                      | <b>2022. január 18.<br/>kedd</b>  | <b>15.40-17.00</b>      | Könyves László<br>Szabó József                                       | Bersényi András                                      | Brydl Endre, Cseh Sándor,<br>Fekete Sándor, Gáspárdy András,<br>Jakab László, Rafai Pál,<br>Zöldág László  |

# Tartalomjegyzék

## Viroológia

1. LESŐHARCSEA (*SILURUS GLANIS*) FOGÉKONYSÁGÁNAK VIZSGÁLATA  
TÖRPEHARCSEA RANAVÍRUSRA (ECV)  
Abonyi Flóra, Varga Ádám, Sellyei Boglárka, Eszterbauer Edit, Doszpoly Andor
2. AZ ATÍPIKUS SERTÉS PESTIVÍRUS MAGYARORSZÁGI PREVALENCIÁJÁNAK  
VIZSGÁLATA  
Dénes Lilla, Igriczi Barbara, Balka Gyula
3. A HÁRMAS TÍPUSÚ SERTÉS CIRCOVÍRUS (PCV3) VIZSGÁLATA  
MAGYARORSZÁGON  
Igriczi Barbara, Dénes Lilla, Albert Ervin, Biksi Imre, Balka Gyula
4. VÍRUSHORDOZÓ NANOSZÁLAK ELŐÁLLÍTÁSA ELEKTROSZTATIKUS  
SZÁLKÉPZÉSSSEL  
Marosi András, Gránitz Nóra, Hirsch Edit, Papp Tibor
5. ÚJ POLIÓMAVÍRUS KIMUTATÁSA MAGYARORSZÁGRA VISSZATELEPÍTETT  
EURÁZSIAI HÓD (*CASTOR FIBER*) MINTÁBÓL  
Surján András, Vidovszky Márton
6. TEKNŐS EREDETŰ MINTÁK SZŰRÉSE ADENO- ÉS CIRLIVÍRUSOKRA  
Tóth Alexandra Vivien, Harrach Balázs, Ursu Krisztina, Kaján Gyöző

## Bakteriológia

7. *COXIELLA BURNETII* FERTŐZÖTTség SZEROLÓGIAI FELMÉRÉSE TEJELŐ  
SZARVASMARHA, JUH ÉS KECSKE ÁLLOMÁNYOKBAN, VALAMINT  
ÁLLATKERTI ÁLLATOKBAN MAGYARORSZÁGON  
Dobos Attila, Fodor István, Kiss Gerda, Gyuranecz Miklós
8. EURÓPAI *MYCOPLASMA HYORHINIS* IZOLÁTUMOK ANTIBIOTIKUM  
ÉRZÉKENYSÉGÉNEK VIZSGÁLATA HAGYOMÁNYOS ÉS MOLEKULÁRIS  
BIOLÓGIAI MÓDSZEREKKEL  
Földi Dorottya, Ulrich Klein, Beleczi Nikolett, Salvatore Catania, Arkadiusz Dors, Ute  
Siesenop, Philip Vyt, Kreizinger Zsuzsa, Gyuranecz Miklós
9. *MYCOPLASMA HYORHINIS* TÖRZSEK FEHÉRJE MINTÁZATAINAK  
ÖSSZEHASONLÍTÁSA  
Földi Dorottya, Kreizinger Zsuzsa, Kollár Anna, Tenk Miklós, Gyuranecz Miklós
10. *MYCOPLASMA HYORHINIS* FERTŐZÉSI MODELL KIALAKÍTÁSA NÉGY HETES  
MALACOKBAN  
Földi Dorottya, Nagy Eszter Zsófia, Beleczi Nikolett, Szeredi Levente, Földi József,  
Kreizinger Zsuzsa, Gróznér Dénes, Bekő Katinka, Kovács Áron Botond, Hrivnák  
Veronika, Kollár Anna, Tenk Miklós, Gyuranecz Miklós

11. *MYCOPLASMA ANSERISALPINGITIDIS* MA271 VAKCINAJELÖLT TÖRZS  
ÁRTALMATLANSÁGÁNAK, HORIZONTÁLIS TERJEDÉSÉNEK ÉS  
KOLONIZÁCIÓS KÉPESSÉGÉNEK VIZSGÁLATA  
Gróznér Dénes, Mitter Alexa, Nagy Zsófia Eszter, Bekő Katinka, Kreizinger Zsuzsa, Buni  
Dominika, Kovács Áron Botond, Udvari Lilla, Belec Nikolett, Költő Karola, Wehmann  
Enikő, Czifra György, Thuma Ákos, Gyuris Éva, Gyuranecz Miklós
12. ATÍPIKUS *MYCOPLASMA ANSERISALPINGITIDIS* TÖRZSEK GENETIKAI  
JELLEMZÉSE  
Kovács Áron Botond, Wehmann Enikő, Bekő Katinka, Gróznér Dénes, Bali Krisztina,  
Bányai Krisztián, Gyuranecz Miklós
13. *MYCOPLASMA SYNOVIAE* FERTŐZÉSI MODELL KIDOLGOZÁSA HÁZITYÚKBAN  
Kreizinger Zsuzsa, Gyuris Éva, Buni Dominika, Makrai László<sup>3</sup> Költő Karola, Belec  
Nikolett, Nagy Eszter Zsófia, Gróznér Dénes, Gyuranecz Miklós
14. *SALMONELLA INFANTIS* ÉS COHABITÁNS *ESCHERICHIA COLI* TÖRZSEK  
MOBILIS REZISZTOM ÉS VIRULOM ANALÍZISE  
Rapcsák Fanni, Haleluya Wami, Ulrich Dobrindt, Szmolka Ama
15. MAGYARORSZÁGON IZOLÁLT SZARVASMARHA- ÉS HUMÁN EREDETŰ  
SHIGA TOXIKUS ÉS ENTEROPATOGÉN *ESCHERICHIA COLI* TÖRZSEK GENOMI  
VÁLTOZATOSSÁGA, VIRULENCIAGÉN- ÉS PROFÁGKÉSZLETE  
Sváb Domonkos, Linda Falgenhauer, Mag Tünde, Trinad Chakraborty, Tóth István

## LESŐHARCSA (*SILURUS GLANIS*) FOGÉKONYSÁGÁNAK VIZSGÁLATA TÖRPEHARCSA RANAVÍRUSRA (ECV)

Abonyi Flóra\*, Varga Ádám, Sellyei Boglárka, Eszterbauer Edit, Doszpoly Andor

Az akvakultúra az egyik legdinamikusabban fejlődő mezőgazdasági ágazat az egész világon. Az intenzív állattenyésztésben, így a halgazdálkodásban is, a magas mortalitással járó járványokat okozó vírusok jelentik az egyik legnagyobb problémát. Ezek jelentős gazdasági károkat okoznak. A világszerte azonosított több halvírus közül számos fajra a hazai halállományok is fogékonyak, például törpeharcsa ranavírus (European catfish virus, ECV), Európai harcsavírus (ESV), ponty tavaszi virémia vírusa (SVCV) és koi herpeszvírus (KHV). A ranavírusok az *Iridoviridae* családba tartozó duplaszálú DNS vírusok, melyek halak, hüllők és kétéltűek állományaiban tömeges elhullást okoznak. Magyarországon 2013-ban izoláltak először ranavírust (ECV), amely Szegeden (2008), Esztergom és Mártély környékén okozott jelentős elhullást a törpeharcsa állományokban. Az ECV képes megfertőzni gazdaságilag jelentős halfajokat is, mint az európai lesőharcsa (*Silurus glanis*), amely Európában kedvelt étkezési és horgászhal, így Magyarországon is egyre nagyobb mértékben vonják intenzív tenyésztésbe. Ezért munkánk célja, hogy meghatározzunk a különböző korú lesőharcsák fogékonyságát a Magyarországon izolált törpeharcsa ranavírusra.

A lesőharcsa fertőzéses kísérletek során három különböző korú, 8 hetes (átlag tömeg: 3 g), 10 hetes (8 g) és 4 hónapos (55 g) csoportot fertőztünk kétféle ECV dózissal ( $10^5$  és  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml). A lesőharcsák halgazdaságból, ugyanabból a szaporításból származtak. Minden alcsoportban 25 hal volt, és a fertőzést követően 1 hónapig követtük az elhullásokat, majd a vírus okozta mortalitást összevetettük a kontroll csoportéval. A vírusfertőzést vírus-specifikus PCR-rel igazoltuk máj mintákból, valamint belső szervekből újra izoláltuk a vírust. A vírus által okozott tüneteket dokumentáltuk. Kísérleteink során a legfiatalabb korcsoportban kaptuk a legmagasabb, a legidősebb korosztályban pedig a legalacsonyabb végső kumulatív százalékos mortalitást. Az adatok statisztikai kiértékelése még folyamatban van.

Korábban már vizsgálták a *Silurus glanis* fogékonyságát különböző típusú ranavírusokra. Munkánkban hasonló módon megvizsgáltuk a magyarországi ECV izolátum fertőzőképességét különböző korú lesőharcsákon, mely során más külföldi izolátumok eredményeihez képest nagyobb mértékű elhullást tapasztaltunk. Az első, 8 hetes halakon végzett kísérlet eredményei alapján azt feltételezzük, hogy ebben a korban a lesőharcsa immunrendszere még nem fejlődött ki teljes mértékben, valószínűleg ezért kaptuk a legmagasabb mortalitást ebben a korcsoportban. A hal immunrendszere körülbelül 3 hónapos kor elérését követően képes megküzdeni a ranavírus fertőzéssel, így a 4 hónapos halakon végzett kísérletünkben az ECV mortalitása lecsökkent. Eredményeink azt mutatják, hogy a 4 hónaposnál fiatalabb egyedeket veszélyezteteti elsősorban a vírus, így az ivadéknevelés során lenne szükség a legnagyobb védelemre. További munkánk során a halgazdaságokban megjelenő ranavírus járványok megelőzése céljából ECV elleni prototípus DNS-vakcinákat fejlesztünk, melyeket törpeharcsákon, mint modell organizmuson kívánunk tesztelni. E vakcinatípus előnye, hogy sikeresen optimalizált vakcinák később egyszerűen módosíthatók és átvihetők más harcsafélékre, így gyors reagálást és szélesebb körű alkalmazást tesznek lehetővé.

A kutatás a 2018-ban elnyert NKFI K127916 OTKA pályázat keretein belül valósulhatott meg.

## AZ ATÍPIKUS SERTÉS PESTIVÍRUS MAGYARORSZÁGI PREVALENCIÁJÁNAK VIZSGÁLATA

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

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

Kutatásunk során minden korcsoportból herélési folyadék- és keresztmetszeti vérszérum mintát gyűjtöttünk, ezekben vizsgáltuk az APPV jelenlétét. Összesen 1550 szérummintát (5-ös poolban), 79 herélési folyadékmintát vizsgáltunk meg, amelyek 16 sertés telepről származtak. A vírus örökítőanyagát Indispin/Cador Pathogen Mini Kit (Qiagen) segítségével nyertük ki QIAcube készülékben (Qiagen). A vírus kimutatására szolgáló qRT-PCR analízist a OneStep RT-PCR Kit (Qiagen) segítségével valósítottuk meg, APPV specifikus primerek felhasználásával.

APPV-t 16 telep közül 9 esetében, 331 szérum poolból 50-ben (15,1%) és 79 herélési folyadékmintából 14-ben (17,72%) mutattuk ki. Az APPV-vel fertőzött telepek közül a szérum minták 19,3%-a és a herélési folyadék minták 36,8%-a volt pozitív, továbbá minden fertőzött gazdaságban legalább egy herélési folyadékminta pozitív volt, amely azt jelzi, hogy a méhen belül fertőződött, tünetmentes malacok aránya viszonylag magas. Meglepő módon csak a 6 hetesnél idősebb sertések szérummintái voltak APPV-pozitívak, a fertőzött állatok aránya a 6 és 18 hetes (21%) és a 14 hetes (16%) sertések esetében volt a legmagasabb. A süldőkből és kocákból vett minták mind negatívak voltak, kivéve egy süldőktől származó szérum poolt.

Eredményeink azt mutatják, hogy az APPV magyarországi elterjedtsége jelentős, és leginkább a 6, 14 és 18 hetes állatokból nyert herélési folyadékban és szérummintában található meg. További vizsgálatokra van szükség annak feltárására, hogy a 2 és 4 hetes állatokból nyert szérum miért volt negatív az újszülötteknél megfigyelt magas előfordulás ellenére.

Szeretném megköszönni Schönhardt Kittinek, hogy szakmai tudásával hozzájárult kutatómunkámhoz.

## A HÁRMAS TÍPUSÚ SERTÉS CIRCOVÍRUS (PCV3) VIZSGÁLATA MAGYARORSZÁGON

Igriczi Barbara\*, Dénes Lilla, Albert Ervin, Biksi Imre, Balka Gyula

A *Circovirus* nemzetségbe tartozó hármastípusú sertés circovírust (porcine circovirus type 3, PCV3) 2016-ban az Egyesült Államokban azonosították új-generációs szekvenciameghatározásos módszerek segítségével, PDNS-ben (porcine dermatitis and nephropathy syndrome) elhullott állatokban, továbbá vetélt malacok gyulladási jeleit mutató szívizom- és egyéb szervmintáiban. A vírus jelenlétét az elmúlt években már Európa, Ázsia és Amerika számos országában is leírták. A PCV3 fertőzést eddig különböző patológiás elváltozásokkal hozták összefüggésbe, ám a leggyakrabban reprodukciós rendellenességeket és sokszervi gyulladást írtak le a kutatók.

Kutatásunk célja, hogy felmérjük a PCV3 elterjedtségét és genetikai változatosságát a magyar sertésállományokban. Továbbá célunk a fertőzés állományon belüli dinamikájának és az egyes korcsoportok fertőzőkövető szerepének megismerése.

Összesen 18 sertéstartó telepről érkező, 1695 korcsoportonkénti savóminta, 158 rágóköttel minta és 87 szöveti váladék (processing fluid) minta kvantitatív real-time PCR vizsgálatát végeztük el. Egyes erősen pozitív minták esetében teljes genom szekvenálást és filogenetikai analízist is végeztünk.

A 18 vizsgált telep közül 17-nél (94%) sikerült kimutatni a PCV3 jelenlétét legalább egy mintatípusban. A legmagasabb előfordulási gyakoriságot a malacok herélésekor felfogott szöveti váladék mintákban tapasztaltuk. A vírust mindegyik korcsoport savómintáiból sikerült kimutatni, de a legmagasabb fertőzöttséget 6-hetes malacok, illetve a tenyészkocásüldők és a kétszer ellett kocák mintánál tapasztaltuk, melyeknek majdnem egyharmada pozitívnak bizonyult. A PCV3-at meglehetősen alacsony Ct értékekkel sikerült detektálni a laboratóriumunkba rutin diagnosztikára érkező, szisztémás sorvadásos és sokszervi gyulladási tüneteket mutató malacok szövethomogenizátumaiban.

Eddigi eredményeink alapján elmondható, hogy a PCV3 Magyarországon is igen elterjedt. A vizsgált telepeken a vírus alapvetően tünetmentes állatokban, szubklinikai fertőzés formájában van jelen. A PCV3 fertőzés összefüggésbe hozható sorvadásos és sokszervi gyulladási tünetek kialakulásával, de a vírus kórtani jelentőségének megismeréséhez még további széleskörű vizsgálatok szükségesek.

Ezúton is szeretném megköszönni az egyes sertéstartó telepek vezetőinek, hogy a minták rendelkezésünkre bocsátásával hozzájárultak a kutatómunkámhoz.



## VÍRUSHORDOZÓ NANOSZÁLAK ELŐÁLLÍTÁSA ELEKTROSZTATIKUS SZÁLKÉPZÉSSEL

Marosi András<sup>1\*</sup>, Gránitz Nóra<sup>1</sup>, Hirsch Edit<sup>2</sup>, Papp Tibor<sup>3</sup>

A nanotechnológia dinamikusan fejlődő tudományterületének egy ígéretes területe az elektrosztatikus szálképzés (electrospinning), amely hatóanyag-hordozó nanoszálak létrehozására alkalmas. Ezzel a módszerrel gyógyszer-molekulák és mikroorganizmusokat (pl. probiotikumokat) tartalmazó készítmények innovatív formulációjára nyílik lehetőség. A nanohordozók tulajdonságai az igényeknek megfelelően sokrétűen szabályozhatók, és fizikai adottságaiknál fogva vírusok hordozására is alkalmassá tehetők, amelynek révén stabilabb és környezeti hatásoknak jobban ellenálló oltóanyagok is előállíthatók lehetnek. Különösen az élővírusos vakcinák esetében van ennek fokozott jelentősége: a vakcinavírus stabilitása és környezeti ellenállóképessége elsődleges fontosságú a megfelelő hatékonyság szempontjából. A nanoszálképzés a liofilizálásnál kíméletesebb formulációs eljárás: nem igényel extrém hőmérsékleti és nyomásviszonyokat, valamint a folyamat gyorsabb és költséghatékonyabb. Az ilyen módon előállított oltóanyagok előnyei főként a parenterális-tól eltérő (aeroszol vagy orális) applikáció esetén lehetnek számottevők.

Célkitűzés: A vizsgálatok jelenlegi szakaszának célja az volt, hogy egy könnyen kezelhető vírus (bovine alphaherpesvirus 1, BoHV-1) virionjait nanoszálakba integráljuk, ehhez az elektrosztatikus szálképzés módszerének paramétereit optimalizáljuk és ellenőrizzük a beépítés sikerességét. A kutatás további célja annak igazolása, hogy különféle vírusok nanoszálakba való beépítése javítja azok környezeti ellenállóképességét és stabilitását.

Módszer: A szarvasmarha fertőző rhinotracheitisét okozó herpeszvírust (BoHV-1) borjúvese sejtvonalon (MDBK) elszaporítottuk, majd a sejtkultúrák felülúszóját preparatív ultracentrifugában pelletizálással koncentráltuk és tisztítottuk. A tisztított vírusszuspenziót a nanoszálak mátrixát képező különböző hordozóanyagok (2-hidroxipropil- $\beta$ -ciklodextrin – HPBCD; Poly(1-vinylpyrrolidone-co-vinyl acetate) – PVP VA64) vizes oldatához adagoltuk, majd nagysebességű elektrosztatikus szálképző rendszerrel vírushordozó szálakat állítottunk elő. Az infektív vírustitert a szálképzés előtt és után sejtenyészeten való titrálással, míg a vírusnukleinsav mennyiségének változását real-time PCR módszerrel ellenőriztük.

Eredmények és következtetések: Eredményeink szerint a HPBCD nem megfelelő hordozóközeg a BoHV-1 tartalmú nanoszálak képzésére, ugyanis hatására a vírus elveszti fertőzőképességét (nukleinsavának kópiaszáma viszont nem csökken a kiindulási vírusszuspenzióhoz képest). A jelenség önmagában további vizsgálatra érdemes; feltehetőleg a vírus lipidburkának integritása sérül a ciklodextrin komplexáló hatására. A polimeralapú PVP VA64 ezzel szemben nincs hatással a vírus fertőzőképességére. A kész nanoszálakat visszaoldva azonban jelentősen csökkent vírustitert mutattunk ki, ami azt jelzi, hogy a szálképzés paramétereit módosítani kell és/vagy stabilizáló segédanyagok használata szükséges a továbbiakban.

Támogatás: A kutatás az EFOP-3.6.3-III-UK-2021 (kutatásfejlesztés) pályázati forrásból valósul meg, az Új Nemzeti Kiválósági Program keretében.

## ÚJ POLIÓMAVÍRUS KIMUTATÁSA MAGYARORSZÁGRA VISSZATELEPÍTETT EURÁZSIAI HÓD (*CASTOR FIBER*) MINTÁBÓL

Surján András\*, Vidovszky Márton

A poliómavírusok (PyV-ok) a *Polyomaviridae* családba tartozó, kisméretű, cirkuláris genommal rendelkező, duplaszálú DNS onkovírusok. Kapszidjuk ikozaéder-szimmetriájú, átmérőjük 40-50 nm, fehérje burokkal nem rendelkeznek. Az állatvilágban széles körben elterjedtek, elsősorban emlősökben és madarakban fordulnak elő. Találtak azonban már PyV-t halakban is, és ízeltlábú fajokban is jelen lehetnek. A PyV-ok általában perzisztens fertőzést okoznak, apatogének, a gazdaszervezet immunrendszerének legyengülése esetén okozhatnak kóros, akár tumoros elváltozást is. Az utóbbi években egyre több fajtól írnak le új PyV-okat.

PhD munkám célja emlősökben jelenlévő új PyV-ok kimutatása, leírása, molekuláris és filogenetikai vizsgálata, koevolúciójuk feltárása céljából. Ennek részeként vizsgáltam hazánkba visszatelepített eurázsiai hód (*Castor fiber*) mintákat is PyV-ok jelenlétére.

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

Két elhullott eurázsiai hód vese, máj és lép szöveteinek mintáit vizsgáltam. Mindkét esetben a vese szövet bizonyult pozitívnak PyV jelenlétére. A szekvenált rövid szakaszokon alapuló előzetes genetikai vizsgálatok alapján a vírus feltételezhetően egy új PyV faj képviselője. A teljes genom felerősítése és a filogenetikai vizsgálata folyamatban van. A közvetlen PCR-es felerősítés többszöri sikertelen kísérlete miatt degenerált primer párt terveztem az LTA<sub>g</sub> – a fajbesorolás alapját is képező – gén konzervatív szakaszára. Ehhez a hód PyV VP1 szakasz alapján legközelebb eső 5 PyV faj teljes-genom szekvenciáit használtam fel. Eddigi vizsgálataink alapján ez a primerpár a hód PyV LTA<sub>g</sub> szakaszán kívül alkalmas denevér PyV-ok LTA<sub>g</sub> szakaszának felerősítésére is.

Elsőként mutattunk ki PyV-t eurázsiai hódból. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy további emlős fajok mintáinak vizsgálata számos új PyV kimutatását eredményezheti. A hazánkba visszatelepített hód állomány mintáinak szűrése más víruscsaládok képviselőinek jelenlétére is fontos, a környezetünkben újra jelenlévő állatállomány által hordozott vírusok megismerése céljából.

A kapott mintákért köszönet Dr. Egyed Lászlónak és Czabán Dávidnak. Kutatásainkat anyagilag az NKFIH NN140356 sz. pályázata támogatta.

## TEKNŐS EREDETŰ MINTÁK SZŰRÉSE ADENO- ÉS CIRLIVÍRUSOKRA

Tóth Alexandra Vivien<sup>1\*</sup>, Harrach Balázs<sup>1</sup>, Ursu Krisztina<sup>2</sup>, Kaján Győző<sup>1</sup>

Mind az adeno-, mind a cirlivírusok ikozaéderes, szimmetrikus, burok nélküli DNS vírusok, azonban az adenovírusok duplaszálú lineáris, a cirlivírusok egyszálú cirkuláris DNS genommal rendelkeznek. Az *Adenoviridae* családba tartozó vírusok általában fakultatív patogének és a vírusok és gerinces gazdafajaik között gyakran koevolúció figyelhető meg. A *Cirlivirales* rend egyetlen elfogadott családja a *Circoviridae*, de számos cirlivírus nem sorolható be ide. Pontos gazdafajuk sokszor nem ismert, az eukarióta állatok tág körét fertőzik. Ismert, nagy patogenitású kórokozó a sertés cirkovírus 2, azonban hullókben még nem kutatták ezeket.

Célkitűzésem az volt, hogy bővítsük ismereteinket a teknősöket fertőző cirli- és adenovírusok terén, ismerjük meg fertőzőtlenségük mértékét, és térképezzük fel ezen vírusok diverzitását.

Állatkereskedésben elhullott, különböző fajú, hobbiállatként tartott teknősök (96 példány) szolgáltak mintaként. A DNS-kivonást belső szervek keverékéből a Bioextract Superball (Biosella) kittel végeztük egy Kingfisher Flex (Thermo Fisher Scientific) robotberendezéssel. A mintákat az adenovírusok esetében DNS-polimeráz génre, míg a cirlivírusok esetében a Rep (replikációért felelős) génre irányuló nested PCR-rel vizsgáltuk. A PCR-termékeket ExoSap (GE Healthcare) segítségével tisztítottuk, és BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit használatával szekvenáltuk. A szekvenciákat az NCBI BlastX segítségével hasonlítottam a GenBankban elérhetőkhöz.

Egy kínai háromélűteknősből és egy vöröshasú huszárteknősből a pulyka-adenovírus 3 típusba sorolható törzset (aminosav alapú szekvenciaazonosság: 97,8 ill. 100%), míg egy sárgafülű ékszerteknősben egy díszes dobozteknős-adenovírus törzset (97,8%) mutattunk ki. Cirlivírust egy görög teknős, egy közönséges teknős és egy fekete mellű hegyi teknős mintából mutattunk ki, melyek legmagasabb aminosav alapú szekvenciaazonosságot egy sertés-cirkovírus 4 (50,7%), Weddel-fóka- és madár metagenomból kimutatott cirkovírusok (48,6%) illetve harcsa-cirkovírus (50,4%) törzseivel mutatták. A kimutatott cirlivírusok előzetes filogenetikai elemzések alapján a *Circovirus* nemzetségbe sorolhatók, ott egy ősi, monofiletikus ágat képviselnek.

A testadenovírusok eddig egyetlen elismert fajtát egy vörösfülű ékszerteknős-adenovírus képviseli. A kimutatott testadenovírus is egy ékszerteknősből származik, de előbbtől elkülönül (80,2%). Mivel a minta állatkereskedésből származott, gazdaváltást feltételezhetünk egy dobozteknősről. A másik két esetben kimutatott pulyka-adenovírus pontos eredete kérdéses, esetleg táplálék eredetű. A kimutatott teknős-cirkovírusok pontos evolúciós eredete is bizonytalan. Mivel hulló-cirkovírusok eddig nem ismertek, elképzelhető, hogy ezeket mutattuk ki, de a hal-cirkovírusok viszonylag közeli rokonsága miatt a táplálék eredet sem kizárható.

A kutatást az NKFIH támogatta (OTKA NN140356), Kaján Győző kutatásait az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíja támogatja.

## COXIELLA BURNETII FERTŐZÖTTség SZEROLÓGIAI FELMÉRÉSE TEJELŐ SZARVASMARHA, JUH ÉS KECSKE ÁLLOMÁNYOKBAN, VALAMINT ÁLLATKERTI ÁLLATOKBAN MAGYARORSZÁGON

Dobos Attila<sup>1\*</sup>, Fodor István<sup>1</sup>, Kiss Gerda<sup>2</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>3</sup>

A *Coxiella burnetii* számos állatfajt képes megfertőzni (pl. háziállatokat, hullóket, madarakat, tengeri állatokat és kullancsokat), melyek különböző módokon üríthetik a kórokozót. A fertőzött állatok leggyakrabban tünetmentesek, azonban szaporodásbiológiai problémákat (pl. vetelés, magzatburok retenció, méhgyulladás) is összefüggésbe hoztak a kórokozó jelenlétével. Magyarországon több esetben írtak le különböző gazdafajokhoz köthető emberi Q-láz megbetegedést. Magyarországon 1956-ban írták le az első juhokhoz és szarvasmarhákhoz köthető fertőzést. 1977-ben pedig két tejelő szarvasmarha állományban ütötte fel a fejét a járvány, számos humán megbetegedéssel egyetemben. 2013-ban juhokhoz kapcsolódóan írtak le járványos Q-láz megbetegedést Baranya-megyében. A különböző gazdafajok *C. burnetii* fertőzöttségét vizsgáló felmérések így fontos adatokat nyújthatnak a járványok megelőzéséhez.

A kutatás célja a legfontosabb kérésző gazdafajok *C. burnetii* fertőzöttségének felmérése volt Magyarországon teljes területén lehetőleg minél nagyobb számú egyed bevonásával.

A vizsgálatok során összesen 851 vérmintát gyűjtöttünk 44 tejelő tehenészetből, 16 juh állományból, 4 tejtermelő kecske farmról és 3 állatkertből 2019. májusa és 2020. decembere között. Az ország különböző régióiból származó szarvasmarha telepekről összesen 547 állat lett mintázva. Juhászatokból 200, kecske farmokról 71 az állatkertekből pedig 33 állat vérsavója került *C. burnetii* specifikus ellenanyag vizsgálatra. A vérsavók szerológiai vizsgálatához kereskedelmi forgalomban kapható ELISA tesztet használtunk.

A 44 vizsgált szarvasmarha telepből mind a 44 telep pozitívítást mutatott, egyed szinten pedig 47,2% szeropozitívítást találtunk. A kiskérésző telepek esetében pedig 55%-os pozitívítást találtunk (juhászatoknál 56,3%, kecske farmok esetében pedig 50%). Egyed szintjén a kiskérészők esetében 25,5%-os szeropozitívítást találtunk a vizsgált állatok között. (Juhoknál 23,5% kecskék esetében pedig 31%-os volt a szeropozitívítás). Állatkerti kérészők esetében egy esetben sem volt kimutatható ellenanyag. A szarvasmarhák nagyobb eséllyel voltak szeropozitívák a kiskérészőkhöz ( $P < 0.0001$ ) és az állatkerti állatokhoz képest ( $P < 0.0001$ ), akárcsak a kiskérészők az állatkerti állatokhoz képest ( $P = 0.0002$ ). A statisztikai régió hatására korrigálva a szarvasmarhák 4,32-szer nagyobb eséllyel (esélyhányados 95%-os konfidencia-intervalluma: 2.13–8.75,  $P < 0.0001$ ) voltak szeropozitívák a kiskérészőkhöz képest.

A kutatásunk alapján megállapítható, hogy a Q-láz elleni védekezésben hazánkban kiemelt figyelmet kell fordítani a tejelő szarvasmarha telepekre, de a juh és kecskeállományok is fontos terjesztői lehetnek ennek a zoonózisnak.

A kutatást a Ceva-Phylaxia Zrt. támogatta.

## EURÓPAI *MYCOPLASMA HYORHINIS* IZOLÁTUMOK ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉGÉNEK VIZSGÁLATA HAGYOMÁNYOS ÉS MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI MÓDSZEREKKEL

Földi Dorottya<sup>1\*</sup>, Ulrich Klein<sup>2</sup>, Beleczi Nikolett<sup>1</sup>, Salvatore Catania<sup>3</sup>, Arkadiusz Dors<sup>4</sup>, Ute Siesenop<sup>5</sup>, Philip Vyt<sup>6</sup>, Kreizinger Zsuzsa<sup>1</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

A *Mycoplasma hyorhinis* 3-10 hetes malacokban okozhat elsősorban savóshártya és ízület gyulladást, illetve ronthatja takarmányértékesítésüket is. Az állatok megbetegedése és elhullása nagy gazdasági kárral jár. Európában nincs elérhető vakcina a kórokozó elleni védekezésre. A megbetegedések gyógykezelése antibiotikum terápiával történik.

Célul tűztük ki, hogy öt európai országból gyűjtött *M. hyorhinis* izolátumok érzékenységét meghatározzuk a klinikumban elterjedten használt antibiotikumokkal szemben. Továbbá célunk volt az izolátumok érzékenységének vizsgálata makrolidokkal és linkomicinnel szemben molekuláris biológiai módszerrel is.

Összesen 76, különböző szervekből származó, 2019 és 2021 között Belgiumban, Lengyelországban, Németországban, Olaszországban és hazánkban izolált *M. hyorhinis* törzs antibiotikum érzékenységi vizsgálatát végeztük el leves mikrohígítós módszerrel. Az izolátumok makrolid és linkomicin érzékenységét a 23S rRNS génben található pontmutációra tervezett mismatch amplification mutation assay (MAMA) segítségével is vizsgáltuk.

Vizsgálataink során alacsony minimális gátló koncentrációt (MIC) találtunk tiamulin (MIC<sub>90</sub> 0,312 µg/ml), doxiciklin (MIC<sub>90</sub> 0,156 µg/ml), oxitetraciklin (MIC<sub>90</sub> ≤0,125 µg/ml), florfenikol (MIC<sub>90</sub> 2 µg/ml) és enrofloxacin (MIC<sub>90</sub> 0,625 µg/ml) esetében. Makrolidok és linkomicin esetén bimodális MIC érték eloszlást tapasztaltunk (tulatromicin, tilmikozin, tilozin, linkomicin MIC<sub>90</sub> >64 µg/ml, tilvalozin MIC<sub>90</sub> 5 µg/ml), melyeket a MAMA vizsgálat eredményei is megerősítettek.

Vizsgálataink során megállapított bimodális (csökkent vagy magas) érzékenység makrolidokkal és linkomicinnel szemben felhívja a figyelmet a terápiára szánt antibiotikumok érzékenységi vizsgálatokon alapuló megválasztásának fontosságára. Ennek gyors és költséghatékony módja lehet a MAMA vizsgálat alkalmazása, melynek megbízhatóságát a jelen vizsgálat is alátámasztja.

A kutatást az MTA/ELKH Lendület, az NKFIH FK17 (124019) és a KKP19 (129751) és az ELKH SA-27/2021 pályázatai, az ITM Új Nemzeti Kiválóság Programja (ÚNKP-21-3) és Kooperatív Doktori Programja (KDP-2020), valamint a Huvepharma NV támogatták.

**MYCOPLASMA HYORHINIS TÖRZSEK FEHÉRJE MINTÁZATAINAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA**

Földi Dorottya<sup>1\*</sup>, Kreizinger Zsuzsa<sup>1</sup>, Kollár Anna<sup>2</sup>, Tenk Miklós<sup>2</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

A *Mycoplasma hyorhinis* világszerte elterjedt fakultatív patogén baktérium, mely nagy gazdasági károkat okoz a sertéstartóknak. A *M. hyorhinis* fertőző képességében szerepet játszó fehérjékről, a különböző klinikai izolátumok fehérje mintázatainak különbségeiről kevés információ áll rendelkezésre.

Célunk volt különböző évekből, szervekből és területekről származó *M. hyorhinis* klinikai izolátumok és a típus törzs (NCTC 10130) fehérje mintázatainak összehasonlítása.

A vizsgálatokba összesen kilenc, hazai, Lengyelországból és Olaszországból származó izolátumot válogattunk be, melyek mind klinikai tüneteket mutató állatok mintáiból származtak. Ezek között két olyan izolátum is volt, amelyek real-time PCR vizsgálat alapján nem tartalmazzák az adherenciáért felelős *p37* gént. A mintákat az antigén kinyeréshez felszaporítottuk, majd detergens jelenlétében feltártuk. Ezután a fehérjéket SDS poliakrilamid gélelektroforézis (PAGE) segítségével választottuk el és Coomassie festéssel tettük láthatóvá. A következő lépésben a PAGE során elválasztott fehérjéket nitrocellulóz membránra blottoltuk és *M. hyorhinis* ellen nyúlban termelt hiperimmun savó felhasználásával mutattuk ki az immunreaktív fehérjéket. Végül a kapott fehérje mintázatokat összehasonlítottuk.

Sikeresen beállítottunk egy *M. hyorhinis* izolátumok vizsgálatára alkalmas SDS-PAGE és Western Blot protokollt. A vizsgált minták között lényeges eltérést azokban az esetekben tapasztaltunk, ahol a gének szintjén is eltéréseket voltak az izolátumok között.

A *M. hyorhinis* törzsek fehérje mintázatainak vizsgálatával fontos információt gyűjthetünk a baktériumról, megismerhetünk specifikus fehérjéket, melyeket további vizsgálatok, vagy módszerek (pl. ELISA) fejlesztése során használhatunk fel.

A kutatást az MTA/ELKH Lendület, az NKFIH FK17 (124019) és a KKP19 (129751) pályázatai, valamint az ITM Új Nemzeti Kiválóság Programja (ÚNKP-21-3) és Kooperatív Doktori Programja (KDP-2020) támogatták.

## MYCOPLASMA HYORHINIS FERTŐZÉSI MODELL KIALAKÍTÁSA NÉGY HETES MALACOKBAN

Földi Dorottya<sup>1\*</sup>, Nagy Eszter Zsófia<sup>1</sup>, Beleczi Nikolett<sup>1</sup>, Szeredi Levente<sup>2</sup>, Földi József<sup>3</sup>, Kreizinger Zsuzsa<sup>1</sup>, Gróznér Dénes<sup>1</sup>, Bekő Katinka<sup>1</sup>, Kovács Áron Botond<sup>1</sup>, Hrivnák Veronika<sup>1</sup>, Kollár Anna<sup>2</sup>, Tenk Miklós<sup>2</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

A *Mycoplasma hyorhinis* fertőzés következtében a malacok elmaradnak a növekedésben, emellett megfigyelhető a savóshártyák és az ízületek gyulladása. Európában jelenleg nincs kereskedelmi forgalomban elérhető specifikus oltóanyag a betegség megelőzésére.

Egy olyan fertőzési modellt kidolgozását tűztük ki célul négy hetes malacokban, amely segítségével a megbetegedésre jellemző savóshártya- és ízületgyulladás egyaránt kiváltható.

A malacok *M. hyorhinis* mentességéről a kísérlet kezdetén vett orrtampon mintákból qPCR segítségével győződünk meg. A malacokat három csoportba osztottuk, majd 32 napos életkorban két egymást követő napon intravénásan (A csoport, 6 állat, 10 ml), intravénásan (10 ml) és intraperitoneálisan (B csoport, 6 állat, 20 ml) fertőztük táplevesben felszaporított, 10<sup>6</sup> színváltó egység/ml töménységű, virulens *M. hyorhinis*-t tartalmazó fertőző anyaggal. A C csoport (2-2 állat) kontrollként nem kapott ráfertőzést. A malacokat 28 napig minden nap megfigyeltük, a jelentkező elváltozásokat feljegyeztük, valamint a testhőmérsékletüket is mértük. Hetente kétszer orrtampon mintát vettünk, és a malacok súlygyarapodását is követtük. A kísérlet végén az állatokat részletes kórbonctani vizsgálatnak vetettük alá, és mintát gyűjtöttünk a *M. hyorhinis* jelenlétének kimutatásához qPCR, tenyésztés és kórszöveti vizsgálatokra. A boncolás során gyűjtött mintákból bakteriológiai tenyésztést is végeztünk.

A kísérlet során jelentős különbséget tapasztaltunk a negatív kontroll és a fertőzött csoportok súlygyarapodása között. A kontroll csoport átlagos súlygyarapodása 11,7 kg volt, míg az A csoport 7,4 kg-ot, a B csoport pedig 5,7 kg-ot hízott. Az ízületi elváltozások kialakulásának idejében és súlyosságában, valamint az érintett állatok számában a kétféle ráfertőzési módszer szintén számottevő, következetes különbségeket mutatott. A B csoport esetében hamarabb, már a fertőzés utáni 6. napon megjelentek a fertőzésre utaló ízületi duzzanatok, amelyek súlyosabbak voltak, mint az A csoportban tapasztaltak és minden állatot érintettek. Az A csoportban enyhébb ízületi duzzanatokat tapasztaltunk, amelyeket először a 14. napon figyeltünk meg és csak az állatok fele volt érintett. A klinikai tünetek súlyossága összefüggést mutatott a makroszkópos elváltozásokkal.

A ráfertőzési kísérletben a használt törzs kórokozóképességét laboratóriumi körülmények között bizonyítottuk. A jelen kísérletben kialakított *M. hyorhinis* fertőzési modell, robosztus alkalmazhatósága esetén, a későbbiekben vakcinajelölt készítmények hatékonysági vizsgálatát teheti lehetővé.

A kutatást az MTA/ELKH Lendület, az NKFIH FK17 (124019) és KKP19 (129751) pályázatai, valamint az ITM Új Nemzeti Kiválóság Programja (ÚNKP-21-3) és Kooperatív Doktori Programja (KDP-2020) támogatták.

## MYCOPLASMA ANSERISALPINGITIDIS MA271 VAKCINAJELÖLT TÖRZS ÁRTALMATLANSÁGÁNAK, HORIZONTÁLIS TERJEDÉSÉNEK ÉS KOLONIZÁCIÓS KÉPESSÉGÉNEK VIZSGÁLATA

Gróznér Dénes<sup>1</sup>, Mitter Alexa<sup>1</sup>, Nagy Zsófia Eszter<sup>1</sup>, Bekő Katinka<sup>1</sup>, Kreizinger Zsuzsa<sup>1</sup>, Buni Dominika<sup>1</sup>, Kovács Áron Botond<sup>1</sup>, Udvari Lilla<sup>1</sup>, Beleczi Nikolett<sup>1</sup>, Költő Karola<sup>1</sup>, Wehmann Enikő<sup>1</sup>, Czifra György<sup>1</sup>, Thuma Ákos<sup>2</sup>, Gyuris Éva<sup>2</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1\*</sup>

Kutatócsoportunk az elmúlt évek során kémiai mutagenézissel létrehozta az MA271-es élő, attenuált, hőérzékeny *M. anserisalpingitidis* vakcina jelölt klónt, mely állatházi körülmények között 90%-os hatékonysággal kolonizálta az állatok kloákáját és magas humorális immunválaszt váltott ki.

Vizsgálatunk célja volt, hogy felmérjük az MA271 ártalmatlanságát, horizontális terjedő képességét állatházi körülmények között és kolonizációs tulajdonságát nagyüzemben.

Az állatházi kísérlet során 8-8 négy hetes *M. anserisalpingitidis*-től mentes madarat vakcináztunk  $10^7$  és  $10^8$  CCU MA271 klónnal 50  $\mu$ l-t szembe cseppentve, 1000  $\mu$ l-t kloákába oltva. Hét nap elteltével 6-6 öt hetes madarat helyeztünk a vakcinázott madarak mellé. Az állatokból a vakcinázást követő 3. napon, majd 7. napon, majd öt héten át hetente vettünk légsző, kloaka tampon és vérmintákat PCR és ELISA vizsgálat céljából. A fertőzéstől számított hatodik hét végén a madarak részletes kórbonctani, kórszövettani és laboratóriumi diagnosztikai vizsgálatra kerültek. A nagyüzemi vizsgálat során *M. anserisalpingitidis*-től mentes, négy hetes, egy 9000 és egy 8000 egyedű számláló liba állományok vakcinázására került sor  $10^7$  CCU dózissal a fent leírt módon kloákába és szembe cseppentve. Az immunizálást követő 7. majd 14. napon, majd két hetente vettünk kloaka, légsző tampon és vérmintákat DIVA PCR és ELISA vizsgálatok céljára. Hat hónap elteltével a libákat emlékeztető oltásban részesítettük, melyet követően a fent leírt módon gyűjtöttünk mintákat laboratóriumi vizsgálatra.

Az állatházi vizsgálat során a libák mycoplasmosisra utaló klinikai tüneteket nem mutattak. Az immunizálást követő 3. napon a kloákában 75%-os, 7. napra 100% kolonizáció alakult ki, mely stabilan fennmaradt a kísérlet végéig. A légszőben a 2. hétre alakult ki a 100%-os kolonizáció. A kontakt madarakban 1 hét alatt kialakult 100%-os kolonizáció a kloákában és 83%-os a légszőben. A kórboncolás során a légzsákokon fibrinpleyek voltak megfigyelhetőek, de a légzsákokból (egy eset kivételével) és egyéb szervekből a *M. anserisalpingitidis* nem volt kimutatható. A nagyüzemi kísérlet során a vakcinázást követő héten a madarak kloákájában 50%-os kolonizációt detektáltunk, mely a hatodik hétre 75%-ra emelkedett, majd a nyolcadik hétre 25%-ra csökkent és stabilizálódott. Az ismétlődő oltást követő negyedik hétre a kolonizáció a kloákában 100%-ra emelkedett. A légszőből a vakcina törzs csak az ismétlődő oltás után volt kimutatható.

Az MA271 ártalmatlannak tűnik, horizontálisan jól terjed és kolonizációs dinamikája jelentősen eltér az állatok zárt és szabad tartása esetén.

A kutatást az MTA/ELKH Lenület és az NKFIH KKP19 (129751) pályázatai támogatták.



## ATIPIKUS *MYCOPLASMA ANSERISALPINGITIDIS* TÖRZSEK GENETIKAI JELLEMZÉSE

Kovács Áron Botond<sup>1\*</sup>, Wehmann Enikő<sup>1</sup>, Bekő Katinka<sup>1</sup>, Grózner Dénes<sup>1</sup>, Bali Krisztina<sup>1</sup>, Bányai Krisztián<sup>1</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

A *Mycoplasma anserisalpingitidis* egy vízibaromfi fajokat, elsősorban ludakat fertőző baktérium. A kórokozó főként szaporodásbiológiai problémákat idéz elő, ezáltal komoly gazdasági károkat okozhat a libatelepeken. Kereskedelmi forgalomban kapható vakcina jelenleg nem áll rendelkezésre, így védekezésésként csupán az aktív fertőzések során alkalmazott antibiotikummal történő gyógykezelésre van lehetőség. A baktérium genetikailag igen változékony, melyben a *Mycoplasma* fajokra jellemző magas mutációs ráta, illetve a horizontális, más néven laterális géntranszfer játszik szerepet.

A vizsgálat célja a *M. anserisalpingitidis* törzsgyűjteményünkben megtalálható izolátumok, valamint az azoktól előzetes vizsgálatok alapján jelentős genetikai különbséget mutató öt törzs genomjának összehasonlító vizsgálata volt.

Mivel a *M. anserisalpingitidis* és *M. anatis* közeli rokon fajok és nagy a laterális géntranszfer esélye, ezért a vizsgálat során 103 *M. anserisalpingitidis* mellett 16 *M. anatis* törzs teljes genomját is megvizsgáltuk. A genomokat a SPAdes szoftverrel illesztettük össze. Az így kapott draft genomok között vizsgáltuk a genom szintű átlagos nukleotid azonosságot (ANI), az átlagos aminosav azonosságot (AAI), továbbá a fajmeghatározásban elengedhetetlen 16S-ITS-23S rRNS gén, valamint több háztartási gén szekvenciáinak hasonlóságát.

Az öt törzs (MYCAV61, MYCAV93, MYCAV783, MYCAV785 és MYCAV903) jelentős genetikai eltérést mutatott a törzsgyűjtemény többi tagjától. Az ANI vizsgálat eredménye alapján mind az öt törzs kevesebb, mint 94% hasonlóságot mutatott a többi törzssel, ez alatta marad az azonos fajhoz tartozás általánosan elfogadott küszöbértékének (95%). Emellett az AAI vizsgálat alapján az aminosav szekvenciák is kevesebb, mint 95%-ban egyeztek a többivel, továbbá a 16S-ITS-23S rRNS gén vizsgálatból származó filogenetikai fa alapján is eltérést tapasztaltunk. Mindemellett a törzsek több háztartási gén szekvenciáját tekintve is eltértek a törzsgyűjtemény többi tagjától. Bár a törzsek jelentős genetikai különbséget mutatnak a többi törzstől, az esetleges új alfajként történő leíráshoz a későbbiekben elengedhetetlen a fenotípusos tulajdonságok meghatározása is.

A pontos rendszertani besorolás nemcsak elméleti, tudományos szempontból fontos, hanem gyakorlati szerepe is jelentős. Fontos feltérképezni az eltérő variánsokat, potenciális alfajokat, hiszen ezek zavaró tényezőként jelenhetnek meg a járványtani vizsgálatok, diagnosztikai módszerek alkalmazása során.

A kutatást az MTA/ELKH Lendület és az NKFIH KKP19 (129751) pályázatai, valamint az ITM Kooperatív Doktori Programja (KDP-2020) támogatták.

## MYCOPLASMA SYNOVIAE FERTŐZÉSI MODELL KIDOLGOZÁSA HÁZITYÚKBAN

Kreizinger Zsuzsa<sup>1\*</sup>, Gyuris Éva<sup>2</sup>, Buni Dominika<sup>1</sup>, Makrai László<sup>3</sup>, Költő Karola<sup>1</sup>, Belecz Nikolett<sup>1</sup>, Nagy Eszter Zsófia<sup>1</sup>, Gróznér Dénes<sup>1</sup>, Gyuranecz Miklós<sup>1</sup>

A *Mycoplasma synoviae* fertőzés elleni védekezésben használt vakcina törzsek hatékonyságának vizsgálatához, illetve a diagnosztikai tesztek megbízhatóságának ellenőrzéséhez elengedhetetlenek a kontrollált környezetben végzett fertőzési kísérletek.

A vizsgálatunk célja volt, hogy azonosítsunk egy olyan *M. synoviae* törzset és kidolgozzunk egy olyan fertőzési modellt, melyben a *M. synoviae* önállóan, társfertőzés nélkül is képes elváltozásokat kiváltani.

Az első fertőzési kísérlethez specifikus-patogén mentes tojótyúkokat használtunk, melyeket három csoportra osztottunk: negatív kontroll madarak és két, különböző genotípusba tartozó *M. synoviae* törzssel fertőzött. A kísérlet során kétszeri fertőzést követő mintavételezést végeztünk két illetve három héten keresztül. A madarakat szemcseppentés és inhaláltatás útján fertőztük. Hajlamosító tényezőként az első fertőzés alkalmával egy gyengített fertőző bronchitis vírus (IBV H120) vakcinatörzssel is oltottuk az állatokat. A légsőből és kloákából vett tampon minták polimeráz láncreakció (PCR) és tenyésztéses vizsgálataival ellenőriztük a kórokozó kolonizációs képességét és szisztémás elterjedtségét. A szerológiai vizsgálatokhoz ELISA tesztet használtunk. A kórbonctani és kórszövettani vizsgálatok során elsősorban a légzőszervi elváltozásokat vizsgáltuk, meghatároztuk a légső különböző szakaszain a nyálkahártya vastagságát, és pontoztuk az elváltozások súlyosságát a légzsákokban. Az első kísérlet során markánsabb elváltozásokat okozó *M. synoviae* törzs fertőző képességét IBV vakcinatörzs jelenléte nélkül is vizsgáltuk a fent leírt módszerekkel egy második fertőzési kísérlet során.

A kísérletekben meghatároztuk két, különböző genotípusba tartozó *M. synoviae* törzs fertőző képességét molekuláris biológiai, szerológiai, hagyományos mikrobiológiai, kórbonctani és kórszövettani módszerekkel. A madarak a fertőzést követő második hétre szerológiaiilag áthangelódtak, és súlyosabb elváltozásokat mutattak, mint a harmadik héten. Az összehasonlításban patogénebbnek bizonyult *M. synoviae* törzssel fertőzött madarakban a légső különböző szakaszain mért átlagos nyálkahártyavastagság 2,8 - 3,3 x vastagabb (152,6 – 168,5  $\mu\text{m}$ ) volt a negatív kontroll madarakéhoz képest, a légzsákok elváltozásainak átlagos összpontszáma pedig duplája volt, mint a negatív madarakban. A patogénebb *M. synoviae* törzs önálló fertőzésben is kifejezett elváltozásokat eredményezett, melyek súlyosabbnak bizonyultak azoknál az elváltozásoknál, melyeket a kevésbé patogén *M. synoviae* törzs IBV vakcina jelenlétében váltott ki.

A vizsgálatok során sikeresen azonosítottunk egy *M. synoviae* izolátumot, ami az általunk kidolgozott fertőzési modellben önállóan is alkalmas a kórokozóra jellemző elváltozások kiváltására. A modellt így vakcina hatékonysági és regisztrációs kísérletekben lehet alkalmazni.

A kutatást az MTA/ELKH Lendület, és az NKFIH FK17 (124019) és KKP19 (129751) pályázatai támogatták.

## SALMONELLA INFANTIS ÉS COHABITÁNS ESCHERICHIA COLI TÖRZSEK MOBILIS REZISZTOM ÉS VIRULOM ANALÍZISE

Rapcsák Fanni<sup>1\*</sup>, Haleluya Wami<sup>2</sup>, Ulrich Dobrindt<sup>2</sup>, Szmolka Ama<sup>1</sup>

**Bevezetés:** A világszerte elterjedt multirezisztens (MDR) *S. Infantis* és *E. coli* törzsek a baromfi-hús élelmiszerbiztonsági kockázatát is növelik. A salmonellosissal kapcsolt multirezisztencia globális elterjedését meghatározó konjugatív plazmidok közül egyesek a rezisztenciához társultan virulencia géneket is közvetíthetnek, miáltal fokozódhat a törzsek genom diverzitása elősegítve bizonyos sikeres MDR *Salmonella* klónok/szerovarovok előretörését.

**Célunk** volt a broiler eredetű *S. Infantis* és cohabitáns (társult) *E. coli* törzsek genomdiverzitásának feltérképezése, a mobilis rezisztomok és -virulomok komparatív analízise.

**Anyag és módszerek:** Korábbi munkánk folytatásaként, az előző évi beszámolóinkban jelzett cohabitáns gyűjteményünk 15 vakbél mintáját reprezentáló MDR *S. Infantis* (n=17) és *E. coli* (n=57) törzs *in silico* genom analízisét végeztük el. Ehhez a ResFinder (rezisztencia gén), PlasmidFinder (plazmid típus), VirulenceFinder (virulencia gén), MGE (gén-plazmid asszociáció) és MLST (szekvencia típus) webes platformokat használtuk.

**Eredmények:** Az MLST analízis az *E. coli* törzseket 32 különböző szekvencia típusba (ST) sorolta, melyek közül leggyakrabban az ST10, ST1011 fordultak elő. A *S. Infantis* törzsek mindegyike a szerovarra jellemző ST32 szekvencia típusba tartozott.

A mobilis rezisztom analízis szerint az *E. coli* törzsekre a rezisztencia gének nagyfokú diverzitása volt jellemző, közülük leggyakrabban az ampicillin-tetraciklin fenotípust meghatározó *bla*<sub>TEM-1</sub> és *tet*(A) géneket, az 1-es típusú integronokban pedig az *aadA1*, *dfrA*, és *sulI* génkaszettakat azonosítottuk. Ezen rezisztencia gének az *E. coli* törzsekkel cohabitáns *S. Infantis* törzsekben a pSI54/04 multirezisztencia megaplazmidhoz köthetők. Az általunk vizsgált törzsekben a rezisztencia géneket fajtól függetlenül elsősorban IncI és IncX plazmidokon mutattuk ki.

A mobilis virulom analízis szerint az *E. coli* törzsekben leggyakrabban az *iss* (increased serum survival) és a *terC* (tellurium resistance protein) virulencia géneket és IncF plazmidokat azonosítottuk. Valamennyi *E. coli* plazmid típusra (IncF, IncI, IncX, B/O/K/Z) jellemző volt a rezisztencia és virulencia gének együttes hordozása. A *fyuA* és *irp2* sziderofor géneket viszont szinte kizárólag IncI plazmidokon mutattuk ki a vizsgált *E. coli* törzsekben. A fenti rezisztencia génekhez hasonlóan ezen virulencia gének is megtalálhatóak a korábban jellemzett pSI54/04 *S. Infantis* plazmid (IncI) szerkezetében.

**Következtetés.** Jelen genomanalízis eredményei arra utalnak, hogy egyes IncI és IncX plazmidoknak a rezisztencia és virulencia tulajdonságok vonatkozásában egyaránt szerepe lehet a cohabitáns *S. Infantis* és *E. coli* törzsek potenciális kölcsönhatása során.

**Köszönetnyilvánítás.** Jelen kutatást az NKFI K 128600 (K 140349) projekt támogatta.

MAGYARORSZÁGON IZOLÁLT SZARVASMARHA- ÉS HUMÁN EREDETŰ SHIGA TOXIKUS ÉS ENTEROPATOGÉN *ESCHERICHIA COLI* TÖRZSEK GENOMI VÁLTOZATOSSÁGA, VIRULENCIAGÉN- ÉS PROFÁGKÉSZLETESváb Domonkos<sup>1\*</sup>, Linda Falgenhauer<sup>2,3</sup>, Mag Tünde<sup>4</sup>, Trinad Chakraborty<sup>3,5</sup>, Tóth István<sup>1</sup>

Az Shiga toxikus (STEC) és enteropatogén (EPEC) *Escherichia coli* törzsek súlyos megbetegedést okozni képes zoonotikus, élelmiszer-közvetítette kórokozók, melyek egyik fő rezervoárja a szarvasmarha. Nagy genetikai változatosságuk a genomjukban előforduló számos mobilis genetikai elemnek (MGE) köszönhető. Az ellenük való védekezéshez e változatosság monitorozása és a kialakításában részt vevő mechanizmusok pontos megismerése elengedhetetlen. Célunk volt hazai szarvasmarha állományokból izolált STEC és EPEC törzsek teljes genom szekvenciájának meghatározása, filogenetikai vizsgálata és összehasonlító elemzése ugyanezen patotípusokat képviselő humán törzsekkel, különös tekintettel a virulencia-génkészletre és MGE-kre. Az izolált bovin törzsek közül 4 STEC, 7 EHEC, 1 EPEC és 5 kommenzalista (*stx*-, *eae*-) törzsnek, valamint összehasonlító jelleggel 3 humán EPEC és 2 EHEC törzs, továbbá 2-2 korábban izolált bovin EHEC és EPEC törzs teljes genomját határoztuk meg draft szintig. A szekvencia-meghatározás Illumina NextSeq rendszerrel, a szekvenciák összeállítása Spades 3.13.0 programmal történt. A szekvencia-elemzést, *in silico* szerotípus meghatározást és összehasonlításokat a VirulenceFinder, ResFinder, SerotypeFinder 2.0, PHASTER és BLAST programokkal, a filogenetikai elemzést az Interactive Tree of Life v5, HarvestSuite és Mega-X programokkal végeztük.

A kulcs virulenciagéneken (*stx*, *eae*) kívül a törzsek számos additív virulenciagént hordoztak, minden törzs esetében egyedi, bár az egy állattartó telepről származó törzsek esetében hasonló génkészlettel. A Shiga toxint kódoló *stx* géneket hordozó profágok (Stx-profágok) genomi integrációs helyei a törzsek származási helyével szintén korreláltak, a leggyakoribb esetben az Stx1 profág a *yehV*, az Stx2 profág a *wrbA* gén helyére épült be. A LEE patogenitási sziget a bovin EHEC törzsekben jellemzően a *selC*, míg a humán törzsek esetében a *pheV*, az EPEC törzsek esetében a *pheU* gén helyére integrálódott. Számos EPEC és LEE-negatív STEC törzs esetében a tipikus Stx profág vagy LEE integrációs helyek egy részébe alternatív profág inzertek épültek be, a törzsek átlagosan 9 komplett profág-szakaszt hordoztak. A törzsek core genom alapú filogenetikai elemzése a humán és bovin eredetű törzsek kevert elhelyezkedését mutatta a világszerte izolált STEC és EPEC törzsek közt.

Több korábbi munka is a bovin EPEC törzseket az EHEC törzsek lehetséges közvetlen őseinek tartja; az általunk vizsgált törzsek esetében a részben intakt Stx profág integrációs helyek és a hasonló additív virulencia génkészlet szintén ezt valószínűsíti. A kommenzalista törzsek üres integrációs helyei is lehetséges recipiens mivoltukat mutatják. A profág-szekvenciák nagy száma aláhúzza szerepüket e törzsek evolúciójában, a bovin és humán törzsek virulencia-génkészletek hasonlósága, valamint filogenetikai pozícióik átfedése pedig a bovin törzsek zoonotikus potenciálját mutatja.