

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA
ÁTE ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK
(2019. JANUÁR 21-24.)

BAKTERIOLÓGIA
VIROLÓGIA

2018. évi 45. füzet

ELŐSZÓ

Kedves Kolleganők és Kollegák!

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és az Állatorvostudományi Egyetem Állatorvostudományi Doktori Iskolája 2019. január 21-24. között tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló **Akadémiai Beszámolók** ülésorozatot, amelyre idén 45. alkalommal kerül sor az Állatorvostudományi Egyetemen.

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

Az előadások összefoglalóit – szekciófüzetekbe csoportosítva – elektronikus úton adjuk közre. A beszámoló füzetek anyaga az MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet honlapján (http://aoti.agrar.mta.hu/mta_beszamolok) megtalálható.

Az előadások és azt követő megvitatás időtartama legfeljebb 10 + 5 perc. Kérjük, hogy a megadott időtartamot senki ne lépje túl. Az előző évek gyakorlatának megfelelően, nem az előadások számára, hanem azok szakmai-tudományos értékére helyezzük a súlyt. Aki azonos témán belül jelentett be 2 vagy több előadást, kérjük, próbálja meg ezeket összevonni.

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

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

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

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

Kívánunk mindenkinek eredményes és hasznos tanácskozást.

Gálfi Péter
MTA ÁTB elnöke

Sótonyi Péter
Rektor, TDK elnök

Vörös Károly
ÁODI elnöke

Magyar Tibor
MTA ÁTB titkára

MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és az ÁTE Állatorvostudományi DI akadémiai beszámolóinak programja és szekcióbizottságai
(2019. január 21-24.)

A szekció megnevezése	A szekcióülés ideje	A szekcióülés helye	Társelnökök	Titkár	Bizottsági tagok
Élettan és biokémia Patológia Gyógyszertan és toxikológia Morfológia	I. 21. hétfő 8.30-	Tolnay Sándor előadóterem	Bartha Tibor Frenyó V. László Csikó György Sótonyi Péter	Jerzsele Ákos Mátis Gábor	Halasy Katalin, Kutas Ferenc Rácz Bence Neogrády Zsuzsanna Zsarnovszky Attila
Élelmiszer-higiéniá Állategészségügyi Igazgatás	I. 21. hétfő 8.30-	Zlamál Vilmos előadóterem	Laczay Péter Ózsvári László	Darnay Lívია	Józwiak Ákos Kovács Sándor Lehel József, Szita Géza
Állathigiéniá Állattenyésztés Genetika Takarmányozástán	I. 21. hétfő 14.00-	Tormay Béla előadóterem	Könyves László Szabó József	Bersényi András	Brydl Endre, Cseh Sándor Fekete Sándor, Gáspárdy András Jakab László Rafai Pál, Zöldág László
Viroológia Immunológia	I. 22. kedd 8.30-	Tolnay Sándor előadóterem	Harrach Balázs Hornnyák Ákos	Kaján Győző	Benkő Mária, Dán Ádám, Pálfi Vilmos, Péntes Zoltán, Rusvai Miklós, Soós Tibor
Bakteriológia	12:00-		Fodor László Magyar Tibor	Kreizinger Zsuzsa	Hajtós István, Bernáth Sándor Gyuranecz Miklós Makrai László, Nagy Béla, Tenk Miklós, Tóth István
Parazitológia Állattan Halkórtán	I. 23. szerda 8.30-	Tolnay Sándor előadóterem	Baska Ferenc Farkas Róbert	Eszterbauer Edit Hornung Erzsébet Sréter Tamás	Békési László, Csaba György Hornok Sándor, Kassai Tibor Molnár Kálmán Majoros Gábor, Varga István
Klinikumok	I. 24. csütörtök 8.30-	Tolnay Sándor előadóterem	Bodó Gábor Cseh Sándor Németh Tibor Vörös Károly	Bakos Zoltán Becker Zsolt Szelényi Zoltán	Biksi Imre Gál János, Gaál Tibor Szenci Ottó, Vajdovich Péter

TARTALOMJEGYZÉK

Viroológia (8.30-tól)

1. MAREK JÓZSEF HATÁSA A VIROLÓGIÁRA
Drén Csaba, Drén Éva
2. MAGYARORSZÁGI AFRIKAI SERTÉSPESTIS VÍRUS (ASPV) SZEKVENCIÁJÁNAK GENETIKAI ELEMZÉSE
Olasz Ferenc, Mészáros István, Bálint Ádám, Locsmáncsi Gabriella, Bányai Krisztián, Marton Szilvia, Zádori Zoltán
3. ÚJ ADENO-ASSZOCIÁLT VÍRUSOK AZONOSÍTÁSA SERTÉSEKBŐL GÉNTERÁPIÁS ALKALMAZÁSOKHOZ
Tamás Vivien, Mészáros István, Bálint Ádám, Szűcs Gábor, Zádori Zoltán
4. MAGYARORSZÁGRÓL SZÁRMAZÓ TELJES SERTÉS LÉGZÉSI ÉS REPRODUKTÍV SZINDRÓMA VÍRUS (PRRSV) SZEKVENCIÁK GENETIKAI ELEMZÉSE
Olasz Ferenc, Mészáros István, Bálint Ádám, Bányai Krisztián, Marton Szilvia, Zádori Zoltán
5. HÁZIKACSA (*ANAS PLATYRHYNCHOS DOMESTICA*) EREDETŰ SEJTVONAL LÉTREHOZÁSA ÉS FOGÉKONYSÁGÁNAK VIZSGÁLATA INFLUENZA A ÉS B VÍRUSRA
Mészáros István, Olasz Ferenc, Bálint Ádám, Erdélyi Károly, Zádori Zoltán
6. A SCHMALLEMBERG VÍRUS SZEREPE A HÁZI KÉRŐDZŐK VETÉLÉSEIBEN
Szeredi Levente, Dán Ádám, Malik Péter, Hornyák Ákos, Jánosi Szilárd
7. ÚJ JUH-ADENOVÍRUS IZOLÁLÁSA ÉS TELJES GENOM MEGHATÁROZÁSA
Hornyák Ákos, Szeredi Levente, Doszpoly Andor, Vidovszky Márton, Harrach Balázs
8. BOVIN ADENOVÍRUS 10 ELŐFORDULÁSÁNAK ELSŐ SZEKVENCIA SZINTŰ IGAZOLÁSA EURÓPA KONTINENTÁLIS RÉSZÉN
Vidovszky Márton, Böszörményi Kinga, Surján András, Rónai Zsuzsanna, Dán Ádám, Harrach Balázs
9. ÚJ HAL-HERPESZVÍRUS ELSŐ KIMUTATÁSA LESŐHARCSÁBAN (*SILURUS GLANIS*)
Tarján Zoltán László, Eszterbauer Edit, Benkő Mária
10. DENEVÉREK POLIÓMAVÍRUSAINAK ELSŐ KIMUTATÁSA EURÓPÁBAN
Surján András, Vidovszky Márton
11. MEMBRÁN-GLÜKOPROTEINEK FELTÉTELEZETT SZEREPE KÜLÖNBÖZŐ GENOCSOPORTÚ FERLAVÍRUSOK ELTÉRŐ PATOGENITÁSÁBAN
Papp Tibor, Gellért Ákos, Maha D. Abbas, Michael Pees, Volker Schmidt, Annkatrin Neul, J. Matthias Starck, Rachel E. Marschang

12. MACSKA RETROVÍRUSOK MAGYARORSZÁGI PREVALENCIÁJA
Szilasi Anna, Dénes Lilla, Balka Gyula, Kristin Heenemann
13. VÁLTOZÁSOK A VÍRUSOK RENDSZERTANÁBAN
Harrach Balázs, Kaján Győző

Bakteriológia (12.00-tól)

1. KÉT ÚJ, AEPEC TÖRZS ELLEN *IN VITRO* HATÉKONY BAKTERIOFÁG JELLEMZÉSE
Adorján András, Könyves László, Tóth István
2. 15 ÉV TEHÉNTEJ EREDETŰ METICILLIN-REZISZTENS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* TÖRZSEINEK VIZSGÁLATA – ELŐZETES EREDMÉNYEK
Albert Ervin, Noszály Zsófia, Jánosi Szilárd, Kovács Péter, Kenéz Árpád, Biksi Imre
3. ANTIBIOTIKUM REZISZTENCIA MARKEREK AZONOSÍTÁSA *MYCOPLASMA SYNOVIAE* TÖRZSEKBEN
Bekő Katinka, Kreizinger Zsuzsa, Hrivnák Veronika, Robin Achari, Christopher J. Morrow, Gyuranecz Miklós
4. PERIFÉRIÁS MONONUKLEÁRIS SEJTEK CITOKIN TERMELEÉSÉNEK VÁLTOZÁSA *M. HYOPNEUMONIAE* FERTŐZÉST KÖVETŐEN VAKCINÁZOTT ÉS NEM VAKCINÁZOTT SERTÉSEKBEN
Felde Orsolya, Kiss István, Kreizinger Zsuzsa, Felföldi Balázs, Palya Vilmos, Gyuranecz Miklós
5. A NATRIUM-HIPOKLORIT SPOROCID HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA A HÁZIMÉH (*APIS MELLIFERA*) NYÚLÓS KÖLTÉSROTHADÁSÁNAK KÓRÓKOZÓJÁRA
Földi Dorottya, Fodor László, Tóth Gergely, Makrai László
6. HAZAI JUH- ÉS KECSKEÁLLOMÁNYOKBÓL SZÁRMAZÓ VÉRMENTÁK *LEPTOSPIRA*-SZEROLÓGIAI VIZSGÁLATÁNAK EREDMÉNYEI (2013-2018)
Hajtós István, Zsigáné Lami Erzsébet, Dénes Béla
7. NEW APPROACH IN THE TREATMENT OF BACTERIAL DISEASES IN THE AQUACULTURE
Mohamed Shaalan, Boglárka Selleyi, Csaba Székely
8. A C130_2 BAKTERIOFÁG EGY ÚJ GENOTÍPUSÚ, ENTEROBAKTERIÁLIS KÓRÓKOZÓKAT FERTŐZŐ MYOVIRUS
Sváb Domonkos, Linda Falgenhauer, Manfred Rohde, Trinad Chakraborty, Tóth István
9. *BIBERSTEINIA TREHALOSI* OKOZTA HEVENY SZISZTÉMÁS PASTEURELLOSIS ÉS A HAJLAMOSÍTÓ IDŐJÁRÁSI TÉNYEZŐK
Tóth Gergely, Korvin László, Kecskemétiné Turcsányi Ibolya, Makrai László, Fodor László

10. KISKÉRŐDZŐK LÉGZŐSZERVI MEGBETEGEDÉSEINEK LABORATÓRIUMI DIAGNOSZTIKAI VIZSGÁLATA
Tóth Gergely, Bakcsa Erika, Jánosi Szilárd², Szeleczky Zsófia², Sulyok Kinga Mária³, Gyuranecz Miklós³, Makrai László¹, Fodor László¹
11. DIAGNOSZTIKAI ÉS BOKONTROL POTENCIÁLLAL RENDELKEZŐ ÚJ RV5 FÁGOK JELLEMZÉSE
Tóth István, Sváb Domonkos, Linda Falgenhauer, Manfred Rohde, Trinad Chakraborty
12. NÖVÉNYI SZERVESANYAG-DEKOMPÓZÍCIÓS MÓDSZEREK FUNKCIONÁLIS ÉS MIKROBIÁLIS ÖSSZEHASZNÁLÁSA
Tóth Zsolt, Seres Anikó, Táncsics András, Kriszt Balázs, Hornung Erzsébet

MAREK JÓZSEF HATÁSA A VIROLÓGIÁRA

Drén Csaba, Drén Éva

Marek József 150 éve született szegény földműves családban (1868. Vágszerdahely, ma Horna Streda, Szlovákia). Iskolai tanulmányait kitűnő eredménnyel végezte beleértve a Magyar Királyi Állatorvosi tanintézetben folytatottakat is, ahol 1892. november 5-én megkapta állatorvosi oklevelét. Hamarosan klinikai segédtanárrá nevezték ki és szakmai fejlődése érdekében a berni egyetemre küldték (1897-98), ahol a filozófiai fakultás rendes hallgatójaként bölcsészdoktori oklevelet szerzett (1898). 1898 szeptemberétől Hutyrá Ferenc mellett dolgozott, majd 1901-től nyilvános rendes tanárként vezette a belorvostani tanszéket és belklinikai intézetet 1935-ig. Klinikai megfigyeléseit, kutatási eredményeit önállóan, vagy társszerzőkkel írt folyóiratokban (154) és több nyelvre lefordított, többszöri kiadást megért állatorvosi szakkönyvekben közölte, amelyek világhírűvé tették már életében. Oktatói és tudományos munkásságát mind a hazai (Magyar Tudományos Akadémiai tagság: 1918, 1938) mind a nemzetközi tudományos közösség számos formában elismerte.

Ma leggyakrabban hivatkozott cikke egy, szakmai pályafutása korai szakaszában (1907) a szárnyasok ideggyulladását és annak részletes kórszövettanát leíró cikke (Polyneuritis kakasokban, Állatorvosi Lapok, 1907. XXX. 26. 315-18; Multiple Nervenentzündung (Polyneuritis) bei Hühneren, Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, 1907. 30. 417-421). A betegséget tiszteletére ma is Marek-betegségnek (MB, Marek's diseases, MD), a kórokozót Marek-betegség vírusának (MBV, MDV, *Mardivirus*, GaHV2) hívják, amelyik az *Alphaherpesvirus*ok alcsaládjába tartozik és számos különleges tulajdonsággal (onkogén) rendelkezik. Minden házityúk fogékony a fertőzés iránt, a klinikai betegség kialakulását azonban számos tényező befolyásolja (a vírus patogenitása, a fertőződés kora, az állat genetikai adottsága, immunkompetenciája). Az MTA Állatorvos-tudományi Kutató Intézetében több MBV-t izoláltak (vakcinaként alkalmas változatokat is). Elkülönítő kórjelzésre alkalmas immunhisztokémiai módszert dolgoztak ki. Az MB ellen kifejlesztett nem „sterilizáló” vakcinák (a betegség kialakulása ellen védenek, a fertőzéssel szemben nem) csak járványvédelmi intézkedésekkel és ellenállóbb fajták kitenyésztésével csökkentik az MBV okozta gazdasági veszteségeket. Paradox módon, a hatékony védekezés ellenére, egyre virulensebb MBV változatok alakulnak ki, ami a védekezés további javítását igényli. Ebből fontos következtetést kell, illetve lehet levonni a fertőző betegségek elleni védekezés további tökéletesítésére.

MAGYARORSZÁGI AFRIKAI SERTÉSPESTIS VÍRUS (ASPV) SZEKVENCIÁJÁNAK GENETIKAI ELEMZÉSE

Olasz Ferenc^{1*}, Mészáros István¹, Bálint Ádám², Locsmándi Gabriella², Bányai Krisztián¹, Marton Szilvia¹, Zádori Zoltán¹

Az afrikai sertéspestis (ASP) az egyik legmagasabb elhullási aránnyal járó sertésbetegség: a magas virulenciájú törzsek közel 100%-os halálozási rátával rendelkeznek. Az ASP-t először Kenyában írták le 1921-ben, az első európai esetet Portugáliában regisztrálták 1957-ben. Az afrikai sertéspestis vírus (ASPV) 2007-ban jelent meg a kelet-európai térségben, először Grúziában, majd onnét Oroszországon keresztül terjedt Közép-Európa felé; Magyarországon először 2018-ban azonosították elhullott vaddisznókból. Az ASPV az Asfarviridae családon belüli Asfivirus nemzetség egyetlen tagja, nagyméretű, burkos vírus, átlagos átmérője 200 nm. A genomja egy duplaszálú, lineáris, 190 kilobázis hosszúságú DNS. Ismereteink szerint több mint 200 fehérje kódoló szakaszt (open reading frame (ORF)) tartalmaz. Az ASPV-t szerotípusokba és genotípusokba sorolhatjuk. A szerotípust főleg két gén határozza meg, az EP153R és az EP402R, a genotípusos besorolás a B646L gén szekvenciája alapján történik. A genom variábilis régióiban található multigene family (MGF) gének szerepet játszanak a patogenitás és a virulencia kialakításában.

Célunk egy hazánkban izolált ASPV törzs teljes genomjának szekvenálása és genetikai jellemzése volt.

A szerv dörzsöléket 1 ml-nyi sertés alveoláris makrofágokat (PAM) tartalmazó RPMI-1640 tápoldatba inkubáltuk, majd a felülúszóból három nap múlva DNáz-os és RNáz-os kezeléssel eltávolítottuk a sertés genomból származó nukleinsavakat. Ezt követően Roche High Pure Viral Nucleic Acid kittel kitisztítottuk a virális DNS-t. Ennek mennyiségét a mintában aspecifikus DNS amplifikációval (REPLI-g Mini Kit) növeltük, majd a szekvenálást Ion Torrent PGM platformon végeztük. A kapott szekvenciák illesztése a Geneious szoftverrel történt.

Az ASPV-t sikeresen izoláltuk, majd szekvenáltuk egy elhullott vaddisznó szövetmintájából. A kapott szekvenciát (ASFV_HU_2018) összevetettük a GenBankban elérhető összes, teljes ASPV nukleotid szekvenciával. A szekvenált izolátum a 2-es genotípusba tartozik, és 99% egyezést mutat a Grúziából, Észtországból és Lengyelországból származó törzsekkel (Georgia 2007/1, ASFV/POL/2015/Podlaskie, Estonia 2014). Az ASFV_HU_2018 EP153R, EP402R és B646L génjeiben nem található mutáció a Georgia 2007/1 szekvenciájához képest. A filogenetikai elemzésekre használt A238L és KP177R gén szekvenciái is teljesen megegyeznek az első kelet-európai izolátumával (Georgia 2007/1). Viszont a változékony MGF géncsaládban számos eltérés azonosítható. Egy deléció található a MGF 360-1L génben és egy frameshift a MGF 360-16R génben. Ezek a változások nincsenek jelen Georgia 2007/1-ben, de pontosan megegyeznek a 2015-ben izolált lengyelországi törzsben (ASFV/POL/2015/Podlaskie) megjelent mutációkkal.

Megállapítottuk, hogy az ASFV_HU_2018 közeli rokona a Grúziában azonosított ASPV-nek (Georgia 2007/1). A vírus konzervatív génjeiben nem található változás, a mutációk többsége a változékony MGF génekben azonosítható. Ezen genetikai jellegek alapján az ASFV_HU_2018 a GenBank-ben elhelyezett ASPV izolátumok szekvenciái közül a lengyelországi ASFV/POL/2015/Podlaskie-val mutatja a legszorosabb rokonságot.

ÚJ ADENO-ASSZOCIÁLT VÍRUSOK AZONOSÍTÁSA SERTÉSEKBŐL GÉNTERÁPIÁS ALKALMAZÁSOKHOZ

Tamás Vivien^{1,2*}, Mészáros István¹, Bálint Ádám³, Szücs Gábor⁴, Zádori Zoltán¹

A génterápiában leggyakrabban használt virális vektorok közé tartoznak az adeno-asszociált vírusok (AAV), azonban génterápiában való alkalmazásukat megnehezíti, hogy embereknél a populáció nagy része már rendelkezik humán AAV elleni ellenanyagokkal. A sertésekben található AAV-k viszonylag jól képesek a emberi retina sejteket transzdukálni, és a humán populációkban ellenük általában nem találhatóak ellenanyagok. Az AAV-k egyik jellemző tulajdonsága, hogy ún. helper vírusok (adeno- vagy herpeszvírusok) nélkül nem tudnak replikálódni *in vitro*. Jelenleg nincsenek megbízható adataink arról, hogy az AAV-k kizárólag helper vírusok jelenlétében tudnának szaporodni *in vivo*, ezért az AAV-k életciklusának jobb megértéséhez további kutatások szükségesek.

Célunk egyrészt AAV és helper vírusai kapcsoltságának vizsgálata házi sertés és vaddisznó populációk vérmintáiban, másrészt pedig ezekből a vizsgálatokból kiindulva olyan új sertés AAV (poAAV) változatok kiszűrése, amelyek génterápiás vektorként alkalmasak lehetnek retinális örökletes betegségek kezelésére.

Az AAV, továbbá az adeno- és herpeszvírusok előfordulásának vizsgálatára PCR reakciót használtunk. Az adeno- és herpeszvírusok kimutatását két körös diagnosztikai PCR-rel végeztük a szakirodalom alapján, az AAV-k detektálására pedig saját tervezésű primereket használunk. A vizsgálati anyagot sertés és vaddisznó savómintákból kivont DNS minták szolgáltatták. Az új génterápiás vírusvektorokhoz szükséges plazmid létrehozásához az új változatok diagnosztikai PCR-el történő azonosítása után először átfedő darabokban amplifikáltuk a mintákból a teljes VP1 szekvenciákat, majd az egyesített (joining PCR) VP1 szakaszokat AVV2 alapú plazmidokba klónoztuk.

Összesen 312 vaddisznó és 192 házi sertés mintán végeztünk diagnosztikai vizsgálatot AAV-ra. A vizsgált vaddisznó minták között 28 bizonyult pozitívnak helper vírusra. Az AAV és helper-vírusai előfordulásának összefüggését csak a vaddisznó mintákban tudtuk statisztikailag vizsgálni, mivel a házi sertés minták között mindössze 1 AAV pozitívat találtunk, míg a vaddisznó minták között 7-et. A statisztikai analízis (Fisher-egzakt teszt, Barnard-próba) szoros összefüggést mutatott ki a helper vírusok és az AAV-k virémiás előfordulása között. Hat újonnan azonosított AAV változathoz sikerült szekvenciát kinyerni. Eddig háromból sikerült génterápiás vektorhoz szükséges rekombináns plazmid konstrukciókat előállítani. Az új AAV változatok transzdukciós hatékonyságát jelenleg egerek retináján vizsgálja a nápolyi egyetemen dr. Auricchio csoportja.

Diagnosztikai vizsgálataink alapján kijelenthető, hogy vaddisznóban a helper vírusokkal fertőzött állatok között nagyobb valószínűséggel találunk AAV pozitív egyedeket. Megállapítottuk, hogy a vaddisznók kiváló forrásként szolgálhatnak új AAV változatok azonosítására, amelyekből várakozásaink szerint hatékony génterápiás vektorok készíthetünk.

MAGYARORSZÁGRÓL SZÁRMAZÓ TELJES SERTÉS LÉGZÉSI ÉS REPRODUKTÍV SZINDRÓMA VÍRUS (PRRSV) SZEKVENCIÁK GENETIKAI ELEMZÉSE

Olasz Ferenc¹, Mészáros István¹, Bálint Ádám², Bányai Krisztián¹, Marton Szilvia¹, Zádori Zoltán¹

Magyarországon 1995-ben jelent meg a sertések reprodukciós zavarokkal és légzőszervi tünetekkel járó szindrómájának vírusa (PRRSV). A 2000-es évek közepére a PRRS fertőzöttség mértéke elérte a nagylétszámú állományokban a 20–25%-ot, és egy genetikailag és virulenciáját tekintve is rendkívül változatos PRRSV populáció alakult ki hazánkban. A komoly gazdasági károk következtében 2014-ben a Nemzeti PRRS Mentésítési Program keretében megkezdődött a sertésállományok szervezett mentesítése a betegségtől.

Diagnosztikai célból ország különböző megyéiben található sertéstartó telepekről vérsavó mintákat kaptunk, hogy megállapítsuk a PRRSV fertőzöttség mértékét és a pozitív mintákból vírust izoláljunk.

A vérsavó mintákból QIAamp cadore Pathogen Mini Kittelal vontuk ki a nukleinsavat, majd a PRRSV fertőzöttségüket OneStep RT-PCR kittel, diag_F (GAATGGCCAGCCAGTCAATC) és diag_R (TCGCCCTAATTGAATAGGTGACT) primerpárral határoztuk meg. A filogenetikai elemzéshez szükséges ORF5 gént ORF5EU-uniF (CAATGAGGTGGGCYACAACC) és ORF5EU-uni_R2 (GGGCAGGGGCCAGAATGTAT) primerpárral sokszorosítottuk, majd szekvenáltattuk. A vérsavó felülúszókból 100 µl-t sertés alveoláris makrofágokat (PAM) tartalmazó 1 ml RPMI tápoldatban inkubáltunk, majd 3 nap elteltével ebből a QIAamp Viral RNA Mini Kittelal kivontuk a virális RNS-t, amelyet DNS-sé random primerek segítségével Superscript III enzimmel írtuk át. Az új generációs szekvenálás 316-os szekvenáló chipen Ion Torrent PGM platformon történt. A szekvenciák illesztését a Geneious szoftverrel végeztük. Filogenetikai elemzésekhez Mega6 szoftvert alkalmaztunk. A rekombinációs események felderítése céljából, az izolátumainkat egymáshoz és a két legközelebbi ismert rokonukhoz hasonlítottuk SimPlot elemzéssel.

2016-ban 72 sertéstartó telepről származó mintát teszteltünk, ebből 46 bizonyult PRRS vírussal pozitívnak. Összesen 60 darab pozitív mintából sikerült részleges ORF5 szekvenciát kinyerni. A szekvencia adatok fényében kiválasztottuk azokat a vérsavó mintákat, amelyekben található PRRSV-k egymástól eltértek. Öt izolált vírussal határoztuk meg a teljes nukleotid szekvenciáját. Az ORF5 szekvenciák alapján felállított filogenetikai törzsfan két törzset (HU19401, HU19483) a 3D kládba, másik kettőt (HU18755, HU18861) a 3F-be és a HU24924 az 1G-be soroltuk. A Genbankban található legközelebbi rokon vírus törzsnak a Lelystad bizonyult. Az izolátumaink közül a legnagyobb nukleotid egyezést a Lelystad vírussal a HU19401 mutatta (88,1%) a legnagyobb különbséget a HU18755, az egyezés mértéke csak a 84,7% volt. Megállapítottuk, hogy az HU18755 és a HU18861 rekombináns vírus, és valószínűsíthető, hogy a HU19401 is hordoz egy rekombináns fragmentet.

Magyarországon genetikailag változatos PRRSV törzsek fordulnak elő, amelyek egy része szekvencia szinten akár 14%-kal is eltérhet az eddig ismert teljes szekvenciáktól. A nagy számban talált rekombinánsok jelenlétének egyik magyarázata az lehet, hogy a magyar sertéstelepek egy részében különböző forrásokból többféle törzs is jelen van. Ezt az elméletet az is erősíti, hogy 11 olyan gazdaságot találtunk a 46-ból, amelyekben két egymástól eltérő törzset is észleltünk ORF5 szekvenciák alapján.

A munkát az NKFI K-119381 pályázat támogatta.

HÁZIKACSA (*ANAS PLATYRHYNCHOS DOMESTICA*) EREDETŰ SEJTVONAL LÉTREHOZÁSA ÉS FOGÉKONYSÁGÁNAK VIZSGÁLATA INFLUENZA A ÉS B VÍRUSRA

Mészáros István^{1*}, Olasz Ferenc¹, Bálint Ádám², Erdélyi Károly², Zádori Zoltán¹

Az influenza A vírus szegmentált, egyszálú RNS genommal rendelkező, burkos vírus. A felszíni glikoproteinek antigenitása alapján 18 hemagglutinin és 9 neuroaminidáz szubtípusa különíthető el, melyek szinte az összes lehetséges variációban előfordulhatnak. A szubtípusok az antigenitás mellett patogenitásukban is különbözhetnek, azonban közös tulajdonságuk, hogy mind fenntarthatók házityúk embrionált tojásban. Az embrionált tojások hátránya, hogy bizonyos mezei izolátumok alacsony hatékonysággal replikálódnak bennünk, így kimutatásuk is nehézkes. További probléma, hogy sorozat passzálás esetén a vírus adaptálódik a tojáshoz: a folyamat során mutációk keletkeznek a hemagglutinin génjében, megváltoztatva a fehérje glikolizációs mintázatát, antigenitását. A fenti okok miatt az influenza A vírus fenntartásához számos immortalizált sejtvonalat használnak. Közülük a Vero-t mind a vírusizolálásnál, mind a vakcina gyártásban széleskörűen használják, habár számos hátránnyal is rendelkezik (pl. lassú virális ciklusidő, alacsony titer).

Célunk volt egy új, házikacsa eredetű sejtvonal létrehozása virológiai vizsgálatokhoz, valamint fogékonyságának vizsgálata influenza A és B vírusra.

Házikacsa embriókból eltávolítottuk az ováriumokat, a sejteket tripszines emésztéssel elválasztottuk egymástól, majd tápfolyadékban tenyésztettük. A konfluens tenyészeteket 3 naponta passzáltuk. Madáreredetű H1N1, H3N8, H5N1, H5N2, H5N9, H7N1 és H10N4-es szubtípusok véghígításával, immunofluoreszcens festéssel meghatároztuk az izolátumok titerét az általunk létrehozott DuO240 és Vero sejteken. Az eredményekből következtettünk a sejtvonalak érzékenységére. Két humán influenza A vírus vakcina törzssel (MS01/17 NYMC X-275 (H1N1) és MS-03/18 IVR-186 (H3N2)), valamint egy influenza B vírus vakcina törzssel (MS-05/18 NYMC BX-69A) végzett fertőzés után a fertőzés 72. órájában hemagglutinációs teszttel meghatároztuk a termelődött vírusok mennyiségét (HA titer). A házikacsa eredetű sejteket sikeresen immortalizáltuk: jelenleg a 90. passzázst tartjuk fenn belőle (2018.12.06.-i adat).

A madár eredetű mezei izolátumokkal végzett fertőzések során a DuO240 sejtvonal az összes vizsgált szubtípussal fertőzhetőnek bizonyult. Minden izolátumból magasabb véghígításban detektáltunk vírust a DuO240-en mint a Vero sejteken. A különbség, szubtípustól függően egy és három nagyságrend között változott. A vakcina törzsekkel végzett kísérletek során az X-275 és az IVR-186-os törzsekkel 32, illetve 16-os HA titert értünk el, míg a BX-69A törzssel 128-aa HA titert. A DuO240-es sejtvonal alkalmasnak bizonyult az összes általunk vizsgált madáreredetű influenza törzs izolálására. A véghígítási vizsgálatok alapján az összes izolátumra érzékenyebbnek bizonyult, mint a Vero sejtvonal. Ez a nagyfokú érzékenység alkalmassá teheti a vírus diagnosztikai használatát a gyakorlatban. Ugyanakkor további vizsgálatok szükségesek a termelődött vírusok mennyiségének meghatározására.

A HA titerek alapján a DuO240-es sejtvonalon, viszonylag nagy titerben szaporítható a három általunk vizsgált humán influenza vakcina törzs, ami arra utal, hogy további fejlesztések után a sejtvonal alkalmas lehet a vakcinagyártásban alkalmazott embrionált tojások kiváltására.

A SCHMALLEMBERG VÍRUS SZEREPE A HÁZI KÉRŐDZŐK VETÉLÉSEIBEN

Szeredi Levente*, Dán Ádám, Malik Péter, Hornyák Ákos, Jánosi Szilárd

2011-ben egy új megbetegedés jelent meg Európában, amely tehenekben lázat, hasmenést és tejcsökkenést okozott. A betegséget egy az orthobunya vírusok közé sorolt új vírus, a Schmallenberg vírus (SBV) idézte elő. A későbbiekben a fertőzés vemhes tehenekben és juhokban vetélést és torzfejlődést okozott. A vírus igen gyorsan elterjedt egész Európában. Hazánkban ez első SBV okozta vetélést 2012-ben mutatták ki.

A kutatás során azt vizsgálták, hogy a budapesti ÁDI-ba 2011 és 2017 között küldött szarvasmarha-, juh- és kecske-vetéléseknél milyen szerepet játszott az SBV fertőzés.

Az intézet archívumából összesen 537 esetet választottak ki (387 szarvasmarha, 112 juh és 38 kecske). Ezekben az esetekben részletes kórbonctani, kórszövettani, immunhisztokémiai és PCR vizsgálatra került sor a hazánkban potenciálisan előforduló vetélést okozó kórokozók valamint az SBV kimutatása céljából.

Fertőző eredetű vetélést találtak összesen 160 (30 %) esetben, míg nem fertőző eredetű vetélést 11 (2 %) esetben állapítottak meg. A vetélési ok 366 (68 %) esetben nem vált ismertté. Az eredmények a táblázatban részletezve láthatóak.

Vetélési ok (%)	szarvasmarha	juh	kecske
Baktérium okozta vetélés (negatív baktériumizolálás mellett)	10 (11)	1 (2)	0
<i>Chlamydiaeae</i>	0	33 (57)	4 (31)
<i>Coxiella burnetii</i>	1 (1)	0	0
<i>Escherichia coli</i>	2 (2)	0	0
<i>Leptospira</i> spp.	2 (2)	0	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	2 (2)	0	0
<i>Salmonella</i> spp.	2 (2)	0	0
<i>Streptococcus uberis</i>	1 (1)	0	0
<i>Trueperella pyogenes</i>	10 (11)	0	0
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	0	1 (2)	0
Gomba	4 (5)	0	0
<i>Neospora caninum</i>	6 (7)	0	0
BVDV	4 (5)	0	0
SBV	3 (4)	1 (2)	0
Fertőzésre gyanút keltő	42 (47)	22 (37)	9 (69)
Összesen	89 (100)	58 (100)	13 (100)

A házi kérődzők természetes eredetű vetéléseinél az SBV csak sporadikusan mutatható ki hazánkban. A 160 fertőző eredetű vetélés közül csupán 4 (2,5 %) esetben igazolták az SBV jelenlétét, amely messze mögötte marad a baktériumok okozta vetélések előfordulási gyakoriságának (69 eset, 43 %). Az SBV fertőzésből eredő gazdasági kártételben a vetélés okozta kár csak alárendelt szerepet játszik.

ÚJ JUH-ADENOVÍRUS IZOLÁLÁSA ÉS TELJES GENOM MEGHATÁROZÁSA

Hornyák Ákos^{1*}, Szeredi Levente¹, Doszpoly Andor², Vidovszky Márton², Harrach Balázs²

Egy 2017-ben az ÁDI-ba küldött szopós kosbárány hullában baktériumos fertőzéssel szövődött, vírusos fertőzésre jellemző súlyos fokú tüdőgyulladást állapítottunk meg. A rutinszerűen alkalmazott PCR módszerekkel, valamint a szekunder borjú here sejttenyészetben elvégzett vírusizolálási kísérlettel nem tudtuk megerősíteni az immun-hisztokémia (IHC) által jelzett adenovírus jelenlétét a tüdőből. Végül speciális DNA-polimeráz és IVa2 géneket célzó primerekkel, valamint OA3 juh here sejtvonalon sikerült kimutatni egy eddig le nem írt, új juh-adenovírust és így megerősíteni az IHC adenovírus pozitív eredményt. A részleges polimeráz és IVa2 gén szekvenciák nem utaltak ismert, közeli rokon adenovírusra.

A szövettényészetben elszaporított juh-AdV-ből kivont DNS szekvenálását Illumina új-generációs (next generation sequencing – NGS) szekvenáló platformon végezték. A szekvenciák összeillesztését CLC Genomics Workbench programmal végeztük, ami két nagyobb kontigot (összefüggő genom-szekvencia részlet) eredményezett. Az adatok bioinformatikai elemzése (homológia keresés) során egy kisebb folytonossági hiányt azonosítottunk a genomszekvencián az 55K gén elhelyezkedésének helyén. Ezt a szakaszt specifikus primerek tervezésével PCR-rel hidaltuk át, majd „primer séta” módszerrel szekvenáltuk. A genomvégek (ITR-ek) pontos meghatározása szintén specifikus, a nyert szekvenciák alapján tervezett primerekkel történt.

Az így meghatározott AdV genomja 36.206 nt hosszúnak bizonyult és tipikus mastadenovírus genomszerveződést mutatott, tartalmazva a mastadenovírus specifikus IX-es és V-ös géneket is. Az ITR 93 nt hosszú. A genom 70% GC arányú, ami meglepően magas százalék. Az általában igen változatos E4 régióban 4 ORF-et találtunk, melyek homológiát mutatnak a bovin adenovírus 3 (BAdV-3) hasonló elhelyezkedésű ORF-jeivel. A szintén nem konzervatív E3 régióban hiányzik a 12,5K gén, ami a legtöbb mastadenovírusban megtalálható, míg a nem mindig jelenlévő U exon azonosítható volt. Az E3 régió csupán egy ORF-et tartalmaz. Ez a méret nem jellemző a többi juh- és szarvasmarha-AdV-ra. Ilyen rövid E3 régiót eddig csak rágsáló- és denevér-AdV-okban tapasztaltunk. Az új juh-AdV hexon szekvenciája meglehetősen hasonlít a juh-AdV-6 hexonjára, mely vírusból csak ez az egyetlen gén ismert. Ugyanakkor, a teljes hexon kb. 95%-os azonossága miatt (míg az antigenitásért elsősorban felelős loop 1 szakasz már csak 81% azonosságot mutat) ez az új izolátum feltehetően új szerotípus is (OAdV-8), bár valószínűleg ugyanabba (a még meg nem alapított) fajba lehet majd besorolni (Ovine mastadenovirus C). Új juh-adenovírust 1983 óta nem izoláltak, sőt nem írtak le PCR kimutatással sem.

Kutatásainkhoz az NKFIH NN128309 sz. pályázata nyújt anyagi támogatást.

BOVIN ADENOVÍRUS 10 ELŐFORDULÁSÁNAK ELSŐ SZEKVENCIA SZINTŰ IGAZOLÁSA EURÓPA KONTINENTÁLIS RÉSZÉN

Vidovszky Márton^{1*}, Böszörményi Kinga¹, Surján András¹, Rónai Zsuzsanna², Dán Ádám², Harrach Balázs¹

Az elmúlt két évben Magyarország nyugati régiójában található szarvasmarhatelepeken a 4-6 hónapos borjak szórványos elhullásával járó, krónikus betegség előfordulását tapasztalták. A megbetegedések vezető klinikai tünete az erős, ritkán véres hasmenés volt. Az elhúzódó eseteknél további tünetek, fogyás, gyengeség és levertség is észlelhető volt. Az érintett állatok közül néhány rövid időn belül elhullott, míg a túlélők zöme felépült, de egyes egyedek senyvesse váltak. A kezelő állatorvos külön kérésére adenovírusok (AdV) esetleges jelenlétére is szűrtük a vizsgálatra érkezett mintákat.

Három elhullott borjú szövetmintája, valamint egy hasmenéses, legyengült egyed bélsármintája PCR-rel AdV pozitívnak bizonyult. A pozitív minták különböző telepekről származtak. A PCR termékek nukleotid-sorrendjét először közvetlenül, majd molekuláris klónozást követően is meghatároztuk. A nukleotid (nt) szekvenciák elemzése az összes esetben bovin adenovírus (BAdV) egy vagy több típusának jelenlétét igazolta. Három állatban a BAdV-10-ével azonos szekvenciát kaptunk. Ezek közül két mintában a BAdV-10 mellett egyidejűleg a BAdV-6 is jelen volt. A negyedik esetben egy eddig csak az Egyesült Államokban (Wisconsinban), szarvasmarhatelepek PCR-es szűrése során kimutatott és leírt AdV szekvenciával (BAdV-Wa) azonos szekvenciát kaptunk. A további, azonos körülmények között elhullott állatok mintáinak szűrése (4db) negatív eredménnyel zárult.

A BAdV-6 előfordulását hazai kérődzőkben már korábban megfigyelték. Ezzel szemben ez a BAdV-10 és BAdV-Wa legelső magyarországi kimutatása. A BAdV-10 prototípus törzsét borjak elhullásával járó enterális megbetegedés kapcsán izolálták Új-Zélandon. Pár évtizeddel később sporadikusan jelentkező, fibrines-véres hasmenés következtében elhullott hízó bikákból további BAdV-10 törzseket izoláltak Észak-Írországban. A BAdV-10 specifikus kimutatására kidolgozott *in situ* DNS-hibridizálási eljárással nagyszabású szűrést hajtottak végre különböző országokból, borjú hasmenéses esetekből származó, archivált szövettani anyagon. E felmérő vizsgálat során kanadai és holland eredetű, paraffinba ágyazott bélminták is pozitívnak bizonyultak BAdV-10-re. Legújabb PCR-rel is kimutatták a BAdV-10 jelenlétét az USA-ban, majd ismét Új-Zélandon.

Jelen vizsgálatunk képviseli az első, valós időben, nt szekvenciával is alátámasztott BAdV-10 kimutatást Magyarországon, és egyben a kontinentális Európában is. A vírusok szövettenyészetben való izolálására tett kísérleteink nem jártak sikerrel. Az új BAdV típus (BAdV-Wa) további genomrészeinek szekvenálását és filogenetikai elemzését tervezzük a jövőben. A kimutatott BAdV-oknak a hasmenéses megbetegedésekben játszott esetleges oktani szerepének tisztázásához további vizsgálatok szükségesek, mivel jelenlétüket az esetek egy jelentős hányadában nem lehetett igazolni.

Kutatásaink anyagi feltételeit az NKFIH NN128309 sz. pályázat támogatásával biztosította.

ÚJ HAL-HERPESZVÍRUS ELSŐ KIMUTATÁSA LESŐHARCSÁBAN (*SILURUS GLANIS*)

Tarján Zoltán László*, Eszterbauer Edit, Benkő Mária

A lesőharcsa (*Silurus glanis*) himlőszerű, proliferatív bőrelváltozásának makroszkópos, fény- és elektronmikroszkópos megfigyeléseken alapuló, első leírása magyar kutatók nevéhez fűződik (Békési és mtsai, 1981), akik feltételezték, hogy a kóroktanban herpeszvírusok játszhatnak szerepet. Ezt azonban vizsgálataink előtt molekuláris adatokkal még sehol nem erősítették meg. Munkánk célja a nemrégiben hazánkban újra felbukkant betegség herpeszvírusos eredetének tisztázása volt.

Az elmúlt néhány évben, egy hazai tógazdaságban a két-, illetve háromnyaras harcsák őszi lehalászásakor a testszerte jellegzetes bőrelváltozásokat mutató egyedeket kiselejtezték, és virológiai vizsgálat céljára átadták kutatócsoportunknak. Az elváltozott bőrszövetből vett mintákban PCR segítségével kíséreltük meg herpeszvírus jelenlétének kimutatását. Három általános (konszenzus primerekkel működő) PCR-t alkalmaztunk, melyeket a halak és kétélűek herpeszvírusainak besorolására létesített *Alloherpesviridae* család tagjainak egy-egy megőrzött génjére tervezték. A keletkezett DNS-fragmentumok nukleotid-sorrendjét közvetlenül, majd molekuláris klónozás után is meghatároztuk. Az újonnan nyert szekvenciák alapján újabb PCR-ekhez oligonukleotid primereket terveztünk további genomszakaszok kinyerése, illetve szekvenálás céljából. A szekvenciák alapján bioinformatikai módszerekkel filogenetikai elemzéseket végeztünk.

Makroszkópos vizsgálattal a halak testén változó mértékben kiterjedt, helyenként térképszerűen összefolyó, göbös, proliferatív bőrelváltozások voltak láthatók. A felszínből kiemelkedő, világosszürke, kerek, esetenként hámszínyos illetve vérzéseket is tartalmazó képleteket a bőrrel nem lehetett leválasztani. A belső szervekben nem volt elváltozás. Szöveti vizsgálattal az érintett hámszövet hyperplasiáját lehetett megfigyelni. A hal-herpeszvírusok általános kimutatására alkalmas PCR két gén esetében is pozitív eredményt adott, sőt egy harmadik génből véletlenszerűen sikerült kinyernünk egy szakaszt. A homológia-kereső program az *Alloherpesviridae* család *Cyprinivirus* nemzetségének tagjaiban leírt vírusokkal jelzett legközelebbi rokonságot. Egy hosszabb (15 kb) genomrészletet is sikeresen felerősítettünk a feltételezésünk szerint közelebbi két génszakasz között. Ennek szekvenálása jelenleg még folyamatban van. A szekvenciák elemzése egy eddig ismeretlen alloherpeszvírus jelenlétére utalt. A kódolt fehérjék aminosav sorrendje alapján készített törzsfa-rekonstrukciók azt mutatják, hogy az újonnan talált vírus egy új vírusfaj képviselője, amely legközelebbi rokonságban az angolna és a ponty herpeszvírusaival áll. További adatok szükségesek annak eldöntéséhez, hogy a harcsa-herpeszvírus a *Cyprinivirus* nemzetségbe, vagy egy ahhoz közeli, elkülönülő kládba sorolható-e.

Két év különbséggel vett mintákban ugyanannak a vírusnak a jelenlétét detektáltuk. Eredményeink az első molekuláris adatok a leső harcsa herpeszvírusára vonatkozóan.

A kutatásainkra benyújtott K17-124511 pályázatot az NKFIH nem támogatta.

DENEVÉREK POLIÓMAVÍRUSAINAK ELSŐ KIMUTATÁSA EURÓPÁBAN

Surján András*, Vidovszky Márton

A denevérek számos vírus és egyéb kórokozó jelentős rezervoárjai és terjesztői. Az állati és humán szempontból veszélyes vírusok mellett (például: Ebola, veszettség, SARS), sok kevésbé jelentős kórokozó hordozói is lehetnek. E tanulmány célja denevér-poliómovírusok kimutatása, diverzitásuk vizsgálata és filogenetikai viszonyaik elemzése.

A poliómovírusok (PyV) buroknélküli, cirkuláris, kettősszalú DNS vírusok. Genomjuk mérete kb. 5000 bp, amelyen általában 5-7 gént kódolnak mindkét irányban. Orvosi fontosságukat főképpen tumorindukáló képességük adja. Denevérekben eddig főleg afrikai és ázsiai fajokban vizsgálták jelenlétüket, így munkánk az első Európában is igazolt PyV jelenlét kimutatása denevérekben.

A PyV kimutatására, a vírus protein 1 (VP1) gén egy rövid (kb 250 nt) szakaszát felerősítő kettős (nested) PCR módszert alkalmaztunk. Huszonhárom denevérfaj 65 bélsár és szervmintáját vizsgáltuk a degenerált primerekkel.

Mintáink közül 10 bizonyult poliómovírusra pozitívnak (15,4%). Ezek mindegyike simaorrú denevér (*Vespertilionidae*) minta volt. Hat denevér-fajból hét új, ideiglenes PyV típusba sorolható poliómovírus-szekvenciát mutattunk ki. Európában elsőként igazoltuk poliómovírusok jelenlétét denevérekben. A poliómovírusok nagy diverzitást mutatnak. A VP1 génszakaszon alapuló filogenetikai elemzésünk alapján az új poliómovírusok leginkább a többi denevér-poliómovírushoz hasonlítanak, de találhatók közöttük humán illetve más főemlős poliómovírusokkal közeli rokon vírusok is.

Mindezek alapján feltételezhető, hogy a poliómovírusok gyakran válhatnak gazdát denevérek és más emlősök között. A denevérek potenciális vírusrezervoár szerepük miatt nagyon érdekesnek bizonyulnak virológiai kutatások szempontjából, így célszerű az európai denevérek további vizsgálata. Az eddig kimutatott vírusok további, lehetőleg teljes genetikai elemzését tervezzük.

A kapott mintákért köszönetet mondunk dr. Boldogh Sándornak. Kutatásainkat anyagilag az NKFIH NN128309 sz. pályázata támogatta.

MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet¹

Virologia

Institut für Umwelt- und Tierhygiene, Hohenheim Universität, Stuttgart²

Klinik für Vögel und Reptilien, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig³

Department Biologie II, Ludwig Maximilians Universität, München⁴

LABOKLIN GmbH & Co., Labor für Klinische Diagnostik, Bad Kissingen⁵

*papp.tibor@agrar.mta.hu

MEMBRÁN-GLÜKOPROTEINEK FELTÉTELEZETT SZEREPE KÜLÖNBÖZŐ GENOCSOPORTÚ FERLAVÍRUSOK ELTÉRŐ PATOGENITÁSÁBAN

Papp Tibor^{1*}, Gellért Ákos¹, Maha D. Abbas², Michael Pees³, Volker Schmidt³, Annkatrin Neul³, J. Matthias Starck⁴, Rachel E. Marschang⁵

A *Ferlavirus* nemzetség tagjai a hullók paramyxovírusai (PMV). Ezek világszerte, elsősorban kígyókban előforduló, súlyos légzőszervi és idegrendszeri tünetekkel járó megbetegedést és elhullást előidéző kórokozók. Az eddig leírt izolátumokat, mások rendszerezését folytatva, korábbi közleményeinkben 4 genocsoportba soroltuk be. Az A-, B- és C-csoportok tagjai főképp kígyókból és gyíkokból, valamint kivételesen egy teknősből is kimutathatók voltak; míg az ezektől távolabbi „teknős saját PMV” csoport (T) egyetlen tagja csak teknősből ismert.

Munkánk során szeretnénk volna a kígyó–gyík csoportok tagjainak hosszabb genomrészét meghatározva, a származtatott aminosav szekvenciák alapján, fertőzésre kiválasztott vírusok membrán-glükoproteinjeinek (fúziós protein – F, hemagglutinin-neuraminidáz – HN) *in silico* modelljeit elkészíteni. Kíváncsiak voltunk, hogy találunk-e olyan a fehérjemotívumokat, melyek felelőssé tehetőek esetleges patogenitási különbségekért. Párhuzamosan egy-egy A-, B- és C-csoportbeli izolátummal ugyanis állatfertőzési kísérletet végeztek német kollégáink.

Hét kígyó és két gyík PMV izolátum 5.3 kb hosszúságú genomrészletét határoztuk meg primer-séta módszerrel. E szekvenciák alapján SDT analízissel felállítottunk egy javasolt vírusfaj- és genocsoport demarkációs kritériumot. A 3 genocsoport egy-egy kiválasztott vírusának F és HN fehérjéjéről készítettünk többféle részletes szerkezeti modellt és vetettük őket össze egymással. Az állatfertőzési kísérletek során e 3 vírust összesen 42 gabonasikló bevonásával vizsgálták. Klinikai tünetekből, kórbonctani, kórszövettani, bakterológiai és EM eredményekből állt össze a származtatott patogenitási index.

A fertőzési kísérletek egyértelmű különbségeket mutattak – kritériumunk alapján – egyazon vírusfaj három eltérő reprezentánsa között. A B-csoport tagja volt a legpatogénebb, míg az A csoportbeli izolátum a legkevésbé. E különbségekért esetlegesen felelőssé tehető eltéréseket mutatunk ki a fúziós fehérje furin-kötő motívumának környezetében, valamint a HN fehérje aktív kötő helyének a szomszédságában is. Hipotézisünk, hogy ezek a finom szerkezeti és elektrosztatikai eltérések kapcsolatba hozhatók – a sejtkötődés és membránfúzió eltérő dinamikáján keresztül – a megfigyelt patogenitási különbségekért, más nemzetségek vírusaiban már leírt jelenség. Jelen nemzetség esetében további *in vitro* kísérletek szükségesek ennek bizonyítására.

A németországi szerzők köszönetet mondanak a Deutsche Forschungsgemeinschaft által nyújtott ösztöndíjnak (PE 877/2-2), valamint P.T. a Bolyai Kutatói Ösztöndíj támogatásáért.

MACSKA RETROVÍRUSOK MAGYARORSZÁGI PREVALENCIÁJA

Szilasi Anna^{1*}, Dénes Lilla¹, Balka Gyula¹, Kristin Heenemann²

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

A korábbi adatainkat összevetve az újabb mintagyűjtési eredményekkel, összegeztük az említett két vírus magyarországi előfordulási prevalenciáját. A kóbor állatokat most is kizártuk a mintagyűjtésből. A mintavételre összesen 21 klinikát jelöltünk ki az ország egész területéről. A közreműködő praktizáló kollégák a kutatásban részt vevő tünetmentes vagy tünetekkel rendelkező házi macskákból vért vettek, helyben elvégezték a rapid immunomigráció alapuló gyorsesztesztet (WITNESS[®] FeLV-FIV, Zoetis), majd a vérmintákat és adatokat beküldték a Patológiai Tanszékre, ahol hagyományos PCR eljárásnak vetették őket alá. A FIV pozitív mintákat genetikai szekvencia-analízisre küldjük filogenetikai rendszerbe illesztésük végett, előzetes adatok már itt is rendelkezésre állnak.

A közel 400 vérminta gyorseszteszt és PCR eredményeinek statisztikai elemzése folyamatban van, amellyel megtudjuk a két vírus magyarországi prevalenciáját a tulajdonossal rendelkező házi macska populációra vonatkoztatva.

Kutatásunk fő célja, hogy feltérképezzük a FeLV és FIV elterjedtségét, és a különböző altípusok megoszlását Magyarországon, eredményeink így hasznos információt nyújtanak majd mind a kutató, mind a praktizáló állatorvosoknak.

Köszönetemet szeretném kifejezni mindazoknak, akik nélkül a kutatásom nem zajlana ilyen hatékonyan: kórszövettani szakasszisztensünknek, Pop Renátának, valamint tanszéki kollégáimnak a támogatást, Solymosi Norbertnek és Krikó Eszternek a statisztikában nyújtott segítségüket.

VÁLTOZÁSOK A VÍRUSOK RENDSZERTANÁBAN

Harrach Balázs*, Kaján Győző

2018 októberében a Nemzetközi Vírusrendszertani Bizottság (ICTV) jelentős változtatásokat fogadott el, melyek messzemenő hatással lesznek a következő években. Az eddig használt, összesen 5 taxon szint mellett (melyek közül a legmagasabb a „rend” volt), újabb 10 szintet fogadtak el. Így most a legmagasabb szint a „realm” („birodalom”) lett. Javaslat született valamennyi RNS vírus egy birodalomba („realm Riboviria”) sorolására. Ezen belül már el is fogadták a „phylum *Negarnaviricota*” törzset a negatív szálú RNS vírusok („Baltimore-féle V. csoport) számára. Kialakítottak 2 altörzset, melyeket tovább osztottak összesen 6 osztályra és 7 rendre. Hasonló javaslat még nincs a többi Baltimore-féle „víruscsoportra”. A közeljövő feladata lesz ezeknek a gyökeres változtatásoknak a minél szélesebb körben történő ismertetése és elfogadtatása. Várható továbbá a DNS vírusok osztályozásának megújítása is az új, magasabb taxon szintek bevezetésével. Az ezzel kapcsolatos, megoldandó problémák között szerepel például, hogy mely génekre alapozódhatna egy ilyen jövőbeli beosztás, mivel nem létezik minden vírusban egységesen előforduló gén, ráadásul a vírusok között rekombinációk is előfordulnak.

A vírusok nevezéktanában évek óta vitatott kérdés a többi élőlény esetén alkalmazott, Linné-féle binomiális elnevezések bevezetése. Jelenleg 4 958 hivatalos vírusfajt tartunk számon. (A valójában absztrakt „faj” nem tévesztendő össze a valós vírusokkal, izolátumokkal vagy genetikai variánsokkal, melyek száma sokkal magasabb!) A Linné-féle binomiális nevezéktan bevezetése a közel 5 ezer vírusfaj átnevezését igényelné. Szemben a jelenleg elfogadott vírus faj nevekkkel, az új rendszerben az első tag lenne a genus név. Pillanatnyilag eldöntetlen még, hogy latinositott vagy inkább angol nevek bevezetése lenne ésszerűbb, illetve a többség számára elfogadhatóbb. Napjaink vírus neveiben a két nyelv vegyesen fordul elő.

A legtöbb víruscsalád esetében vitatott kérdés, hogy milyen szabatos, objektív kritériumok felelnek meg az egyes vírusfajok egyértelmű elkülönítésére. Több nagy DNS vírushoz hasonlóan az adenovírusok esetében a DNS-polimeráz fehérje aminosav sorrendjének úgynevezett páronkénti összehasonlítása (Sequence Demarcation Tool „pairwise comparisons”) kínál jó alapot. Más víruscsaládoknál egyéb megőrzött gének bizonyultak erre alkalmasnak, illetve jelenleg is folyamatban van a demarkációs kritériumok finomítása. A megközelítés előnye, hogy bizonyos fokú automatizmust tartalmaz, konkrét és könnyen végrehajtható. Viszont a módszer hátrányának tekinthető, hogy az evolúciót felderítő hatékonysága elmarad az összes ismert (adeno)vírus összehasonlításán és gondosan kidolgozott pontozási táblázatokon alapuló filogenetikai számításokétól.

A homológia vizsgálatok alapján vírus eredetűnek imponáló nukleinsav szekvencia adatok rohamos növekedése magával hozta az igényt ezek rendszertani besorolására is. Az ICTV jelenlegi álláspontja szerint a vírusként való hivatalos elfogadás feltétele, hogy a genom-szekvenálás vagy metagenomikai vizsgálatok során kinyert vírus genom szekvenciák megfelelően komplettek legyenek ahhoz, hogy hatékony replikációjukat legalább elméleti szinten lehetségesnek tekinthessük.

Kutatásainkhoz az NKFIH NN128309 sz. pályázata nyújt anyagi támogatást.

ÁTE Állathig., Állomány-egészs. és Áo-i Etol. Tanszék¹
Bakteriológia
MTA-ATK ÁOTI, Enterális bakteriológia és alimentáris zoonózis témacsoport²
*adorjan.andras@univet.hu

KÉT ÚJ, AEPEC TÖRZS ELLEN *IN VITRO* HATÉKONY BAKTERIOFÁG JELLEMZÉSE

Adorján András^{1*}, Könyves László¹, Tóth István²

Az atípusos enteropathogén *Escherichia coli* (aEPEC) törzsek nagy gyakorisággal fordulnak elő a vágott baromfi testfelületén világszerte, így lehetőséget adva zoonózisok létrejöttére. Mindamellert ezen törzsek gyakran hasonlítanak egyes humán patogén *Escherichia coli* törzsekre valamint gyakori az antibiotikum rezisztencia jelenléte az aEPEC törzsekben.

Egy aEPEC propagálótörzs felhasználásával, lágyagaros öntéssel izoláltunk fágokat baromfi béltartalomából, amelyeket további átoltással tisztítottunk és választottunk szét egymástól. Az így nyert homogén fág szuszpenziók közötti különbségeket restriktív enzimkészítéssel és spot-assay gazda spektrum vizsgálattal térképeztük fel. Az egymástól különböző fágok nukleotid szekvenciáját NGS-sel határoztuk meg. A morfológiájukat transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálattal (TEM) határoztuk meg. Az *in vitro* növekedés gátlást, aEPEC törzsön, optikai denzitás ($\lambda = 600$ nm) érték változás alapján értékeltük. A fág törzsek PFU értékeinek változását 1 hónapig nyomonkövetve 4 °C, 20 °C, 37 °C-on, fág életképesség vizsgálatot hajtottunk végre.

A fág gyűjtés során egy baktérium szuszpenzióban spontán aktiválódott fágot (C6RΦ) és egy aEPEC törzsön izolált fág (B36Φ) bizonyult alkalmasnak további vizsgálatokra az öt fágból. A 36 saját aEPEC törzsön végzett oldási kísérlet alapján a B36Φ fág az O108, a C6RΦ fág az O14 és O45 szerocsoportú törzsekkel szemben volt hatékony. Morfológiailag a *Myoviridae* (B36Φ) és a *Syphoviridae* (C6RΦ) családba tartoznak. A két fág szekvencia adatai 83%-os (B36Φ) és 73%-os (C6RΦ) legmagasabb homológiát mutattak a már eddig leírt fágok szekvencia adataival. Egy aEPEC törzsön végzett *in vitro* növekedés gátlás során a B36Φ tartósan (6 óra) akadályozta a növekedést a kontrollok exponenciális növekedése mellett. A PFU értéke a C6RΦ esetében mindhárom hőmérsékleti értéken változatlan maradt, míg a PFU értéke a B36Φ-nak 4 °C-on nem változott ($18 \cdot 10^{16}$ PFU/ml), 20 °C-on kettő, 37 °C-on négy nagyságrenddel csökkent 1 hónapot követően.

Megállapítható, hogy két új aEPEC ellen *in vitro* hatékony fágot sikerült izolálnunk és jellemeznünk, amelyek eltérő gazdaspektrummal rendelkeznek. Ezek életképessége a madarak testhőmérsékletéhez közeli értéken is jó, lehetőségük van a hosszú idejű perzisztálásra. A fágok eredetüket tekintve olyan állományból származtak, amelyben aEPEC törzseket nem sikerült izolálnunk, így meglátásunk szerint szerepük lehet ezen törzsek *in vivo* kontroljában is

15 ÉV TEHÉNTEJ EREDETŰ METICILLIN-REZISZTENS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* TÖRZSEINEK VIZSGÁLATA – ELŐZETES EREDMÉNYEK

Albert Ervin¹, Noszály Zsófia¹, Jánosi Szilárd², Kovács Péter³, Kenéz Árpád⁴, Biksi Imre¹

Állati eredetű meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*-t (livestock associated MRSA, LA-MRSA) először 1972-ben, éppen tehéntejből izoláltak. Azóta Európa számos országából jelentették szubklinikai és klinikai fegygyulladás esetében egyaránt. Az MRSA betörhet az élelmiszerláncba, és sporadikusan kimutatható kiskereskedelmi tejtermékekből, így – genotípustól függően – kockázatot jelenthet az emberi egészségre nézve is. Az LA-MRSA hazai tejjárban való előfordulását illetően nem állnak rendelkezésre naprakész adatok.

A hazai tej eredetű MRSA genetikai variabilitásának és prevalenciájának előzetes becsléséhez retrospektív vizsgálatot, illetve passzív surveillance-t is végeztünk. A retrospektív szakaszban a budapesti Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság (ÁDI) MRSA törzsgyűjteményét vizsgáltuk az elmúlt 15 évre visszamenően. A passzív surveillance során két tejmikrobiológiai laboratórium 2017 júliusa, illetve 2018 júliusa között gyűjtött 455 egyedi SA törzset vizsgáltunk molekuláris biológiai módszerekkel. Az ÁDI törzsgyűjteményéből származó, és az újonnan izolált MRSA törzsek esetében is részletes genotipizáló (spa-tipizálás, MLST, SCCmec-tipizálás), illetve 18 hatóanyaggal antibiotikum-rezisztenciavizsgálatot végeztünk. Eredményeinket a törzsek kiegészítő adatait figyelembe véve értékeltük.

2003 és 2018 között összesen 10 tejelő szarvasmarha állományból származó 27 MRSA törzset helyeztek el az ÁDI törzsgyűjteményében. Többségük (20 törzs) az ST1-t127-IV genotípushoz tartozott. Ezen törzsek 3 állományból származtak. A többi gazdaságban egyéb, különféle genotípusokat azonosítottunk sporadikus esetekből. A 35 gazdaságból származó 455 SA izolátum szűrése során csupán 4 MRSA törzset találtunk. A 4 törzs 3 gazdaságból származott, és mindegyik az ST398-as szekvenciátípusba tartozott. Míg a tetraciklin, ciprofloxacín, klindamicin, illetve sztreptomycin rezisztencia gyakori, addig más, humánegészségügyi jelentőségű hatóanyagokkal szembeni rezisztencia ritkának számít a vizsgált törzsek esetében.

A tej eredetű MRSA jelenléte Magyarországon sporadikusnak tűnik az elmúlt 15 évben. Ezzel együtt bizonyos kis gazdaspecifitású genotípusok, mint pl. az ST1 és ST398 szintén előfordulnak. Szakirodalmi adatok alapján ezek a genotípusok képesek megtelepedni vagy akár fertőzést is okozni az emberben, foglalkozási ártalmat jelentve a tejjári dolgozók és az állatorvosok számára. A vizsgált törzsek esetében tapasztalt széles rezisztenciaprofil ismételtén felhívja a figyelmet az állattenyésztésre, mint a mikrobiális rezisztenciagének lehetséges forrására.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (a támogatási szerződés száma: AZ EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005, címe: Tudományos utánpótlás erősítése a hallgatók tudományos műhelyeinek és programjainak támogatásával, a mentorálás folyamatának kidolgozásával).

ANTIBIOTIKUM REZISZTENCIA MARKEREK AZONOSÍTÁSA *MYCOPLASMA SYNOVIAE* TÖRZSEKBEN

Bekő Katinka¹, Kreizinger Zsuzsa¹, Hrivnák Veronika¹, Robin Achari², Christopher J. Morrow^{2,3}, Gyuranecz Miklós^{1,4*}

A baromfitenyésztésben komoly gazdasági károkhoz vezethetnek a *Mycoplasma synoviae* okozta fertőzések. A világ számos részén a mycoplasmosis elleni védekezés az antibiotikum használaton alapul. A széleskörű és gyakran nem megfelelő antibiotikum használat miatt a *M. synoviae* törzseknek, valamint a gazdafajban előforduló egyéb baktériumoknak csökkenhet az érzékenysége az egyes antibiotikumokkal szemben. A rezisztencia terjedés elleni küzdelem egyik pillére az antibiotikum érzékenységi vizsgálaton alapuló célzott terápia. *Mycoplasma* fajok antibiotikum érzékenységi profiljának meghatározására jelenleg azonban csak időigényes, az izolált kórokozón elvégzett vizsgálatok segítségével lehetséges.

Vizsgáltunk célja a *M. synoviae* törzsek egyes antibiotikumokkal szembeni rezisztenciáért felelős genetikai markereinek azonosítása, melyek célpontul szolgálhatnak PCR alapú diagnosztikai módszerek fejlesztésére.

Munkánk során 72 *M. synoviae* izolátum és a típus törzs (NCTC 10124) antibiotikum érzékenységét vizsgáltuk 2 fluorokinolonnal, 3 tetraciklinnel, 2 aminoglikoziddal/aminociklitollal, 3 makroliddal, 1 linkozamiddal, 2 pleuromutilinnel, 1 fenikollal, valamint egy antibiotikum kombinációval (linkomicin-spektinomycin) szemben. A minimális gátló koncentráció (MIC) értékeket mikrolevess-hígítási módszer segítségével határoztuk meg. Az mutációk azonosításához a törzsek teljes genom szekvenálását követően a rezisztenciáért felelős gének szekvenciáit hasonlítottuk össze. Fluorokinolok esetén a DNS-giráz, illetve a topoizomeráz IV enzimeket kódoló géneket (*gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*), a bakteriális riboszóma 30S alegységét gátló antibiotikumok esetében a 16S rRNS-t kódoló *rrs3* és *rrs4* géneket, az 50S alegységhez kötődő antibiotikumoknál pedig a 23S rRNS-t kódoló *rrl3* és *rrl4* géneket vizsgáltuk.

A vizsgált szekvenciákban számos nem-szinonim mutációt azonosítottunk. Potenciálisan rezisztencia-kapcsolt pontmutációkat találtunk a *gyrA* (C25A, A566G, T1340A), *gyrB* (C1247A, G1250A), *parC* (C254T, G1354A, G1798A, C2442A), *rrs3/rrs4* (A953C, A993T, C1332T), valamint az *rrl3/rrl4* (A2058G) génekben.

Az általunk azonosított pontmutációk alkalmas célpontok lehetnek Mismatch Amplification Mutation Assay (MAMA) és High Resolution Melt (HRM) rendszerek tervezéséhez, melyek alkalmazása lehetővé tenné az antibiotikum-érzékenység gyors meghatározását, elősegítve a célzott antibiotikum terápiát.

A kutatás anyagi fedezetét Lendület (LP2012-22), a K_16 (119594) és FK_17 (124019) pályázatok biztosították. Kreizinger Zsuzsa és Gyuranecz Miklós munkáját a Bolyai János Kutatási és a Bolyai+ Ösztöndíjak támogatták.

PERIFÉRIÁS MONONUKLEÁRIS SEJTEK CITOKIN TERMELÉSÉNEK VÁLTOZÁSA *M. HYOPNEUMONIAE* FERTŐZÉST KÖVETŐEN VAKCINÁZOTT ÉS NEM VAKCINÁZOTT SERTÉSEKBEN

Felde Orsolya^{1*}, Kiss István², Kreizinger Zsuzsa¹, Felföldi Balázs², Palya Vilmos², Gyuranecz Miklós^{1,3}

A *M. hyopneumoniae* világszerte elterjedt kórokozó, amely több gazdaságilag jelentős légzőszervi kórkép kialakításában is részt vesz. A vakcinás védekezés alkalmas a *M. hyopneumoniae* fertőzés okozta tünetek kivédésére, enyhítésére, de a baktérium megtelepedését nem képes megakadályozni. A fertőzések során megfigyelhető immunválasz kialakításában fontos szerepet játszanak a citokinek, mint például a tumornekrózis-faktor (TNF α) vagy az interleukinok (IL-1 β , IL-8 és IL-10), melyek részt vesznek a gyulladásos reakciók kialakításában és az antigén prezentáló sejtek aktiválásában.

Kutatásunk célja vakcinázott és nem vakcinázott sertések perifériás mononukleáris sejtjei (PBMC) által termelt citokinek mennyiségének összehasonlítása volt *M. hyopneumoniae* fertőzést követően.

Vizsgálatunk során 30 darab, 3 hetes malacot 3 csoportra osztottunk (vakcinázott és fertőzött; csak fertőzött; nem vakcinázott és nem fertőzött). PBMC izolálás céljából vérmintát gyűjtöttünk a vakcinázás előtt, 2 héttel a vakcinázás után valamint a fertőzést követő héten. A vizsgálat 63. napján az állatokat levágtuk és pontoztuk a tüdőszöveten fellelhető elváltozásokat. Az izolált PBMC-k citokin termelését *M. hyopneumoniae* antigén hozzáadásával serkentettük, a bekövetkező változásokat pedig MagPixTM platform segítségével ProcartaPlexTM Immunoassay Kit felhasználásával vizsgáltuk.

A kezeléseket megelőző citokin értékek minden esetben szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint bármely későbbi mérés során, de nem találtunk szignifikáns különbséget a vakcinázást és a fertőzést követő vizsgálatok eredményei között. Az elváltozások mértéke szignifikánsan alacsonyabb volt a negatív kontrol csoport esetén, a citokinek szintjének változása nem mutatott összefüggést a tüdőszöveten megfigyelt elváltozások mértékével. A TNF α vizsgálata során a pozitív kontrol csoport szignifikánsan alacsonyabb értékeket mutatott a többi csoporthoz képest.

A citokinek szintjének emelkedése a vakcinázást és/vagy *M. hyopneumoniae* fertőzést követően megfelel a korábbi szakirodalmi adatoknak, a vakcinázott és nem vakcinázott csoportok közti markáns különbség hiánya, a fertőzést követő rövid vizsgálati idő valamint az alacsony mintaszám egyaránt lehet. Szakirodalmi adatok szerint a fertőzést követő citokin szint emelkedése csupán átmeneti, ami magyarázatul szolgálhat a TNF α vizsgálata során tapasztalt, fertőzést követő, szignifikánsan alacsonyabb értékekre.

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

A NATRIUM-HIPOKLORIT SPOROCID HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA A HÁZIMÉH (*APIS MELLIFERA*) NYÚLÓS KÖLTÉSROTHADÁSÁNAK KÓROKOZÓJÁRA

Földi Dorottya^{1,2}, Fodor László¹, Tóth Gergely¹, Makrai László^{1*}

A nyúlós költésrothadás a háziméh (*Apis mellifera*) legfontosabb, bejelentési kötelezettség alá tartozó bakteriális fertőző betegsége. Kórokozója a *Paenibacillus larvae* a Földön minden kontinensen előfordul. A *P. larvae* pálcá alakú, csillós, aerob endospórákat képző Gram-pozitív baktérium. Fertőző formája a nagy ellenálló képességű endospóra. A háziméh lárvák körülbelül 2 napos korig fogékonyak a betegségre. A baktérium spórák az elfogyasztott méhpempővel jutnak a lárvák közepébe, ahol kicsíráznak, a vegetatív baktériumok elszaporodnak, majd az epitéliumon átjutva a lárvá testüregében oszlanak el. Miután a lárvát elpusztítják milliárdnyi spórákat tartalmazó pörk marad hátra a lépsejtben. A nyúlós költésrothadás klinikai tüneteit mutató méhcsaládokat a kaptárral együtt jogszabályban foglalt előírások alapján el kell égetni, illetve egyes fertőzött eszközöket (pergető, fémedények, kaptárvas) fertőtleníteni kell. A méhek antibakteriális szerekekkel való kezelését jogszabály tiltja.

Vizsgálataink során a Na-hipoklorit fertőtlenítő hatását vizsgáltuk *P. larvae* spórákkal szemben. Azért választottuk a háztartási hipót, mert biztonságosan használható, olcsó, könnyen beszerezhető fertőtlenítőszer, ellentétben a jelenleg javasolt forró nátronlúggal vagy forró szódaoldattal.

A Na-hipoklorit sporocid hatását három hőmérsékleten (5 °C, 22 °C, 37 °C) vizsgáltuk szerves szennyeződés hiányában, illetve méz és virágporszennyezés jelenlétében, 10 *P. larvae* törzs bevonásával. A kísérleteket vizes közegben végeztük el; hipót, desztillált vizet és a szerves szennyezőanyagok vizes oldatát kevertük össze a spóraszuszpenziókkal, majd meghatározott ideig inkubáltuk, ezt követően pedig táplevesbe oltottunk belőle, hogy megfigyeljük a spórák életképességét. A táplevesekből egy hét inkubálás után táptalajra oltottunk, és vizsgáltuk a kórokozó szaporodását.

Az eredményeink alapján a $\sim 5 \times 10^{-3}$ mol/liter aktív klórtartalmú háztartási hipó szerves szennyezés hiányában, illetve 10% méz szennyezés jelenlétében mind a három vizsgált hőmérsékleten hatékonyan tudja gátolni a *Paenibacillus larvae* spórák kicsírázását maximum 15 perc behatási idő alatt. 10% virágporszennyezés jelenlétében azonban az általunk vizsgált egyik hőmérsékleten sem biztosított 100%-os gátlást, de 37 °C-on jelentősen csökkentette a spórák életképességét, és a vizsgált törzsek spóráinak kicsírázását 80%-ban gátolta 2 óra alatt.

Eredményeink értelmében a háztartási hipó alkalmas fertőtlenítőszer lehet a *Paenibacillus larvae* spórák elölésére és ezzel a háziméh nyúlós költésrothadás betegség kialakulásának megelőzésére. A kapott eredmények alapján úgy gondoljuk, hogy érdemes lehet a háztartási hipón kívül más, a kereskedelmi forgalomban kapható fertőtlenítőszeres sporocid hatását is vizsgálat tárgyává tenni a *P. larvae* spóráinak bevonásával.

HAZAI JUH- ÉS KECSKEÁLLOMÁNYOKBÓL SZÁRMAZÓ VÉRMENTÁK *LEPTOSPIRA*-SZEROLÓGIAI VIZSGÁLATÁNAK EREDMÉNYEI (2013-2018)

Hajtós István^{1*}, Zsigáné Lami Erzsébet², Dénes Béla²

A mérsékelt égöv országaiban a juhok és a kecskék klinikai tünetekben, elhullásban/ vetelésben megnyilvánuló leptospirosis a ritkán diagnosztizált fertőző betegségek közé tartozik. Hazánkban az elmúlt 60 évben a növendék bárányok vérfertőzéses pomona-leptospirosisáról (Bokori és mtsai, 1958) az anyajuhok *L. grippotyphosa* és *L. sejroë* okozta veteléséről (Hajtós és mtsai, 1983), a kosok tünetmentes, enzootiás *L. hardjo* fertőzöttségéről (Nagy Gy., 1992), valamint a kecskeállományok szórványos, tünetmentes *L. grippotyphosa*, *L. saxkoëbing* és *L. australis* fertőzöttségéről (Hajtós és mtsai, 1994) számoltak be.

Az elmúlt hat évben (2013. január 1. és 2018. szeptember 30. között) a NÉBIH ÁDI laboratóriumaiba küldött juh- és kecskevérmenták szerológiai vizsgálatának (az ASZIR adatbázisban rögzített) eredményei alapján a kiskérődzők tünetmentes leptospira fertőzöttségének hazai előfordulását elemeztük.

A juh- és kecskevérmenták szerológiai vizsgálata a Nemzetközi Állat-egészségügyi Hivatal diagnosztikai kézikönyvének (OIE Manual, 2014) előírásai szerint mikro-agglutinációs próbával történt a *L. Grippotyphosa*, a *L. Hardjo* és a *L. Pomona* típusokból készített antigének felhasználásával. A szerológiai vizsgálatok döntő részben állatszállítást megelőző hatósági eljáráshoz kapcsolódtak.

Az elmúlt hat évben 422 esetben 25 391 juhvérminta szerológiai vizsgálatát végezték el a NÉBIH ÁDI laboratóriumaiban. A vizsgált leptospira típusokra vonatkozó pozitív eset- és vérmintaszámok a következők voltak: *L. Grippotyphosa* 43 eset (10,2 %) 192 vérminta (0,76 %), *L. Hardjo* 14 eset (3,3 %) 38 vérminta (0,15 %), *L. Pomona* 5 eset (1,2 %) 12 vérminta (0,05 %).

Azonos időszakban 77 esetben 570 kecskevérmenták szerológiai vizsgálata során az előbbi leptospira típusokra vonatkozó pozitív eset- és vérmintaszámok pedig az alábbiak voltak: *L. Grippotyphosa* 1 eset (1,3 %) 4 vérminta (0,70 %), *L. Hardjo* 1 eset (1,3%) 1 vérminta (0,17 %), *L. Pomona* 1 eset (1,3 %) 1 vérminta (0,17 %).

A vizsgálati eredmények azt mutatják, hogy a juhok és a kecskék fenti leptospira típusokra visszavezethető tünetmentes fertőzöttsége hazánkban továbbra is szórványosnak tekinthető. A tünetmentes fertőzöttség szerény mértéke közvetve magyarázza azt is, hogy a gyakorlatban miért olyan ritka a kiskérődzők klinikai tünetekben megnyilvánuló leptospirosis.

Előadásunk tisztelgés a hazai leptospirosis kutatás nemzetközileg elismert képviselőjének, *dr. Kemenes Ferenc* (1920-1989) egyetemi docensnek emléke előtt.

NEW APPROACH IN THE TREATMENT OF BACTERIAL DISEASES IN THE AQUACULTURE

Mohamed Shaalan¹, Boglárka Sellyei^{2*}, Csaba Székely²

Flavobacterium spp. are Gram-negative, oxidase-positive, indole-negative, yellow-pigmented, and non-fermenting rods with gliding motility which are common worldwide in aquatic environments. Several species, including *F. johnsoniae*, *F. psychrophilum*, *F. branchiophilum*, and *F. columnare*, have been associated with clinical disease in fish and represent major threats to aquaculture industry.

Prevention of flavobacteria epizootics is difficult due to their ubiquitous presence in waters and due to decreased susceptibility to many antimicrobial agents routinely used in aquacultural environments. The identification of multidrug resistant (MDR) strains, that was reported in different countries worldwide including Hungary, indicates that the control of disease outbreaks caused by Flavobacterium spp. remains a significant challenge.

There is an increasing need to reduce the dependence on conventional antibiotics for control of bacterial infections in animal farms and aquaculture. One of the novel alternatives for antibiotics being investigated is the use of nanoparticles. Silver nanoparticles exert their antimicrobial activity via different mechanisms. They interact with the bacterial cell membrane causing its disruption, produce reactive oxygen species (ROS) and interfere with the microbial DNA and protein synthesis. In addition, they modulate signal transduction in the bacteria.

In previous studies, silver nanoparticles showed potential antibacterial activity against different fish bacteria *in vitro*, including *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Proteus* sp, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio harveyi* and *Yersinia ruckeri*.

In the field of fish diseases research, few studies were reported about the *in vivo* antibacterial activity of nanoparticles.

In our study we conducted the following methodologies: a.) *In vitro* screening of the antibacterial activity of silver nanoparticles against different isolates of *F. johnsoniae*. We incubated the silver nanoparticles in different concentrations with four isolates of *F. johnsoniae*, the minimum inhibitory concentration was 34 µg/mL. b.) Toxicity assessment by incubating silver nanoparticles with fish cell lines (EPC, KF-1, BF-2) and applying crystal violet staining for cell viability determination (still in progress). c.) *In vivo* fish experiment by experimental infection of the fish with *F. johnsoniae* and application of silver nanoparticles (by immersion and intraperitoneal injection) to evaluate the antibacterial activity (by assessing mortalities percent) and their effect on fish tissues (by histopathology).

We acknowledge the TEMPUS scholarship awarded to Mohamed Shaalan (AK-00362-002/2018). The research costs were covered by the European Regional and Development Fund and the Government of Hungary within the project GINOP-2.3.2-15-2016-00025.

A C130_2 BAKTERIOFÁG EGY ÚJ GENOTÍPUSÚ, ENTEROBAKTERIÁLIS KÓROKÓZÓKAT FERTŐZŐ MYOVIRUS

Sváb Domonkos^{1*}, Linda Falgenhauer², Manfred Rohde³, Trinad Chakraborty², Tóth István¹

Világszerte egyre nagyobb gondot jelent a bakteriális kórokozók, köztük az élelmiszerközvetítette patogének antibiotikum-rezisztenciája. Az ellenük történő védekezés egyik alternatív lehetősége a lítikus bakteriofágok, mint antibakteriális ágensek élelmiszerbiztonsági célú, ún. biokontroll alkalmazása. Ennek előfeltétele minél több új bakteriofág izolálása és minél részletesebb jellemzése, mely fontos adatokkal szolgál genetikai változatosságuk megismeréséhez, és a gazda-fág kölcsönhatások mechanizmusainak megértéséhez is.

Célunk volt élelmiszerből enterális patogéneket, elsősorban *Escherichia coli* intesztinális patotípusú törzseit oldani képes bakteriofágok izolálása, és esetleges biokontroll ágensnek való alkalmasságuk meghatározása. Jelen munka tárgyát a C130_2 jelzésű, új genotípust képviselő, a Myoviridae családba tartozó bakteriofág jellemzése képezte.

A C130_2 bakteriofágot egy sajtmintából elődúsítását követően *E. coli* K-12 C600 törzsön történt lágyagaros rétegzéssel (spot assay) izoláltuk. Ugyanezen módszerrel végeztük a fág gazdaspektrumának és gazdaspecifikus oldási hatékonyságának (EOP, efficiency of plating) meghatározását több patotípust képviselő *E. coli*, *Shigella* és *Salmonella* törzseken.

A fág morfológiáját transzmissziós elektronmikroszkópiával határoztuk meg. A genom szekvencia meghatározása Illumina NextSeq platformon történt, a szekvenciaillesztés CLC Genomic Workbench 9.0 programmal, az annotációt a RAST szerver segítségével végeztük. A nukleotid- és fehérjeszekvencia összehasonlító vizsgálatokhoz a BLASTN, PSI-BLAST és EasyFig programokat használtuk. A teljes genom alapú filogenetikai vizsgálat a VICTOR programmal történt.

Az újonnan izolált bakteriofág morfológiája alapján a Myoviridae családba tartozik. Az izoláláshoz használt *E. coli* K-12 törzsön kívül, bár alacsonyabb EOP-vel, alkalmas gazdájának bizonyult számos patogén *E. coli* törzs, köztük enterohemorragiás (EHEC) O157:H7 szerotípusú, enteroinvazív *E. coli* (EIEC), továbbá *Shigella sonnei* és *S. dysenteriae*, törzsek. A fág genomja 41.775 bp hosszúságú, 59 ORF-et tartalmaz, átlagos GC aránya 55,4%. A genetikai összehasonlító vizsgálatok azt mutatták, hogy bár két hasonló genomi felépítésű bakteriofágot korábban már jellemeztek, ám nukleotid-szinten még a leghasonlóbb szakaszokon is legfeljebb 80%-os egyezés tapasztalható velük. A teljes genom alapú filogenetikai vizsgálat pedig megmutatta, hogy a C130_2 a Caudovirales rend minden más ismert csoportjával is csak igen távoli rokonságban áll. A C130_2 bakteriofág, habár morfológiailag ismert családba sorolható, genetikai alapon új fajt, sőt feltehetőleg új nemzetséget képvisel a Myoviridae család tagjai közt. A fág viszonylag széles, és jelentős enterális kórokozókat is tartalmazó gazdaspektruma, továbbá szigorúan lítikus életciklusa, valamint ismert virulencia- és rezisztenciagénektől való mentessége jó jelöltté teszi jövőbeni biokontroll-kísérletekhez.

Jelen munkát az NKFIH 124335 számú projekt támogatta, az élelmiszerminták gyűjtése a EU FP7 PROMISE 26587 projekt keretében történt. Sváb Domonkos az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíjának támogatásában részesült.

BIBERSTEINIA TREHALOSI OKOZTA HEVENY SZISZTÉMÁS PASTEURELLOSIS ÉS A HAJLAMOSÍTÓ IDŐJÁRÁSI TÉNYEZŐK

Tóth Gergely^{1*}, Korvin László², Kecskemétiné Turcsányi Ibolya³, Makrai László¹, Fodor László¹

A *Bibersteinia trehalosi* fakultatív patogén baktérium, amely klinikailag egészséges állatok orr- és garat nyálkahártyáján is megtalálható, és növendék juhokban és kecskéknél rendszerint a téli, kora tavaszi időszakban, heveny szisztémás pasteurellosist okoz. Bár számos fertőző betegség esetén felmerül az időjárási tényezők hajlamosító hatása, de ennek adatokkal alátámasztott vizsgálata ritka. Vizsgálatunk célja az volt, hogy egy heveny szisztémás pasteurellosis megbetegedés esetén felmérjük a hajlamosító tényezők szerepét és az azt követő baktériumhordozást.

Egy 200 anyajuhot számláló, hagyományos körülmények között tartott állományban 35 állat megbetegedésével és 10 állat elhullásával járó heveny szisztémás pasteurellosis jelentkezett, amelyet a NÉBIH ÁDI Debreceni Laboratóriuma a kórokozó izolálásával megerősített. Két héttel a megbetegedések előtt ugyan 2 kos behoztak az állományba, de semmi, a betegség kialakulására hajlamosító esemény nem történt.

Az utolsó megbetegedések után 9 nappal 15 állatból orr- és garattampon, valamint 8 állatból vérmintát vettünk. A tamponmintákból kitenyésztett baktériumokat tenyésztési, morfológiai és biokémiai tulajdonságaik meghatározása után a 16S rRNS gén vizsgálatával azonosítottuk. Az izolátumok szerotipizálását és a vérsavók szerológiai vizsgálatát passzív hemagglutinációs próbával végeztük. A meteorológiai adatokat (napi átlaghőmérséklet, légnyomás, csapadék, fronthatás) az Országos Meteorológiai Szolgálat bocsátotta rendelkezésünkre.

A vizsgált 15 állat mintáiból csak egy, a betegséget kiállt bárány garattamponjából izoláltunk *B. trehalosit*, 5 állatból *Mannheimia haemolyticát*, 6-ból pedig egyéb *Mannheimia* fajokat tenyésztettünk ki. Sem az első megbetegedésekből, sem az általunk izolált *B. trehalosi* szerológiailag nem volt besorolható. A 8 vérmintából 1 savó tartalmazott *B. trehalosi* elleni ellenanyagokat.

Az Országos Meteorológiai Szolgálat adatai szerint a megbetegedések előtti napokban a légnyomás hirtelen leesett 1026-ról 1006 Hgmm-re, 10,6 mm eső esett, változó fronthatás, először kettős-, majd labilis meleg-, utána labilis hidegfronti hatás érvényesült, a megbetegedések idején pedig a hőmérséklet hirtelen 6°C-ról 15,2°C-ra emelkedett.

A kórelőzmény alapján a vizsgált esetben a *B. trehalosi* okozta megbetegedések hátterében az állományba két új kos érkezése, vagy az időjárási körülmények, esetleg mindkettő együttesen állhattak. A két klinikailag egészséges kos negatív vizsgálati eredményei és az egyéb hajlamosító tényezők hiánya jelen esetben az időjárás hajlamosító szerepét valószínűsítik.

KISKÉRŐDZŐK LÉGZŐSZERVI MEGBETEGEDÉSEINEK LABORATÓRIUMI DIAGNOSZTIKAI VIZSGÁLATA

Tóth Gergely^{1*}, Bakcsa Erika², Jánosi Szilárd², Szeleczy Zsófia², Sulyok Kinga Mária³, Gyuranecz Miklós³, Makrai László¹, Fodor László¹

A juh- és kecskeállományokban jelentős gazdasági kárt okoznak a különféle légzőszervi betegségek. Vizsgálataink célja az volt, hogy felmérjük az e megbetegedésekben kórtani szerepet játszó baktériumok gyakoriságát és a kórtani elváltozások jellegét. Intézeti diagnosztikai vizsgálatra küldött, tüdőgyulladás miatt elhullott, kiskérődzőkből származó tüdőminták kórbonctani és kórszövettani vizsgálatát végeztük el, és az elváltozásokból véresagarra oltással és *Mycoplasma* táplevesben kíséreltük meg a kórokozók izolálását.

A 74 feldolgozott mintából 60 esetben észleltünk jellemző gyulladással elváltozást. A leggyakoribb a kruppos pneumonia volt (24); ezt követte a lymphohistiocytás bronchitis, peribronchitis (12); a hurutos, hurutos-gennyes bronchopneumonia (11), az interstitialis pneumonia (7); a granulomatosus pneumonia (4) és a gócos, multiplex gócos pneumonia (2). Hat esetben atelectasián és tüdőemphysemán, másik 6 esetben heveny pangásos bővérűségen, továbbá 3 esetben tüdőviznyőn kívül mást nem észleltünk, 3 esetben az eddigi kategóriákba be nem sorolható elváltozásokat láttunk. Tíz esetben egyidejűleg többféle gyulladással elváltozást is megfigyeltünk.

A bakteriológiai vizsgálat során *Mannheimia haemolytica*t 12, *Pasteurella multocida*t 7, *Bibersteinia trehalosii*t 5, *Streptococcus*-fajokat 4, *Corynebacterium pseudotuberculosis*t 3 míg *Trueperella pyogenes*t 2 esetből izoláltunk. Összesen 45 minta eredménye negatív lett. A látott elváltozások alapján 23 esetben történt *Mycoplasma*-tenyésztés, ebből 15 esetben izoláltunk *Mycoplasma* fajokat: *M. arginini* (12), *M. ovipneumoniae* (1), *M. bovis genitalium* (1), *Mycoplasma sp.*(1). A kórtani elváltozások ellenére a minták 60%-ából nem tudtunk kórokozót izolálni, ami egyéb kórokozók (vírusok, Chlamydia) szerepével vagy antibiotikummal való kezeléssel magyarázható. Az egyes kórokozókat általában a rájuk jellemző tipikus elváltozásokból izoláltuk, de kivételek is előfordultak. A leggyakoribb kórokozó *M. haemolytica*t például 8 esetben a fajra jellemző kruppos tüdőgyulladással elváltozástól, de 1-1 esetben tüdőviznyő, hurutos bronchopneumonia és peribronchitis, interstitialis pneumonia és peribronchitis valamint egyedül peribronchitis esetből tenyésztettük ki, ami a bakteriológiai vizsgálatok fontosságára utal atípusos elváltozások esetében is. A *Mycoplasma*-izolálás kevésbé korrelált a szövettani elváltozásokkal.

Köszönettel tartozunk a NÉBIH ÁDI szövettani laboratóriumának a metszetek elkészítéséért, valamint Glávits Róbertnek értékes tanácsaiért. A vizsgálatokhoz az anyagi fedezetet részben a Lendület pályázat (LP2012-22) biztosította. Gyuranecz Miklós munkáját a Bolyai János Kutatási és a Bolyai+ Ösztöndíjak támogatták.

DIAGNOSZTIKAI ÉS BIOKONTROL POTENCIÁLLAL RENDELKEZŐ ÚJ RV5 FÁGOK JELLEMZÉSE

Tóth István¹, Sváb Domonkos¹, Linda Falgenhauer², Manfred Rohde³, Trinad Chakraborty²

A bakteriofágok evolúcióbíológiai szerepének megértése mellett szintén rendkívül fontos új lítikus fágok azonosítása, azok terápiás, biokontroll és diagnosztikai potenciáljának a felderítése, hiszen a virulens / lítikus fágok antibakteriális szerként való alkalmazása antibiotikumok és kemoterápiás szerek alternatívájaként szolgálhat.

Élelmiszer mintákból izoláltunk lítikus fágokat. Vizsgáltuk a fágok gazdaspektrumát. Elektronmikroszkóppal meghatároztuk két, jelentős gazdaspektrumú fág morfológiáját. Vizsgáltuk a fágok fizikai (hőmérséklet és pH) stabilitását, szaporodását, in vitro és in situ hatékonyságát. Meghatároztuk a fág genomok nukleotid sorrendjét. A genomok annotálását követően elvégeztük a fágok filogenetikai besorolását.

Független élelmiszer mintákból izoláltunk, és jellemeztünk két új rv5-szerű fágot, melyeket eredetükre utalva C203 és P206-nak neveztük el. A lineáris duplaszálú DNS genomok mérete 138 073 bp volt, ami 213 ORF-et 6 tRNS gént kódolt. A két genom nukleotid összetétele teljesen megegyezett, de a gének sorrendjében volt egy 10,7 kb méretű eltérés. A fág genomok GC tartalma 43,7% volt és jelentős egyezést mutattak ismert rv5 fágokkal, azonban a genomokban egy új endonukleáz kódoló ORF-et is azonosítottunk. A fágok replikációs ideje 60 perc volt és sejtenként kb 1000 fág termelődött. A fágok pH 5 és pH 10 tartományban, valamint 25 - 42 °C stabilnak bizonyult. Elektron-mikroszkópos vizsgálataink szerint a C203 és P206 a Myoviridae család új tagjai. A fágok azonos és igen széles gazdaspektrummal rendelkeztek. Oldották az enterohaemorrhágiás *E. coli* (EHEC) O157 és multi – drog rezisztens (MDR) és egyéb szero és pathotípusú *E. coli* törzseket, valamint *Shigella sonnei*, *S. flexneri* és *S. dysenteriae* törzseket is. A P206 in vitro hatékonyan gátolta az EHEC 057:H7 Sakai törzs növekedést és in situ, rendkívül magas csíra számmal mesterségesen fertőzött húsban is jelentős mértékben redukálta az élő EHEC baktériumok számát.

Összegezve, a C203, P206 fágok rendkívül széles gazdaspektruma, fizikai stabilitása, rövid latens ideje, hatékony replikációja, lítikus életmódja és kedvező genomi jellemzői - virulencia és rezisztencia gén mentessége - alapján alkalmas biokontroll ágensek lehetnek élelmiszerrel terjedő EHEC és egyéb patogén enterális baktériumokkal szemben.

Jelen munkát az NKFIH 124335 számú projekt támogatta, az élelmiszerminták gyűjtése az EU FP7 PROMISE 26587 projekt keretében történt. Sváb Domonkos az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíjának támogatásában részesült.

NÖVÉNYI SZERVESANYAG-DEKOMPOZÍCIÓS MÓDSZEREK FUNKCIONÁLIS ÉS MIKROBIÁLIS ÖSSZEHASONLÍTÁSA

Tóth Zsolt^{1*}, Seres Anikó², Tánicsics András³, Kriszt Balázs⁴, Hornung Erzsébet¹

A talajban játszódó lebontó folyamatok nyomon követése a klímaváltozás kapcsán kiemelt jelentőségűvé vált az utóbbi években. A növényi szervesanyag-dekompozíció eredményeként felszabaduló üvegház gázok ugyanis nagymértékben befolyásolják a globális szénforgalmat.

Kutatásunkban a leggyakrabban használt szervesanyag-bomlás vizsgálati módszerek (avartasak, minikonténer, teafilter) elsősorban mikrobiális, másodsorban funkcionális összehasonlítását tűztük ki célul, különös tekintettel a dekompozíciós folyamatokban domináló talajmikrobák genetikai diverzitására, illetve közösségi összetételére.

A szervesanyag-bomlás vizsgálat a Szent István Egyetem Gödöllői Botanikus Kertjében kijelölt 2×2 m-es parcellában 2015 decemberében indult, mely során 10 db avartasak, minikonténer és teafilter (kereskedelmi forgalomban kapható, piramis alakú, műanyag) került elásásra a talaj 0-5 cm-es rétegében. Előbbiek őshonos növényből (kocsánytalan tölgy - *Quercus petraea*) származó szerves anyagot (intakt és aprított formában), míg utóbbi idegenhonos növényi anyagot (rooibos - *Aspalathus linearis*) tartalmazott. Félévvel ezután, 2016 júniusában megtörtént a minták visszagyűjtése. Ezek egyik felét a szervesanyag-bomlás időbeni alakulásának nyomon követésére, míg másik felét mikrobiális diverzitás (16S rDNS T-RFLP molekuláris ujjlenyomat módszer) és közösségszerkezeti vizsgálatokhoz (shotgun metagenom elemzés) használtuk fel.

A mintákat minden esetben a bakteriális eredetű szekvenciák dominálták (94-99 %). A gombák aránya a teafilter (5,98 %) és minikonténer (5,46 %) mintákban volt a legmagasabb, de itt sem érte el a 6 %-ot. Az Archaea domén még ennél is elhanyagolhatóbb mértékben volt képviselve (0-0,1 %), és nem volt számottevő különbség a minták között. Mind a gombák, mind a baktériumok esetében jelentős taxonbeli eltéréseket tapasztaltunk, amik vélhetően azok enzimtermelési sajátosságaival hozhatók összefüggésbe. Megfigyelhető volt, hogy a nehezebben bontható (magasabb cellulóz és lignin tartalmú) detrituszt (rooibos) elsősorban csak a komplex enzimszettel bíró mikroorganizmusok kolonizálták. A dekompozíció ennek megfelelően a teafilter esetében volt a legkisebb mértékű. Ez utóbbi növényi anyagában olyan mikrobafajt (*Mycena chlorophos*) is sikerült kimutatni, mely biogeográfiailag idegennek számít Magyarországon, valamint olyan állati patogén kórokozót (*Pseudogymnoascus destructans*), ami állategészségügyi és természetvédelmi kockázatot is hordozhat.

Köszönettel tartozunk Révész Fruzsina, PhD hallgatónak (SzIE, KTDI) a laboratóriumi munkákban való segítségéért. Munkánkhoz a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottság (NKB 2017) nyújtott anyagi támogatást.