

Állatorvostudományi Egyetem
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

Sertések járványos hasmenésének szerológiai felmérése Magyarországon

Készítette: Ihlye Katalin

Témavezető: Dr. Valkó Anna

Állatorvostudományi Egyetem, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék, tanszéki állatorvos

Budapest, 2020

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	3
1. Bevezetés	5
2. Szakirodalmi áttekintés.....	6
2.1. A koronavírusok általános jellemzése.....	6
2.2. A koronavírusok szerkezete.....	6
2.3. A koronavírusok replikációja.....	7
2.4. Az ember koronavírusai	8
2.5. A haszonállatok koronavírusai.....	9
2.6. A sertés koronavírusai	10
2.6.1. PHEV	10
2.6.2. PRCV és TGEV.....	10
2.6.3. PDCoV	11
2.6.4. Újabb koronavírusok: SeCoV és PEAV	11
2.7. A sertések járványos hasmenésének vírusa	12
2.7.1. A PEDV különböző változatainak elterjedése	12
2.7.2. A PEDV ellenállóképessége.....	13
2.7.3. A PEDV járványtana	14
2.7.4. A PEDV kórfejlődése, tünetei, kórbonctana és kórszövettana.....	15
2.7.5. A PEDV kórjelzése.....	17
2.7.6. A PEDV elleni védekezés	19
3. Anyag és módszer.....	20
3.1. A minták eredete	20
3.2. A kimutatás technikai alapjai.....	21
3.3. A kimutatás folyamata.....	21
4. Eredmények.....	24

4.1. A felmérés eredménye.....	24
5. Megbeszélés	26
6. Összefoglalás.....	28
7. Summary	29
8. Irodalomjegyzék.....	30
9. Köszönetnyilvánítás.....	35

Rövidítések jegyzéke

Rövidítés	Jelentés	
	Idegen nyelvű	Magyar
μl	microliter	mikroliter
ÁDI	-	Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság
APN	aminopeptidase N	aminopeptidáz N
CoV	coronavirus	koronavírus
COVID-19	coronavirus disease 2019	koronavírus betegség 2019
db	-	darab
E	envelope	burok
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	enzimhez kötött immunszorbens teszt
IgA	immunoglobulin A	immunglobulin A
IgG	immunoglobulin G	immunglobulin G
IgM	immunoglobulin M	immunglobulin M
M	membrane	membrán
MERS	Middle East Respiratory Syndrome	közel-keleti légúti szindróma
ml	millilitre	milliliter
mRNS	-	messenger RNS
N	nucleocapsid	nukleokapszid
NÉBIH	-	Nemzeti Élelmiszerlánc- biztonsági Hivatal
nm	nanometre	nanométer
nsp	non-structural protein	nem strukturális fehérje
ORF	open reading frame	nyitott olvasási keret
PCR	polymerase chain reaction	polimeráz láncreakció
PDCoV	porcine deltacoronavirus	sertés deltakoronavírusa
PEAV	porcine enteric alphacoronavirus	sertés akut hasmenés szindróma koronavírus

PEDV	porcine epidemic diarrhoea virus	sertések járványos hasmenésének vírusa
PHEV	porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus	malacok hemagglutináló koronavírus
pp	polyprotein	poliprotein
PRCV	porcine respiratory coronavirus	sertés légzőszervi koronavírus
RNS	-	ribonukleinsav
RTC	replication and transcription complex	replikációs és transzkripció komplex
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction	reverz transzkripció polimeráz lánreakció
S	spike	tüske
SARS	Severe Acute Respiratory Syndrome	humán súlyos akut légzőszervi szindróma
SeCoV	swine enteric coronavirus	sertés enterális koronavírus
TCV	turkey coronavirus	pulyka koronavírus
TGEV	transmissible gastroenteritis virus	transzmisszibilis gasztroenteritisz vírus
USA	United States of America	Amerikai Egyesült Államok

1. Bevezetés

A gyomor-bélrendszeri betegségek komoly gazdasági károkat okozhatnak gazdasági haszonállatainkban. Kialakulásuk okai között vírusok, baktériumok, paraziták, tartás- és takarmányozási tényezők is szerepelhetnek. A vírusok között jelentős szerepe van a koronavírusoknak. Sertések esetében több koronavírus is okozhat gastroenteritist, melyek közül kiemelt fontosságú a sertések járványos hasmenésének vírusa (porcine epidemic diarrhoea virus, PEDV). A PEDV által okozott gyomor- és bélgyulladás tünetei lehetnek a hányás, valamint az akut, vízszerű hasmenés a vékonybél malabszorpciója miatt. A PEDV minden korú sertést megbetegíthet, de az egyes korosztályokban általában eltérő súlyosságú tünetek mutatkoznak. A szopósmalacok gyorsan kiszáradhatnak a folyadékvesztés miatt, így körükben rendkívül magas lehet a PEDV miatti mortalitás, a választás utáni sertésekben a veszteségeket pedig inkább a súlygyarapodás csökkenése okozza.

Az PEDV először 1971-ben jelent meg Európában, majd 1977-ben Magyarországon is járványkitörést okozott. A betegség a '80-as, '90-es évekre ritkává vált, míg a 2010-es években újra meg nem jelent Európaszerte, így 2016-ban, majd 2018-ban hazánkban is. Diplomamunkám célja az újonnan megjelent PEDV részletes bemutatása, valamint egy szerológiai vizsgálat tervezése és kivitelezése volt az ország különböző pontjairól származó minták segítségével. Vizsgálatunk célja volt annak a felmérése, hogy milyen az átfertőzöttség mértéke napjainkban az országban, mely védelmet nyújthat egy esetleges újabb járványkitörés esetén.

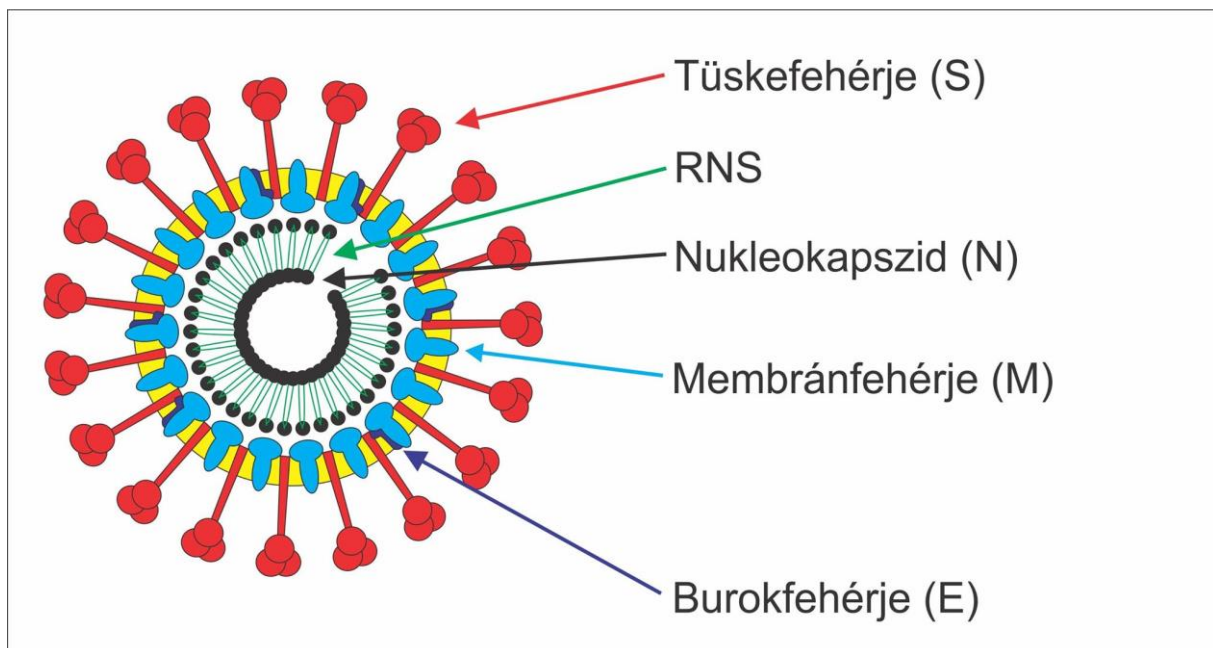
2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. A koronavírusok általános jellemzése

A koronavírusok (Coronavirus, CoV) az emberekben, a többi emlősfajban és madarakban is különböző tüneteket okozhatnak, jelentős morbiditású és mortalitású betegséget előidéző járványokat kialakítva (Cavanagh and Britton, 2008; Deng et al., 2020). Többféle szervet „támadhatnak meg”, célszerv lehet az idegrendszer, az immunrendszer, a vesék, a nemi szervek, valamint az emésztő- és a légzőrendszer (Cavanagh and Britton, 2008). A koronavírusokat négy nemzetségbe soroljuk antigénrokonságuk alapján: *Alpha-*, *Beta-*, *Gamma-* és *Deltacoronavirus* nemzetségekre (Wang et al., 2014).

2.2. A koronavírusok szerkezete

A koronavírusok pleomorf, burkos vírusok, az átmérőjük 60-160 nm. Az RNS vírusok között a legnagyobb genommal rendelkeznek, mely 28-32 kilobázispárt tartalmazó pozitív, szimplaszálú RNS (Cavanagh and Britton, 2008; Saif et al., 2019).



1. ábra: A PEDV szerkezete. Készült (Lee, 2015) nyomán.

A koronavírusok négy strukturális fehérjét tartalmaznak (1. ábra): tüske (spike, S), sejt eredetű burok (envelope, E), hártya (membrane, M) és nukleokapszid (nucleocapsid, N) (Deng et al., 2020; Gerber et al., 2014). Az RNS továbbá 16 nem strukturális fehérjét (nsp1-nsp16) és egy járulékos proteint is kódol (ORF3) (Jung et al., 2020). Elektronmikroszkóppal vizsgálva a vírust az S-fehérje elrendeződése a burkon korona-szerű elrendeződést mutat, innen származik a koronavírusok elnevezése (Deng et al., 2020). A tüskefehérje hossza 12-25 nm, de a hemagglutinin-észteráz fehérjével rendelkező betakoronavírusok rövidebb tüskékkel rendelkeznek (Saif et al., 2019). A tüskefehérjék a gazdasejt membránreceptoraihoz kapcsolódnak és a membránfúzióhoz szükségesek, illetve fő célpontjai a PEDV elleni neutralizáló antitesteknek (Deng et al., 2020; Diel et al., 2016). A spike protein további két fehérjedoménre osztható: S1-re és S2-re, melyek neutralizáló epitópokat tartalmaznak (Gerber et al., 2014). Az S1 fehérjedomén a spike protein N-terminálisa, az S2 fehérjedomén pedig C-terminális. Az S1 fehérjedomén meghatározhatja, hogy a vírus mely szövetek sejtjeibe képes bejutni, így befolyásolhatja a fogékony gazdafajok körét és a patogenitást is. (Wang et al., 2014). A PEDV RNS 3' végén lévő génszakaszok kódolják a vírus strukturális fehérjéit. Az RNS 5' végén a replikáz gén van, mely a genom kétharmadát teszi ki. A genom nyitott olvasási keret (open reading frame, ORF) 1ab szakaszai a vírus nem strukturális fehérjéit és a replikáz fehérjét kódolják (Kocherhans et al., 2001; Valkó et al., 2017). Egyes *Betacoronavirus* nemzetségbe tartozó vírusok rendelkeznek egy olyan másodlagos receptorkötő burok glikoproteinnel, mely nem szükségszerű a koronavírus *in vitro* replikációjához, viszont *in vivo* lehetséges, hogy hozzájárul a vírus tropizmusához. Ez a glikoprotein hemmagglutinin-észteráz (HE) tulajdonsággal rendelkezik (Barros et al., 2013; Cavanagh and Britton, 2008).

2.3. A koronavírusok replikációja

A vírusok intracelluláris patogének, ennek megfelelően csak sejten belül képesek megsokszorozódnani (Lee, 2015). A koronavírusok jellemzően ugyanazt a replikációs stratégiát használják (Saif et al., 2019). Első lépésként a vírus S-fehérjéje a célsejt receptorához kötődik. Ilyen receptor lehet például a PEDV esetén a sertés vékonybélhámsejtjeinek aminopeptidáz N (APN) felületi receptora, amely egy 150-kDa

transzmembrán glikolizált fehérje. Viszont nem ez az egyetlen sejtfelületi receptor, amely a vírus-gazdasejt kötődésben részt vesz, mivel az APN knockout sertések is képesek megfertőződni a PED vírusával. A bélhám szekretoros és abszobciós sejtjeinek sejtmembrán koleszterolja vagy két sejtfelületi molekulája, például a szialinsav és okkludin is felelős lehet a PEDV gazdasejthez kötődéséért és citoplazmába jutásáért (Jung et al., 2020).

A receptorhoz való kapcsolódást követően a vírus burka a gazdasejtmembránba épül, majd a membránfúzió után a vírus penetrál a sejtbe. A penetráció során a vírus genom a citoplazmába kerül. A genomról először ppla és pplab poliproteinek képződnek, melyek proteolitikus enzimek segítségével kisebb egységekre bomlanak, kialakítva a replikációs és transzkripció komplexet (RTC). Az RTC a vírus genomjának RNS-ét felhasználva különböző hosszúságú új negatív szimpla szálú RNS-eket állít elő. Ezek alapján új genomiális RNS-ek és mRNS-ek képződnek. Az mRNS-ek segítségével a gazdasejtben elkészülnek a vírus S-fehérjéi, membránja és azok a proteinek, amelyek később a burokba épülnek. Az elkészült fehérjék a sejt endoplazmatikus retikulumába, majd ezáltal a Golgi-apparátusba kerülnek. Végül a Golgi készülék a citoplazma membránnal egyesül, így a sejt exocitózissal az extracelluláris térbe juttatja az új vírust. A vírus a burkát a gazdasejt membránjából szerzi az exocitózis során (Lee, 2015).

2.4. Az ember koronavírusai

Az 1960-as években azonosítottak először megfázáshoz hasonló tünetek hátterében humán koronavírusokat, melyek a későbbiekben a Human coronavirus 229E és Human coronavirus OC43 elnevezéseket kapták (Daryai et al., 2020). Az emberek körében a koronavírusok többnyire ártalmatlannak számítottak, míg 2002-ben Kína déli részén megjelent a Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) elnevezésű légzőszervi betegség. Világjárványt okozott 2003-ban, több ezer ember fertőződött a SARS-CoV vírusával és több százan haltak meg tüdőgyulladás miatt (Arora et al., 2020; Zhong et al., 2003). A humán koronavírusok valószínűleg állatoktól erednek, a SARS-CoV a denevérektől. 2012-ben a SARS-hoz hasonló tüneteket okozó betegség bukkant fel a Közel-Keleten, melyet egy új koronavírus okozott. A vírus a Middle East Respiratory

Syndrome (MERS) nevet kapta. A MERS szintén több ezer megbetegedést és több száz halálesetet okozott. Feltételezik, hogy a Middle East Respiratory Syndrome fő hordozója az egypúpú teve, mivel ellenanyagot termel a vírus ellen (Arora et al., 2020). 2019 decemberében szintén Kínában, Wuhan városában jelent meg egy új koronavírus, melyet később SARS-CoV-2-nek neveztek el. Az általa okozott betegség neve COVID-19 (Coronavirus disease 2019). A SARS-CoV-2 denevér eredetű koronavírus lehet, ételfertőzés következtében juthatott az ember szervezetébe, majd emberről emberre terjedt. A fent említett vírusok közül a SARS-CoV-2 okozta a legnagyobb világjárványt, eddig több millió embert fertőzött meg és több százezren haltak meg miatta, mely számok e dolgozat írásakor is folyamatosan nőnek (Arora et al., 2020; Lounis, 2020).

2.5. A haszonállatok koronavírusai

Haszonállatok körében a koronavírusok jelentősége a nagy gazdasági károkozásban rejlik, mert gyakran tömeges elhullást okoznak a háziállatok újszülöttjei körében (Cavanagh and Britton, 2008).

A szarvasmarhák koronavírusja által okozott megbetegedés korcsoportonként változó tünetekben jelentkezik. Borjaknál emésztőrendszeri, illetve légzőrendszeri forma fordul elő, idősebb korosztályban a felnőtt marhák téli hasmenése jelentkezik (Park et al., 2007).

A baromfiágazatban a csirke fertőző bronchitise okozhat jelentős veszteségeket. Légzőszervi és reprodukív tünetek mellett a kifejezett vesetropizmust mutató törzsek súlyos vesekárosodást okoznak. Az érintett állományokban a fent említett szervi károsodások miatt a szaporasági mutató csökken, a mortalitás pedig nő (Franzo et al., 2019). A pulykáknak saját koronavírusok van (turkey coronavirus, TCV), mely minden korú pulykában okozhat emésztőrendszeri megbetegedést. A TCV gazdasági károkozása a megnövekedett elhullási arányban és a csökkent súlygyarapodásban rejlik (Ismail et al., 2003).

2.6. A sertés koronavírusai

Rendszertanilag az *Alpha- Beta-* és *Deltacoronavirus* nemzetségekbe tartozik az eddig felfedezett öt sertéskoronavírus: a transzmisszibilis gasztroenteritisz vírus (transmissible gastroenteritis virus, TGEV), a sertés légzőszervi koronavírus (porcine respiratory coronavirus, PRCV), a malacok hemagglutináló koronavírus (porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus, PHEV), a sertés deltakoronavírus (porcine deltacoronavirus, PDCoV) és a PEDV. Ezen vírusok a központi és körzeti idegrendszert, a légző- és emésztőrendszert, valamint az emlőmirigyeket fertőzhetik meg (Saif et al., 2019; Wang et al., 2014). Nem hagyható ki a felsorolásból a sertés enterális koronavírus (swine enteric coronavirus, SeCoV) és a legújabban felfedezett sertés akut hasmenés szindróma koronavírus (porcine enteric alphacoronavirus, PEAV) sem, melyeket azonban a vírusok rendszertanát felügyelő szervezet egyelőre nem tart számon (Boniotti et al., 2016; Fu et al., 2018).

2.6.1. PHEV

A *Betacoronavirus* nemzetségbe tartozó malacok hemagglutináló koronavírus (porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus, PHEV) agy- és gerincvelőgyulladást okozhat (Bakkers et al., 2017). A sertés elsősorban légutakon keresztül fertőződik meg a vírussal, így az első klinikai tünetek a tüszögés, köhögés lehetnek, majd a három hetesnél fiatalabb malacokban hányás, fogyás, valamint idegrendszeri tünetek jelentkezhetnek. Idősebb sertésben a PHEV feltételezhetően légzőszervrendszeri megbetegedést okozhat (Lorbach et al., 2017).

2.6.2. PRCV és TGEV

A PRCV a legtöbb esetben tünetmentes a fertőzött egyedekben, míg a TGEV elhullást eredményező emésztőszervrendszeri megbetegedést okozhat (Saif et al., 2019; Song et al., 2015). Az *Alphacoronavirus* nemzetségbe tartozik a sertés transzmisszibilis gasztroenteritisz vírus (transmissible gastroenteritis virus, TGEV) (Wang et al., 2014). A TGEV súlyos gyomor- és bélgyulladást okozhat szeronegatív sertésekben, tünetei lehetnek a hányás, vízserű hasmenés, valamint a dehidráció. A fent említett tünetek miatt a TEGV magas mortalitást eredményezhet a szopósmalacok körében (Kim et al., 2000; Zhao et al., 2016). A sertés

légzőszervi koronavírus a TGEV deléciós mutánsa. A PRCV terjedésével párhuzamosan a TGEV egyre ritkábban tűnik fel, ennek oka az antigénrokonság és a PRCV által kiváltott, TGEV elleni keresztvédettség lehet. A PRCV önállóan általában szubklinikai fertőzést okoz, viszont vírusos vagy bakteriális társfertőzés esetén súlyos légzőszervi tünetek mutatkozhatnak (Boniotti et al., 2016; Renukaradhya et al., 2010).

2.6.3. PDCoV

A *Deltacoronavirus* nemzetségbe tartozó PDCoV-nak a többi koronavírusnál rövidebb az RNS-e, mindössze 25 kilobázispár alkotja (Song et al., 2015). A vírust 2012-ben, Hongkongban írták le először, sertés rektális tamponmintából mutatták ki, majd Kínában, Koreában, Thaiföldön, az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában is izolálták (Song et al., 2015; Valkó et al., 2018). A PDCoV emésztőrendszeri megbetegedést okozhat malacokban, hányás, súlyos, vízszerű hasmenés és dehidráció lehetnek a tünetei. A PDCoV által okozott betegség miatti mortalitás igen magas lehet a szopósmalacok körében (Song et al., 2015).

2.6.4. Újabb koronavírusok: SeCoV és PEAV

A SeCoV a TGEV és a PEDV rekombinációjából jött létre. A SeCoV génállományát a TGEV adja, de a vírus tüskefehérjét kódoló génszakasz a PEDV-től származik. (Mandelik et al., 2018). A sertés enterális koronavírus először Olaszországban, 2009 júniusában tűnt fel (Boniotti et al., 2016). A SeCoV fő tünetei a malacok körében szintén az étvágytalanság, vízszerű hasmenés, kiszáradás és elhullás mint a PEDV és a TGEV által okozott betegségnél, a halálozási arány viszont a malacoknál mindössze 5-10%, ami alacsonyabb, mint a PEDV és a TGEV esetében (Boniotti et al., 2016; Mandelik et al., 2018).

A PEAV egy újonnan felfedezett sertés koronavírus, amely emésztőrendszeri betegséget okoz. Kínában 2017-ben mutatták ki először egy sertéstelepről, ahol súlyos hasmenést okozott a szopósmalacok körében (Fu et al., 2018).

2.7. A sertések járványos hasmenésének vírusa

A sertések járványos hasmenésének vírusa taxonómiaiilag a *Riboviria* birodalom *Orthornavirae* királyságának *Pisuviricota* törzsében a *Pisoniviricetes* osztály *Nidovirales* rendjének *Coronaviridae* családjába, ezen belül pedig az *Orthocoronavirinae* alcsalád *Alphacoronavirus* nemzetségének *Pedacovirus* alnemzetségébe tartozik (<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>).

2.7.1. A PEDV különböző változatainak elterjedése

A PEDV vírusának két genocsoportját különböztetjük meg, egy alacsony és egy magasabb patogenitását. Az alacsonyabb patogenitású az úgynevezett S-INDEL variáns, a nagyobb megbetegítő képességű pedig a non-S-INDEL variáns. Az S-INDEL név a tüskefehérjét kódoló S génben található inzerciókra és deléciókra utal, melyek a non-S-INDEL variánsban nem találhatóak meg (Brnić et al., 2019; Yamamoto et al., 2015).

A sertések járványos hasmenésének vírusa először Európában, Angliában jelent meg 1971-ben, viszont 1977-ben Belgiumban mutatták ki először, így ezt a PEDV vonalat CV777-nek nevezték el (Gerber et al., 2014; Wang et al., 2016). Az 1980-as és 1990-es években a PED elsősorban Európában volt elterjedt, főleg Franciaországban, Németországban, Belgiumban, Hollandiában és Svájcban. A „járványos hasmenés” elnevezést a vírus az Európában való gyors elterjedése miatt kapta (Song and Park, 2012). A 2000-es évek elején a betegség tisztázatlan okokból ritkává vált, csak Olaszországból jelentettek megbetegedést (Valkó et al., 2018).

Ázsiában Japánban jelent meg először a vírus 1982-ben, majd szétterjedt a környező országokba beleértve Koreát, Kínát, Tájféldet, Tajvant és Vietnámot (Diel et al., 2016). Kínában a PEDV az 1980-as évek óta a legáltalánosabb hasmenést okozó vírussá vált a sertések körében (Wang et al., 2016). Kínában 2010 októberében megjelent a PEDV non-S-INDEL variánsa is, széleskörű járványt okozva, mely óriási gazdasági károkhoz vezetett (Valkó et al., 2017; Wang et al., 2016). Ugyanez a variáns 2013-ban az Amerikai Egyesült Államokban közel 100%-os mortalitást okozott a

szopós malacok körében, hét millió malac hullott el a járványban, ami az USA sertéspopulációjának körülbelül 10%-a volt (Brnić et al., 2019; Diel et al., 2016). Amerikában a magas patogenitású variáns mellett az S-INDEL variáns is megtalálható (Valkó et al., 2017). Az Amerikai Egyesült Államokból a PEDV viszonylag hamar több országba, például Kanadába és Mexikóba is áterjedt (Choudhury et al., 2016). A sertések járványos hasmenésének a vírusa 2014-ben újra megjelent Európában, először Németországban bukkant fel, majd ezt követték a szomszédos országok: Hollandia, Belgium és Ausztria, valamint Ukrajna (Brnić et al., 2019; Choudhury et al., 2016). A PEDV újabb európai elterjedése enyhébb következményekkel járt, mint 2013-ban Amerikában. Ennek oka lehet, hogy Európában többnyire a PEDV S-INDEL variánsa terjedt el, kisebb mortalitást okozva, kivéve Ukrajnában, mivel ott a non-S-INDEL variánsnak is szerepe volt a járvány kitörésében (Brnić et al., 2019).

Magyarországon az első PED járványt 1977-ben jelentették. Évtizedekig jelen volt a PEDV hazánkban, viszont 2009 után csak évekkel később, 2016-ban mutatták ki a vírust Magyarországon, egy malac előállító és hizlaló telepen. A tenyészállatok körében a vírus által okozott morbiditás 100% volt, de elhullás nem történt. Az újszülött malacok fő tünetei között szerepelt a súlyos hasmenés és időnkénti hányás. A kocák körében a PEDV tejtermelésesökkenést okozott, így nem volt elegendő kocatej a beteg malacok folyadékvesztésének pótlására. Az újszülött malacok körében a mortalitás elérte a 30%-ot a járvány végére (Valkó et al., 2017). Magyarországon 2018-ban ismét kimutatták a vírust három különböző sertéstelepről, melyből kettő hizlaló és egy malac előállító és hizlaló telep volt. Az utóbbi telepen a morbiditás a 100%-ot, a mortalitás a 40%-ot is elérte az egy hétnél fiatalabb szopós malacok körében (Valkó et al., 2019). Két sertéstelepről származó szérumminták felhasználásával szerológiai felmérés is történt (Valkó, 2019).

2.7.2. A PEDV ellenállóképessége

A külső tényezők, főleg a hőmérséklet és a pH, nagymértékben meghatározzák a vírus túlélését a környezetben (Tun et al., 2016). Az eddigi kutatások azt mutatják, hogy a sertések járványos hasmenésének vírusa 50 °C-on, valamint 7,2 és 10,2 pH tartományban stabil (Yonghyan Kim et al., 2018). A PEDV trágyában 9 hónapig,

ragályfogó tárgyakon szobahőmérsékleten 35 napig marad fertőzőképes (Jung et al., 2020; Yonghyan Kim et al., 2018). A PEDV képes túlélni 4 °C-on 3 hetet, 12 °C-on 2 hetet és 1 hetet 22 °C-on száradt vérplazmában, ezért a beszáradt plazma fertőzési forrást jelenthet. Mivel a vírusnak kicsi a fertőző dózisa, nagy az ellenállóképessége és nagy mennyiségben ürül a széklettel, a fertőzött trágya megfelelő tárolása, kezelése és felhasználása fontos a további fertőzésmegelőzés szempontjából (Tun et al., 2016). Az egyes anyagokon eltérő ideig marad fertőzőképes a PEDV, például +4 °C polisztirolhabon, alumíniumfólián, védőoverálon, ruhán és műanyagban tovább marad fertőzőképes a vírus, mint gumin, nitril gumikesztyűn, fémen és kartonon. A PEDV túlélőképessége drasztikusan csökken szobahőmérsékleten, az idő múlásával a fertőző vírus mennyisége nem tér el lényegesen egymástól a különböző anyagokon. Mindebből arra lehet következtetni, hogy a raktárhőmérséklet fontos tényező a PEDV túlélése szempontjából (Yonghyan Kim et al., 2018).

2.7.3. A PEDV járványtana

A PED gyorsan terjedő fertőző betegség (Brnić et al., 2019). Közvetlen kontaktuson kívül aeroszollal vagy különböző ragályfogó tárgyakkal is terjedhet, mint például a takarmány, a takarmány szállítására használt eszközök, vagy telepi dolgozók keze, ruhája, lábbelije (Brnić et al., 2019; Jung et al., 2020). Emiatt rendkívül fontos a megfelelő megelőző intézkedések betartása a sertéstelepeken, mivel könnyen juthat át a vírus telepről-telepre, illetve a telep egyes részein belül. A PEDV telepre jutásának megakadályozásának fő elemei a kielégítő takarítás és fertőtlenítés (Brnić et al., 2019; Tun et al., 2016). A PEDV általában kora ősszel, télen okoz járványokat, bár ennek a szezonálisnak az oka ismeretlen (Yonghyan Kim et al., 2018). A vírus terjedése hatékonyabb a non-S-INDEL variáns PEDV esetében az S-INDEL variánshoz képest. A PEDV fertőzés és az általa okozott betegség súlyossága, valamint a PEDV terjedőképessége az adott sertésállomány immunstátuszától és egészségügyi helyzetétől is függ (Jung et al., 2020).

A PEDV minden korú sertést megbetegíthet, viszont az idősebb korosztályokban elhullás általában nem fordul elő, míg a szopósmalacok esetén a mortalitás magas lehet (Gerber et al., 2014). A PEDV általi fertőződés és a tünetek megjelenése közti idő attól

függ, mennyi idős sertésről van szó, szopósmalacok esetében 1 nap, míg a 3 hetes választott malacoknál 3-6 nap. A lappangási idő után a megjelenő tünetek nagyjából 5-10 napig tartanak ezen korosztályokban (Diel et al., 2016). A kor mellett az adott vírustörzs is befolyásolhatja a hasmenés fennmaradásának idejét, mely a non-S-INDEL vonalakkal fertőzött állatoknál általában hosszabb (Jung et al., 2020). Szopósmalacoknál a fertőzés után rövid virémia is kialakul, mely 1-5 napig tarthat. A vírusürítés a bélsárral viszonylag hamar, már a fertőzést követően 1-3 nappal megkezdődik. A fertőzés utáni 24-30. napig kimutatható a bélsárból a PEDV RNS (Diel et al., 2016).

2.7.4. A PEDV kórfejlődése, tünetei, kórbonctana és kórszövettana

A sertés a vírussal szájon át vagy orron keresztül fertőződik (Jung et al., 2020). A PEDV elsősorban a vékonybél bélhámsejtjeit fertőzi meg, így bélsárral és hányadékkal, de akár nyállal is ürülhet (Jung et al., 2020; Li et al., 2007; Tun et al., 2016). Az aeroszol útján terjedő PEDV nem csak a sertés bélhámsejtjeit, hanem az orrjáratok hámsejtjeit is megfertőzheti. A PEDV az orrjáratokból a bélbe vérkeringés útján kerül. Az aeroszollal történő fertőződés során nagyobb vírudózisra van szükség a fertőzés kialakulásához választott malacoknál és kifejlett sertéseknél, mint újszülött malacok esetében (Jung et al., 2020).

A PEDV által okozott betegség tünetei a hányás, az akut, vízszerű hasmenés, kiszáradás, valamint az anorexia (2. ábra). A fertőzött bélhámsejtek nagymértékű funkcióvesztése és elhalása miatt a felszívódás és az emésztés zavart szenved, így alakul ki a hasmenés, ami a hányással együtt dehidrációt eredményez. A hányás indukciójában szerepet kap a szerotonin, a csökkent étvágyat pedig a gyulladás előtti citokinválasz okozza. A malacok esetében bikarbonátvesztés miatt hiperkalémia és acidózis is súlyosbítja a rossz általános állapotot. A szív kontraktilitását rontja az acidózis és a dehidráció. A fertőzött vékonybélhámsejtek közötti kapcsolatok sérülnek, megszűnnek. A bélhámban a kehelysejtek mennyisége drasztikusan csökken, így a mucintermelés mértéke is. A sérült bélhámon társfertőzőként különböző baktériumok telepedhetnek meg, illetve felszívódhatnak allergiás reakciót kiváltó táplálékreszek. A betegséget

túlélrt sertéseknek a fertőzést követő második héten már rendeződhet a bélnyálkahártya integritása és működése (Jung et al., 2020).



2. ábra: Súlyos hasmenés és kiszáradás tünetei szopósmalacokon.
Fotó: Andrea Ladinig, Állatorvostudományi Egyetem, Bécs

A sertések járványos hasmenésének vírusával fertőzött és megbetegedett állatokban az elváltozások a gyomor-béltraktusra korlátozódnak (3. ábra). A kórbonctan során főként a vékonybél, kisebb részben a vastagbél esetében figyelhető meg az elvékonyodott, átlátszó bélfal, amin keresztül híg, sárgás, habos béltartalom látható. Kórszövettan során bélgyulladás és a bélbolyhok atrófiája figyelhető meg. A bélbolyhok megkisebbednek, összeolvadhatnak, bennük esteleg vakuolumok találhatóak, vagy teljesen eltűnnek. A TGEV és a PEDV által okozott betegség tünetei, kórbonctani és kórszövettani elváltozásai nagyrészt megegyeznek, így a pontos diagnózis felállításához laboratóriumi diagnosztikai módszerekre van szükség (Stadler et al., 2015; Valkó et al., 2018).



3. ábra: Malactetemen végzett kórbonctani vizsgálat során megfigyelhető az elvékonyodott, átlátszó bélfal, melyen áttűnik a híg, sárgás béltartalom.
Fotó: Andrea Ladinig, Állatorvostudományi Egyetem, Bécs

2.7.5. A PEDV kórjelzése

Mivel a sertések járványos hasmenésének vírusa gyorsan terjedő, akár súlyos megbetegedést, szopós malacok körében pedig magas mortalitást okozó vírus, így rendkívül fontos a gyors kimutatása annak érdekében, hogy a terjedését meg lehessen akadályozni. Több kórokozó okozhat hasonló hányással, hasmenéssel járó tüneteket, valamint kórbonctani és kórszövettani elváltozásokat, így például a sertések járványos hasmenését a sertés transzmisszibilis gasztroenteritistől és a sertés deltakoronavírus okozta betegségétől ezek alapján nem lehet elkülöníteni. Ahhoz, hogy egy állatot PEDV pozitívnak tekinthessünk, ki kell mutatnunk PEDV fehérjéit, nukleinsavát vagy PEDV elleni antitesteket az érintett sertésből származó mintában (Diel et al., 2016).

Napjainkban a PEDV kimutatására használt módszereket két nagy csoportra oszthatjuk: ellenanyag kimutatásra és víruskimutatásra irányuló módszerekre. Járványkitörés esetén a virológiai diagnosztikai módszerek az elsődlegesen

választandók a PEDV kimutatására. A virológiai kimutatás célja a vírus, annak nukleinsava és fehérjéinek detektálása (Diel et al., 2016). Magyarországon egy ideig az immunfluoreszcenciás diagnosztikai módszert tartották a legalkalmasabbnak a PEDV kimutatására, amelyhez mintaként vékonybél-nyálkahártyakaparekot használtak, viszont ezt a módszert napjainkra korszerűbb technikák váltották le (Valkó et al., 2018). A reverz transzkripció polimeráz-lánreakció (RT-PCR) specifikus, szenzitív és gyors diagnosztikai módszer, mely a PEDV RNS-ét mutatja ki a mintából. A PCR-hez mintaként bélsarat, rektális kenetet, illetve bélszövetet lehet használni (Diel et al., 2016). A PEDV bélsárból való kimutatására kifejlesztettek immunkromatográfias diagnosztikai módszert is. Az immunkromatográfia pár perc alatt kimutatja a PEDV-antigént, így hiába kevésbé érzékeny módszer a PCR-hez képest, de járványkitörés esetén elegendő vírus lehet a bélsármintákban, hogy a telepen helyben alkalmazva hasznos legyen a technika (Valkó et al., 2018). Az ELISA diagnosztikai módszernek többféle változata létezik, ettől függően lehet vele antigént vagy ellenanyagot kimutatni. PEDV esetén direkt ELISA, illetve szendvics ELISA módszerrel a vírusantigént lehet kimutatni. A direkt ELISA hátránya, hogy a vírus kimutathatósága a mintából több tényezőtől függ, például a bélsárminta begyűjtés idejétől, a minta tárolási körülményeitől, a laboratóriumba szállítás módjától és a vírusürítés idejétől. A betegség akut fázisában ürített bélsárból sokkal többször tudták a vírust kimutatni, mint a lappangási és a gyógyulási fázis közben, így a mintát a tünetek megjelenésekor célszerű venni. A direkt ELISA módszerhez általában bélsarat használnak mintaként (Diel et al., 2016).

Annak a felmérésére, hogy adott sertés vagy sertésállomány volt-e már fertőzött a vírussal, a szervezet válaszreakciója miatt termelődött ellenanyagok kimutatásán alapuló vizsgálati módszerek alkalmasak. A PED vírusának egy szerotípusa ismeretes. A beteg sertés vérérumában a fertőzés utáni 6-14. napon jelennek meg a PEDV-specifikus ellenanyagok. Az immunválasz során az ellenanyagok a PEDV N- és S- fehérjéi ellen termelődnek. Az N- és S- specifikus IgM típusú ellenanyagok mennyisége a fertőzést követő 21. napig lecsökken a fertőzés előtti szintre. Az anti-N IgG ellenanyagok válaszkészsége a fertőzés utáni 43. napig megmarad. Az IgA antitestek és a neutralizáló PEDV ellenanyagok a fertőzést követően 6 hónapig tartják a szintjüket. Ezek az információk a PEDV fertőzésről és a gazdaszervezet

immunválaszáról fontosak a mintagyűjtés idejének meghatározása és a tesztelés szempontjából (Diel et al., 2016).

2.7.6. A PEDV elleni védekezés

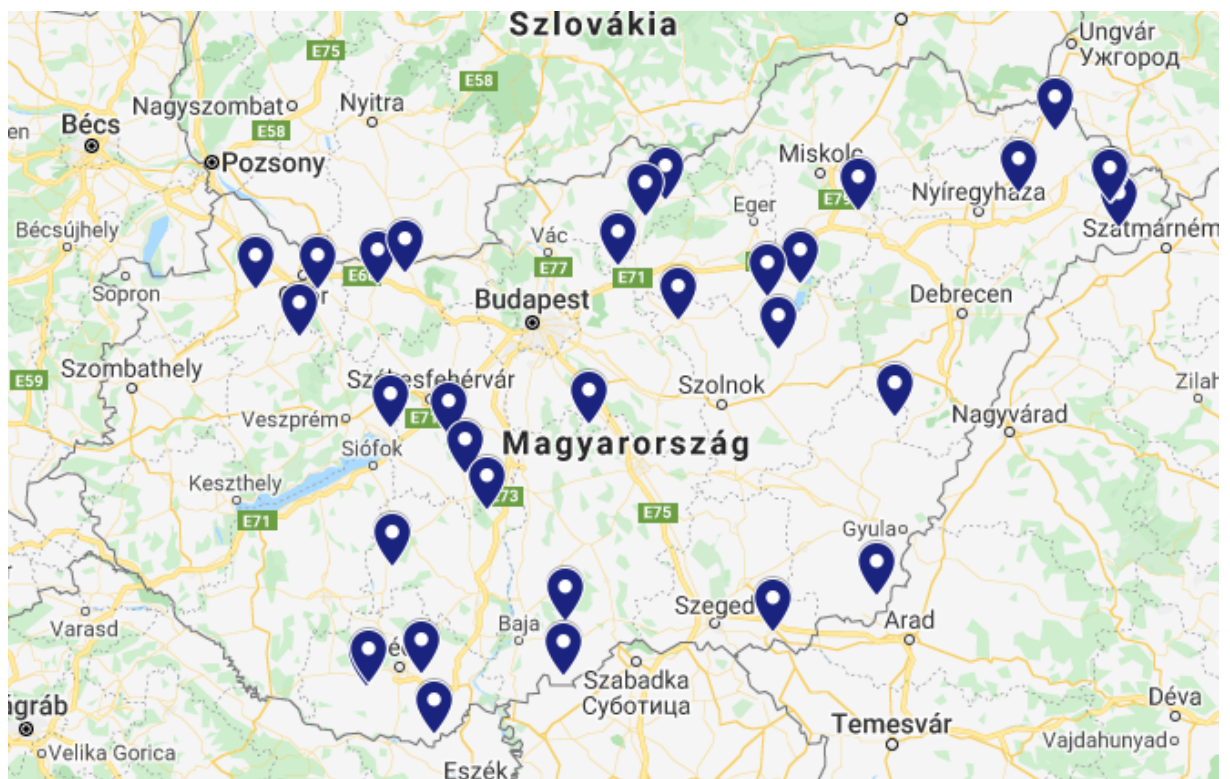
Amerikában 2014 elején került piacra az első feltételesen engedélyezett vakcina a sertések járványos hasmenése ellen, néhány évvel később pedig már elérhetővé váltak RNS partikulán alapuló és inaktivált PEDV vakcinák is. Ezen vakcinák a korábban fertőzött sertésállományokban hatékonyak, viszont azon sertések esetében, amelyek még nem találkoztak életük folyamán a kórokozóval, a vakcinázás sokszor eredménytelen volt (Opriessnig et al., 2017). Ennek ellenére, ugyan erősebb enterális helyi immunitást lehet elérni, ha szájon át élő vírust juttatunk az állat szervezetébe, mégis biztonságosabb inaktivált PEDV elleni vakcinát adni izomba, mivel az attenuált vírus visszanyerheti virulenciáját (Opriessnig et al., 2017; Valkó et al., 2018). Ázsiában parenterálisan vagy per os adható, attenuált vakcinákat alkalmaznak évek óta. Európában PEDV elleni vakcina hivatalosan nem kapható (Valkó et al., 2018).

Fontos a vemhes kocák immunizálása a PEDV ellen ahhoz, hogy minimalizáljuk a szopós malacok elhullási arányát. Az orálisan fertőzött kocák esetében a PEDV-specifikus IgA ellenanyagok és a B-memóriasejtek a főcstej alkotórészeként fontos szerepet játszanak a malacok számára biztosított maternális immunitásban (Jung et al., 2020). Ahhoz, hogy megértsük a betegség emésztőrendszeri kórfejlődését és vakcinákat fejlesszünk ellene, a betegség kialakulásának és terjedésének megelőzése érdekében, új megközelítésekre van szükség. Ilyen újszerű megoldás lehetne genetikailag módosított vírusok létrehozása, például az interferon antagonist nsp1, 15 és 16 génekben mutáció kialakításával. Az ennek eredményeként keletkező attenuált vírusok immunválaszt indukálnak, de hasmenést nem okoznak. Ez a stratégia megfelelő lehet mind az emésztőrendszeri koronavírusok, mind a SARS-CoV-2 okozta betegség kialakulásának és terjedésének megelőzésére (Deng et al., 2020). Függetlenül attól, hogy nagyobb vagy alacsonyabb patogenitású genotípusról van szó, a PEDV letális lehet az immunitás hiányával vagy alacsony immunitással rendelkező sertések esetében, ezért is fontos az új, hatékonyabb és biztonságos vakcinák kifejlesztése (Jung et al., 2020).

3. Anyag és módszer

3.1. A minták eredete

Magyarország 15 megyéjének 33 sertéstelepéről (4. ábra) származott az a 327 vérsavóminta, amelyet bevontunk a vizsgálatunkba. Szabolcs-Szatmár-Bereg megyében 5 telepről, Baranya megyében 4 telepről származtak a minták, de a 4. ábrán a telepek közelsége miatt csak 1-1 pont látható. A vérmintákat 2018-2019-ben vették a sertésektől. A mintákat a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatósága (NÉBIH-ÁDI) biztosította számunkra. Az egyes telepekről 10 mintát használtunk fel kettő telep kivételével, ahonnan nem érkezett összesen 10 minta, így ezek esetén 8, illetve 9 mintát használtunk fel. A vérsavóminták ismeretlen korosztályú sertésektől származtak.



4. ábra: A vizsgálatba bevont minták származási helyei.

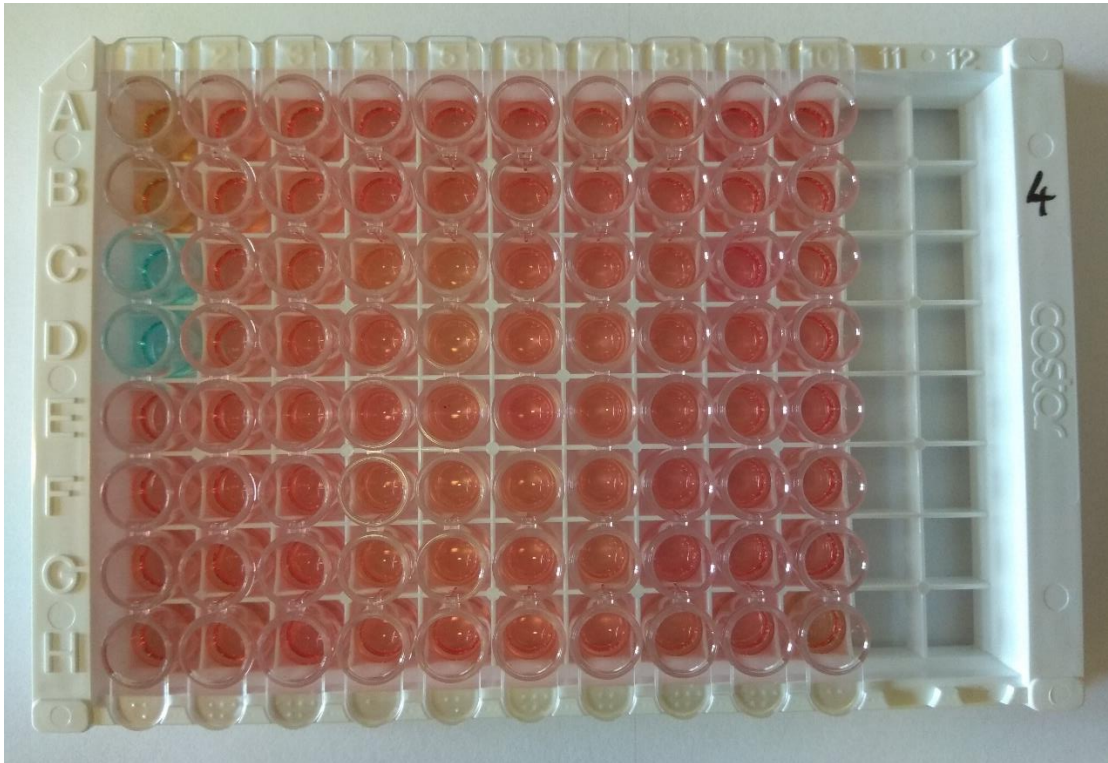
3.2. A kimutatás technikai alapjai

A szérummintákból a PEDV-specifikus ellenanyagok kimutatásához egy indirekt ELISA módszert alkalmaztunk, melyhez az INgezim PEDV tesztet (Eurofins Technologies Ingenasa, Madrid) használtuk - alapvetően - a gyártó utasításai alapján, minimális eltéréssel.

A módszer alapja az immunogén S fehérje, mely a polisztirén lemezeken tisztított, rekombináns antigénként van fixálva. Abban az esetben, ha a vérszérummintában specifikus antitest található a PEDV ellen, az ellenanyagok a fixált rekombináns antigénekhez kötődnek. A megmaradt, nem kötődő anyagok lemosását követően a kötődött ellenanyagokat specifikus peroxidáz konjugátummal lehet kimutatni. A hozzáadott szubsztrát a peroxidáz konjugátum hatására színes terméké alakul, a kialakult színreakció pedig spektrofotométerrel mérhető. Tehát a fixált rekombináns antigénekhez kötődött ellenanyagok jelenlétét a színintenzitás alapján lehet elbírálni. Megfelelő ellenanyagszint felett a vérsavóminta pozitív a PEDV fertőzöttségre.

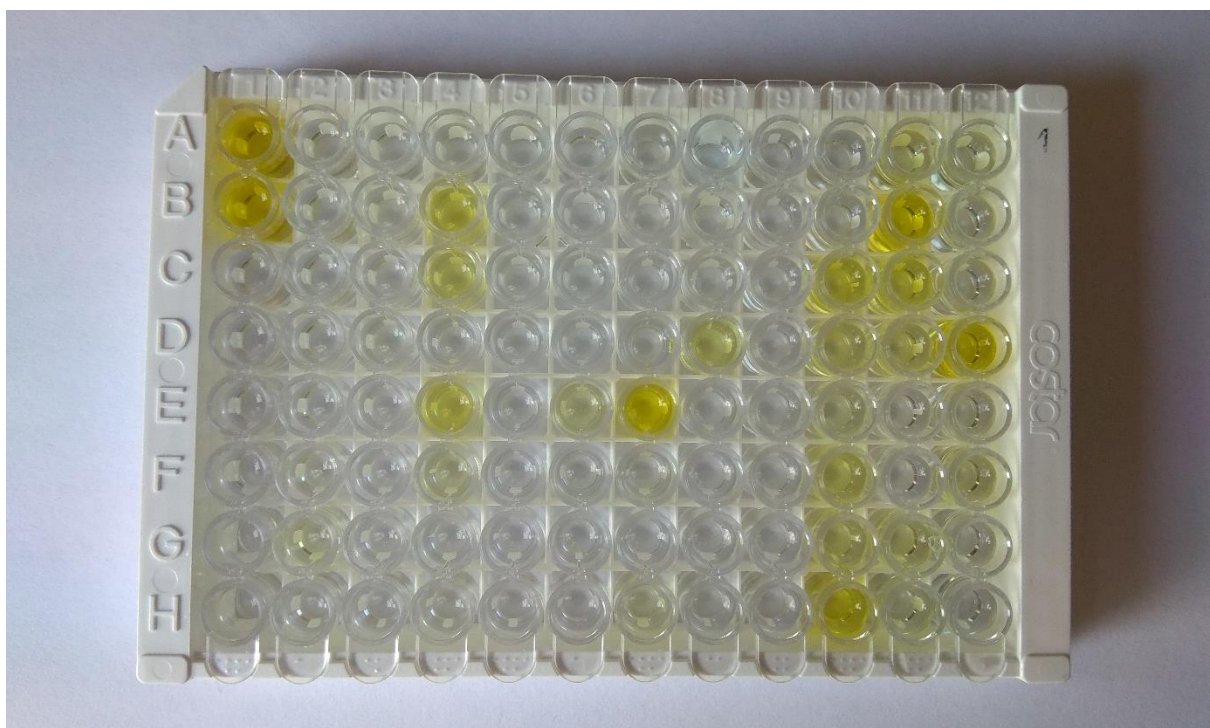
3.3. A kimutatás folyamata

A teszt előtt a vírus kimutatásához szükséges reagenseket a felhasználásig +4 °C-on, a vérsavókat pedig -20 °C-on tároltuk. A vizsgálatok előtt a reagenseket és a vérsavómintákat szobahőmérsékletre melegítettük (24 °C). A technikailag könnyebb mérés érdekében az 1:100 arányú hígítás kialakításához az INgezim PEDV kit leírásától eltérően nem 1 µl savómintát mértünk ki pipettával 100 µl hígítófolyadékhoz, hanem 300 µl hígítófolyadékhoz adtunk 3 µl szérummintát egy külön hígító lemezen. Az antigénhez kapcsolt antitestet tartalmazó lemez első oszlopának két mélyedésébe 200-200 µl pozitív kontroll folyadékot és az ezt követő második két mélyedésbe ugyanennyi negatív kontrollfolyadékot mértünk. A többi mélyedésbe 200 µl 1:100 arányú hígított savót mértünk (5. ábra), majd ezután a lemezt 60 percre 37 °C-os termosztátba helyeztük.



5. ábra: Egy lemez a hígított savóminták és a kontrollok bemérése után.

Az inkubációs idő letelte után a lemez tartalmát háromszor mostuk mosófolyadékkal melyhez a gyártó által biztosított koncentrátumból 40 ml oldatot 960 ml desztillált vízzel hígítottunk. Mosást követően 200-200 μ l ellenanyag specifikus konjugátumot mértünk a lemezre, majd 30 percre 37 °C-os termosztátba helyeztük. Az inkubálást követően ismét háromszori mosást végeztünk, majd 200-200 μ l szubsztrát oldatot mértünk a lemezre, melyet szobahőmérsékleten 15 percre sötétbe helyeztünk. Utolsó lépésként leállító oldatot mértünk a lemezre a fehérjék denaturálása, ezáltal az enzimatis reakció megszüntetése érdekében (6. ábra). A lemezt ELISA-olvasóba raktuk és a színintenzitás mértékét 450 nm hullámhosszú monokromatikus sugárzás segítségével mértük meg.

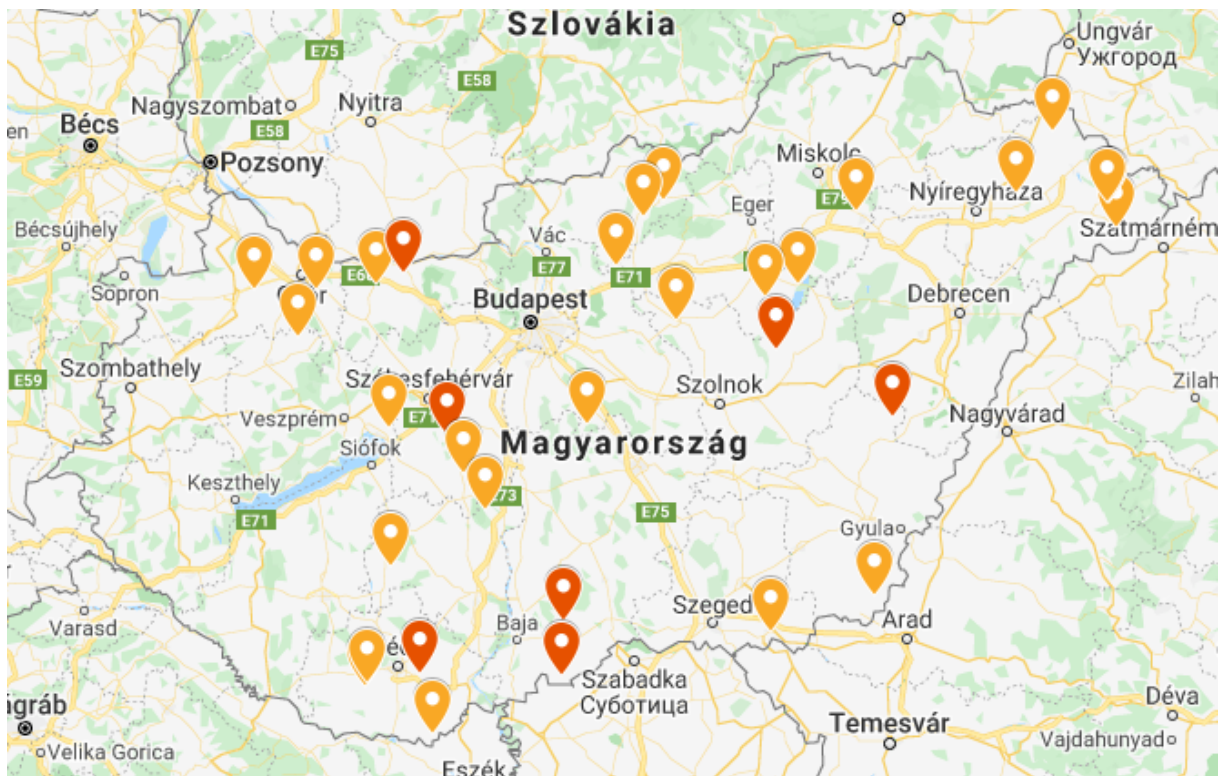


6. ábra: Egy lemez a leállító oldat hozzáadása után.

4. Eredmények

4.1. A felmérés eredménye

A vizsgált 33 telepről 7 telepen fordult elő PEDV-pozitív minta (lásd 7. ábra).



7. ábra: Magyarország térképén sárgával vannak jelölve azok a mintavételi pontok, ahol a vizsgált minták PEDV negatívak lettek, a pirossal jelölt mintavételi pontokról származó minták közül lett PEDV pozitív.

A vizsgált 327 szérummintának a 3,67%-a, tehát mindössze 12 db lett pozitív eredményű a fent említett ELISA módszerrel vizsgálva.

A pozitív minták megyék szerinti megoszlását az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat: A vizsgált minták számának megoszlása megyék szerint az összes és a PEDV pozitív minták tekintetében.

Sorszám	Megye	Mintaszám	Pozitív minták száma
1.	Baranya megye	40	1
2.	Bács-Kiskun megye	20	3
3.	Békés megye	20	4
4.	Borsod-Abaúj-Zemplén megye	8	0
5.	Csongrád megye	10	0
6.	Fejér megye	20	2
7.	Győr-Moson-Sopron megye	20	0
8.	Heves megye	20	0
9.	Jász-Nagykun-Szolnok megye	20	1
10.	Komárom-Esztergom megye	20	1
11.	Nógrád megye	20	0
12.	Pest megye	20	0
13.	Szabolcs-Szatmár-Bereg megye	49	0
14.	Tolna megye	20	0
15.	Veszprém megye	20	0
<u>Összesen</u>		<u>327</u>	<u>12</u>

5. Megbeszélés

Észak-Amerikában ritkábbá vált a PEDV előfordulása 2016 és 2017 között, ami elsősorban a szigorú járványvédelemnek és a sertések orális immunizálásának köszönhető. Ázsiában viszont napjainkban is rendszeresek a PEDV járványkitörések, az inaktivált és az attenuált vakcinákkal való immunizálás ellenére (Sun et al., 2019). Európában a PEDV S-INDEL variánsa 2014 óta jelen van, kimutatták Portugáliában, Olaszországban, Franciaországban, Németországban, Belgiumban, Ausztriában, Szerbiában, Ukrajnában és Magyarországon is (Masiuk et al., 2019). Azok az országok, ahonnan élő sertést importálunk, illetve Ausztria, Szerbia, Ukrajna és Horvátország szomszédos ország révén aggályos lehet a PEDV behurcolása szempontjából. Németországban 2019-ben egy sertéstelepen kitört PEDV járvány miatt PEDV genom szekvenálást végeztek és megállapították, hogy az érintett telepen megjelent vírus genetikailag 98,8%-ban megegyezett a magyarországi és franciaországi vírussal (Karte et al., 2020). Ez az eset is szemlélteti, hogy a PEDV különböző variánsai a kontinensen cirkulálnak és újabb járványkitöréseket okozhatnak, ezért továbbra is fontosak a vírussal kapcsolatos kutatások.

Magyarországon 1977-ben mutatták ki először a PED vírusát. Az európai tendenciákhoz hasonlóan fertőzött sertéseket a 2000-es évek elején ritkán találtak, majd 2016-ban és 2018-ban újabb eseteket írtak le. A 2018-ban érintett három telep közül kettő esetén vérsavómintákat is begyűjtöttek. A minták felhasználásával szerológiai felmérés készült PEDV specifikus ellenanyagok kimutatása céljából, melyet Dr. Valkó Anna PhD értekezésében írt le. A felméréshez szintén az INgezim PEDV tesztet alkalmazták, mely indirekt ELISA módszeren alapul. Az egyik telep esetében 40 mintából 34 (85%), a másik telep 25 vérmintájából pedig az összes (100%) tartalmazott PEDV specifikus ellenanyagokat (Valkó, 2019). Ehhez képest a diplomadolgozatom során végzett felmérés eredményeként a vizsgált vérsavóminták mindössze 3,67%-a lett PEDV pozitív, alacsonyabb PEDV előfordulást mutat napjainkban hazánkban. Mindez arra utal, hogy a 2018 során leírt három esetet sikerült megfelelő módon elszigetelni és felszámolni, így a PEDV nem terjedt el jelentős mértékben hazánkban.

Horvátország sertésállományaiban is megjelent a PEDV S-INDEL genotípusa 2016-ban. Ezt követően egy 2017-es felmérés alkalmával 44 telepről összesen 397 sertés vérmintát vettek. A szerológiai felméréshez ID Screen PEDV indirekt ELISA tesztet (IDVet, Franciaország) használtak. A vizsgált vérminták 15,62%-a, tehát 62 db lett PEDV IgG-pozitív. A PEDV elleni antitestek válaszkészsége a fertőzést követően nem tart hosszú ideig, az IgG ellenanyagválasz csak a 43. napig marad meg, így valószínűleg a 2017-es horvátországi felmérés nem mutatott ki minden vizsgált PEDV esetet, mivel a járványkitörés és a mintagyűjtés között több, mint egy év telt el (Brnić et al., 2019). A kapott eredményt befolyásolhatta az is, hogy a rövid ideig fennmaradó ellenanyagválasz ellenére a PEDV elleni immunitás több, mint hét hónapig fennmaradhat, így ezen az időtartományon belül a fertőzésen átesett sertések nem betegedtek meg újra a vírussal (Goede et al., 2015). Ennek az az oka, hogy a PEDV ellen sejtis immunitás is véd, a naiv T-sejtek citotoxikus és helper T-sejtekké alakulnak és így részt vesznek a vírussal fertőzött sejtek eltávolításában (Jung et al., 2020). Viszont a kapott eredmény így is több, mint négyszer akkora PEDV átfertőzöttséget mutat Horvátországban Magyarország 3,67%-os eredményéhez képest.

Európa más országában nem találtam közelmúltban végzett szerológiai felmérést a PEDV elterjedtségével kapcsolatban. Ennek az lehet az oka, hogy Európában az alacsonyabb patogenitású PEDV terjedt el, mely nem okozott nagyobb járványokat, így nem tartottak jelentősnek ilyen irányú további vizsgálatokat. Ugyanakkor, Magyarországon a 2018. évi három PEDV eset indokolta a kiterjedtebb szerológiai felmérést, melynek az eredménye alapján viszont valószínűsíthető, hogy sem tovább terjedés, sem behurcolás következményeként nem fordult elő több jelentősebb eset ezeken kívül hazánkban.

Az általunk vizsgált sertésletelek adatai alapján úgy gondoljuk, hogy a magyar sertésállományok valószínűleg nem rendelkeznek kellő immunológiai védettséggel a PEDV tekintetében. Az immunitás az alacsony ellenanyag szint ellenére hosszabb lehet, viszont ez az immunitás is csak hónapokban mérhető, így tulajdonképpen minden évben veszélyt jelenthet egy újabb vírustörzs behurcolása az országba.

6. Összefoglalás

A sertéságazatban jelentős gazdasági károkozásuk révén komoly problémát jelentenek a gyomor- és bélbetegségek. Sertések esetén az emésztőrendszeri kórokozók fontos képviselői a koronavírusok, melyek közül kiemelendő a sertések járványos hasmenésének vírusa (porcine epidemic diarrhoea virus, PEDV). Diplomadolgozatom célja az volt, hogy bemutassam a PEDV-vel kapcsolatos jelenlegi tudományos ismereteket és felmérjem a vírus Magyarországon való elterjedtségét szerológiai vizsgálat segítségével.

A PEDV-et először 1971-ben, Angliában mutatták ki, ahonnan gyorsan elterjedt, Európa-szerte járványokat okozva. Magyarországon először 1977-ben mutatták ki, majd az 1990-es évekre ritkává vált, míg újból meg nem jelent a PEDV alacsonyabb patogenitású változata egy-egy állományban 2009-ben és 2016-ban, majd három sertéstelepen 2018-ban. Ezen esetek miatt szerológiai vizsgálatot terveztünk annak a felmérésére, hogy milyen az átfertőzöttség mértéke az országban.

Magyarország 15 megyéjének 33 sertéstelepeiről származtak a vérsavóminták, melyeket a Nemzeti Élelmiszerlánc-Biztonsági Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatósága biztosított számunkra. Az összesen 327 darab mintán ELISA próbát végeztünk a PEDV-specifikus ellenanyagok kimutatása céljából.

A felmérés eredményeként a vizsgált minták mindössze 3,67%-os PEDV pozitivitást mutattak, mely arra utal, hogy a PEDV előfordulása hazánkban nem számottevő. Napjainkban számos európai országban jelen lehet a PEDV: Portugáliában, Olaszországban, Franciaországban, Németországban, Belgiumban, Ausztriában, Horvátországban, Szerbiában és Ukrajnában. Az érintett országokból való sertésimport és a szomszédos országok fertőzött sertésállományai kockázatot jelenthetnek a PEDV hazánkba való behurcolásában, tekintettel arra, hogy Magyarország sertésállományai immunológiai szempontból fogékonyak tűnnek a betegségre.

7. Summary

Gastrointestinal diseases represent a significant problem in the swine industry, causing huge economic losses. Coronaviruses are important pathogens of the gastrointestinal tract in swine, from which porcine epidemic diarrhoea virus (PEDV) should be emphasized. The aim of my thesis was to present the current scientific knowledge of PEDV and assess the frequency of the virus in Hungary by conducting a serological study.

PEDV first appeared in England in 1971 and spread rapidly to other European countries, causing outbreaks. PEDV was reported first in Hungary in 1977, then it has become rare by the 1990s, until the lower pathogenic variant of PEDV reappeared in one herd in 2009, in another one in 2016 and three other farms in 2018. Due to these cases, we have planned a serological examination to determine the rate of infection of the country.

Serum samples were collected from 33 swine farms in 15 county of Hungary and provided by the National Food Chain Safety Office, Veterinary Diagnostic Directorate. A total of 327 samples were tested by ELISA to detect PEDV specific antibodies.

The results of the study showed only 3,67% PEDV positivity of the examined samples suggesting low prevalence of PEDV in Hungary. Nowadays, PEDV may be found in several countries of Europe: Portugal, Italy, France, Germany, Belgium, Austria, Croatia, Serbia and Ukraine. The import of pigs from the affected countries and the infected farms of neighbouring countries may pose a risk of introducing the virus to Hungary, since Hungarian swine herds seem to be susceptible to the disease from an immunological viewpoint.

8. Irodalomjegyzék

- Arora, P., Jafferany, M., Lotti, T., Sadoughifar, R., Goldust, M., 2020. Learning from history: Coronavirus outbreaks in the past. *Dermatologic Therapy* 1–2. <https://doi.org/10.1111/dth.13343>
- Bakkers, M.J.G., Lang, Y., Feitsma, L.J., Hulswit, R.J.G., de Poot, S.A.H., van Vliet, A.L.W., Margine, I., de Groot-Mijnes, J.D.F., van Kuppeveld, F.J.M., Langereis, M.A., Huizinga, E.G., de Groot, R.J., 2017. Betacoronavirus Adaptation to Humans Involved Progressive Loss of Hemagglutinin-Esterase Lectin Activity. *Cell Host & Microbe* 21, 356–366. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.02.008>
- Barros, I.N., Silva, S.O.S., Nogueira Neto, F.S., Asano, K.M., Souza, S.P., Richtzenhain, L.J., Brandao, P.E., 2013. A Multigene Approach for Comparing Genealogy of *Betacoronavirus* from Cattle and Horses. *The Scientific World Journal* 2013, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2013/349702>
- Boniotti, M.B., Papetti, A., Lavazza, A., Alborali, G., Sozzi, E., Chiapponi, C., Faccini, S., Bonilauri, P., Cordioli, P., Marthaler, D., 2016. Porcine Epidemic Diarrhea Virus and Discovery of a Recombinant Swine Enteric Coronavirus, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 22, 83–87. <https://doi.org/10.3201/eid2201.150544>
- Brnčić, D., Šimić, I., Lojkić, I., Krešić, N., Jungić, A., Balić, D., Lolić, M., Knežević, D., Hengl, B., 2019. The emergence of porcine epidemic diarrhoea in Croatia: molecular characterization and serology. *BMC Vet Res* 15, 249. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2002-x>
- Cavanagh, D., Britton, P., 2008. Coronaviruses: General Features, in: *Encyclopedia of Virology*. Elsevier, pp. 549–554. <https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00370-8>
- Choudhury, B., Dastjerdi, A., Doyle, N., Frossard, J.-P., Steinbach, F., 2016. From the field to the lab — An European view on the global spread of PEDV. *Virus Research* 226, 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.09.003>
- Daryai, U.G., Deore, K.G., Deore, P.R., Imran, M., Bairagi, V.A., Patil, P.V., 2020. Corona Virus (Covid-19) Pandemic: A Systematic Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 12.4 516–523.
- Deng, X., Buckley, A.C., Pillatzki, A., Lager, K.M., Faaberg, K.S., Baker, S.C., 2020. Inactivating Three Interferon Antagonists Attenuates Pathogenesis of an Enteric

- Coronavirus. J Virol JVI.00565-20, jvi;JVI.00565-20v1.
<https://doi.org/10.1128/JVI.00565-20>
- Diel, D.G., Lawson, S., Okda, F., Singrey, A., Clement, T., Fernandes, M.H.V., Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., 2016. Porcine epidemic diarrhea virus: An overview of current virological and serological diagnostic methods. *Virus Research* 226, 60–70. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.05.013>
- Franzo, G., Legnardi, M., Tucciarone, C.M., Drigo, M., Martini, M., Cecchinato, M., 2019. Evolution of infectious bronchitis virus in the field after homologous vaccination introduction. *Vet Res* 50, 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13567-019-0713-4>
- Fu, X., Fang, B., Liu, Y., Cai, M., Jun, J., Ma, J., Bu, D., Wang, L., Zhou, P., Wang, H., Zhang, G., 2018. Newly emerged porcine enteric alphacoronavirus in southern China: Identification, origin and evolutionary history analysis. *Infection, Genetics and Evolution* 62, 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.04.031>
- Gerber, P.F., Gong, Q., Huang, Y.-W., Wang, C., Holtkamp, D., Opriessnig, T., 2014. Detection of antibodies against porcine epidemic diarrhea virus in serum and colostrum by indirect ELISA. *The Veterinary Journal* 202, 33–36. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.07.018>
- Goede, D., Murtaugh, M.P., Nerem, J., Yeske, P., Rossow, K., Morrison, R., 2015. Previous infection of sows with a “mild” strain of porcine epidemic diarrhea virus confers protection against infection with a “severe” strain. *Veterinary Microbiology* 176, 161–164. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.12.019>
- Ismail, M.M., Tang, Y., Saif, Y.M., 2003. Pathogenicity of Turkey Coronavirus in Turkeys and Chickens. *Avian Diseases* 47, 515–522. <https://doi.org/10.1637/5917>
- Jung, K., Saif, L.J., Wang, Q., 2020. Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV): An update on etiology, transmission, pathogenesis, and prevention and control. *Virus Research* 286, 198045. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198045>
- Karte, C., Platje, N., Bullermann, J., Beer, M., Höper, D., Blome, S., 2020. Re-emergence of porcine epidemic diarrhea virus in a piglet-producing farm in northwestern Germany in 2019. *BMC Vet Res* 16, 1–6. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02548-4>
- Kim, L., Hayes, J., Lewis, P., Parwani, A.V., Chang, K.O., Saif, L.J., 2000. Molecular characterization and pathogenesis of transmissible gastroenteritis coronavirus (TGEV) and porcine respiratory coronavirus (PRCV) field isolates co-circulating in a swine herd. *Arch. Virol.* 145, 1133–1147. <https://doi.org/10.1007/s007050070114>

- Kocherhans, R., Bridgen, A., Ackermann, M., Tobler, K., 2001. Completion of the Porcine Epidemic Diarrhoea Coronavirus (PEDV) Genome Sequence. *Virus genes* 23.2 137–144.
- Lee, C., 2015. Porcine epidemic diarrhea virus: An emerging and re-emerging epizootic swine virus. *Virol J* 12, 193. <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0421-2>
- Li, B.X., Ge, J.W., Li, Y.J., 2007. Porcine aminopeptidase N is a functional receptor for the PEDV coronavirus. *Virology* 365, 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.03.031>
- Lorbach, J.N., Wang, L., Nolting, J.M., Benjamin, M.G., Killian, M.L., Zhang, Y., Bowman, A.S., 2017. Porcine Hemagglutinating Encephalomyelitis Virus and Respiratory Disease in Exhibition Swine, Michigan, USA, 2015. *Emerg. Infect. Dis.* 23, 1168–1171. <https://doi.org/10.3201/eid2307.170019>
- Lounis, M., 2020. Why should veterinarians be involved in the struggle against COVID-19? *Open Veterinary Journal* 3.
- Mandelik, R., Sarvas, M., Jackova, A., Salamunova, S., Novotny, J., Vilcek, S., 2018. First outbreak with chimeric swine enteric coronavirus (SeCoV) on pig farms in Slovakia – lessons to learn. *Acta Veterinaria Hungarica* 66, 488–492. <https://doi.org/10.1556/004.2018.043>
- Masiuk, D.N., Hlebeniuk, V.V., Kokariev, A.V., Vasylenko, T.A., 2019. Molecular characteristics of the Porcine Epidemic Diarrhea Virus strains isolated in different regions of Ukraine. *Biopolym. Cell* 35, 486–494. <https://doi.org/10.7124/bc.000A1B>
- Opriessnig, T., Gerber, P.F., Shen, H., de Castro, A.M.M.G., Zhang, J., Chen, Q., Halbur, P., 2017. Evaluation of the efficacy of a commercial inactivated genogroup 2b-based porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) vaccine and experimental live genogroup 1b exposure against 2b challenge. *Vet Res* 48, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0472-z>
- Park, S.J., Kim, G.Y., Choy, H.E., Hong, Y.J., Saif, L.J., Jeong, J.H., Park, S.I., Kim, H.H., Kim, S.K., Shin, S.S., Kang, M.I., Cho, K.O., 2007. Dual enteric and respiratory tropisms of winter dysentery bovine coronavirus in calves. *Arch Virol* 152, 1885–1900. <https://doi.org/10.1007/s00705-007-1005-2>
- Renukaradhya, G.J., Alekseev, K., Jung, K., Fang, Y., Saif, L.J., 2010. Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus–Induced Immunosuppression Exacerbates the Inflammatory Response to Porcine Respiratory Coronavirus in Pigs. *Viral Immunology* 23, 457–466. <https://doi.org/10.1089/vim.2010.0051>

- Saif, L.J., Wang, Q., Vlasova, A.N., Jung, K., Xiao, S., 2019. Coronaviruses, in: Diseases of Swine. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 488–523. <https://doi.org/10.1002/9781119350927.ch31>
- Song, D., Park, B., 2012. Porcine epidemic diarrhoea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines. *Virus Genes* 44, 167–175. <https://doi.org/10.1007/s11262-012-0713-1>
- Song, D., Zhou, X., Peng, Q., Chen, Y., Zhang, F., Huang, T., Zhang, T., Li, A., Huang, D., Wu, Q., He, H., Tang, Y., 2015. Newly Emerged Porcine *Deltacoronavirus* Associated With Diarrhoea in Swine in China: Identification, Prevalence and Full-Length Genome Sequence Analysis. *Transbound Emerg Dis* 62, 575–580. <https://doi.org/10.1111/tbed.12399>
- Stadler, J., Zoels, S., Fux, R., Hanke, D., Pohlmann, A., Blome, S., Weissenböck, H., Weissenbacher-Lang, C., Ritzmann, M., Ladinig, A., 2015. Emergence of porcine epidemic diarrhea virus in southern Germany. *BMC Vet Res* 11, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0454-1>
- Sun, Y., Chen, Y., Han, X., Yu, Z., Wei, Y., Zhang, G., 2019. Porcine epidemic diarrhea virus in Asia: An alarming threat to the global pig industry. *Infection, Genetics and Evolution* 70, 24–26. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.02.013>
- Tun, H.M., Cai, Z., Khafipour, E., 2016. Monitoring Survivability and Infectivity of Porcine Epidemic Diarrhea Virus (PEDv) in the Infected On-Farm Earthen Manure Storages (EMS). *Front. Microbiol.* 7, 265. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00265>
- Valkó A., 2019. Vírusok okozta komplex oktanú enterális megbetegedések sertésekben, különös tekintettel a koronavírusra. p. 114.
- Valkó, A., Albert, E., Cságola, A., Varga, T., Kiss, K., Farkas, R., Rónai, Z., Biksi, I., Dán, Á., 2019. Isolation and characterisation of porcine epidemic diarrhoea virus in Hungary – Short communication. *Acta Veterinaria Hungarica* 67, 307–313. <https://doi.org/10.1556/004.2019.031>
- Valkó, A., Biksi, I., Cságola, A., Tuboly, T., Kiss, K., Ursu, K., Dán, Á., 2017. Porcine epidemic diarrhoea virus with a recombinant S gene detected in Hungary, 2016. *Acta Veterinaria Hungarica* 65, 253–261. <https://doi.org/10.1556/004.2017.025>
- Valkó A., Tuboly T., Cságola A., 2018. A sertések enterális koronavírussai. *Magyar állatorvosok lapja* 140, 207–216.
- Wang, D., Fang, L., Xiao, S., 2016. Porcine epidemic diarrhea in China. *Virus Research* 226, 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.05.026>

- Wang, L., Byrum, B., Zhang, Y., 2014. Detection and Genetic Characterization of Deltacoronavirus in Pigs, Ohio, USA, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* 20, 1227–1230. <https://doi.org/10.3201/eid2007.140296>
- Yamamoto, R., Soma, J., Nakanishi, M., Yamaguchi, R., Niinuma, S., 2015. Isolation and experimental inoculation of an S INDEL strain of porcine epidemic diarrhea virus in Japan. *Research in Veterinary Science* 103, 103–106. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.09.024>
- Yonghyan Kim, Venkatramana Krishna, Montserrat Torremorell, Sagar Goyal, Maxim Cheeran, 2018. Stability of Porcine Epidemic Diarrhea Virus on Fomite Materials at Different Temperatures. *Veterinary Sciences* 5, 21. <https://doi.org/10.3390/vetsci5010021>
- Zhao, Z.-P., Yang, Z., Lin, W.-D., Wang, W.-Y., Yang, J., Jin, W.-J., Qin, A.-J., 2016. The rate of co-infection for piglet diarrhea viruses in China and the genetic characterization of porcine epidemic diarrhea virus and porcine kobuvirus. *av* 60, 55–61. https://doi.org/10.4149/av_2016_01_55
- Zhong, N., Zheng, B., Li, Y., Poon, L., Xie, Z., Chan, K., Li, P., Tan, S., Chang, Q., Xie, J., Liu, X., Xu, J., Li, D., Yuen, K., Peiris, J., Guan, Y., 2003. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *The Lancet* 362, 1353–1358. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14630-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14630-2)
- URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>, megtekintés időpontja: 2020. 08. 11.

9. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Dr. Valkó Anna témavezetőmnek a szakdolgozat során adott sok segítségét, hasznos ötleteit és jó tanácsait.

Köszönöm a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóságának, hogy biztosították számunkra a szakdolgozathoz szükséges sertés vérsavómintákat.

HuVetA
ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: Ullege Attila
Elérhetőség (e-mail cím): attaliv.ullege@gmail.com
A feltöltendő mű címe: Sertőzet gyomlányos hasmenésének morfológiai felmérése Magyarországon
A mű megjelenési adatai: 2020
Az átadott fájlok száma: 1

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltatja a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyezik, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrészt mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel):

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címekre) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:



Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénytörtő módon visszaélne.

Budapest, 2020. év11.....hó ...10...nap



aláírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archivum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutjra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltatssa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*

Konzulensi ellenjegyzés

Alulírott *Dr. Valsó Anna* Igazolom, hogy
..... *Szűcs Katalin* (a hallgató neve)
..... *Sertősz gombájos hasmenéseszes zoológiai*
..... *felismerése Magyarországon* című

diplomamunkáját ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2020 NOVEMBER 11.

[Handwritten signature]

Alíírás

.....
gombáztani és mikrobiológiai
.....

Tanszék