

**Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**

A sertés circovírusok evolúciója

PhD értekezés tézisei

dr. Lőrincz Márta

2014

Témavezető és témabizottsági tagok:

Dr. Tuboly Tamás, egyetemi tanár
Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék
témavezető

Dr. Kiss István, PhD
CEVA-Phylaxia ZRT.
témabizottság tagja

Dr. Biksi Imre, docens
Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar
Nagyállatklinika, Diagnosztikai Központ
témabizottság tagja

dr. Lőrincz Márta

BEVEZETÉS

A kettős típusú sertés circovírus (porcine circovirus type 2, PCV2) által kiváltott megbetegedések az elmúlt húsz évben súlyos gazdasági károkat okoztak a nagyüzemi sertéstelepeken. Ezek közül a betegségek közül a választott malacok circovírus okozta sorvadása a legjelentősebb, de a vírust több más tünetegyüttes háttérében is kimutatták. A PCV2-t elsőként Kanadában azonosították és a vírus ezt követően gyorsan elterjedt, mára az egész világon jelen van.

A vírus a dezoxiribonukleinsav tartalmú (DNS-) vírusoktól nem megszokott, igen magas mutációs rátával rendelkezik, ami a genetikai sokszínűségében mutatkozik meg. Egy igen heterogén vírusszóróról van szó, amely az utóbbi hét-nyolc évben a kezdetben jellemző nagyfokú változékonyság után egyre inkább a genetikai beszűkülés jeleit mutatja. Ez a jelenség arra enged következtetni, hogy a PCV az új fajhoz, vagyis a sertéshez történő adaptációjának befejezéséhez közeledik. Ezt a természetes folyamatot azonban a néhány éve indult vakcinázások megváltoztathatják, és új menekülési irányba terelhetik a PCV2 evolúcióját. A vírus egyik rezervoár fajának tekinthető vaddisznó fertőzöttsége is befolyásolhatja ezt, főként olyan helyeken, ahol a nagyüzemi sertéstartás nem a szigorú szabályok betartásával működik, azaz közvetlen vagy közvetett járványtani kapcsolat alakulhat ki a házi és a vadon élő sertések között.

A circovírusokat a növényi nanovírusokkal közös őstől származtatják, de ismert, hogy egy olyan fehérje szakaszt is hordoznak, ami az állati eredetű calicivírusok egyik fehérje részletével mutat erős homológiát. Erre alapozva azt feltételezik, hogy az utóbbi vírusok is szerepet kaphattak a circovírusok létrejöttében. Annak magyarázatára, hogy hogyan került a vírus a növényekből az állatokba, illetve a calicivírus

szakasz hogyan épülhetett be a genomba, számos elmélet létezik. Azokra a kérdésekre azonban, hogy az állatokban hogyan változott a circovírus, hogyan jutott el a sertésbe, —ami hosszú ideig az egyetlen circovírusral rendelkező nem madárfajként volt ismeretes— és mely állatfaj lehetett a híd a madarak és sertések között, a válasz még ismeretlen. Munkánk célja az volt, hogy válaszokat találjunk a sertés circovírus evolúciójával kapcsolatos egyes alapvető kérdésekre.

A feltett kérdéseinket három nagy egységbe foglalva mutatom be:

- *Közép-Európából származó sertésminták circovírusainak genetikai vizsgálata*

A térségből gyűjtött circovírusok genetikai vizsgálata és összehasonlítása az ugyanebből a földrajzi régióból származó, 2007 előtti szekvenciákkal, illetve a világ más térségeiben megtalálható vírusokkal. A vizsgálat célja az volt, hogy megállapítsuk, a vírus genetikai állománya milyen változásokat mutat, valóban genetikai beszűkülés tapasztalható-e, és a bevezetett vakcinázások milyen hatással vannak a vírus változékonyságára.

- *Rágcsálók szerepe a circovírusok fenntartásában és evolúciójában*

a) Természetes élőhelyekről befogott rágcsálók vizsgálata circovírus kimutatása céljából. A sertéstelepekről gyűjtött egerek és patkányok vizsgálatától azt vártuk, hogy bennük sertés circovírust sikerül kimutatni, illetve találunk a rágcsálókra jellemző „saját” circovírust. A feltételezett őskeresése miatt vizsgáltunk olyan rágcsálókat is, amelyek sertésektől független helyről származtak.

b) Laboratóriumi kísérlet egerekkel a vírus terjedésére és változására nézve. A kísérletek során az egerekben a vírus

megtelepedése mellett a vírusszaporodást és a sertésektől független vírusterjedés lehetőségét vizsgáltuk, azzal a szándékkal, hogy az állatról-állatra terjedő vírusokban esetleg fellépő genetikai változásokat is mérjük.

- *Circovírusok kimutatása eddig nem vizsgált fajokban*

A közös, akár hipotetikus genetikai őst megtalálása fontos célkitűzésünk volt, ehhez más fajokban esetlegesen megtalálható circovírusok teljes genomszekvenciáját igyekeztünk meghatározni. Tekintettel arra, hogy korábban már írtak le circovírusszerű szekvenciákat vízmintákból és arra, hogy a sertés takarmányok halakból származó fehérjekiegészítőket tartalmazhatnak, kézenfekvő volt, hogy halakat, kétéltűeket és hüllőket vizsgáljunk.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Minták származása

A közép-európai mintagyűjtés során Magyarország 20, Románia 13, Szerbia 7 és Horvátország 28 telepéről érkeztek sertés szervek, Lengyelországból pedig összesen 14 telepről kaptunk tisztított DNS-t. Erdélyből a házi sertések mellett 842 db vaddisznó minta érkezett, amelyek három különböző vadászidényben kerültek begyűjtésre (2006/2007, 2007/2008 és 2010/2011) Erdély megyéiből.

Két, egymástól független, magyarországi, PCV2-vel fertőzött sertéstelepről származott 20 eger (*Mus musculus* és *Mus agrarius*) és 21 vándorpatkány (*Rattus norvegicus*). Az egerekben lévő vírusok összehasonlítása céljából az egyik sertéstelepről származó 10 sertés hörgőkörüli nyirokcsomó és tüdő mintáit is analizáltuk. Összesen 25, sertésteleppel illetve PCV2-vel összefüggésbe nem hozható területről származó sárganyakú erdei egérből (*Apodemus flavicollis*), háziegérből, mezei pocokból (*Microtus arvalis*), származó DNS mintát is vizsgáltunk.

A vírus rágcsálókban való terjedését és változását vizsgáló kísérlet során összesen harminc, egyenként 21-24 g-os CRL: NMRI BR, 6 hetes nőstény fehér egeret használtunk.

Különböző helyről és időből származó mintákat vizsgáltunk meg circovírusok jelenlétére, amelyek között 74 hulló és kétéltű, valamint 63 hal és egy halliszt minta volt. Miután a vizsgált minták közül márná ivadékokból (*Barbus barbus*) sikerült (nem PCV2) circovírus DNS-t kimutatnunk, további 18 márnát vizsgáltunk. A 2011-es év során a balatoni lesóharcsák (*Silurus glanis*) szokottnál nagyobb mértékű pusztulása kapcsán szintén felmerült a circovírusok jelenléte. A Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóságán (ÁDI) a vírust

kimutatták és ezeket a pozitív mintákat rendelkezésünkre bocsátották.

Egy állattartó telepről növendék szarvasmarha vérsavó mintákat kaptunk. A PCV2 pozitív hízósertésekkel közös istállóban tartott növendék állatoknál nyálkás-véres hasmenés volt megfigyelhető. Az ÁDI vizsgálata alapján a szarvasmarhák vírusos hasmenését okozó vírust nem sikerült kimutatni az állatokból.

A minták feldolgozása, circovírusok kimutatása és elemzése

A mintákból minden esetben tisztítottunk nukleinsavat, aminek a felsokszorozásához leggyakrabban konvencionális PCR-t használtunk. Ezen kívül mennyiségi meghatározásra valós idejű PCR-t és kevés templát esetében (illetve a circovírusok szélesebb körének kimutatására) fészkes (nested) rendszereket is alkalmaztunk. A PCR-hez irodalmi adatok alapján, illetve saját tervezésű primereket is használtunk. Az amplifikálás megkönnyítése céljából izotermikus körkörös DNS sokszorosítást (gördülő körös amplifikálást) is használtunk.

A PCR termékeket szekvenálással ellenőriztük, és a szekvenciákat egymással, illetve GenBankban elérhető adatokkal hasonlítottuk össze. A Lasergene MEGA 5 és 5.2 program használatával készítettünk filogenetikai fát. A teljes vírusgenom szekvenciákat a CAP3 program, a BioEdit Sequence Alignment Editor 7.0.5.3 verzió, illetve a Lasergene MEGA 5 és MEGA 5.2 program segítségével készítettük el. A származtatott aminosav sorrend meghatározásához is a Lasergene programcsomag és a GenBankban fellelhető adatok voltak segítségünkre. A szekvenciák összehasonlításánál a BioEdit Sequence Alignment Editor 7.0.5.3 verzió pairwise alignment programját, a sequence

identity matrix programot, valamint a távolsági analízishez a Lasergene MEGA 5.2 distance matrix programját használtuk. A filogenetikai analízist általában Neighbor-Joining módszerrel végeztük, a közép-európai szekvenciák esetében emellett a Maximum Likelihood analízist és Tamura analízist is elvégeztük, hogy az eredmények összevetésével a lehető legpontosabb elemzést tudjuk nyújtani. A statisztikai elemzésekhez az R for Windows 2.12.0 programcsomagját használtuk, és ezen belül a Pearson's Chi-négyzet tesztet. A rekombinációkat az RDP v.3.44. program segítségével vizsgáltuk 6 különböző eljárással és az általános beállításokkal. A nukleinsav vizsgálata mellett szövettenyésztéssel, indirekt immunfluoreszcenciával és immunhisztokémiával is törekedtünk a víruskimutatásra.

EREDMÉNYEK

PCV2 genetikai változása

Közép-Európát érintő felmérés

Az 1. táblázat tartalmazza a Közép-Európából származó minták vizsgálatának eredményeit. Az összehasonlító analízishez a GenBankból és Cságola Attila korábbi vizsgálatait során nyert további teljes genomszekvenciákat is megvizsgáltunk.

1. táblázat: A PCV2 előfordulása Közép-Európából származó mintákban

	Magyaro.	Románia	Szerbia	Horváto.	Lengyelo.
Telepszám	20	13	7	29	14
PCV2 pozitív szekvencia	17	12	6	25	6
	5	3	5	22	2

Azt a telepet tekintettük pozitívnak, ahol legalább egy pozitív állatot találtunk.

A PCV2 esetében a genotípusokra vonatkozó definíció alapján a vírus három genotípusra osztható: PCV2a, PCV2b és PCV2c. A PCV2a és PCV2b esetében is a genotípuson belül többen is alcsoportokat (szubtípusokat) hoztak létre. A 2007-ben Olvera és mtsai. által elvégzett csoportosítás tekinthető a legszélesebb körben elfogadottnak. Eszerint a PCV2b genotípust három alcsoportra (1A, 1B, 1C), míg a PCV2a genotípust 5 alcsoportra (2A, 2B, 2C, 2D, 2E) osztották. A kínai kutatók által javasolt PCV2d és PCV2e genotípusok léte vitatott. A dolgozatban ezeket PCV2b 1C (PCV2d) illetve PCV2a (PCV2e) néven jelöltem.

A minták vizsgálata során PCV2c genotípust nem tudtunk kimutatni.

Az egyik horvátországi eredetű vírus a PCV2a genotípusba tartozik, ezen belül is a 2D szubtípushoz. A másik két kivétel 2009-ből származó horvátországi PCV2, amelyek egyik genotípusba sem sorolhatók. Az általunk meghatározott és egy ide sorolódó kínai szekvencia elemzése azt mutatta, hogy ezekben a vírusokban a kapszidfehérje egyedi végződésű. A fehérje a szokásos 233 as helyett 234 as méretű, ami a PCV2b 1C (PCV2d) -szubtípus vírusaira jellemző.

A Közép-Európából származó vírusok esetében a besorolás alapján a PCV2b 1A szubtípus a domináns. Ide összesen 28 vírust soroltunk be. Két vírus a filogenetikai fán nem volt ide sorolható, ám a rokonsági viszony tekintetében mégis ide tartoznak.

A PCV2b 1B csoportba sorolt a program 1 lengyelországi, 2 hazai és 2 horvátországi genomot. Egy szerbiai sertés circovírus a PCV2b 1C (PCV2d genotípus) szubtípusba sorolódott. Erről a csoportról azt feltételezik, hogy az ide tartozó vírusok patogenitása magasabb, mint az egyéb genotípusba soroltaké. Ezek között a vírusok között van olyan, amelynek a kapszidgénjén az 1035. nt kiesett, és emiatt a kapszid fehérje aminosavainak a száma eggyel nőtt.

Új csoportként szerepel a PCV2a genotípuson belül helyeződő PCV2a (PCV2e). A leírás szerint ide 2006 előttről származó kínai szekvenciák tartoznak, ennek ellenére több 2009 utáni szekvenciát is ebbe a csoportba tudtunk besorolni. A PCV2a szubtípus ebből a csoportból ágazik el, a távolsági mátrix alapján is ez a csoport inkább a PCV2a genotípus tagja, mint önálló genotípus.

A PCV2c-vel egy ágon helyeződik egy eddig nem említett csoport. A szekvenciákat tekintve ide három csoport vírusai tartoznak: az első csoportba olyanok, amelyek rokona

a PCV2a 2E csoport, de a Cap-fehérjén a PCV2b-re emlékeztető motívumok vannak. A másik csoport olyan vírusszekvenciákat foglal magába, amelyek a PCV2b 1C (PCV2d) szubtypussal egyező kapszidokat tartalmaznak. A harmadik csoportban a kapszid 233 as hosszú, és a genom is 1767 nt.

Erdélyből származó PCV-ok vizsgálata

Részt vettünk erdélyi minták circovírus tartalmának felmérésében és filogenetikai vizsgálatában is. Ennek az eredményét a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat: Erdélyből származó házi és vaddisznók circovírus szekvenciáinak eredményei.

	PCV1	PCV2a	PCV2b		
			A	B	C
Vaddisznó	3	4	12	5	7
Házisertés	0	0	4	3	1

Az A, B, C az Olvera és mtsai. (2007) által javasolt szubtypusokat jelölik.

Erdélyben a PCV2 jelenléte a sertésállományok minimum 65 %-át érinti. A vaddisznók körében azonban a két vizsgált vadászati idény között a vírus jelenlétének a csökkenését lehetett kimutatni.

Sertés circovírusok kapcsolata más állatfajokkal

Rágcsálók vizsgálata

A PCR eredmények alapján a sertéstelepektől függetlenül gyűjtött rágcsálók mintái negatívnak bizonyultak mind sertés, mind pedig eddig ismeretlen, más circovírusokra.

A sertéstelepeken gyűjtött rágcsálók között ugyanakkor számos mintában PCV2-t tudtunk kimutatni. Összesen 13 egérben és 5 patkányban azonosítottunk circovírust, ez vizsgált egerek 65,0 %-a, a patkányok 23,8 %-a. A vágóhídról származó egészséges sertések 80 %-ában lehetett kimutatni a vírust.

Az MCV1—MCV2 primerpár sertés circovírus specifikus, korábbi tapasztalataink alapján egy érzékeny, jól működő PCR rendszer része. A rágcsáló minták esetében azonban csak 6 esetben kaptunk egyértelmű és szekvenanciaanalízishez is megfelelő eredményt. A fragmentek egyértelműen PCV2b genotípusba sorolható vírusgenomok darabjai voltak, azonban ezen a konzervatív szakaszon is voltak eltérések.

Az egérkísérlet során a nulladik passzázs egerei az exterminalás után PCV pozitívnak bizonyultak. Az első egér passzálás után azonban már nem sikerült vírust kimutatni qPCR segítségével.

Szarvasmarha vérsavó vizsgálati eredmények

Mindhárom szarvasmarha és a telepről érkezett sertés minták is pozitívak voltak PCV2-re. A teljes genom PCR is sikeres volt a 2. sz. szarvasmarha vérsavó esetében. A víruson több olyan helyet is azonosítottunk, ahol a szekvenancia nem egyértelmű. A genomon két helyen két nt is közel azonos gyakorisággal fordult elő. A párhuzamosan megjelenő nt-ok közül az egyik minden esetben az volt, amelyik a telepen a sertésekben jelen lévő vírusban is megtalálható volt. A

szarvasmarhában és a sertésben jelen lévő circovírusok közötti nt eltérések as változással is járnak, a Rep-fehérjén 1, a Cap-fehérjén pedig 4 as is változik. Az eredetinek tekintett sertésben kimutatott PCV2-től különböző vírus megtalálható máshonnan származó sertések PCV2 vírusai között és PCV2b 1A típusú.

Halak, hullők és kétéltűek vizsgálati eredményei

A hullők és kétéltűek vizsgálata negatív eredménnyel zárult. Circovírus DNS-t nem tudunk belőlük kimutatni.

A halak közül a márnákban 8 esetben azonosítottunk circovírust (BaCV) az általános circovírus kimutatására használt PCR rendszerrel. Mind a 8 esetet meg tudtuk erősíteni az általunk tervezett diagnosztikai primerpárral is. A hat lesőharcsából három esetében lehetett circovírust kimutatni.

Márnák esetében a szekvencia meghatározás eredményeként két teljes, új vírusgenom nukleotid sorrendjét határoztuk meg. Mindkét vírusgenom 1957 bázist tartalmaz, 94,7 %-ban egyeznek meg. Lesőharcsáknál is két esetben határoztuk meg a kimutatott vírus (CfCV) teljes nukleotid sorrendjét. A két genom 1966 nt méretű, egymásra 99,4 %-ban hasonlítanak. A két CfCV és a két BaCV esetében is megtalálható a circovírusokra jellemző replikációs fehérjét kódoló nyílt olvasási keret (ORF) 1. Az ORF2 a kapszidfehérje kódolásáért felelős, a negatív szálon található. Mindkét halfajból származó vírusnál további két ORF-et is azonosítottunk, ezek szerepe jelenleg nem ismeretes.

A filogenetikai analízis elvégzése során saját vírusszekvenciáinkat a GenBankban megtalálható reprezentatív circovírus és cyclovírus mintákkal hasonlítottuk össze. A halak vírusai minden kétséget kizáróan circovírusok, de egyik eddig ismert circovírus csoporthoz sem tartoznak, önálló víruscsoportot alkotnak. A kapszid as analízis alapján a

négy, halban azonosított circovírus (BaCV1, BaCV2, CfCV1 és CfCV2) közösen, egy jól szeparált ágon helyeződik. Ez az ág a korábban ismert circovírusoktól is elkülönülő csoportot alkot, bár kétség kívül a *Circovirus* genuson belül.

ÖSSZEGZÉS

A PCV2 genetikai változásai

A PCV2a genotípus teljes egészében visszaszorulni látszik, mind Közép-Európában, mind a világ más részein. A 2007 utáni időből származó 278 szekvencia közül mindösszesen 29 tartozott ide.

Az általunk szekvenált vírusok többsége a PCV2b 1A szubttípusba tartozott, megerősítve azt a korábbi elgondolást, hogy a vírus genetikai anyagára a beszűkülés jellemző. Korábbi vizsgálatok ezt a csoportot tartotta a legesélyesebbnek a szélesebb körű elterjedésre és Közép-Európa vonatkozásában ez beigazolódni látszik. A teljes adatbázisunk alapján ez a dominancia felborulni látszik és eltörlődik a PCV2b 1C szubttípus felé. Feltételezésünk szerint a vakcinázások módosították a természetes evolúciós folyamatokat, valószínűleg a PCV2b 1C szubttípus is ezért kezdett erőteljesebben terjedni, könnyebben áttörve a vakcinák által kiváltott védelmet. Ebben a csoportban a kapszid génen egy deléció következett be, és emiatt az aminosavak száma eggyel nőtt. Ez a variáns a vakcinázás elterjedésével vált tömegessé.

A PCV2a (PCV2e) csoport a filogenetikai analízisek alapján a PCV2a genotípusból ágaznak el. A távolsági mátrix alapján is ez a csoport inkább a PCV2a genotípus tagja, mint önálló genotípus. A PCV2a 2B és 2C szubttípusok közelebbi rokonok, mint a szubttípusok általában, a páronkénti összehasonlítás és a távolsági mátrix eredménye alapján is ez állapítható meg. Mindezek alapján azt javasoljuk, hogy a hagyományok megtartása miatt a PCV2a 2B és 2C maradjon önálló két szubttípus, azonban a PCV2a (PCV2e) helyett a PCV2a 2F lenne a helyesebb megnevezés.

A PCV2b 1C (PCV2d genotípusnak mondott) vírusok önálló genotípusként való említése vitákat keltett, sokak szerint ezek a vírusok is a PCV2b genotípus tagjai. Az általunk elvégzett vizsgálatok alapján sem igazolható, hogy önálló genotípusok, hisz egy ágon helyeződnek a PCV2b 1C szubtípussal mindhárom analízis alapján. A távolsági mátrix alapján is kitűnik, hogy sokkal közelebbi rokonok, mint a többi genotípus egymással, vagy a genotípuson belül a szubtípusok egymással. Ennek az eredménynek az alapján a PCV2d genotípus megnevezés nem tűnik helytállóknak.

Lehetséges PCV2 ősök keresése

A rágcsálókról feltételeztük, hogy köztük lehet az egyik lehetséges ősz gazdafaj. Munkánk során ezt bizonyítani nem tudtuk. A kimutatott vírusok esetében egyetlen esetben sem tudtuk megkérdőjelezni a sertés eredetét. A pozitív minták szekvenciaanalízise során csak PCV2b-t találtunk.

A sertéstelepekkel összefüggésbe hozható rágcsálókból a PCV2 kimutatása sikerrel járt, a világon elsőként sikerült laboratóriumi körülményektől függetlenül igazolni azt, hogy a rágcsálók a természetben is fertőzhetnek circovírusral és a vírust hordozzák is. Korábbi állatkísérletek alapján kimutatták, hogy az egerek ürítik a vírust. Így feltételezhető, hogy a telepeken is fenntarthatják a fertőzést, esetleg a sertéseket is fertőzhetik.

A rágcsáló eredetű circovírus amplitikonok mindegyike a PCV2b genotípusba tartozott, akárcsak a sertéstelepen élő sertésekben. Az összehasonlítás során a vírus konzervatív részéről kapott szekvenciák alapján megállapítottuk, hogy az egér eredetű vírusok között eltérés mutatkozott.

A szarvasmarhák esetében saját circovírus nem ismert. Sikeresen mutattunk ki PCV2-t növendék szarvasmarhák vérsavóiban. Az állatok PCV2-vel fertőzött

sertéstelepen élnek. A szekvenenciaanalízis során biztosan állítható, hogy a szarvasmarhákból is kimutatott vírus PCV2b, ami a telepen élő sertésekben kimutatottal szinte teljes egészében megegyezik genetikailag. Ugyanakkor több ponton olyan nt mutációkat azonosítottunk, amelyek alapján felmerült a gyanú, hogy a vírusok szaporodnak a szarvasmarhában. Mindkét szarvasmarhában kimutatott vírus PCV2b 1A szubtypusúnak bizonyult.

A feltételezett őst keresését további gerinces fajokra is kiterjesztettük. Két halfajból (márna és lesőharcsa) is sikeresen mutattunk ki circovírusokat, amelyek mind genetikai sajátosságaik, mind filogenetikai vonásaik alapján egyértelműen a *Circovirus* genusba sorolhatóak. A márnából kimutatott vírus az első halfából kimutatott circovírus. Bár járványtani szempontból fontosságát igazolni nem tudjuk ma még, de az először kimutatott szekvenciák olyan ivadékokból származtak, amelyek a keltetőben pusztultak el, és más kórokozót kimutatni nem tudtak belőlük. A circovírusokról ismert, hogy erősen immunuszuppresszívek. A lesőharcsák esetében a megbetegedés hátteréből csak circovírust lehetett kimutatni, de nem bizonyított, hogy bármilyen problémát okozott a vírus. Egy immunuszuppresszív vírus azonban főleg az ivási időszakban az egyébként is gyenge immunrendszerű állatok esetében szerepet játszhat a betegségek kialakulásában és lefolyásában.

A halakból kimutatott circovírusok szerepe a PCV-k evolúciós folyamataiban, mint esetleges circovírus ősök, nem igazolható, de a velük kapcsolatos új adataink hozzájárulhatnak ahhoz, hogy ezeket a folyamatokat alaposabban megismerhessük.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Igazoltuk, hogy Közép-Európában a PCV2b 1A szubttípus a leginkább elterjedt a sertésekben. A vakcinázás hatására azonban a vakcinás védelmet áttörő PCV2b 1C és az ezen belül található PCV2d csoport válhatnak a jövőben az evolúció fő irányává.
2. Vizsgálataink eredményeképpen megállapítható, hogy a PCV2e mint genotípus meghatározás nem megalapozott, helyette javasoljuk a PCV2a genotípuson belül egy új szubttípus (2F) létrehozását
3. Elsőként mutattunk ki vadon élő rágcsálókból sertés circovírust. Feltételezhető, hogy a sertéstelepeken élő rágcsálók vírus rezervoár szerepet tölthetnek be.
4. A szarvasmarhából kimutatott PCV2b az azonos telepen élő sertések circovírusaihoz képest változásokat mutat, ennek kimutatásával igazoltuk, hogy a vírus képes replikálódni ezekben az állatokban.
5. Madáron és sertésen kívül először mutattunk ki circovírust más fajból, nevezetesen halakból.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Témavezetőmnek, Tuboly Tamásnak és a labor dolgozóinak: Cságola Attilának, Tombáczi Katának, Herbák Józsefnének és Cadar Dánielnek a rengeteg segítséget szeretném megköszönni.

A mintagyűjtésben nyújtott segítségért köszönettel tartozom: Kecskeméti Sándornak, Biksi Imrének, Kiss Istvánnak, Horváth Emőkének, Stanczel Attilának, Gyuranecz Miklósnak, a Szentimrei Mezőgazdasági KFT-nek és külön állatorvosainak: Balogh Mártának, Lőrincz Józsefnek, a Fiorács KFT-nek és Szentirmay Istvánnak, a Pigomix KFT-nek és állatorvosainak: Orosz Adélnak és Dániel Mihálynak. Külföldi mintákat Cadar Dánieltől, Dinko Novoseltől, Tomasz Stadejektől és Becskei Zsolttól kaptuk.

A minták feldolgozásában, előkészítésében nyújtott segítséget köszönöm Dán Ádámnak és az ÁDI Molekuláris Biológiai Osztályának (Tóth Ádámnak, Ottinger Ernőnének, Juhász Ágnesnek), Csaba Györgynek, Láng Máriának és Rónai Zsuzsannának, az ÁOTKI részéről Farkas Szilviának, Székely Csabának, Molnár Kálmánnak és asszisztensüknek Patakiné Ostoros Györgyinek.

Szeredi Leventének és Ráczné Mészáros Ágnesnek az IHK minták elkészítésének betanításáért és a bírálat kivitelezéséért vagyok hálás.

TDK-s hallgatóimnak: Simon Anderssonnak, Falus Adriennek, Petrilla Jankának, Julie Nielsennek a munkában való részvételt köszönöm.

SAJÁT PUBLIKÁCIÓK

Lőrincz M., Cságola A., Biksi I., Szeredi L., Dán A., Tuboly T. (2010) Detection of porcine circovirus in rodents - short communication. *Acta Vet Hung.* 58. 265-268. IF: 1,264

Cadar D., Cságola A., Spinu M., Dán A., Ursu K., *Lőrincz M.*, Tuboly T. (2010) Prevalence of porcine circoviruses in Transylvanian wild boars, detected by real-time PCR —short communication. *Acta Vet Hung.* 58. 475—481. IF: 1,264

Lőrincz M., Cságola A., Farkas S.L., Székely C., Tuboly T. (2011) First detection and analysis of a fish circovirus. *J Gen Virol.* 92. 1817—1821. IF: 3,363

Lőrincz M., Dán A., Láng M., Csaba G., Tóth A.G., Székely C., Cságola A., Tuboly T. (2012) Novel circovirus in European catfish (*Silurus glanis*). *Arch Virol.* 157. 1173—1176. IF: 2,030

Cadar D., Cságola A., *Lőrincz M.*, Tombácz K., Spînu M., Tuboly T. (2012) Detection of natural inter- and intra-genotype recombination events revealed by cap gene analysis and decreasing prevalence of PCV2 in wild boars. *Infect Genet Evol.* 12. 420—427. IF: 2,768

Lőrincz M., Tombácz K. (2014) Hal circovírusok. *MÁL.* 136. 123—127. IF: 0,146

Novosel D, Tuboly T, Csagola A, *Lorincz M*, Cubric-Curik V, Jungic A, Curik I, Segalés J, Cortey M, Lipej Z. (2014) Origin of porcine circovirus type 2 (PCV2) from swine affected by PCV2-associated diseases in Croatia. *Vet Rec.* 174. 431. doi: 10.1136/vr.102064. IF: 1,803

Cadar D., *Lőrincz M.*, Kiss T., Novosel D., Podgorska K., Becskei Z., Tuboly T., Cságola A. (2013) Emerging novel porcine parvoviruses in Europe: origin, evolution,

phylodynamics and phylogeography. *J Gen Virol.* *94.* 2330—2337. IF: 3,127

Fehér E., Székely C., *Lőrincz M.*, Cech G., Tuboly T., Singh H.S., Bányai K., Farkas S.L. (2013) Integrated circoviral rep-like sequences in the genome of cyprinid fish. *Virus Genes.* *47.* 374—377. IF: 1,769

Lőrincz M., Biksi I., Andersson S., Cságola A., Tuboly T. (2013) Sporadic re-emergence of enzootic porcine transmissible gastroenteritis in Hungary. *Acta Vet Hung.* DOI: 10.1556/AVet.2013.043. IF: 1,173

Cságola A., *Lőrincz M.*, Cadar D., Tombácz K., Biksi I., Tuboly T. (2012) Detection, prevalence and analysis of emerging porcine parvovirus infections. *Arch Virol.* *157.* 1003—1010. IF: 2,030

Cadar D., Dán Á., Tombácz K., *Lőrincz M.*, Kiss T., Becskei Z., Spînu M., Tuboly T., Cságola A. (2012) Phylogeny and evolutionary genetics of porcine parvovirus in wild boars. *Infect Genet Evol.* *12.* 1163—1171. IF: 2,768

Cságola A., *Lőrincz M.*, Tombácz K., Wladár Z., Kovács E., Tuboly T. (2012) Genetic diversity of pigeon circovirus in Hungary. *Virus Genes.* *44.* 75—79. IF: 1,769

Cadar D., Cságola A., *Lőrincz M.*, Tombácz K., Kiss T., Spînu M., Tuboly T. (2011) Genetic detection and analysis of porcine bocavirus type 1 (PoBoV1) in European wild boar (*Sus scrofa*). *Virus Genes.* *43.* 376—379. IF: 1,845

Cadar D., Cságola A., *Lőrincz M.*, Tombácz K., Spînu M., Tuboly T. (2011) Distribution and genetic diversity of porcine hokovirus in wild boars. *Arch Virol.* *156.* 2233—2239. IF: 2,111

Cságola A., Cadar D., *Lőrincz M.*, Tuboly T. (2010) Replication and transmission of porcine circovirus type 2 in mice. Short secondary communication. *MÁL.* *131.* 456—458. IF: 0,300

Forgach P., Boncz A., Erdélyi K., *Lőrincz M.*, Molnár B., Zentai J., Szűcs Gy., Reuter G., Bakonyi T. (2010) Hepatitis E virus — literature review and situation in Hungary from veterinary point of view. *MÁL.* 132. 237—248. IF.: 0,300

Cságola A., *Lőrincz M.*, Tombácz K., Biksi I., Balka Gy., Tuboly T. (2009) Detection of human parvovirus 4 related porcine hokoviruses in Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 56.135.

Biksi I., *Lőrincz M.*, Molnár B., Kecskés T., Takács N., Mirt D., Cizek A., Pejsak Z., Martineau G.P., Sevin J.L., Szenci O. (2007) Prevalence of selected enteropathogenic bacteria in Hungarian finishing pigs. *Acta Vet Hung.* 55. 219—27. IF.: 0,474