

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar

Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

**Újonnan azonosított sertés parvovírus fertőzések kimutatása és vizsgálata  
egy sertésállományban**

**Készítette:** Horváth Emőke

**Témavezető:** Dr. Cságola Attila

SZIE ÁOTK egyetemi adjunktus

Budapest

2012

# Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék.....	2
1. Bevezetés.....	3
2. Irodalmi áttekintés.....	4
3. Anyag és módszer .....	12
3.1 A sertéstelep rövid bemutatása.....	12
3.2 Minták gyűjtése.....	14
3.3 Nukleinsav kivonás .....	14
3.4 Parvovírus DNS kimutatás .....	15
4. Eredmények.....	17
5. Megbeszélés .....	25
6. Összefoglalás.....	33
7. Summary .....	35
8. Irodalomjegyzék.....	37
9. Köszönetnyilvánítás .....	42

## 1. Bevezetés

A napjainkban egyre nyereségorientáltabbá váló mezőgazdaságunk elengedhetetlen alappillére a sertéstenyésztés. Egy telep hatékonyságát a mutatói igazolják. Eredményeket maximalizálni pedig csak egészséges, homogén állománnyal lehet. Szubklinikai és/vagy klinikai tünetekben megnyilvánuló betegségek rontják a termelési mutatókat, minimalizálják a nyereséget, növelik a gyógyszerekre fordított kiadásokat, ezáltal megkérdőjelezzik egy telep hatékonyságát.

A modern fejlesztéseknek köszönhetően ma már olyan vakcinák vannak forgalomban, melyek bizonyos kórokozók ellen megfelelő védettséget nyújtanak. Mutációk és genetikai rekombinációk miatt azonban ezeknek a hatékonysága sem örökérvényű. A rendszeres vakcinázások is szelekciós hatást gyakorolnak a különböző mikroorganizmusokra.

A korszerű és rohamosan fejlődő molekuláris diagnosztikai módszereknek köszönhetően az elmúlt években sok, addig ismeretlen vírust írtak le, és írnak le napjainkban is. Ezeknek a vírusoknak a gazdaszervezetre gyakorolt hatása még nem ismert. A sertésekből nemrégiben kimutatott különböző új típusú parvovírusok egy részét egészséges, más részét különböző tünetek közt elhullott állatokból írták le. A különböző klinikai tünetek hátterében, sok esetben már jól ismert kórokozók is jelen vannak, gyakoriak a társfertőzések. Mindez megnehezíti annak megítélését, hogy ezek az új típusú sertés parvovírus fertőzések mekkora gazdasági kártétellel járhatnak.

A szakdolgozatomban egy nyugat- dunántúli sertésteleppel foglalkozom, ahol célunk, hogy kiderítsük, milyen parvovírusok vannak jelen az állományban. A telepen relatív nagyarányú mumifikálódott és halva született malacok világra jöttét figyeltük meg az elmúlt időszakban. Megvizsgáljuk azt is, hogy ezekből a malacokból kimutatható-e valamelyik újonnan leírt parvovírus.

## 2. Irodalmi áttekintés

Új, addig ismeretlen, a *Parvovirinae* családba tartozó vírusok az utóbbi években gyakran kerülnek kimutatásra az emberekből és a különböző állatfajokból egyaránt. Ez többek között a molekuláris biológiai módszerek rohamos fejlődésének köszönhető, ugyanis a szekvencia független polimeráz láncreakción (polimerase chain reaction, PCR) alapuló új módszerek lehetővé tették olyan vírusok kimutatását is, amelyek beazonosítása a hagyományos diagnosztikai módszerekkel nem volt lehetséges.

A *Parvovirinae* család tagjai közül számos vírus klinikai tünetekben is megnyilvánuló fertőzést okoz, mint például a sertés parvovírus 1-es típusához (porcine parvovirus 1, PPV1) köthető reprodukciós zavarok (stillbirth, mummification, embryonic death and infertility, SMEDI), a kutya parvovírus 2-es típusa okozta parvovírusos bélgyulladás, a macska panleukopeniája, hogy csak a legismertebbeket említsük. A parvovírusok nagy része azonban csak szubklinikai, vagy tünetmentes fertőzés formájában mutatható ki.

A jelenleg érvényes rendszertani besorolás alapján (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV, Tijssen és mtsai., 2011) a parvovírusok a *Parvoviridae* családon belül két alcsaládra oszthatók: a *Densovirinae* alcsalád tagjai különböző ízeltlábúakat, míg a *Parvovirinae* alcsaládba tartozó vírusok gerinces állatokat fertőznek. Jelenleg a *Parvovirinae* alcsaládot öt nemzetségbe sorolják, úgy, mint *Dependovirus*, *Erythrovirus*, *Amdovirus*, *Bocavirus* és *Parvovirus* nemzetség.

A parvovírus család tagjai kisméretű (18-26 nm átmérőjű), burok nélküli vírusok, ikozahedrális szimmetriájú kapszidjukban lineáris, kb. 4-6 kilobázisból (kb.) felépülő szimpla szálú DNS genom foglal helyet. A parvovírusok genomjára jellemző, hogy a két vége hajtűszerűen visszahajlik (hairpin structure). Ez a szerkezet nélkülözhetetlen a vírus replikációjához. A hajtűszerűen visszahajló végek között a parvovírus nemzetségbe tartozó vírusokban két fő nyílt olvasási keret (open reading frame, ORF) található. A genom elején, az 5' véghez közelebb eső ORF1 a vírus replikációjáért felelős nem strukturális (non structural, NS) fehérjét kódolja, míg a genom 3' végéhez közelebbi ORF2 a vírus köpeny felépítésében részt vevő fehérjét (virus protein 1 és 2, VP1, VP2) kódolja.

Vannak parvovírusok, amelyek genomjában a két ORF között egy harmadik is található (ORF3), de ennek a génnek, illetve a róla képződő fehérjének a funkciója egyelőre ismeretlen.

Az utóbbi években egyre több, ORF3-at is tartalmazó vírus került leírásra, és ezeket a vírusokat az ICTV a parvovírus családon belül a *Bocavirus* nemzetségbe sorolta (Manteufel és mtsai., 2008).

A sertéseket fertőzni, és azokban megbetegedést előidézni is képes PPV1 régóta ismert (Dunne és mtsai., 1965, Mengeling és Cutlip, 1975), és világszerte előfordul. A vírusnak eltérő patogenitású törzsei ismertek (Mengeling és Cutlip, 1975, Mengeling és mtsai., 1984, Kresse és mtsai., 1985, Choi és mtsai., 1987, Zimmermann és mtsai., 2006, Zeeuw és mtsai., 2007). A jól ismert SMEDI mellett szopós malacokban hasmenés, szívizomgyulladás és bőrléziók (Kresse és mtsai., 1985; Whitaker és mtsai., 1990, Lager és Mengeling, 1994, Drolet és mtsai., 2002), valamint hízókban intersticiális vesegyulladás (Bolt és mtsai., 1997) kialakításában is kóroktani szerepet tulajdonítanak a PPV1-nek. A kettes típusú sertés circovírus (porcine circovirus 2, PCV2) terhelt állományokban a PPV1 társfertőzőként nagymértékben hozzájárul a választott malacok circovírus okozta sorvadása (postweaning multisystemic wasting syndrome, PMWS) elnevezésű kórkép kialakításához (Allen és mtsai., 1999, Krakowka és mtsai., 2000, Segalés és mtsai., 2005).

A széleskörű, hatékony vakcinázásoknak köszönhetően a kórokozó visszaszorult, ám az utóbbi években kialakult egy vírus variáns, a PPV1a amely -a kapszid fehérje aminosav sorrendjének változásának köszönhetően- a vakcinás védelmet áttörve képes szaporodásbiológiai rendellenességeket előidézni (Zimmermann és mtsai., 2006, Zeeuw és mtsai., 2007). A PPV1a vírustörzsek jelen vannak a vaddisznó állományokban (Cadar és mtsai., 2012a), és várható a házi sertés állományokban való terjedésük is.

Az elmúlt évtizedben számos új parvovírust mutattak ki sertésekből. Először a sertés parvovírus 2 (PPV2) került leírásra, hepatitisz E vírus (HEV) kimutatásra küldött mianmari mintákból (Hijikata és mtsai., 2001). A HEV specifikus primerek egy rövidebb, nem specifikus DNS szakaszt amplifikáltak, amely a további vizsgálatok során parvovírusnak bizonyult. Meghatározták a vírus közel teljes genetikai anyagát, és ez az 5 kb méretű genom az akkor ismert parvovírusok közül egy kacsa parvovírus (Moscovy duck parvovirus) és a hármastípusú szarvasmarha parvovírus (bovine parvovirus 3) mutatott nagyobb hasonlóságot a *Parvovirus* genuson belül (Hijikata és mtsai., 2001).

A vírus megjelenése egyedinek tűnt, mígnem évekkel később Kínában mutattak ki genetikailag nagymértékben hasonló vírust (Wang és mtsai., 2010) PMWS tüneteit mutató, valamint a sertések reprodukciós zavarokkal és légzőszervi tünetekkel járó szindrómáját

okozó vírus (porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV) erősen patogén törzse által kiváltott „high fever” kórképben megbetegedett, 2006-2007 közt gyűjtött sertés vérmintákból. A vizsgált minták 9,66%-ából mutattak ki PPV2-t (Wang és mtsai., 2010).

A PPV2 Ázsián kívül Magyarországon és az Egyesült Államokban is jelen van. A Magyarországon 2006-2011 között vizsgált 57 sertésállomány közül 15-ben volt kimutatható PPV2. A vizsgálata során a 392 minta 6,4%-a adott PPV2-re nézve pozitív eredményt (Cságola és mtsai., 2012). A tüdő minták 10,5%-a volt pozitív, de bélsárból (minták 6%-a pozitív), vérből (minták 5,4%-a pozitív) és egyéb szervekből is kimutatható volt a PPV2. A magyar szekvenciák közt 93-100%-os azonosságot, míg a magyar és ázsiai szekvenciák közt 94-99%-os azonosságot találtak. Voltak olyan magyar szekvenciák, amelyek a myanmari szekvenciákkal csoportosultak, és olyanok is, amelyek a később leírt kínai szekvenciákkal, de ezektől nagyobb mértékben eltérő szekvenciák is leírásra kerültek (Cságola és mtsai., 2012).

Az Egyesült Államokban a vizsgált 483 tüdőminta 20,7%-a, a 185 bélsárminta 7,6%-a és a 122 vérminta 1,6%-a volt pozitív PPV2 specifikus Real-Time PCR módszerekkel vizsgálva (Xiao és mtsai., 2012a). A PPV2 a 8-25 hetes korú állatokból származó tüdő és bélsár mintákból nagyobb gyakorisággal volt kimutatható, mint a fiatalabb vagy idősebb sertésekből vett mintákból. A PPV2 az ICTV jelenleg érvényes kiadványa alapján a be nem sorolt gerinceseket fertőző parvovírusok közé tartozik (Tijssen és mtsai., 2011).

A humán parvovírus 4-hez és 5-höz (PARV4 és PARV5) hasonló, állatokból kimutatható parvovírusokat kerestek Hong Kongban, 2007-ben (Lau és mtsai., 2008). Munkájuk eredményeként kerültek leírásra a PARV4-hez és PARV5-höz hasonló, szarvasmarhákból és sertésekből kimutatott parvovírusok, amelyeket **Hong Kong** után sertés hokovírusnak (porcine hokovirus, PHoV) és szarvasmarha hokovírusnak (bovine hokovirus, BHoV) nevezték el. Cheung és mtsai. (2010) javasolták a PHoV átnevezését sertés parvovírus 3-ra (PPV3). A könnyebb áttekinthetőség érdekében a továbbiakban mi is PPV3-ként tárgyaljuk ezt a vírust. A PPV3 kimutatható beteg, leölt és egészséges sertésekből egyaránt. A Hong Kongban vizsgált sertés eredetű összes nyirokcsomó 71%-a, a szérumminták 48%-a, a nazofaringeális minták 28%-a és a bélsárminták 10%-a volt fertőzött PPV3-mal (Lau és mtsai., 2008).

A PPV3 a hazai sertésekből is kimutatható, az 57 vizsgált sertés állományból 19-ben volt jelen a vírus (Cságola és mtsai., 2009, 2012). A 2006-2011 közötti időszakból származó 392 magyar minta 9,7%-ból volt kimutatható PPV3, a tüdő minták 21%-a, a bélsárminták

5,6%-a, a vérminták 14,4%-a volt pozitív. A magyar házi sertésből származó PPV3 szekvenciák nagyobb hasonlóságot mutatnak román és német vaddisznókból származó szekvenciákkal, mint a Hong Kong-i vírusokkal (Cságola és mtsai., 2012).

A PPV3-at kimutatták házi sertésekből Nagy-Britanniában, 1994-2002 között a humán gyógyászat céljából (véralvadási faktor) gyűjtött vérmintákból is (Szelei és mtsai., 2010).

Kínában szintén „high fever” tüneteit mutató farmról származó, 20 naposnál fiatalabb malacok májának vizsgálata során a minták 58,6%-ából mutattak ki PPV3-at (Li és mtsai., 2012). Egy másik kínai tanulmány szerint a 242 darab, elhullott malacból származó lépminta 46,5%-a tartalmazta a vírust. A 6 hetes kornál idősebb állatokból származó mintákból gyakrabban volt kimutatható a PPV3, mint fiatalabbakból (Pan és mtsai., 2012).

Az észak-amerikai kontinensen is igazolták a PPV3 jelenlétét házi sertésekben, ahol 178 farmról gyűjtött, 2011. május és június közötti időszakból 483 tüdőmintát vizsgáltak (Xiao és mtsai., 2012b). A 20 napos kor alatti malacokból származó mintákban nem találtak PPV3-at. A 21-55 napos kor közötti malacok 5,6%-ában, a 8-25 hetes kor közötti állatok 18,7%-ában, míg a 25 hetesnél idősebb sertések 22,2%-ában volt kimutatható PPV3. Az összes minta 12,4%-ából volt kimutatható a vírus (Xiao és mtsai., 2012b).

A 2005-2008 közötti időszakból 156 németországi vaddisznókból származó máj és szérum minta vizsgálata alapján a minták 32,7%-ból volt kimutatható PPV3 (Adlhoch és mtsai., 2010). A tanulmány szerint az egy éves kor alatti vaddisznók 22,4%-ából, az egy és két éves kor közöttiek 39,1%-ából, a felnőtt állatok 40,6%-ából volt kimutatható a PPV3.

Erdélyi vaddisznók vizsgálata is arra utal, hogy a PPV3 idősebb állatokban gyakoribb, mint fiatalokban (Cadar és mtsai., 2011a). A 842 vaddisznóból származó minta vizsgálata alapján a 6-12 hónapos kor közötti állatok 30,5%-ából és az egy éves kor feletti vaddisznók 69,5%-ából volt kimutatható a vírus. Az eredmények a PPV3 terjedésére utalnak, ugyanis az összes minta vizsgálata alapján a 2006-2007-es vadászati szezonban mért 22,76%-os fertőzöttség a 2010-2011-es szezonra 50,54%-ra emelkedett, míg az egy éves kor feletti vaddisznók fertőzöttsége 65,42%-ról 71,8%-ra emelkedett a vizsgálati periódusban (Cadar és mtsai., 2011a). A PPV3 terjedését állapították meg Kínában is (Pan és mtsai., 2012).

A *Bocavirus* genus első tagját hasmenéses szarvasmarhából (Bovine parvovirus, BPV, Abinanti és Warfield, 1961) és kutya bélsár mintákból (minute virus of canine, MVC, Binn és mtsai., 1970) mutatták ki. 2005-ben gyerekek akut légzőszervi megbetegedéseinek háttéréből

mutattak ki új parvovírust, amely a BPV és MVC-hoz volt hasonló (Allander és mtsai., 2005). A vírust Human Bocavirusnak nevezték el (HBoV, a **bovine** és **canine** után). Mára számos HBoV (HBoV2, HBoV3, HBoV4) került leírásra emberi légzőszervi és emésztőszervi fertőzésekből (Cheng és mtsai., 2008, Kapoor és mtsai., 2009, Arthur és mtsai., 2009, Tozer és mtsai., 2009).

Sertésekből először 2009-ben Svédországban mutattak ki bocavírusokra hasonlító parvovírust (porcine boca-like virus, PBo-likeV, Blomström és mtsai., 2009), a PCV2 által okozott PMWS tünetei közt elpusztult állatok nyirokcsomóiból. A PBo-likeV-t egy új generációs, szekvencia független szekvenáló módszerrel mutatták ki, és ebben a reakcióban a szekvenciák 99,545%-a PCV2 genomot eredményezett, csak a szekvenciák 0,076%-a volt új, bocavírushoz hasonló szekvencia. Az alacsony kópiaszám ellenére Blomström és mtsai. (2010) úgy gondolják, a PBo-likeV társfertőzőként fontos szerepet játszhat a PMWS kialakításában.

Európán kívül Kínában is kimutatták a PBo-likeV-t, ahol meghatározták a vírus teljes genom szekvenciáját is (Zhai és mtsai., 2010). A 191 minta 38%-ából mutatták ki a PBo-likeV-t, amely a szerzők szerint szerepet játszhat sertések légzőszervi megbetegedéseinek hátterében, de ennek bizonyítása további vizsgálatokat igényel.

Egy másik, 2008 áprilisa és 2009 októbere közötti időszakban 17 különböző kínai farmról, eltérő korú sertésekből származó, összesen 340 minta vizsgálata során egy nested PCR rendszerrel a minták 63,2%-ából mutattak ki PBo-likeV-t, amit PBoV1-ként (PBoV1-H18, nem azonos az alább tárgyalt PBoV1 vírussal) írtak le (Shan és mtsai., 2011).

A PBo-likeV az erdélyi vaddisznó populációban is jelen van (Cadar és mtsai., 2011b). A 2006-2007-es vadászati szezonban a vizsgált minták 9,14%-a, míg a 2010-2011-es idényben 17,74%-a volt fertőzött a PBo-likeV-val. A fél- és egy éves kor közötti vaddisznók 77,06%-ából, az egy éves kor feletti állatok 22,94%-ából volt kimutatható a vírus. A PBo-likeV Magyarországon is jelen van, az 57 vizsgált sertéstelep közül 6-ból volt kimutatható, összesen 6 (5 bélsár és 1 tüdő) mintából (Cságola és mtsai., 2012).

Szintén Kínában, SISPA (Sequence-independent single primer amplification) módszerrel vizsgáltak 2006 októberében és novemberében gyűjtött, 397 darab egészséges, 15 naposnál fiatalabb malacból származó bélsár mintát. A minták vizsgálata során kerültek leírásra addig ismeretlen parvovírusok (Cheng és mtsai., 2010), amelyek genom



szerveződésük alapján szintén a *Bocavirus* genusba tartoznak. A minták 12,59%-ából mutattak ki új sertés bocavírust. Összesen négy új vírust mutattak ki, ezek közül kettőnek meghatározták a teljes genom szekvenciáját. A két vírus között 94-95% hasonlóság van, ezeket elnevezték sertés bocavírus 1 és 2-nek (porcine bocaviruses, PBoV1 és PBoV2). A másik két bocavírusból csak részleges szekvenciákat határoztak meg (6V és 7V-ként jelölték őket). A 6V és 7V szekvenciák, a PBoV1 és PBoV2 szekvenciák, valamint a PBo-likeV szekvenciák között 50% körüli hasonlóság van és a filogenetikai vizsgálatok alapján ezek a vírusok külön-külön csoportot képeznek a *Bocavirus* genuson belül. A szerzők véleménye szerint PBoV1 és PBoV2 fiatal malacokat fertőznek, de a maternális immunitás védi őket a klinikai tünetek kialakulásától, de az is lehet, hogy ezek a vírusok egyébként sem okoznának megbetegedést (Cheng és mtsai., 2010).

Shan és mtsai. (2011) a fent említett 340 bélsárminta vizsgálatánál a PBoV1 és PBoV2 szekvenciákra nagymértékben hasonlító vírust is kimutattak a PBo-likeV típusú szekvenciák mellett. Ezt a vírust PBoV2-nek nevezték el, és szintén nested PCR módszerrel vizsgálva a minták 64,4%-ából mutatták ki.

A PBoV1 és PBoV2 valamint 6V és 7V vírusokhoz hasonló szekvenciák a magyar sertésállományban is kimutathatóak, idősebb állatokból is (Cságola és mtsai., 2012). A vizsgált 392 mintából 19 (16 bélsár, egy tüdő és két egyéb szervminta) adott pozitív eredményt a PBoV1 és PBoV2 vírusokra specifikus primerekkel végzett PCR során. A kapott szekvenciák csak 83-95%-os azonosságot mutattak a kínai szekvenciákkal, de a magyar szekvenciák között is csak 84-96%-os volt az azonosság. A szekvenciák közötti különbségekhez hozzájárul a különböző PBoV-k közötti rekombináció, valamint nukleotida-tripled deléciók/inzerciók is nagymértékben növelik a genetikai variabilitást (Cságola és mtsai., 2012).

A 6V és 7V típusú sertés bocavírusokra specifikus primerekkel a 392 mintából 6 bélsár és egy szervminta lett pozitív. A tanulmányban vizsgált vírusok közül a 6V és 7V típusú szekvenciák mutatták a legnagyobb heterogenitást, ugyanis a kínai szekvenciákhoz hasonlítva mindössze 78-90%-os azonosság volt megállapítható, de a magyar szekvenciák között is voltak olyanok, amelyek között csak 81% azonosság volt kimutatható (Cságola és mtsai., 2012).

A bocavírusok két újabb tagjának leírására 2011-ben került sor, amikor 2004-ben, PCV2 által fertőzött állományokból származó bélsár és szervmintákat vizsgáltak Észak-

Írországban (McKillen és mtsai., 2011), hasonlóan, mint a PBo-likeV leírásánál történt. A két új vírust PBoV3-nak és PBoV4-nek nevezték el. A PBoV3 és PBoV4 egymással 84%-os hasonlóságot mutat, míg a többi sertés parvovírussal 1-78% hasonlóságot találtak (McKillen és mtsai., 2011). A PBoV3 légzőszervi és emésztőszervi tüneteket mutató malacokból került kimutatásra, PCV2-höz köthető megbetegedések háttéréből. A vírusokat primer vese sejtenyészeten sikerült elszaporítani és ez által lehetővé vált szerológiai vizsgálatokat végezni. A 369 szérumminta vizsgálata során 32-ből lehetett kimutatni ellenanyagot a PBoV3-mal és szemben és 35 minta bizonyult szeropozitívnak a PBoV4-re (McKillen és mtsai., 2011). A PBoV3 és PBoV4 patogenitásának megállapítása további vizsgálatokat igényel, amit nagymértékben megkönnyít, hogy a vírusokat sikerült *in vitro* elszaporítani.

Egy kínai sertésállományból mutatták ki a sertés bocavírusok újabb típusát, a PBoV5-öt, hasmenéses tüneteket mutató malacokból (Li és mtsai., 2012).

A parvovírusoknak egy másik újonnan felfedezett tagja a sertés parvovírus 4 (porcine parvovirus 4, PPV4), amely Észak Karolinából (USA), PCV2 által megbetegített sertésekből, 2005-ben gyűjtött mintákból került kimutatásra (Cheung és mtsai., 2010), hasonlóan a PBo-likeV-hoz (Blomström és mtsai., 2009). A PPV4 a szarvasmarha parvovírus 2-vel mutat nagyobb hasonlóságot. A PPV4 kódoló kapacitása és genom szerveződése a bocavírusokéra hasonlít, ugyanis az ORF1 és ORF2 között található egy ORF3 is, azonban az általa kódolt fehérje meglehetősen különbözik a bocavírusok ORF3-ja által kódolt fehérjétől (Cheung és mtsai., 2010).

Az első leírást követően Kínában is kimutatták a PPV4-et (Huang és mtsai., 2010). A járványtani vizsgálat szerint a PPV4 az USA-ból került Kínába, importált sertésekkel (Huang és mtsai., 2010). Ezt támasztja alá, hogy az észak amerikai és kínai PPV4 genomok között 98,5-100%-os hasonlóság mutatható ki. Kína 12 tartományából összesen 705 darab, 2006-2010 között gyűjtött mintát vizsgáltak, köztük 132 egészséges és 573 beteg sertésekből származó mintákat. Egy egészséges és 12 beteg állatból származó mintából mutattak ki PPV4-et. Nyolc minta a 2008-2009 közötti időszakból, öt pedig 2010-ben gyűjtött minták közül adott pozitív eredményt PPV4 specifikus PCR módszerrel vizsgálva. A 2008 előtti időszakból származó mintákból nem tudták kimutatni a vírust. A pozitív minták három tartomány öt különböző sertésfarmjából származtak. A fertőzött farmokról származó minták 20-50%-a volt fertőzött PPV4-gyel. A 13 PPV4 pozitív minta közül 10 felnőtt sertésből származott (7 koca, 3 kan), mindegyikben reprodukciós rendellenességeket diagnosztizáltak. A 10 felnőtt mellett

egy egészséges és két elhullott malacból lehetett kimutatni a PPV4-et. A malacokon elhullás előtt láz és idegrendszeri tünetek voltak megfigyelhetőek. A vírus a vérből, nyirokcsomóból, tüdőből, veséből is kimutatható volt, de legnagyobb mennyiségben a szívben volt jelen a PPV4 (Huang és mtsai., 2010).

Az Egyesült Államokon és Kínán kívül Magyarországon is kimutatható a PPV4, ahol a vizsgált 57 állományból 13-ban volt igazolható a vírus jelenléte (Cságola és mtsai., 2012). Magyarországon a 2006-2011 között vizsgált minták 6,4%-ából volt kimutatható. A vírus a vérből, bélsárból, tüdőből egyaránt kimutatható volt (a különböző minták 2,7%, 7%, 2,3%-a adott pozitív eredményt), de a vizsgált négy magzat közül háromból, két sperma minta közül egyből szintén kimutatható volt a PPV4.

Munkánk során célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk, az új típusú sertés parvovírusok közül melyek vannak jelen egy dunántúli sertés állományban, meghatározzuk az érintett szerveket, valamint az eredmények alapján következtessünk a vírusok terjedésének módjára.

### 3. Anyag és módszer

#### 3.1 A sertéstelep rövid bemutatása

A vizsgálatainkat egy észak-dunántúli sertéstelepen végeztük. Az állattartó telepen 600 kocát és 3 kant, valamint ezek szaporulatát tartják. A telep a kocasüldőket és kanokat saját maga állítja elő, de kanokat más tenyészetekből is vásárolnak. A kívülről érkező kanokat 45 napig karanténban tartják az állományba történő bevitel előtt. A karantén alatt *Brucella*, *Leptospira* és Aujeszky kórokozókra vizsgálják a kanokat, és csak az ezektől a kórokozóktól mentes állatok kerülhetnek az állományba. Emellett külön vizsgálatot kérnek circovírusra.

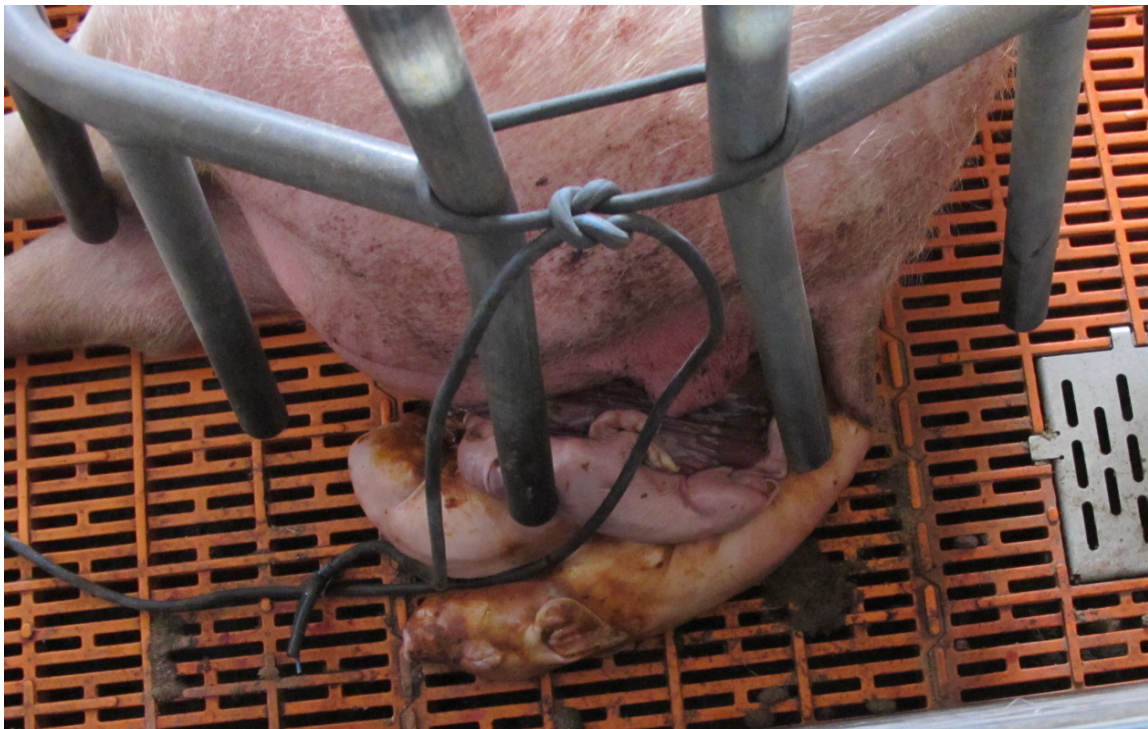
Az összes kocát vemhesítés előtt 10 nappal PPV1 elleni vakcinával oltják, majd 3 hétre rá ismétlik az oltást. A vemhes kocák fialás előtt 7 nappal kerülnek a fiazatóba. Fialás utáni harmadik napon eltávolítják a malacok farkasfogait, ugyanekkor vaspótló készítményt kapnak intramuscularisan, egy hetes korban kasztrálják a kan malacokat és ezzel egy időben történik a *Mycoplasma hyopneumoniae* elleni vakcinázás is. Három hetes korban PCV2 elleni oltást kapnak a malacok. A választás rendszerint 21 napos korban történik, amikor a malacok átkerülnek a battériára, a kocák pedig a kocaszállásra, ahol 5-7 napon belül termékenyítik őket.

A battérián a malacok 25 kg-os testsúly eléréséig maradnak. Egy kutricába 25 malac kerül. A csoportosítást igyekeznek úgy megoldani, hogy az almok keveredése minél kisebb legyen, az új szociális rangsor kialakítása által okozott stressz minimalizálása érdekében. Ezt követően a süldők a hizlaldába kerülnek, ahonnan 110 kg-os súly elérésekor kerülnek értékesítésre.

A kocákat az elletőbe való érkezéskor intramuscularisan féreghajtóval kezelik. A malacok, ahogy a battériáról lekerülnek, és a hizlaldába kerülnek áttelepítésre, akkor kapják meg intramuscularisan a féreghajtót, majd 60 napos korban még egyszer és utoljára a tápba keverve oldják meg a belső és külső élősködők elleni védelmet.

A kocák vemhesülési aránya 95%-os. A fialások 10%-ában fordul elő, hogy a koca egészséges malacok mellett életképtelen malacokat és egy-két mumifikált malacot hoz a világra (1. kép). Ezekből a malacokból az előzetes laboratóriumi vizsgálatok szerint nem mutatható ki PPV1, PCV2, PRRSV, adenovírus, herpeszvírus, *leptospira*, *Brucella suis*.

A koca alatti malacoknál köhögés volt megfigyelhető, amely semmilyen antibiotikus kezelésre nem reagált. A tünetek két hetes korban már jelentkeztek, elején erősen, majd egyre gyengébb tünetekkel, de a hízalás végéig, tehát ez a betegség a tenyésztés utolsó fázisáig lappangott az állományban. Ezek a tünetek a *Mycoplasma hyopneumoniae* elleni vakcinázás és antibiotikus kezelés hatására jelenleg nem mutatkoznak az állományban.



**1. Kép.** A vizsgált sertéstelepen halva született magzatok.

### **3.2 Minták gyűjtése**

Első lépésben fel kívántuk mérni, hogy a vizsgált sertéstelepen a jelenleg ismert sertésekben előforduló parvovírusok közül melyek vannak jelen. Ennek érdekében 22, különböző korban elhullott állatból származó nyirokcsomó mintákat vizsgáltunk, a telepen lévő 3 kantól sperma mintát gyűjtöttünk, valamint 3 mumifikált és 4 halva született magzattól vettünk különböző szervmintákat.

Egy PCV2-vel kapcsolatos kísérlethez a vizsgált állományból 14 darab malac érkezett a SZIE-ÁOTK Járványtani és Mikrobiológiai Tanszékének állatházába. A kísérlet végén az állatok 74 napos korban leölésre kerültek. A leölt sertésekből szív, tüdő, mandula, gátorközi nyirokcsomó, bélfodri nyirokcsomó, máj, lép, vese, vékonybél, valamint vastagbél mintákat gyűjtöttünk. A mintákat feldolgozásig  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

### **3.3 Nukleinsav kivonás**

A szervmintákból borsónyi darabot  $600\text{ }\mu\text{l}$  steril desztillált vízzel homogenizáltuk, majd a homogenizátumot  $10000\times g$ -n 5 percig centrifugáltuk. Az így nyert felülúszóból  $150\text{ }\mu\text{l}$ -t használtunk DNS kivonásra. A kanok spermájából szintén  $150\text{ }\mu\text{l}$ -t használtunk DNS kivonáshoz. A mumifikált, vagy halva született magzatok szívéből, májából, veséjéből borsónyi darabot homogenizáltunk, az azonos állatból származó homogenizált mintákat összekevertük,  $10000\times g$ -n 5 percig centrifugáltuk, majd ennek a felülúszójából használtunk  $150\text{ }\mu\text{l}$ -t a nukleinsav kivonáshoz.

A nukleinsav kivonást az innuPREP Virus DNA/RNA Kit (Analytic Yena, Biometra) segítségével végeztük, a gyártó utasításainak megfelelően. A kivont mintákat  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk a további felhasználásig.

### 3.4 Parvovírus DNS kimutatás

A nukleinsav kivonást követően a különböző szervmintából a parvovírusokat PCR módszerrel próbáltuk kimutatni, az 1. Táblázatban feltüntetett primerpárok segítségével.

A parvovírusok nukleinsavának amplifikációja során minden egyes mintából 3 µl-t használtunk a következő reakció-környezetben: 5 µl DreamTaq™ Green DNA Polymerase Buffer (Thermo scientific), 1 µl dNTP (1 mmol, Thermo scientific), 1 µl mindkét primerből (25 pmol), 1 egység DreamTaq™ Green DNA Polymerase enzim (Thermo scientific), 50 µl-re kiegészítve ultra steril desztillált vízzel.

A DNS amplifikálását a TGradient Thermocycler (Biometra) géppel végeztük, minden vírus kimutatása esetében az alábbi program alkalmazásával:

- előmelegítés 94°C-ra, 5 percig;
- 35 ciklusban ismételve: 94°C-on 30 másodperc, 56°C-on 40 másodperc, 72°C-on 40 másodperc;
- a végső DNS lánc meghosszabbítás céljából 72°C-on hét percig inkubáltuk a reakció elegyet;
- végül hűtés 4°C-ra, a reakció leállítása végett.

A PCR vizsgálat eredményét agaróz-gél elektroforézissel vizsgáltuk. A kapott PCR termékeket szekvenáltattuk (Macrogen Europe, Hollandia), hogy meggyőződjünk arról, valóban a keresett vírust mutattuk ki.

**1. Táblázat.** A PCR vizsgálatokban használt primerek adatai.

<b>Primer neve</b>	<b>Szekvenciája</b>	<b>Termék méret (bp)</b>	<b>Specifikusság</b>	<b>Referencia</b>
<b>PPV1F</b>	5'-ATACAATTCTATTTTCATGGGCCAGC-3'	330	PPV1, ORF1	Sorales és mtsai., 1999
<b>PPV1R</b>	5'-TATGTTCTGGTCTTTCCTCGCATC-3'			
<b>PPV2AF</b>	5'-ACACGATGAGCGGTACGA-3'	279	PPV2, ORF2	Cságola és mtsai., 2012
<b>PPV2AR</b>	5'-TCCTCACGAGGTCTCTTCTG-3'			
<b>PPV3DF</b>	5'-GCAGTCTGCGCTTAACTT-3'	392	PPV3, ORF2	Cságola és mtsai., 2012
<b>PPV3DR</b>	5'-CTGCTTCATCCACTGGTC-3'			
<b>PPV4DF</b>	5'-TCATAGCACTATGGCGAGC-3'	284	PPV4, ORF2	Cságola és mtsai., 2012
<b>PPV4DR</b>	5'-AGCATTCTGCGTTGGACA-3'			
<b>SbocaF</b>	5'-GGGCGAGAACATTGAAGAGGT-3'	495	PBo-likeV, ORF2	Zhai és mtsai. 2010
<b>SbocaR</b>	5'-TTGTGAGTATGGGTATTGGTG-3'			
<b>PBoVF</b>	5'-TGGTGGAACGTCTCTCTGACA-3'	466	PBoV, ORF2	Cságola és mtsai., 2012
<b>PBoVR</b>	5'-GAGTCATTCGGTCTCCTCCAT-3'			
<b>6V7VF</b>	5'-ATCCGCTCATCGACTCCAGACT-3'	587	6V7V, ORF2	Cságola és mtsai., 2012
<b>6V7VR</b>	5'-CGGAGGATGTGTCATCGGTAAG-3'			
<b>BOCA3-355F</b>	5'-GCACGGAGCTATTACTGGTT-3'	310	PBoV3 ORF1	-
<b>BOCA3-665R</b>	5'-AGCTGTAGACCGGATTGTGA-3'			
<b>BOCA4-481F</b>	5'-ACCTTGTGTGAGTCTGCTGA-3'	226	PBoV4 ORF1	-
<b>BOCA4-707R</b>	5'-TAGTGCTTCCAGAGATCGAG-3'			



## 4. Eredmények

A vizsgált telepről származó, a sertés parvovírusok jelenlétének megállapítására érkezett 22 nyirokcsomó közül 10-ből PPV2, 11-ből PPV3, 15-ből PPV4, 9-ből PBoV3 és 3-ből PBoV4 típusú sertés parvovírus volt kimutatható. A PPV1, a PBo-likeV, a 6V/7V valamint PBoV1-2 típusú sertés parvovírusokat nem tudtuk kimutatni a nyirokcsomó mintákból.

A mindhárom kan spermájából PPV4 volt kimutatható, más vizsgált sertés parvovírust nem tudunk kimutatni.

A felmérő vizsgálatra érkezett 4 halva született és 3 mumifikált magzat mindegyikéből PPV4 volt kimutatható, valamint az egyik halva született magzatban a PPV3 is jelen volt.

A vizsgált állományból a PCV2-vel kapcsolatos kísérletre érkezett, 74 napos korban leölt malacokból a PPV2, PPV3, PPV4, PBoV3 és PBoV4 vírusok mellett a PBoV1-2 típusú sertés parvovírus is kimutatható volt. A pozitív mintákat a kimutatásra használt primerekkel szekvenáltattuk. Mindegyik primerpár a megfelelő sertés parvovírust mutatta ki a mintákból.

Az első malacból a PPV3 kivételével a telepen előforduló összes vizsgált parvovírus kimutatható volt. A PBoV3-mal az összes vizsgált szervminta fertőzött volt, de a PPV2 és PBoV4 vírusok is több szervben voltak jelen (2. Táblázat).

### 2. Táblázat. Az 1. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

1. malac/vírus	PPV2	PPV3	PPV4	PBoV1-2	PBoV3	PBoV4
Szív	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Tüdő	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Mandula	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Hörgő körüli ny.cs	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Bélfodri ny.cs.	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Máj	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Lép	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Vese	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Vastagbél	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

A vizsgált állatok közül csak a második malacból nem volt kimutatható a PPV4. A PPV3 és PBoV1-2 típusú sertés parvovírusok csak egy-egy szervmintából voltak kimutathatóak. A beleken kívül a PPV2 az összes vizsgált szervből kimutatható volt (3. Táblázat).

### 3. Táblázat. A 2. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

2. malac/vírus	PPV2	PPV3	PPV4	PBoV1-2	PBoV3	PBoV4
Szív	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Tüdő	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Mandula	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Hörgő körüli ny.cs	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>
Bélfodri ny.cs.	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Máj	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Lép	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Vese	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Vastagbél	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

A harmadik, negyedik és ötödik malacokból, az elsőhöz hasonlóan, csak a PPV3 nem volt kimutatható. Ezekből az állatokból származó minták többségében a PPV2 és PBoV3 volt jelen (4., 5., 6. Táblázat). Az ötödik malac bélfodri nyirokcsomójából is kimutatható volt a PBoV1-2 típusú parvovírus, az összes többi állatból csak a vékony- és vastagbél eredetű mintákból mutattuk ki ezt a vírust.

### 4. Táblázat. A 3. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

3. malac/vírus	PPV2	PPV3	PPV4	PBoV1-2	PBoV3	PBoV4
Szív	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Tüdő	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Mandula	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Hörgő körüli ny.cs	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Bélfodri ny.cs.	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Máj	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg
Lép	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Vese	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Vastagbél	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

**5. Táblázat.** A 4. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

<b>4. malac/vírus</b>	<b>PPV2</b>	<b>PPV3</b>	<b>PPV4</b>	<b>PBoV1-2</b>	<b>PBoV3</b>	<b>PBoV4</b>
Szív	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Tüdő	neg	neg	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg
Mandula	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg
Hörgő körüli ny.cs.	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Bélfodri ny.cs.	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Máj	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Lép	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Vese	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Vastagbél	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

**6. Táblázat.** Az 5. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

<b>5. malac/vírus</b>	<b>PPV2</b>	<b>PPV3</b>	<b>PPV4</b>	<b>PBoV1-2</b>	<b>PBoV3</b>	<b>PBoV4</b>
Szív	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Tüdő	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Mandula	neg	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Hörgő körüli ny.cs.	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Bélfodri ny.cs.	<b>POZ</b>	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg
Máj	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Lép	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Vese	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Vastagbél	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

A hatodik és hetedik malacokból a vizsgált telepen előforduló összes parvovírus kimutatható volt. Ezekben az állatokban a bocavírusok csak a belekben voltak megtalálhatók, más szervekben nem (7., 8. Táblázat).

A nyolcas és kilences malacban szintén kimutatható volt a vizsgált állományban megtalálható valamennyi parvovírus. A vizsgált szervek többségéből a PPV2 volt kimutatható (9., 10. Táblázat).

**7. Táblázat.** A 6. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

6. malac/vírus	PPV2	PPV3	PPV4	PBoV1-2	PBoV3	PBoV4
Szív	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Tüdő	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Mandula	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Hörgő körüli ny.cs	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Bélfodri ny.cs.	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Máj	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Lép	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Vese	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Vastagbél	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

**8. Táblázat.** A 7. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

7. malac/vírus	PPV2	PPV3	PPV4	PBoV1-2	PBoV3	PBoV4
Szív	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Tüdő	neg	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Mandula	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Hörgő körüli ny.cs	neg	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Bélfodri ny.cs.	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Máj	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Lép	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Vese	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Vastagbél	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

**9. Táblázat.** A 8. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

8. malac/vírus	PPV2	PPV3	PPV4	PBoV1-2	PBoV3	PBoV4
Szív	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Tüdő	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Mandula	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Hörgő körüli ny.cs	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Bélfodri ny.cs.	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>
Máj	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Lép	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Vese	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Vékonybél	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Vastagbél	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

**10. Táblázat.** A 9. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

<b>9. malac/vírus</b>	<b>PPV2</b>	<b>PPV3</b>	<b>PPV4</b>	<b>PBoV1-2</b>	<b>PBoV3</b>	<b>PBoV4</b>
Szív	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Tüdő	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Mandula	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Hörgő körüli ny.cs	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Bélfodri ny.cs.	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Máj	neg	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Lép	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Vese	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Vastagbél	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

A tizedik malac nyolc különböző szervmintájából volt kimutatható PPV2, hatból PPV4, ötből PBoV3 típusú sertés parvovirus, amíg a PPV3 nem volt kimutatható egyetlen szervmintájából sem.

**11.Táblázat.** A 10. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

<b>10. malac/vírus</b>	<b>PPV2</b>	<b>PPV3</b>	<b>PPV4</b>	<b>PBoV1-2</b>	<b>PBoV3</b>	<b>PBoV4</b>
Szív	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Tüdő	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Mandula	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Hörgő körüli ny.cs	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg
Bélfodri ny.cs.	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Máj	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Lép	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Vese	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Vastagbél	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

A tizenegyedik malacnak csak tíz szervmintája lett pozitív valamelyik, általunk vizsgált sertés parvovírusra, így ebben az állatban volt legkevesebb a pozitív eredmény (12. Táblázat). A PPV3 nem volt kimutatható, a PBoV4 egy, a PBoV3 három szervből, míg a többi vírus két-két szervből volt kimutatható.

**12 Táblázat.** A 11. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

11. malac/vírus	PPV2	PPV3	PPV4	PBoV1-2	PBoV3	PBoV4
Szív	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	neg
Tüdő	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Mandula	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Hörgő körüli ny.cs	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Bélfodri ny.cs.	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Máj	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Lép	neg	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Vese	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Vastagbél	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg

ny.cs.: nyirokcsomó

A tizenkettes és tizenhármass malacokban mind a hat vizsgált vírus kimutatható volt. Mindkét állat négy-négy szervmintájából mutattunk ki PPV3-at (13., 14. Táblázat), a többi állatból kevesebb minta lett PPV3 pozitív.

**13. Táblázat.** A 12. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

12. malac/vírus	PPV2	PPV3	PPV4	PBoV1-2	PBoV3	PBoV4
Szív	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Tüdő	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Mandula	neg	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Hörgő körüli ny.cs	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Bélfodri ny.cs.	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Máj	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Lép	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Vese	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg
Vastagbél	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

A tizennégyes malac az egyetlen, amelyikből a PBoV1-2 típusú sertés parvovírus nem tudtuk kimutatni (15. Táblázat). Ebben az állatban a PBoV3 és PBoV4 fertőzöttség a belekre korlátozódott.

**14. Táblázat.** A 13. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

13. malac/vírus	PPV2	PPV3	PPV4	PBoV1-2	PBoV3	PBoV4
Szív	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Tüdő	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Mandula	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Hörgő körüli ny.cs.	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Bélfodri ny.cs.	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Máj	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Lép	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Vese	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Vastagbél	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

**15. Táblázat.** A 14. malac szerveiből kimutatott parvovírusok.

14. malac/vírus	PPV2	PPV3	PPV4	PBoV1-2	PBoV3	PBoV4
Szív	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Tüdő	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Mandula	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg
Hörgő körüli ny.cs.	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Bélfodri ny.cs.	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	neg	neg	neg
Máj	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Lép	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Vese	<b>POZ</b>	neg	neg	neg	neg	neg
Vékonybél	neg	neg	neg	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>
Vastagbél	neg	neg	<b>POZ</b>	neg	<b>POZ</b>	<b>POZ</b>

ny.cs.: nyirokcsomó

A különböző sertés parvovirus fertőzöttségeket szervenként vizsgálva megállapítható, hogy a PPV2 és PPV3 egyik állat bélmintájából sem volt kimutatható (16. Táblázat). A beleken kívül a PPV2 és PPV3 az összes szervből kimutatható. A PPV2 volt kimutatható a legtöbb szervmintából. A PPV4 és a PBoV3 minden vizsgált mintaféleségből kimutatható volt. A PBoV3 az összes vastag- és vékonybél eredetű mintában jelen volt, és az állatok felének szívében is kimutattuk. A PPV4 az eredmények alapján a vastagbélből mutatható ki a legnagyobb gyakorisággal. A PBoV4 specifikus primerpár szintén a vékony- és vastagbél

mintákból adott leggyakrabban pozitív eredményt, egyéb vizsgált szervmintákból viszont csak ritkán volt kimutatható a PBoV4. A PBoV1-2 típusú sertés parvovírus egy bélfodri nyirokcsomó mintát leszámítva csak bélmintákban fordult elő, 5 vékonybél és 13 vastagbél minta tartalmazta a vírust (16. Táblázat).

**16. Táblázat.** A különböző szervekből kimutatott vírusok összefoglalása.

Szervek/vírus	PPV2	PPV3	PPV4	PBoV1-2	PBoV3	PBoV4
Szív	9/14	2/14	2/14	0/14	7/14	0/14
Tüdő	7/14	3/14	4/14	0/14	3/14	1/14
Mandula	6/14	3/14	4/14	0/14	2/14	0/14
Hörgő körüli ny.cs	12/14	3/14	3/14	0/14	4/14	3/14
Bélfodri ny.cs.	9/14	1/14	3/14	1/14	5/14	1/14
Máj	11/14	2/14	3/14	0/14	2/14	1/14
Lép	10/14	2/14	3/14	0/14	3/14	0/14
Vese	8/14	2/14	2/14	0/14	3/14	0/14
Vékonybél	0/14	0/14	1/14	5/14	14/14	11/14
Vastagbél	0/14	0/14	10/14	13/14	14/14	13/14

ny.cs.: nyirokcsomó

Az eredményekből kitűnik, hogy sok szervben egyidejűleg van jelen kettő vagy több vizsgált sertés parvovírus. Leggyakrabban a PPV2 és PBoV3 együttes előfordulása figyelhető meg, összesen 27 mintából volt kimutatható egyszerre mindkét vírus. Szervek tekintetében a vastagbél eredetű mintákból mutatható ki leggyakrabban a vizsgált sertés parvovírusok egyidejű jelenléte. A 14 állatból származó vastagbél minták közül 10 esetben sikerült kimutatni a PPV4, PBoV1-2, PBoV3 és PBoV4 típusú vírusokat egyidejűleg.



## 5. Megbeszélés

Napjainkban sokszor vetődik fel az a kérdés, hogy miért találkozunk egyre gyakrabban eddig ismeretlen vírusokkal. A kérdésre több magyarázat lehetséges. Az egyik magyarázat lehet az elmúlt években végbement, és ma is tartó molekuláris biológiai módszerek rohamos fejlődése, amely egyidejűleg a diagnosztikai módszerek gyors fejlődését is eredményezte. Az új módszerek lehetővé tették olyan mikroorganizmusok kimutatását és genetikai anyagának meghatározását, amely mikroorganizmusok a „hagyományos” mikrobiológiai módszerekkel nem voltak kimutathatóak.

Másik magyarázat lehet az új vírusok megjelenésére azok normális ütemű változékonysága, amely mutációk és a különböző, egymásra többé-kevésbé hasonlító vírusok genetikai anyagai között bekövetkező rekombinációk révén jöhet létre. A rekombinációk létrejöttét parvovírusok esetében is számos eddigi tanulmány igazolta (Kapoor és mtsai., 2009, 2010, Lau és mtsai., 2011, Cságola és mtsai., 2012, Cadar és mtsai., 2012a,b), alátámasztva, hogy a parvovírusok genetikai anyagában rapid változások következhetnek be, felgyorsítva evolúciójukat. A rekombináció létrejöttének egyik alapvető feltétele, hogy egyazon sejt egy időben legyen fertőzött azokkal a vírusokkal, amelyek között a rekombináció végbemehet. Eredményeink alapján ez az egyidejű fertőzöttség valószínűsíthető, hiszen sok szervmintából, különösen a vastagbél mintákból lehetett kimutatni egyszerre több, különböző sertés parvovírust. Annak bizonyítása azonban, hogy egyazon sejt egyidejűleg legyen fertőzött ezekkel az újonnan leírt sertés parvovírusokkal, ma még nem lehetséges, mert még nem állnak rendelkezésre olyan módszerek (pl. *in situ* hybridizáció, immunohisztokémia, immunofluoreszcens módszerek), amelyekkel ezek a vírusok szövettani készítményekben lennének vizsgálhatóak.

Az új vírusokkal való egyre gyakoribb „találkozás” magyarázata olyan elmélet is lehet, amely szerint a vírusok változása „felgyorsult” az elmúlt évtizedekben. Az állatok nemesítésével valamelyest megváltozott a vírusok környezete is, szelekciós nyomást gyakorolva a vírusokra. A rendszeres vakcinázások szintén jelentős szelekciós nyomást gyakorolnak a vírusokra, és olyan vírustörzsek megjelenését eredményezik, amelyek a vakcinás védelem mellett is tudnak szaporodni, különösen, ha az oltóanyagok fejlesztése nem követi a kórokozók változását. Erre jó példa a PPV1, amellyel szembeni vakcinák alkalmasak voltak arra, hogy a sertésállományt mentesítsük a betegségtől, és részben a fertőzéstől is,

hiszen az oltóanyaggal jelentősen redukálható a vírus ürítése is. A PPV1-nek kialakultak olyan magas virulenciájú törzsei (PPV1a), amelyek már áttörnek ezt a vakcinás védeltséget, szaporodnak a vakcinázott állatban és képesek a jól ismert SMEDI kórképet előidézni (Zimmermann és mtsai., 2006, Zeeuw és mtsai., 2007). A PPV1a vírustörzs romániai vaddisznó és házi sertés állományokból is kimutatásra került (Cadar és mtsai., 2012a). Jelen dolgozat megírásáig Magyarországon még nem került leírásra ez az új PPV1a törzs, de várható a felbukkanása. Az általunk vizsgált sertés állományban hatékony vakcinázási program működik, PPV1 nem volt kimutatható az általunk vizsgált mintákból.

A vírusok „felgyorsult” változását nagymértékben elősegítheti a gazda immunrendszerének csökkent működése is. Az immunszuppresszió következtében képesek elszaporodni a szervezetben olyan mikroorganizmusok, amelyeket egy egészséges immunrendszer gyorsan eltávolítana, így lehetőség nyílik arra is, hogy a parvovírusok genetikai állományában a vírusok számára előnyös mutációk, rekombinációk jöhessenek létre. Különböző fajokban számos immunszuppresszív kórokozó ismeretes. A sertésekben a PRRSV-nek és a PCV2-nek bizonyítottan jelentős immunszuppresszív hatása van. Mindkét kórokozó az elmúlt évtizedek alatt világszerte elterjedt, és Magyarországon is jelen vannak. Az általunk vizsgált sertés állományban csak a PCV2 volt kimutatható, a különböző parvovírusokkal fertőzött szervezetekben is (nem mutatott adat).

A világméretű turizmus, állatforgalom és élelmiszerkereskedelem a vírusok számára is lehetőséget teremtett a rendkívül gyors terjedésre. Különösen igaz ez olyan vírusokra, amelyek nemrégiben váltak ismertté, vagy még a mai napig is ismeretlenek, hiszen ezek terjedését semmilyen jogi vagy egyéb eszköz nem korlátozza. Az ilyen módon gyorsan, nagy földrajzi távolságokat megtevéő vírusok, így a sertés parvovírusok is, az új helyen újabb fajtákba, alfajokba, esetleg újabb fajokba kerülhetnek, amelyekhez idővel alkalmazkodnak, az új helyen lévő más vírusokkal rekombinálódhatnak, nagymértékben felgyorsítva az evolúciót.

Az újonnan leírt sertés parvovírusok a Föld egyre több térségéből kerülnek kimutatásra, sokszor több évre visszamenőleg. Ma még kevés információ áll rendelkezésre ahhoz, hogy kideríthető legyen, melyik vírus honnan kezdett terjedni, és mi volt a terjedés „útvonala”, és esetleg az adott helyen milyen új sertés parvovírusok jöttek létre. Kivételt képez ez alól a PPV4, ugyanis sikerült kapcsolatot találni az amerikai PPV4 pozitív sertés állomány és kínai megjelenése között (Huang és mtsai., 2010). Európában a mai napig csak Magyarországról van publikus irodalmi adat a PPV4 előfordulásáról (Cságola és mtsai., 2012), de nem ismert,

hogy a magyarországi PPV4 megjelenése milyen összefüggésben lehet az amerikai vagy kínai PPV4 megjelenésével. Az eddigi adatok szerint Kínában 2008 előtti mintákból nem volt kimutatható PPV4 (Huang és mtsai., 2010), az USA-ban 2005-ből származó mintákban találták meg (Cheung és mtsai., 2010), Magyarországon viszont 2006-os mintákban is kimutatható volt (Cságola és mtsai., 2012). Ez azt valószínűsíti, hogy nem Kínából került Európába a PPV4, de hogy Amerikából jötte-e a vírus Európába vagy fordítva, esetleg olyan helyről került a vírus ezekre a kontinensekre, ahol még ki sem mutatták, jelen ismereteink alapján nem állapítható meg. A PPV2 és PPV3 szintén Ázsiában, Európában és Észak Amerikában került leírásra (Hijikata és mtsai., 2001, Lau és mtsai., 2008, Cságola és mtsai., 2009, 2012, Adlhoch és mtsai., 2010, Szelei és mtsai., 2010, Wang és mtsai., 2010, Cadar és mtsai., 2011a, Xiao és mtsai., 2012a,b, Li és mtsai., 2012), a sertés bocavírusokat pedig Európában és Ázsiában mutatták ki (Blomström és mtsai., 2009, Cheng és mtsai., 2010, Zhai és mtsai., 2010, Shan és mtsai., 2011, Cadar és mtsai., 2011b, McKillen és mtsai., 2011, Cságola és mtsai., 2012, Li és mtsai., 2012), de ezeknek a vírusoknak a terjedéséről még a filogenetikai elemzések sem adnak megbízható információkat.

Az újonnan leírt sertés parvovírusok terjedésének és evolúciójának vizsgálata mellett fontos megismerni, hogy ezek a vírusok csupán tudományos jelentőséggel bírnak-e, vagy gazdasági kártétellel is számolnunk kell. Ennek kiderítése széleskörű vizsgálatokat igényel. Jelen tanulmány ezekhez a vizsgálatokhoz kíván információval szolgálni. Az első körben megállapítottuk, hogy az általunk vizsgált sertéstelepen a PPV2, PPV3, PPV4, PBoV3 és PBoV4 típusú sertés parvovírusok voltak jelen. A második körben a vizsgált sertéstelepről származó, a SZIE-ÁOTK Járványtani és Mikrobiológiai Tanszékén egy PCV2-vel kapcsolatos kísérlethez érkezett malacokból származó mintákat vizsgáltunk, amelyből a fentiek mellett a PBoV1-2 típusú parvovírus is kimutatható volt. Az eredményeink ismeretében nem meglepő, hogy az első körben vizsgált mintákban nem találtunk PBoV1-2-t, hiszen nyirokcsomókat vizsgáltunk, és ez a vírus -egy bélfodri nyirokcsomót kivéve- csak bélmintákból volt kimutatható. A kínai tanulmányok is azt igazolják, hogy a PBoV1-2 típusú sertés parvovírus a bélsárból mutatható ki. A vírus első leírásakor egészséges, 3 különböző farmról származó, 15 naposnál fiatalabb malacból származó bélsár minták 12,5%-ából mutatták ki a PBoV1-2 -t (Cheng és mtsai., 2010). Egy másik, szintén kínai vizsgálat szerint 17 állományból származó, különböző korú sertésekből vett bélsárminták 64,4%-ában volt jelen PBoV1-2 típusú sertés parvovírus. Egy magyar tanulmány során bélsár eredetű mintákon kívül egyéb szervekből is kimutattak PBoV1-2-t (Cságola és mtsai., 2012).

Vizsgálataink során 14 állatból vett 5 vékonybél és 13 vastagbél mintából tudtunk kimutatni PBoV1-2 típusú sertés parvovírust. Az eddig ismert adatok alapján nagy a valószínűsége, hogy ez a vírus bélsárral terjed, és főleg bélre korlátozódó fertőzést okoz. Cheng és mtsai. (2010) szerint a vírus fiatal malacokat fertőz, de a maternális immunitás védi őket a klinikai tünetek kialakulásától, de azt is elképzelhetőnek tartják, hogy ezek a vírusok egyébként sem okoznának megbetegedést. A PCV2-vel kapcsolatos kísérlet során mi sem tapasztaltunk, és az általunk vizsgált telepről származó információk szerint az állományban sem észleltek emésztőszervi tüneteket, ami alátámasztja Cheng és mtsai. (2010) véleményét.

Amíg a PBoV1-2 döntően a belekből és bélsár mintákból mutatható ki, a PBoV3 és PBoV4 típusú sertés parvovírusok a különböző szervmintákból is kimutathatóak. Vizsgálataink szerint a PBoV3 az összes vékony- és vastagbél mintában jelen volt, de a vizsgált állatok felének szívéből is kimutatható volt. A PBoV4 szintén a belekben fordult elő nagyobb gyakorisággal, de egy-egy szervben is megtaláltuk a vírust. E két sertés bocavírus első leírásakor (McKillen és mtsai., 2011) a PBoV3-at bélsármintából, a PBoV4-et pedig vékonybél homogenizátumból izolálták primer, vese eredetű sejttenyészetben, így lehetővé vált indirekt immunofluoreszcens módszerrel ellenanyagok kimutatása és szerológiai felmérés végzése. A vizsgálat során 369 szérummintából 32 bizonyult szeropozitívnak PBoV3-mal szemben és 35 mintából mutattak ki PBoV4-gyel reagáló ellenanyagot (McKillen és mtsai., 2011). A tanulmányból nem derül ki, hogy a bélmintákon és bélsármintákon kívül más mintákból is kimutattak-e PBoV3 és PBoV4 típusú sertés parvovírusokat, és mivel a szerológiai felmérés nem vírust mutat ki, ez az első tanulmány, amely igazolja, hogy ezek a vírusok szisztémás fertőzést okoznak és nem csak a bélre korlátozódik a fertőzés. Mivel a belek fertőzöttsége igen intenzívnek tűnik, valószínűsíthető, hogy a vírus bélsárral terjed, a fertőződés főleg szájon át következik be, de nem zárható ki az sem, hogy a vírus a légzőszerveken keresztül, aerogén úton is terjed.

A PBoV3 első leírásakor a PCV2-höz köthető megbetegedések háttéréből került kimutatásra, légzőszervi és emésztőszervi tüneteket mutató malacokból (McKillen és mtsai., 2011). A PBoV3-hoz és PBoV4-hez genetikailag nagymértékben hasonlító PBoV5-öt hasmenéses malacokból írták le (Li és mtsai., 2012). Egyik tanulmány sem igazolja kétséget kizáróan ezeknek a vírusoknak a szerepét a megfigyelt klinikai tünetekkel kapcsolatban. Mi sem észleltünk emésztőszervi tüneteket, ám a vizsgált telepen korábban megfigyeltek légzőszervi tüneteket, valamint a PCV2-vel kapcsolatos kísérlet során köhögés és orrfolyás volt tapasztalható néhány állatban. A PBoV3 és PBoV4 patogenitásának megállapítása

további vizsgálatokat igényel, amit nagymértékben megkönnyít, hogy Észak-Írorszáiban ezeket a vírusokat sikerült *in vitro* elszaporítani.

Az általunk vizsgált vírusok közül a PPV2 volt kimutatható leggyakrabban a mintákból. A 14 darab, 74 napos korban exterminált sertés mindegyikéből kimutatható volt a PPV2, 7 tüdő, 9 szív, 12 gátorközi nyirokcsomó, 11 máj, 10 lép, 8 vese és 9 bélfodri nyirokcsomó adott pozitív eredményt annak ellenére, hogy a bélből egy esetben sem sikerült kimutatni a vírust (16. Táblázat). Mivel nem találtunk PPV2 pozitív bélmintát, az eddigi adatok alapján az feltételezhető, hogy a PPV2 főleg aerogén úton terjedhet. Az eddig megjelent tanulmányok is inkább az aerogén úton történő terjedést valószínűsítik. Egy Magyarországon, 392 mintán végzett felmérő vizsgálat szerint a tüdő minták 10,5%-a, míg a bélsárminták 6%-a tartalmazott PPV2 nukleinsavat (Cságola és mtsai., 2012). Az Egyesült Államokban készített vizsgálat során, 483 légzőszervi tüneteket mutató sertésekből származó összes tüdőminta 20,7%-a, a 185 emésztőszervi megbetegedésből származó összes bélsárminta 7,6%-a bizonyult PPV2 pozitívnak (Xiao és mtsai., 2012a). A 8-25 hetes korú sertésekből származó tüdő minták 35,7%-ából mutattak ki PPV2-t, ennél idősebb vagy fiatalabb állatokból jóval kisebb arányban találtak pozitív mintát, míg 20 napos kor alatt minden minta negatív volt. A bélsárminták vizsgálata során szintén a 8-25 hetes korú sertésekből volt kimutatható a legtöbb PPV2 pozitív minta, és 20 napos kor alatt a bélsárból sem lehetett kimutatni a vírust. Az irodalmi adatok alapján a PPV2 bélsárral is ürülhet a sertésekből. Felvetődik a kérdés, hogy ha ilyen erősen terheltek PPV2-vel az általunk vizsgált malacok, miért nem tudtuk kimutatni a bélsárból, az irodalmi adatokhoz hasonlóan, hiszen a 74 napos korban végzett vizsgálat éppen abba az intervallumba esik, amikor legnagyobb valószínűséggel mutatható ki a bélsárból. Az egyik lehetőség, ami az ismert irodalmi adatok alapján felmerülhet (Cságola és mtsai., 2012, Xiao és mtsai., 2012a), hogy kevés volt az általunk vizsgált mintaszám. Egy másik lehetséges magyarázat, hogy az általunk vizsgált vírustörzs nem képes a bélcsatornában szaporodni.

A PPV2 kórtani szerepéről jelenleg nem áll rendelkezésre egyértelmű adat. A mianmari vérmintákat hepatitisz E vizsgálatra küldték laboratóriumba (Hijikata és mtsai., 2001). Wang és mtsai. (2010) olyan sertésállományból származó savó mintáit vizsgálták, ahol a PRRSV-nek tulajdonított „high fever” kórképet és a PCV2 által kiváltott PMWS-t is megállapították. Az amerikai tanulmányban légzőszervi és emésztőszervi megbetegedésekből mutatták ki a PPV2-t, de nincs adat arra vonatkozóan, hogy milyen más kórokozókra vizsgálták a mintákat, a tünetekkel nem hozták összefüggésbe a vírust (Xiao és mtsai., 2012a). A PPV2 kórtani

szerepének és az emésztőszervekben történő szaporodásának tisztázása további vizsgálatokat igényel.

A PPV2-höz hasonlóan, a PPV3 sem volt kimutatható az általunk vizsgált 74 napos sertésekből származó bélmintákból. Egyéb szervekből 2-3 pozitív eredményt kaptunk a 14 állatból származó minták vizsgálata során. Irodalmi adatok szerint bélsárból is kimutatható a vírus, a Hong Kongban vizsgált bélsárminták 10%-a (Lau és mtsai., 2008), magyar bélsárminták 5,6%-a (Cságola és mtsai., 2012) volt fertőzött PPV3-mal. A magyarországi tüdő minták 21%-ából (Cságola és mtsai., 2012), észak-amerikai tüdő minták 12,4%-ából volt kimutatható a vírus (Xiao és mtsai., 2012b). A PPV3 vaddisznókban és házi sertésekben általában idősebb állatokból mutatható ki gyakrabban (Adlhoch és mtsai., 2010, Cadar és mtsai., 2011a, Xiao és mtsai., 2012b). Ezt támasztja alá az is, hogy a PPV3 első leírásakor a vágóhídról gyűjtött nyirokcsomó minták 80%-ából mutatták ki a vírust, egészséges vágósertésekből (Lau és mtsai., 2008). Kínában végzett felmérések szerint fiatal állatokból is nagy arányban mutatható ki PPV3. Li és mtsai. (2012) a PRRSV által kiváltott „high fever” kórkép tüneteit mutató farmról származó, 20 naposnál fiatalabb malacok májának vizsgálatakor a PPV3-at a minták 58,6%-ából mutatták ki. Pan és mtsai. (2012) Kína különböző tartományaiból származó, hat-hetesnél fiatalabb malacok lépének 22,22-26,67%-át, a hat-hetesnél idősebb sertések lépének 61,40-72,09%-át találták pozitívnak.

A PPV3 kórtani szerepe nem ismert, a Hong Kongban végzett vizsgálat során egészséges állatokból nagyobb arányban volt kimutatható, mint beteg sertésekből (Lau és mtsai., 2008). A vizsgált vaddisznók egészségügyi állapotáról nincs adat (Adlhoch és mtsai., 2010, Cadar és mtsai., 2011a). Kínában 242 elhullott malac lépének vizsgálata során 113 minta bizonyult pozitívnak (Pan és mtsai., 2012), de nincs információ arról, hogy a malacokban milyen klinikai, kórbonctani tünetek alakultak ki, és az sem ismert, vizsgáltak-e és találtak-e más mikroorganizmust a mintákban. Az Egyesült Államokban 483 tüdő mintát vizsgáltak, különböző kórképekben elpusztult sertésekből (Xiao és mtsai., 2012b). Reprodukciós rendellenességekből származó tüdőmintákból nem volt kimutatható PPV3. Az emésztőszervi betegségben elpusztult 37 állat közül egynek a tüdejében volt jelen a vírus (2,7%). Az idegrendszeri tüneteket mutató sertések 11,6%-ának, a légzőszervi tünetek közt elpusztultak 14,4%-ának a tüdejéből sikerült kimutatni PPV3-at. A légzőszervi tüneteket mutató sertések tüdejéből a PPV3 mellett gyakran PRRSV, influenza vírus és *Mycoplasma hyopneumoniae* is kimutatható volt (Xiao és mtsai., 2012b). Az eredmények alapján a szerzők

szükségesnek tartják a PPV3 szerepének vizsgálatát légzőszervi és idegrendszeri tünetek hátterében.

Az általunk vizsgált 14 sertés vastagbél mintából 10 esetben volt kimutatható PPV4, a vékonybélből viszont csak egy bizonyult pozitívnak. Egyéb szervekből 2-4 alkalommal került kimutatásra a vírus. Ez arra utal, hogy a PPV4 -legalább is 74 napos kor környékén- főleg a vastagbélben szaporodik, és bélsárral ürül. Bélsármintákat eddig csak egy magyar tanulmányban vizsgáltak, ahol a 215 bélsárminta 6%-ából mutatták ki a vírust (Cságola és mtsai., 2012). A PPV4 első, Észak Karolinában történt leírásakor tüdő, nyirokcsomó, lép és szív minták homogenizátumának keverékéből mutatták ki a vírust (Cheung és mtsai., 2010). A Kínában végzett vizsgálatok során szérummintákban és különböző szervmintákban találtak PPV4-et (Huang és mtsai., 2010), egy tünetmentes és két elhullott, valamint 10 szaporodásbiológiai problémákat mutató idősebb állatokban. Az egészséges malac 4 hetes, a két megbetegedett malac 8 hetes volt. A beteg malacokban elhullás előtt láz, idegrendszeri tünetek és remegés volt megfigyelhető. Az elhullott malacok véréből, tüdejéből, veséjéből, nyirokcsomóiból lehetett kimutatni PPV4-et, de a legnagyobb mennyiségben a szívből volt kimutatható a vírus. A hét darab, hét hónapos kocában abortusz fordult elő és halva született magzatokat hoztak világra. A három PPV4-gyel fertőzött, nyolc hónapos kan sertésben heresorvadás alakult ki. Mind a 13 PPV4 pozitív állatból kimutatható volt a sertés torque teno vírus (porcine torque teno virus, PTTV) két típusa (PTTV1, PTTV2), valamint 4 állatból PCV2 is kimutatható volt. A PRRSV, klasszikus sertéspestis vírusa, PPV1, PPV2, PPV3 valamint az Aujeszky betegség vírusa nem volt kimutatható ezekből az állatokból (Huang és mtsai., 2010).

A Magyarországon végzett vizsgálatban 4 vizsgált magzat közül 3-ból mutattak ki PPV4-et, valamint 2 sperma mintából az egyik szintén tartalmazta a vírust. Ezekből a mintákból egyéb ismert kórokozó nem volt kimutatható (Cságola és mtsai., 2012).

Az általunk vizsgált állományban a kocák kb. 10%-ában tapasztalható mumifikált és/vagy halva született magzatok világrahozatala (1. Kép), ami a sertéstelepnek jelentős gazdasági károkat okoz. A magzatok mindegyikéből PPV4 volt kimutatható. Az egyik magzattól a PPV4 mellett a PPV3-at is sikerült kimutatni. Más, ismert és általunk vizsgált vírus (PPV1, PPV2, PBoV1-2, PBoV3, PBoV4, 6V7V, PBo-likeV, PRRSV, PCV2, sertés adenovírus, sertés herpeszvírus, nem mutatott adat) nem volt kimutatható a magzatokból.

Mindhárom vizsgált kan spermájában jelen volt a PPV4. A kanokra vonatkozóan szaporodásbiológiai problémákról nincs információnk. Mindezek szerint valószínűnek tűnik, hogy a kanok spermájával is terjed a vírus.

A rendelkezésre álló információk alapján feltételezhető, hogy a PPV4-nek kórtani szerepe van az észlelt szaporodásbiológiai rendellenességek kialakulásában. Ennek bizonyítása további alapos, körültekintő vizsgálatokat igényel, amit nehezít, hogy a vírus *in vitro* szaporítására tett kísérletek idáig nem jártak sikerrel és a PCR-n kívül nem áll még rendelkezésre más diagnosztikai módszer, amellyel a vírust a szöveti környezetében lehetne vizsgálni, vagy a vele szemben képződő ellenanyagot lehetne kimutatni. A megfelelő diagnosztikai módszerek kifejlesztése nélkülözhetetlen a PPV4 kórtani szerepének tisztázásához, ezért a kutatásokat célszerű ez irányba folytatni.

Ugyanez mondható el a többi parvovírussal kapcsolatban is. A különböző vírusok kórtani szerepének tisztázását nagymértékben megnehezíti, hogy gyakran több vírus is kimutatható egy adott állatból, de még ugyanabból a szervmintából is, sokszor jól ismert kórokozók társaságában, mint például a PCV2, PRRSV vagy a *Mycoplasma hyopneumoniae*. Az újonnan leírt parvovírusokat gyakran mutatjuk ki tünetmentes állatokból, szubklinikai fertőzések formájában is. Még nem ismert, hogy ezeknek a vírusoknak az állatokban való jelenléte, szaporodása milyen hatást gyakorol a gazdaszervezetre, de, ha klinikai tünetekben megnyilvánuló megbetegedést nem is okoz, mindenképpen energiát von el a szervezetről, csökkentve ez által a termelés gazdaságosságát. Ezért is fontosnak tartjuk a különböző parvovírusok gazdaszervezetre gyakorolt hatásának vizsgálatát, amihez nélkülözhetetlen további, megbízható diagnosztikai módszerek fejlesztése. A megfelelő diagnosztikai módszerek által kapott eredmények birtokában tudjuk majd meghatározni, hogy az adott vírussal szemben szükség van-e védekezésre, és ha igen, milyen védekezési lehetőségeket lehet alkalmazni gazdasági károk csökkentése érdekében.



## 6. Összefoglalás

Az állatfajok széles köréből mutathatók ki parvovírusok. Ezek közülük számos fertőzés klinikai tünetekben is megnyilvánul, de a parvovírusoknak a nagy része szubklinikai, vagy tünetmentes fertőzés formájában mutatható ki. A parvovírusok a *Parvoviridae* családon belül két alcsaládra oszthatók: a *Densovirinae* alcsalád tagjai különböző ízeltlábúakat, míg a *Parvovirinae* alcsaládba tartozó vírusok gerinces állatokat fertőznek. Jelenleg a *Parvovirinae* alcsaládot öt nemzetségbe sorolják, úgy, mint *Dependovirus*, *Erythrovirus*, *Amdovirus*, *Bocavirus* és *Parvovirus* nemzetség.

A parvovírusok kisméretű, burok nélküli vírusok, amelyek 5-6 kilobázis nagyságú, szimpla szálú, lineáris DNS genommal rendelkeznek. A genom két fő nyílt olvasási keretet (open reading frame, ORF) tartalmaz, amelyek a nem strukturális és a kapszid fehérjéket kódolják. Az újonnan leírt bocavírusokban egy harmadik ORF is található, a két nagyobb között.

A rendkívül gyorsan fejlődő nukleinsav amplifikációs módszereknek köszönhetően az elmúlt néhány évben újabb sertés parvovírusok (porcine parvovirus, PPV), és bocavírusok (porcine bocavirus PBoV) kerültek leírásra, név szerint: PPV2, PPV3, PPV4, Porcine bocavir-like virus, PBoV1-2 típusú parvovírus, PBoV3, PBoV4, PBoV5, 6V és 7V típusú parvovírusok. Mindegyik vírus jelen van Magyarországon.

Célunk volt, hogy megvizsgáljuk, az új típusú PPV-k közül melyek vannak jelen egy dunántúli sertés állományban, meghatározzuk az érintett szerveket, valamint az eredmények alapján következtessünk a vírusok terjedésének módjára.

A vizsgált állományban a PPV2, PPV3, PPV4, PBoV1-2, PBoV3 és PBoV4 típusú vírusok voltak kimutathatók. A PPV2 és PPV3 a különböző szervekből volt kimutatható, de a belekből és bélsármintákból nem mutathatók ki. Ezek a vírusok feltehetőleg főként a légutakon keresztül terjednek. A PPV4 mumifikált és vetélt magzatokból volt kimutatható, de bélsárból, a különböző szervmintákból és az ondóból is kimutatható. A PPV4 valószínűleg germinatív úton, légzőszerveken át és bélsárral egyaránt terjedhet. A PBoV1-2 típusú vírus (egy bélfodri nyirokcsomó kivételével) csak a belekből mutatható ki, valószínűsítve, hogy a vírus csak bélsárral terjed. A PBoV3 és PBoV4 kimutatható a különböző szervmintákból, de

leggyakrabban a bélből. A PBoV3 az összes vizsgált bélmintában jelen volt, és gyakran a szívből is kimutatható volt.

Eredményeink olyan tanulmányok alapjait fektetik le, amelyek szükségesek ahhoz, hogy megértsük az újonnan leírt parvovírusok és a gazdaszervezet kölcsönhatását.

## 7. Summary

### *Detection and analysis of emerging porcine parvovirus infections in a swine herd*

Parvoviruses infect a wide variety of animal species and some of them are responsible for severe clinical diseases, but the majority of these viruses cause only mild or subclinical infections. They belong into the *Parvoviridae* family and form two subfamilies: *Densovirinae* infecting insects and *Parvovirinae* affecting vertebrates. The latter is currently classified into five genera, such as *Dependovirus*, *Erythrovirus*, *Amdovirus*, *Bocavirus* and *Parvovirus*.

Parvoviruses are non-enveloped, small viruses containing single-stranded, linear DNA genomes of approximately 5-6 kilobases (kb). The genome consists of two main open reading frames (ORF) that encode the non-structural and capsid proteins. The newly described bocaviruses include a third ORF, between the two major ORFs.

Thanks to the rapidly improving nucleic acid amplification technologies several new porcine parvoviruses (PPV) and porcine bocaviruses (PBoV) were described in the last few years, namely: PPV2, PPV3, PPV4, Porcine boca-like virus, PBoV1-2 type parvovirus, PBoV3, PBoV4, PBoV5, 6V and 7V type parvoviruses. These new porcine parvovirus infections have also been detected in Hungary.

The aims of this study were to detect new type PPVs on a pig farm located in Transdanubia, to determine the most affected organs, and conclude the way of spreading of these PPVs.

PPV2, PPV3, PPV4, PBoV1-2, PBoV3 and PBoV4 type viruses were detected on the examined pig farm. PPV2 and PPV3 were detected in various organs, but could not be detected in the intestines. Presumably, these viruses spread through the respiratory tract. PPV4 was detected in mummified and aborted foetuses, but was also detectable in faeces, in organ samples and in the semen. Presumably, this virus may spread through the germinative route, the respiratory tract and via the feces, too. The PBoV1-2 type virus could only be detected in the feces (except one mesenterial lymph node), suggesting that this infection was localised to the intestine and the virus may spread by faeces. PBoV3 and PBoV4 were

detected in different organ samples, most often from the intestines and PBoV3 was detected in all of examined pigs most often in the heart.

Our results lay the foundations for further studies to understand better the relations of newly discovered parvoviruses and the host's interaction.

## 8. Irodalomjegyzék

- ABINANTI FR, WARFIELD MS (1961) Recovery of a hemadsorbing virus (HADEN) from the gastrointestinal tract of calves. *Virology* 14:288–289
- ADLHOCH, C., KAISER, M., ELLERBROK, H., PAULI, G., 2010. High prevalence of porcine Hokovirus in German wild boar populations. *Virology* 7, 171.
- ALLAN, G.M., KENNEDY, S., MCNEILLY, F., FOSTER, J.C., ELLIS, J.A., KRAKOWKA, S.J., MEEHAN, B.M., ADAIR, B.M., 1999. Experimental reproduction of severe wasting disease by co-infection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus. *J. Comp. Pathol.* 121, 1–11.
- ALLANDER T, TAMMI MT, ERIKSSON M, BJERKNER A, TIVELJUNG-LINDELL A, ANDERSSON B (2005) Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:12891–12896
- ARTHUR JL, HIGGINS GD, DAVIDSON GP, GIVNEY RC, RATCLIFF RM (2009) A novel bocavirus associated with acute gastroenteritis in Australian children. *PLoS Pathog* 5:e1000391. doi:[10.1371/journal.ppat.1000391](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000391)
- BINN LN, LAZAR EC, EDDY GA, KAJIMA M (1970) Recovery and characterization of a minute virus of canines. *Infect Immun* 1:503–508
- BLOMSTRÖM AL, BELA´K S, FOSSUM C, FUXLER L, WALLGREN P, BERG M (2010) Studies of porcine circovirus type 2, porcine boca-like virus and torque teno virus indicate the presence of multiple viral infections in postweaning multisystemic wasting syndrome pigs. *Virus Res* 152(1–2):59–64
- BLOMSTRÖM AL, BELA´K S, FOSSUM C, MCKILLEN J, ALLAN G, WALLGREN P, BERG M (2009) Detection of a novel porcine bocalike virus in the background of porcine circovirus type 2 induced postweaning multisystemic wasting syndrome. *Virus Res* 146: 125–129
- BOLT, D.M., HÄNI, H., MÜLLER, E., WALDVOGEL, A.S., 1997. Non-suppurative myocarditis in piglets associated with porcine parvovirus infection. *J. Comp. Pathol.* 117, 107–118.
- CADAR D, CSA´GOLA A, L}ORINCZ M, TOMBA´CZ K, KISS T, SPINU M, TUBOLY T (2011) Genetic detection and analysis of porcine bocavirus type 1 (PoBoV1) in European wild boar (*Sus scrofa*). *Virus Genes*. doi:[10.1007/s11262-011-0650-4](https://doi.org/10.1007/s11262-011-0650-4)

- CADAR D, CSÁGOLA A, KISS T, TUBOLY T. Capsid protein evolution and comparative phylogeny of novel porcine parvoviruses. *Mol Phylogenet Evol.* 2012b Oct 5. doi:pii: S1055-7903(12)00387-9. 10.1016/j.ympev.2012.09.030. [Epub ahead of print]
- CADAR D, DÁN Á, TOMBÁ CZ K, LŐRINCZ M, KISS T, BECSKEI Z, SPÎNU M, TUBOLY T, CSÁGOLA A. Phylogeny and evolutionary genetics of porcine parvovirus in wild boars. *Infect Genet Evol.* 2012a Aug;12(6):1163-71. Epub 2012 Apr 28.
- CADAR, D., CSÁGOLA, A., LORINCZ, M., TOMBÁ CZ, K., SPÎNU, M., TUBOLY, T., 2011b. 666 Distribution and genetic diversity of porcine hokovirus in wild boars. *Arch. Virol.* 156, 2233–2239.
- CHENG WX, JIN Y, DUAN ZJ, XU ZQ, QI HM, ZHANG Q, YU JM, ZHU L, JIN M, LIU N, CUI SX, LI HY, FANG ZY (2008) Human bocavirus in children hospitalized for acute gastroenteritis: a case-control study. *Clin Infect Dis* 47:161–167
- CHENG WX, LI JS, HUANG CP, YAO DP, LIU N, CUI SX, JIN Y, DUAN ZJ (2010) Identification and nearly full-length genome characterization of novel porcine bocaviruses. *PLoS One* 5(10):e13583. doi:[10.1371/journal.pone.0013583](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013583)
- CHEUNG, A.K., WU, G., WANG, D., BAYLES, D.O., LAGER, K.M., VINCENT, A.L., 2010. Identification and molecular cloning of a novel porcine parvovirus. *Arch. Virol.* 155, 801–880.
- CHOI, C. S., MOLITOR, T. W., JOO, H. S. & GUNTHER, R. (1987). Pathogenicity of a skin isolate of porcine parvovirus in swine fetuses. *Vet Microbiol* 15, 19–29.
- CSÁGOLA A., LŐRINCZ M., TOMBÁ CZ K., BIKSI I., BALKÁ GY., TUBOLY T.:Detection of human parvovirus 4 related porcine hokoviruses in Hungary 2nd Central European Forum for Microbiology, 7-9 October 2009, Keszthely, Hungary.
- DROLET, R., D'ALLAIRE, S., LAROCHELLE, R., MAGAR, R., RIBOTTA, M., HIGGINS, R., 2002. Infectious agents identified in pigs with multifocal interstitial nephritis at slaughter. *Vet. Rec.* 150, 139–143.
- DUNNE, H. W., J. L. GOBBLE, J. F. HOKANSON, D. C. KRADEL, AND G. R. BUBASH. 1965. Porcine reproductive failure associated with a newly identified “SMEDI” group of picorna viruses. *Am. J. Vet. Res.* **26**:1284–1297.
- HIJIKATA, M., ABE, K., WIN, K.M., SHIMIZU, Y.K., KEICHO, N., YOSHIKURA, H., 2001. Identification of new parvovirus DNA sequence in swine sera from Myanmar. *Jpn. J. Infect. Dis.* 54, 244–245.

- HUANG L, ZHAI SL, CHEUNG AK, ZHANG HB, LONG JX, YUAN SS (2010) Detection of a novel porcine parvovirus, PPV4, in Chinese swine herds. *Virology* 21(7):333. doi:[10.1186/1743-422X-7-333](https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-333)
- KAPOOR A, SLIKAS E, SIMMONDS P, CHIEOCHANSIN T, NAEEM A, SHAUKAT S, ALAM MM, SHARIF S, ANGEZ M, ZAIDI S, DELWART E (2009) A newly identified bocavirus species in human stool. *J Infect Dis* 199:196–200
- KAPOOR, A., SIMMONDS, P., SLIKAS, E., LI, L., BODHIDATTA, L., SETHABUTR, O., TRIKI, H., BAHRI, O., ODERINDE, B. S. & OTHER AUTHORS (2010b). Human bocaviruses are highly diverse, dispersed, recombination prone, and prevalent in enteric infections. *J Infect Dis* 201, 1633–1643. Keane, T. M., Creevey, C. J., Pentony, M. M., Naughton
- KRAKOWKA, S., ELLIS, J.A., MEEHAN, B., KENNEDY, S., MCNEILLY, F., ALLAN, G., 2000. Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by co infection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus. *Vet. Pathol.* 37, 254–263.
- KRESSE, J. I., TAYLOR, W. D., STEWART, W. W. & EERNISSE, K. A. (1985). Parvovirus infection in pigs with necrotic and vesicle-like lesions. *Vet Microbiol* 10, 525–531.
- LAGER, K.M., MENGELING, W.L., 1994. Porcine parvovirus associated with cutaneous lesions in piglets. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 357–359.
- LAU SK, WOO PC, YIP CC, LI KS, FU CT, HUANG Y, CHAN KH, YUEN KY. Co-existence of multiple strains of two novel porcine bocaviruses in the same pig, a previously undescribed phenomenon in members of the family Parvoviridae, and evidence for inter- and intra-host genetic diversity and recombination. *J Gen Virol.* 2011 Sep;92(Pt 9):2047-59. Epub 2011 Jun 1.
- LAU, S.K., WOO, P.C., TSE, H., FU, C.T., AU, W.K., CHEN, X.C., TSOI, H.W., TSANG, T.H., CHAN, J.S., TSANG, D.N., LI, K.S., TSE, C.W., NG, T.K., TSANG, O.T., ZHENG, B.J., TAM, S., CHAN, K.H., ZHOU, B., YUEN, K.Y., 2008. Identification of novel porcine and bovine parvoviruses closely related to human parvovirus 4. *J. Gen. Virol.* 89, 1840–1848.
- LI B, MA J, XIAO S, FANG L, ZENG S, WEN L, ZHANG X, NI Y, GUO R, YU Z, ZHOU J, MAO A, LV L, WANG X, HE K. Complete genome sequence of a novel species of Porcine Bocavirus, PBoV5. *J Virol.* 2012 Jan;86(2):1286-7.

- LI B, MA J, XIAO S, WEN L, NI Y, ZHANG X, FANG L, HE K. genome sequence of a highly prevalent porcine parvovirus in mainland china. *J Virol*. 2012 Feb;86(3):1899.
- MANTEUFEL J, TRUYEN U (2008) Animal bocaviruses: a brief review. *Intervirology* 51: 328–334.
- MCKILLEN J, MCNEILLY F, DUFFY C, MCMENAMY M, MCNAIR I, HJERTNER B, MILLAR A, MCKAY K, LAGAN P, ADAIR B, ALLAN G. Isolation in cell cultures and initial characterisation of two novel bocavirus species from swine in Northern Ireland. *Vet Microbiol*. 2011 Aug 26;152(1-2):39-45. Epub 2011 Apr 22.
- MENGELING, W. L. & CUTLIP, R. C. (1975). Pathogenesis of in utero infection: experimental infection of five-week-old porcine foetuses with porcine parvovirus. *Am J Vet Res* 36, 1173–1177.
- MENGELING, W. L., PEJSAK, Z. & PAUL, P. S. (1984). biological assay of attenuated strain NADL-2 and virulent strain NADL-8 of porcine parvovirus. *Am J Vet Res* 45, 2403–2407.
- PAN Y, ZENG Q, ZHU C, HUA X, WANG M, PAN K, CUI L. Frequency and characterization of porcine parvovirus (PPV) in domestic pigs in eastern China. *Arch Virol*. 2012 Sep;157(9):1785-8. doi: 10.1007/s00705-012-1350-7. Epub 2012 Jun 1.
- SEGALÉS, J., ALLAN, G.M., DOMINGO, M., 2005. Porcine circovirus diseases. *Anim. Health Res. Rev.* 6, 119–142.
- SHAN T, LAN D, LI L, WANG C, CUI L, WEN ZHANG , XIUGUO HUA1\*, CAIXIA ZHU1, WEI ZHAO, DELWART E.. (2011) Genomic Characterization and High Prevalence of Bocaviruses in Swine. *PLoS ONE*.6(4): e17292.doi: 10.1371/journal.pone.0017292
- SZELEI, J., LIU, K., LI, Y., FERNANDES, S., TIJSSEN, P., 2010. Parvovirus 4-like virus in blood 778 products. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 561–564.
- TIJSSEN, P., AGBANDJE-MCKENNA, M., ALMENDRAL, J.M., BERGOIN, M., FLEGEL, T.W., HEDMAN, K., KLEINSCHMIDT, J., LI, Y., PINTEL, D.J., TATTERSALL, P., 2011. FAMILY PARVOVIRIDAE. IN: KING, A.M.Q., ADAMS, M.J., CARSTENS, E.B., LEFKOWITZ, E.J. (EDS.), *Virus Taxonomy*. 9th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, London, pp. 405–425.
- TOZER SJ, LAMBERT SB, WHILEY DM, BIALASIEWICZ S, LYON MJ, NISSEN MD, SLOOTS TP (2009) Detection of human bocavirus in respiratory, fecal, and blood samples by real-time PCR. *J Med Virol* 81:488–493



- WANG, F., WEI, Y., ZHU, C., HUANG, X., XU, Y., YU, L., YU, X., 2010. Novel parvovirus sublineage in the family of Parvoviridae. *Virus Genes* 41, 305–308.
- WHITAKER, H.K., NEU, S.M., PACE, L.W., 1990. Parvovirus infection in pigs with exudative skin disease. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2, 244–246.
- XIAO, C.-T., CHAO-TING XIAO, LUIS G. GIMÉNEZ-LIROLA, PATRICK G. HALBUR, TANJA OPRIESSNIG., Increasing porcine PARV4 prevalence with pig age in the U.S. pig population. *Vet. Microbiol.* (2012b), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.05.038>
- XIAO, C.-T., PRISCILLA F. GERBER, LUIS G. GIMÉNEZ-LIROLA, PATRICK G. HALBUR, TANJA OPRIESSNIG AL., Characterization of porcine parvovirus type 2 (PPV2) which is highly prevalent in the USA. *Vet. Microbiol.*(2012a), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.07.038>
- ZEEUW, E.J., LEINECKER, N., HERWIG, V., SELBITZ, H.J., TRUYEN, U., 2007. Study of the virulence and cross-neutralization capability of recent porcine parvovirus field isolates and vaccine viruses in experimentally infected pregnant gilts. *J. Gen. Virol.* 88, 420–427.
- ZHAI S, YUE C, WEI Z, LONG J, RAN D, LIN T, DENG Y, HUANG L, SUN L, ZHENG H, GAO F, ZHENG H, CHEN S, YUAN S (2010) High prevalence of a novel porcine bocavirus in weanling piglets with respiratory tract symptoms in China. *Arch Virol* 155(8): 1313–1317
- ZIMMERMANN, P., RITZMANN, M., SELBITZ, H.J., HEINRITZI, K., TRUYEN, U., 2006. VP1 sequences of German porcine parvovirus isolates define two genetic lineages. *J. Gen. Virol.* 87, 295–301.

## **9. Köszönetnyilvánítás**

A munkám során nélkülözhetetlen segítséget kaptam témavezetőmtől, Dr. Cságola Attilától és a Szent István Egyetem Immunológiai Tanszék összes dolgozójától.

Külön hálával tartozom a sertéstelep tulajdonosának és dolgozóinak, illetve a szüleimnek.