

## Viroológia és immunológia

A Viroológia és immunológia szekcióban a tudományos vitát HARRACH BALÁZS és KAJÁN GYŐZŐ vezették le.

Az első előadást DRÉN CSABA tartotta, társszerzője DRÉN ÉVA volt. Előadásuknak a „MAREK JÓZSEF hatása a virológiára” címet adták. MAREK JÓZSEF 150 éve született szegény földműves családban (1868, Vágszerdahely, ma Horná Streda, Szlovákia). Iskolai tanulmányait kitűnő eredménnyel végezte, beleértve a Magyar Királyi Állatorvosi tanintézetben folytatottakat is, ahol 1892. november 5-én megkapta állatorvosi oklevelét. Hamarosan klinikai segédtanárrá nevezték ki és szakmai fejlődése érdekében a berni egyetemre küldték (1897–98), ahol a filozófiai fakultás rendes hallgatójaként bölcsészdoktori oklevelet szerzett (1898). 1898 szeptemberétől HUTÝRA FERENC mellett dolgozott, majd 1901-től nyilvános rendes tanárként vezette a belorvostani tanszéket és belklinikai intézetet 1935-ig. Klinikai megfigyeléseit, kutatási eredményeit önállóan, vagy társszerzőkkel írt folyóiratcikkekben (154) és több nyelvre lefordított, többszöri kiadást megért állatorvosi szakönyvekben közölte, amelyek világhírűvé tették már életében. Oktatói és tudományos munkásságát mind a hazai (Magyar Tudományos Akadémiai tagság: 1918, 1938) mind a nemzetközi tudományos közösség számos formában elismerte. Ma leggyakrabban hivatkozott cikke egy, szakmai pályafutása korai szakaszában (1907) a szárnyasok idegyulladását és annak részletes kórszövettanát leíró cikke (Polyneuritis kakasokban, Állatorvosi Lapok, 1907. XXX. 26. 315–18; Multiple Nervenentzündung (Polyneuritis) bei Hühnern, Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, 1907. 30. 417–421). A betegséget tiszteletére ma is Marek-betegségnek (MB, Marek's diseases, MD), a kórokozót Marek-betegség vírusának (MBV, MDV, *Mardivirus*, GaHV2) hívják, amely a *Herpesviridae* család, *Alphaherpesvirinae* alcsaládjába tartozik és számos különleges tulajdonsággal (onkogén) rendelkezik. Minden házityúk fogékony a fertőzés iránt, a klinikai betegség kialakulását azonban számos tényező befolyásolja (a vírus patogenitása, az állat genetikai adottsága, immunkompetenciája és kora a fertőződéskor). Az MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézetében több MBV-t izoláltak (vakcinaként alkalmas változatokat is). Elkülönítő kórjelzésre alkalmas immunhisztokémiai módszert dolgoztak ki. Az MB ellen kifejlesztett, nem „sterilizáló” vakcinák (a betegség kialakulása ellen védenek, a fertőzéssel szemben nem) csak járványvédelmi intézkedésekkel és ellenállóbb fajták kitenyésztésével csökkentik az MBV okozta

gazdasági veszteségeket. Paradox módon, a hatékony védekezés ellenére, egyre virulensebb MBV-változatok alakulnak ki, ami a védekezés további javítását igényli. Ebből fontos következtetést lehet levonni a fertőző betegségek elleni védekezés további tökéletesítésére.

A következő előadó OLASZ FERENC volt, társszerzői pedig MÉSZÁROS ISTVÁN, BÁLINT ÁDÁM, LOCSMÁNDI GABRIELLA, BÁNYAI KRISZTIÁN, MARTON SZILVIA és ZÁDORI ZOLTÁN. Az előadás a „Magyarországi afrikai sertéspestis vírus szekvenciájának genetikai elemzése” címet viselte. Az afrikai sertéspestis (ASP) az egyik legnagyobb elhullási aránnyal járó sertésbetegség: a magas virulenciájú törzsek közel 100%-os halálozást okoznak. Az ASP-t először Kenyában írták le 1921-ben, az első európai esetet Portugáliában regisztrálták 1957-ben. Az afrikai sertéspestis vírus (ASPV) 2007-ben jelent meg a kelet-európai térségben, először Grúziában, majd onnét Oroszországon keresztül terjedt Közép-Európa felé; Magyarországon először 2018-ban azonosították elhullott vaddisznókból. Az ASPV az *Asfarviridae* családon belüli *Asfivirus* nemzetség egyetlen tagja, nagyméretű, burkos vírus, átlagos átmérője 200 nm. A genomja egy duplaszálú, lineáris, 190 kilobázis hosszúságú DNS. Ismereteink szerint több mint 200 fehérjekódoló szakaszt tartalmaz. Az ASPV-t szerotípusokba és genotípusokba sorolhatjuk. A szerotípust főleg két gén határozza meg, az EP153R és az EP402R, a genotípusos-besorolás a B646L gén szekvenciája alapján történik. A genom variábilis régióban található multigene family (MGF) gének szerepet játszanak a patogenitás és a virulencia kialakításában. A szerzők célja egy hazánkban izolált ASPV-törzs teljes genomjának szekvenciameghatározása és genetikai jellemzése volt. A fertőzött szervdörzsöléket 1 ml-nyi, sertés eredetű alveoláris makrofágokat (PAM) tartalmazó RPMI-1640 tápoldatban inkubálták, majd a felülúszóból három nap múlva DNáz-os és RNáz-os kezeléssel eltávolították a sertésgenomból származó nukleinsavakat. Ezt követően Roche High Pure Viral Nucleic Acid kittel tisztították a virális DNS-t. Ennek mennyiségét a mintában aspecifikus DNS-amplifikációval (REPLI-g Mini Kit) növelték, majd a szekvenálást Ion Torrent PGM platformon végezték. A kapott szekvenciák illesztése a Geneious szoftverrel történt. A kapott szekvenciát (ASFV\_HU\_2018) összehasonlították a GenBankban elérhető összes, teljes ASPV-nukleotid-szekvenciával. A szekvenált izolátum a 2-es genotípusba tartozik, és 99% egyezést mutat a Grúziából, Észtországból és Lengyelországból származó törzsekkel (Georgia 2007/1, ASFV/POL/2015/Podlaskie, Estonia 2014). Az ASFV\_HU\_2018 EP153R, EP402R és B646L géneiben nem található mutáció a Georgia 2007/1 szekvenciájához képest. A filogenetikai elemzésekre

használt A238L és KP177R gén szekvenciái is teljesen megegyeznek az első kelet-európai izolátumával (Georgia 2007/1). Viszont a változékonnyal megegyező MGF-gén-családban számos eltérés azonosítható. Egy deléción található a MGF 360-1L génben és egy frameshift a MGF 360-16R génben. Ezek a változások nincsenek jelen Georgia 2007/1-ben, de pontosan megegyeznek a 2015-ben izolált lengyelországi törzsben (ASFV/POL/2015/Podlaskie) megjelent mutációkkal. Megállapították, hogy az ASFV\_HU\_2018 közeli rokona a Grúziában azonosított ASPV-nek (Georgia 2007/1). A vírus konzervatív géneiben nem található változás, a mutációk többsége a változékonnyal megegyező MGF-géneiben azonosítható. Ezen genetikai jellegek alapján az ASFV\_HU\_2018 a GenBankban elhelyezett ASPV-izolátumok szekvenciái közül a lengyelországi ASFV/POL/2015/Podlaskie-val mutatja a legszorosabb rokonságot. Az előadást követő tudományos vita során felmerült, hogy mely genomi régió alkalmas leginkább a törzsek elkülönítésére. Az előadó válaszában a terminális 30–40 kb hosszúságú szakaszt jelölte meg.

A harmadik előadást TAMÁS VIVIEN tartotta „Új adeno-asszociált vírusok azonosítása sertésekben génterápiás alkalmazásokhoz” címmel, társszerzői MÉSZÁROS ISTVÁN, BÁLINT ÁDÁM, SZÜCS GÁBOR és ZÁDORI ZOLTÁN voltak. A génterápiában leggyakrabban használt virális vektorok közé tartoznak az adeno-asszociált vírusok (AAV), azonban génterápiában való alkalmazásukat megnehezíti, hogy emberekben a populáció nagy része már rendelkezik humán AAV elleni ellenanyagokkal. A sertésekben található AAV-k viszonylag jól képesek az emberi retinasejteket transzdukálni, és a humán populációkban ellenük általában nem találhatóak ellenanyagok. Az AAV-k egyik jellemző tulajdonsága, hogy ún. helper vírusok (adeno- vagy herpeszvírusok) nélkül nem tudnak replikálódni *in vitro*. Jelenleg nincsenek megbízható adataink arról, hogy az AAV-k kizárólag helper vírusok jelenlétében tudnának szaporodni *in vivo*, ezért az AAV-k életciklusának jobb megértéséhez további kutatások szükségesek. A szerzők célja egyrészt az AAV és helper vírusai kapcsoltságának vizsgálata házi-sertés- és vaddisznó-állományok vérmintáiban, másrészt pedig ezekből a vizsgálatokból kiindulva olyan új sertés AAV (poAAV) változatok kiszűrése, amelyek génterápiás vektorként alkalmasak lehetnek retinális örökletes betegségek kezelésére. Az AAV, továbbá az adeno- és herpeszvírusok előfordulásának vizsgálata PCR-reakciót használtak. Az adeno- és herpeszvírusok kimutatását kétkörös diagnosztikai PCR-rel végezték a szakirodalom alapján, az AAV-k detektálására pedig saját tervezésű primereket használtak. A vizsgálati anyagot sertés- és vaddisznóvérsavókból

kivont DNS-minták szolgáltatották. Az új génterápiás vírusvektorokhoz szükséges plazmid létrehozásához az új változatok diagnosztikai PCR-rel történő azonosítása után először átfedő darabokban amplifikálták a mintákból a teljes VP1 gént, majd az egyesített (joining PCR) VP1 szakaszokat AVV2 alapú plazmidokba klónozták. Összesen 312 vaddisznó és 192 házi sertés mintán végeztek diagnosztikai vizsgálatot AAV-ra. A vizsgált vaddisznó minták között 28 bizonyult pozitívnak helper vírusra. Az AAV és helper vírusai előfordulásának összefüggését csak a vaddisznómintákban tudták statisztikailag vizsgálni, mivel a házisertés-minták között mindössze 1 AAV-pozitívat találtak, míg a vaddisznó minták között 7-et. A statisztikai elemzés (Fisher-egzakt teszt, Barnard-próba) szoros összefüggést mutatott ki a helper vírusok és az AAV-k virémiás előfordulása között. Hat újonnan azonosított AAV-változattól sikerült szekvenciát kinyerni. Eddig háromból sikerült génterápiás vektorhoz szükséges rekombináns plazmid konstrukciókat előállítani. Az új AAV-változatok transzdukciós hatékonyságát jelenleg egerek retináján vizsgálja a nápolyi egyetemen DR. AURICCHIO csoportja. Diagnosztikai vizsgálataik alapján kijelenthető, hogy vaddisznóban a helper vírusokkal fertőzött állatok között nagyobb valószínűséggel találunk AAV-pozitív egyedeket. Megállapították, hogy a vaddisznók kiváló forrásként szolgálhatnak új AAV változatok azonosítására, amelyekből várakozásaik szerint hatékony génterápiás vektorok készíthetők. A vita során a kérdések főleg az AAV független, helper nélküli szaporodására vonatkoztak. ZÁDORI ZOLTÁN válaszában rávilágított, hogy a Derzsy-betegség vírusának *in vitro* önálló szaporodásáról van adat, de jelen kísérletek inkább bevezető jellegűek, amelyeknek célja feltárni ezt a lehetőséget. BENKŐ MÁRIA a felől érdeklődött, hogy esetleg adeno- és herpeszvíruson kívül más helpervírus is szerepet játszhat. ZÁDORI doktor szerint bármilyen magban szaporodó vírus betöltheti ezt a funkciót.

Ezután ismét OLASZ FERENC következett, előadásának címe „Magyarországról származó teljes sertés légzési és reprodukciós szindróma vírus (PRRSV) szekvenciák genetikai elemzése” volt, társszerzői MÉSZÁROS ISTVÁN, BÁLINT ÁDÁM, BÁNYAI KRISZTIÁN, MARTON SZILVIA és ZÁDORI ZOLTÁN. Magyarországon 1995-ben jelent meg a PRRSV. A 2000-es évek közepére a PRRSV fertőzöttség mértéke elérte a nagylétszámú állományokban a 20–25%-ot, és egy genetikailag és virulenciáját tekintve is rendkívül változatos PRRSV-populáció alakult ki hazánkban. A komoly gazdasági károk következtében 2014-ben a Nemzeti PRRS Mentésítési Program keretében megkezdődött a sertésállományok szervezett mentésítése a betegségtől. A szerzők diagnosztikai

célből az ország különböző megyéiben található sertéstartó telepekről vérsavó mintákat kaptak, hogy megállapítsák a PRRSV fertőzöttség mértékét és a pozitív mintákból vírust izoláljanak. A vérsavó mintákból QIAamp cador Pathogen Mini Kittel vonták ki a nukleinsavat, majd a PRRSV fertőzöttségüket OneStep RT-PCR kittel, diag\_F (GAATGGCCAGCCAGTCAATC) és diag\_R (TCGCCCTAATTGAATAGGTGACT) primerpárral határozták meg. A filogenetikai elemzéshez szükséges ORF5 gént ORF5EU-uniF (CAATGAGGTGGGCYACACC) és ORF5EU-uni\_R2 (GGGCAGGGGCCAGAAT GTAT) primerpárral sokszorosították, majd szekvenáltatták. A vérsavó felülúszókból 100 µl-t sertés alveoláris makrofágokat (PAM) tartalmazó 1 ml RPMI tápoldatban inkubáltak, majd 3 nap elteltével ebből a QIAamp Viral RNA Mini Kittel kivonták a virális RNS-t, amelyet DNS-sé random primerek segítségével Superscript III enzimrel írtak át. Az új generációs szekvenálás 316-os szekvenáló chipen Ion Torrent PGM platformon történt. A szekvenciák illesztését a Geneious szoftverrel végezték. A filogenetikai elemzésekhez a Mega6 szoftvert alkalmazták. A rekombinációs események felderítése céljából, az izolátumokat egymáshoz és a két legközelebbi ismert rokonukhoz hasonlították SimPlot elemzéssel. 2016-ban 72 sertéstartó telepről származó mintát teszteltek, ebből 46 bizonyult PRRSV vírusra pozitívnak. Összesen 60 darab pozitív mintából sikerült részleges ORF5 szekvenciát kinyerni. A szekvenciaadatok fényében kiválasztották azokat a vérsavómintákat, amelyekben található PRRSV-k egymástól eltértek. Öt izolált vírussal határozták meg a teljes nukleotidszekvenciáját. Az ORF5-szekvenciák alapján felállított filogenetikai törzsfán két törzset (HU19401, HU19483) a 3D kládba, másik kettőt (HU18755, HU18861) a 3F-be, továbbá a HU24924 törzset az 1G-be sorolták. A GenBankban található legközelebbi rokon vírustörzsek a Lelystad-vírus bizonyult. Az izolátumok közül a legnagyobb nukleotidegyezést a Lelystad vírussal a HU19401 mutatta (88,1%) a legnagyobb különbséget a HU18755, az egyezés mértéke csak a 84,7% volt. Megállapították, hogy a HU18755 és a HU18861 rekombináns vírus, és valószínűsíthető, hogy a HU19401 is hordoz egy rekombináns fragmentet. Magyarországon genetikailag változatos PRRSV-törzsek fordulnak elő, amelyek egy része szekvenciaszinten akár 14%-kal is eltérhet az eddig ismert teljes szekvenciáktól. A nagy számban talált rekombinánsok jelenlétének egyik magyarázata az lehet, hogy a magyar sertéstelepek egy részében különböző forrásokból többféle törzs is jelen van. Ezt az elméletet az is erősíti, hogy 11 olyan gazdaságot találtak a 46-ból, amelyekben két egymástól eltérő törzset is észleltek ORF5 szekvenciák alapján. A munkát az NKFI K-119381 pályázat támogatta. A vita során HARRACH

BALÁZS a felől érdeklődött, hogy esetleg más bioinformatikai módszerekkel is vizsgálták-e a rekombináció előfordulását, és erre megerősítő választ kapott.

Az ötödik előadó MÉSZÁROS ISTVÁN volt, társszerzői OLASZ FERENC, BÁLINT ÁDÁM, ERDÉLYI KÁROLY valamint ZÁDORI ZOLTÁN. Előadásuk a „Házikacsa (*Anas platyrhynchos domestica*) eredetű sejtvonallétrehozása és fogékonyságának vizsgálata influenza A és B vírusra” címet viselte. Az influenza A vírus szegmentált, egy-szálú RNS genommal rendelkező, burkos vírus. A felszíni glikoproteinek antigenitása alapján 18 hemagglutinin és 9 neuroaminidáz szubtípusa különíthető el, amelyek szinte az összes lehetséges variációban előfordulhatnak. A szubtípusok az antigenitás mellett patogenitásukban is különbözhetnek, azonban közös tulajdonságuk, hogy mind fenntarthatók háziyúk embrionált tojásban. Az embrionált tojások hátránya, hogy bizonyos mezei izolátumok kis hatékonysággal replikálódnak bennük, így kimutatásuk is nehézkes. További nehézség, hogy sorozatpasszálás esetén a vírus adaptálódik a tojáshoz: a folyamat során mutációk keletkeznek a hemagglutinin génjében, megváltoztatva a fehérje glikolizációs mintázatát, antigenitását. A fenti okok miatt az influenza A vírus fenntartásához számos immortalizált sejtvonalat használnak. Közülük a Vero-t mind a vírusizolálásnál, mind a vakcinagyártásban széleskörűen használják, habár számos hátránya is van (pl. lassú virális ciklusidő, alacsony titer). A szerzők célja volt egy új, házikacsa eredetű sejtvonallétrehozása virológiai vizsgálatokhoz, valamint ennek fogékonyságának vizsgálata influenza A és B vírusra. Házikacsa-embriókból eltávolították az petefészkeket, a sejteket tripszines emésztéssel elválasztották egymástól, majd tápfolyadékban tenyésztették. A konfluens tenyészeteket 3 naponta passzálták. Madár eredetű H1N1, H3N8, H5N1, H5N2, H5N9, H7N1 és H10N4-es szubtípusok véghígításával, immunofluoreszcens festéssel meghatározták az izolátumok titerét az általuk létrehozott DuO240 és Vero sejteken. Az eredményekből következtettek a sejtvonallal érzékenységre. Két humán influenza A vakcinatörzssel (MS01/17 NYMC X-275 (H1N1) és MS-03/18 IVR-186 (H3N2)), valamint egy influenza B vakcinatörzssel (MS-05/18 NYMC BX-69A) végzett fertőzés után a fertőzés 72. órájában hemagglutinációs teszttel meghatározták a termelődött vírusok mennyiségét (HA-titer). A házikacsa eredetű sejteket sikeresen immortalizálták: jelenleg a 90. passzázst tartják fenn belőle (2018.12.06.-i adat). A madár eredetű mezei izolátumokkal végzett fertőzések során a DuO240 sejtvonallal az összes vizsgált szubtípussal fertőzhetőnek mutatkozott. Minden izolátumból magasabb véghígításban detektáltak vírust a DuO240-en mint

a Vero sejteken. A különbség, szubtípustól függően egy és három nagyságrend között változott. A vakcina törzsekkel végzett kísérletek során az X-275 és az IVR-186-os törzsekkel 32, ill. 16-os HA titert értek el, míg a BX-69A törzssel 128-as HA titert. A DuO240-es sejtvonallal alkalmasnak bizonyult az összes általuk vizsgált madárereditű influenza törzs izolálására. A véghígítási vizsgálatok alapján az összes izolátumra érzékenyebb volt, mint a Vero-sejtvonallal. Ez a nagyfokú érzékenység alkalmassá teheti a vírusdiagnosztikai használatát a gyakorlatban. Ugyanakkor további vizsgálatok szükségesek a termelődött vírusok mennyiségének meghatározására. A HA-titerek alapján a DuO240-es sejtvonalon viszonylag nagy titerben szaporítható a három általuk vizsgált humán influenza vakcinatörzs, ami arra utal, hogy további fejlesztések után a sejtvonallal alkalmas lehet a vakcinagyártásban alkalmazott embrionált tojások kiváltására. Az előadás után BENKŐ MÁRIA a felől érdeklődött, hogy a sejtek milyen arányban oszthatók passzázssal, és erre az 1:5 arányt kapta válaszként. DRÉN CSABA kérdése pedig arra vonatkozott, hogy a sejtvonallal kommersz vagy SPF-kacsából ered-e, és erre MÉSZÁROS ISTVÁN a kommersz kacsát jelölte meg. DRÉN CSABA szerint ez esetben vizsgálni kéne a sejteket vertikálisan terjedő vírusok jelenlétére, különösen annak tükrében, hogy a sejtek ilyen sokáig oszthatódnak, immortalizáltak tűnnek.

SZEREDI LEVENTE, „A Schmallenberg vírus szerepe a házi kérődzők vetéléseiben” címmel tartott előadást, társszerzői DÁN ÁDÁM, MALIK PÉTER, HORNYÁK ÁKOS és JÁNOSI SZILÁRD voltak. 2011-ben egy új megbetegedés jelent meg Európában, amely teheneiben lázat, hasmenést és tejsökkenést okozott. A betegséget egy az orthobunya vírusok közé sorolt új vírus, a Schmallenberg vírus (SBV) idézte elő. A későbbiekben a fertőzés vemhes teheneiben és juhokban vetélést és torzfejlődést okozott. A vírus igen gyorsan elterjedt egész Európában. Hazánkban ez első SBV okozta vetélést 2012-ben mutatták ki. A kutatás során azt vizsgálták, hogy a budapesti ÁDI-ban 2011 és 2017 között vizsgált szarvasmarha-, juh- és kecske-vetéléseknél milyen szerepet játszott az SBV fertőzés. Az intézet archívumából összesen 537 esetet választottak ki (387 szarvasmarha, 112 juh és 38 kecske). Ezekben az esetekben részletes kórbonctani, kórszövettani, immunhisztokémiai és PCR-vizsgálatra került sor a hazánkban potenciálisan előforduló vetélést okozó kórokozók valamint az SBV kimutatása céljából. Fertőző eredetű vetélést találtak összesen 160 (30%) esetben, míg nem fertőző eredetű vetélést 11 (2%) esetben állapítottak meg. A vetelési ok 366 (68%) esetben nem vált ismertté. Az eredmények a táblázatban részletezve láthatóak.

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

A házi kérődzők természetes eredetű vetéléseinél az SBV csak sporadikusan mutatható ki hazánkban. A 160 fertőző eredetű vetélés közül csupán 4 (2,5%) esetben igazolták az SBV jelenlétét, amely messze mögötte marad a baktériumok okozta vetélések előfordulási gyakoriságának (69 eset, 43%). Az SBV-fertőzésből eredő gazdasági kártételben a vetélés okozta kár csak alárendelt szerepet játszik. Az előadás utáni vitában DRÉN CSABA kifejtette véleményét, amely szerint, ha a vírus ilyen állategészségügyi gondokat okoz, akkor a kórokozónak elterjedtebbnek kell lennie a kimutatottnál, és talán a nem megfelelő mintavételezés okozhatta az alacsony kimutatási százalékot, hiszen a vírus érzékeny a környezeti behatásokra. Az előadó szerint a vírus szerológiailag valóban nagyobb arányban diagnosztizálható, ennek ellenére a megbetegedés ritka. OLASZ FERENC a vírus zoonotikus jellege felől érdeklődött, de negatív választ kapott. BENKŐ MÁRIA pedig az alkalmazott PCR-módszer jellege felől, amely qPCR volt, a terméket nem szekvenálták.

Ezután HORNYÁK ÁKOS tartott előadást „Új juh-adenovírus izolálása és teljesgenom-meghatározása” címmel, társszerzői SZEREDI LEVENTE, DOSZPOLY ANDOR, VIDOVSKY MÁRTON és HARRACH BALÁZS voltak. Egy 2017-ben az ÁDI-ba küldött szopós kosbárány hullában baktériumos fertőzéssel szövődött, vírusos fertőzésre jellemző súlyos fokú tüdőgyulladást állapítottak meg. A rutinszerűen alkalmazott PCR-módszerekkel, valamint a szekunder borjúhere sejttenyészetten elvégzett vírusizolálási kísérlettel nem tudták megerősíteni az immunhisztokémia (IHC) által jelzett adenovírus jelenlétét a tüdőből. Végül speciális DNS-polimeráz és Iva2 géneket célzó primerekkel, valamint OA3 juhhere-sejtvonalon sikerült kimutatni egy eddig le nem írt, új juh-adenovírust és így megerősíteni az IHC adenovírus-pozitív eredményt. A részleges polimeráz és Iva2 gén szekvenciák mastadenovírust mutattak, de nem utaltak ismert, közeli rokon adenovírusra. A szövettenyészetten elszaporított juh-AdV-ből kivont DNS szekvenálását Illumina új-generációs (next generation sequencing – NGS) szekvenáló platformon végezték.

A szekvenciák összeillesztését CLC Genomics Workbench programmal végezték, ami két nagy kontigot (összefüggő genom-szekvencia részlet) eredményezett. Az adatok bioinformatikai elemzése (homológia keresés) során egy kisebb folytonossági hiányt azonosítottak a genomszekvencián az 55K gén elhelyezkedésének helyén. Ezt a szakaszt specifikus primerek tervezésével PCR-rel hidalták át, majd „primer séta” módszerrel szekvenálták. A genomvégek (ITR-ek) pontos meghatározása szintén specifikus, a nyert szekvenciák alapján tervezett primerekkel történt. Az így meghatározott AdV genomja 36 206 nt hosszúnak bizonyult és jellegzetes mastadenovírus-genomszerveződést mutatott, tartalmazva a mastadenovírus-specifikus IX-es és V-ös géneket is. Az ITR 93 nt hosszú. A genom 70% GC-arányú, ami meglepően magas százalék. Az általában igen változatos E4 régióban 4 ORF-et találtak, amelyek homológiát mutatnak a bovin adenovírus 3 (BAdV-3) hasonló elhelyezkedésű ORF-jeivel. A szintén nem konzervatív E3 régióban hiányzik a 12,5K gén, ami a legtöbb mastadenovírusban megtalálható, míg a nem mindig jelenlévő U exon azonosítható volt. Az E3 régió csupán egy ORF-et tartalmaz. Ez a méret nem jellemző a többi juh- és szarvasmarha-AdV-ra. Ilyen rövid E3 régiót eddig csak rágcsáló- és denevér-AdV-okban tapasztaltak. Az új juh-AdV hexonszekvenciája meglehetősen hasonlít a juh-AdV-6 hexonjára, amely vírusból csak ez az egyetlen gén ismert. Ugyanakkor, a teljes hexon kb. 95%-os azonossága miatt (míg az antigénitásiért elsősorban felelős loop 1 szakasz már csak 81% azonosságot mutat) ez az új izolátum feltehetően új szerotípus is (OAdV-8), bár valószínűleg ugyanabba (a még meg nem alapított) fajba lehet majd besorolni (Ovine mastadenovirus C). Új juh-adenovírust 1983 óta nem izoláltak, sőt nem írtak le PCR-kimutatással sem. Kutatásaihoz az NKFIH NN128309 sz. pályázata nyújt anyagi támogatást.

A nyolcadik előadó VIDOVSKY MÁRTON volt, aki BÖSZÖRMÉNYI KINGA, SURJÁN ANDRÁS, RÓNAI ZSUSZANNA, DÁN ÁDÁM és HARRACH BALÁZS társzerzőkkel a „Bovine adenovírus 10 előfordulásának első szekvencia szintű igazolása Európa kontinentális részén” című előadást tartotta. Az elmúlt két évben Magyarország nyugati régiójában található szarvasmarhatelepeken a 4–6 hónapos borjak szőrványos elhullásával járó, idült betegség előfordulását tapasztalták. A megbetegedések vezető klinikai tünete az erős, ritkán véres hasmenés volt. Az elhúzódozó eseteknél további tünetek, fogyás, gyengeség és levertség is észlelhető volt. Az érintett állatok közül néhány rövid időn belül elhullott, míg a túlélők zöme felépült, de egyes egyedek senyvesse váltak. A kezelő állatorvos külön kérésére adenovírusok (AdV) esetleges jelenlétére is szűrték a vizsgálatra érkezett mintákat.

Három elhullott borjú szövetmintája, valamint egy hasmenéses, legyengült egyed bélsármintája PCR-rel AdV-pozitívnak bizonyult. A pozitív minták különböző telepekről származtak. A PCR-termékek nukleotidszerejét először közvetlenül, majd molekuláris klónozást követően is meghatározták. A nukleotidszekvenciák elemzése az összes esetben bovin adenovírus (BAdV) egy vagy több típusának jelenlétét igazolta. Három állatban a BAdV-10-ével azonos szekvenciát kaptak. Ezek közül két mintában a BAdV-10 mellett egyidejűleg a BAdV-6 is jelen volt. A negyedik esetben egy eddig csak az Egyesült Államokban (Wisconsinban), szarvasmarhatelepek PCR-es szűrése során kimutatott és leírt AdV-szekvenciával (BAdV-Wa) azonos szekvenciát kaptak. A további, azonos körülmények között elhullott állatok mintáinak szűrése (4 db) negatív eredménnyel zárult. A BAdV-6 előfordulását hazai kérődzőkben már korábban megfigyelték. Ezzel szemben ez a BAdV-10 és BAdV-Wa legelső magyarországi kimutatása. A BAdV-10 prototípus törzsét borjak elhullásával járó enterális megbetegedés kapcsán izolálták Új-Zélandon. Pár évtizeddel később sporadikusan jelentkező, fibrines-véres hasmenés következtében elhullott hízbikákból további BAdV-10 törzseket izoláltak Észak-Írországban. A BAdV-10 specifikus kimutatására kidolgozott *in situ* DNS-hibridizálási eljárással nagyszabású szűrést hajtottak végre különböző országokból, borjúhasmenéses esetekből származó, archivált szövettani anyagon. E felmérő vizsgálat során kanadai és holland eredetű, paraffinba ágyazott bélminták is pozitívnak bizonyultak BAdV-10-re. Legújabb PCR-rel is kimutatták a BAdV-10 jelenlétét az USA-ban, majd ismét Új-Zélandon. A szerzők jelen vizsgálatát képviseli az első, valós időben, nukleotidszekvenciával is alátámasztott BAdV-10 kimutatást Magyarországon, és egyben a kontinentális Európában is. A vírusok szövettenyészetben való izolálására tett kísérletek nem jártak sikerrel. A szerzők az új BAdV típus (BAdV-Wa) további genomrészleteinek szekvenálását és filogenetikai elemzését tervezik a jövőben. A kimutatott BAdV-oknak a hasmenéses megbetegedésekben játszott esetleges oktatási szerepének tisztázásához további vizsgálatok szükségesek, mivel jelenlétüket az esetek egy jelentős hányadában nem lehetett igazolni. Kutatásai anyagi feltételeit az NKFIH NN128309 sz. pályázat biztosította. A vita során felmerült egyéb kórokozók szerepe a megbetegedésekben, mire az előadó válaszában kifejtette, hogy csak virális kórokozók jelenlétét vizsgálták, de valóban valószínűleg összetett oktatási megbetegedéssel állunk szemben.

TARJÁN ZOLTÁN LÁSZLÓ „Új hal-herpeszvírus első kimutatása lesőharcsában (*Silurus glanis*)” címmel tartott előadást, társszerzői ESZTERBAUER EDIT és BENKŐ MÁRIA

voltak. A lesőharcsa (*Silurus glanis*) himlőszerű, proliferatív bőrelváltozásának makroszkópos, fény- és elektronmikroszkópos megfigyeléseken alapuló, első leírása magyar kutatók nevéhez fűződik (BÉKÉSI és mtsai, 1981), akik feltételezték, hogy a kóroktanban herpeszvírusok játszhatnak szerepet. Ezt azonban a szerzők vizsgálatai előtt molekuláris adatokkal még sehol nem erősítették meg. A munka célja a nemrégiben hazánkban újra felbukkant betegség herpeszvirusos eredetének tisztázása volt. Az elmúlt néhány évben, egy hazai tógazdaságban a két-, ill. háromnyaras harcsák őszi lehalászásakor a testszerte jellegzetes bőrelváltozásokat mutató egyedeket kiselejtezték, és virológiai vizsgálat céljára átadták a kutatócsoportnak. Az elváltozott bőrszövetből vett mintákban PCR segítségével kísérelték meg herpeszvírus jelenlétének kimutatását. Három általános (konszenzus primerekkel működő) PCR-t alkalmaztak, amelyeket a halak és kételtűek herpeszvirusainak besorolására létesített *Alloherpesviridae* család tagjainak egy-egy megőrzött génjére terveztek. A keletkezett DNS-fragmentumok nukleotid-sorrendjét közvetlenül, majd molekuláris klónozás után is meghatározták. Az újonnan nyert szekvenciák alapján újabb PCR-ekhez oligonukleotid primereket terveztek további genomszakaszok kinyerése, ill. szekvenálás céljából. A szekvenciák alapján bioinformatikai módszerekkel filogenetikai elemzéseket végeztek. Makroszkópos vizsgálattal a halak testén változó mértékben kiterjedt, helyenként térképszerűen összefolyó, göbös, proliferatív bőrelváltozások voltak láthatók. A felszínből kiemelkedő, világosszürke, kerek, esetenként hámsziányos, ill. vérzéseket is tartalmazó képleteket a bőrrel nem lehetett leválasztani. A belső szervekben nem volt elváltozás. Kórszövetteni vizsgálattal az érintett hámszövet hiperplasiáját lehetett megfigyelni. A hal-herpeszvirusok általános kimutatására alkalmas PCR két gén esetében is pozitív eredményt adott, sőt egy harmadik génből véletlenszerűen sikerült kinyerniük egy szakaszt. A homológia-kereső program az *Alloherpesviridae* család *Cyprinivirus* nemzetségének tagjaiban leírt vírusokkal jelzett legközelebbi rokonságot. Egy hosszabb (15 kb) genomrészletet is sikeresen felerősítettek a feltételezésük szerint közelebbi két génszakasz között. Ennek szekvenálása jelenleg még folyamatban van. A szekvenciák elemzése egy eddig ismeretlen alloherpeszvírus jelenlétére utalt. A kódolt fehérjék aminosav sorrendje alapján készített törzsfarekonstrukciók azt mutatják, hogy az újonnan talált vírus egy új vírusfaj képviselője, amely legközelebbi rokonságban az angolna és a ponty herpeszvirusaival áll. További adatok szükségesek annak eldöntéséhez, hogy a harcsa-herpeszvírus a *Cyprinivirus* nemzetségbe, vagy egy ahhoz közeli, elkülönülő kládba sorolható-e. Két év különbséggel vett mintákban ugyan-

nak a vírusnak a jelenlétét detektálták. Eredményeik az első molekuláris adatok a leső harcsa herpeszvirusára vonatkozóan. A kutatásaikra benyújtott K17-124511 pályázatot az NKFIH nem támogatta.

Ezután SURJÁN ANDRÁS és VIDOVSKY MÁRTON előadása következett „Denevérek polyomavírusainak első kimutatása Európában” címmel. A denevérek számos vírus és egyéb kórokozó jelentős rezervoárjai és terjesztői. Az állati és humán szempontból veszélyes vírusok mellett (pl.: Ebola, veszettség, SARS), sok kevésbé jelentős kórokozó hordozói is lehetnek. A tanulmány célja denevér-polyomavírusok kimutatása, diverzitásuk vizsgálata és filogenetikai viszonyaik elemzése volt. A polyomavírusok (PyV) buroknélküli, cirkuláris, kettősszalú DNS-vírusok. Genomjuk mérete kb. 5000 bp, amelyen általában 5–7 gént kódolnak mindkét irányban. Orvosi fontosságukat főképpen tumorindukáló képességük adja. Denevérekben eddig főleg afrikai és ázsiai fajokban vizsgálták jelenlétüket, így a szerzők munkája az első Európában is igazolt PyV jelenlét kimutatása denevérekben. A PyV kimutatására, a vírus protein 1 (VP1) gén egy rövid (kb 250 nt) szakaszát felerősítő kettős (nested) PCR-módszert alkalmaztak. Huszonhárom denevérfaj 65 bélsár- és szervmintáját vizsgálták a degenerált primerekkel. A minták közül 10 bizonyult polyomavírusra pozitívnak (15,4%). Ezek mindegyike simaorrú denevér (*Vespertilionidae*) minta volt. Hat denevérfajból hét új, ideiglenes PyV típusba sorolható polyomavírus-szekvenciát mutattak ki. Európában elsőként igazolták polyomavírusok jelenlétét denevérekben. A polyomavírusok nagy változatosságot mutatnak. A szerzőknek a VP1 génszakaszon alapuló filogenetikai elemzése alapján az új polyomavírusok leginkább a többi denevér-polyomavírushoz hasonlíthatnak, de találhatóak közöttük humán ill. más főemlős-polyomavírusokkal közeli rokon vírusok is. Mindezek alapján feltételezhető, hogy a polyomavírusok gyakran válhatnak gazdát denevérek és más emlősök között. A denevérek potenciális vírusrezervoár szerepük miatt nagyon érdekesnek bizonyulnak virológiai kutatások szempontjából, így célszerű az európai denevérek további vizsgálata. Az eddig kimutatott vírusok további, lehetőleg teljes genetikai elemzését tervezik. A kapott mintákért köszönetet mondanak DR. BOLDOGH SÁNDORNNAK. A kutatásokat anyagilag az NKFIH NN128309 sz. pályázata támogatta. DÉNES BÉLA azt a megjegyzést fűzte az előadáshoz, hogy emberben 100%-os polyomavírus-fertőzöttséget írtak le. DRÉN CSABA a VP1 fehérje szerepe iránt érdeklődött, és megtudva, hogy ez a fő kapszidprotein, további kérdése arra irányult, hogyan lehet ez ennyire megőrzött, konzervált szekvenciájú. Az előadó válaszában kifejtette, hogy csak az elemzett régiója megőrzött a fehérjének, természetesen változókéonyabb része is létezik.

PAPP TIBOR, GELLÉRT ÁKOS, MAHA D. ABBAS, MICHAEL PEES, VOLKER SCHMIDT, ANNKATRIN NEUL, J. MATTHIAS STARCK és RACHEL E. MARSCHANG előadást nyújtott be „Membrán-glikoproteinek feltételezett szerepe különböző genocsoportú ferlavírusok eltérő patogenitásában” címmel. A *Ferlavirus* nemzetség tagjai a hullók paramyxovírusai (PMV). Ezek világszerte, elsősorban kígyókban előforduló, súlyos légzőszervi és idegrendszeri tünetekkel járó megbetegedést és elhullást előidéző kórokozók. Az eddig leírt izolátumokat, mások rendszerezését folytatva, korábbi közleményeikben 4 genocsoportba sorolták be a szerzők. Az A-, B- és C-csoportok tagjai főképp kígyókból és gyíkokból, valamint kivételesen egy teknősből is kimutathatók voltak; míg az ezektől távolabbi „teknős saját PMV” csoport (T) egyetlen tagja csak teknősből ismert. Munkájuk során a szerzők szerették volna a kígyó-gyík csoportok tagjainak hosszabb genomrészt meghatározva, a származtatott aminosav szekvenciák alapján, fertőzésre kiválasztott vírusok membrán-glikoproteinjeinek (fúziós protein – F, hemagglutinin-neuraminidáz – HN) *in silico* modelljeit elkészíteni. Kíváncsiak voltak, hogy találnak-e olyan a fehérjemotívumokat, amelyek felelőssé tehető esetleges patogenitási különbségekért. Párhuzamosan egy-egy A-, B- és C-csoportbeli izolátummal ugyanis állatfertőzési kísérletet végeztek német kollégák. Hét kígyó- és két gyík-PMV-izolátum 5.3 kb hosszúságú genomrésztét határozták meg primerséta módszerrel. E szekvenciák alapján SDT-analízissel felállítottak egy javasolt vírusfaj- és genocsoport-demarkációs kritériumot. A 3 genocsoport egy-egy kiválasztott vírusának F és HN fehérjéjéről készítettek többféle részletes szerkezeti modellt és összevetették őket egymással. Az állatfertőzési kísérletek során e 3 vírust összesen 42 gabonasikló bevonásával vizsgálták. Klinikai tünetekből, kórbonctani, kórszöveti, bakteriológiai és EM-eredményekből állt össze a származtatott patogenitási index. A fertőzési kísérletek egyértelmű különbségeket mutattak – kritériumuk alapján – egyazon vírusfaj három eltérő reprezentánsa között. A B-csoport tagja volt a legpatogénebb, míg az A csoportbeli izolátum a legkevésbé. E különbségekért esetlegesen felelőssé tehető eltéréseket mutattak ki a fúziós fehérje furinkó motívumának környezetében, valamint a HN-fehérje aktív kötőhelyének a szomszédságában is. Hipotézisük, hogy ezek a finom szerkezeti és elektrosztatikai eltérések kapcsolatba hozhatók – a sejt-kötődés és membránfúzió eltérő dinamikáján keresztül – a megfigyelt patogenitási különbségekkel, más nemzetségek vírusaiban már leírt jelenség. Jelen nemzetség esetében további *in vitro* kísérletek szükségesek ennek bizonyítására. A németországi szerzők köszönetet mondanak a

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

Az utolsó előtti előadó SZILASI ANNA volt, aki DÉNES LILLA, BALKÁ GYULA és KRISTIN HEENEMANN társszerzőkkel együtt „Macska retrovírusok magyarországi prevalenciája” címmel tartott előadást. A macskák retrovírusok által okozott fertőzéseik közül a leukózis vírus (feline leukemia virus, FeLV) és a macska immunhiány vírusa (feline immunodeficiency virus, FIV) okozza világszerte a legnagyobb károkat. Korábban a FeLV-fertőzéshez köthető betegségek okozták a házi macskák körében a legtöbb elhullást, ez mára némileg csökkent. A FIV jelenleg is számos kutatás tárgyát képezi mint az emberi immunhiány vírusa (human immunodeficiency virus, HIV) modellje, mivel sok vonatkozásban nagyon hasonló tulajdonságokat mutatnak. A korábbi adataikat összevetve az újabb mintagyűjtési eredményekkel, összegezték az említett két vírus magyarországi előfordulási prevalenciáját. A kóbor állatokat most is kizárták a mintagyűjtésből. A mintavételre összesen 21 klinikát jelöltek ki az ország egész területéről. A közreműködő praktizáló kollégák a kutatásban részt vevő tünetmentes vagy tünetekkel rendelkező házi macskákból vért vettek, helyben elvégezték a rapid immunomigráció alapuló gyorstesztet (WITNESS® FeLV-FIV, Zoetis), majd a vérmintákat és adatokat beküldték a Patológiai Tanszékre, ahol hagyományos PCR-eljárásnak vetették alá őket. A FIV-pozitív mintákat genetikai szekvenciaanalízisre küldik filogenetikai rendszerbe illesztésük végett, előzetes adatok már itt is rendelkezésre állnak. A közel 400 vérminta gyorsteszt és PCR-eredményeinek statisztikai elemzése folyamatban van, amellyel megtudják a két vírus magyarországi prevalenciáját a tulajdonossal rendelkező házi macska populációra vonatkoztatva. Kutatásuk fő célja, hogy feltérképezzék a FeLV és FIV elterjedtségét, és a különböző altípusok megoszlását Magyarországon, eredményeik így hasznos információt nyújtanak majd mind a kutató, mind a praktizáló állatorvosoknak. A szerzők köszönetüket fejezték ki kórszöveti szakasszisztensüknek, POP RENÁTÁNAK, valamint tanszéki kollégáiknak a támogatásért, SOLYMOSI NORBERTNEK és KRÍKÓ ESZTERNEK a statisztikában nyújtott segítségükért. A tudományos vita során BENKŐ MÁRIA a bemutatott törzsfarekonstrukciós elemzéssel kapcsolatban tett megjegyzést.

Végül HARRACH BALÁZS tartott előadást (társszerző: KAJÁN Győző) „Változások a vírusok rendszertanában” címmel. 2018 októberében a Nemzetközi Vírusrendszer-tani Bizottság (ICTV) jelentős változtatásokat fogadott el, amelyek messzemenő hatással lesznek a következő években. Az eddig használt, összesen 5 taxonszint



mellett (amelyek közül a legmagasabb a „rend” volt), újabb 10 szintet fogadtak el. Így most a legmagasabb szint a „realm” („birodalom”) lett. Javaslat született valamennyi RNS vírus egy birodalomba („realm Riboviria”) sorolására. Ezen belül már el is fogadták a „phylum *Negarnaviricota*” törzset a negatív szálú RNS-vírusok („Baltimore-féle V. csoport) számára. Kialakítottak 2 altörzset, amelyeket tovább osztottak összesen 6 osztályra és 7 rendre. Hasonló javaslat még nem volt a többi Baltimore-féle „víruscsoportra” az Akadémiai Beszámolók idején (de azóta az is megszületett). A közeljövő feladata lesz ezeknek a gyökeres változtatásoknak a minél szélesebb körben történő ismertetése és elfogadtatása. A DNS-vírusok osztályozásának megújítása is az új, magasabb taxonszintek bevezetésével már bonyolultabb lesz. Az ezzel kapcsolatos, megoldandó problémák között szerepel például, hogy mely génekre alapozódjon egy ilyen jövőbeli beosztás, mivel nem létezik minden vírusban egységesen előforduló gén, ráadásul a vírusok között rekombinációk is előfordulnak. A vírusok nevezéktanában évek óta vitatott kérdés a többi élőlény esetén alkalmazott, Linné-féle binomiális elnevezések bevezetése. 2019 januárjában 4 958 hivatalos vírusfajt tartottunk számon. (A valószínűleg absztrakt „faj” nem tévesztendő össze a valós vírusokkal, izolátumokkal vagy genetikai variánsokkal, amelyek száma sokkal magasabb!) A Linné-féle binomiális nevezéktan bevezetése a közel 5 ezer vírusfaj átnevezését igényelné. Szemben a jelenleg elfogadott vírusfajnevekkel, az új rendszerben az első tag lenne a genus név. Pillanatnyilag eldöntetlen még, hogy lati-

nosított vagy inkább angol nevek bevezetése lenne ésszerűbb, ill. a többség számára elfogadhatóbb. Napjaink vírus neveiben a két nyelv vegyesen fordul elő. A legtöbb víruscsoport esetében vitatott kérdés, hogy milyen szabatos, objektív kritériumok felelnek meg az egyes vírusfajok egyértelmű elkülönítésére. Több nagy DNS-vírushoz hasonlóan az adenovírusok esetében a DNS-polimeráz fehérje aminosavsorrendjének úgynevezett páronkénti összehasonlítása (Sequence Demarcation Tool „pairwise comparisons”) kínál jó alapot. Más víruscsoportoknál egyéb megőrzött gének bizonyultak erre alkalmasnak, ill. jelenleg is folyamatban van a demarkációs kritériumok finomítása. A megközelítés előnye, hogy bizonyos fokú automatizmust tartalmaz, konkrét és könnyen végrehajtható. Viszont a módszer hátrányának tekinthető, hogy az evolúciót felderítő hatékonysága elmarad az összes ismert (adenovírus összehasonlításán és gondosan kidolgozott pontozási táblázatokon alapuló filogenetikai számításokétól. A homológiavizsgálatok alapján vírus eredetűnek imponáló nukleinsavszekvencia-adatok rohamos növekedése magával hozta az igényt ezek rendszertani besorolására is. Az ICTV jelenlegi álláspontja szerint a vírusként való hivatalos elfogadás feltétele, hogy a genom szekvenálás vagy metagenomikai vizsgálatok során kinyert vírusgenom-szekvenciák megfelelően komplettek legyenek ahhoz, hogy hatékony replikációjukat legalább elméleti szinten lehetségesnek tekintessük. Kutatásainkhoz az NKFIH NN128309 sz. pályázata nyújt anyagi támogatást.

**dr. Kaján Győző**