

Állatorvostudományi Egyetem
Törvényszéki Állatorvostani és Gazdaságtudományi Tanszék

**A PCV-3 vírus előfordulása nagylétszámú hazai
sertéstelepeken**

*Prevalence of PCV-3 virus in large Hungarian swine
farms*

Készítette: Molnár Levente

Témavezető: Dr. Ózsvári László

Tanszékvezető egyetemi tanár

Társtémavezető: Dr. Máté Péter

Sertésegészségügyi szakállatorvos

Budapest

2023

Tartalomjegyzék

1.	Rövidítések jegyzéke.....	2
2.	Bevezetés.....	3
3.	Irodalmi áttekintés.....	4
3.1	A légzőszervi tünetegyüttes hízősertésekben (PRDC).....	4
3.2	Sertés circovírusok (PCV).....	5
3.3	Sertés 3-as típusú circovírusa (PCV-3).....	5
3.3.1	Felfedezése.....	5
3.3.2	A vírus első izolálása.....	6
3.3.3	Genetikai háttér.....	7
3.3.4	Prevalencia.....	8
3.3.5	A PCV-3 vírus patogenezise és terjedése.....	8
3.3.6	Fertőzésre fogékony állatok.....	10
3.3.7	Tünetek.....	10
3.3.8	Diagnosztikai lehetőségek.....	12
3.3.9	Védekezési lehetőség.....	13
3.3.10	Koinfekció más patogén sertés kórokozókkal.....	13
4.	Anyag és módszer.....	15
5.	Eredmények és megvitatásuk.....	18
5.1	A PCV-2 és PCV-3 vírus prevalenciája a vizsgált állományokban.....	18
5.2	A PCV-3 vírus előfordulási aránya a különböző korcsoportokban.....	20
5.3	A PCV-2 vírus előfordulási aránya a különböző korcsoportokban.....	20
5.4	A PCV-2 és PCV-3 állomány szintű előfordulása közötti összefüggés.....	21
5.5	A PCV-2 vírus elleni vakcinázás hatásai a PCV-3 vírus fertőzésre.....	22
5.6	PCV-3 vírus kimutatása kvantitatív PCR vizsgálattal.....	23
5.6.1	Battéria.....	24
5.6.2	A hizlalási időszak első fázisa.....	25
5.6.3	A hizlalási időszak második fázisa.....	26
6.	Következtetések és javaslatok.....	28
7.	Összefoglalás.....	29
8.	Summary.....	30
9.	Irodalomjegyzék.....	31
10.	Köszönetnyilvánítás.....	34

1. Rövidítések jegyzéke

APP - *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Cap – kapszid

Cq-érték – küszöb ciklus

CSFV (Classical Swine Fever Virus) – Klasszikus sertéspestis vírus

ddPCR – Droplet Digital PCR

DNS – deoxiribonukleinsav

dpi (days post infection) – infekció utáni nap

IFA (Immunofluorescence assay) – immunfluoreszcencia vizsgálat

IFN – interferon

ORF (open reading frame) – nyitott leolvasási keret

PCR – polimeráz-lánreakció

PCV-1 (Porcine circovirus-1) – sertés circovírus-1

PCV-2 (Porcine circovirus 2) – sertés circovírus-2

PCV-3 (Porcine circovirus-3) – sertés circovírus-3

PCV-4 (Porcine circovirus-4) – sertés circovírus 4

PCVAD – PCV-2-vel összefüggő betegség

PDNS- sertés dermatitis és nephropathia szindróma

PK-15 (Pig Kidney-15) – sertésvese-15

PMWS – választott malacok circovírus okozta sorvadása

PRDC (Porcine Respiratory Disease Complex) – sertések légzőszervi tünetegyüttese

PRRSV (Porcine Reproduction and Respiratory Syndrome) – sertések légzőszervi és szaporodásbiológiai tünetegyüttese

qPCR (quantitative Polymerase chain reaction) – kvantitatív Polimeráz-lánreakció

Rep – replikáció

RNAscope – in situ hibridizációs technika RNS detektálására

SIV (Swine Influenza Virus) – sertés influenzavírus

ssDNS – szimpla szálú DNS

TCID₅₀ (The 50% Tissue Culture Infectious Dose) – szövetkultúra fertőző dózis

TTSuV (Torque teno sus virus) – Torque teno sertés vírus

VLP (Virus-like particle) – vírusszerű részecske

2. Bevezetés

A sertések patogén kórokozói közül az egyik legnagyobb gazdasági jelentőséggel bír a sertés circovírus 2-es típusa, amely a Circoviridae család tagja, amely magas prevalenciát mutatott hazai sertésállományokban a PRDC (Sertések légzőszervi tünetegyüttese) részeként. A ma már elterjedt megfelelő vakcinázási protokollal sikerült visszaszorítani a vírus elterjedtségét. A sertés circovírus 3-as típusa (PCV-3) a víruscsoport egy újonnan felfedezett tagja, amelyről mostanáig kevés információ áll rendelkezésre mind a hazai, mind a globális eredményeket tekintve. Jelenleg a vírus patogenezise és az általa okozott gazdasági károk jelentősége még nem teljesen ismert. Szakirodalmi adatok alapján létrehozhat szubklinikai fertőzést, amelynek fontosságára csak egy széleskörű, részletes vizsgálat adhat választ. Azonos időben más kórokozókkal történő koinfekció alkalmával súlyosbíthatja a kialakult tüneteket és elhúzódó megbetegedést hozhat létre, rontva ezzel a gazdasági mutatókat (napi testtömeggyarapodás, fajlagos takarmányértékesítés, elhullás stb.), amelyek optimalizálása kulcsfontosságú tényező a magas állategészségügyi színvonalú gazdálkodásban, különös tekintettel az emelkedő takarmányköltségekre és energiaárakra. Ezért vizsgálatunk célja a PCV-3 előfordulásának felmérése volt hazai nagylétszámú sertéstartó telepeken.

3. Irodalmi áttekintés

3.1 A légzőszervi tünetegyüttes hízósertésekben (PRDC)

A légzőszervi tünetegyüttes hízósertésekben (porcine respiratory disease complex – PRDC) többféle fertőző kórokozó, valamint környezeti, tartástechnológiai és menedzsmenttényezők együttes hatására jelenik meg, és jelentősen rontja a termelési mutatókat (napi testtömeg-gyarapodás, takarmányértékesülés). Megnöveli az elhullást és a selejtezést, valamint az állat-egészségügyi kezelési költségeket is, így a nagyüzemi sertéstartás egyik legnagyobb gazdasági kártétellel járó állat-egészségügyi problémája. A légzőszervi betegség súlyossága nagymértékben függ az érintett kórokozóktól, ill. a tartási és környezeti tényezőktől [1].

A sertések légzőszervi tünetegyüttese általában egy állományon belül a sertések 30-70%-át érinti, az elhullási arány azonban általában 4-6% között mozog, a másodlagos fertőzések súlyosságától függően. Klinikai tünetekben általában 14–20 hetes korban nyilvánul meg, melyek során jelentős teljesítménycsökkenés és – a társfertőzésekkel függően – súlyos légúti tünetek jelentkeznek. A klinikai tünetek akár jellegtelennek is mondhatóak: láz, letargia, étvágytalanság, orrfolyás, köhögés, tüsszögés, kötőhártya-gyulladás, nehézlégzés (hasi légzés), sorvadás, orrvérzés, véres hab ürülése az ornyílásokból, a lágyéki nyirokcsomó duzzanata, az orr, torzító orrgyulladásra emlékeztető eltorzulása és lila elszíneződés a bőrön, különösen a fülek csúcsainál vagy éppen a bőr halványsága, sápadtsága. Ennek megfelelően a PRDC diagnózisa a klinikai tüneteken, a kórelőzményen és a kórbonctani, valamint a laboratóriumi vizsgálatokon alapszik [2].

A PRDC összetett oktanú betegség, kórokozói között találunk különböző vírusokat (például sertések légzőszervi és szaporodásbiológiai tünetegyüttesének vírusa (PRRSV), sertésinfluenza vírus (SIV), sertések cirkovirusa (PCV-2), valamint különböző baktériumokat (például *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*)) [2]. A hazai sertéshizlaló telepek leggyakoribb PRDC-kórokozói a PCV-2 és a *Mycoplasma hyopneumoniae*, amelyek 90% fölött, valamint az APP, ami 80% fölött fordult elő állomány szinten két korábbi Magyarországon végzett felmérés eredményei alapján [1].

3.2 Sertés circovírusok (PCV)

A 70-es évek elején egy német kutatócsoport a permanens sertésvese PK-15-ös sejtvonalat (ATCC-CCL31) vizsgálta elektronmikroszkóppal, és apró, gömb alakú vírusszerű részecskéket ismert fel. Egy későbbi vizsgálatban ugyanez a kutatócsoport tovább jellemezte ezeket a részecskéket kis ikozaéderes vírusokként, amelyek átmérője mindössze 17 nm, kovalensen zárt körkörös egyszálú DNS genomot és egy fő kapszid fehérjét tartalmaznak. Az újonnan azonosított vírust „sertés circovírusnak (PCV)” nevezték el, mivel az ellene képződött antitesteket csak sertésekben lehetett megtalálni. Azóta további sertés circovírusokat azonosítottak, és jelenleg négy felismert típus létezik: sertés circovírus 1-es típusa (PCV1), sertés circovírus 2-es típusa (PCV2), sertés circovírus 3-as típusa (PCV3) és a legújabban felfedezett sertés circovírus 4-es típusa (PCV4) [3]. A circovírusok a Circoviridae családba és a Circovirus nemzetségbe tartozó kis vírusok, körkörös, egyszálú, körülbelül 2000 bázisból álló DNS-genommal [4].

A sertés circovírus 1-es típusát először sertés vesesejtekben (PK-15) mutatták ki sejtenyészet-szennyezőként, és sertésekben nem tartják patogén kórokozónak [4]. A PCV-2 fertőzés számos klinikai tünetekkel járó kórképhez vezet, amelyeket összefoglaló néven PCV-2-vel összefüggő betegségnek (PCVAD) neveznek, ideértve az interstitialis tüdőgyulladást, enterális betegségeket és a szaporodásbiológiai elégtelenséget és a választott malacok circovírus okozta sorvadását (PMWS) [5]. A PCV-2 vírus gyakori a bélrendszeri rendellenességek esetén a battérián és a hizlaldán vizsgált sertések körében [6]. Ezenkívül a PCV-2 DNS rendszerint kimutatható a sertés dermatitis és nephropathia szindróma (PDNS) tüneteit mutató egyedekben. A PCV-2 antigént egyes betegségekben szenvedő állatokban nem lehet detektálni, ami arra utal, hogy más tényezők is összefüggésbe hozhatóak ezzel a betegséggel kapcsolatban. A legtöbb PCV-2 negatív PDNS szövetminta azonban PCV-3 pozitívnak bizonyult. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a PCV-3, mint potenciális patogén kórokozó további vizsgálatot érdemel [7].

3.3 Sertés 3-as típusú circovirusa (PCV-3)

3.3.1 Felfedezése

A PCV-3 egy olyan vírus, amelyet 2016-ban újonnan azonosítottak az Egyesült Államokban PDNS-szerű klinikai tüneteket mutató vagy szív- és multiszisztémás gyulladással járó betegségekben szenvedő kocákban. 2016 óta a vírust fokozatosan számos

országban észlelték (Japánban, Dél-Koreában, Kínában, Svédországban, Oroszországban, Thaiföldön, Brazíliában, Dániában, Olaszországban és Spanyolországban) jelezve a világ szinten való elterjedtségét [7]. Bár a közelmúltban fedezték fel, a retrospektív tanulmányok azt mutatják, hogy a PCV-3 valószínűleg már évtizedekkel az első jelentések előtt keringett a sertéspopulációkban [8].

3.3.2 A vírus első izolálása

Bár sok figyelmet és kutatást vonzott, a PCV-3 izolálása sejtenyészetben csak a közelmúltban volt sikeres, és kórokozóként betöltött szerepe még mindig vitatott [3]. MORA-DIAZ és mtsai. vizsgálatuk során a PCV-3-at három diagnosztikai esetből izolálták, három különböző helyszínről, amelyek gyenge születésű malacokról vagy emelkedett számú halva született és mumifikált magzatokról számoltak be. A PCV-3-at több szövetből izolálták, ideértve a tüdőt, a vesét, a szívet és az agyat encephalitisben és/vagy szívizomgyulladásban szenvedő perinatális malacok, valamint halvaszületett és mumifikált magzatok esetében. A vírus replikációját sejtenyészetben qPCR, IFA és RNAscope segítségével igazolták. A többi PCV-nél leírtaknak megfelelően, a PCV-3 in vitro replikációja legjobban PK-15 mitotikusan aktív sejtek félig összefolyó egyrétegű sejt kultúrájának beoltásával érhető el, ami azt jelzi, hogy a PCV-3 DNS replikációja függhet az S fázis növekedése során expresszálandó sejtenzimektől. A természetes replikációs ciklusban, a replikáció csak akkor indulhat meg, ha a sejtek átjutottak a mitózison. A PCV-3-mal fertőzött PK-15 sejtekben nem figyeltek meg citopatogén hatást a nem fertőzött sejt kontrollhoz képest. A PK-15 sejt populáció heterogén a PCV-2 fertőzés megengedhetőségét tekintve, a sejt populációnak csak körülbelül 20%-a fogékony a fertőzésre, és a vírustiterek soha nem haladják meg a 10⁵ TCID₅₀ titert. Elmondható, hogy a PCV-1 hatékonyabban replikálódik, mint a PCV-2. A PCV-3 replikációja a legkevésbé sikeres a vizsgált sertés circovírusok közül PK-15 sejtekben [8].

Az elsődleges sertésvesesejtek hasznos eszköznek tekinthetők a vírus izolálására és szaporítására, annak ellenére, hogy nem használnak folyamatos sejt vonalat, ahol nagyobb számú passzázs megengedett. Az a tény, hogy képesek támogatni a PCV-3 replikációját, kihangsúlyozza ezeknek a sejteknek a diagnosztikai és kutatási célokra történő alkalmazásaiban rejlő lehetőségeket. A PCV-3 sikeres izolálása és in vitro tenyésztése az első nagy lépés, amely lehetővé teszi számunkra, hogy tanulmányozzuk ezt az új vírust, annak patogenezisét, a gazdaszervezet immunrendszerével való kölcsönhatását és a

sertésstenyésztésre gyakorolt káros hatásait. További vizsgálatokra van szükség a PCV-3 fertőzés szempontjából homológ, nagymértékben megengedő elsődleges sertésvesesejt-alpopuláció klónozására és előállítására [9].

3.3.3 Genetikai háttér

A sertés circovirus-3 a Circovirus nemzetség harmadik tagja, amely sertést fertőz, körülbelül 2000 bázisból álló cirkuláris ssDNS genomja van, amely három azonosított nyitott leolvasási keretet (open reading frame-ORF) tartalmaz, bár csak az ORF1 és ORF2 ismert teljes mértékben. A pozitív szálon található ORF1 látszólag egyetlen, 296–297 aminosavból álló replikáció-asszociált fehérjét (Rep) kódol. Az ORF2 a negatív szálon található, és a kapszid fehérjét (Cap) kódolja [5]. Az ORF3 fehérje valószínűleg 231 aminosavat tartalmaz, de az iniciációs kódon és a fehérje funkciója jelenleg nem ismert [7]. WANG és mtsai. [5] tanulmányai alapján a filogenetikai fák rekonstruálásával a PCV-3 két fő kládba sorolható: PCV-3a és PCV-3b. Részletezőbb rendszerezés alapján a PCV-3a további három kategóriára bontható PCV-3a1-re, PCV-3a2-re és PCV-3a3-ra, míg a PCV-3b a PCV-3b1-ből és PCV-3b2-ből áll. Globálisan a PCV-3a törzsek száma meghaladja a PCV-3b törzsekét. A PCV-3 evolúciós sebességét ugyanolyan gyorsra becsülték, mint a PCV-2-ét, de egy közelmúltbeli tanulmány alapján sokkal lassabb ütemet mutat, körülbelül 10^{-5} szubsztitúció/hely/év [10].

A PCV-3 törzsek azonban nagy szekvencia azonosságot mutatnak a különböző országokból származó törzsek alapján, 94,44–100%-os nukleotid azonossággal és 96,3–100%-os aminosav homológiával. A szekvencia összehasonlítások alapján elmondható, hogy a PCV-3 mutációi főként a Cap fehérjében található, különösen a 8–10., 24., 27., 77., 137. és 150. pozíciókban. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a PCV-3 genetikailag viszonylag stabil, és nincs kapcsolata a vírustörzsek földrajzi eredetével [7]. Bár a PCV-3 kapszid fehérje 35-40%-ban azonos aminosavakat tartalmaz a PCV-2 kapszid fehérjével, filogenetikai kapcsolatban különböznek egymástól. Kutatásuk során nem számoltak be keresztreakcióról a PCV-3 antiszérum és a PCV-2 VLP-k között [11].

Bár a PCV-3-t 2016-ban azonosították az Egyesült Államokban, retrospektív vizsgálatok kimutatták, hogy szorosan összefügg a denevér circovirusával. A PCV-3 legkorábbi esetei az Egyesült Államokban 2009-re, Kínában 1966-ra, Braziliában és Thaiföldön pedig 2006-ra tehetőek, ebből következik, hogy a vírus 1966-ban vagy még korábban keletkezhetett. Így azt feltételezték, hogy a PCV-3 egy régi vírus lehet, amely denevérekből fejlődött ki, majd

fokozatosan alkalmazkodott sertésekhez és más állatokhoz [7]. A közös genomi szerveződés ellenére 3-as típusú circovírus távoli rokonságban áll más ismert circovírusokkal, bár a filogenetikai elemzés alapján viszonylag szoros rokonságot feltételeztek a denevér circovírusokkal [5]. Két ORF régió, amelyek a replikáz és kapszid fehérjét kódolják 55%-os, illetve 35%-os azonosságot mutat a denevér circovírus fehérjéivel és 31%, 48%-os az azonosság a PCV-1 és PCV-2 vírusokkal, ami azt jelzi, hogy a PCV-3 különbözik a korábban közölt circovírusoktól [7].

3.3.4 Prevalencia

Sertéseknél eddig négy circovírust azonosítottak: PCV-1, PCV-2, PCV-3 és PCV-4. Az első három típus jelen van a globális sertéspopulációban, míg a PCV-4 eloszlásáról eddig kevés információ áll rendelkezésre. A jelenlegi ismeretek alapján a PCV-1 prevalenciája alacsonynak tűnik, de a PCV-2 és PCV-3 előfordulásának gyakoriságát magasnak tartják. A rendelkezésre álló megfigyelések kissé torzak lehetnek, mivel a legtöbb diagnosztikai PCR csak PCV-2-re, PCV-3-ra vagy mindkettőre tartalmaz primereket, de PCV-1-re nem. Mind a PCV-2, mind a PCV-3 kimutatható az összes fő sertéshús-termelő területen, beleértve Észak-Amerikát, Dél-Amerikát, Európát és Ázsiát [3].

WANG és mtsai. egy korábbi tanulmányukban a PCV-3 és a PCV-2 magas prevalenciáját találta az Egyesült Államok középnyugati részén. Összesen 2125 sertésmintát vizsgáltak meg 910 véletlenszerűen kiválasztott klinikai esetből, amelyeket 2016 és 2018 között gyűjtöttek össze. A PCV-3 prevalenciája mintaszinten is (28,4%), és esetszinten is (41,2%) magasabb volt, mint a PCV-2 értékei (16,4%, 16,7%). A PCV-3 és PCV-2 növekvő prevalenciája, valamint a növekvő koinfekciós arány a sertések circovírus-betegségének magas kockázatára utalhat az USA közép-nyugati részén található sertéstenyésztő rendszerekben [10].

3.3.5 A PCV-3 vírus patogenezise és terjedése

A PCV-3 patogenezisének mechanizmusa nagyrészt ismeretlen. Szaporodásbiológiai problémákkal küszködő, magyarországi sertéstelepről származó vetélt magzatmintákban PCV-3 vírust detektáltak, anélkül, hogy bármilyen más vetéléssel összefüggésbe hozható kórokozót ki tudtak volna mutatni. A elváltozások közelében replikálódó PCV-3 felfedezése felveti annak lehetőségét, hogy a vírus szerepet játszhat különböző sertésbetegségek kialakulásában [12].

Az eddig kutatások alapján két fertőződési útra lehet következtetni a PCV-3 vírus esetén: a transzplacentális, ill. a közvetlen érintkezés útján történő fertőződésre. A PCV-3 előfordult már szaporodásbiológiai elégtelenséget mutató kocákban, valamint a mumifikálódott és halva született magzatokban is, ami igazolja a transzplacentális átvitelt. Közvetlen érintkezéssel terjedhet a vírus szájüregi váladékok útján. A PCV-3 megtalálható a természetesen fertőzött sertések orális folyadékmintáiban és nyálmirigyeiben is [13].

KEDKOVID és mtsai. bebizonyították, hogy a PCV-3 vírus kolosztrumon keresztül is ürül. A vizsgált gazdaságban a vírus prevalenciája a kolosztrumban nem különbözött a szérumétól (körülbelül 45–47%). Az eredményeik továbbá azt is kimutatták, hogy a szérum és a kolosztrum vírustiterei korreláltak egymással. A PCV-3 titereket 38 koca szérum- és kolosztrummintáiban qPCR alkalmazásával határozták meg. A kocákat a szérumban lévő PCV-3 titerek alapján csoportosították „Magas viraemiás”, „Alacsony viraemiás” és „Nem viraemiás” kocákra. Kimutatták, hogy a magas viraemiás kocák szignifikánsan magasabb PCV-3 kolosztrum prevalenciát mutattak (100%; 9/9), és a PCV-3 titer 4,01-7,33 genomiális másolat/ml tartományban volt. Az eredmények alapján elmondható, hogy a kolosztrumban lévő PCV-3-at részben befolyásolhatja a fertőzés viraemiás stádiuma. A vírust a kolosztrumban alacsony titer értékben (7/17) ürítő kocák körülbelül 41%-a a nem viraemiás csoportba tartozott. Összességében ez a tanulmány azonosította a PCV-3 jelenlétét a kocák kolosztrumában, de a galaktogén úton történő ürülését, klinikai hatásait és mechanizmusait tovább kell még vizsgálni [13].

HA és mtsainak sikerült azonosítaniuk a sertés circovírus fertőzést szúnyogokban. PCR vizsgálatot végeztek a PCV-3 kimutatására 269 szúnyogmintában, amelyeket Heilongjiang, Jilin és Yunnan tartományokban található sertéslepepekről gyűjtöttek. A pozitív szúnyogok aránya 32,0% (86/269) volt, telepi szinten 21,4-42,5% között mozgott, ami arra utalhat, hogy a szúnyog a PCV-3 lehetséges mechanikus vektora. A szúnyogok PCV-3 lehetséges eredetének meghatározására 80 sertés szérummintát gyűjtöttek azon sertéslepepekről, ahol szúnyog mintavétel is történt korábban. A PCV-3 fertőzött telepek aránya 15,0% és 30,0% között mozgott, ahol a sertések fertőzése pozitív korrelációt mutatott a vírust hordozó szúnyogokkal. A szekveneciaelemzés 100%-os nukleotid hasonlóságot mutatott a szúnyog- és sertés vírus izolátumok között, amely minták mindegyike azonos helyről származott. A filogenetikai elemzés kimutatta, hogy a PCV-3 két kládra osztható, PCV-3a és PCV-3b, és a szúnyogokban izolált PCV-3 törzsek a két kládon oszlanak el. Eredményeik azt mutatják, hogy a szúnyogok potenciális vektorként szolgálhatnak a PCV-3 életciklusában, feltárva a lehetséges átviteli útvonalait [14].

3.3.6 Fertőzésre fogékony állatok

PRINZ és mtsai. először mutatták ki a PCV-3-at német vaddisznókban, az állatok 50%-a fertőződött meg az egyik genetikai klaszterrel, 23%-a pedig a második klaszterrel. Mindkét populációban kimutatták a PCV-3b-t, egy esetben a PCV-3a-t is. Egyes állatoknál PCV-1 és PCV-2-vel együtt járó fertőzést vagy hármass fertőzést észleltek. A PCV-3-at a közelmúltban hasonló gyakorisággal (33%) írtak le olaszországi vaddisznóknál, továbbá Északkelet-Spanyolországban a vaddisznók 42,66%-át találták PCV-3 pozitívnak. Ezek az eredmények megerősítik, hogy a PCV-3 nem csak a házisertésekben, hanem a vaddisznókban is jelen van, és hogy a PCV-3 már évek óta elterjedt az európai vaddisznók között. A PCV-3 világszerte előfordul házisertésekben, nagyon hasonló vírusokkal különböző helyeken, valószínűleg az állatok egyik országból a másikba történő szállítása miatt. Egyelőre nem tisztázott, hogy a vírus közel egy időben került-e be a házi sertésállományba és a vaddisznókba, vagy a házisertés terjesztette-e el a vírust világszerte és fertőzte meg a vaddisznókat is, vagy a vaddisznók fertőződtek meg először, és továbbították a vírust a házi sertésállományba [15].

A PCV-3 vírust számos fajban sikerült azonosítani. Bár nincs bizonyíték a klinikai tünetek kialakulására, ez azt mutatja, hogy a vírus nagyfokú alkalmazkodással és fajok közötti átviteli képességgel rendelkezik, ami valószínűleg hozzájárult a terjedéséhez, anélkül, hogy meg tudnánk határozni a sertéságazatra gyakorolt valódi hatását [16]. A közelmúltban végzett vizsgálatok kimutatták, hogy a kutyák és a szarvasmarhák is megfertőződhetnek PCV-3-mal, ami megerősíti, hogy a PCV-3 képes fajok közötti átvitelre és cirkulációra a gazdaszervezetek széles körében, ami súlyos veszélyt jelenthet a sertésstenyészésre és akár más állatfajokra is [17].

3.3.7 Tünetek

A PCV-3-at először kocákban és vetélt magzatokban mutatták ki PDNS-szerű klinikai tünetek és reprodukciós elégtelenség, valamint szív- és multiszisztémás gyulladás esetén. A kocáknál megfigyelt tipikus PDNS elváltozásokat, köztük a necrotizáló vasculitist, glomerulonephritist, granulomatosus lymphadenitist és bronchointerstitialis tüdőgyulladást elemezték, és mind a PCV-3 DNS-t, mind az antigént kimutatták a PDNS-szerű szövetekben. Szív- és multiszisztémás gyulladással esetekben a mikroszkopikus léziók főként non-suppuratív szívizomgyulladásként és/vagy szív arteriolitisként jelentkeztek. Ezenkívül a PCV-3-mal fertőzött kocáknál máj elváltozásokat is megfigyeltek, beleértve a

necrotizáló vasculitist és a granulomatosus lymphadenitist [7]. Továbbá PCV-3 vírust azonosítottak a vizsgált magzatok agy, tüdő, thymus és szív eredetű pool mintáiban is [18]. Az eddigi egyetlen publikált kísérleti PCV-3 fertőzést 4 hetes (n=15) és 8 hetes (n=10) sertésekben végezték, intranasalis úton beadott fertőző klónból származó PCV-3 vírus törzsből. A fertőzés után 8 nappal a 4 hetes sertéseknél láz, étvágytalanság, hasmenés, légzési elégtelenség, csökkent súlygyarapodás és PDNS-szerű elváltozásokat figyeltek meg a sertések egy részén, amit hirtelen elhullás követett. A tüdőben, a szívben, a nyirokcsomókban, a májban, a vesékben és a vékonybélben makro- és mikroszkopikus elváltozásokat figyeltek meg. Az immunhisztokémiával meghatározott PCV-3 antigén minden szervben jelen volt. A klinikai lefolyás és az elváltozások hasonlóak voltak a 8 hetes sertéseknél is [19]. A választás utáni időpontban megvizsgált PCV-3 vírussal fertőzött malacoknál rossz testkondíciót, durva szőrzetet találtak, de a belső szervek nem mutattak eltérést. Az állatok klinikailag egészségesek voltak, de kisebb testsúlyt értek el [20].

Az emlősök gastrointestinalis traktusában megtelepedő, körülbelül egy billió baktérium, együttes nevén bélmikrobióta kritikus szerepet játszik a gazdaszervezet egészségére gyakorolt biológiai hatások kifejtésében, például részt vesz számos fiziológiás és kóros folyamatban, szabályozza a gazdaszervezet anyagcseréjét és immunitását. Érdekes módon az egyre gyarapodó bizonyítékok azt mutatják, hogy a bélmikrobióta változásai bizonyos betegségek progressziójával járnak együtt. Ezenkívül az életkor kritikus szerepet játszik a bélmikrobák kialakulásában, ezért szükséges feltárni a kapcsolatot a sertések különböző növekedési szakaszai és a bélmikrobióta összetevőinek dinamikus változásai között. Mindazonáltal egy kísérlet során a PCV3-mal beoltott malacoknál mérsékelt klinikai tüneteket, köztük étvágytalanságot, lesoványodást és köhögést figyeltek meg mind a négy malacnál 12 nappal az infekció után (days post infection-dpi). Súlyosabb tüneteket, mint például hidegrázás, fokozott légzésszám és multifokális papulák a malacok bőrén 12 dpi után figyeltek meg. Egyes klinikai tünetek az állatkísérlet végéig fennmaradtak. A vékonybelekben a nyálkahártya epitheliális sejtelhalása és néhány necrotizált limphocyta, bőséges eosinophilsejtes beszűrődés, makrophagok és kis mennyiségű plazmasejt-infiltráció mutatkozott. A vékonybél nyálkahártyája alatt lévő erek jelentősen kitágultnak bizonyultak. Változásokat figyeltek meg a bélmikrobióta összetételében a PCV-3 fertőzés után, ami hozzájárul a fertőzés és a bélmikrobióta közötti kapcsolat progresszív megértéséhez. Az alacsony diverzitás a mikrobióta egyensúlyhiányára utal, amely ezért érzékeny a zavarokra és a környezeti tényezőkkel szemben. A kontroll malacoknál

egyetlen időpontban sem figyeltek meg statisztikai különbségeket a bélmikrobióta alfa-diverzitásában, ellenben a bélbaktériumok összetételében az alfa-diverzitás szignifikánsan csökkenő tendenciája volt megfigyelhető PCV-3-mal beoltott malacoknál 21 dpi-nél ($P < 0,05$) a többi oltási időponthoz képest. Eközben a fertőzött malacok az alfa-diverzitás nyilvánvaló csökkenését mutatták a kontroll malacokhoz képest 21 dpi-nél ($P < 0,05$). Ez a szervezet stresszes állapotát eredményezhette, és így magyarázhatja a megnövekedett morbiditást és mortalitást [17].

A bélmikrobióta többsége a *Firmicutes* és *Bacteroidetes* törzsekbe tartozik, és a kettő közötti egyensúlyhiány számos rendellenességben és betegségben szerepet játszik. A csökkent *Firmicutes/Bacteroidetes* arány a PCV-3-mal mesterségesen fertőzött malacokban a lesoványodást tükrözi, ami hasonló volt az átlagos heti súlygyarapodás korábban leírt csökkenéséhez a fertőzött állatok esetében. Az eddig kutatások alapján a *Parabacteroides* és a *Catenibacterium* nemzetségek is hozzájárulnak a gyulladós betegségekhez. Ezek a baktériumtörzsek szignifikánsan megemelkedett ($P < 0,01$, $P < 0,05$) értéket mutattak a sertés 3-as típusú circovírusával fertőzött malacokban 14 dpi mellett a kontroll malacokhoz képest. Ezenkívül a gyulladós citokinek magas szintjét is megfigyelték PCV-3 fertőzés után [17, 19]. Összességében ezek a kutatási eredmények azt mutatják, hogy a PCV-3 fertőzés megváltoztatja a bélmikrobióta sokféleségét és összetételét a törzstől a nemzetség szintjéig, végső soron megzavarva a belek normális élettani funkcióit [17].

3.3.8 Diagnosztikai lehetőségek

A sertés circovírusok megelőzésére és ellenőrzésére vonatkozó stratégiák kialakítása érdekében kényelmes és érzékeny diagnosztikai módszerre van szükség a PCV-k klinikai mintákban történő egyidejű kimutatására és megkülönböztetésére. A PCR vizsgálatok érzékeny módszerek a circovírus fertőzés igazolására viraemiás állatokban. A multiplex PCR vizsgálat segítségével pedig specifikus, gyors és könnyen értelmezhető egyes kórokozók prevalenciája, epidemiológiája és fertőzőképessége. A multiplex PCR vizsgálat érzékeny, és egyidejűleg képes megkülönböztetni az első három sertés circovírus típust egyetlen reakcióban, ami alacsonyabb költséget és kevesebb időt jelent. Hasznos eszköz lesz a PCV-k kimutatására és megkülönböztetésére a mintákban. Számos különböző PCR-módszert fejlesztettek ki sertés circovírusok detektálására, beleértve a digitális droplet-PCR-t (ddPCR), a valós idejű PCR-t és a kvantitatív PCR-t (qPCR), specifikus primereket

használva. A közelmúltban pedig két qPCR módszert javasoltak a PCV-3 DNS kimutatására és mennyiségi meghatározására [21].

3.3.9 Védekezési lehetőség

A PCV-2 világszerte elterjedt kórokozó, amely számos betegségben (PCVD) vesz részt. A PCV-2 elleni általánosan használt vakcinák rendkívül hatékonyak bizonyultak. A közelmúltban felfedezett PCV-3 szerepe a sertések egészségében és a PCV-2-vel való interferenciában továbbra sem ismert. Egy korábbi vizsgálat nem mutatott ki szignifikáns különbséget ($P > 0,05$) a PCV-3 prevalenciájában a PCV-2 ellen beoltott és nem vakcinázott állattartó telepek között. Mindazonáltal PCV-3-at azonosítottak klinikailag érintett sertések limphoid szövetében és tüdejében. Ezek alapján a PCV-3 hasonló celluláris tropizmussal rendelkezik, mint a PCV-2, és hasonló immunrendszert befolyásoló tulajdonságok is jellemzik. Egy immunszuppresszív szer negatív hatással lehet a vakcina hatékonyságára, ha a fertőzés az oltás körüli időpontban következik be, így az állatok nem tudnak megfelelően reagálni az immunizálásra [22].

A jelenlegi, a PRDC kórokozói ellen alkalmazott vakcinák támaszkodhatnak a humorális immunitásra, így a kolosztrum eredetű anyai ellenanyagokra (koca vakcinázások alkalmazása) vagy éppen az aktív immunizálás hatására keletkező immuntermékekre (malacvakcinázás). Azonban az alacsony ellenanyag válasz, hasonlóképpen a vakcinázás utáni ellenanyag termelés hiánya, nem szükségszerűen korrelál, nem jelenti a védelem hiányát, elmaradását. A sejtes immunitás is fontos a megfelelő immunvédelemhez. A sejtes immunitás egyértelmű kialakulását bizonyították például a PCV-2 alegység vakcina használata során PCV-2 specifikus IFN- γ -SC termelődésével a vakcinázott malacokban [2]. A PCV-2 elleni vakcinák valószínűleg nem nyújtanak keresztvédelmet a PCV-3 ellen, a vírusok közötti feltételezett antigénkülönbségek miatt [22].

3.3.10 Koinfekció más patogén sertés kórokozókkal

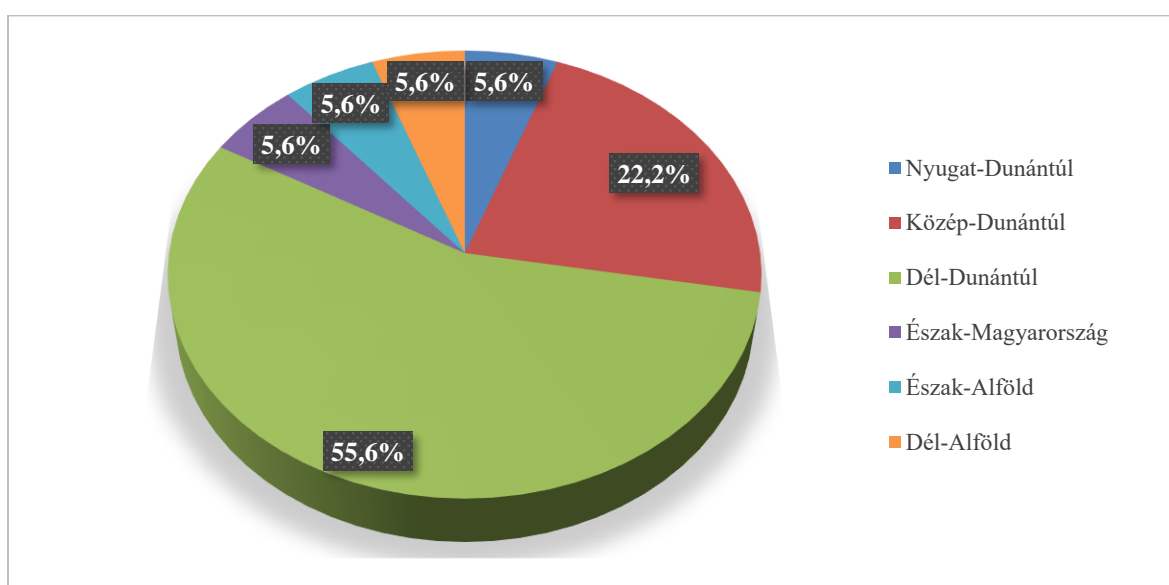
1998 óta, amikor a PCV-2-t először felfedezték, a vírust világszerte az egyik legfontosabb sertéskórokozónak tartották, amely klinikai betegségeket, szubklinikai fertőzéseket és immunszuppressziót okoz [22]. A PRRSV-nek és sertés cirkovírusainak (PCV-k) együttes fertőzését gyakran figyelik meg telepi körülmények között, és súlyosabb betegségeket vált ki, mint bármely egyedi fertőzés [23].

A PCV-2 más kórokozókkal, például sertés szaporodási és légzőszervi tünetegyüttesének vírusával (PRRSV), klasszikus sertéspestis vírussal (CSFV) és sertésinfluenza vírussal (SwIV) való együttes fertőzését gyakran észlelik házisertésekben és vaddisznókban. A PCV-2 vírushoz hasonlóan a PCV-3 is gyakran együtt fertőz más betegséget okozó sertés patogénekkal. Ezen kórokozók közül a PCV-3 pozitív mintákban a legmagasabb a TTSuV-vel való koinfekciós arány ábrázolódott. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a PCV-3 és más kórokozók együttes fertőzése gyakori a sertésállományokban, emiatt további vizsgálatokra van szükség a témában [7]. A PCV-3 izolátumok elérhetősége új lehetőségeket nyithat a vírus patogén és immunpatogén potenciáljának tanulmányozására a jövőben [24].

4. Anyag és módszer

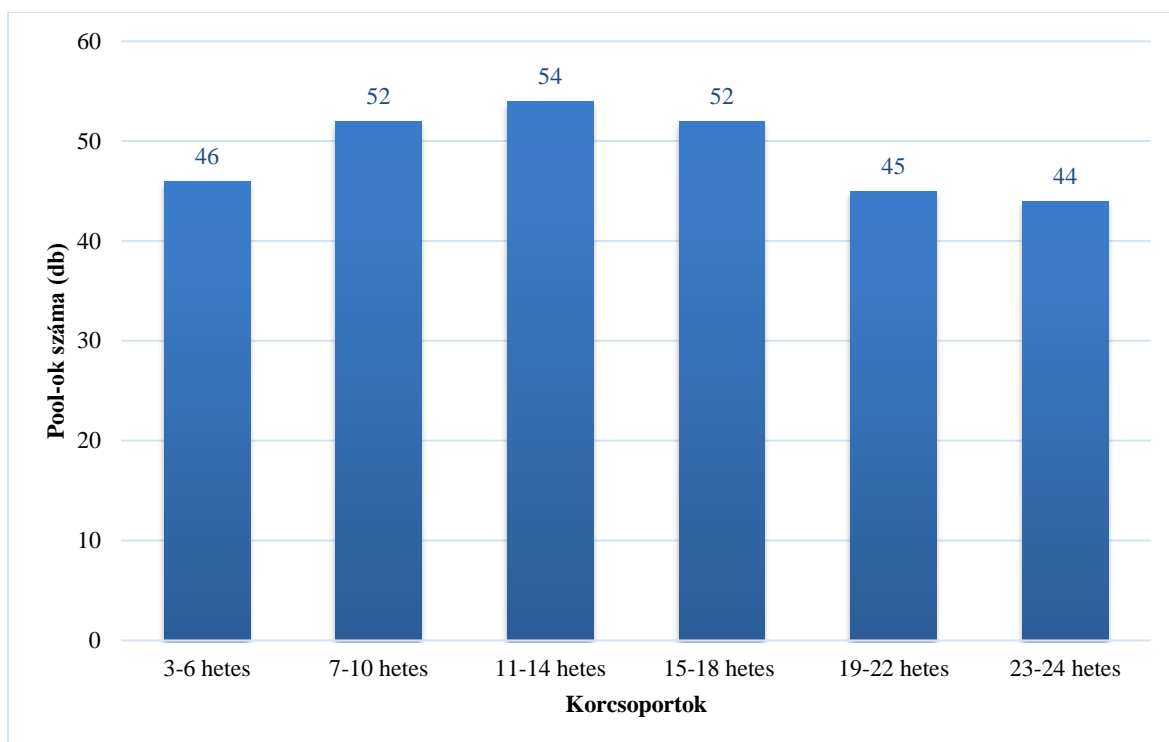
Kutatásunk célja a PCV-3 előfordulásának felmérése volt hazai nagylétszámú sertéstartó telepeken és összesen 18 darab magyarországi nagylétszámú sertéstelepet vizsgáltunk az ország különböző régióiból (**1. ábra**). A szerológiai mintavételek időpontjai 2020-2022-ig terjedő intervallumban történtek a 3-24 hetes korú állatokból. A legtöbb minta a Dél-Dunántúli (55,6%) és a Közép-Dunántúli (22,2%) régióból származott. A további régiókban egyaránt 1-1 nagylétszámú sertéstelep került vizsgálatra az adott időszakban.

1. ábra: A felmért sertéstelepek földrajzi eloszlása régióként (n=18)



Összesen 1408 db vérmintát vettünk le a különböző korcsoportokból származó sertésekből. A mintavétel 18G méretű tűvel a vena jugularis-ból történt steril szérumos vérvételi csőbe. Egy adott telepen az azonos korú állatokból 4 hetes időközönként 14-15 db minta került begyűjtésre. A szerológiai minták 24 órán belül – megfelelő szállítási körülmények között – a Hollandiában található Boxmeer-i laboratóriumba kerültek kvantitatív PCR vizsgálatra. A laboratóriumban a vérmintákat 5-ös, ill. 4-es pool-okba öntötték össze a vizsgálat gyorsítása érdekében. A pool-ok korcsoportok szerinti megoszlásánál a kutatás során halmazokat hoztunk létre a 3-6, 7-10, 11-14, 15-18, 19-22 és a 23-24 hetes korcsoportokból, és ezekbe soroltuk be a kapott eredményeket (**2. ábra**).

2. ábra: A vizsgált pool vérminták megoszlása korcsoportok szerint (n=293)



A kvantitatív PCR vizsgálat alapján kapott Cq-értékeket pozitív eredmény esetén három fokozatra különítettük el súlyossága szerint (**1. táblázat**). A vírus terheltség mértéke megállapítható a Cq érték eredményeiből. Minél kisebb ez az érték, annál kevesebb ciklusra volt szükség a PCR vizsgálat során a pozitív mintából származó, feldúsuló genomiális másolat jelintenzitásának érzékeléséhez. Ez alapján hoztuk létre a magas, közepes és az alacsony vírusterheltségű csoportokat.

1. táblázat: A vírus terheltség mértékének csoportokra bontása a Cq-értékek alapján

Vírus terheltség	Cq érték
Magas	$Cq < 28$
Közepes	$30 > Cq > 28$
Alacsony	$Cq > 30$
Negatív	NEG

A laboratóriumban a PCV-3 kimutatására kereskedelmi forgalomban kapható EXOone PCV3 oneMIX kit-et (Exopol, Zaragoza, Spanyolország) használtak. A folyamat kezdő

lépéseként a kit-eket felolvasztották és utána 15 µl oneMIX reagenssel feltöltötték. Ezt követően mindegyikhez egyenként 5 µl nukleinsav mintát adtak és végül egy pozitív (PRS4) és egy negatív (víz) kontrollt készítettek. Centrifugálás után a csövek bekerültek az előkészített thermocyclerbe (**2. táblázat**). A megfelelő számú és hőmérsékletű ciklusok után a vizsgálat értékelhetővé vált.

2. táblázat: A kvantitatív PCR vizsgálat folyamata

CIKLUS	IDŐ	HŐMÉRSEKLET
1 ciklus	5 perc	95°C
42 ciklus	15 mp	95°C
	60 mp	60°C

Az eredmény pozitívnak tekinthető, ha a Cq érték ≤ 38 . A PCV-2 vírus kimutatására alkalmazott PCR vizsgálatához a holland laboratórium egy saját házon belül kifejlesztett módszert alkalmaz, amelynek tudományos alapjai Brunborg és mtsai-nak kutatásaira és az általuk leírt módszerre épülnek [25].

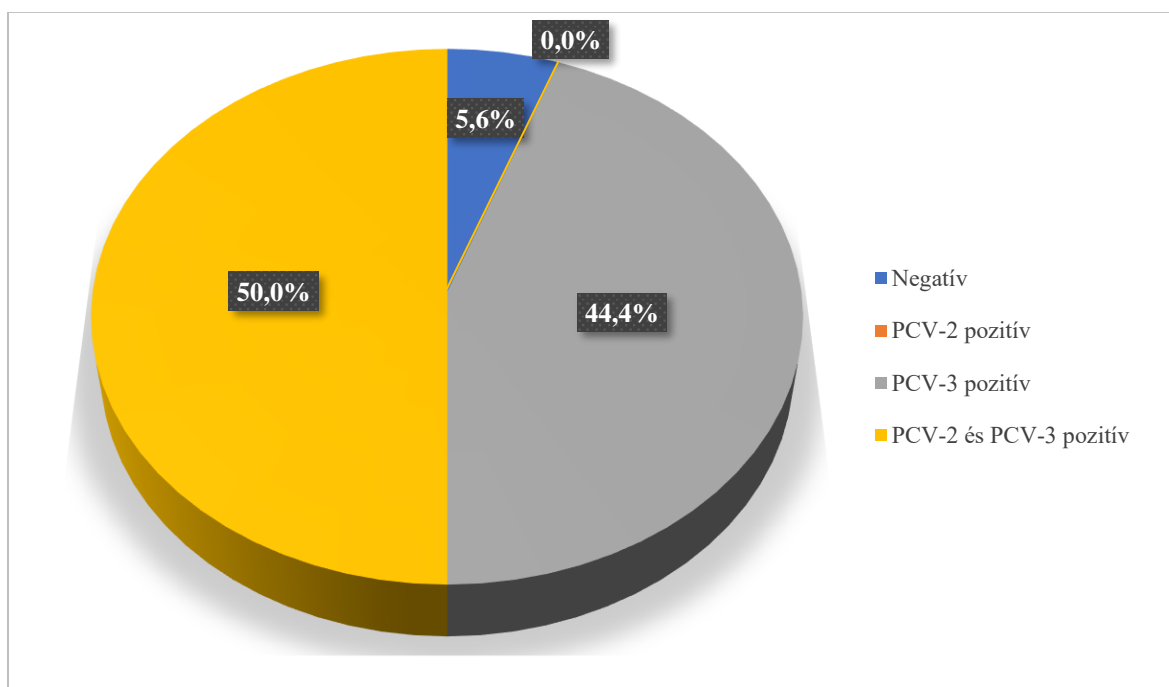
A statisztikai elemzés során R-statisztikai programot (The R Foundation for Statistical Computing, Bécs, Ausztria) használtuk a McNemar és a Fisher-féle egzakt próba elvégzéséhez.

5. Eredmények és megvitatásuk

5.1 A PCV-2 és PCV-3 vírus prevalenciája a vizsgált állományokban

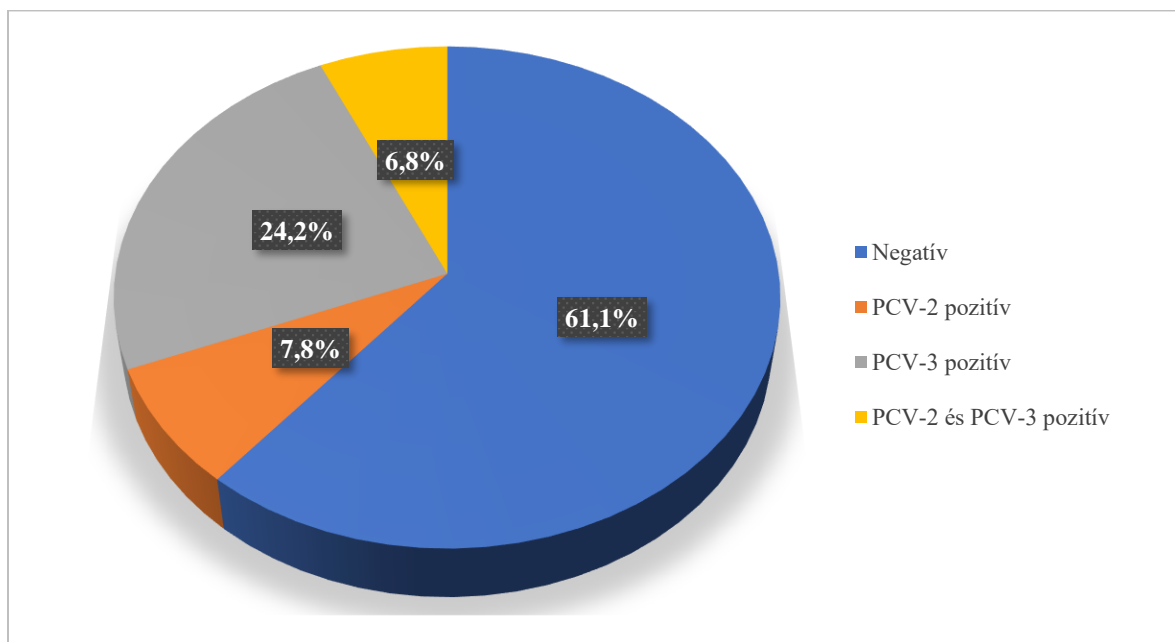
A 18 db felmért magyarországi nagyüzemi sertéstelep 94,4%-ában fordult elő a sertés circovírus 2-es és/vagy 3-as típusa (**3. ábra**). Munkánk során olyan telepet nem találtunk, ahol a PCV-2 fertőzés önmagában előfordulna a PCV-3 vírus jelenléte nélkül. Egy kutatásban szereplő sertésállomány PCR vizsgálati eredménye azonban negatívnak bizonyult a Circoviridae család mindkét tagjával szemben. 2020-ban készült egy tanulmány, amely 9 európai országból származó adatokat dolgozott fel ebben a témában. PCV-2 DNS-t azonosítottak a telepek 47%-ában (30/64) a szérummintákban, és azonos 47%-os (30/64) előfordulást mutatott a PCV-3 is. A két vírus együttes fertőzését a vizsgált sertéstelepek 20%-ában (13/64) tapasztalták [26]. Az általunk kapott eredmények a PCV-2 esetében közel azonos értéket mutattak, viszont a PCV-3 pozitív magyarországi telepek száma kétszerese a nemzetközi szakirodalomban leírtaknál, 94,4% (17/18). A hazai mintákban a PCV-2 vírussal történő koinfekció is magasabb százalékos arányt ábrázol, 50,0% (9/18).

3. ábra: A PCV-2 és a PCV-3 vírus előfordulási aránya a vizsgált sertéstelepeken (n=18)



A **4. ábra** a PCV-2 és PCV-3 vírus előfordulási arányát mutatja a vizsgálat egységeként szolgáló pool mintákra lebontva. A pool-ok 61,1%-a (179/293) volt negatív mindkét kórokozóval szemben. A PCV-2 az esetek 14,6%-ában (43/293), a PCV-3 pedig 31,0%-ban (89/293) adott pozitív eredményt. A koinfekciós arány a vizsgált pool-ok tekintetében 6,8%-os (20/293) értéket ért el). Egy az USA-ban 2016-2018 között végzett tanulmányban 1276 sertés szérummintáját vizsgálták PCV-2 és PCV-3 vírust kutatva. A minták 25%-a (319/1276) volt pozitív PCV-3-ra, és 12,3%-a (157/1276) volt pozitív PCV-2 vírusra. A koinfekció a minták 2,9%-ában (37/1276) fordult elő, amely alacsonyabb szintet mutat az általunk kapott eredménynél [10]. Bebizonyosodott, hogy a PCV-2 más kórokozókkal való együttes fertőzése súlyosabb betegségek megjelenéséhez vezet telepi és kísérleti körülmények között is. A PCV-3 vírus koinfekció hatása más patogénekkal jelenleg nem ismert, és a további kutatások potenciális területe lehet [27]. Az együttes fertőzés nagy mértékben csökkentheti a sertések ellenállóképességét a különböző egyéb kórokozókkal szemben a Circovírusokra jellemző direkt immunszuppresszív hatással. Az állatok a mintavétel időpontjában klinikai tüneteket nem mutattak, amely igazolhatja a vírus szubklinikai fertőzésének lehetőségét.

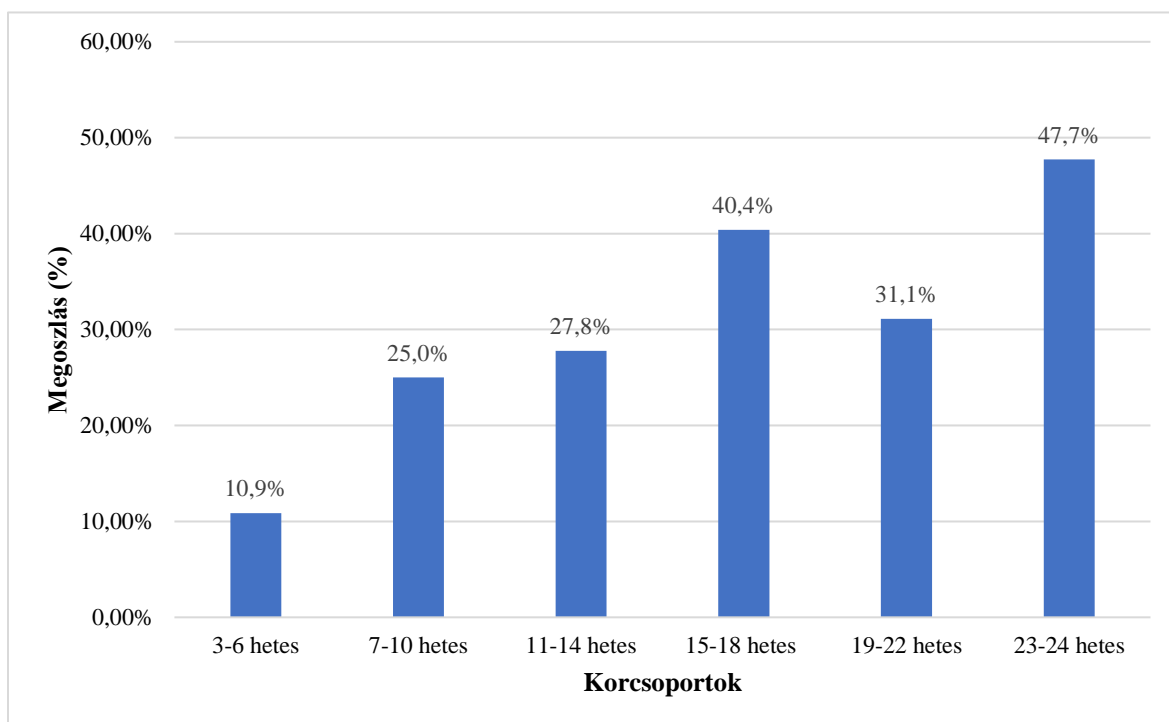
4. ábra: A PCV-3 és PCV-2 pozitív pool minták megoszlása (n=293)



5.2 A PCV-3 vírus előfordulási aránya a különböző korcsoportokban

A PCV-3 vírus pozitivitás már a legfiatalabb vizsgált korcsoportban is kimutatható (3-6 hetes malacok 10,9%-os arányt mutattak az összes pozitív pool mintát tekintve). A pozitív minták száma folyamatosan növekedett a 15-18 hetes korosztályig, majd innentől kezdve ingadozó szintet mutatott. A legmagasabb érték, 47,7% a hizlalási időszak második fázisának a végén, 23-24 hetes életkorban volt mérhető (5. ábra). 2012-2016 között egy Spanyolországban készített kutatás során 152 db klinikailag egészséges sertés került vizsgálatra 4 különböző telepen. A megfigyelt eredményeik megerősítik, hogy a PCV-3 vírus elterjedése széleskörű, és képes megfertőzni a sertéseket az összes vizsgált időpontban, illetve kialakíthat krónikus fertőzést néhány állatban. A PCV-3 DNS kimutatásának magasabb gyakorisága a vizsgált állományokban különböző időpontokban fordult elő, ami összefüggésbe hozható a maternális immunitás esetleges fennállásával vagy annak kiürülésének időtartamával [28].

5. ábra: A PCV-3 pozitív pool minták aránya a korcsoportok között (n=89)

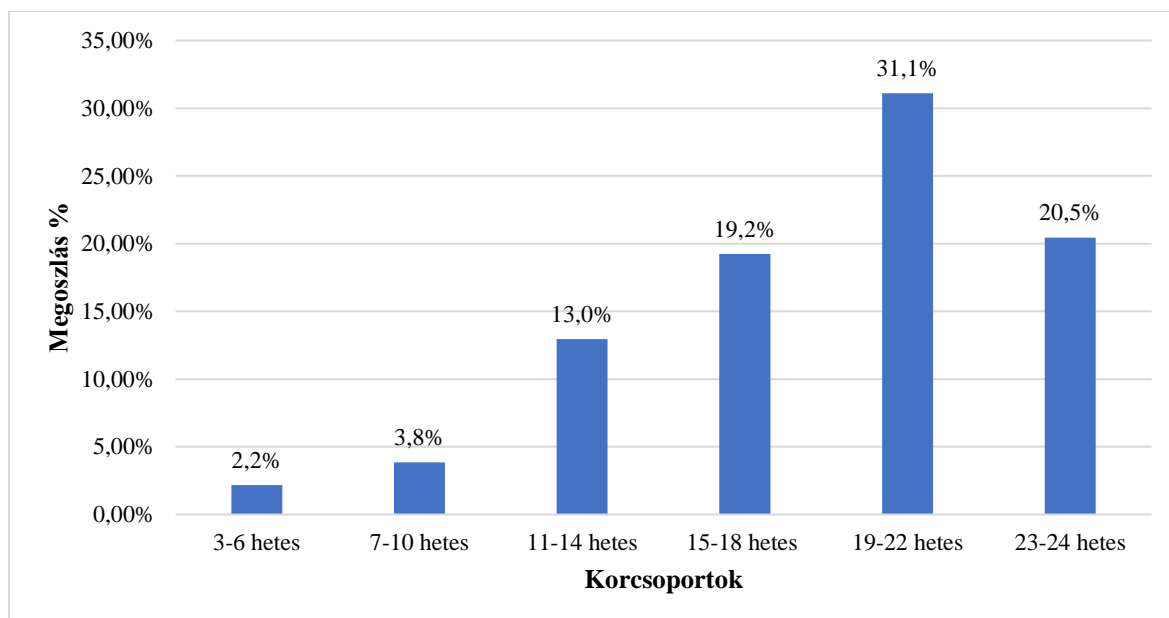


5.3 A PCV-2 vírus előfordulási aránya a különböző korcsoportokban

A PCV-2 vírus a 3-6 hetes korosztályban vizsgált pool minták 2,2%-ában (1/46) már detektálhatóak voltak a választás utáni időszakban. A vírus prevalenciája az egyes korosztályokban folyamatosan nőtt, egészen 31,1%-ig emelkedett, amelyet a 19-22 hetes

korcsoportban ért el (6. ábra). A nem megfelelő időpontban a maternális immunitás megszűnése előtt beadott oltóanyag, vagy a vakcina hatásidőtartamának figyelmen kívül hagyása, mind eredményezheti a pozitív esetek számának növekvő tendenciáját.

6. ábra: A PCV-2 pozitív pool minták aránya a korcsoportok között (n=43)



5.4 A PCV-2 és PCV-3 állományszintű előfordulása közötti összefüggés

Kutatásunk során azt is vizsgáltuk, hogy van-e különbség a PCV-2 és PCV-3 vírus állományszintű előfordulása között. Létrehoztunk egy négymezős kontingencia táblázatot, amely a 18 db sertéstelep eredményeit ábrázolja (3. táblázat). A PCV-2-vel fertőzött telepek részaránya 50,0% (9/18), ezzel szemben a PCV-3 vírussal fertőzötteké 94,4% (17/18) volt. A 44,4%-os különbség a McNemar próba eredménye szerint 5%-os szignifikancia szint mellett szignifikáns, $p=0.0078$ [29,30].

3. táblázat: Statisztikai programban felhasznált négymezős kontingencia táblázat

	PCV-3 fertőzött	PCV-3 nem fertőzött
PCV-2 fertőzött	9	0
PCV-2 nem fertőzött	8	1

Továbbá összefüggést kerestünk a PCV-2 fertőzött telepek esetében gyakrabban fordul-e elő PCV-3 vírusfertőzöttség. A fenti kontingencia táblázat alapján vizsgáltuk a

függetlenséget Fisher-féle egzakt próbával. A p-érték 1.000, vagyis meg kell tartanunk a függetlenség nullhipotézisét. Jelen adatok tehát nem támasztják alá, hogy kapcsolat lenne az állomány szintű PCV-2 és PCV-3 fertőzések előfordulása között telepi szinten.

5.5 A PCV-2 vírus elleni vakcinázás hatásai a PCV-3 vírus fertőzésre

A 18 sertéstelepből 17-nek található a gyakorlatban alkalmazott vakcinázási protokolljában a sertés circovírus 2-es típusa elleni oltóanyag (**4. táblázat**). A PCV-2 vakcinák széles körben elterjedtek, az Egyesült Államokban a piacra kerülő sertések 98%-a be van oltva PCV-2 vírus ellen [31]. Egy korábbi hazai vizsgálat felméréséből kiderül, hogy a PCV-2 elleni vakcinázás során a telepek 2011/12-ben a kocák 25,7%-át és az összes sertést (n=35), 2013/14-ben a kocák 7,7%-át és szintén az összes sertést oltották (n=13) [1]. Összehasonlítást készítettünk a különböző típusú vakcinát alkalmazó telepek és a PCV-3 vírus fertőzés esetleges kapcsolata felderítése érdekében.

4. táblázat: A PCV-2 vírus ellen vakcinázott és nem vakcinázott telepek PCV-3 prevalencia eredményeinek összehasonlítása (N=18)

SERTÉSTELEP	PCV-2		PCV-3	
	Pozitív	Negatív	Pozitív	Negatív
Vakcinázott	8	9	16	1
Nem vakcinázott	1	0	1	0

Az alkalmazott vakcinák 5 különböző típusba (Vakcina A, B, C, D és E) sorolhatóak, ezeknek a védőhatás időtartama és a beadás módja gyakran eltér egymástól (**5. táblázat**). Az a telep, amelyik nem alkalmaz circovírus elleni vakcinát, pozitivitást mutat a PCV-2 és PCV-3 vírusra is. A vakcinázott telepek 47%-ában (8/17) fordult elő pozitív PCV-2 vírussal fertőzött minta. A PCV-2 vírus elleni vakcinák feltételezhetően nem nyújtanak keresztvédelmet a PCV-3 vírussal szemben az antigén különbségek miatt. Egy immunszuppresszív ágens negatív hatással lehet a vakcina hatékonyságára, ha a fertőzés az oltás idején következik be, így az állatok nem tudnak megfelelően reagálni az immunizációra [22].

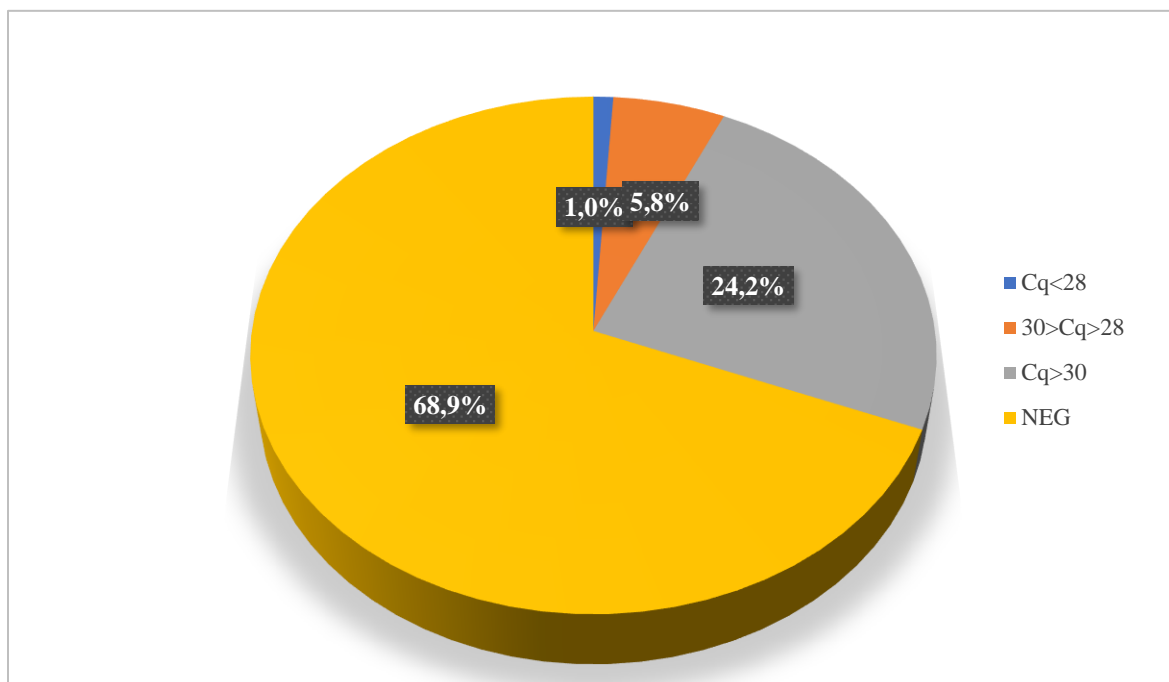
5. táblázat: A különböző típusú vakcinák használata és a PCV-2 és PCV-3 prevalencia összehasonlítása (n=18)

SERTÉSTELEP	PCV-2		PCV-3	
	Pozitív	Negatív	Pozitív	Negatív
Vakcina A	1	2	3	0
Vakcina B	2	2	4	0
Vakcina C	3	5	7	1
Vakcina D	1	0	1	0
Vakcina E	1	0	1	0
Nem vakcinázott	1	0	1	0

5.6 PCV-3 vírus kimutatása kvantitatív PCR vizsgálattal

A kutatás során kvantitatív PCR vizsgálatnak vetettük alá a szérummintákat PCV-3 vírus örökítőanyagát keresve, így a pozitív esetek tekintetében a vírushatás mértéke is megbecsülhetővé vált. A pozitív esetek közül a legtöbb az alacsony vírushatású csoportba tartozott (24,2%). A közepes vírushatású csoport 5,8%-ban, míg a magas vírushatású csoport a vizsgált pool-ok 1,0%-ában fordult elő (**7. ábra**). Egy 2020-ban készült európai kutatás, amely 9 ország 64 sertéstelepének szérummintáit vizsgálta, szűrőként qPCR vizsgálatot végzett a PCV-3 vonatkozásában, hogy kiválasszák a legmagasabb vírushatású mintákat a különböző országokból. A kapott Ct értékek a 32-27 közötti tartományba estek, ami 1,6-3 Log₁₀ PCV-3 DNS-kópia/μl-nek felelt meg [26]. Ezek az eredmények megfelelnek az általunk is kapott 27-es C_q értékű legtöbb genomiális másolatot tartalmazó értéknek.

7. ábra: A vizsgált pool-ok PCV-3 vírusterheltsége mértékének megoszlása a C_q-értékek alapján (n=293)



A kvantitatív PCR vizsgálat eredményeként kapott C_q-értéket megvizsgáltuk három korcsoportra lebontva is, hogy választ kapjunk az egyes termelési fázisok PCV-3 vírus terheltségének mértékére:

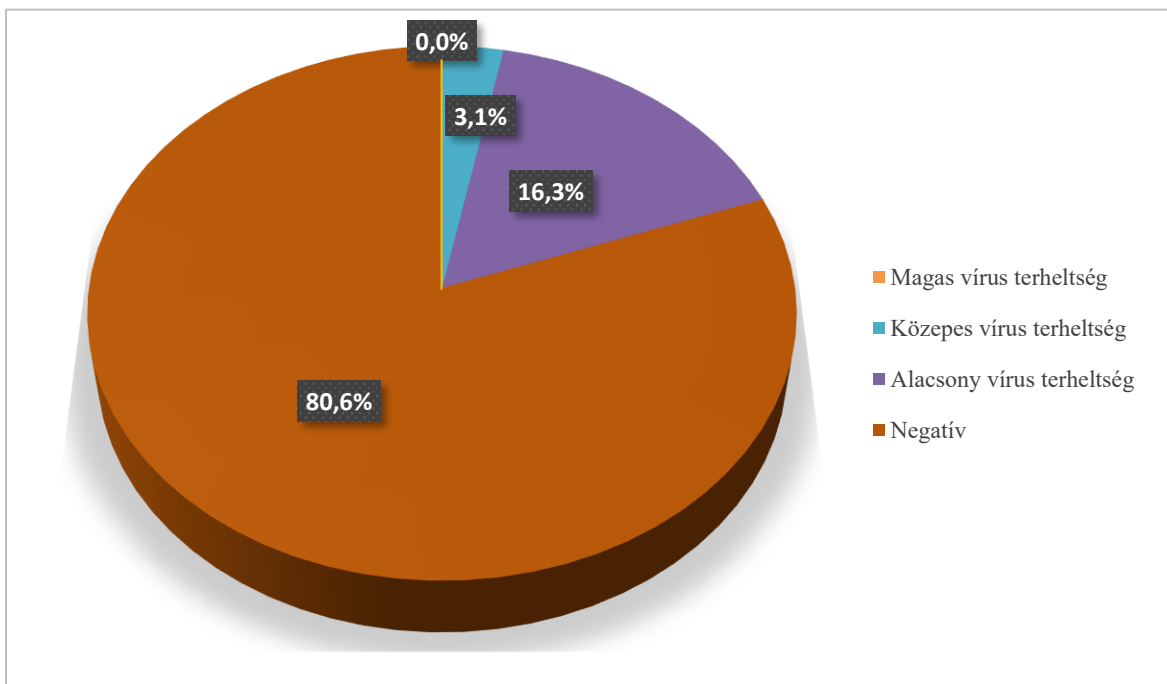
- battéria: 3-10 hetes állatok,
- hizlalás első fázisa: 11-18 hetes állatok,
- hizlalás második fázisa: 19-24 hetes állatok.

5.6.1 Battéria

A battérián vett minták 16,3%-a az alacsony, 3,1%-a pedig a közepes vírusterheltségű csoportba tartozott. A pool-ok 80,6%-a negatív lett, és nem találtunk magas vírus terheltségű állatot egyik telepen sem a vizsgálat időpontjában (**8. ábra**). Ez igazolja a PCV-3 jelenlétét már a választás körüli és utáni időszakban is, amely befolyásolhatja az állatok válaszkészségét környezetük nagymértékű változására. Ezen állapot minél gyorsabb és problémamentesebb átélése nélkülözhetetlen a gazdaságos termelés megvalósításához. A sertések a választás során biológiai, élettani, környezeti és szociális kihívásokat tapasztalnak. Ez a folyamata az egyik legtöbb stresszel járó esemény az állatok életében, amely hozzájárulhat a bélrendszer és az immunrendszer működési zavaraihoz,

amelyek a sertés-egészségügyi állapotának, növekedésének és fajlagos takarmányértékesítésének romlását eredményezik, különösen a választás utáni első héten [32].

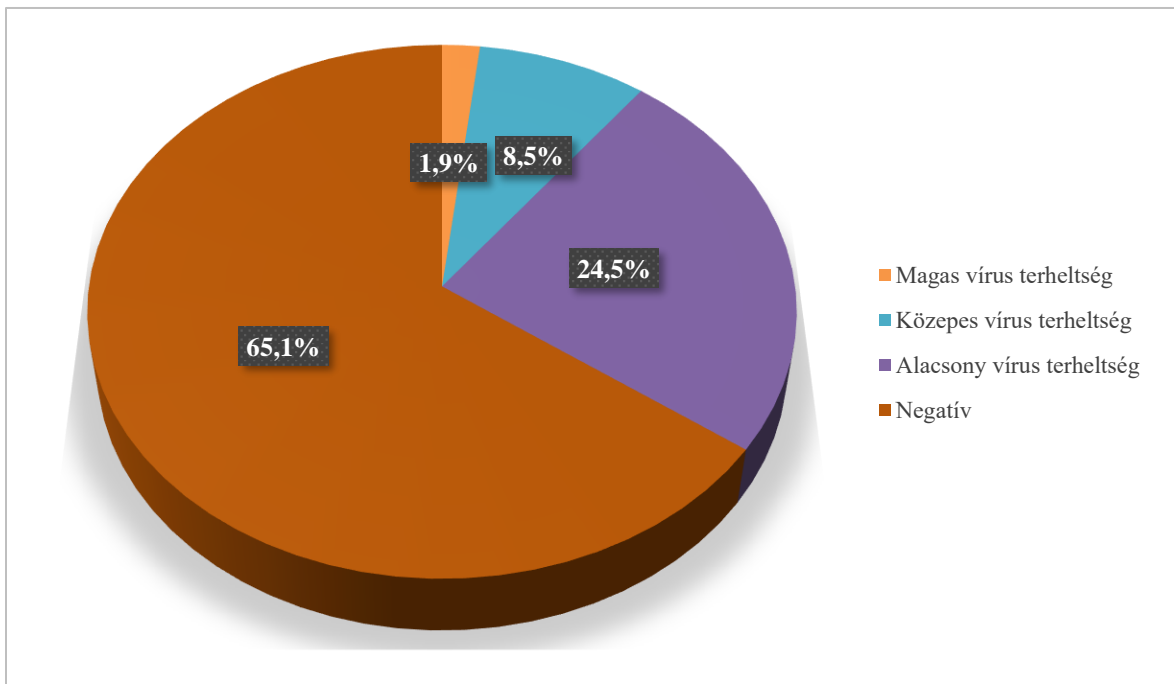
8. ábra: A PCV-3 vírus terheltség mértékének megoszlása a battérián



5.6.2 A hizlalási időszak első fázisa

Az állatok jellemzően 70 életnapos korban kerültek a hizlaldába. Az ezt követő időszakot a vágás időpontjáig két részletben vizsgáltuk. A hizlalási időszak első fázisában már megjelent 1,9%-ban a magas vírus terheltségű állatok csoportja. A battérián tapasztaltakhoz képest nőtt az alacsony és közepes vírusterheltségű állatok aránya (9. ábra).

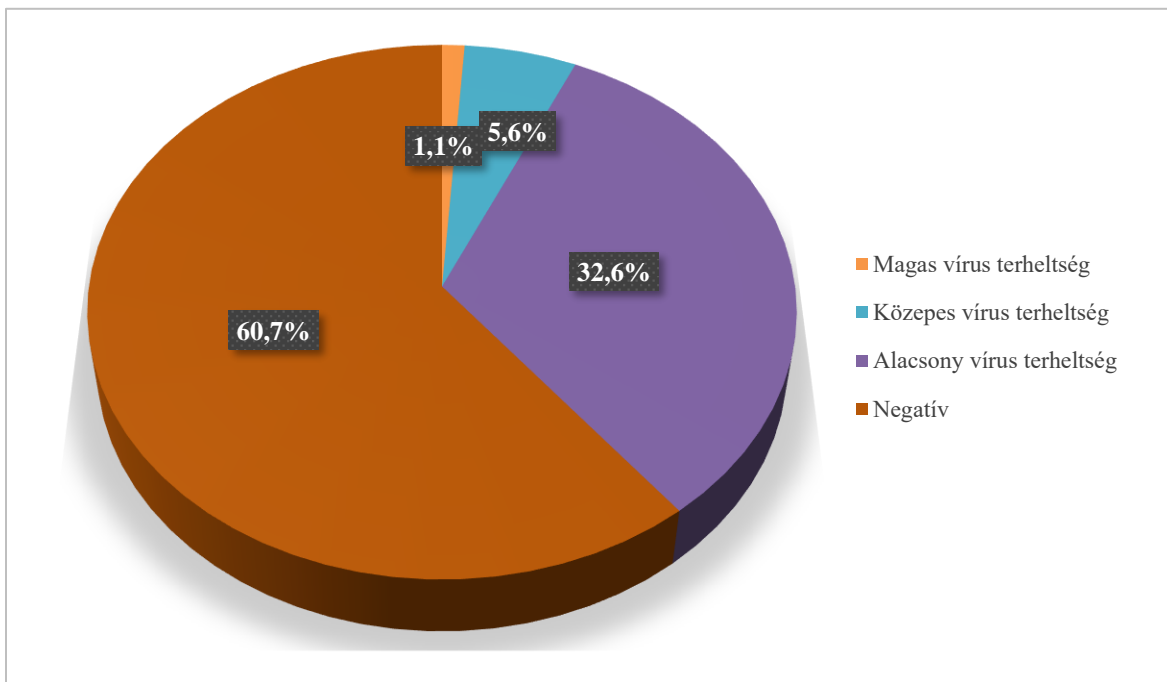
9. ábra: A PCV-3 vírus terheltség mértékének megoszlása a hizlalás első fázisában



5.6.3 A hizlalási időszak második fázisa

A hizlalási időszak második fázisában változott a tendencia, mert a magas és a közepes vírus terheltségű csoportok aránya kis mértékben csökkent az előző mérési eredményhez képest. Az alacsony vírus terheltségű sertések aránya viszont tovább emelkedett, és elérte a 32,6%-ot (**10. ábra**).

10. ábra: A PCV-3 vírus terheltség mértékének megoszlása a hizlalás második fázisában



Egy 2017-ben Lengyelországban készített tanulmány során 14 sertéstartó telep szérummintáit vizsgálták real-time PCR segítségével és azt találták, hogy a PCV-3 leggyakrabban a battérián lévő malacok (26,1%) és a hízósertések (28,0%) között fordult elő. ugyanakkor a 3-4 hetes malacok kevésbé terheltek a PCV-3 vírus fertőzéssel. Ez a hatás valószínűleg a maternális immunitás védelmének köszönhető, és annak kiürülése magyarázza a választás utáni fertőzések gyakoriságának növekedését [33].

6. Következtetések és javaslatok

Eredményeink azt mutatják, hogy a sertés circovírus 3-as típusa szinte az összes hazai, kutatásban szereplő sertéstartó telepen előfordult. A vizsgált állatok a mintavétel időpontjában klinikailag egészségesek voltak és tüneteket nem mutattak. Ennek ellenére a PCV-3 vírus nagy előfordulási aránya felveti a szubklinikai fertőzések lehetőségét, amelyről eddig nagyon kevés információ áll a rendelkezésünkre.

Kutatásunk részét képezte a PCV-2 és a PCV-3 vírus koinfekciós arányának megállapítása, amely nagyobb értéket mutatott a korábbi nemzetközi vizsgálatokban tapasztaltakhoz képest. Az együttes fertőzés súlyosbíthatja a kialakuló tüneteket, és tovább gyengítheti az immunrendszert. A PCV-3 vírus patogenezise még nem teljesen ismert. A PCV-2 vírusra jellemző direkt immunszuppresszív hatás kaput nyithat különböző bakteriális és vírusos felülfertőzéseknek, amely fokozottan megnehezíti a szervezet válaszkészségét a bekerülő kórokozókkal szemben. A társfertőzések és az elhúzódó megbetegedés nagy mértékben csökkentheti a telep termelési mutatóit és növelheti az állategészségügyi kezelési költséget. Ezen tényezők mérséklése nélkülözhetetlen szempont a gazdaságos termelés kialakítása érdekében.

A sertés circovírus 2-es típusa elleni vakcinák alkalmazása nagyon elterjedt mind globálisan, mind a vizsgálatunkban szereplő hazai sertéstelepeken. Az állat számára legkevesebb stresszel járó, helyes módszerrel beadott oltóanyag a megfelelő vakcinázási időpontban történő alkalmazása kulcsfontosságú tényező a hatékony immunitás kialakulása szempontjából. A PCV-2 elleni vakcina a különböző antigének miatt feltételezhetően nem nyújt keresztvédelmet a PCV-3 vírussal szemben. A jövőben megoldást jelenthet egy PCV-2 és PCV-3 vírus elleni kombinált vakcina kifejlesztése, amelynek alkalmazása könnyen beilleszthető a telepi gyakorlatba.

A precíziós és fenntartható gazdálkodás nélkülözhetetlen eleme a magas állategészségügyi színvonal kialakítása. A megfelelő telepi management, járványvédelem és technológia alkalmazásával az állatok jobb termelési mutatók elérésére képesek. Ennek érdekében további kutatásokra van szükség a témában a PCV-3 vírus részletesebb megismerésének fontossága miatt, hogy célzott védekezési módszert alakíthassunk ki ellene. A továbbiakban kutatási cél lehet a különböző modern sertés genetikai állományok összehasonlítása PCV-2 és PCV-3 vírus fertőzés szempontjából.

7. Összefoglalás

A PCV-3 egy 2016-ban újonnan felfedezett vírus, amely a circovirus genusba és a Circoviridae családba tartozik, továbbá a Föld számos országában kimutatták már sertéstartó telepeken. Kórfejlődése még nem teljesen ismert, de számos klinikai kórképpel hozták már összefüggésbe. Vizsgálatunk célja hazai nagylétszámú sertésállományok PCV-3 vírus fertőzöttségének nagy mintaszámú vizsgálatokból történő felmérése volt.

2020 júliusa és 2022 áprilisa között 18 db hazai nagylétszámú sertéstelep vérmintáit vizsgáltuk kvantitatív PCR segítségével a PCV-3 vírus genom prevalenciájának felderítésére. A kimutatás során az 1408 db vérmintát pool módszert alkalmazva használtuk fel, amely során 4-5 egyed azonos mennyiségű vérmintáit elegyítettük össze, és végeztük el rajtuk a qPCR vizsgálatot. Az eredmények feldolgozása során 6 korcsoportot alakítottunk ki a választástól a hizlalási időszak végéig. Továbbá PCV-2 vírus tekintetében elemeztük a felmért telepek vakcinázási állapotát, annak hatékonyságát és hatásait az esetleges PCV-3 fertőzésekkel kapcsolatban.

A felmért sertéstelepek 94%-ában (17/18) találtunk PCV-3 pozitív mintát. Ez az arány sokkal magasabb, mint a korábbi nemzetközi eredményekben tapasztaltak. A PCV-3 vírus előfordulási gyakorisága 31%-os (89/293) volt a vizsgált pool-ok tekintetében. A PCV-2 vírus jelenléte a mintákban a telepek 50%-ában (9/18) fordult elő, és a pool-ok az esetek 15%-ában (43/293) adtak pozitív eredményt. A társfertőzési arány 7% (20/293), amely magasabb értéket mutat a külföldi szakirodalmakban leírtaknál. A kvantitatív PCR vizsgálat lehetőséget adott a PCV-3 vírus terheltség mértékének a megállapítására. Az eredmények 24%-a az alacsony (C_q -érték >30), 6%-a a közepes ($28 < C_q$ -érték < 30) és mindösszesen 1%-a (C_q -érték <28) tartozott a magas vírus terheltségű csoportba. Ezeket az eredményeket tovább vizsgáltuk az egyes termelési fázisokra lebontva is.

A felmérés alapján igazolódott, hogy a PCV-3 szinte minden vizsgált hazai sertéstelepen előfordul. Ez a tény nagymértékben növeli a jelentőségét a PCV-3 vírussal kapcsolatos felméréseknek. A nagy arányú vírusterheltség és a kapott koinfekciós arány felveti a szubklinikai fertőzés lehetőségét, amely következményeinek súlyosságát csak további kutatások elvégzésével lehetne bizonyítani. Az eredményes sertésttartás nélkülözhetetlen eleme a magas állategészségügyi színvonal, ennek érdekében megoldást jelenthet egy PCV-2 és PCV-3 vírus elleni kombinált vakcina kifejlesztése.

8. Summary

PCV-3 is a virus newly discovered in 2016, belonging to the genus Circovirus and the family Circoviridae, and has been detected in swine farms in many countries around the world. The pathogenesis is not completely understood yet, but it has been associated with a number of clinical symptoms. The aim of our study was to assess the PCV-3 virus prevalence in large Hungarian swine herds from a survey with large sample size.

Between July 2020 and April 2022 blood samples from 18 Hungarian large swine herds were tested by quantitative PCR to detect the genome prevalence of PCV-3 virus. The 1408 blood samples were used for the detection by pool sampling method, in which the samples from 4-5 individuals were mixed in equal amounts and analysed by qPCR. The test results were analysed in 6 age groups from weaning to the end of the fattening period. Furthermore, the PVC-2 vaccination status of the selected farms, its effectiveness and impact on the possible PCV-3 infections were also analysed.

In 94% (17/18) of the surveyed swine farms, PCV-3 positive samples were found. This rate is much higher than the previous international findings. The prevalence of PCV-3 virus was 31% (89/293) for the pools tested. The presence of PCV-2 virus in samples was found in 50% (9/18) of the farms, and pools proved to be positive in 15% (43/293) of the cases. The co-infection rate was 7% (20/293), which is higher than the results reported in the scientific publications so far. Quantitative PCR analysis provided an opportunity to determine the degree of PCV-3 viral load. 24% of the results belonged to the low viral load group ($Cq \text{ value} > 30$), 6% to the medium viral load group ($28 < Cq \text{ value} < 30$) and a further 1% ($Cq \text{ value} < 28$) to the high viral load group. These results were analysed in more detail for the different production phases.

The study confirmed that PCV-3 is present in almost all the surveyed Hungarian swine farms. This finding greatly increases the importance of PCV-3 virus surveys in the future. The high viral load and co-infection rate raise the possibility of subclinical infection, but the severity of its consequences could only be confirmed by further research. The development of a combined vaccine against PCV-2 and PCV-3 could be a tool to achieve higher animal health status and welfare, which is an essential element of the profitable pig production.

9. Irodalomjegyzék

1. Ózsvári L, Búza L (2015) Sertéshizlaló telepek technológiai színvonalának, főbb termelési mutatóinak és légzőszervi tünetegyüttese (PRDC) menedzsmentjének összehasonlító vizsgálata. *Magyar Állatorvosok Lapja* 137:79-92
2. Búza L (2019) Sertés állomány-egészségügyi menedzsment. PhD értekezés, Szent István Egyetem Gödöllő
3. Opriessnig T, Karuppanan AK, Castro AMMG, Xiao C-T (2020) Porcine circoviruses: current status, knowledge gaps and challenges. *Virus Research* 286:198044. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198044>
4. Temeeyasen G, Lierman S, Arruda BL, Main R, Vannucci F, Gimenez-Lirola LG, Piñeyro PE (2020) Pathogenicity and immune response against porcine circovirus type 3 infection in caesarean-derived, colostrum-deprived pigs. *Journal of General Virology* 102:.. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001502>
5. Chen Y, Xu Q, Chen H, Luo X, Wu Q, Tan C, Pan Q, Chen J-L (2019) Evolution and Genetic Diversity of Porcine Circovirus 3 in China. *Viruses* 11:786. <https://doi.org/10.3390/v11090786>
6. Baró J, Segalés J, Martínez J (2015) Porcine circovirus type 2 (PCV2) enteric disease: An independent condition or part of the systemic disease? *Veterinary Microbiology* 176:83–87. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.01.006>
7. Ouyang T, Niu G, Liu X, Zhang X, Zhang Y, Ren L (2019) Recent progress on porcine circovirus type 3. *Infection, Genetics and Evolution* 73:227–233. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.05.009>
8. Mora-Díaz J, Piñeyro P, Shen H, Schwartz K, Vannucci F, Li G, Arruda B, Giménez-Lirola L (2020) Isolation of PCV3 from Perinatal and Reproductive Cases of PCV3-Associated Disease and In Vivo Characterization of PCV3 Replication in CD/CD Growing Pigs. *Viruses* 12:219. <https://doi.org/10.3390/v12020219>
9. Oh T, Chae C (2020) First isolation and genetic characterization of porcine circovirus type 3 using primary porcine kidney cells. *Veterinary Microbiology* 241:108576. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108576>
10. Wang Y, Noll L, Lu N, Porter E, Stoy C, Zheng W, Liu X, Peddireddi L, Niederwerder M, Bai J (2020) Genetic diversity and prevalence of porcine circovirus type 3 (PCV3) and type 2 (PCV2) in the Midwest of the USA during 2016–2018. *Transbound Emerg Dis* 67:1284–1294. <https://doi.org/10.1111/tbed.13467>
11. Bi M, Li X, Zhai W, Yin B, Tian K, Mo X (2020) Structural insight into the type-specific epitope of porcine circovirus type 3. *Bioscience Reports* 40:BSR20201109. <https://doi.org/10.1042/BSR20201109>
12. Deim Z, Dencső L, Erdélyi I, Valappil SK, Varga C, Pósa A, Makrai L, Rákhely G (2019) Porcine circovirus type 3 detection in a Hungarian pig farm experiencing

- reproductive failures. *Veterinary Record* 185:84–84.
<https://doi.org/10.1136/vr.104784>
13. Kedkovid R, Woonwong Y, Arunorat J, Sirisereewan C, Sangpratum N, Kedsangakonwut S, Tummaruk P, Teankum K, Assavacheep P, Jittimane S, Thanawongnuwech R (2018) Porcine circovirus type 3 (PCV3) shedding in sow colostrum. *Veterinary Microbiology* 220:12–17.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.04.032>
 14. Ha Z, Li J-F, Xie C-Z, Li C-H, Zhou H-N, Zhang Y, Hao P-F, Nan F-L, Zhang J-Y, Han J-C, Zhang H, Zhuang X-Y, Guo Y-C, Lu H-J, Jin N-Y (2020) First detection and genomic characterization of porcine circovirus 3 in mosquitoes from pig farms in China. *Veterinary Microbiology* 240:108522.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.108522>
 15. Prinz C, Stillfried M, Neubert LK, Denner J (2019) Detection of PCV3 in German wild boars. *Virol J* 16:25. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1133-9>
 16. Vargas-Bermúdez DS, Vargas-Pinto MA, Mogollón JD, Jaime J (2021) Field infection of a gilt and its litter demonstrates vertical transmission and effect on reproductive failure caused by porcine circovirus type 3 (PCV3). *BMC Vet Res* 17:150. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02862-5>
 17. Hou L, Wang J, Zhang W, Quan R, Wang D, Zhu S, Jiang H, Wei L, Liu J (2020) Dynamic Alterations of Gut Microbiota in Porcine Circovirus Type 3-Infected Piglets. *Front Microbiol* 11:1360. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01360>
 18. Faccini S, Barbieri I, Gilioli A, Sala G, Gibelli LR, Moreno A, Sacchi C, Rosignoli C, Franzini G, Nigrelli A (2017) Detection and genetic characterization of Porcine circovirus type 3 in Italy. *Transbound Emerg Dis* 64:1661–1664.
<https://doi.org/10.1111/tbed.12714>
 19. Jiang H, Wang D, Wang J, Zhu S, She R, Ren X, Tian J, Quan R, Hou L, Li Z, Chu J, Guo Y, Xi Y, Song H, Yuan F, Wei L, Liu J (2019) Induction of Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome in Piglets by Infection with Porcine Circovirus Type 3. *J Virol* 93:. <https://doi.org/10.1128/JVI.02045-18>
 20. Alomar J, Saporiti V, Pérez M, Gonçalves D, Sibila M, Segalés J (2021) Multisystemic lymphoplasmacytic inflammation associated with PCV-3 in wasting pigs. *Transbound Emerg Dis* 68:2969–2974. <https://doi.org/10.1111/tbed.14260>
 21. Yang K, Jiao Z, Zhou D, Guo R, Duan Z, Tian Y (2019) Development of a multiplex PCR to detect and discriminate porcine circoviruses in clinical specimens. *BMC Infect Dis* 19:778. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4398-0>
 22. Woźniak A, Miłek D, Bańska P, Stadejek T (2019) Does porcine circovirus type 3 (PCV3) interfere with porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccine efficacy? *Transbound Emerg Dis* tbed.13221. <https://doi.org/10.1111/tbed.13221>
 23. Chen N, Li S, Ye M, Huang Y, Huang Y, Xiao Y, Yu X, Dong J, Tian K, Zhu J (2019) A novel NADC 30-like porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) plays a limited role in the pathogenicity of porcine circoviruses (PCV 2

- and PCV 3) and PRRSV co-infection. *Transbound Emerg Dis* 66:28–34. <https://doi.org/10.1111/tbed.13026>
24. Woźniak A, Miłek D, Stadejek T (2020) Wide Range of the Prevalence and Viral Loads of Porcine Circovirus Type 3 (PCV3) in Different Clinical Materials from 21 Polish Pig Farms. *Pathogens* 9:411. <https://doi.org/10.3390/pathogens9050411>
 25. Brunborg IM, Moldal T, Jonassen CM (2004) Quantitation of porcine circovirus type 2 isolated from serum/plasma and tissue samples of healthy pigs and pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome using a TaqMan-based real-time PCR. *Journal of Virological Methods* 122:171–178. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2004.08.014>
 26. Saporiti V, Huerta E, Correa-Fiz F, Grosse Liesner B, Duran O, Segalés J, Sibila M (2020) Detection and genotyping of *Porcine circovirus 2* (PCV-2) and detection of *Porcine circovirus 3* (PCV-3) in sera from fattening pigs of different European countries. *Transbound Emerg Dis* 67:2521–2531. <https://doi.org/10.1111/tbed.13596>
 27. Saporiti V, Franzo G, Sibila M, Segalés J (2021) Porcine circovirus 3 (PCV-3) as a causal agent of disease in swine and a proposal of PCV-3 associated disease case definition. *Transbound Emerg Dis* 68:2936–2948. <https://doi.org/10.1111/tbed.14204>
 28. Klaumann F, Correa-Fiz F, Sibila M, Núñez JI, Segalés J (2019) Infection dynamics of porcine circovirus type 3 in longitudinally sampled pigs from four Spanish farms. *Veterinary Record* 184:619–619. <https://doi.org/10.1136/vr.105219>
 29. Fay MP, Lumbard K Confidence intervals for difference in proportions for matched pairs compatible with exact McNemar’s or sign tests. 13
 30. Fay MP Two-sided Exact Tests and Matching Confidence Intervals for Discrete Data. 31
 31. Shen HG, Loiacono CM, Halbur PG (2012) Age-dependent susceptibility to porcine circovirus type 2 infections is likely associated with declining levels of maternal antibodies. *Journal of Swine Health and Production* 20:8
 32. Campbell JM, Crenshaw JD, Polo J (2013) The biological stress of early weaned piglets. *J Animal Sci Biotechnol* 4:19. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-19>
 33. Stadejek T, Woźniak A, Miłek D, Biernacka K (2017) First detection of porcine circovirus type 3 on commercial pig farms in Poland. *Transbound Emerg Dis* 64:1350–1353. <https://doi.org/10.1111/tbed.12672>

10.Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Ózsvári Lászlónak a kutatásom és a dolgozat elkészítése során nyújtott sok segítségért és útmutatásért.

Köszönöm Dr. Máté Péternek, társtémavezetőmnek, aki a témát javasolta és a kutatás előkészítésében nyújtott nélkülözhetetlen segítséget.

Köszönöm Dr. Búza Lászlónak és Dr. Makkai Istvánnak a folyamatos elérhető gyors segítséget és tanácsadást bármilyen felmerülő probléma esetén.

Köszönetet szeretnék mondani Dr. Lang Zsoltnak a statisztikai elemzés elkészítésében nyújtott segítségért.

Köszönöm az MSD AH vállalatnak, hogy a partnereiknél gyűjtött adatokat felhasználhattuk.

Végző soron szeretném megköszönni a családomnak és barátaimnak, hogy a munkám során végig bíztattak és támogattak.

NYILATKOZAT

Alulírott Molnár Levente nyilatkozom, hogy diplomamunkám, melynek címe *A PCV-3 vírus előfordulása nagylétszámú hazai sertéstelepeken* tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2022. évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2023.10.26.



.....

Molnár Levente



Diplomamunka konzultációs lap állatorvostan hallgatók részére

A hallgató neve: Molnár Levente
 Neptun-kódja: ML7075
 A témavezető neve és beosztása: Dr. Ózsvári László tanszékvezető egyetemi tanár
 Tanszék: Törvényszéki Állatorvostani és Gazdaságtudományi Tanszék
 A diplomadolgozat címe: A PCV-3 vírus előfordulása nagylétszámú hazai sertéstelepeken

Konzultáció - 1. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2021.	09.	01.	a kutatás megtervezése, projektterv elkészítése	<i>[Signature]</i>
2.	2021.	09.	15.	projektterv jóváhagyása	<i>[Signature]</i>
3.	2021.	10.	20.	a kutatáshoz használt kintőir elhozása	<i>[Signature]</i>
4.	2021.	11.	04.	kintőir kintőirének kezdete a vésztési telepkel	<i>[Signature]</i>
5.	2021.	12.	17.	addig összegyűjtött adatok feldolgozása	<i>[Signature]</i>

Érdemjegy az első félév végén: *5* (5)

Konzultáció - 2. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2022.	02.	07.	kintőirnek kintőirének felvételén az új felvétel	<i>[Signature]</i>
2.	2022.	03.	14.	az utolsó kintőir kintőir	<i>[Signature]</i>
3.	2022.	05.	10.	a begyűjtött adatok feldolgozása anyag és módszerrel való megismerés	<i>[Signature]</i>
4.	2022.	07.	20.	irodalmi áttekintés, saját eredmények megvitatása, következtetések és statisztikai részek megismerése	<i>[Signature]</i>
5.	2022.	08.	08.	a dolgozat végleges formájának megismerése	<i>[Signature]</i>

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül nem érvényes. A konzultációs lap a diplomamunka mellékletét képezi!



Érdemjegy a második félév végén: *5 (5)*

A diplomamunka - a szakra vonatkozóan - a Tanulmányi- és Vizsgaszabályzatban, valamint az Útmutató a szakdolgozatok/diplomamunkák készítéséhez című mellékletében leírt követelményeknek megfelel.

A diplomamunka befogadható, védésre alkalmasnak találtam.

[Handwritten signature]

.....
témavezető aláírása

Hallgató aláírása: *M. M.*

Tanszéki előadó aláírása: *[Handwritten signature]* Átvétel dátuma: *2023. 10. 26.*

Értékelés	Értékelési szempontok	Értékelés	Értékelési szempontok
10	10
9	9
8	8
7	7
6	6
5	5
4	4
3	3
2	2
1	1

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül nem érvényes. A konzultációs lap a diplomamunka mellékletét képezi!